

Səkgizinci
Nəşir
II cild

MOLEKULYAR HÜCEYRƏ BİOLOGİYASI

Lodiş

Berk

Kaiser

Krieger

Bretsçer

Ploegh

Amon

Martin

Molekulyar Hüceyrə Biologiyası

II cild

Bakı 2023

Tərcümə edən, AR ETN Biofizika İnstitutunun əməkdaşı, **b.ü.e.d. Kərim Q. Qasimov**

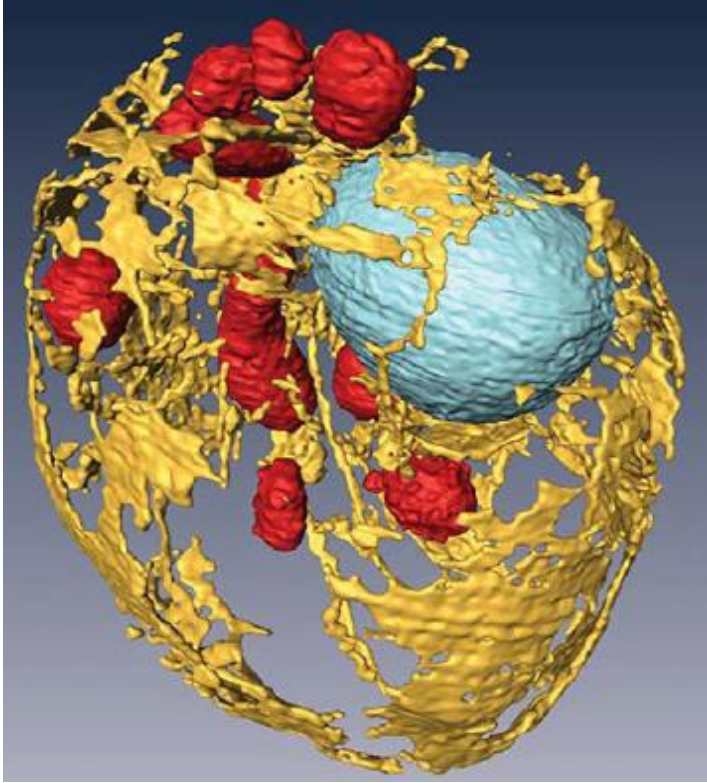
Elmi redaktorlar:

AMEA-nın müxbir üzvü Oktay K. Qasimov,

AMEA-nın müxbir üzvü İlham Ə. Şahmuradov,

f-r.ü.e.d. Yaşar M. Feyziyev

Ayrı-ayrı fəsilələrin oxunmasında və redaktəsində kimya üzrə fəlsəfə doktoru Arif B. Bədəlov, AMEA Biofizika institutunun kiçik elmi işçisi Mətanət Mənsurova, kiçik elmi işçi Türkan Səmədova və laborant Günay Əliyeva iştirak etmişlər.



Skanedici elektron mikroskopundan istifadə etməklə maya hüceyrəsində daxili membranların üçölçülü rekonstruksiyası. Endoplazmatik şəbəkəni (sarı), mitoxondriyi (qırmızı) və nüvəni (mavi) aşkar etmək üçün hüceyrə divarı atılmış, orqanoidlər saxta rənglə boyanmışdır. [Wei, D. et al., “High-resolution threedimensionalreconstruction of a whole yeast cell using focused-ion beamscanning electron microscopy,” *Biotechniques*, 2012, 53(1):41–48-dən.]

Zülalların Membranlara və Orqanoidlərə köçürülməsi

Məməlilərin tipik hüceyrəsi 10000 qədər, maya hüceyrəsi isə 5000 qədər müxtəlif növ zülallara malik olur. Bu zülalların böyük əksəriyyəti sitozol ribosomları ilə sintez olunur və çoxu da sitozol daxilində qalırlar (Fəsil 5). Amma, tipik hüceyrədə istehsal olunan müxtəlif növ zülalların yarıya qədər böyük bir hissəsi hüceyrə daxilində membranla əhatə olunan müxtəlif orqanoidlərin birinə və ya digərinə və yaxud hüceyrə səthinə çatdırılır. Məsələn çox reseptor zülalları və ya daşıyıcı zülallar plazma membranına çatdırılmalıdırlar, bəzi suda-həllolan fermentlər, məsələn RNT və DNT polimerazalar nüvəyə hədəf olunmalıdırlar, hüceyrəxarici matrisanın komponentləri eləcə də həzm fermentləri və polipeptid siqnal molekulları isə hüceyrədən ifraz olunmaq üçün hüceyrə səthinə yöndəlməlidirlər. Bunlar və hüceyrə tərəfindən istehsal olunan bütün başqa zülallar hüceyrənin düzgün fəaliyyəti üçün öz doğru yerlərinə çatmalıdır.

Yeni sintez olunmuş zülalların hüceyrədə öz doğru yerlərinə çatdırılması bir qayda olaraq *zülal hədəflənməsi* və ya *zülal çeşidlənməsi* adlanır və iki çox fərqli prosesi əhatə edir: siqnala-əsaslanan hədəf olunma və qovucuqlara-əsaslanan hərəkəti (trafficking). Birinci ümumi prosədə yeni sintez

olunmuş zülalların sitoplazmadan hüceyrədaxili orqanoidə **hədəf olunması** daxildir. Hədəf olunma artıq translyasiyanın gedişi zamanı və ya zülalın sintezi qurtardıqdan dərhal sonra başlaya bilər. Membran zülalları üçün hədəflənmə zülalın membranın lipid ikiqatlına salınması ilə başlayır, suda-həllolan zülalların hədəf olunması isə tam zülalın membrandan keçərək orqanoidin sulu mühiti daxilində translokasiya olunmasına səbəb olur. Zülallar endoplazmatik şəbəkəyə (ER), mitoxondrilərə, xloroplastlara, peroksisomlara və nüvəyə bu yolla çeşidlənir (Şəkil 13-1).

İkinci əsas çeşidləmə prosesi **ifrazat yolu** kimi məlumdur və buraya zülalların ER-dən onların son məkanına qədər membranla örtülü qovucuqlarda daşınması daxildir. Çox zülallar üçün, o cümlədən hüceyrəxarici matrisanı əmələ gətirən zülallar üçün son təyinat məkanı hüceyrə xaricidir (buradan da adı götürülmüşdür), inteqral membran zülalları da Qolciyə, lizosoma və plazma membranına bu yolla daşınır. İfrazat yolu ER-dən başlanmır, beləliklə, ifrazat yoluna planlaşdırılan bütün zülallar əvvəlcə bu orqanoidə hədəf olunurlar.

Q I S A İ C M A L

13.1 Zülalların ER Membranına və Membrandan Keçərək Hədəf Olunması

13.2 Membran Zülallarının ER-ə Daxil Edilməsi

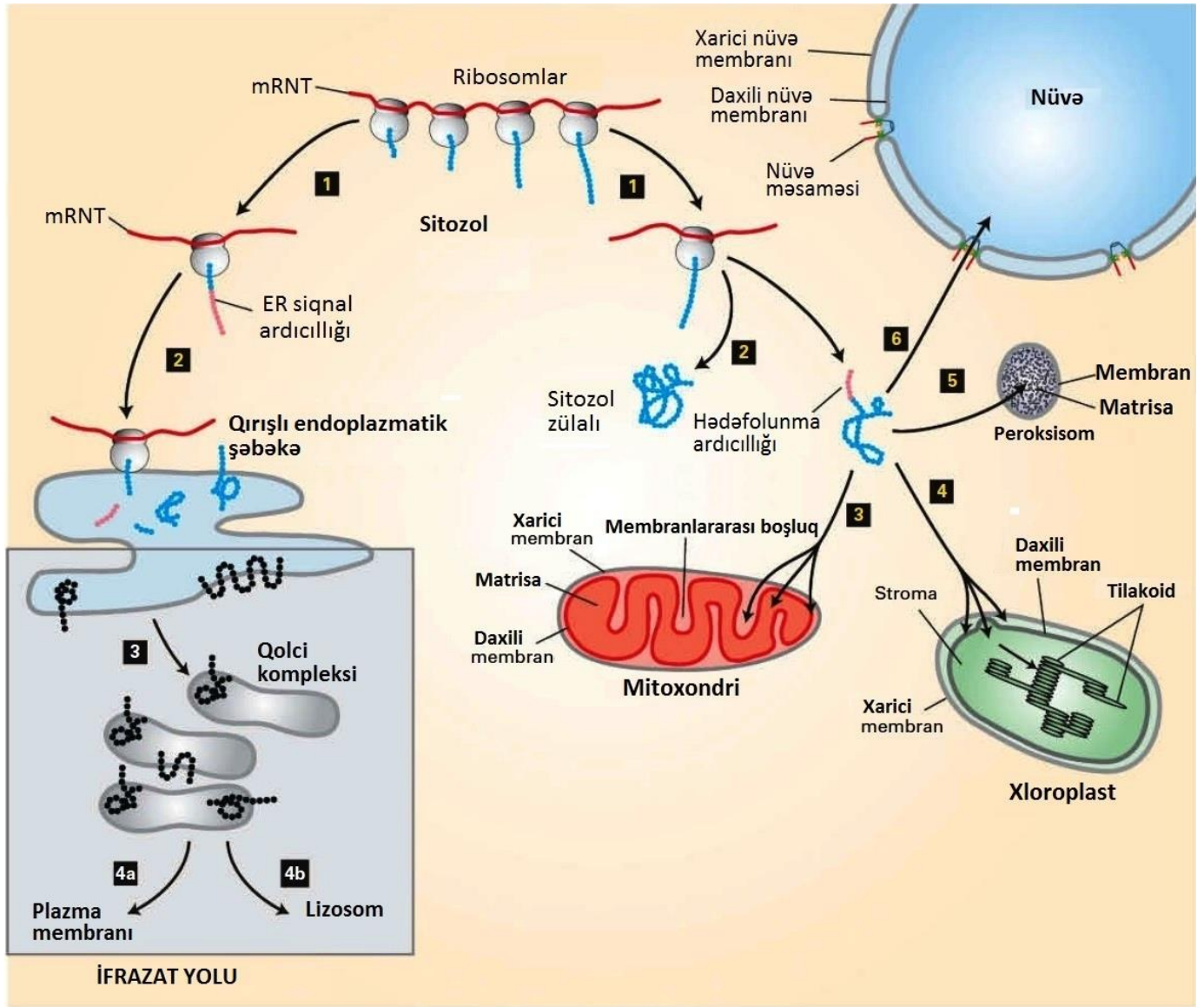
13.3 ER-də Zülalların Modifikasiyası, Bükülməsi və

13.3 ER-də Zülalların Modifikasiyası, Bükülməsi və Keyfiyyətinə Nəzarət

13.4 Zülalların Mitoxondrilərə və Xloroplastlara Hədəf Olunması

13.5 Peroksisom Zülallarının Hədəf Olunması

13.6 Nüvə Daxilinə və Xaricinə Daşınma



ŞƏKİL 13-1 Eukariotlarda zülal-çəşidləyən əsas yolların ümumi görünüşü.Nüvədə kodlaşdırılan bütün mRNT-lər sitozol ribosomlarında translyasiya olunurlar. *Sağda* (qeyri ifrazat yolları): ER siqnal ardıcılığı olmayan bütün zülalların sintezi sərbəst ribosomlarda aparılır (pillə1). Hədəf olunma ardıcılığına malik olmayan zülallar sitozola buraxılırlar və orada da qalırlar (pillə2). Orqanoid-spesifik hədəf olunma ardıcılığına malik olan zülallar (bənövşəyi) əvvəlcə sitozola buraxılırlar (pillə2), sonra mitoxondrilərə, xloroplastlara, peroksisomlara və ya nüvəyə daşınırlar (pillə3-6). Mitoxondri və xloroplast zülalları uyğun olaraq matrisa və ya stroma boşluğuna daxil olmaq üçün adətən xarici və daxili membranlardan keçirlər. Başqa

zülallar əlavə çəşidləmə mərhələsi ilə bu orqanoidlərin başqa subkompartmentlərinə çəşidlənirlər. Nüvə zülalları nüvə qabığı üzərində görünən nüvə məsamələri vasitəsi ilə nüvəyə daxil olur və ya oradan çıxırlar. *Solda* (ifrazat yolu): Yeni sintez olunan zülalları sintez edən ribosomlar ifrazat yolunda ER siqnal ardıcılığı vasitəsi ilə qırıqlı endoplazmatik şəbəkəyə (ER) yönəldilirlər (bənövşəyi, pillə1 və2). ER üzərində translyasiya tamamlandıqdan sonra, bu zülallar daşıyıcı qovucuqlarla Qolci kompleksinə daşınırlar (pillə3). Daha sonra çəşidləmə bu zülalları ya plazma membranına, ya da lizosomlara çatdırır (pillə4a və ya4b). İfrazat yolunun əsasında duran, qovucuq əsaslı proses (pillə3 və4, kölgəli bokslar) Fəsil 14-də müzakirə olunur.

ER-ə hədəf olunan zülallara əsasən sintezi ribosomlarda davam edən *yeni sintez olunan* zülallar daxildir. Yeni sintez olunmuş zülallar ribosomdan sıxışdırılaraq birbaşa ER membranına çıxarılır. Zülallar ER membranından translokasiya olunduqdan sonra, ER lümenində mövcud olan zülal-bükən katalistlər vasitəsi ilə nativ konformasiyada toplanırlar. Həqiqətən də, ER tipik hüceyrədə zülalların üçdə birinin öz nativ konformasiyasına büküldüyü yeridir və ER-də məskunlaşan zülalların əksəriyyəti bükülmə prosesinə birbaşa və ya dolayı yolla kömək edirlər. Bükülmə prosesinin bir hissəsi kimi, ER-də

zülallar spesifik post-translyasiya modifikasiyasına da uğrayırlar. Bu proseslərə diqqətlə nəzarət olunur və yalnız onların bükülməsi və toplanması qurtardıqdan sonra zülalların ER-dən kənara başqa məkana daşınmasına imkan verilir. Son daşınma məkanı Qolci, lizosom, plazma membranı və ya hüceyrə xarici olan zülallar ifrazat yolu ilə yanaşı tumurcuqlar kimi orqanoid membranından ayrılan və sonra da digərinin membranı ilə qovuşan kiçik qovucuqlar vasitəsi ilə də daşınırlar (bax Şəkil 13-1, kölgələnmiş bokslar). Biz qovucuqlara-əsaslanan zülal ötürülməsini növbəti fəsildə müzakirə edəcəyik,

çünkü mexaniki olaraq o, hüceyrədaxili orqanoidlərə qeyri-qovucuq əsaslı zülal hədəflənməsindən əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənir.

Bu fəsilə biz zülalların beş hüceyrədaxili orqanoidə: ER-ə, mitoxondrilərə, xloroplastlara, peroksisomlara və nüvəyə necə hədəf olunduqlarını öyrənirik. Bu zülal-hədəf edən prosesin iki xüsusiyyəti başlanğıcda olduqca çəşdirici olmuşdur: verilmiş zülül yalnız bir spesifik membrana necə yönəldilə bilər və nisbətən böyük hidrofily zülal molekulları hidrofob membrandan, onun ionlara və kiçik molekullara baryer olan ikiqatlısını zədələmədən necə translokasiya oluna bilər. Biokimyəvi təmizləmə metodlarının kombinasiyasından və xüsusi translokasiya pillələrini qeyri-mümkün edən mutantların identifikasiyası üçün genetik ekranlaşdırmalardan istifadə etməklə, hüceyrə bioloqları hər bir hüceyrədaxili membranı kəşib keçən translokasiya üçün tələb olunan çoxsaylı hüceyrə komponentlərini identifikasiya etdilər. Bundan başqa, hüceyrələrdə əsas translokasiya proseslərinin çoxu təmizlənmiş zülal komponentlərinin süni lipid ikiqatlısına yeridilməsindən istifadə edərək aşkar edilmişdir. Belə in vitro sistemlər eksperimental olaraq asanlıqla manipulyasiya oluna bilərlər.

Bu tədqiqatlar göstərdi ki, bəzi variasiyalara baxmayaraq, bütün hüceyrədaxili orqanoidlərdə zülal çəşidlənməsini eyni əsas mexanizmlər aparırlar. Məsələn, biz indi bilir ki, zülalı xüsusi orqanoiddə təyinat yerinə hədəf etmək üçün lazım olan məlumat zülalın özünün aminturşu ardıcılığı daxilində kodlaşdırılır, bu adətən **siqnal ardıcılığı** kimi məlum olan, 20 aminturşusunun ardıcılığı daxilində kodlaşdırılır (bax Şəkil 13-1), bunlar həmçinin *siqnal ardıcılığı* və ya *siqnal peptidləri* adlanırlar. Bu cürə hədəf olunma ardıcılığı adətən zülalın N sonluğunda yerləşir və beləliklə zintez olunan zülalın birinci hissəsi olur. Çox seyrək hallarda, hədəf olunma ardıcılığı ya C sonluqda ya da zülalın daxili hissəsində olur. Hər bir orqanoid, yalnız spesifik siqnal ardıcılıqlarına (birbaşa və ya dolaylı yolla) birləşən reseptor zülallar dəstini daşıyır və beləliklə, siqnal ardıcılığında kodlaşdırılan məlumatın hədəfin spesifikliyini idarə etməsini təmin edir. Siqnal ardıcılığına malik olan zülal uyğun reseptorla qashılıqlı əlaqəyə girdikdən sonra, zülal zənciri bir növ *translokasiya kanalına* ötürülür, bu da, zülalın membran ikiqatlısına və ya ikiqatlıdan daxil keçməsinə imkan verir. Zülalların geriye sitoplazmaya sürüşmədən orqanoidlərin daxilinə bir istiqamətli ötürülməsi adətən translokasiyanın ATP və ya GTP-nin hidrolizi kimi energetik cəhətdən sərfəli olan proseslə birləşməsi ilə əldə olunur. Bəzi zülallar hədəf orqanoid daxilində subkompartməntə çatmaq üçün, orqanoid daxilində də çəşidlənir, belə çəşidləmə başqa siqnal ardıcılıqlarından və başqa reseptor zülallardan asılı olur. Son anda, membrandan keçən translokasiya tamamlandıqdan sonra, tez-tez hallarda siqnal ardıcılıqları spesifik proteazalar vasitəsi ilə yetmişmiş zülaldan kəşilib atılır.

Bu fəsilə müzakirə olunan hər bir zülal-hədəfləmə hadisəsində biz dörd fundamental suala cavab axtaracağıq:

1. *Hədəflənmə ardıcılığının* təbiəti nədir və onu digər tipli hədəflənmə ardıcılıqlarından nə fərqləndirir?
2. Hədəflənmə ardıcılığının reseptoru nədir?
3. Zülalların membran ikiqatlısından keçməsinə imkan verən *translokasiya kanalının* quruluşu nədən ibarətdir? Xüsusilə, kanalzülalların oradan yalnız bükülməmiş vəziyyətdə keçə biləcəyi qədər mi dardır?
4. Membrandan biristiqamətli keçməni idarə edən *enerji* mənbəyi nədir?

Fəslin birinci hissəsində, biz zülalların ifrazat yoluna keçərkən onlarda baş verən post-translyasiya modifikasiyaları da daxil olmaqla ER-ə hədəf olunmasını əhatə edirik. Zülalların ER-ə hədəf olunması zülal hədəflənməsinin ən yaxşı anlaşılın nümunəsidir və bu prosesin ümumi modeli rolunu oynayacaq. Sonra biz, zülalların mitoxondrilərə, xloroplastlara və peroksisomlara hədəf olunmasını təsvir edəcəyik. Nəhayət sonda, zülalların nüvə məsələləri vasitəsi ilə nüvəyə və nüvədən kənara hədəf olunmasını əhatə edəcəyik.

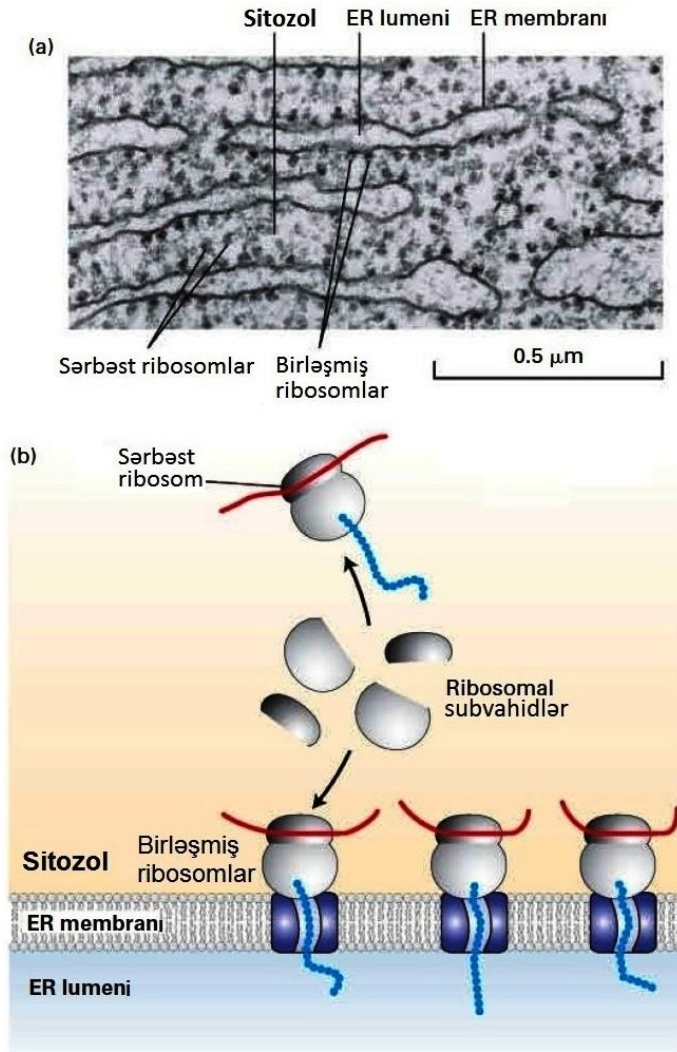
13.1 Zülalların ER Membranına və Membrandan Keçərək Hədəf Olunması

Bütün eukariot hüceyrələr endoplazmatik şəbəkəyə (ER) malikdirlər. ER, böyük, girintili-çıxıntılı orqanoid olub borucuqlardan və yastılaşmış kisəciklərdən təşkil olunmuşdur və onun membranı nüvə membranı ilə bir-birinin davamıdır. ER adətən böyük səth sahəsinə malik olur və onun membranı hüceyrə lipidlərinin sintez olduğu yerdir (Fəsil 7). ER həmçinin əksər hüceyrə membran zülallarının, o cümlədən plazma membranındakı, ER-dəki və Qolcidəki membran zülallarının əksəriyyətinin toplandığı yerdir. Bundan əlavə, bütün həll-olan zülallar, hansiki tədricən sonda hüceyrədən ifraz olunacaqlar, həmçinin ER lümenləri, Qolci və ya lizosomlar üçün nəzərdə tutulanlar da, əvvəlcə ER lümenlərinə çatdırılırlar (bax Şəkil 13-1). Zülal ifrazatında ER belə əhəmiyyətli rol oynadığından, biz, ER-dən keçən zülal hədəflənmə yolunu *ifrazat yolu* hesab edirik. Sadəlik üçün, ilkin olaraq ER-ə hədəf olunan bütün zülalları biz *ifrazat zülalları* adlandıracağıq, *amma* yadda saxlayaq ki, ER-ə hədəf olunan zülalların heç də hamısı hüceyrədən kənara ifraz olunmur.

Biz birinci bölmədə, zülalların başlanğıcda ifrazat zülalları olmalarının necə identifikasiya olunduğunu və belə zülalların ER membranından keçərək necə translokasiya olunduqlarını müzakirə edirik. Əvvəlcə biz, bütün ER membranını kəşib ER lümeninə keçən həllolan zülalları ətraflı veriririk. Növbəti bölmədə isə, ER membranına daxil edilən inteqral membran zülallarını müzakirə edirik.

Təmizlənmiş ER Membranları ilə Puls-izləmə Eksperimentləri İfraz Olunan Zülalların ER Membranını Kəşib Keçdiyini Nümayiş Etdirdi

Hərçənd ki, bütün hüceyrələr müxtəlif zülalları ifraz edirlər (məsələn, hüceyrəxarici matrisa zülallarını), amma müəyyən hüceyrə tipləri böyük miqdarda spesifik zülalların ifraz olunması üzrə ixtisaslaşmışlar. Məsələn, mədəaltı vəzin asinar hüceyrələri bir sıra həzm fermentlərini böyük miqdarda sintez edir və bunlar mədəyə aparın kanalcıqlara ifraz olunurlar. Belə ifrazat hüceyrələri böyük miqdarda ifrazat yolunun orqanoidlərinə (məsələn, ER və Qolciyə) malik olduqlarından, ER membranında baş verən ilkin mərhələlər də daxil olmaqla bu yolu öyrənmək üçün onlar geniş şəkildə istifadə olunurlar.



ŞƏKİL 13-2 Qırıqlı ER-in quruluşu. (a) Mədəaltı vəzin asinar hüceyrələrində qırıqlı ER-ə qoşulmuş ribosomların mikrofotusu. Bu tip hüceyrələrdə sintez olunan zülalların əksəriyyəti, ifraz olunan zülallardır və membrana qoşulmuş ribosomlarda sintez olunurlar. Az miqdarda membrana birləşməmiş (sərbəst) ribosomlar görünür; yəqin ki, sitozol zülallarını və ya ifraz olunmayan zülalları sintez edirlər. (b) ER-də zülal sintezinin sxematik təsviri. Qeyd edək ki, membrana birləşmiş və sərbəst sitozol ribosomları identikdirlər. Membrana birləşmiş ribosomlar zülal sintezi zamanı ER siqnal ardıcılığına malik olan polipeptid tərəfindən endoplazmatik şəbəkənin membranına birləşməyə cəlb olunurlar. [(a) hissəsi nəzakətlə Marlin G. Farquhar, tərəfindən verilmişdir, Kalifornia Universiteti, San Dieqo.]

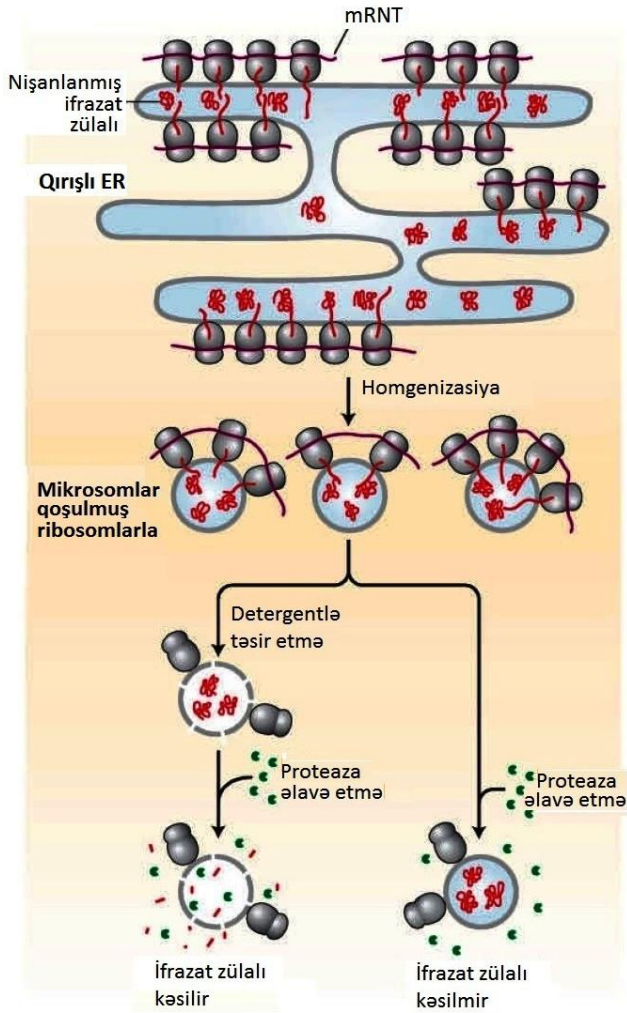
İfrazat zülallarının sintezindən dərhal sonra baş verən hadisələrin ardıcılığı ilk dəfə mədəaltı vəzin asinar hüceyrələrində puls-izləmə eksperimentləri vasitəsi ilə aydınlaşdırılmışdır. Belə hüceyrələrdə, radioaktiv nişanlanmış amin turşuları ifrazat zülallarına, onların ER membranı səthinə qoşulmuş ribosomlarda sintez olunması zamanı keçirilmişdir. ER-in ifrazat yoluna daxil olan zülalları qəbul edən hissəsi sıx şəkildə çoxsaylı ribosomlarla örtülü olduğundan, *oqırıqlı (kobud) ER* kimi tanınır, bu ER membranı səthi morfoloji cəhətdən digər ER membranlarından fərqlənir (Şəkil 13-2). Bu eksperimentlərdən, aydın olur ki, zülalın ribosomda sintezindən sonrakı müddətdə və ya dərhal sonra, ifrazat zülalları ER membranından keçərək ER lümeninə translokasiya olunurlar.

Translokasiya prosesini pillə-pillə təsvir etmək üçün birincisi ER-i hüceyrədən ayırmaq lazım gəlir. ER-i hüceyrədən onun zərif krujevaşəkilli quruluşu ilə və başqa orqanoidlərlə qarşılıqlı əlaqədə olduğu şəkildə ayırmaq mümkün deyil. Amma, alimlər aşkar etdilər ki, hüceyrələr homogenizə olunduqdan sonra, qırıqlı ER, xarici səthindəki ribosomlarla birlikdə kiçik qapalı qovucuqlara bölünür, buna da, ER-in əsas biokimyəvi xassələrini, o cümlədən zülal translokasiya etmə qabiliyyətini özündə saxlayan *qırıqlı (kobud) mikrosomlar* deyilir. Şəkil 13-3-də verilmiş, puls-nişanlanmış hüceyrələrdən ayrılan mikrosomlarla aparılmış eksperimentlərdə, mikrosomların proteazalarla işlənməsi göstərmişdir ki, ifrazat zülalları ER membranının sitozol üzünə birləşmiş ribosomlarda sintez olunsalar da, bu ribosomlarla istehsal olunan polipeptidlər ER qovucuqların lümenlərin daxilində qalır. Bu cür eksperimentlər, belə bir sualın yaranmasına səbəb oldu ki, polipeptidlər onların sintezi başlandıqdan qısa zaman sonra necə olur ki, ifrazat zülalları kimi tanınırlar və necə olur ki, yeni sintez olunan ifrazat zülalı ER membranından kəsb keçir.

Hidrofob N-terminal Siqnal Ardıcılığı Yeni Sintez Olunan İfrazat Zülallarını ER-ə Hədəf Edir

İfrazat zülallarının sintezi sitozolda sərbəst ribosomlarda başladıqdan sonra, yeni sintez olunan zülalda 16-30 qalıqdan ibarət olan ER siqnal ardıcılığı ribosomu ER membranına yönəldir və uzunamaqda olan polipeptidin ER membranından keçərək translokasiya olunmasını inisasiya edir (bax Şəkil 13-1, *solda*). ER hədəf ardıcılığı adətən zülalın N-sonluğunda yerləşir və bir qayda olaraq siqnal ardıcılığı kimi tanınır. Müxtəlif ifrazat zülallarının siqnal ardıcılıqları hamısı, 6-12 hidrofob qalıqlardan ibarət olan (hidrofob özək kimi məlum olan) fasiləsiz uzanan hissəsinə yaxın yerləşən bir və ya daha artıq müsbət yüklənmiş amin turşu qalığına malik olurlar, amma qalan hissələrində çox az ümumi oxşarlıqları olur. İfrazat zülallarının əksəriyyətində, zülal ribosomda tam elonqasiya etdikdən sonra siqnal ardıcılığı zülaldan kəsilib ayrılır, beləliklə siqnal ardıcılıqları hüceyrələrdə tapılmış yetkin zülallarda mövcud olmur.

ER siqnal ardıcılığının hidrofob özəyi onun fəaliyyəti üçün çox əhəmiyyətlidir. Məsələn, siqnal ardıcılığından bir sıra spesifik hidrofob amin turşularının kəsilib atılması və ya yüklənmiş amin turşularının mutasiya yolu ilə hidrofob özəyə əlavə olunması zülalın N-sonluğunun siqnal ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərməsi qabiliyyətini itirir. Nəticədə, modifikasiya olunmuş zülal, ER membranından keçərək lümenə daxil ola bilmir, sitozolda qalır. Əksinə, rekombinant DNT metodundan istifadə edərək siqnal ardıcılığı normal halda sitozolda olan zülala əlavə oluna bilər. Əlavə olunan siqnal ardıcılıq kifayət qədər uzunluğa və hidrofobluğa malikdir və belə modifikasiya olunmuş sitozol zülalı ER membrandan lümenə translokasiya etmək qabiliyyəti qazanır. Beləliklə, ER siqnal ardıcılığının özəyində hidrofob qalıqlar birləşmə saytını əmələ gətirirlər, bu da siqnal ardıcılığının zülalın ER membranına hədəf olunmasına cavab verən mexanizmlə qarşılıqlı təsirə girməsi üçün kritik əhəmiyyətə malikdir.

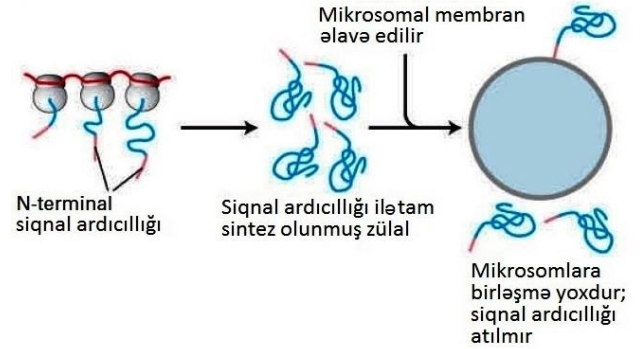


ŞƏKİL 13-3 İfrazat zülalı ER-ə daxil olur. Nişanlama eksperimentləri nümayiş etdirir ki, ifrazat zülalları sintez olunduqdan qısa zaman sonra ER lümeninə lokalizasiya olunur. Hüceyrələr qısa müddətdə radionişanlanmış amin turşuları ilə inkubasiya olunurlar, ona görə də yalnız yeni sintez olunan zülallar nişanlanmış olurlar. Sonra hüceyrələr homogenizə olunurlar, plazma membranı fraksiyalara ayrılaraq qırıqlı ER membranı *mikrosomlar* adlanan kiçik qovuculara bölünür. Birləşmiş ribosomlara malik olduqlarından, mikrosomlar başqa membranlı orqanoidlərə nisbətən çox böyük sıxlığa malik olurlar və onlardan differensial və saxaroza sıxlıq-qradianti sentrifugalamasının kombinasiyası vasitəsi ilə asanlıqla ayrılı bilirlər (Fəsil 4). Təmizlənmiş mikrosomlar detergentin iştirakı ilə və iştirak olmadan proteaza ilə işlənir. Mikrosomlarla assosiasiyada olan, nişanlanmış ifrazat zülalları proteazalarla o vaxt doğranır ki, mikrosomal membranın keçiricilik baryeri detergentlə işlənmə nəticəsində dağıdılmış olsun. Bu tapıntı göstərir ki, yeni istehsal olunmuş zülallar qırıqlı ER lümenlərinə ekvivalent olan mikrosomların daxilindədirlər.

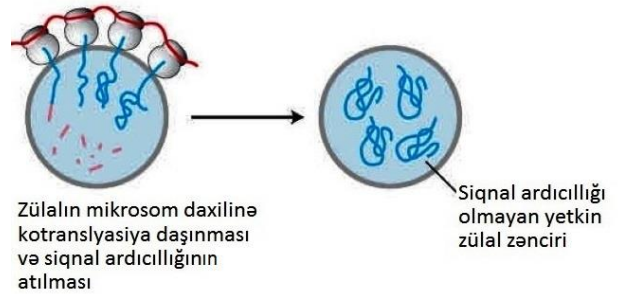
Hüceyrəsiz zülal sintez edən sistemdən, ifrazat zülalını kodlaşdırılan mRNT-dən və öz ribosomundan məhrum edilmiş mikrosomlardan istifadə edərək, aparılan biokimyəvi tədqiqatlar ER siqnal atdıclılığının funksiyasını və taleyini izah etdi. Bu sistemlə aparılan ilkin tədqiqatlar nümayiş etdirdi ki, tipik ifrazat zülalı mikrosomlara daxil olur və zülalın sintezi zamanı mikrosomlar mövcud olursa onların siqnal peptidləri atılmış olur. Əgər mikrosomlar sistemə zülalın sintezi tamamlandıqdan

sonra əlavə edilərsə, zülalın mikrosomlar daxilinə daşınması baş vermir (Şəkil 13-4). Sonrakı eksperimentlər, zülal sintezinin dəqiq mərhələlərini təyin etmək üçün dizayn olunmuşdur, bu zaman translokasiyanın baş verməsi üçün mikrosomlar mövcud olmalıdırlar. Bu eksperimentdə mikrosomlar reaksiya qatışığına sintez başlandıqdan sonra müxtəlif vaxtlarda əlavə edildi.

(a) Hüceyrəsiz zülal sintezi, mikrosomlar mövcud deyil



(b) Hüceyrəsiz zülal sintezi, mikrosomlar mövcuddur

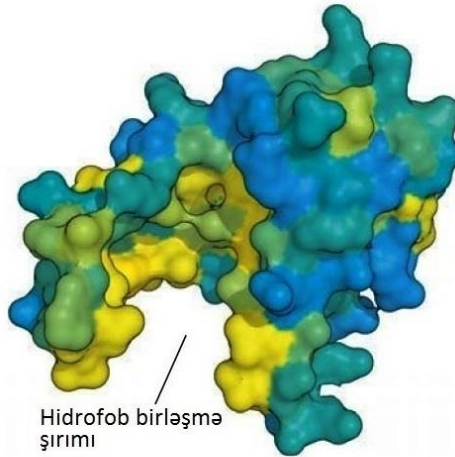


ŞƏKİL 13-4 Translyasiya və translokasiya eyni zamanda baş verir.

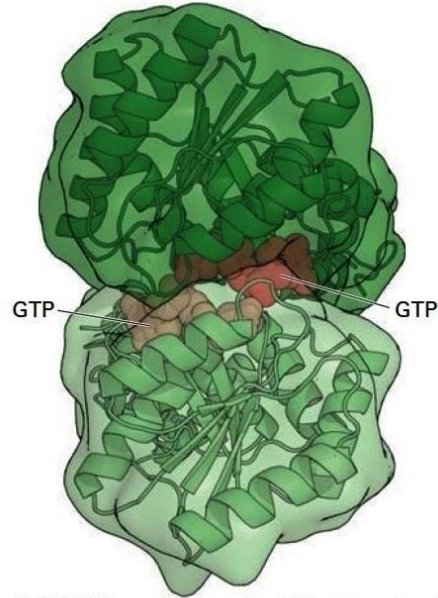
Hüceyrəsiz eksperimentlər nümayiş etdirdi ki, ifrazat zülallarının mikrosomların daxilinə translokasiyası translyasiya ilə birləşir. Mikrosomların Mg^{2+} ionlarını tutan EDTA ilə işlənilməsi, onları assosiasiyada olduqları ribosomlardan ayırır və ER membranlarına ekvivalent olan ribosomsuz mikrosomları ayırmağa imkan verir (bax Şəkil 13-3). Zülal sintezi funksional ribosomlara, tRNT-lərə, ATP, GTP və sitozol fermentlərinə malik olan hüceyrəsiz sistemdə ifrazat zülalını kodlaşdırılan mRNT əlavə olunması ilə aparılmışdır. İfrazat zülalı mikrosomlar olmadan sintez olunur (a), amma, zülal sintezi zamanı yalnız mikrosomlar mövcud olarkən qovucuq membranından keçərək translokasiya olunur və siqnal ardıcılığını itirir (nəticədə molekulyar çəkisinə görə azalır) (b).

Eksperimentlər göstərdi ki, sintezi tamamlanmış ifrazat zülalının mikrosomal lümenə lokalizasiya olunması üçün mikrosomlar qatışığına birinci 70 və ya buna yaxın sayda amin turşuları translyasiya olduğu müddətdən öncə əlavə olunmalıdırlar. Bu nöqteyi-nəzərdən, birinci 40 və ya buna yaxın sayda amin turşusu ribosomdan çıxır ki, bura siqnal peptidi daxildir, bu sonra kəsilib atılacaqdır, növbəti 30 və ya buna yaxın sayda amin turşusu hələ də ribosomun kanalı daxilində yerləşmiş vəziyyətdə qalır (bax Şəkil 5-26). Beləliklə, ifrazat zülallarının əksəriyyətinin ER lümeni daxilinə daşınması, zülalın sintezi hələ tamamlanmadan ribosoma bağlı olduğu halda başlanır, bu proses **kotranslyasiya translokasiyası** adlanır.

(a) Ffh siqnal-ardıcılıđı-birləşdirən domen



(b) Ffh, GTP-aza-domeni (SRP P54 subvahidin homoloqu)



FtsY (SRP reseptor α subvahidin homoloqu)

ŞƏKİL 13-5 Siqnal-tanıyan zərrəciyin (SRP) quruluşu. (a) Siqnal-ardıcılıđı-birləşən domen: bakterial Ffh zülalı, ER siqnal ardıcılıđına birləşən P54 zülalə homolojidir. Bu səth modeli Ffh-da, yan zəncirləri siqnal ardıcılıđı ilə əlaqəyə girən hidrofob amin turşularının (bənövşəyi) düzülüşündən təşkil olunmuş böyük yarığa malik olan birləşmə domenini göstərir. (b) GTP- və reseptor-bəirləşən domen: *Thermus aquaticus*-dan GTP birləşmiş FtsY (SRP reseptorun α subvahidinin arxeal homoloqu) və Ffh subvahidlərin quruluşu bu zülallar arasındakı əlaqənin GTP birləşməsi və hidrolizi ilə necə

nəzarət olunduđunu göstərir. Ffh və FtsY hər biri bir molekul GTP-yə birləşə bilir və onlar bir-biri ilə birləşəndə, iki birləşmiş GTP molekuldu zülal subvahidlər arasında arəüzünə uyđun gəlir və dimeri stabilləşdirir. Psevdosimmetrik dimerin toplanması birləşmiş hər iki GTP molekulunun hidroliz olunması üçün iki fəal mərkəzin yaranmasına imkan yaradır. GDP-yə hidroliz olunmaq arəüzünün stabilliyini pozur və dimerin ayrılmasına səbəb olur. [(a) hissəsi R.J. Keenan et al., 1998, *Cell*94:181, PDG ID2ffh; (b) hissəsi P.J. Focia et al., 2004, *Science*303:373, PDB ID lokk.]

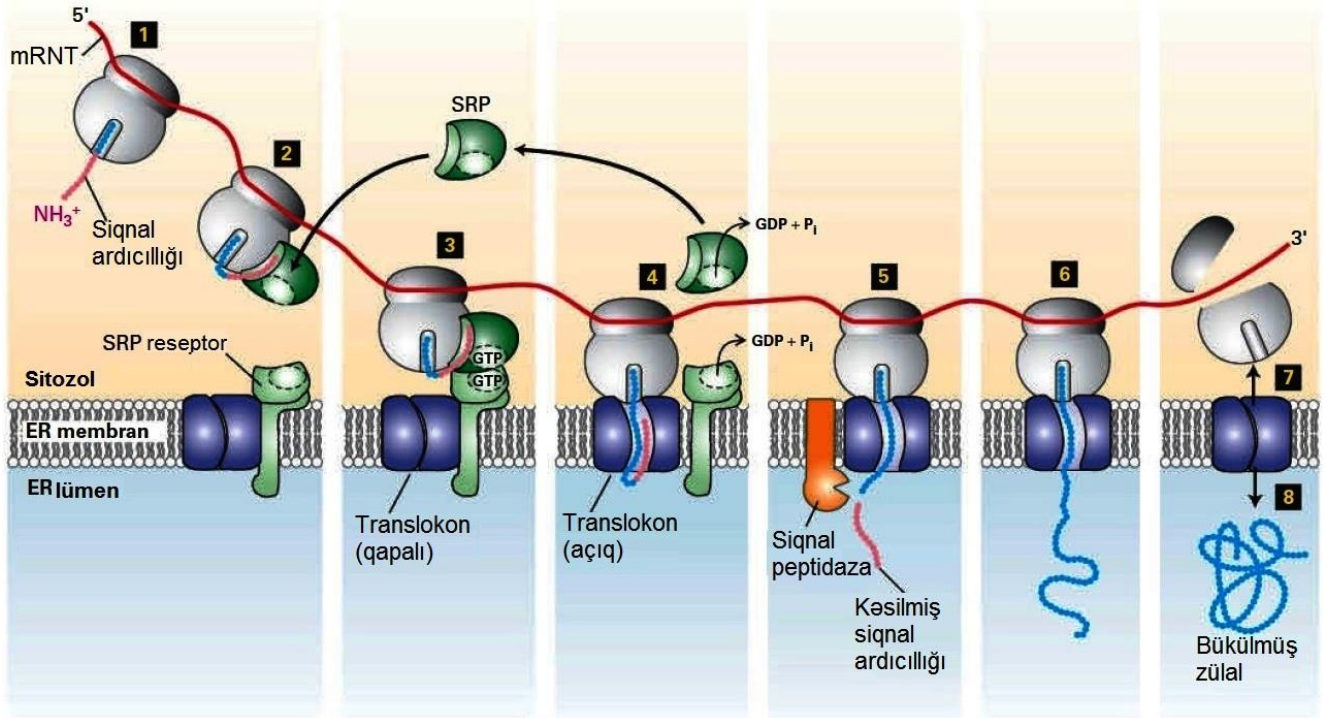
Kotranslyasiya Translokasiyası İki GTP-Hidroliz Edən Zülalə İnsiasiya Olunur

İfrazat zülalları başqa heç bir hüceyrə membranı ilə deyil ER membranı ilə assosiasiyada sintez olunduđundan, siqnal-ardıcılıđını tanıyan mexanizm onları yalnız oraya hədəf etməlidir. Bu hədəf olunmada iki əsas komponent **siqnal-tanıyan zərrəcik**(SRP) və onun ER membranında yerləşən **reseptorudur**. SRP sitozol ribonukleozülal zərrəcikdir, həm yeni sintez olunan zülaldə ER siqnal ardıcılıđına, həm də böyük ribosomal subvahidə (60S) keçici birləşərək çox böyük kompleksi əmələ gətirir. Sonra SRP membrandakı SRP reseptora birləşməklə yeni sintez olunan zülal-ribosom kompleksini ER membranına hədəf edir.

SRP, 300 nukleotid uzunluqda RNT-yə birləşmiş altı zülaldən təşkil olunmuşdur, bu RNT, heksamər üçün skafolt rolunu oynayır. SRP zülallardan biri (P54) ER siqnal-ardıcılıđı ilə kimyəvi çarpaz bağlana bilir, bu da subvahidin yeni sintez olunan ifrazat zülalında siqnal ardıcılıđına birləşdiyini göstərir. Çoxsaylı metioninə və hidrofob yan zəncirli başqa amin turşularına malik olan, M domeni kimi məlum olan P54 rayonu, daxili səthi hidrofob yan zəncirlərlə düzölmüş yarığa malikdir

(Şəkil 13-5a). Siqnal peptidin hidrofob özəyi hidrofob qarşılıqlı əlaqələrlə bu yarığa birləşir. SRP-dəki başqa polipeptidlər ribosomla qarşılıqlı əlaqəyə girirlər və ya onlar zülalın ER lümeninə translokasiya olunması üçün tələb olunurlar.

SRP və yeni sintez olunan polipeptid zənciri-ribosom kompleksi ER membranının inteqral zülalı olan, α subvahidindən və kiçik β subvahidindən təşkil olunmuş SRP reseptora birləşməklə ER membranına bağlanır. SRP-yeni sintez-olunan-zəncir-ribosom kompleksinin SRP reseptorla qarşılıqlı əlaqəsi SRP-nin P54 subvahidi ilə SRP reseptorun α subvahidi hər ikisi GTP ilə birləşəndə daha da möhkəmlənir. *Thermus aquaticus* arxeobakteriyadan SRP-nin P54 subvahidinin və SRP reseptorun α subvahidinin (FtsY) quruluşu, bu zülalların birləşməsinin və dissosiasiyasının GTP birləşməsi və hidrolizi dövrəsi ilə necə idarə edilməsi barədə yeni bilikləri təmin etdi. Şəkil 13-5b göstərir ki, hər biri tək GTP molekuldu ilə birləşən P54 və FtsY bir yerə gələrək psevdosimmetrik heterodimeri əmələ gətirirlər. Subvahidlərin heç biri təklikdə GTP-ni hidroliz etmək üçün fəal mərkəzə malik olmur, amma bu iki zülal bir yerə gələndə, onlar hər iki birləşmiş GTP-ni hidroliz etmək qabiliyyətinə malik olan iki tam fəal mərkəzi əmələ gətirirlər.



ŞƏKİL 13-6 Kotranslyasiya translokasiyası. Pillə1, 2: ER siqnal ardıcılığı ribosomdan çıxdıqdan sonra, o siqnal-taniyan zərrəciklə (SRP) birləşir. Pillə3:SRP və yeni sintez olunan polipeptid-ribosom kompleksi ER membranında olan SRP reseptora birləşir. Bu qarşılıqlı təsir, GTP-nin həm SRP-yə həm də onun reseptoruna birləşməsi ilə möhkəmlənir. Pillə4: Yeni sintez olunan polipeptid-ribosomun translokona keçirilməsi bu translokasiya kanalının açılmasına və siqnal ardıcılığı ilə uzunamaqda olan polipeptidin yaxın seqmentinin mərkəzi məsaməyə daxil edilməsinə səbəb olur. Həm SRP həm də SRP reseptor traslokondan dissosiasiya etdikdən sonra birləşdikləri GTP-ni hidroliz

edirlər və başqa bir polipeptid zəncirinin daxil edilməsini inisiyasiya etmək üçün hazır olurlar. Pillə5: Polipeptid zəncir elonqasiya etdikcə, o translokasiya kanalından keçərək ER lümeninə girir, burada siqnal ardıcılığı siqnal peptidaza vasitəsi ilə kəsilir və tez parçalanır. Pillə6: mRNT 3' sonluğa doğru translyasiya olunduqca peptid zənciri elonqasiya etməkdə davam edir. Ribosom translokona birləşdiyindən, uzunayan zəncir itələnərək translokona vasitəsi ilə ER lümeninə daxil edilir. Pillə7, 8: Translyasiya tamamlandıqdan sonra, ribosom buraxılır, zülalın qalan hissəsi ER lümeni daxilinə dartılır, translokona bağlanır və zülal öz bükülmüş nativ konformasiyasını alır.

Şəkil 13-6 ifrazat zülallarının sintezi barədə və bu prosesdə SRP və SRP reseptorun rolu barədə bizim hazırki biliklərimizi ümumiləşdirir. Birləşmiş GTP-nin hidroliz olunması SRP və SRP reseptorun ayrılması ilə müşayiət olunur və yeni sintez olunan zəncirin və ribosomun ER membranda translokasiyanın baş verdiyi sayta ötürməsinə inisiyasiya edir. SRP və onun reseptoru bir-birindən dissosiasiya olunduqdan sonra, birləşdikləri GDP-ni buraxırlar, SRP yenidən istifadə üçün geriye sitozola qayıdır və indi hər ikisi ribosomla sintez olunan ifrazat zülalı ilə ER membran arasında qarşılıqlı əlaqənin yeni dövrəsini başlamaq üçün hazırdır.

Uzunayan Polipeptidin Translokondan Keçməsi Translyasiya ilə Aparılır

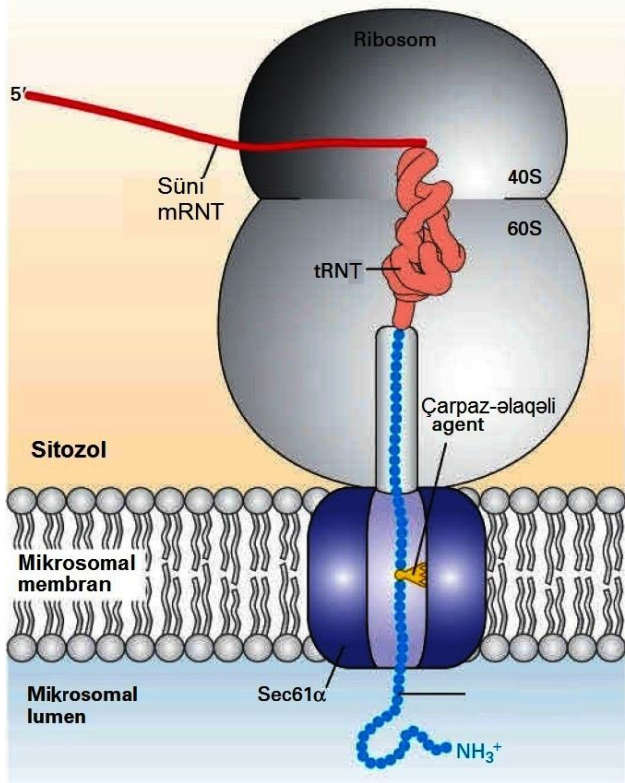
SRP və onun reseptoru ribosomla sintez olunan ifrazat zülalını ER membranına hədəf etdikdən sonra, ribosom və yeni sintez olunan zəncir sürətlə, ER membranı daxilinə batmış kanalı əmələ gətirən zülallar kompleksindən təşkil olunmuş **translokona** keçirilirlər. Translyasiya davam etdikcə uzunayan (elonqasiya edən) zəncir ribosomun böyük subvahidindən birbaşa translokondan mərkəzi məsaməsinə keçir. 60S ribosom subvahidi translokondan məsaməsi ilə elə düzülmüşdür ki, uzunayan zəncir

heç vaxt sitoplazmanı görmür və ona görə də ER lümeninə çatana qədər onun bükülməsinə mane olunur (bax Şəkil 13-6).

Translokasiya ilk dəfə, Sec61α-nı kodlaşdıran maya genində, ifrazat zülalının ER lümeninə translokasiyasının blok olunmasına səbəb olan mutasiyalar vasitəsi ilə identifikasiya olunmuşdur. Bundan sonra, aşkar olunmuşdur ki, Sec61 kompleksi adlandırılan üç zülal: membrana sarıyan 10 α spirala malik olan Sec61 α inteqral membran zülalı və Sec61β və Sec61γ kimi adlandırılan iki kiçik zülal məməlilərin translokondunu əmələ gətirirlər. Hüceyrəsiz sistemlərdə kimyəvi çarpaz əlaqələndirmə eksperimentləri — hansiki yeni sintez olunan ifrazat zülalının aminturşu yan zəncirləri Sec61α subvahidinə kovalent birləşə bilirlər — göstərdilər ki, translokasiya olunan polipeptid zəncir Sec61α zülalla təmasa girir, onun translokondan məsaməsi kimi identikliyinə təsdiq edir (Şəkil 13-7).

Hüceyrəsiz translokasiya sistemində mikrosomlar yalnız SRP reseptora və Sec61 kompleksə malik olan rekonstruksiya olunmuş fosfolipid qovucuqlarla əvəz olunanda, yeni sintez olunan ifrazat zülalları SRP/ribosom kompleksindən qovucuq daxilinə translokasiya olundular. Bu kəşflər göstərdi ki, SRP reseptor və Sec61 kompleks translokasiya üçün tam tələb olunan yeganə ER-membran zülallarıdır. Bunların heç biri ATP hidroliz edə bilmədiyindən və ya translokasiya üçün başqa enerji təmin edə bilmədiyindən görünür, ribosomlarda zəncirin

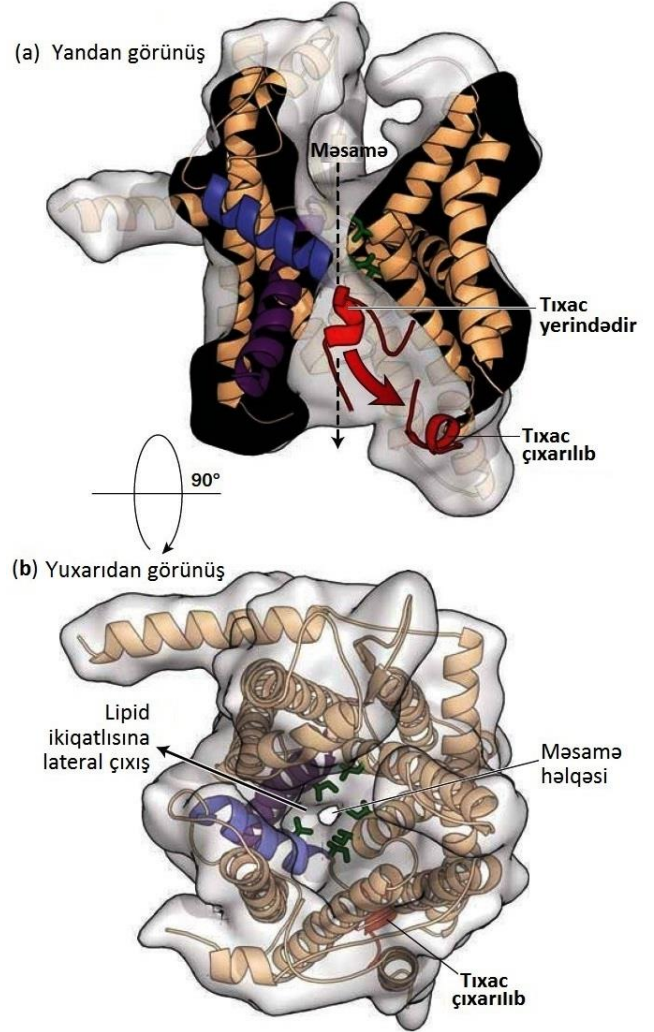
elonqasiyası zamanı ayrılan enerji membranı bir istiqamətdə kəsib keçmək üçün polipeptid zəncirini itələməyə kifayət edir.



ŞƏKİL 13-7 Sec61α translokon komponentidir. Çarpaz-əlaqləndirmə eksperimentləri göstərir ki, Sec61α, yeni zintez olunan ifrazat zülallarının ER lümeninə keçməsi üçün əlaqə yaratdığı translokon komponentidir. Prolaktin ifrazat zülalının 70 amin turşudan ibarət olan N-sonluğunu kodlaşdıran mRNT mikrosomlara malik olan hüceyrəsiz sistemdə translyasiya olundu (Şəkil 13-4b). mRNT zəncir-terminasiya edən kodona malik deyil və ardıcılığın ortasına yaxın bir lizin kodonuna malikdir. Reaksiya qatışıqları, işıqla-fəallaşan çarpaz kəşişən reagentin lizinin yan zəncirinə qoşulduğu kimyəvi modifikasiya olunmuş lizil-tRNT-yə malikdir. Baxmayaraq ki, bütöv mRNT translyasiya olundu, amma tamamlanmış polipeptid zəncirinin terminasiya kodunu olmadığından ribosomdan buraxıla bilmir və beləliklə, ER membranına “ilişmiş” vəziyyətdə qalır. Sonra reaksiya qatışığı, yeni sintez olunan zəncirin translokonda ona yaxın olan istənilən zülala kovalent birləşməsinə səbəb olan intensiv işıq məruz qoyuldu. Eksperiment məməlilərin hüceyrəsindən alınan mikrosomlarla aparılarkən, yeni sintez olunan zülal Sec61α-ya kovalent birləşmiş olur. Prolaktin mRNT-nin başqa versiyaları elə yaradılmışdır ki, modifikasiya olunmuş lizin qalıqları ribosomdan fərqli məsafələrdə yerləşdirilir, Sec61α ilə çarpaz kəşişmə yalnız modifikasiya olunmuş lizinin translokon kanalına yaxın yerləşməsi zamanı baş verir. Bax T.A. Rapoport, 1992, *Science* 258:931 və D.Görllich and T.A.Rapoport, 1993, *Cell* 75:615

Translokon, ER membranının keçiricilik baryerini qoruyub saxlamaq üçün ATP kimi kiçik molekulalara qarşı bağlı olduğu halda geniş müxtəliflikdə polipeptid ardıcılıqlarının keçməsinə imkan verə bilməlidir. Bundan başqa, translokonu tənzimləyin elə bir yol olmalıdır ki, ilkin vəziyyətdə o bağlı olsun, yalnız ribosom-yeni sintez olunan zəncir kompleksi birləşəndə açılınsın.

Arxeobakteriyadan alınmış Sec61 kompleksinin yüksək rezolyusiyalı quruluşu translokunun membranın bütövlüyünü necə qoruyub saxladığını göstərir (Şəkil 13-8). Sec61α-nın 10 transmembran spirali, translokasiya olunan peptid zəncirlərin kəsib keçdiyi mərkəzi kanalı yaradır. Translokasiya edən peptidi Sec61α-nın qəbul etməsi üçün iki fərqli açılıb-qapanan pillə tələb olunur. 10 transmembran spiral iki 5-spirallı bağlara ayrılır.



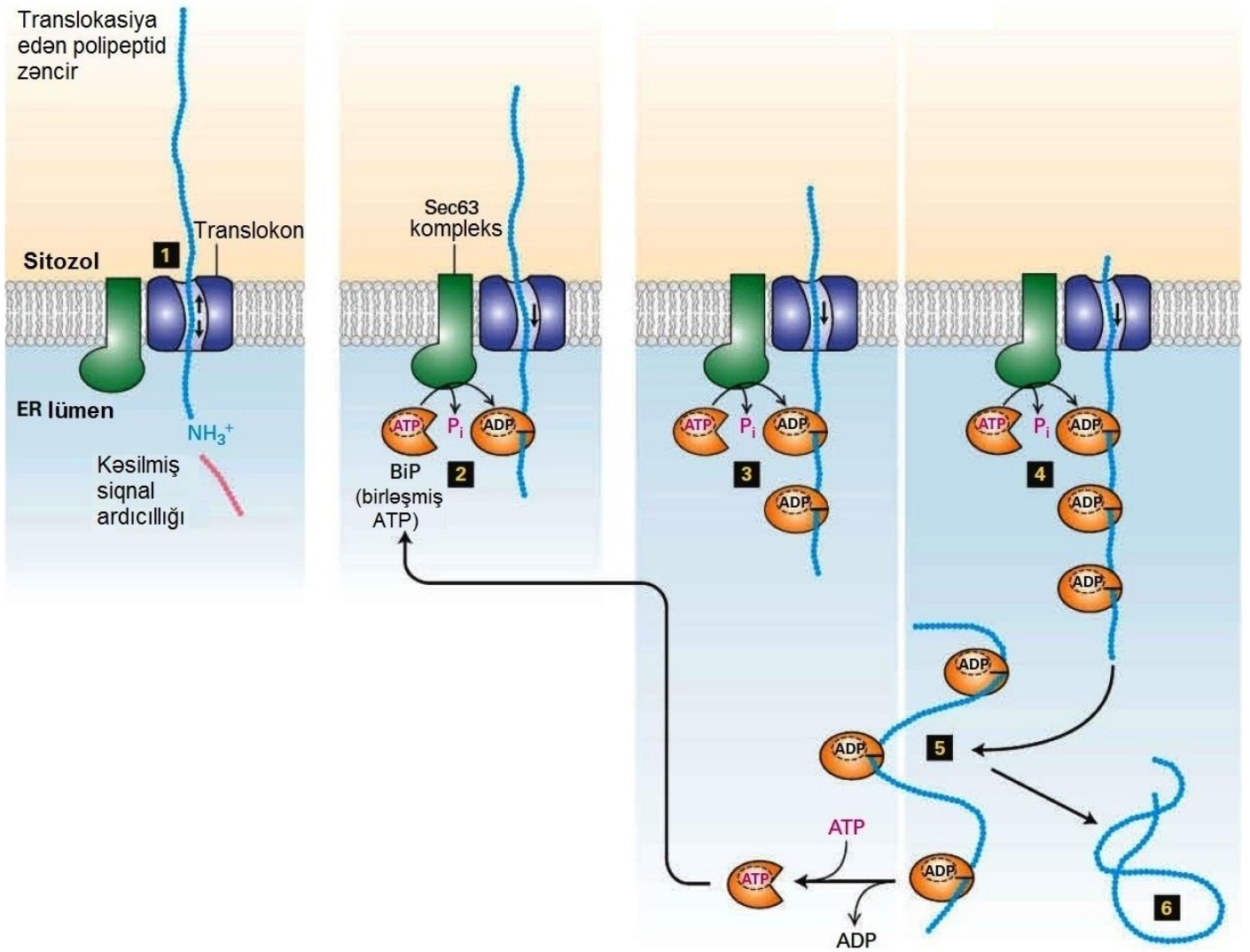
ŞƏKİL 13-8 Arxeaların Sec61 kompleksinin quruluşu.

Arxeobakteriya *M. jannaschii*-nin detergentdə həll edilmiş Sec61 kompleksinin (həmçinin SecY kompleks kimi məlumdur) quruluşu rentgen kristalloqrafiya ilə təyin edilmişdir. (a) Yandan görünüş məsamənin ortasından keçən qum saati-formalı kanalı göstərir. Məsamənin daralmış orta hissəsində izoleysin qalıqlarının halqası, hətta translokasiya edən polipeptid kanal vasitəsi ilə keçdikdə belə kanalı kiçik molekulara bağlı şəkildə saxlayan araqatını əmələ gətirir. Translokasiya edən peptid mövcud olmadıqda kanal qısa spiral tıxacla (qırmızı) qapanır. Bu tıxac translokasiya zamanı kalandan çıxır. Bu görünüşdə, məsaməni yaxşı göstərmək üçün zülalın ön yarımhissəsi çıxarılmışdır. (b) Kanalın mərkəzindən baxdıqda alınan görünüş, hidrofob transmembran domenlərin lipid ikiqatlısına lateral keçməsinə imkan verən, spiralın ayrılma biləcəyi rayonu (sol tərəfdə) göstərir. [Verilənlər B. Van-den Berg et al., *Nature* 427:36-44, PDB ID 1rhz və 1rh5.]

Birinci açılıb-qapanan pillədə bağlar sanki molyuskun zirehləri kimi kənara açıqlaraq hidrofob birləşmə cibini açıq kənardakı siqnal ardıcılığının hidrofob özəyi üçün açılmış vəziyyətə gətirir. Siqnal ardıcılığı özünün sitozola baxan N-sonluğu ilə Sec61 α ilə birləşir və uzunayan polipeptid mərkəzi kanal vasitəsilə geriə doğru ikiləşir. Translokasiya edən peptid olmadan ayrılmış və ona görə də qapalı konformasiyada olduğu hesab edilən, Sec61 kompleksinin quruluş modeli mərkəzi kanalı bağlayan (tıxayan) qısa spiral peptidin olmasını aşkar etdi. Sec61 kompleksin biokimyəvi tədqiqatları göstərdi ki, translokasiya edən polipeptid olmadıqda tıxac əmələ gətirən peptid ionların və kiçik molekulların keçməsinin qarşısını almaq üçün translokonu effektiv şəkildə qapayır. İkinci açılıb-qapanan pillədə, siqnal ardıcılığı açıq kanala birləşdikdən sonra, translokasiya edən peptid kanalın mərkəzi məsaməsinə daxil olur, tıxac peptidi kənarlaşmağa məcbur edir və translokasiyanın davam etməsinə

imkan verir. Mərkəzi məsamənin ortasındakı daralmada hidrofob izoleysin qalıqları düzölmüşdür, faktiki olaraq bu translokasiya edən peptid ətrafında araqatını əmələ gətirir və hətta translokasiya davam edən zaman translokasiya edən polipeptidlə yanaşı kiçik polyar molekulların daxilə axmasının qarşısını alır.

Böyüyük polipeptid zəncir ER lümeninə daxil olan kimi, siqnal ardıcılığı, translokonla assosiasiyada olan transmembran ER zülalı olan *siqnal peptidaza* vasitəsi ilə kəsilir (bax Şəkil 13-6, pillə 5). Siqnal peptidaza siqnal peptidin hidrofob özəyinin C-sonluq tərəfindəki ardıcılığı tanıyır və o ER lümen boşluğuna daxil olan kimi zənciri xüsusi olaraq bu ardıcılıqda kəsir. Siqnal ardıcılığı kəsildikdən sonra böyüyük polipeptid translokonla ER lümeninə keçir. Translyasiya başa çatana qədər translokon açıq qalır və tam polipeptid zəncir ER lümeninə daxil olur. Translokasiya başa çatdıqdan sonra, tıxac spiral məsaməyə qayıdır və translokon kanalını qapayır.



ŞÖKİL 13-9 Post-translyasiya translokasiyası. Bu mexanizm mayada kifayət qədər geniş yayılmışdır və yaqın ki, ali eukariotlarda arabir (vaxtaşırı) baş verir. Translokon daxilində kiçik oxlar translokasiya edən zülalların daxili və xarici istiqamətlərdə təsadüfi

sürüşmələrini təmsil edir. Polipeptidin daxil olan seqmentinə BiP•ADP-nin ardıcıl birləşməsi zəncirin bayıra sitozola sürüşməsinə mane olur. Bax K.E. Matlack et al., 1997, *Science* 277:938.

ATP Hidrolizi Mayada Bəzi İfrazat Zülallarının Post-translyasiya Translokasiyasını Gücləndirir

Eukariotların əksəriyyətində, ifrazat zülalları ER-ə kotranslyasiya translokasiyası ilə daxil olurlar. Amma, mayada bəzi ifrazat zülalları translyasiya başa çatdıqdan sonra ER lümeninə daxil olur. Bu cürə *post-translyasiya translokasiyasında*, translokasiya edən zülal kotranslyasiya translokasiyasında istifadə olunan eyni Sec61 translokondan keçir. Amma, SRP və SRP-reseptor post-translyasiya translokasiyasına daxil olurlar, və belə olan hallarda, görünür translokonda sintezi tamamlanmış zülalın siqnal ardıcılığı arasındakı birbaşa əlaqə ER membrana hədəf olunmaq üçün kifayət edir. Bundan əlavə, ER membranından keçən biristiqamətli translokasiya üçün aparıcı qüvvə, *Sec63 kompleksi* kimi məlum olan əlavə zülal komplekslər tərəfindən və **molekulyar çaperonların** (molekulyar çaperonların daha sonrakı müzakirələri üçün Fəsil 3-ə bax) Hsp70 ailəsinin BiP kimi məlum olan nümayəndəsi tərəfindən təmin olunur. Tetramer Sec63 kompleksi translokonda yaxınlığında ER membrana pərcimləndiyi (batdığı) halda BiP ER lümeni daxilində olur. Hsp70 ailəsinin başqa üzvləri kimi, BiP peptid-birləşdirən domenə və ATP-aza domeninə malikdir. Bu çaperonlar bükülməmiş və ya qismən bükülmüş zülallara birləşərək onları stabilləşdirir (bax Şəkil 3-17).

Zülalın ER-ə post-translyasiya translokasiyası üçün müasir model Şəkil 13-9-da təsvir edilmişdir. Zülalın N-sonluqlu seqmenti ER lümeninə daxil olduqdan sonra, kotranslyasiya translokasiyasında olduğu kimi, siqnal peptidə siqnal ardıcılığını kəsir (pillə 1). BiP•ATP-nin Sec63 kompleksin lümenal hissəsi ilə qarşılıqlı təsiri birləşmiş ATP-nin hidrolizinə səbəb olur, BiP-də konformasiya dəyişikliyi əmələ gətirir, bu dəyişiklik onun açıq vəziyyətdə qalmış polipeptid zəncirə birləşməsinə təşviq edir (pillə 2). Sec63 kompleksi translokonda yaxınlığında yerləşdiyindən, BiP yeni sintez olunan polipeptidlərin ER-a daxil ola biləcəyi saytlarda fəallaşır. Bəzi eksperimentlər göstərir ki, bükülməmiş polipeptid BiP ilə birləşməyən halda translokonda kanalı daxilində geri və qabağa sürüşür. Belə nizamsız sürüşmə hərəkətləri nadir hallarda bütöv polipeptidin ER membranından keçməsi ilə nəticələnir. BiP•ADP molekulunun polipeptidin lümenal hissəsinə birləşməsi polipeptidin geri, ER-dən bayıra sürüşməsinə mane olur. Sonra içəriyə tərəf nizamsız sürüşmə polipeptidi daha çox ER membranın lümenal tərəfinə gətirdikcə BiP•ADP molekulalarının polipeptid zəncirinə dalbadal (ardıcıl) birləşməsi dilçək çarx (geri hərəkət etməsinə mane olan mexanizm) kimi təsir edir, nəticədə bir neçə saniyənin ərzində tam polipeptidi ER daxilində çəkir (pillə 3 və 4). Daha yavaş zaman miqyasında, BiP molekulaları onlara birləşmiş ADP molekulalarını ATP ilə nizamsız dəyişərək polipeptidin buraxılmasına səbəb olurlar, o da sonra öz nativ konformasiyasına bükülür (pillə 5 və 6). Təkrar istifadəyə gedən BiP•ATP sonra Sec63 ilə yeni qarşılıqlı əlaqəyə hazır olur. BiP və Sec63 kompleksi kotranslyasiya translokasiyasında da tələb olunur. Bu prosesdə onların rolunun detalları hələ tam aydın deyil, amma güman olunur ki, onlar prosesin, siqnal peptidlərinin translokonda məsələləri daxilində düzülməsi kimi erkən mərhələlərində fəaliyyət göstərir.

BiP ilə aparılan ümumi reaksiya, ATP hidrolizi ilə ayrılan kimyəvi enerjinin zülalların membrandan mexaniki keçməsinə necə həyata keçirdiyinə aid çox əhəmiyyətli nümunədir.

Bakterial hüceyrələr də, tamamlanmış zülalların plazma membranından translokasiyası üçün, indiki halda hüceyrədən buraxılması üçün ATP-ə idarə olunan proseslərdən istifadə edirlər. Bakteriyalarda translokasiya üçün aparıcı qüvvə, SecA zülalı kimi məlum olan sitozol ATP-azalardan gəlir. SecA translokonda sitoplazmatik tərəfinə birləşir və sitozol ATP-ni hidroliz edir. SecA zülalı, tikiş maşınındakı iynəyə bənzər mexanizmlə, ATP hidrolizi ilə birləşən mexaniki tsiklda polipeptidin seqmentlərini membranda itələyir.

Bizim sonra görəcəyimiz kimi, başqa eukariotik orqanoid membranlarından zülalların translokasiyası, məsələn mitoxondri və xloroplastlarda olduğu kimi, adətən post-translyasiya translokasiyası yolu ilə baş verir. Bu, ribosomların qırıqlı ER şəbəkədə olduğu kimi, nəyə görə başqa orqanoidlərdə birləşmiş vəziyyətdə tapılmadığını izah edir.

13.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Zülalların ER Membranına və Membrandan Keçərək Hədəf Olunması

- İfraz olunan zülalların, inteqral membran zülallarının və ER, Qolci kompleksi və lizosomlar üçün nəzərdə tutulan zülalların sintezi, sonra ER membranına birləşərək qırıqlı ER-i əmələ gətirən sitozol ribosomlarında başlayır (bax Şəkil 13-1, *solda*).
- Yeni sintez olunan ifrazat zülalında ER siqnal ardıcılığı, N-sonluqda yerləşən hidrofob amin turşularından ibarət olan seqmentdən təşkil olunub.
- Kotranslyasiya translokasiyasında siqnal-tanıyan zərrəcik (SRP) yeni sintez olunan ifrazat zülalında əvvəlcə ER siqnal ardıcılığını tanıyır və ona birləşir, sonra öz növbəsində ER membran üzərindəki SRP reseptor tərəfindən birləşir və bununla da ribosom-yeni-sintez olunan zəncir kompleksini ER-ə hədəf edir.
- SRP və SRP-reseptor yeni sintez olunan ifrazat zülalının translokonda (Sec51 kompleksə) keçməsinə həyata keçirir. İki molekul GTP-nin SRP və onun reseptoru ilə hidrolizi SRP-nin dissosiasiyasına səbəb olur (bax Şəkil 13-5 və 13-6). Ribosom translokonda bağlanan kimi, translyasiya davam edir, bükülməmiş zülal zənciri itələnərək ER lümeninə salınır. Translokasiya üçün əlavə enerji tələb olunmur.
- Translokonda hidrofob qalıqların düzülüyü mərkəzi kanala malikdir, kiçik hidrofob molekulalara və ionlara qarşı qapalı olduğu halda, buradan həmişə bükülməmiş zülal zəncirləri keçir. Bundan başqa, kanal həmişə elə qapalı olur ki, o yalnız polipeptid translokasiya edən zaman açılır.
- Post-translyasiya translokasiyasında başa çatmış ifrazat zülalı, siqnal ardıcılığının translokonda qarşılıqlı təsiri nəticəsində ER membrana hədəf olunur. Polipeptid zəncir, sonra polipeptidin daxil olmasını stabilləşdirən çaperon BiP vasitəsilə ATP hidrolizini tələb edən dilçək çarx mexanizmi ilə ER daxilində itələnilir (bax Şəkil 13-9). Bakteriyalarda, post-translyasiya translokasiyası üçün aparıcı qüvvə, polipeptidləri itələyərək translokonda kanalından keçirən SecA sitozol ATP-azasından gəlir.
- Həm kotranslyasiya həm də post-translyasiya translokasiyasında ER membranındakı siqnal peptidə, ifrazat zülalının N-sonluğu lümenə daxil olduqdan dərhal sonra ER siqnal ardıcılığını ifrazat zülalından kəsib ayırır.

13.2 Membran Zülalının ER-ə Daxil Edilməsi

Biz əvvəlki fəsilərdə, bütün hüceyrədə mövcud olan inteqral (transmembran) zülallarının geniş sırası ilə rastlaşdıq. Hər bir belə zülal membranın fosfolipid ikiqatlısı ilə münasibətdə unikal orientasiyaya malikdir. ER-də, Qolcidə və lizosomlarda yerləşən inteqral membran zülalları, həmçinin hamısı qırışlı ER-də sintez olunan plazma membran zülalları, həll olan ifrazat zülallarının keçdiyi eyni yolla son məkanlarına çatana qədər öz unikal orientasiyaları ilə membrana yüklənmiş şəkildə qalırlar (bax Şəkil 13-1, *solda*). Bu daşınma zamanı, membran zülalının orientasiyası həmişə qorunub saxlanılır, belə ki, zülalın eyni seqmenti həmişə sitozola baxdığı halda başqa seqmenti həmişə əks tərəfə baxır. Beləliklə, membran zülallarının son orientasiyası onların ER membranında biosintezi zamanı qurulur. Bu bölmədə biz, əvvəlcə zülalların membranla necə əlaqəyə girdiyinə baxırıq, sonra isə ümumilikdə **topogen ardıcılıqlar** kimi tanınan bir sıra müxtəlif tip ardıcılıqların membrana necə birbaşa keçirildiyini və müxtəlif sinif inteqral zülallarının inteqrasiyasına baxacağıq. Bu proses, həll olan ifrazat zülallarının ER membranından translokasiyası zamanı istifadə olunan əsas mexanizmin modifikasiyası yolu ilə baş verir.

İnteqral Membran Zülallarının Birneçə Topoloji Sinifi ER Membranında Sintez Olunur

Membran zülallarının topologiyası, polipeptid zəncirinin membrana sarındığı dəfələrin sayı və membrana sarınan bu seqmentlərin membran daxilində orientasiyasıdır. Zülalın topologiyasını təyin edən əsas zülal elementi onun membrana-sarınan seqmentləridir, adətən bu, fosfolipid ikiqatlısının hidrofob daxilində energetik cəhətdən əlverişli qarşılıqlı əlaqəyə kömək edən 20-25 hidrofob amin turşusu qalıqlarından ibarət olan α spirallardır.

İnteqral membran zülallarının əksəriyyəti Şəkil 13-10-da təsvir olunan beş topoloji siniflərin birinə düşür. Topoloji sinif I, II, III və quyruqla-lövbər edən zülallar *membranı bir dəfə kəsib keçən* zülalları təşkil edirlər və yalnız bir membrana-

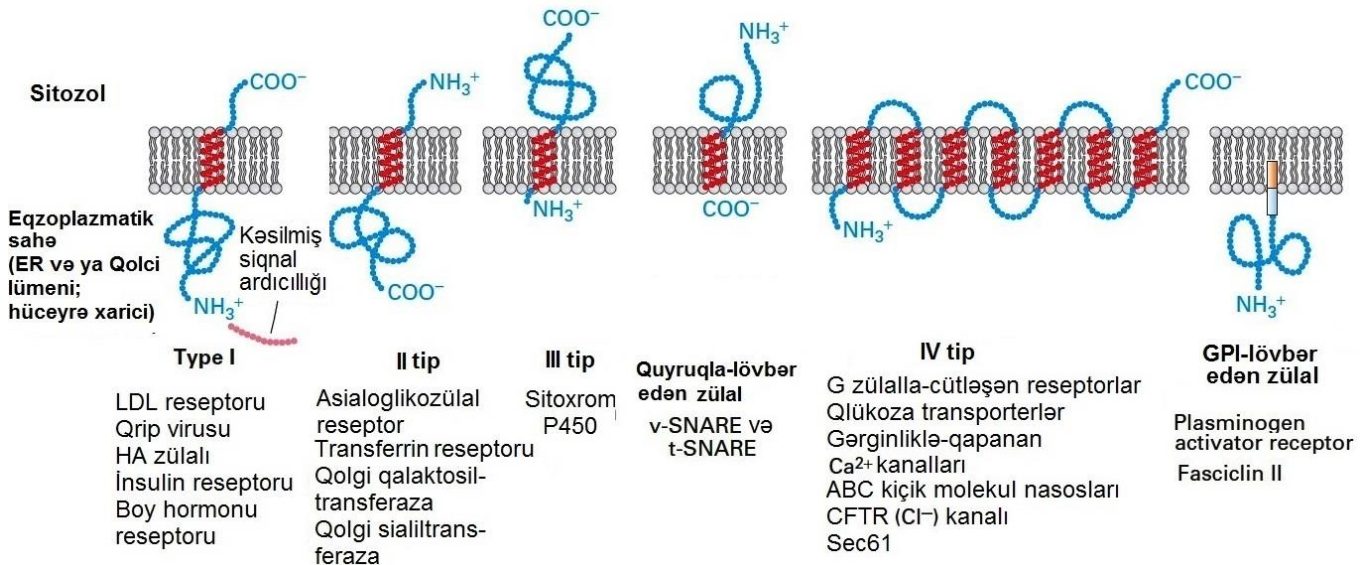
sarınan α spiral seqmentinə malikdirlər. I tip zülalların kəsilməmiş N-sonluqlu ER siqnal ardıcılığı vardır və membranda öz hidrofob N-sonluq rayonu ilə lüminal üzə (eqzoplazmatik üz kimi də məlumdur) və hidrofob C-sonluq rayonu ilə sitozol üzə olmaqla lövbər etmişdir. II tip zülallar kəsilə bilən ER siqnal ardıcılığına malik olurlar və hidrofob N-sonluqları ilə sitozol üzə, hidrofob C-sonluqlu rayonu ilə eqzoplazmatik üzə (yəni I tip zülallara əks istiqamətdə) orientasiya olunmuşlar. III tip zülallar, N-sonluğunda hidrofob membrana-sarınan seqmentə malikdir, ona görə də I tip zülallarla eyni orientasiyaya malikdirlər, amma kəsilə bilən siqnal ardıcılığına malik deyillər. Nəhayət, quyruqla-lövbər edən zülallar C-sonluqlarında membrana sarınan hidrofob seqmentlərə malikdirlər. Bu fərqli topoloqlar, növbəti bölmədə müzakirə edəcəyimiz kimi, transmembran seqmentləri membran orientasiyasını yaratmaq üçün hüceyrə tərəfindən istifadə olunan fərqli mexanizmləri əks etdirirlər.

IV topoloji sinifi əmələ gətirən zülallar iki və daha artıq membrana sarınan seqmentlərə malikdirlər və bəzən onları *çoxkəsibkeçən membran zülalları* adlandırırlar. Məsələn, Fəsil 11-də müzakirə olunan çox membran nəqliyyat zülalları və Fəsil 15-də müzakirə olunan çox saylı G zülallarla-cütləşən reseptor zülalları bu sinifə aiddirlər.

Bəzi lipidə-lövbər edən membran zülalları da ER-də sintez olunurlar. Bu membran zülalları bütünlüklə membrana-sarınan hidrofob seqmentə malik deyillər, əksinə bu zülallar, membrana batmış amfipatik fosfolipid lövbərlə əlaqəlidirlər (Şəkil 13-10, *sağda*).

Daxili Stop-Ötürmə Lövbəri və Siqnal-Lövbər Ardıcılığı Birdəfə-Keçən Zülallarda Topologiyayı Təyin Edir

Biz müzakirəmizə, tək bir hidrofob membrana-sarınan seqmentə malik olan inteqral zülalları membrana daxil etməklə membran zülalı topologiyasının necə təyin edilməsi ilə başlayırıq. ER membranında I tip zülalların hədəf olunmasına və orientasiyasına iki ardıcılıq daxil olduğu halda, II və III tip zülallar tək bir daxili topogenik ardıcılığa malik olurlar. Bizim



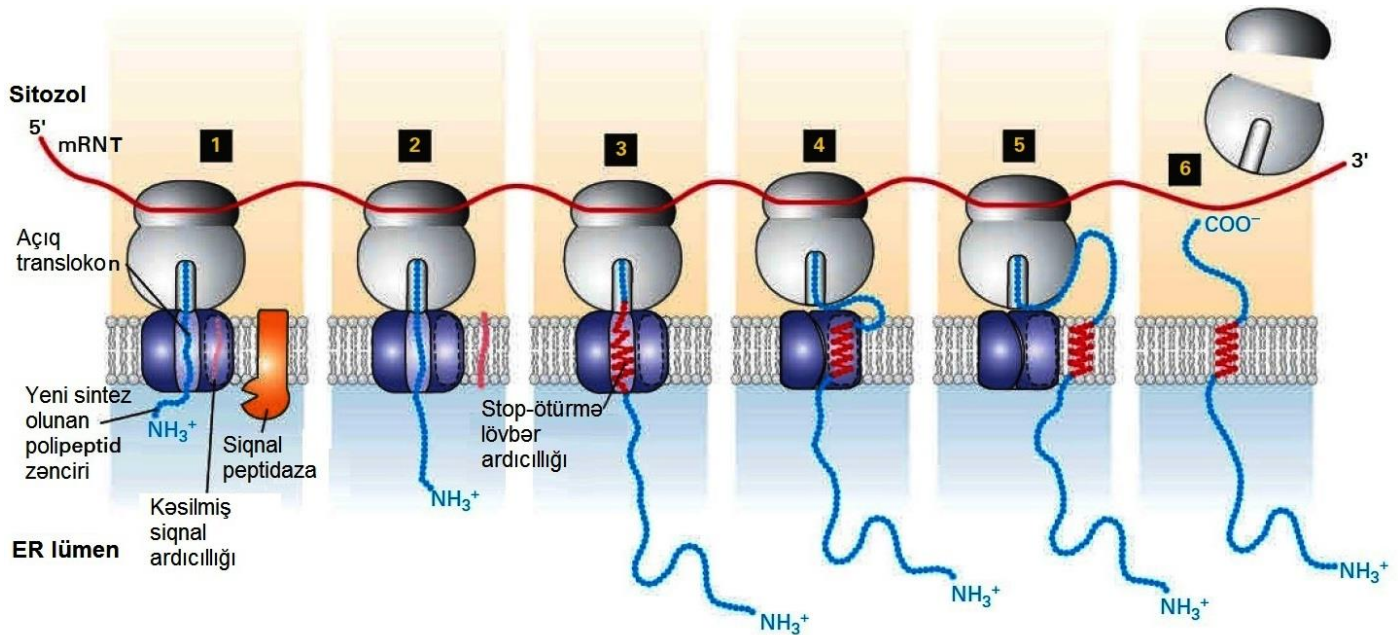
ŞƏKİL 13-10 ER membran zülallarının sinifləri. İnteqral membran zülallarının beş topoloji sinifi qırıqlı ER-də sintez olunurlar, eləcə də altıncı tip fosfolipid lövbərlə membrana bağlanmışdır. Membran zülalları membrandakı orientasiyalarına görə və tələb olunan yərə yönəltmək üçün malik olduqları siqnalın tipinə görə təsnifləşdirilir. İnteqral membran zülalları üçün zülal zəncirinin hidrofob seqmentləri, membran ikiqatlısına yüklənmiş α spirali əmələ gətirirlər, membrandan kənar qalan rayonlar hidrofildirlər və

görəcəyimiz kimi, zülalları ER membrana yönəldən və onları membran daxilində orientasiya edən üç tip topogenik ardıcılıq vardır. Biz artıq onlardan birini, N-sonluqlu siqnal ardıcılığını təqdim etmişik. Burada təqdim olunan iki digər ardıcılıq, *stop-ötürmə lövbəri* və *siqnal-lövbər ardıcılıqlarıdır*. Siqnal ardıcılığından fərqli olaraq, bu iki tip daxili topogenik ardıcılıq membrana-sarınan seqmentlər kimi yetkin zülaldə qalır. Amma, bu iki tip membrandakı son orientasiyasına görə fərqlənirlər.

I tip zülallar Bütün I tip transmembran zülalları onları ER-ə hədəf edən N-sonluqlu siqnal ardıcılığından başqa, membrana-sarınan α spirali əmələ gətirən daxili hidrofob ardıcılığa da malikdirlər. Yeni sintez olunan I tip zülaldə N-sonluqlu siqnal ardıcılığı, həll olan ifrazat zülallarında olduğu kimi, SRP və SRP reseptorların birgə fəaliyyəti ilə zülalın kotranslyasiya translokasiyasını inisiasiya edir. Uzunayan polipeptidin N-sonluğu ER lümeninə daxil olduqdan sonra, siqnal ardıcılığı kəsilir və uzunayan zəncir ER membranından keçərək uzunamaqda davam edir. Amma, yeni sintez olunan zəncirin

müxtəlif konformasiyalarda bükülürlər. Bütün IV tip zülallar çoxsaylı α spirallara malikdirlər. Burada göstərilən IV tip topologiya G-zülallarla cütləşən reseptora: membranın eqzoplazmatik tərəfində N-sonluğu və sitozol tərəfində C-sonluğu olan yeddi α spirallara uyğun gəlir. Başqa IV tip zülallar müxtəlif sayda spirallara və müxtəlif orientasiyada C- və N-sonluqlara malik olurlar. Bax E. Hartman et al., 1989, *Proc.Nat.Acad.Sci.USA*86:5786 və C.A.Brown and S.D. Black, 1989, *J.Biol.Chem.* 264:4442.

transmembran domenini əmələ gətirən, təxminən 22 hidrofob amin turşusu ardıcılığı translokona daxil olarkən o zülalın kanaldan keçərək ötürülməsini dayandırır, transmembran seqmentinin kanaldan membran daxilinə lateral keçməsinə imkan verir (Şəkil 13-11). Lateral hərəkət etməyə imkan verən qapı mexanizmi siqnal ardıcılığını qəbul etmək üçün translokunun açılması ilə eyni mexanizmdir: Sec61 α həcəmənin iki beş-spirallı bağı (*bundle*) açılaraq hidrofob transmembran seqmentin translokunun açıq kənarı ilə lateral istiqamətdə hərəkət edərək hidrofob siqnal ardıcılığını birləşdirən saytın yanından keçməsinə imkan verir (bax Şəkil 13-8). Peptid bu yolla translokondan çıxanda, transmembran seqmentin hidrofobluğu onu membranın hidrofob fosfolipid ikiqatlı daxilinə lövbər edir (bağlayır). Belə bir ardıcılıq ikili fəaliyyətinə – həm polipeptid zəncirin translokondan keçməsinə dayandırmasına görə, həm də membran ikiqatlısında hidrofob transmembran seqmqtə çevrilməsinə görə onu *stop-ötürmə lövbər ardıcılığı* adlandırırlar.



ŞƏKİL 13-11 Bir dəfə kəsib keçən I tip zülalların membrana daxil edilməsi və yönəlməsi. Pilla1: Yeni sintez olunan polipeptid zənciri-ribosom kompleksi ER membranda translokona assosiasiya etdikdən sonra, N-sonluqlu siqnal ardıcılığı kəsilir. Bu proses, həll olan ifrazat zülallarındakı proses ilə eyni mexanizmlə baş verir (bax Şəkil 13-6). Pilla2, 3: Polipeptid zəncir hidrofob stop-ötürmə lövbər ardıcılığı sintez olunana və translokona daxil olana qədər elonqasiya edir, burada o, yeni sintez olunan zəncirin ER lümeninə daxilində girməsinə mane olur.

Pilla4: Stop-ötürmə lövbər ardıcılığı translokun subvahidləri arasında hidrofob yarıqla lateral hərəkət edir və fosfolipid ikiqatlısına lövbər etmiş olur. Pilla5: Sintez davam etdikcə elonqasiya edən zəncir ilgək kimi əylərkən ribosomla translokun arasındakı kiçik boşluqdan sitozola çıxır. Pilla6: Sintez tamamlandıqdan sonra, ribosomal subvahidlər sitozola buraxılır və membrana lateral diffuziya etmək üçün zülal sərbəst buraxılır. Bax H.Do et al., 1996, *Cell*85:369, və W. Mothes et al., 1997, *Cell*89:523.

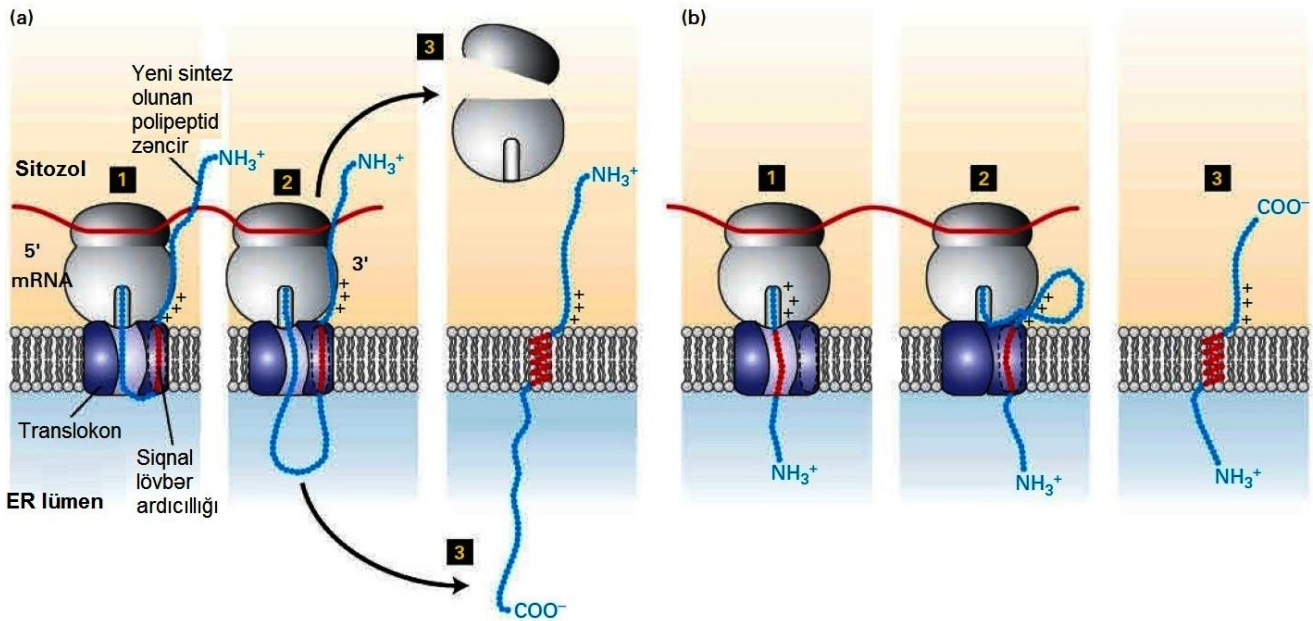
Translokasiya qırıldıqdan sonra, translyasiya indi tutulmamış və qapalı olan translokona birləşmiş ribosomda hələ də davam edir. Zülalın C-sonluğu sintez olunan kimi, o ilgək kimi membranın sitozol tərəfinə çıxır. Translyasiya tamamlandıqdan sonra ribosom translokondan buraxılır və yeni sintez olunan I tip zülalın C-sonluğu sitozolda qalır.

Bu mexanizmin dəstəklənməsi insanın müxtəlif boy (inkışaf) hormonunun (HGH) mutant reseptorlarını kodlaşdıran kDNT-lərin məməlilərin kultura olunan hüceyrələrində ekspressiya olunmasının tədqiqatlarından gəlmişdir. Tipik I tip zülal olan təbii formalı HGH reseptor normal halda plazma membranına daşınır. Amma, vahid membrana-sarınan seqmentinə yüklü qalıqlar daxil edilən və ya seqmentinin çox hissəsi çatışmayan mutant reseptor zülalı bütövlükdə ER lümeninə translokasiya olunur və sonda həll olan zülal kimi hüceyrədən ifraz olunur. Bu tip eksperimentlər aşkar etdi ki, HGH reseptorun və başqa I tip zülalların hidrofob membrana-sarınan α spirali həm stop-ötürmə lövbər ardıcılığı kim, həm də zülalın C-sonluğunun ER membranını kəsib keçməsinə mane olan membran lövbəri kimi fəaliyyət göstərir.

II Tip və III Tip zülallar I tip zülallardan fərqli olaraq II tip və III tip zülallarda kəsilib bilən N-sonluq ER siqnal ardıcılığı yoxdur. Əvəzində, hər ikisi həm ER siqnal ardıcılığı həm də membran lövbəri kimi fəaliyyət göstərən bir daxili *siqnal-lövbəriardıcılığına* malikdirlər. Xatırladaq ki, II tip və III tip

zülallar membranda əks orientasiyaya malikdirlər (bax Şəkil 13-10), bu fərq onların translokon daxilində güman olunan müvafiq siqnal-lövbəri ardıcılığının orientasiyasından aslıdır. II tip zülallarda daxili siqnal-lövbər ardıcılığı, siqnal ardıcılıqları üçün təsvir olunmuş eyni SRP-dən-asılı olan mexanizmdən istifadə edərək yeni sintez olunan zəncirin ER membrana daxil edilməsini elə istiqamətləndirir ki, zəncirin N-sonluğu sitozola baxmış olsun (Şəkil 13-12a). Amma, daxili siqnal-lövbər ardıcılığı *kəsilmir* və tədricən sonda translokon kənarında siqnal ardıcılığı-birləşdirən saytdan birbaşa fosfolipid ikiqatlısının daxilinə lateral hərəkət edir və burada membran lövbəri kimi fəaliyyət göstərir. Elonqasiya davam etdikcə, böyüyən zəncirin C-sonluq rayonu kotranslyasiya translokasiyası yolu ilə translokon vasitəsi ilə sıxışdırılaraq ER lümeni daxilinə keçirilir.

III tip zülallar olan halda, N-sonluq yaxınlığında yerləşən siqnal-lövbər ardıcılığı yeni sintez olunan zənciri N-sonluğu lümenə tərəf baxmaqla ER membranına keçirir, bu II tip zülalların siqnal-lövbər ardıcılığının istiqamətinə əksdir. III tip zülalların siqnal-lövbər ardıcılığı da həmçinin, stop-ötürmə ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərir və yeni sintez olunan zəncirin daha sonra ER lümenindən ekstruziyasına (sıxışdırılaraq çıxarılmasına) mane olur (Şəkil 13-12b). Zəncirin C-sonluğunun siqnal-lövbə ardıcılığına doğru fasiləsiz gedən elonqasiyası, I tip zülallarda olduğu kimi, polipeptidi ER membranında lövbər etmək üçün translokondan kənara lateral hərəkət edən hidrofob ardıcılıqla davam edir (bax Şəkil 13-11).



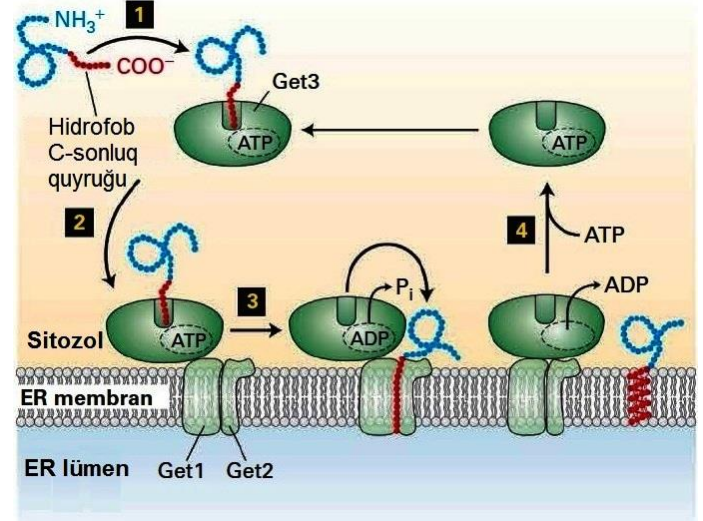
ŞƏKİL 13-12 Bir dəfə kəsib keçən II tip və III tip transmembran zülalların membrana daxil edilməsi. (a) II tip zülallar. Pilla1: Sitozol ribosomunda daxili siqnal-lövbər ardıcılığı sintez olunduqdan sonra o, ER membranda olan SRP reseptora birləşən SRP ilə birləşir (göstərilmir). Bu proses, hidrofob siqnal ardıcılığı N-sonluğunda olmayanlar və uyğun olaraq kəsilməyənlər istisna olmaqla həll olan ifrazat zülallarının hədəf olunması ilə oxşardır. Yeni sintez olunan zəncir translokon daxilində N-sonluq hissəsi sitozol istiqamətində olmaqla orientasiya olunur. Bu orientasiya, siqnal-lövbər ardıcılığında N-sonluqda göstərilən müsbət yüklənmiş qalıqlar vasitəsi ilə həyata keçirilir (məcbur edilir). Pilla2: Zəncir elonqasiya etdikcə və lümen daxilinə tərəf sıxıldıqca daxili siqnal-lövbər translokon

subvahidləri arasındakı yarıqla kənara lateral hərəkət edir və zənciri fosfolipid ikiqatlısı daxilində bərkidir. Pilla3: Zülal sintezi tamamlandıqdan sonra, polipeptidin C-sonluğu lümenə buraxılır, ribosomal subvahid isə sitozola buraxılır. (b) III tip zülallar. Pilla1: Daxil edilmə II tip zülallarda olduğu kimi oxşar yolla baş verir, istisna odur ki, siqnal-lövbər ardıcılığının C-sonluq tərəfindəki müsbət yüklənmiş qalıqları transmembran seqmentin translokon daxilində orientasiyasına elə edir ki, onun C-sonluq hissəsi sitozola, N-sonluq tərəfi isə ER lümeninə yönəlsin. Pilla2, 3: Polipeptid zəncirin C-sonluq hissəsinin elonqasiyası sitozolda tamamlanır və ribosom subvahidləri buraxılır. Bax M.Spiess and H.F.Lodish, 1986, *Cell*44:177 və H. Do et al., 1996, *Cell*85:369.

II tip və III tip zülallar arasında əsas fərq hidrofob transmembran seqmentin Sec61 α -nın kənarında hidrofob siqnal-ardıcılığı birləşdirən sayta birləşməsi zamanı yönəlməsidir. Siqnal-lövbəri ardıcılıqlarının onların orientasiyasını təyin edən əsas xüsusiyyətlərindən biri, hidrofob seqmentin bir ucu yaxınlığında yerləşən müsbət yüklü amin turşularının yüksək sıxlığının olmasıdır. Bu müsbət yüklənmiş qalıqlar membranı kəsib ER lümenə keçməkdənsə membranın sitozol tərəfində qalmağa daha meyillidirlər. Beləliklə yüklü qalıqların mövqeyi siqnal-lövbəri ardıcılığının translokon daxilində orientasiyasını və eləcə də, polipeptid zəncirin qalan hissəsinin ER lümeni daxilinə keçməsinin davam edib-etməməsini şərtləndirir (diktə edir): II tip zülallar öz siqnal-lövbər ardıcılığının N-sonluğunda müsbət yüklənmiş qalıqlara malik olmağa meyillidirlər, sitozolda N-sonluğu yönəldirlər və C-sonluq tərəfin ER daxilinə keçməsinə imkan verirlər (Şəkil 13-12a), halbuki III tip zülallar öz siqnal-lövbər ardıcılığının C-sonluğunda müsbət yüklü qalıqlara malik olmağa meyillidirlər, C-sonluq isə sitozolla məhdudlaşır (Şəkil 13-12b). Qeyd edək ki, II tip siqnal-lövbər ardıcılığının hidrofob seqmenti Sec61 α -da ifraz olunan zülalın siqnal ardıcılığı ilə eyni orientasiyanı alır və əksər cəhətdən bu siqnal-lövbər ardıcılıqları özlərini eynilə siqnal ardıcılıqları kimi aparırlar, hərçəndki onlar kəsilmirlər.

Membran orientasiyasının təyin edilməsində cinah yükün əhəmiyyətinin heyrətəməz experimental nümayiş olunması, qrip virusunun qabıqsəthindəki II tip zülal neyroaminidaza ilə təmin edilmişdir. Neyroaminidazada üç arginin qalığı məhz daxili siqnal-lövbər ardıcılığının N-sonluğunda yerləşir. Müsbət yüklənmiş bu üç qalığın mənfi yüklənmiş qlutamat qalıqlarına mutasiya olunması neyroaminidazanın əks orientasiyanı almasına səbəb olur. Oxşar eksperimentlər göstərdilər ki, ya II tip ya da III tip orientasiyalı başqa zülalların da ER membranda yönəlmələrini, daxili siqnal-lövbər seqmentininin yüklü cinah qalıqlarını mutasiya etməklə “çevirmək” (“flip”) olar.

Quyruqla-Lövbər edən Zülallar Bu vaxta qədər nəzərdən keçirdiyimiz zülalların bütün topoloji sinifləri üçün membrana keçirilmə, SRP-nin hidrofob topogenik peptidi ribosomdan çıxan kimi tanınması ilə başlanır. C-sonluğunda tək bir hidrofob topogenik seqmentə malik olan quyruqla-lövbər edən zülalların tanınması unikal bir problemi təmsil edir, çünki hidrofob C-sonluğun tanınması yalnız translyasiya başa çatdıqdan və zülal ribosomdan buraxıldıqdan sonra mümkün olur. Quyruqla-lövbər edən zülalların ER membranına keçirilməsi SRP, SRP reseptor və ya translokondan istifadə etmir, əksinə, Şəkil 13-13-də təsvir edilən, bu məqsəd üçün həsr olunmuş yoldan asılıdır. Quyruqla-lövbər edən zülalların hədəf olunmasında, quyruqla-lövbər edən zülalların hidrofob seqmentinin C-sonluğuna birləşən və Get3 kimi məlum olan ATP-ə iştirak edir. Quyruqla-lövbər edən zülalla birləşmiş Get3 kompleksi, Get1/Get2 kimi məlum olan dimer integral membran reseptoru ilə ER membranına bərkidilir. Quyruqla-lövbər edən zülal Get3 kompleksdən ayrılır və Get1/Get2 kompleks quyruqla-lövbər edən zülalın ER membranakeçirilməsində iştirak edir. Bu proses mexaniki olaraq II tip və III tip siqnal-lövbər ardıcılıqlarının SRP və SRP reseptor vasitəsilə ER-ə hədəf olunmasına oxşardır. Bu iki hədəf olunma prosesinin əsas fərqi odur ki, Get3 hədəfə birləşir və quyruqla-lövbər edən zülalı ATP-hidrolizinə birləşdirir, halbuki SRPzülalın hədəf olunmasını GTP hidrolizi ilə birləşdirir.



ŞƏKİL 13-13 Quyruqla-lövbər edən zülalların keçirilməsi. C-sonluqlu quyruqla-lövbər edən zülallarda hidrofob C-sonluğun membrana daxil edilməsi zülalın tam sintez olunub qurtarmasına qədər və zülal ribosomdan azad olana qədər mümkün deyil. Pilla1: Get3 ATP birləşmiş vəziyyətdə zülalın hidrofob C-sonluq quyruğuna birləşir. Bu birləşmə reaksiyası üç başqa zülalın – Sgt2, Get4 və Get5 zülalların kompleksi ilə həyata keçirilir, bu zaman, hidrofob C-sonluqlu quyruğu Get3-ATP-yə keçirməzdən öncə ayırır (burada göstərilir). Pilla2: Get3-ATP-nin zülala birləşmiş üçlü kompleksi, ER membranına batmış dimer Get1/Get2 reseptorun üstünə oturur. Pilla3: Ardıcıl olaraq, ATP hidroliz olunur və ADP Get3-dən buraxılır. Eyni vaxtda, hidrofob C-sonluq quyruğu Get3-dən buraxılır və sonda Get1/Get2 ilə həyata keçirilən proseslə ER membranına batır (yüklənir). Pilla4: Get3 ATP-yə birləşir və Get3-ATP həll olan formada Get1/Get2 kompleksindən ayrılır, hidrofob C-sonluq quyruğa birləşməyin yeni dövrəsinə hazır olur.

Üstəlik, SRP reseptor SRP-ribosom kompleksini ER-ə səfərbər edir və ayrıca bir pillədə translokon siqnal-lövbər ardıcılığını membrana keçirir, halbuki Get1/Get2 kompleks hər iki funksiyayı aydın şəkildə yerinə yetirir, Get3-ü ER membranına səfərbər edir və quyruqla-lövbərin membran ikiqatlısına daxil edilməsini kataliz edir.

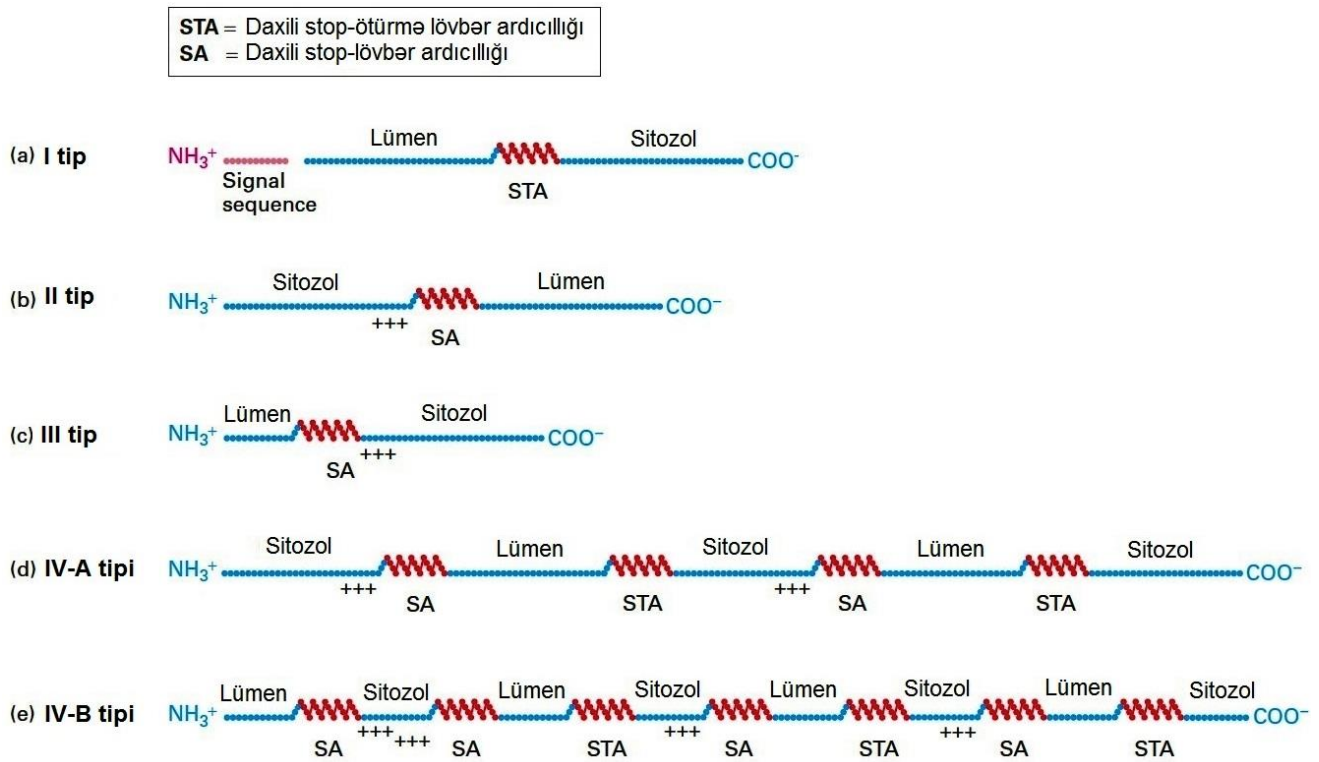
Çoxkəsibkeçən Zülallar Çoxsaylı Daxili Topogenik Ardıcılığa Malikdirlər

Şəkil 13-14 membranı bir dəfə- və çox-kəsibkeçən transmembran zülalların topogenik ardıcılıqlarının düzülüşünü ümumiləşdirir. Çox sayda kəsib keçən (IV tip) zülallarda hər bir membrana sarıyan α spiral, bizim artıq müzakirə etdiyimiz yolla topogenik ardıcılıq kimi fəaliyyət göstərə bilər: onlar zülalı ER membranına yönəldə bilər və zülalı membrana lövbər etmə kimi və ya zülalın membrandan keçirilməsini dayandırmaq kimi fəaliyyəti yerinə yetirə bilər. Çoxkəsibkeçən zülallar, N-sonluğun sitozolda və ya eqzoplazmatik boşluqda (məsələn, ER lümeni, hüceyrə xarici) qalmasından asılı olaraq iki tipdən birinə daxil olurlar. Bu N-sonluq topologiyası, adətən N-sonluğa yaxın olan hidrofob seqmentlərlə və ona cinah olan ardıcılıqların yükü ilə təyin olunur. Əgər IV tip zülal *cüt* sayda transmembran α spirallara malik olursa, onun həm N- həm də C-sonluqları membranın eyni tərəfinə orientasiya olunur (Şəkil 13-14d).

Əksinə IV tip zülallar tək sayda α spirallara malik olursa, onda onların bu iki sonluqları membrandan əks tərəflərə orientasiya olunurlar (Şəkil 13-14e).

N-Sonluğu Sitozolda Olan IV Tip Zülallar N-sonluğu sitozola uzanan çoxkəsibkeçən zülallar arasında, Fəsil 11-də müzakirə olunan müxtəlif qlükoza transporterlərini və əksər ion-kanalı zülallarını göstərmək olar. Bu zülallarda, N-sonluğa çox yaxın olan hidrofob seqment yeni sintez olunan zəncirin, N-sonluğu sitozola istiqamətlənməklə ER membrana daxil edilməsini inisiyasiya edir, beləliklə, bu α -spiral seqment II tip zülalların daxili siqnal-lövbər ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 13-12a). Yeni sintez olunan zəncir birinci α spiralın ardınca uzunanda, o, ikinci hidrofob α spiral formalaşana qədər translokondan keçir. Bu spiral yeni sintez olunan zəncirin translokonda daha sonra davam edən sıxışdırılıb çıxarılmasına (ekstruziyasına) mane olur, beləliklə o, I tip zülallarda stop-ötürmə lövbər ardıcılığının fəaliyyətinə oxşar şəkildə fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 13-11).

Birinci iki α transmembran spiralın sintezindən sonra, yeni sintez olunan zəncirin hər iki ucu sitozola baxır və onlar arasındakı ilgək ER lümeninə uzanır. Yeni sintez olunan zəncirin C-sonluğu sonra, I və III tip zülallarda olduğu kimi sitozola uzanmaqda davam edir. Bu mexanizmə görə, üçüncü α -spiral başqa bir II tip siqnal-lövbər ardıcılığı kimi, dördüncü α -spiral isə başqa bir stop-ötürmə lövbər ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərir (Şəkil 13-14d). Görünür, çoxkəsibkeçən polipeptidin birinci topogenik ardıcılığı translokonda assosiasiyası inisiyasiya edir, ribosom translokona qoşulmuş vəziyyətdə qalır və bundan sonra ribosomdan çıxan topogenik ardıcılıqlar SRP və SRP reseptorun iştirakı lazım olmadan translokonda daxilinə düzülür. Hələ tam aydın olmayan üsulla, yeni hidrofob topogenik ardıcılıqlar translokonda tutarkən öncə tutmuş ardıcılıqlar I tip, II tip və III tip membran zülallarının istifadə etdiyi mexanizmdən istifadə etməklə lateral hərəkət edərək translokondan kənara çıxırlar.



ŞƏKİL 13-14 Topogen ardıcılıqlar ER membranı zülallarının orientasiyasını müəyyən edir. Topogenik ardıcılıqlar qırmızı rənglə, həll olan hidrofob hissələr mavilə göstərilir. Daxili topogen ardıcılıqlar zülalları və ya zülalların seqmentlərini membrana lövbər edən transmembran α spiralları əmələ gətirir. (a) I tip zülallar kəsilməz siqnal ardıcılığına və tək bir daxili stop-ötürmə lövbər ardıcılığına (STA) malikdirlər. (b, c) II tip və III tip zülallar tək bir daxili siqnal-lövbəri (SA) ardıcılığına malikdirlər. Bu zülalların orientasiyası arasındakı fərq əsasən müsbət yüklənmiş amin turşularının (++++)

yüksək sıxlığının ya SA ardıcılığın N-sonluq tərəfində (II tip) ya da SA ardıcılığın C-sonluq tərəfində (III tip) olmasından asılıdır. (d, e) Təxminən bütün çox kəsibkeçən zülallarda, burada göstərilən nümunədə olduğu kimi, kəsiblə birləşən siqnal ardıcılığı olmur. N-sonluğu sitozola baxan IV-A tip zülallar növbələşən II tip S ardıcılıqlara və STA ardıcılıqlara malikdirlər. N-sonluğu lümenə baxan, IV-B tip zülallar, III tip SA ardıcılıqla başlayırlar, ardınca növbələşən II tip SA və STA ardıcılıqları gəlir. Hər bir tipin müxtəlif saylı α spirallara (tək və ya cüt) malik olan zülalları məlumdur.

Hidrofob α spiralları dəyişmək üçün rekombinant DNT metodundan istifadə edən eksperimentlər IV-A tipi çoxkəsibkeçən zülallarda topogenik ardıcılıqların fəaliyyətində

yeni baxışları təqdim etdi. Bu eksperimentlər göstərdilər ki, uzunayan zəncirdə hidrofob α spiralın bir-birinin ardınca gəlmə sırası verilmiş spiralın siqnal-lövbəri ardıcılığı kimi və yaxud

stop-ötürmə lövbəri ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərməsini təyin edir. Xüsusi bir spiraldə spesifik aminturşu ardıcılığının onun hidrofobluğundan başqa, fəaliyyətində də kiçik rolu vardır. Beləliklə birinci N-sonluqlu α spiral və ardınca gələn tək-saylı spirallar siqnal-lövbəri ardıcılığı kimi, onların arasında gələn cüt-saylı spirallar isə stop-ötürmə lövbəri ardıcılığı kimi fəaliyyət göstərirlər. Siqnal-lövbəri və stop-ötürmə lövbəri ardıcılıqları arasında bu tək-cüt münasibətləri o faktla diktə olunur ki, çox-kəsibkeçən zülallar geriye və irəliyə doğru membrana sarındıqca transmembran α spiralların alternativ orientasiyanı qəbul etməsi güman olunur, siqnal-lövbəri ardıcılığının N-sonluğu membran ikiqatlısının sitoplazmatik tərəfinə olmaqla orientasiya olunduğu halda, stop-ötürmə ardıcılıqların N-sonluqları membran ikiqatlısının eqzoplazmatik tərəfi istiqamətində orientasiya olunur. Siqnal-lövbər və stop-ötürmə lövbər ardıcılıqları arasında bu tək-cüt münasibətləri o faktla aşkar edilir ki, çoxkəsibkeçən membran zülalı membranla geriye və irəliyə doğru hərəkət etdikcə transmembran α spirallar növbələşən orientasiyanı alırlar, siqnal-lövbər ardıcılıqları öz N-sonluğu ilə membran ikiqatlısının sitoplazma istiqamətində yönəldiyi halda, stop-ötürmə lövbər ardıcılıqların N-sonluğu ikiqatlının hüceyrəxarici tərəfinə yönəlir.

N-Sonluqlu Eqzoplazmatik Tərəfə Baxan IV-Tip Zülallar, Hamısı yeddi transmembran α spirala malik olan G-zülallarla cütləşən reseptorların böyük ailəsi, N-sonluqları eqzoplazmatik məkana uzanan çoxsaylı IV-B zülalların əsas hissəsini təşkil edirlər. Bu zülallarda, N sonluğa daha çox yaxın olan hidrofob α spiralin ardınca, III tip siqnal-lövbər ardıcılığında olduğu kimi (bax Şəkil 13-12b), müsbət yüklənmiş amin turşularının klasteri gəlir. Nəticədə, birinci α spiral yeni sintez olunan zənciri, N-sonluğu lümenə tərəf uzanmaqla translokona salır (bax Şəkil 13-14e). Zəncir uzunadıqca, o, IV-A tip zülallar üçün təsvir olunduğu kimi, bir-birini əvəz edən II tip siqnal-lövbər (trutucu) ardıcılığı və stop-ötürmə ardıcılığı vasitəsi ilə ER membrana keçirilir.

Fosfolipid Lövbər Bəzi Hüceyrə-Səthi Zülallarını Membrana Bağlayır

Bəzi hüceyrə-səthi zülalları fosfolipid ikiqatlısına hidrofob ardıcılıq vasitəsi ilə deyil məhz kovalent birləşmiş amfipat molekulla, qlikozilfosfolipid inozitol (GPI) vasitəsi ilə lövbər edir (Şəkil 13-15a və Fəsil 10). Bu zülallar, tamamilə I tip transmembran zülallarda olduğu kimi, ilkin olaraq ER membrana lövbər edərək sintez olunur və proses kəsilmiş N-sonluqlu ardıcılıq və daxili stop-ötürmə lövbəri ardıcılığı vasitəsi ilə istiqamətləndirilir (Şəkil 13-11). Amma, lüminal domendə, membrana-sarıdan domenə çox yaxın (bitişik) qısa amin turşusu ardıcılığı ER membranda yerləşən transaminaza tərəfindən tanınır. Bu ferment eyni zamanda ilkin stop-ötürmə lövbər ardıcılığını kəsib ayırır və zülalın lüminal hissəsini membrana lövbər etmiş GPI-a keçirir (Şəkil 13-15b).

Bir tip membran lövbərin digərinə dəyişilməsi nə üçün lazımdır? Sitolzola-baxan hidrofil domenin zülaldan uzaqlaşdırılması nəticəsində əmələ gələn GPI lövbərin birləşdirilməsi bir sıra nəticəyə səbəb ola bilər. Məsələn, GPI lövbərli zülallar fosfolipid ikiqatlı membran müstəvisində

nisbətən sürətlə diffuziya edə bilirlər. Əksinə, membrana-sarıdan α spirallar vasitəsi ilə lövbər edən çox zülalların sitozolabaxan seqmentləri sitoskeletlə qarşılıqlı əlaqədə olduğundan onların membranda lateral hərəkət etmələrinə mane olunur. Bundan başqa, GPI lövbər, bizim Fəsil 14-də müzakirə edəcəyimiz kimi, polyarlaşmış müəyyən epitel hüceyrələrində membrana qoşulmuş zülalı plazma membranının apikal domeninə (bazolateral domen əvəzinə) hədəf edir.

Membran Zülallarının Topologiyası Çox Hallarda Onların Ardıcılığından Təyin Edilə Bilər

Bizim gördüyümüz kimi, ER-də sintez olunan inteqral membran zülallarında müxtəlif topogen ardıcılıqlar yeni sintez olunan zəncirin translokona qarşılıqlı əlaqəsini idarə edir. Alimlər naməlum funksiyalı zülalı tədqiq etməyə başlayanda müvafiq gen ardıcılığı daxilində potensial topogen ardıcılığın identifikasiyası, zülalın topoloji sinifi və fəaliyyəti barədə çox əhəmiyyətli dəlilləri təmin edir. Məsələn, hesab edək ki, hüceyrə-hüceyrə siqnal yolu üçün tələb olunan məlum olan zülalın geni asanlıqla fərqləndirilən N-sonluqlu siqnal ardıcılığını və daxili hidrofil ardıcılıqları kodlaşdıran nukleotid ardıcılığına malikdir. Bu tapıntılar göstərir ki, zülal I tip inteqral membran zülalıdır və hüceyrəxarici liqand üçün reseptor zülalıdır. Bundan başqa, nəzərdə tutulan I topologiya göstərir ki, siqnal ardıcılığı ilə daxili hidrofil ardıcılıq arasında yerləşən N-sonluqlu seqment liqand birləşdirilməsində iştirak etməsi ehtimal edilən hüceyrəxarici domeni təşkil edir, amma daxili hidrofil ardıcılıqdan sonra yerləşən C-sonluqlu seqment yəqin ki, sitozol hissəsidir və hüceyrədaxili siqnal ötürülməsində iştirak edir.

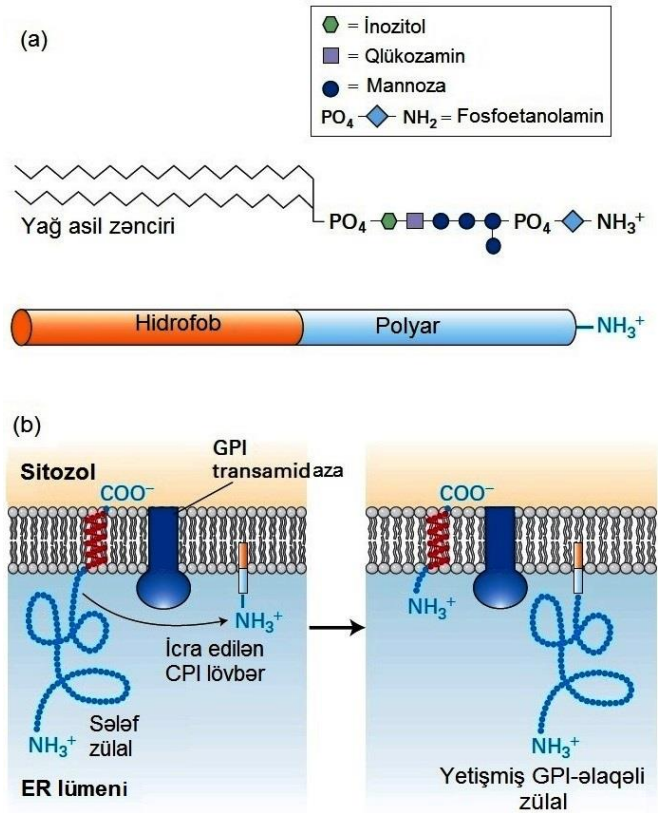
Topogen ardıcılıqların identifikasiyası, siqnal ardıcılığını və ya transmembran lövbər ardıcılığını əmələ gətirmək üçün kifayət qədər hidrofil olan seqmentlərin verilənlər bazasını skan etmək yolunu tələb edir. Topogen ardıcılıqlar tez-tez hallarda, maraqlı zülalın *hidropatik profilini* yaradan kompüter proqramlarının köməyi ilə müəyyən edilə bilər. Birinci pillədə zülaldə olan hər bir amin turşusu üçün *hidropatik göstərici* kimi məlum olan qiyməti müəyyən etməkdir. Konvensiyaya görə, hidrofob amin turşuları müsbət qiymətlə, hidrofil amin turşuları isə mənfi qiymətlə müəyyən olunurlar. Hidropatik göstərici üçün müxtəlif ölçülər mövcud olsa da, onların hamısı ən yüksək müsbət qiymətləri yan zəncirləri əsasən karbohidrogen qalıqlarından ibarət olan amin turşularına (məsələn, fenilalanin və metionin), ən çox mənfi qiymətləri isə yüklü amin turşularına (məsələn, arginin və asparat) verirlər. İkinci pillə, N-sonluqlu siqnal ardıcılıqları və ya daxili stop-ötürmə ardıcılıqları və siqnal-lövbər ardıcılıqları olmaq üçün kifayət qədər ümumi hidrofobluğa malik olan uzun seqmentlərin təyin edilməsidir. Bunu yerinə yetirmək üçün, 20 ardıcıl amin turşusundan ibarət olan hər bir ardıcıl seqment üçün ümumi hidropatik göstərici (indeks) zülalın bütün uzunluğu boyu hesablanır. Amin turşusu ardıcılığında mövqeyinə qarşı hesablanmış bu qiymətlərin qrafikləri hidropatik profili verir.

Şəkil 13-16 üç müxtəlif membran zülalının hidropatik profillərini göstərir. Belə qrafiklərdə diqqətli cəlb edən zirvələr (piklər) ehtimal olunan topogenik ardıcılıqları və eləcə də onların mövqeyini və təxmini uzunluqlarını göstərir. Məsələn, insanın boy hormonu reseptorunun hidropatik profili həm

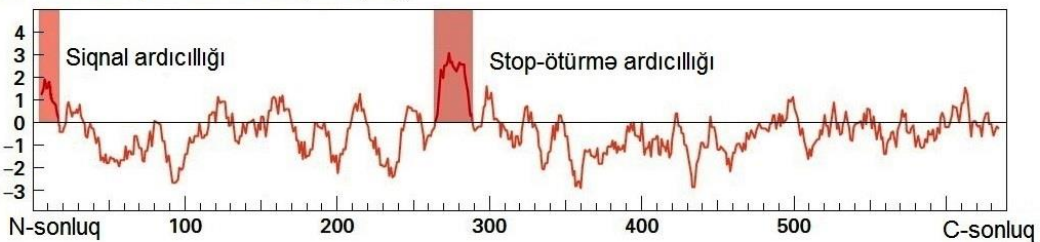
zülalın tamamilə N-sonluq ucunda hidrofob siqnal ardıcılığının həm də daxili hidrofob stop-ötürmə lövbər ardıcılığının mövcud olmasını aşkar edir (Şəkil 13-16a). Biz bu profil əsasında dəqiq bir nəticəyə gələ bilirik ki, HGH reseptor I tip inteqral membran zülalıdır. Qeyri normal hüceyrəxarici qlikozülalları uzaqlaşdırılmasında iştirak edən hüceyrə-səthi zülalı asialoqlikozülal reseptorun hidropatlıq profili tez nəzərə çarpan daxili hidrofob siqnal-lövbər ardıcılığını aşkar edir, amma hidrofob N-sonluğun siqnal ardıcılığı barədə heç bir əlamət vermir (Şəkil 13-16b). Beləliklə biz əvvəlcədən deyə bilirik ki, asialoqlikozülal reseptor II tip və ya III tip membran zülallarına aiddir. Membrana sarınan seqmentə cinah olan müsbət yüklü amin turşuları adətən membranın sitozol üzünə tərəf orientasiya etdiyindən siqnal-lövbər ardıcılığının istənilən tərəfində yüklü qalıqların paylanması bu imkanları fərqləndirə bilər. Məsələn, asialoqlikozülal reseptor olan halda, siqnal-lövbər ardıcılığına cinah olan qalıqların yoxlanılması aşkar edir ki, N-sonluq tərəfin qalıqları xalis müsbət yükü daşıyırlar, beləliklə əminliklə deyə bilirik ki, bu II tip zülaldır.

ŞƏKİL 13-15 GPI-lövbər edən zülallar. (a) Maya qlikozilfosfatidilinozitol (GPI) molekulunun quruluşu. Molekulun hidrofob hissəsi yağ asil zəncirindən təşkil olunmuşdur, molekulun polyar (hidrofil) hissəsi isə karbohidrat qalıqlarından və fosfat qruplarından təşkil olunmuşdur. Başqa orqanizmlərdə asil zəncirinin uzunluğu və karbohidrat hissəsi göstərilmiş quruluşdan müəyyən qədər fərqlənə bilər. (b) ER membranında GPI-lövbər olunan zülalların əmələ gəlməsi. Zülal Şəkil 13-11-də göstərilən kimi sintez olunur və ilkin olaraq ER membranına keçirilir. Spesifik transamidaza eyni zamanda, eqzoplazmatik üzə baxan domenini sələf hissəsini stop-ötürmə lövbər ardıcılığı (qırmızı) yaxınlığındakəsir və yeni əmələ gəlmiş C sonluğun karboksil qrupunu yenidən formalaşmış GPI lövbərin amin qrupuna keçirir. Bax C.Abejion and C.B. Hirschberg,

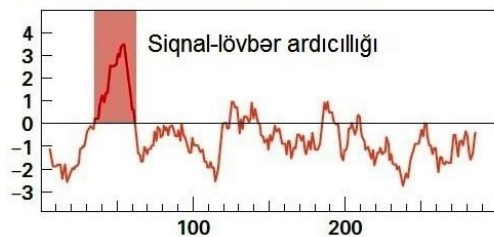
1992, *Trends Biochem. Sci.* **17**:32 və K.Kodukula et al., 1992, *Poc.Natl.Acad.Sci.USA* **89**:4982.



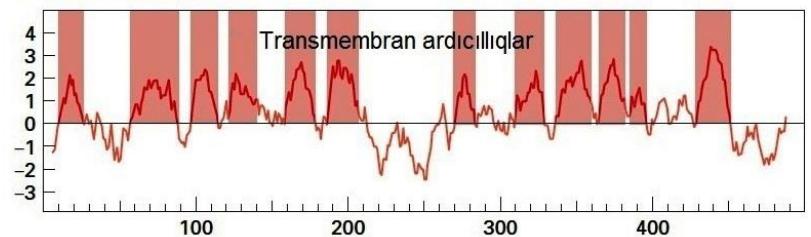
(a) İnsan boy hormonu reseptoru (I tip)



(b) Asialoqlikozülal reseptoru (II tip)



(c) GLUT1 (IV tip)



ŞƏKİL 13-16 Hidropatlıq profili. Hidropatlıq profili inteqral membran zülallarında güman olunan topogen ardıcılıqları identifikasiya edə bilər. Onlar, ardıcıl davam edən 20 amin turşusundan ibarət olan hər bir seqmentin ümumi hidrofobluğunu zülalın bütün uzunluğu boyu plotlaşdırmaqla yaradılır. Müsbət qiymətlər

müqayisədə hidrofob hissələri göstərir, mənfi qiymətlər isə zülalın nisbətən polyar hissələrini göstərir. Ehtimal olunan topogenik ardıcılıqlar qeyd olunur. (c) hissəsində GLUT1 kimi çoxkəsibkeçən (IV tip) zülallarda, bu zülalların topologiyasını təyin etmək üçün kompleks profilərə çox zaman başqa analizlər əlavə olmalıdır.

Çoxkəsibkeçən membran zülalı, qlükoza daşıyıcısı GLUT1-in hidropatlıq profili, membrana-sarınan spiral olmaq üçün kifayət qədər hidrofob olan çox seqmentin mövcud olduğunu göstərir (Şəkil 13-16c). Bu profilin mürəkkəbliyi həm çoxkəsibkeçən zülallarda bütün membrana-sarınan seqmentləri birmənalı identifikasiya etməyin, həm də fərdi siqnal-lövbər və stop-ötürmə lövbər ardıcılıqlarının topologiyasını əvvəlcədən deməyin çətinliyini göstərir. Yaradılıb inkişaf etdirilmiş daha mürəkkəb kompüter alqoritmləri, hidrofob seqmentlərə yaxın (bitişik) olan müsbət yüklənmiş amin turşularının mövcud olmasını, həmçinin seqmentlərin və onların arasındakı məsafənin uzunluğunu nəzərə alır. Bütün bu məlumatlardan istifadə edərək, ən yaxşı alqoritmlər çoxkəsibkeçən zülallarda kompleks topologiyayı 75 faizdən yüksək olan dəqiqliklə əvvəlcədən deyə bilər.

Nəhayət, məlum olan zülallın ardıcılıq homolojiyası yeni aşkar olunmuş çoxkəsibkeçən zülallarda topologiyanın əvvəlcədən dəqiq müəyyən olunmasına imkan verir. Məsələn, çoxhüceyrəli orqanizmlərin genomları çox böyük sayda yeddi transmembran α spirala malik olan çoxkəsibkeçən müxtəlif zülalları kodlaşdırır. Bu zülalların ardıcılıqları arasındakı oxşarlıq kəskin şəkildə göstərir ki, bunların hamısı, yaxşı öyrənilmiş G zülallarla-birləşən reseptorlarda olduğu kimi eyni topologiyaya malikdirlər və bunların hamısının N-sonluğu membrandan eqzoplazmatik tərəfə, C-sonluqları isə sitozol tərəfə orientasiya olunmuşdur.

13.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Membran Zülallarının ER-ə Daxil Edilməsi

- Qırıqlı ER-də sintez olunan inteqral membran zülallarına beş topoloji sinifə və bir lipidlə-lövbər edən tipə aid zülallar daxildir (bax Şəkil 13-10).
- Topogenik ardıcılıqlar — N-sonluqlu siqnal ardıcılıqları, daxili stop-ötürmə lövbər ardıcılıqları və daxili siqnal-lövbər ardıcılıqları — yeni sintez olunan zülalın ER membranı daxilinə keçirilməsini və orientasiyasını yönəldir. Bu orientasiya tamamlanmış membran zülallarının son məkana, məsələn, plazma membranına daşınması zamanı saxlanılır.
- Bir dəfə-kəsib keçən membran zülalları bir və ya iki topogenik ardıcılığa malik olurlar. Çoxkəsibkeçən membran zülallarında hər bir α spiral seqmenti polipeptid zəncirində yerləşmə vəziyyətindən asılı olaraq və onlara yaxın müsbət yüklənmiş qalıqlardan asılı olaraq daxili topogenik ardıcılıq kimi fəaliyyət göstərə bilərlər (bax Şəkil 13-14).
- Bəzi hüceyrə-səthi zülalları əvvəlcə ER membranında I tip zülallar kimi sintez olunur, sonra kəsilərək onların lüminal domeni GPI lövbərə keçirilir (bax Şəkil 13-15).
- Membran zülallarının topologiyası tez-tez hallarda, aminturşu ardıcılığı daxilində hidrofob topogenik ardıcılığı təyin edən kompüter proqramlarından istifadə etməklə əvvəlcədən dəqiqliklə təyin edilə bilər və hidropatik profili yaratmaq olur (bax Şəkil 13-16).

13.3 ER-də Zülal Modifikasiyaları, Bükülməsi və Keyfiyyətinə Nəzarət

Qırıqlı ER-də sintez olunan membran və həllolan ifrazat zülalları son mənzilə çatmadan öncə dörd əsas modifikasiyaya məruz qalırlar: (1) ER-də və Qolci kompleksində karbohidratların kovalent əlavə olunması və prosessinqi (*qlikozilləşmə*), (2) ER-də disulfid əlaqələrin əmələ gəlməsi, (3) ER-də polipeptid zəncirlərin düzgün qatlanması və çoxsubvahidli zülalların yığılması, (4) ER-də, Qolcidə və ifrazat qovucuqlarında spesifik proteolitik kəsilmələr (doğranmalar). Ümumiyyətlə, bu modifikasiyalar ifrazat zülallarının öz nativ quruluşunda bükülməsini təşkil edirlər və hüceyrəxarici mühitin təsirlərinə məruz qalan zülallara quruluş stabilliyi verirlər. Qlikozilləşmə kimi modifikasiyalar həm də hüceyrəyə kimyəvi cəhətdən fərqlənən geniş sırada molekulları hüceyrə səthində yaratmağa imkan verir, bu molekullar hüceyrənin-hüceyrəyə yapışması və kommunikasiyası kimi spesifik molekulyar qarşılıqlı əlaqələrin yaranmasının əsaslarını təşkil edir.

Qırıqlı ER-də sintez olunan və ER lümeninə daxil olan zülalların çoxuna bir və ya daha artıq karbohidrat zənciri əlavə olunmaqla modifikasiya olunur. Karbohidratların birləşdirildiyi zülallar **qlikozülallar** kimi məlumdur. Qlikozülallarda, serin və treonin qalıqlarındakı hidrosil qrupuna ($-OH$) qoşulan karbohidrat zəncirlərinə **O-əlaqəli oliqosaxaridlər** deyilir, asparagin qalıqlarındakı azot atomuna qoşulan karbohidrat zəncirinə isə **N-əlaqəli oliqosaxaridlər** deyilir. Müxtəlif tipli O-əlaqəli oliqosaxaridlərə musin-tipli (selikdə tapılan zəngin qlizozülala görə adlandırılmışdır) O-əlaqəli zəncirlər və Fəsil 20-də təsvir olunan proteoqlikanlarda tapılmış karbohidrat modifikasiyaları daxildirlər. O-əlaqəli zəncirlər adətən birdən dördə qədər şəkər qalıqlına malik olurlar və zülallara Qolci kompleksinin lümenlərində yerləşən qlizoziltransferaza kimi məlum olan fermentlə əlavə olunurlar. Daha çox yayılan N-əlaqəli oliqosaxaridlər daha böyük və mürəkkəbdirlər və çoxsaylı şaxələnmələrə malik olurlar. Bu bölmədə biz, ilkin sintezi ER-də baş verən N-əlaqəli oliqosaxaridlərə baxacağıq. Zülalın ER-də ilkin qlizozilləşməsindən sonra, oliqosaxarid zəncir ER-də, həmçinin bir qayda olaraq Qolcidə modifikasiya olunur.

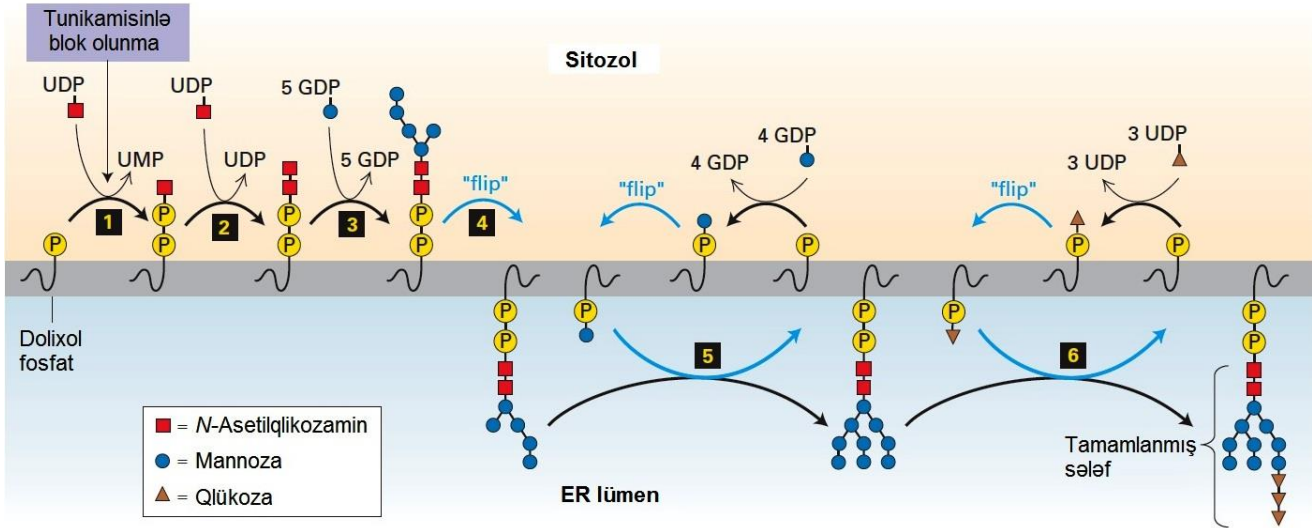
Xüsusi olaraq, yalnız ER-də baş verən disulfid əlaqəsinin formalaşması, zülalın bükülməsi və multizülal komplekslərin toplanması da bu bölmədə müzakirə olunur. Yalnız düzgün bükülmüş və toplanmış zülallar ER-dan Qolci kompleksinə və nəhayət sonda ifrazat yolu ilə hüceyrə səthinə və ya digər son mənzilə daşınırlar. Bükülməmiş, düzgün bükülməmiş və ya qismən bükülmüş zülallar kollektiv şəkildə qırıqlı ER-də qalır və sonra da parçalanır. Biz, bu cürə bir sıra “keyfiyyətə nəzarət”ə bu bölmənin axırlarında baxırıq.

Əvəllər müzakirə olunduğu kimi, ER-də həllolan ifrazat zülallarından və I tip membran zülallarından N-sonluqlu ER siqnal ardıcılığı kəsilir. Bəzi zülallar Qolci kompleksində və ya ifrazat qovucuqlarında başqa proteolitik kəsilmələrə də məruz qalır. Biz, bu kəsilmələri və əsasən və ya xüsusi olaraq Qolci kompleksində baş verən karbohidrat modifikasiyalarını növbəti fəsildə əhatə edirik.

Yaranmış N-Əlaqəli Oliqosaxaridlər Qırıqlı ER-də Çox Zülallara Əlavə Olunurlar

Bütün N-əlaqəli oliqosaxaridlərin biosintezi qırıqlı ER-də formalaşmış 14 qalıqdan ibarət olan oliqosaxarid sələfin əlavə olunması ilə başlanır (Şəkil 13-17). Bu sələfin quruluşu bitkilərdə,

heyvanlarda və birhüceyrəli eukariotlarda eynidir: üç qlükozaya (Glc), doqquz mannozaya (Mann) və iki N-asetilqlükozaminə (GlcNAc) malik olan şaxələnməmiş oliqosaxarid molekulları, hamısı birlikdə $\text{Glc}_3\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ kimi yazıla bilər. Bu şaxələnməmiş karbohidrat quruluş zülal molekuluna əlavə olunduqdan sonra ER-də və ya çıxarılması ilə modifikasiyalar olunur. N-əlaqəli zəncirlərdə modifikasiyalar bir qlikozülaldan digərinə görə, həmçinin orqanizmlər arasında fərqlənirlər, amma 14 qalıqdan 5 özək qalıq ifrazat və membran zülallarının bütün N-əlaqəli oliqosaxaridlərinin quruluşunda konservativ saxlanmışdır.



ŞƏKİL 13-17 Oliqosaxarid sələfin biosintezi. Dolixol pirofosfat, 79-95 karbon atomuna malik olan, ER membranına batmış çox güclü hidrofob lipiddir. İki N-asetilqlükozamin (GlcNAc) və beş mannoza qalıqları hər dəfə biri olmaqla ER membranının sitozol üzündə dolixol fosfata əlavə olunur (pillə1-3). Bu və sonrakı reaksiyalarda nukleotid-şəkər donorları sitozolda sintez olunurlar. Qeyd edək ki, birinci şəkər qalığı yüksək-enerjili pirofosfat əlaqəsi ilə dolixola birləşdirilir. Bu yolda birinci fermenti blok edən tunikamisin hüceyrələrdə N-əlaqəli oliqosaxaridlərin sintezini ingibirləşdirir. Yeddi qalıqlı dolixol

Oliqosaxarid sələf, ER lümenində yeni sintez olunan zəncirə ötürülməmişdən öncə membrana qoşulmuş, *dolixol fosfat* adlanan, poliizoprenoid lipidin uzun zəncirindən ibarət olan lövbər üzərində toplanır (bax Fəsil 7). Birinci şəkər, GlcNAc pirofosfat əlaqəsi (rabitəsi) ilə dolixol fosfata qoşulduqdan sonra, başqa şəkərlər qırıqlı ER membranın sitozol və ya lümenal üzünə birləşmiş kompleks fermentlərlə kataliz olunan reaksiyalar dəsti ilə qlikozid rabitələrlə əlavə olunurlar (Şəkil 13-17). Sonuncu dolixol pirofosforil oliqosaxarid elə orientasiya olunur ki, oliqosaxarid hissəsi ER lümenə baxır.

pirofosforil intermediat lümenal üzə tərəf döndükdən sonra (pillə4), qalan dörd mannoza və hər üç qlükoza qalıqları hər dəfə biri olmaqla əlavə edirlər (pillə5,6). Sonrakı reaksiyalarda, əlavə ediləcək şəkər əvvəlcə nukleotid-şəkərdən ER-in sitozol üzündə dolixol fosfat daşıyıcıya keçirilir; sonra daşıyıcı luminal üzətərəf döndür, burada şəkər uzunayan oliqosaxaridə əlavə olunur və "boşalan" daşıyıcı geriye, sitozol üzə döndür. Bax C. Abeijon and C.B.Hirschberg, 1992, *Trends Biochem.Sci.* 17:32.

Yeni sintez olunan polipeptid ER lümeninə daxil olan kimi, tam 14 qalıqlı sələf dolixol daşıyıcıdan zülalın asparagin qalığına keçirilir (Şəkil 13-18, pillə1). Yalnız Asn-X-Ser və Asn-X-Thr (burada X prolindən başqa istənilən amin turşusu ola bilər) tripeptid ardıcılıqlarındakı asparagin qalıqları, bu reaksiyanı kataliz edən ferment *oliqosaxaril transferazanın* substratı ola bilər. Bu fermentin üç subvahidindən ikisi ER membran zülalıdır və onun sitozola-baxan domenləri ribosoma birləşirlər, üçüncü subvahidi, transferazanın katalitik subvahidi ER lümenində böyüyən polipeptid zəncir yaxınlığında yerləşir. Asn-X-Ser/Thr ardıcılığının hamısı qlikozilləşmiş olurlar və hansı potensial N-əlaqəli qlikozilləşmə sayının modifikasiya olunacağını amin turşusu ardıcılığına görə əvvəlcədən demək mümkün deyil, məsələn, Asn-X-Ser/Thr ardıcılığına malik olan zülalların seqmentlərinin tez bükülməsi oliqosaxarid sələfin ona ötürülməsinə mane ola bilər.

Tam sələf, $\text{Glc}_3\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ yeni sintez olunan polipeptidə ötürüldükdən dərhal sonra, qlikozidazalar adlandırılan üç müxtəlif ferment üç qlükoza qalığının hamısını və bir xüsusi mannoza qalığını kəsib atır (Şəkil 13-18, pillə2-4).

Dolixol daşıyıcı üzərində sələfin sintezi zamanı əlavə edilən sonuncu qalıqlar olan üç qlükoza qalığı, görünür oliqosaxaridin tamamlandığı və zülala köçürülmək üçün hazır olduğunu bildiren siqnal kimi fəaliyyət göstərir.

Oliqosaxarid Yan Zəncir Qlükozülalların Bükülməsini və Stabilliyini Gücləndirir

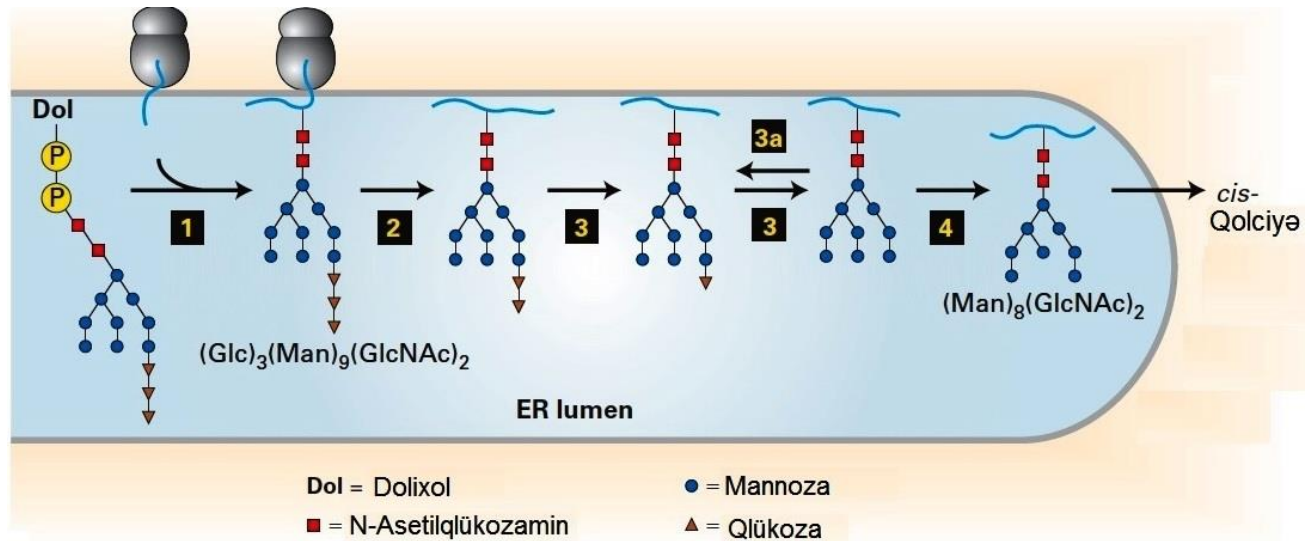
Qlikozülallara bərkidilmiş oliqosaxaridlər müxtəlif funksiyaları yerinə yetirir. Məsələn, bəzi zülallar, ER-də düzgün bükülmək üçün N-əlaqəli oliqosaxaridləri tələb edir. Bu funksiyalar dolixolla-əlaqəli oliqosaxarid sələfin əmələ gəlməsinin birinci mərhələsini blok edən və ona görə də N-əlaqəli oliqosaxaridlərin hüceyrədə sintezini ingibirləşdirən (bax Şəkil 13-17, *yuxarıda solda*) tunikamisin antibiotiki ilə tədqiqatlarda nümayiş etdirilmişdir. Məsələn, tunikamisin mövcud olanda qrip virusunun hemaqglutinin sələf polipeptidi (HA_0) sintez olunur, amma o düzgün bükülə və normal trimeri əmələ gətirə bilmir, zülal bu halda qırıqlı ER-də düzgün

bükülməmiş qalır. Üstəlik, hemaqqlutanin ardıcılığında xüsusi asparagin qalığının qlutamin qalığına mutasiya olunması N-əlaqəli oliqosaxaridin bu sayta əlavə olunmasına mane olur və zülalın bükülməmiş vəziyyətdə ER-də toplanmasına səbəb olur.

N-əlaqəli oliqosaxaridlər zülalın düzgün bükülməsini təşviq etməklə bərabər, çox sayda ifrazat zülallara stabililik də verirlər. Çox ifrazat zülalları, hətta N-əlaqəli oliqosaxaridlər blok olunsalar da, məsələn tunamisinlə, düzgün bükülür və son məkanlarına daşınırlar. Amma göstərilmişdir ki, belə qlikozillənməmiş zülallar, qlikozillənmiş formalara nisbətən az stabilyyə malik olurlar. Məsələn, hüceyrəxarici matrisanın normal komponenti qlikozillənmiş fibronektin, qlikozillənməmiş fibronektinə nisbətən toxuma proteazaları vasitəsi ilə çox zəif parçalanırlar.

Bəzi hüceyrə-səth qlikozülallarında oliqosaxaridlər hüceyrə-hüceyrə adgeziyası (yapışması) rolunu da oynayırlar. Məsələn, ağ qan hüceyrələrinin (leykositlərin) plazma membranı geniş şəkildə qlikozillənmiş hüceyrə adgeziyası

molekullarına (CAM) malikdir. Bu molekularda oliqosaxaridlər qan damarlarının daxilini əhatə edən epitel hüceyrələrində tapılmış bəzi CAM-larda şəkər-birləşdirən domenlə qarşılıqlı əlaqəyə girirlər. Bu əlaqələr leykositləri endotelial hüceyrələrə (toxumaya) bərkidir və yoluxma zamanı iltihaba cavab prosesində onların toxuma daxilinə keçməsinə kömək edir (bax Şəkil 20-40). Başqa hüceyrə-səth qlikozülalları oliqosaxarid yan zəncirlərə malik olurlar, bunlar da immun cavab reaksiyalarını induksiya edirlər. Buna ümumi misal ABO qan-qrupu antigenlərini göstərmək olar, bunlar eritrositlərin və başqa hüceyrə tiplərinin səthində qlikozülallara və qlikolipidlərə qoşulmuş O-əlaqəli oliqosaxaridlərdir (Şəkil 7-20). Hər iki halda, oliqosaxaridlər Şəkil 13-18-də həllolan zülallar üçün göstərilmiş yolla bu membran zülallarının lüminal üzünə əlavə edirlər. Bu membran zülallarının lüminal üzü bu zülalların sonda çatacağı məkanı olan plazma membranının xarici üzünə topoloji ekvivalentdir.



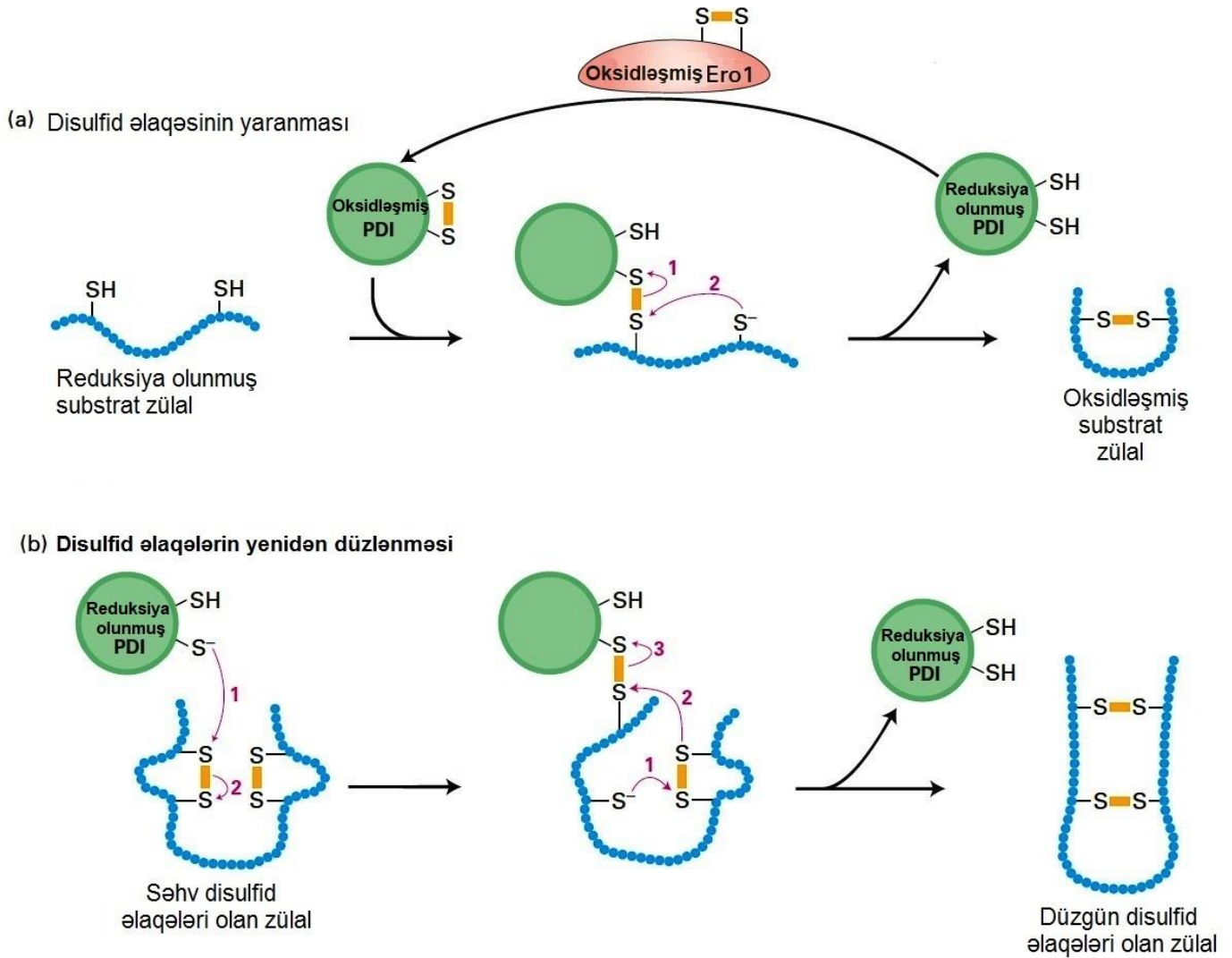
ŞƏKİL 13-18 N-əlaqəli oliqosaxaridlərin əlavə edilməsi və ilkin prosesinqi. Onurğalılarda hüceyrələrinin qırıqlı ER-də $\text{Glc}_3\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ sələf dolixol daşıyıcıdan, yeni zintez olunan zülaldakı asparagin qalığı ER-in lüminal tərəfinə keçən kimi həssas asparagin qalığına ötürülür (pillə1). Üç ayrı-ayrı reaksiyada, birinci bir qlükoza qalığı (pillə2), sonra iki qlükoza qalığı (pillə3) və nəhayət bir mannoza qalığı (pillə4) atılır. Bir qlükoza qalığının yenidən əlavə

edilməsi (pillə3a), bir az sonra müzakirə olunduğu kimi, ER-də çox zülalların düzgün bükülməsində rol oynayır. Burada həll olan ifrazat zülallarının N-əlaqəli qlikozillənmə prosesi göstərilmişdir, amma inteqral membran zülalının lüminal hissəsi asparagin qalığında eyni mexanizmlə modifikasiya oluna bilər. Bax R. Kornfeld and S. Kornfeld, 1985, *Ann. Rev. Biochem.* **45**:631 və M. Sousa and A.J. Parodi, 1995, *EMBO J.* **14**:4196.

Disulfid Əlaqələri Zülallar Vasitəsilə ER Lümenində Əmələ Gəlir və Yenidən Düzülür

Biz Fəsil 3-də öyrəndik ki, həm molekullar daxili həm də molekullar arası disulfid əlaqələr ($-\text{S}-\text{S}-$) çox zülallarda üçüncü və dördüncü quruluşları stabilləşdirir. Bu kovalent rabitələr eyni və ya müxtəlif polipeptid zəncirlərində iki sistemin qalıqlarında olan və *tiol* qrupları kimi də məlum olan **sulfhidril qruplarının** ($-\text{SH}$) oksidativ əlaqələri nəticəsində əmələ gəlir.

Bu reaksiya, uyğun oksidant olarkən spontan şəkildə davam edə bilər. Eukariot hüceyrələrdə disulfid əlaqələri, yalnız qırıqlı ER-in lümenində əmələ gəlir. Bu disulfid əlaqələr, yalnız həllolan ifrazat zülallarında və membran zülallarının eqzoplazmatik domenlərində tapılmışdır. Sərbəst ribosomlarda sintez olunan sitozol zülalları və orqanoid zülalları (yəni, o zülallar ki, mitoxondrilərə, xloroplastlara və peroksisomlara gedirlər) adətən disulfid əlaqəyə malik olmurlar.



ŞƏKİL 13-19 Protein-disulfid-izomerazanın (PDI) fəaliyyəti.

PDI, reduksiya olunmuş ditiol forması ilə oksidləşmiş disulfid forması arasında, asanlıqla bir-birinə çevrilə bilən, iki yaxın yerləşmiş sistein qalıqları olan fəal saytlar vasitəsi ilə disulfid rabitələrini yaradır və yenidən düzləndirir. Nömrələnmiş qırmızı oxlar elektron ötürülməsinin ardıcılığını göstərir. Sarı zolaqlar disulfid əlaqələrini göstərir. (a) Disulfid əlaqələrinin əmələ gəlməsində substrat zülaldə sistein tiolun ionlaşmış forması ($-S^-$) oksidləşmiş PDI-də disulfid əlaqəsi (S-S) ilə reaksiyaya girərək disulfid birləşmiş PDI-substrat zülal intermediatını əmələ gətirir. Substrat zülaldə ikinci ionlaşmış tiol sonra intermediatla

əlaqəyə girərək substrat zülal daxilində disulfid əlaqəsini yaradır və reduksiya olunmuş PDI-ni buraxır. Öz növbəsində PDI elektronları lüminal zülal Ero1-ə ötürür, bununla da PDI-nin oksidləşmiş formasını regenerasiya edir. (b) Reduksiya olunmuş PDI oxşar tiol-disulfid ötürmə reaksiyası ilə düzgün formalaşmamış disulfid əlaqələrinin yenidən yaranmasını kataliz edə bilər. Bu halda, reduksiya olunan PDI reaksiya yolunu həm inisiyasiya edir həm də yenidən yaradır. Zülal ən stabil konformasiyanı alana qədər bu reaksiyalar təkrar olunur. Bax M.M. Layles and H.F. Gilbert, 1991, *Biochemistry* 306:619.

Disulfid əlaqələrinin ER lümenlərində səmərəli şəkildə əmələ gəlməsi, bütün eukariotlarda mövcud olan *protein-disulfid-izomeraza* (PDI) fermentindən asılıdır. Bu ferment, böyük miqdarda disulfid əlaqələrinə malik olan zülalların istehsal olunduğu qaraciyər və mədəaltı vəz kimi toxumaların ifrazat hüceyrələrinin ER-ində xüsusən zəngin olur. Şəkil 13-19a-da göstəriləndiyi kimi, PDI-nin fəal saytında disulfid əlaqələri fermentə asanlıqla iki ardıcıl tiol-disulfid ötürmə reaksiyaları ilə keçirilir. Bu reaksiyalarla yaradılmış reduksiya olunmuş PDI, PDI-yə ötürülə bilən disulfid əlaqələrə malik olan və *Ero1* adlanan ER-rezident zülalın təsiri ilə oksidləşmiş formaya

qayıdır. Ero1 özü ER-ə diffuziya olunan molekulyar oksigenlə reaksiyaya girərək oksidləşmiş vəziyyətə keçir.

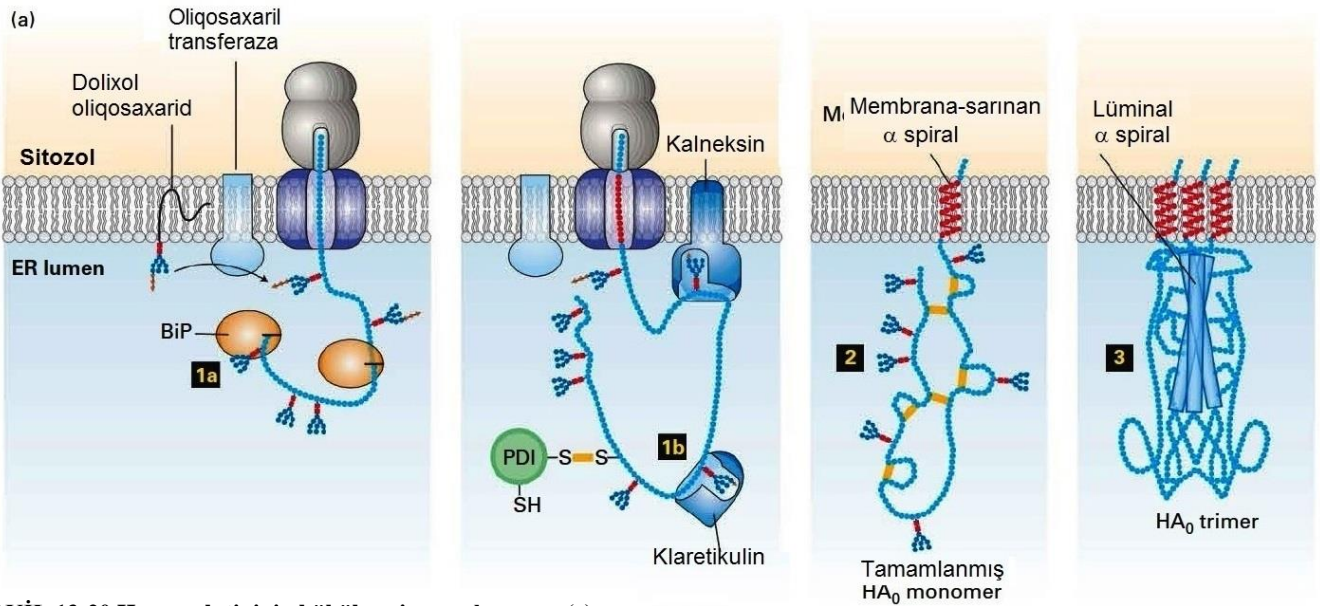
Birdən artıq sayda disulfid əlaqələrinə malik olan zülallarda sistein qalıqlarının düzgün qoşalaşması normal quruluş və fəallıq üçün çox əhəmiyyətlidir. Ümumiyyətlə disulfid əlaqələri sistein qalıqları arasında formalaşır və ardıcıl olaraq hələ popipeptid zəncirinin ribosomda uzunadığı zaman amin turşu ardıcılığında baş verir. Amma, belə ardıcıl əmələ gəlmə bəzən qeyri düzgün sisteinlər arasında disulfid əlaqəsinin yaranmasına səbəb olur. Məsələn, peptid hormonu insulinin sələfi proinsulin, 1 və 4, 2 və 6 və 3 və 5 sisteinlər arasında yaranan üç disulfid əlaqəsinə malikdir. Bu halda əmələ gələn ilk

disulfid əlaqəsi (məsələn, 1-ci və 2-ci sisteinlər arasında yaranan) zülalın öz düzgün bükülmüş konformasiyasını alması üçün yenidən təşkil olunmalıdır. Hüceyrələrdə, disulfid əlaqələrinin yenidən təşkil olunması həmçinin, geniş sırada zülal substratlara təsir edə bilən PDI ilə sürətləndirilir və onlara termodinamik cəhətdən daha stabil konformasiyanı almağa imkan verir (Şəkil 13-19b). Disulfid əlaqələr əsasən spesifik ardıcılıqla baş verir, əvvəlcə polipeptidin kiçik domenlərini stabilləşdirir, sonra isə nisbətən uzaq seqmentlərin qarşılıqlı əlaqələrini stabilləşdirir, bu fenomen növbəti bölmədə müzakirə olunan, qrip hemaqlutanin (HA) zülalının bükülməsində işıqlandırılır.

Zülalların Bükülməsini və Yığılmasını Çaperonlar və Başqa ER Zülallar Asanlaşdırırlar

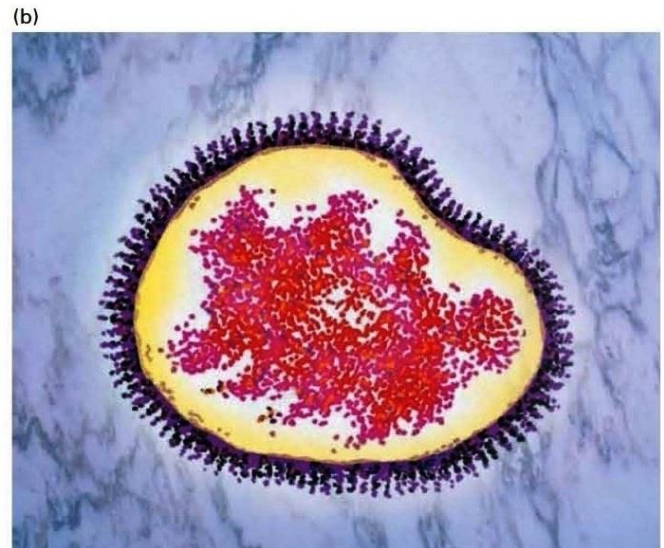
Hərçənd ki, denaturasiya olunmuş çox zülallar in vitro spontan şəkildə yenidən öz nativ formasına bükülə bilirlər, belə

yenidən bükülmə tamamlanmaq üçün adətən saatlarla zaman tələb edir. Hətta ER-də istehsal olunan yeni sintez olunmuş həllolan və membran zülalları bir qayda olaraq sintez qurtardıqdan sonra bir neçə dəqiqə ərzində öz düzgün konformasiyasında bükülür. Yeni sintez olunan bu zülalların sürətli bükülməsi ER lümenində olan bir sıra zülalların ardıcıl fəaliyyəti nəticəsində baş verir. Biz artıq mayada BiP molekulyar çaperonun ER lümeninə daxil olan kimi tam sintez olunmuş polipeptidə birləşərək post-translyasiya translokasiyasını necə apardığını görmüşük (bax Şəkil 13-9). BiP həmçinin kotranslyasiya translokasiyası zamanı yeni sintez olunan zəncirlər ER-ə daxil olanda dərhal onlara birləşə bilər. Birləşmiş BiP güman olunur ki, yeni sintez olunan zəncirlərlərin seqmentlərinin səhv bükülməsinə və onların aqreqatlar əmələ gətirməsinə mane olur, bununla da polipeptidin tam doğru konformasiyada bükülməsini təşviq edir. Zülal-disulfid-izomeraza da (PDI) doğru bükülməyə kömək edir, çünki zülalların çoxunda düzgün 3-D konformasiya disulfid əlaqələrlə stabilləşir.



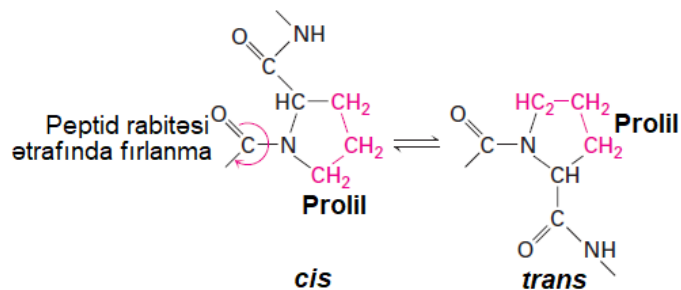
ŞƏKİL 13-20 Hemaqlutininin bükülməsi və toplanması. (a)

Üçsubvahidli (trimer) toplanma mexanizmi (HA₀). BiP çaperonun yeni sintez olunan zəncirə (pillə 1a) və iki lektinin, kalneksin və calretikulinin müəyyən oligosaxarid zəncirlərə (pillə 1b) keçici birləşməsi yaxınlıqdakı seqmentin düzgün bükülməsini təşviq edir. Kotranslyasiya translokasiyası zamanı yeni sintez olunan zəncirin lüminal (daxili) hissəsinə ümumilikdə yeddi N-əlaqəli oligosaxarid zəncir əlavə edilir və PDI hər bir monomerdə altı disulfid əlaqəsinin yaranmasını kataliz edir. Tamamlanmış HA₀ monomerlər N-sonluğu lümenə olan tək membrana sarıyan α spiralla membranda lövbərdir (pillə 2). Üç HA₀ zəncirin ilkin olaraq öz transmembran α spiralları vasitəsilə bir-biri ilə qarşılıqlı əlaqəsi yəqin ki, hər bir HA₀ polipeptidin lüminal hissəsinin bir α spiralına malik olan uzun əsasının əmələ gəlməsinə səbəb olur. Nəhayət sonda, qarşılıqlı əlaqə üç qlobulyar başlar arasında yaranır və stabil HA₀ trimeri əmələ gətirir (pillə 3). (b) Bütöv qrip virionunun elektron mikrifotusu (yalançı rəng) HA zülallarının virus membranından iy kimi dik çıxan trimerlərini göstərir. Bax U. Tatu et al., 1995, *EMBO J.*14:1340 və D. Hebert et al., 1997, *J. Cell Biol.*139:613 bax; [(b) hissə Chris Bjornberg/Photoresearch, Inc.]



Şəkil 13-20-də təsvir edildiyi kimi, iki başqa ER zülalı, homoloji **lektinlər** (karbohidrat birləşdirən zülallar) *kalneksin* və *kalretikulin* yeni sintez olunan zəncirdə *N*-əlaqəli oliqosaxaridlərə selektiv birləşirlər. Bu iki zülal üçün, *N*-əlaqəli oliqosaxarid sələfə oxşar olan amma, yalnız bir qlükoza qalıqına malik olan [Glc₁Man₉(GlcNAc)₂] liqand ER lümenində xüsusi qlükozil transferaza tərəfindən yaradılır (bax Şəkil 13-18, pillə 3a). Bu ferment yalnız polipeptid zəncir səhv büküldükdə və ya bükülməsi açıldıqda fəaliyyət göstərir, bu baxımdan qlükoziltransferaza ER-də zülalın keyfiyyət nəzarətini təmin etmək üçün əsas nəzarət mexanizmlərinin biri kimi fəaliyyət göstərir, amma qlükoziltransferazanın bükülmüş və ya bükülməmiş zülalları necə fərqləndirməsi mexanizm hələ tam aydın deyil. Kalneksinin və klaretikulinin qlükozillənmiş *N*-əlaqəli oliqosaxaridlərlə işarələnən bükülməmiş yeni sintez olunan zülallara birləşməsi, ER membranda istehsal olunarkən zülalın seqmentlərinin aqreqasiyasına mane olur. Beləliklə, kalneksin və kalretikulin, BiP kimi, yeni sintez olunan zülalın seqmentlərinin yetişməmiş səhv bükülməsinə mane olur.

ER-də başqa əhəmiyyətli zülal-bükülməsi katalizatorları *peptidil-prolil izomerazalar*, polipeptidin bükülməmiş seqmentlərində prolilin qalıqları ətrafında peptidil-prolil əlaqələrinin fırlanmasını sürətləndirən fermentlər ailəsidir:



Bəzi hallarda bu cürə izomerləşmə zülal domenlərinin bükülməsində sürət-məhdudlaşdıran mərhələ olur. Çox peptidil-prolil izomerazalar fərqləndirmədən çoxsaylı müxtəlif zülallarda peptidil-prolil rabitələrinin fırlanmasını kataliz edə bilirlər, amma bəzilərinin çox spesifik zülal substratı olur.

ER-də sintez olunan çoxsaylı əhəmiyyətli həllolan ifrazat və membran zülalları iki və daha artıq polipeptid subvahidlərdən təşkil olunmuşlar. Bütün hallarda, bu çoxsubvahidli (multimer) zülalları təşkil edən subvahidlərin toplanması ER-də baş verir. İki ağır (H) və iki yüngül (L) zəncirdən ibarət olan immunoqlobulinlər bu yolla toplanmış zəncirdaxili disulfid rabitələri ilə əlaqələnmişlər. Hemaqqlutinin (HA), zülal bükülməsini və subvahid toplanmasını işıqlandıran başqa bir multimer zülaldır (bax Şəkil 13-20). Bu trimer zülal, qrip virusu zərrəciyinin səthindən dik çıxan iyləri əmələ gətirir. HA trimer yoluxmuş sahib hüceyrələrin ER-i daxilində, HA₀ kimi işarələnən və tək bir membrana-sarınan α spirala malik olan sələf zülalın üç nüsxəsindən əmələ gəlir. Qolci kompleksində üç HA₀ zülalın hər biri kəsilərək iki polipeptidi, HA₁ və HA₂ əmələ gətirirlər, beləliklə, sonda virus səthində məskunlaşan hər bir HA molekulu üç nüsxə HA₁ və üç nüsxə HA₂-yə malik olur (bax Şəkil 3-11). Trimer, onu təşkil edən polipeptidlərin ER lümeninə tərəf uzanan böyük eqzoplazmatik domenləri arasındakı qarşılıqlı əlaqə ilə stabilləşir; HA hüceyrə səthinə daşdıqdan sonra, bu domenlər hüceyrəxarici boşluğa uzanır. HA

subvahidlərin kiçik sitozol və transmembran hissələri arasındakı qarşılıqlı əlaqələr də trimer zülalın stabilləşməsinə kömək edirlər. Tədqiqatlar göstərmişdir ki, HA₀-da polipeptidlərin düzgün trimer konformasiyada bükülməsi və toplanması cəmi 10 dəqiqə çəkir.

ER-də Səhv Bükülmüş Zülallar Zülal-Bükən Katalizatorların Ekspressiyasını İnduksiya Edir

Qırıq ER-də sintez olunan təbii formalı zülallar tam bükülmüş konformasiyalarını almadan bu kompartimentdən kənara çıxa bilmirlər. Həmçinin, ER daxilində zülalın düzgün bükülməsinə mane olan istənilən mutasiya da polipeptidin ER lümenindən və ya membranından Qolci kompleksinə getməsinə mane olur. Bükülməmiş və ya yarımqıq bükülmüş zülalların ER daxilində saxlanılması mexanizmləri, intermediat formalarını ER daxilində çox zəngin olan bükülmə katalizatorları yaxınlığında saxlanılmaqla bükülmənin effektivliyini artırır. ER daxilində saxlanılan düzgün bükülməmiş zülallar əsasən BiP və kalneksin kimi ER çaperonlarına birləşmiş vəziyyətdə olurlar. Beləliklə bu lüminal bükülmə katalizatorları iki yaxın funksiyayı həyata keçirirlər: normal zülalların aqreqasiyasına mane olmaqla onların bükülməsinə kömək etmək və səhv bükülmüş zülallara birləşərək onları ER daxilində saxlamaq.

Həm məməlilərin hüceyrələri həm də maya hüceyrələri qırıq ER-də bükülməmiş zülalların mövcud olmasına, ER çaperonlarını və zülal bükən başqa katalizatorları kodlaşdıran bir sıra genlərin transkripsiyasını artırmaqla cavab verirlər. *Bükülməmiş-zülallara cavabın* əsas iştirakçısı, həm monomer həm də dimer şəkilində mövcud olan ER membran zülalı **Ire1**-dir. Monomer forma deyil, dimer forma mayada bükülməmiş-zülallara cavab zamanı induksiya olunan genlərin ekspressiyasını fəallaşdıran transkripsiya faktoru Hac1-in əmələ gəlməsini təşviq edir. Şəkil 13-21-də verildiyi kimi, monomer Ire1-in lüminal domeninə BiP-nin birləşməsi Ire1 dimerin yaranmasına mane olur. Beləliklə, sərbəst BiP-nin ER lümenində miqdarı Ire1-in monomer və dimer nisbətini nizamlayır. Bükülməmiş zülalların ER lümeni daxilində toplanması BiP molekullarını müsadirə edir (tutur) və onların Ire1-ə birləşməsinə qeyri mümkün edir. Nəticədə, dimer Ire1-in səviyyəsi artır, o isə Hac1-in artmasına və uyğun olaraq zülal bükülməsinə kömək edən zülalların istehsalına səbəb olur.

Məməlilərin hüceyrələri, ER-də bükülməmiş zülallara cavab olaraq fəaliyyət göstərən əlavə tənzimləyici yola malikdirlər. Bu yolda, bükülməmiş zülalların ER-də toplanması, ER membranında olan transmembran zülal ATF6-nın membrana sarıyan seqmentinin proteolizini işə salır. ATF6-nın sitozol domeni proteoliz vasitəsi ilə buraxılır və sonra nüvəyə keçir və orada ER çaperonlarını kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır. Transkripsiya faktorunun bu cürə *tənzimlənən membrandaxili proteolizlə* fəallaşması Notch siqnal ötürülməsi zamanı və xolesterinə-cavab verən transkripsiya faktoru SREBP fəallaşması zamanı da baş verir (bax Şəkil 16-36 və 16-38).

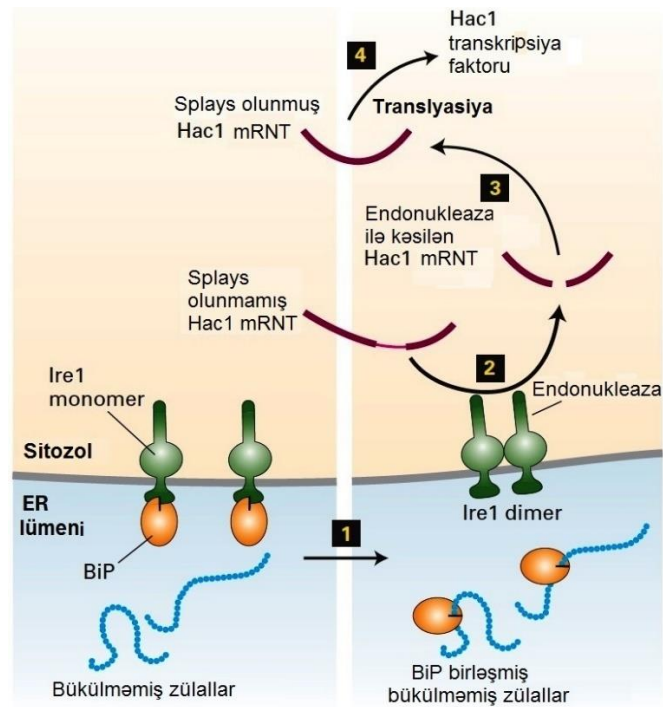


Xəfəneyin (emphysema) irsi forması, ER-də zülalların düzgün bükülməməsindən əmələ gələn zərərli təsirləri təsvir edir. Bu xəstəlik, normal halda hepatositlər və makrofaqlar

tərəfindən ifraz olunan α_1 -antitripsinin nöqtəvi mutasiyası nəticəsində əmələ gəlir. Təbii formalı zülal tripsinə və eləcə də qan proteazası elastazaya birləşib onları ingibirləşdirir. Normal α_1 -antitripsin olmadıqda elastaza ağciyərdə oksigenin adsorbsiyasında iştirak edən nazik toxumanı parçalayır və sonda xəfənyəyin (emphysema) simptomlarını əmələ gətirir. Hərçənd ki, mutant α_1 -antitripsin qırıqlı ER-də sintez olunur, o lazımı qaydada bükülmür və ER-dən eksport olunmayan kristal aqreqatları əmələ gətirir. Hepatositlərdə, ER α_1 -antitripsinin kristalları ilə dolu olduğundan başqa zülalların ifraz olunmasına mane olunur. ■

ER-də Toplanmamış və ya Düzgün Bükülməmiş Zülallar Çox Zaman Parçalanmaq üçün Sitozola Daşınırlar

Səhv bükülmüş ifrazat və membran zülalları, həmçinin multimer zülalların toplanmamış subvahidləri çox zaman sintez olunduqdan sonrakı bir və ya iki saat müddətində qırıqlı ER daxilində parçalanırlar. Uzun illər, tədqiqatçılar güman edirdilər ki, proteolitik fermentlər ER lümeni daxilində səhv bükülmüş və ya toplanmamış polipeptidlərin parçalanmasını kataliz edirlər, amma ER-də belə proteazalar heç zaman tapılmadı. Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, səhv bükülmüş ifrazat zülalları spesifik ER membran zülalları tərəfindən tanınır və *dislokasiya* adlanan proses vasitəsi ilə ER lümenindən sitozola daşınmaq üçün hədəf olunurlar.

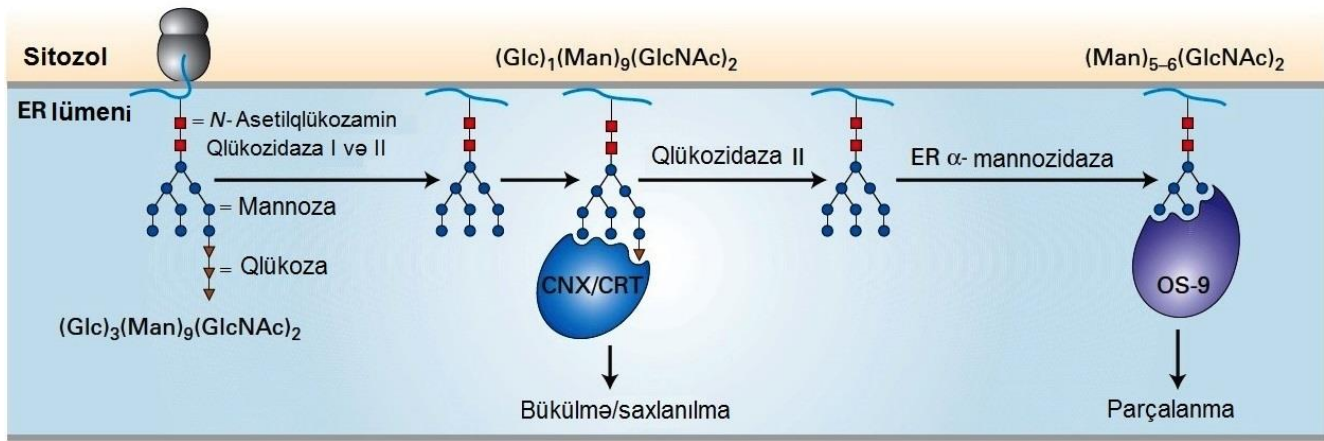


Səhv bükülmüş zülalların ER-dən kənara dislokasiyası və parçalanması ER membranında və sitoplazmada olan, üç əsas

funksiyayı yerinə yetirən zülallar dəstindən asılıdır. Birinci funksiya səhv bükülmüş zülalın tanınmasıdır. Tanınma mexanizmlərindən biri N-əlaqəli karbohidrat zəncirlərin α -mannozidaza I fermenti ilə işlənilməsidir (Şəkil 13-22). Man₅-(GlcNAc)₂ quruluşda olan kəsilməmiş qlikanlar kəsilməmiş qlikozülali dislokasiya üçün hədəf edən OS-9 kimi məlum olan zülal tərəfindən tanınır. Həm EDEM həm də OS-9 kəsilməmiş qlikozülali dislokasiya üçün hədəf edir. ER-də α -mannozidazaların düzgün bükülə bilməyən zülalı necə fərqləndirdiyi, beləliklə də dislokasiya prosesi üçün düzgün substratların, müvəqqəti qismən bükülmüş vəziyyətdə olan və tam bükülmüş konformasiyanın alınması prosesinin gətirdiyi normal zülallardan necə ayırır seçdiyi hələ məlum deyil. Bir ehtimal ondan ibarətdir ki, ER-də α -mannozidaza elə asta təsir edə bilər ki, ER lümenində kifayət qədər uzun müddət səhv bükülmüş vəziyyətdə qalan qlikozülallar kəsilir (budanırlar), ona görə də parçalanmaq üçün hədəf olunurlar. Oligosaxarid zəncirlərindən məhrum olan lüminal zülallarında hamısı birlikdə parçalanmaya hədəf oluna bilər, bu göstərir ki, düzgün bükülməmiş zülalların tanınması üçün başqa proses də mövcuddur. Bu başqa mexanizmlərə N-əlaqəli karbohidrat zəncirlərin kəsilməsi (budanması) daxil ola bilər, çünki N-əlaqəli karbohidrat zəncirinə malik olmayan səhv bükülmüş membran zülalları hamısı birlikdə yenə də parçalanmaya hədəf oluna bilərlər.

ŞƏKİL 13-21 Bükülməmiş-zülal cavabı. ER membranında olan transmembran zülal Ire1, lüminal domenində BiP birləşdirmə sayına malikdir; sitozol domeni spesifik RNT endonukleazaya malikdir. **Pillə1:** ER lümenində bükülməmiş zülalların toplanması BiP molekullara birləşərək onları monomer Ire1-dən ayırır. Sonra Ire1-in dimerləşməsi endonukleaza fəallığını fəallaşdırır. **Pillə2, 3:** Hac1 transkripsiya faktorunu kodlaşdıran splays olunmamış mRNT sələf dimer Ire1 ilə kəsilir və iki eqzon birləşərək funksional Hac1 mRNT-ni əmələ gətirir. Mövcud dəlillər göstərir ki, bu prosessinq sitozolda baş verir, hərçəndki, pre-mRNTnin prosessinqi ümumiyyətlə nüvədə baş verir. **Pillə4:** Hac1 translyasiya olunaraq Hac1 zülalı əmələ gətirir, sonra o geriyyə, nüvəyə keçir və bir sıra zülal-bükülməsi katalizatorlarını kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır. Bax U. Ruegesegeter et al., 2001, *Cell*107:103; A. Bertolotti et al., 2000, *Nat. Cell Biol.* 2:326; və C. Sidrauski and P. Walter, 1997, *Cell*90:1031.

Səhv bükülmüş zülalların dislokasiyası üçün tələb olunan ikinci funksiya nişanlanmış zülalların ER membranını keçərək ER lümenindən sitozola daşınmasıdır. Ən azı dörd inteqral membran zülallarının ERAD (*ER-assosiasiyalı dağılma*) kimi məlum olan kompleksi, səhv bükülmüş zülalların ER membranından keçərək dislokasiya olunmasını mümkün edir. Səhv bükülmüş zülalların ER membranından keçərək getməsi mexanizmi hələ məlum deyil, amma ERAD kompleksinin membranda dislokasiya üçün zülal kanalı yaratması haqqında dəlillər mövcud deyil, və ola bilsin ki, dislokasiyaya sitozolda səhv bükülmüş zülalları birbaşa lipid ikiqatlısından dartıb gətirən çox güclü dartmaq və zülal bükülməsini açmaq mexanizmlərinə malikdir.



ŞƏKİL 13-22 N-əlaqəli oliqosaxaridlərin modifikasiyası bükülmənin və keyfiyyət nəzarətinin monitorinqində istifadə olunur. ER-də N-əlaqəli oliqosaxaridlərdən üç qlükoza qalığı çıxarıldıqdan sonra, tək bir qlükoza qalığı qlükozil transferaza vasitəsi ilə $\text{Glc}_1\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ -dən yenidən əlavə oluna bilər (bax Şəkil 13-18, pillə3a). Bu modifikasiya olunmuş N-əlaqəli karbohidrat, kalneksin (CNX) və kalretikulün (CRT) lektinlərini ER-də tutub saxlamaq və

bükülmə çaperonlarına cəlb etmək üçün onlara birləşir. Bükülmə bilməyən və ona görə də uzun müddət ER-də tutulub saxlanılan zülallar, $\text{Man}_5\text{-6}(\text{GlcNAc})_2$ -ni əmələ gətirmək üçün mannozidaza I vasitəsilə mannoza budanmasına (kəsilməsinə) məruz qalır, bu da OS-9 tərəfindən tanınır. OS-9 tərəfindən tanınma düzgün bükülməmiş zülalların ER-dən dislokasiya olunmasına, ubixitinləşməsinə və proteosomlarla parçalanmasına səbəb olur.

Nəhayət sonda, dislokasiya olunmuş polipeptidlərin seqmentləri sitozola keçiriləndə onlar, dislokasiyanı aparan (idarə edən) sitozol fermentləri ilə qarşılaşırlar. Bu fermentlərdən biri p97 adlandırılan ATP-azadır, **AAA ATP-aza ailəsi** kimi məlum olan zülal ailəsinin nümayəndəsi olub ATP hidrolizindən ayrılan enerjini zülal komplekslərinin sökülməsinə (disassembly) yönəldir. Retrotranslokasiyada ATP-nin p97 ilə hidrolizi düzgün bükülməmiş zülalın ER membranından keçərək sitozola çəkilməsində aparıcı gücü təmin edir. Səhv bükülmüş zülallar sitozola daxil olan kimi, ER membranında ERAD kompleksinin komponentlərindən olan xüsusi ubikvitin liqaza fermentləri ubikvitin qalıqlarını dislokasiya olunan peptidlərə əlavə edir. p97 fəaliyyəti kimi, ubikvitinləşmə reaksiyası ATP hidrolizi ilə birləşir, buradan ayrılan enerji yəqin ki, sitozolda zülalların tutulmasına da kömək edir. Nəticədə, indi sitozolda alınan tam poliubikvitinləşmiş polipeptidlər **proteosomlarda** parçalanmaqla bütünlüklə hüceyrədən atılır. Zülalların proteosomlara hədəf olunmasında ubikvitinləşmənin rolu Fəsil 3-də tam müzakirə edilmişdir (bax Şəkil 3-31 və Şəkil 3-36).

13.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

ER-də Zülalların Modifikasiyası, Bükülməsi və Keyfiyyətinə Nəzarət

- Asparagin qalığına birləşmiş bütün N-əlaqəli oliqosaxaridlər iki əsas N-asetilqlükozamin və ən azı üç mannoza qalıqlarına malikdirlər və adətən bir neçə şaxəsi olur. Serin və ya treonin qalıqlarına birləşmiş O-əlaqəli oliqosaxaridlər əsasən qısa olur, çox hallarda birdən dördə qədər şəkər qalıqlarına malik olurlar.
- N-əlaqəli oliqosaxaridlərin yaranması konservativ 14-qalıqlı yüksək-mannoza sələflərinin, qırıqlı ER membran lipidi dolixol üzərində toplanması ilə başlanır (bax Şəkil 13-17).

Əmələ gəlmiş bu oliqosaxaridlər ER lümenində yeni sintez olunan polipeptid zəncirin spesifik asparagin qalığına keçirildikdən sonra, üç qlükoza qalığı və bir mannoza qalığı atılır (bax Şəkil 13-18).

- Oliqosaxarid yan zəncirlər qlikozülalların düzgün bükülməsinə yardım edə bilirlər, yetişmiş zülalların proteolizdən mühafizə olunmasına kömək edirlər, hüceyrə-hüceyrə adgeziyasında (yapışmasında) iştirak edirlər və antigenlər kimi fəaliyyət göstərirlər.
- Disulfid əlaqələri həll olan çox ifrazat zülallarına və ER-də membran zülallarının eqzoplazmatik domenlərinə əlavə olunurlar. ER lümenində mövcud olan proteindisulfid izomeraza (PDI), disulfid əlaqələrinin həm yaranmasını həm də onların yenidən düzlənməsini kataliz edir (bax Şəkil 13-19).
- BiP çaperonu, kalneksin və kalretikulün lektinlər və peptidil-proлил izomerazalar ER-də yeni sintez olunmuş ifrazat və membran zülallarının düzgün bükülməsini təmin etmək üçün birgə fəaliyyət göstərirlər. Multimer zülalların subvahidləri də həmçinin ER-də toplanır (bax Şəkil 13-20).
- Yalnız düzgün bükülmüş zülallar və yığılmış subvahidlər qırıqlı ER-dən qovucuqlarla Qolci kompleksinə daşınırlar.
- Düzgün bükülməmiş zülalların və yığılmamış subvahidlərin ER-də toplanıb artması bükülməmiş-zülala cavab reaksiyası ilə ER-də zülal-bükən katalizatorların artan-ekspressiyasını induksiya edə bilər (bax Şəkil 13-21).
- ER-də yığılmamış və ya düzgün bükülməmiş zülallar çox zaman geriye, sitozola daşınır və burada onlar ubikvitin-proteosom yolu ilə parçalanırlar (bax Şəkil 13-22).

13.4 Zülalların Mitoxondrilərə və Xloroplastlara Hədəf Olunması

Bu fəsilin qalan hissəsində, biz sitozol ribosomlarında sintez olunan zülalların diskret orqanoidlərə – mitoxondrilərə,

xloroplastlara, peroksisomlara və nüvəyə necə çeşidləndiyini araşdırırıq (bax Şəkil 13-1). İki bir-birinə yaxın olan orqanoidlər - mitoxondrilər və xloroplastlar *matrisa* adlanan daxili lümenə malikdirlər və iki membranla əhatə olunmuşlar. Bunun əksinə, bizim növbəti bölmədə müzakirə edəcəyimiz peroksisomlar bir membranla əhatə olunmuşlar və vahid bir lüminal matrisa kompartmentinə malikdirlər. Zülalların nüvə daxilinə və xaricinə daşınması mexanizmi çox xüsusiyyətlərinə görə başqa orqanoidlərə olan çeşidləmədən fərqlənirlər və bu sonuncu bölmədə müzakirə olunur.

Mitoxondrilər və xloroplastlar iki membranla əhatə olunmaqdan başqa, oxşar elektron nəqliyyat zülallarına da malikdirlər və ATP sintez etmək üçün F-sinif ATP-azadan istifadə edirlər (bax Şəkil 12-24). Maraqlıdır ki, bu xüsusiyyətlər qramm-mənfi bakteriyalarda da vardır. Bakteriyal hüceyrələrdə olduğu kimi, mitoxondri və xloroplastlar da öz DNT-lərinə malikdirlər, bunlarda orqanoidin rRNT-lərini, tRNT-lərini və bəzi zülalları kodlaşdırırlar (Fəsil 8). Bundan əlavə, mitoxondrilərin və xloroplastların bölünməsi və nüvə bölünməsi ilə əlaqəli deyildir. Bu orqanoidlər daha çox, hüceyrə lipidləri və zülalların birləşməsi ilə inkişaf edir və yeni orqanoidlər mövcud olan orqanoidlərin bölünməsi ilə əmələ gəlirlər. Sərbəst-yaşayan bakteriyal hüceyrələrlə mitoxondri və xloroplastların çoxsaylı oxşarlıqları belə bir anlaşılmaya səbəb oldu ki, bu orqanoidlər bakteriyaların eukariot hüceyrələrin daxilinə keçərək onunla birləşməsi və endosimbiot orqanoidi yaratması nəticəsində əmələ gəlmişdir (bax Şəkil 12-7). Mitoxondri və xloroplastlarda oxşar olan çox membran translokasiya zülallarının ardıcillıq oxşarlığı bunların təkamülə qədim yaxınlığını sübut edən güclü dəlildir. Bu bölmədə, biz bu membran translokasiya zülallarını detalları ilə öyrənəcəyik.

Mitoxondri DNT-si və ya xloroplast DNT-si ilə kodlaşdırılan zülallar ribosomlarla bu orqanoidlər daxilində

sintez olunur və sintezdən dərhal sonra birbaşa lazım olan subkompartməntə yönəldilirlər. Amma, mitoxondri və xloroplastlarda yerləşən zülalların əksəriyyəti nüvədəki genlərlə kodlaşdırılır və sitozolda sintez olunduqdan sonra orqanoidə daşınır. Yəqin ki, milliard illər öncə eukariot hüceyrələr əmələ gələrkən bu endosimbiotik orqanoidlərin genetik informasiyasının əsas hissəsi hazırda məlum olmayan mexanizmlə əcdad bakterial DNT-dən nüvəyə keçmişdir. Sitozolda sintez olunan və mitoxondri matrisası və ya xloroplastda ona uyğun olan stroma üçün nəzərdə tutulan sələf zülallar adətən spesifik N-terminal hədəf olunma ardıcillıqlarına malik olurlar, bu da onların orqanoidin səth reseptoruna birləşməsini müəyyənləşdirir. Ümumiyyətlə, bu ardıcillıq matrisaya və ya stromaya çatanda kəsilir. Bu hədəf ardıcillıqlar yerləşməsinə və yeni sintez olunan zülalları ER lümeninə yönəldən siqnal ardıcillıqlarının ümumi funksiyasına görə tamamilə oxşarırlar. Baxmayaraq ki, üç tip siqnal ümumi ardıcillıq xüsusiyyətlərinə görə oxşarırlar, onların spesifik ardıcillıqları, Cədvəl 13-1-də ümumiləşdirildiyi kimi, kifayət qədər çox fərqlənir.

Həm mitoxondrilərdə həm də xloroplastlarda zülalın importu enerji tələb edir və daxili və xarici orqanoid membranlarının daha yaxın əlaqəli olduğu nöqtədə baş verir. Mitoxondrilər və xloroplastlar çoxsaylı membranlara və membranla-məhdudlaşan boşluqlara malik olduqlarından, çox zülalların düzgün müvafiq yerlərinə çeşidlənməsi çox hallarda iki hədəf ardıcillığının və iki membranla-bağlı translokasiya sisteminin ardıcıl fəaliyyətini tələb edir: sistemlərdən biri zülalı orqanoid daxilinə istiqamətləndirir, digəri isə dəqiq orqanoid kompartmentinə və ya membranına yönəldir. Bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, müxtəlif zülalların mitoxondrilərə və xloroplastlara çeşidlənməsi mexanizmləri əvvəllər müzakirə olunmuş bəzi mexanizmlərə yaxındır.

Cədvəl 13-1 Zülalları sitozoldan orqanoidlərə* yönəldən udulma-hədəflənmə ardıcillığı

Hədəf orqanoid	Zülal daxilində ardıcillığın yerləşməsi	Ardıcillığın atılması	Ardıcillığın təbiəti
Endoplazmatik şəbəkə (lümen)	N-sonluq	Bəli	6-12 hidrofob aminturşumundan ibarət özak, çox halda özündə bir və ya daha çox əsasi amin turşusu gəlir (Arg, Lys)
Mitoxondri (matrisa)	N-sonluq	Bəli	20-50 qalıq uzunluqda amfipatik spiral, bir tərəfində Arg və Lys qalıqları, digər tərəfində isə hidrofob qalıqlar
Xloroplast (stroma)	N-sonluq	Bəli	Ümumi motif yoxdur; adətən Ser, Thr və kiçik hidrofob qalıqlarla zəngin olur, Glu və Asp qalıqları çox az olur
Peroksisom (matrisa)	C-sonluq (əksər zülallarda) N-sonluq (çox az zülallarda)	Yox	PTS1 siqnal (Ser.-Lys.-Leu) ən C-sonluqda; PTS2 siqnal N-sonluqda
Nüvə (nüvə plazması)	Müxtəlif	Yox	Çoxsaylı müxtəlif növlər; ümumi motivə Lys və Arg ilə zəngin qısa seqment daxildir

*Fərqli və ya əlavə ardıcillıqlar zülalları orqanoid membranına və subkompartməntlərə hədəf edir.

Amfipatik N-Sonluq Hədəf Ardıcillıqları Zülalları Mitoxondri Matrisasına Yönəldir

Sitozoldan eyni mitoxondrial məkana gedən bütün zülalların, siqnal ardıcillıqları eyni olmasa da, ümumi oxşar motivə malik olan hədəf siqnalları vardır. Beləliklə, bu cürə siqnalları tanıyan reseptorlar bir sıra fərqli, amma əlaqəli

ardıcillıqlara birləşmə qabiliyyətinə malikdirlər. Zülalların mitoxondridə lokalizasiyası zamanı ən geniş öyrənilən ardıcillıqlar *matrisa-hədəflənmə ardıcillıqları*dır. Bu ardıcillıqlar N-sonluqda yerləşir, adətən 20-50 amin turşusu uzunluqda olurlar. Onlar hidrofob amin turşuları ilə, müsbət yüklü əsasi amin turşuları (arginin və lizin) və hidrokşillənmiş amin turşuları

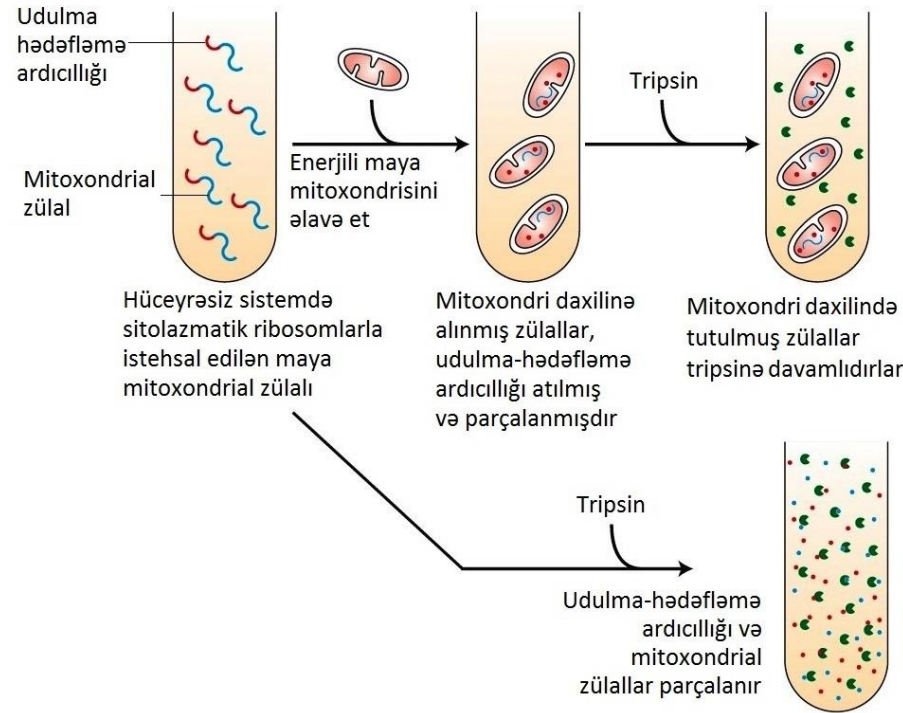
(serin və treonin) ilə zəngindir, amma mənfi yüklü amin turşu qalıqlarının (aspartat və qlutamat) yoxluğuna meyillidirlər.

Güman olunur ki, mitoxondrial matrisa hədəfləmə ardıcılığı spiralın bir tərəfində mənfi yüklənmiş amin turşusu qalıqlarının dominantlıq etdiyi, digər tərəfində isə hidrofob amin turşularının dominantlıq etdiyi α -spiral konformasiyasını alır. Həm hidrofob həm də hidrofil rayonlara malik olan belə ardıcılıqlar **amfipatik** adlandırılır. Bu ardıcılıqların amfipatik xarakterini pozan mutasiyalar adətən matrisaya hədəf olunmanı pozur, hərçəndki başqa bir-çox amin turşuların əvəz olunması onu pozmur. Bu kəşflər göstərir ki, matrisa-hədəfləmə ardıcılığının amfipatlığı onların fəaliyyətində kritik əhəmiyyət kəsb edir.

Güman olunur ki, mitoxondrial matrisa hədəfləmə ardıcılığı spiralın bir tərəfində mənfi yüklənmiş amin turşusu qalıqlarının dominantlıq etdiyi, digər tərəfində isə hidrofob amin turşularının dominantlıq etdiyi α -spiral konformasiyasını alır. Həm hidrofob həm də hidrofil rayonlara malik olan belə ardıcılıqlar **amfipatik** adlandırılır. Bu ardıcılıqların amfipatik xarakterini pozan mutasiyalar adətən matrisaya hədəf olunmanı pozur, hərçəndki başqa bir-çox amin turşuların əvəz olunması

onu pozmur. Bu kəşflər göstərir ki, matrisa-hədəfləmə ardıcılığının amfipatlığı onların fəaliyyətində kritik əhəmiyyət kəsb edir.

Şəkil 13-23-də verilmiş hüceyrəsiz sınaqlar, mitoxondrial sələf zülalların importu zamanı biokimyəvi mərhələlərin aydınlaşdırılmasında geniş şəkildə istifadə olunmuşdur. Hüceyrələrdən ekstraksiya olunmuş tənəffüs edə bilən (enerjili) mitoxondriyə, mitoxondri olmadan sintez olunmuş müvafiq hədəflənmə ardıcılığını daşıyan mitoxondrial sələf zülallarla birləşə bilər. Sələf zülalın orqanoid daxilinə uğurla keçməsinə əlavə olunan tripsin kimi proteazalarla kəsilməyə qarşı dözümlülüyü ilə sınaqdan keçirmək olur. Başqa sınaqlarda isə sələf zülalın uğurlu importu N-sonluqlu hədəf ardıcılıqlarının spesifik mitoxondrial proteazalarla düzgün kəsilməsi yolu ilə göstərilə bilər. Tam sintez olunmuş mitoxondrial sələf zülalların orqanoid tərəfindən udulması, bu sistemdə ifrazat zülallarının ER-ə hüceyrəsiz kotranslyasiya translokasiyası ilə ziddiyət əmələ gətirir, bu adətən yalnız sintez zamanı mikrosomal (ER mənşəli) membranlar mövcud olduqda baş verir (bax Şəkil 13-4).



ŞƏKİL 13-23 Mitoxondrial sələf zülalların import olunması hüceyrəsiz sistemlərdə sınaqdan keçirilir.

Udulma-hədəfləmə siqnalları qoşulmuş mitoxondrial sələf zülalları hüceyrədən-kənar reaksiyalarla ribosomlarda sintez oluna bilər. Tənəffüs edən mitoxondriyə sintez olunmuş mitoxondrial sələf zülallara əlavə olduqda (yuxarıda), zülallar mitoxondriyə tərəfindən götürülür. Mitoxondriyə daxilində zülallar tripsin kimi proteazaların təsirindən mühafizə olunurlar. Mitoxondriyə mövcud olmadıqda (aşağıda), mitoxondrial zülallar əlavə edilmiş proteazalarla parçalanırlar. Bu zülalları, yalnız daxili membrandan keçən elektrokimyəvi qradienti (proton-hərəkətverici qüvvə) olan enerjili (tənəffüs edən) mitoxondriyə uduşuna bilər. Bundan başqa, import olunmuş zülallar müvafiq udulma-hədəflənmə ardıcılığına malik olmalıdırlar. Udulma həmçinin ATP-ni və sələf zülallarını bükülməmiş konformasiyada saxlamaq üçün tərkibində çaperon zülalları olan sitozol ekstraktının olmasını tələb edir. Bu sınaq, hədəf olunma ardıcılığını və translokasiya prosesinin başqa xüsusiyyətlərini tədqiq etmək üçün istifadə olunmuşdur.

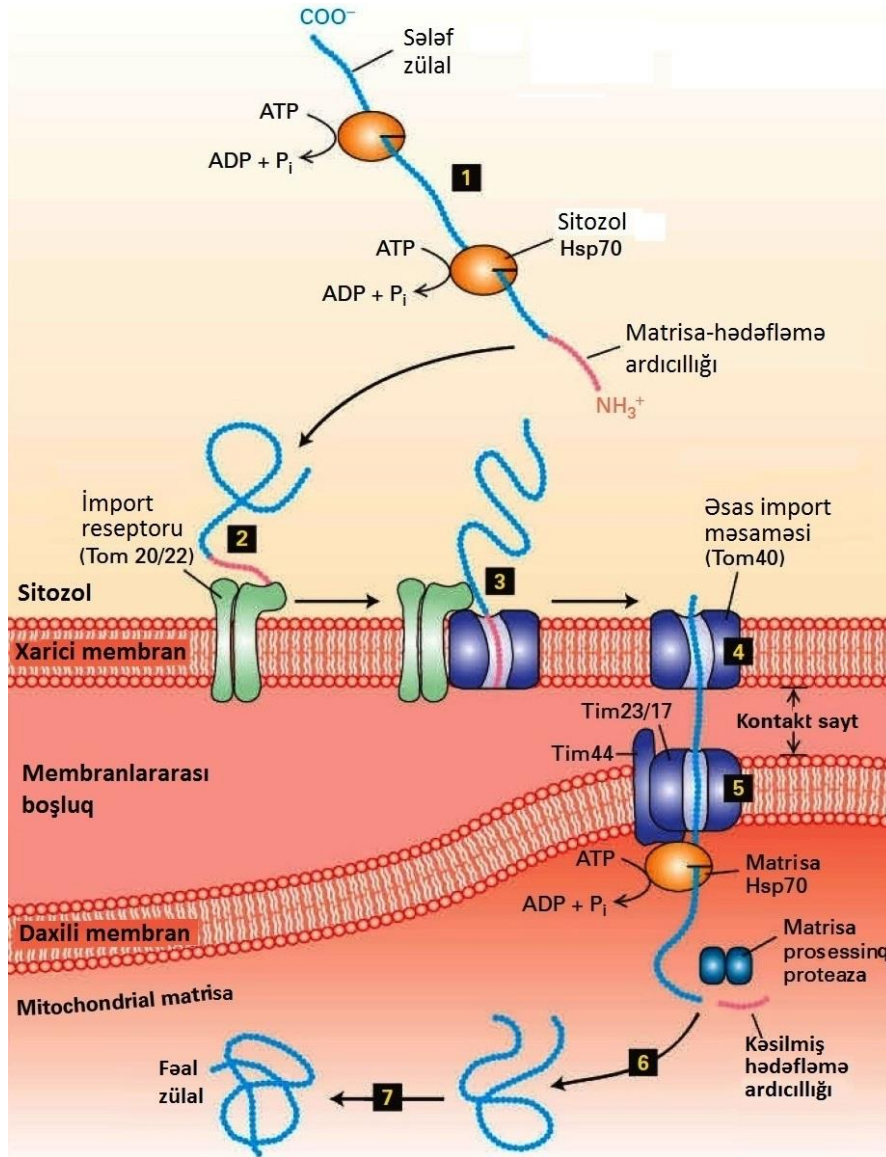
Mitoxondrial Zülalın İmportu Xarici-Membran Reseptorlarını və Hər İki Membranda Translokonları Tələb Edir

Şəkil 13-24 sitozoldan mitoxondri matrisasına zülal importunun ümumi təsvirini təqdim edir, əksər zülallar mitoxondri daxilinə bu yolla import olunurlar. Biz burada matrisa daxilinə zülal daşınmasının hər bir pilləsini detalları ilə müzakirə edirik və sonra, bəzi zülalların uyğun olaraq mitoxondrinin başqa kompartimentlərinə necə hədəf olunmasına nəzər salırıq.

Sitozolda sintez olunduqdan sonra, mitoxondrial zülalların həllolan sələfləri (hidrofob inteqral membran zülalları da daxil olmaqla) mitoxondrial membranla birbaşa əlaqəyə girə bilərlər. Bükülməmiş mitoxondriyə sələfin importu mitoxondrial hədəfolunma ardıcılığının xarici mitoxondrial membrandakı *import reseptoruna* birləşməsi ilə inisiyasiya olunur. Bu reseptorlar ilk dəfə, xarici mitoxondrial membran zülallarına spesifik olan anticismlərin ayrılmış mitoxondrinin daxilinə zülal importunu ingibirləşdirdiyini göstərən eksperimentlərlə identifikasiya olunmuşdur. Spesifik xarici mitoxondrial-

membran zülallarının, genlərinin mutasiya olunduğu sonrakı genetik eksperimentlər göstərdi ki, spesifik reseptor zülalları mitoxondrial zülalların müxtəlif siniflərinin importunu həyata keçirirlər. Məsələn, N-sonluqlu matrisa-hədəfləmə ardıcılıqları

Tom20 və Tom22 tərəfindən tanınır. (Hədəf olunmada və importda iştirak edən xarici mitoxondrial membran zülalları xarici membranın translokunu üçün *Tom* zülalları kimi müəyyən olunur.)



ŞƏKİL 13-24 Mitoxondrial matrisaya zülalın importu.

Sitozol ribosomunda sintez olunan sələf zülallar Hsp70 kimi çaperonlarla birləşmiş şəkildə bükülməmiş və ya qismən bükülmüş vəziyyətdə saxlanılır (pillə 1). Hədəf zülal, daxili membranla kontakt saytı yaxınlığında import reseptoruna birləşdikdən sonra (pillə 2), o əsas import məsaməsi daxilinə daşınır (pillə 3). Sonra translokasiya edən zülal bu kanalla və bunun yaxınlığında daxili membranda olan kanalla hərəkət edir (pillə 4, 5). Qeyd edək ki, translokasiya daxili və xarici membranın bir-birinə toxunduğu nadir "kontakt saytlarında" baş verir. Translokasiya edən zülalın matrisa çaperonu Hsp70-ə birləşməsi, sonra da Hsp70-lə ATP-nin hidrolizi matrisa daxilinə importun aparılmasını idarə edir. Uduqlma-hədəflənmə ardıcılığı matrisa proteazaları vasitəsi ilə atıldıqdan və yeni import olunmuş zülaldan Hsp70 buraxıldıqdan sonra (pillə 6), zülal matrisa daxilində fəal yetkin konformasiyada bükülür (pillə 7). Bəzi zülalların bükülməsi matrisa çaperonundan asılıdır. Bax G. Schatz, 1996, *J.Biol.Chem.* **271**:31763 və N. Pfanner et al, 1997, *Ann.Rev.Cell Devel.Biol.* **13**:25.

Çox zülallar mitoxondri daxilinə yalnız bükülməmiş zülal vəziyyətində import olunur. Hsp70 Hsp90 kimi sitozol çaperon zülalları ATP hidrolizindən ayrılan enerjiden istifadə edərək yeni zintez olunan və yeni sintez olunmuş zülalları aqreqasiya olunmamış vəziyyətdə elə saxlayırlar ki, onlar mitoxondri tərəfindən götürülə bilsinlər. Bəzi mitoxondrial sələf zülallar üçün mitoxondrinin xarici membran zülalı Tom70 həm Hsp90 ilə həm də bükülməmiş sələf zülalla birləşərək import reseptoru rolunu oynayır.

İmport reseptorları sonradan sələf zülalını xarici membrandakı import kanalına ötürür. Bu kanal əsasən Tom40 zülallardan təşkil olunmuşdur və bütün mitoxondrial sələf zülallar mitoxondrinin daxili kompartmentlərinə bu kanal

vasitəsi ilə giriş yolu qazandığından onlar *əsas import məsaməsi* kimi tanınırlar. Tom40-ı ayırıb təmizləyərək liposomlara daxil etdikdə o, bükülməmiş polipeptidin yerləşə biləcəyi kifayət qədər geniş məsaməyə malik olan transmembran kanalı əmələ gətirir. Əsas import məsaməsi xarici mitoxondrial membrandan keçən passiv kanalları əmələ gətirir və mitoxondri daxilinə bir istiqamətli daşınma üçün aparıcı güc mitoxondridən gəlir. Sələf zülalı mitoxondri matrisası üçün təyin edildiyi (yönəldildiyi) halda, xarici membrandan ötürmə Tim23 və Tim 27 zülallardan təşkil olunmuş daxili membran kanalından ötürülmə ilə eyni zamanda baş verir. (Burada *Tim* daxili membrandakı translokunu bildirir.) Beləliklə, matrisa daxilinə translokasiya,

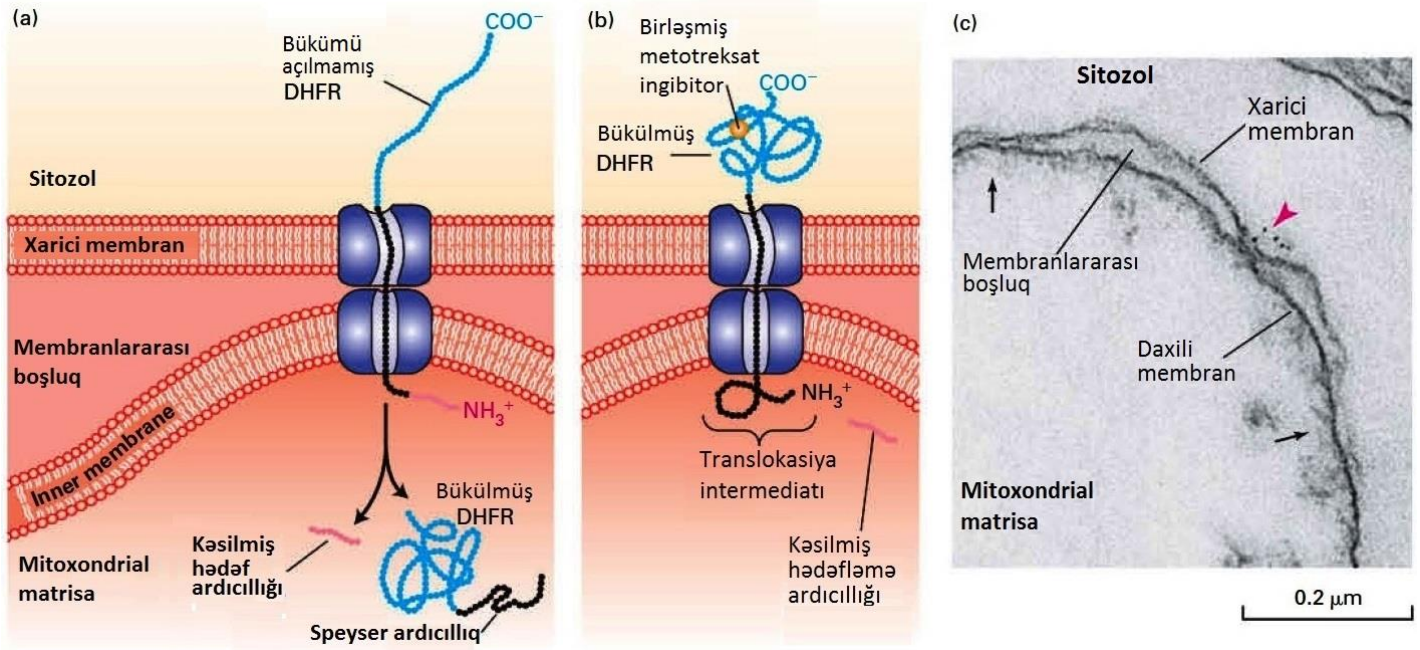
xarici və daxili membranın çox yaxın təmasda olduqları “əlaqə saytlarında” baş verir.

Zülalın N-sonluqlu matrisa-hədəfləmə ardıcılığı mitoxondrial matrisaya daxil olduqdan dərhal sonra, matrisa daxilində yerləşmiş proteaza tərəfindən kənarlaşdırılır. Formalaşmaqda olan zülal,transmembran zülal Tim44 ilə də qarşılıqlı əlaqəyə girərək daxili mitoxondrial membranda translokasiya kanalında yerləşən matrisa çaperonu Hsp70 ilə birləşir. Bu qarşılıqlı əlaqə matrisa Hsp70 vasitəsi ilə ATP hidrolizini stimullaşdırır və güman olunur ki, Tm44 və Hsp70 ilə birlikdə zülalların matrisaya translokasiyasını təmin edir.

Bəzi import olunmuş zülallar sonra heç bir yardım olmadan özlərinin son fəal konformasiyalarına bükülə bilirlər. Amma, matrisa zülallarının son bükülməsi **çaperoninlərin** olmasını tələb edir. Fəsil 3-də müzakirə olunduğu kimi, çaperonin zülalları ATP-dən asılı olan proseslə zülal bükülməsini fəal şəkildə asanlaşdırır. Məsələn, Hsc60-da qüsurlu olan maya mutantlarında mitoxondrial matrisada olan çaperonin matrisa zülallarını import edə və onların udma-hədəfləmə ardıcılığını normal şəkildə kəsə bilər, amma import olunmuş zülallar öz nativ üçüncü və dördüncü quruluşlarına bükülə və toplana bilmirlər.

Ximer Zülallarla Aparılan Tədqiqatlar Mitoxondrial Importun Əhəmiyyətli Xüsusiyyətlərini Nümayiş Etdirir

Mitoxondrial matrisa-hədəfləmə ardıcılığının zülalların importunu istiqamətləndirmək qabliyyəti üçün dramatik sübutlar rekombinant DNT texnologiyası yolu ilə istehsal olunmuş ximer zülallarla əldə edilmişdir. Məsələn, alkoqol-dehidrogenazanın matrisa-hədəfləmə ardıcılığı, normal halda sitozolda məskunlaşan dihidrofolat reduktazanın (DHFR) N-sonluğuna qovşaq oluna bilər. Hüceyrəsiz translokasiya sınaqları göstərdi ki, sitozolda DHFR-in C-sonluq seqmentinin bükülməsinə mane olan çaperonlar iştirak edən zaman ximer zülal matrisaya daşınır (Şəkil 13-25a). DHFR-in fəal mərkəzinə sıx şəkildə birləşən və onun bükülmüş konformasiyasını güclü şəkildə stabilləşdirən metotreksat inhibitoru, ximer zülalı sitozol çaperonlarla konformasiyanın pozulmasına qarşı dözümlü vəziyyətdə saxlayır. Translokasiya sınaqları metotreksatın iştirakı ilə aparılanda, ximer zülal matrisaya tam daxil olmur. Bu kəşf nümayiş etdirdi ki, hər iki mitoxondrial membranda import məsələlərini keçmək üçün sələf zülal bükülməmiş vəziyyətdə olmalıdır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 13-25 Ximer zülallarla eksperiment mitoxondriya zülal importunu izah edir. Bu eksperimentlər göstərir ki, tək matrisa-hədəfləmə ardıcılığı özü zülalı mitoxondrial matrisaya yönəldir və yalnız bükülməmiş zülallar hər iki membranı kəsib keçə bilər (translokasiya olunur). Bu eksperimentdə N-sonluğunda matrisa-hədəfləmə signalına malik olur ximer zülalın (qırmızı) ardınca xüsusi funksiyaya malik olmayan spacer (boş sahə) ardıcılığı (qara) və sonra, normal halda yalnız sitozolda mövcud olan dihidrofolat reduktaza (DHFR) fermenti gəlir. (a) DHFR seqment bükülməmiş olanda ximer zülal membrandan keçərək gərginlikdə olan mitoxondriya matrisasına gedir və sonra matrisa-hədəfləmə signalı atılır. (b) Ximer zülalın C-sonluğu bükülmüş vəziyyətdə metotreksatla birləşməklə bağlı olanda translokasiya blok olunur. Əgər speyser ardıcılığı hər iki daşınma kanalını keçmək qədər genişlənmək üçün kifayət qədər uzun olarsa,

kəsilib atılmış hədəfləmə ardıcılığı olan stabil translokasiya intermediyatı burada göstərilirdiyi kimi, metotreksatın iştirakı ilə yaranır. (c) (b)-dəki translokasiya intermediyatının C-sonluğu mitoxondriya matrisasına DHFR seqmentinə birləşən anticislərlə inkubasiya etməklə və ardınca da anticism molekullarına qeyri spesifik birləşən bakterial A zülalı ilə örtülmüş qızıl zərrəciklərlə (bax Şəkil 9-29) inkubasiya etməklə aşkar oluna bilər. Kəsiklərə ayrılmış nümunələrin elektron mikrofotosu, daxili və xarici membranlar arasında kontakt saytlarında translokasiya intermediyatına birləşmiş qızıl zərrəcikləri aşkar edir (qırmızı ox başlıqları). Başqa kontakt saytların da mövcud olması (qara ox başlıqları) şübhəsizdir. Bax J. Rassow et al., *FEBS Lett.* **275**:190. [(c) hissəsi ©1987, M. Schweiger et al., *J. Cell Biol.* **105**:235-246. Doi: 10.1083/jcb.105.1.235]

Əlavə tədqiqatlar aşkar etdi ki, əgər N-sonluqlu matrisa-hədəfləmə ardıcılığını və ximer zülalın DHFR hissəsini kifayət qədər uzun speyser ardıcılığı ayırırsa, onda metotreksatin iştirakı ilə, polipeptid zəncirin Hsp70-in matrisa ilə stabil assosiasiyasına görə mümkün olan geriyə, sitozola sürüşməsinə mane olmaq üçün polipeptid matrisaya çıxaraq kifayət qədər uzanırsa, hər iki membranı əhatə edən translokasiya intermediatını yaratmaq olar (Şəkil 13-25b). Belə stabil translokasiya intermediatını yaratmaq üçün speyser ardıcılığı kifayət qədər uzun olmalıdır ki, hər iki membrana sarına bilsin, mümkün olan maksimum uzunluğa qədər çatmış, 50 amin turşusu uzunluqda olan speyser bunu etmək üçün kifayət edir. Əgər ximer qısa speyserə malikdirsə – deyək ki, 35 amin turşusu qədər – speyser ardıcılığı hər iki membranı əhatə edə bilmədiyindən qeyri stabil translokasiya intermediatı alınacaq. Bu müşahidələr, translokasiya edən zülalların həm xarici həm də daxili mitoxondrial membranlara əhatə edə bilməsi və bu membranları bükülməmiş vəziyyətdə keçə bilməsi barədə daha da əlavə sübutları təmin edir.

Stabil translokasiya intermediatlarının mikroskopik tədqiqatları göstərdilər ki, onlar mitoxondrinin xarici və daxili membranlarının bir birinə çox yaxın olduqları saytda toplanırlar, bu sübut edir ki, sələf zülallar yalnız bu saytlardan daxil olurlar (Şəkil 13-25c). Tipik maya mitoxondrisində təxminən minə qədər yapışmış ximer zülallar *kontakt saytlarında* müşahidə oluna bildiyindən, güman olunur ki, mitoxondrial zülalları udmaq üçün mitoxondri təxminən minə qədər ümumi import məsaməsinə malikdir.

Zülalların Mitoxondriyə İmportu üçün Üç Enerji Girişi Lazımdır

Əvvəllər qeyd olunduğu kimi və Şəkil 13-24-də göstəriləni kimi, həm sitozolda həm də mitoxondri matrisasında Hsp70 çaperon zülallarla ATP-nin hidrolizi mitoxondrial zülalların importu üçün tələb olunur. Sitozol Hsp70 enerjini birləşdiyi sələf zülalları bükülməmiş vəziyyətdə saxlamaq üçün sərf edir, belə halda onları matrisa daxilinə translokasiya etmək mümkün olur. Bu funksiya üçün ATP-nin əhəmiyyəti, mitoxondrial sələf zülalların təmizləndiyi və sonra sidik cövhəri ilə denaturasiya (bükülməmiş) olduğu tədqiqatlarda nümayiş etdirilmişdir. Hüceyrəsiz mitoxondrial translokasiya sistemində sınaq keçirilərkən denaturasiya olunmuş zülal ATP iştirakı olmadan matrisa daxilinə keçir. Bunun əksinə, eyni sələf zülal öz nativ, denaturasiya olunmamış formasında ATP iştirakı olmadan, hətta sitozol çaperonların iştirakı ilə belə import olunmur.

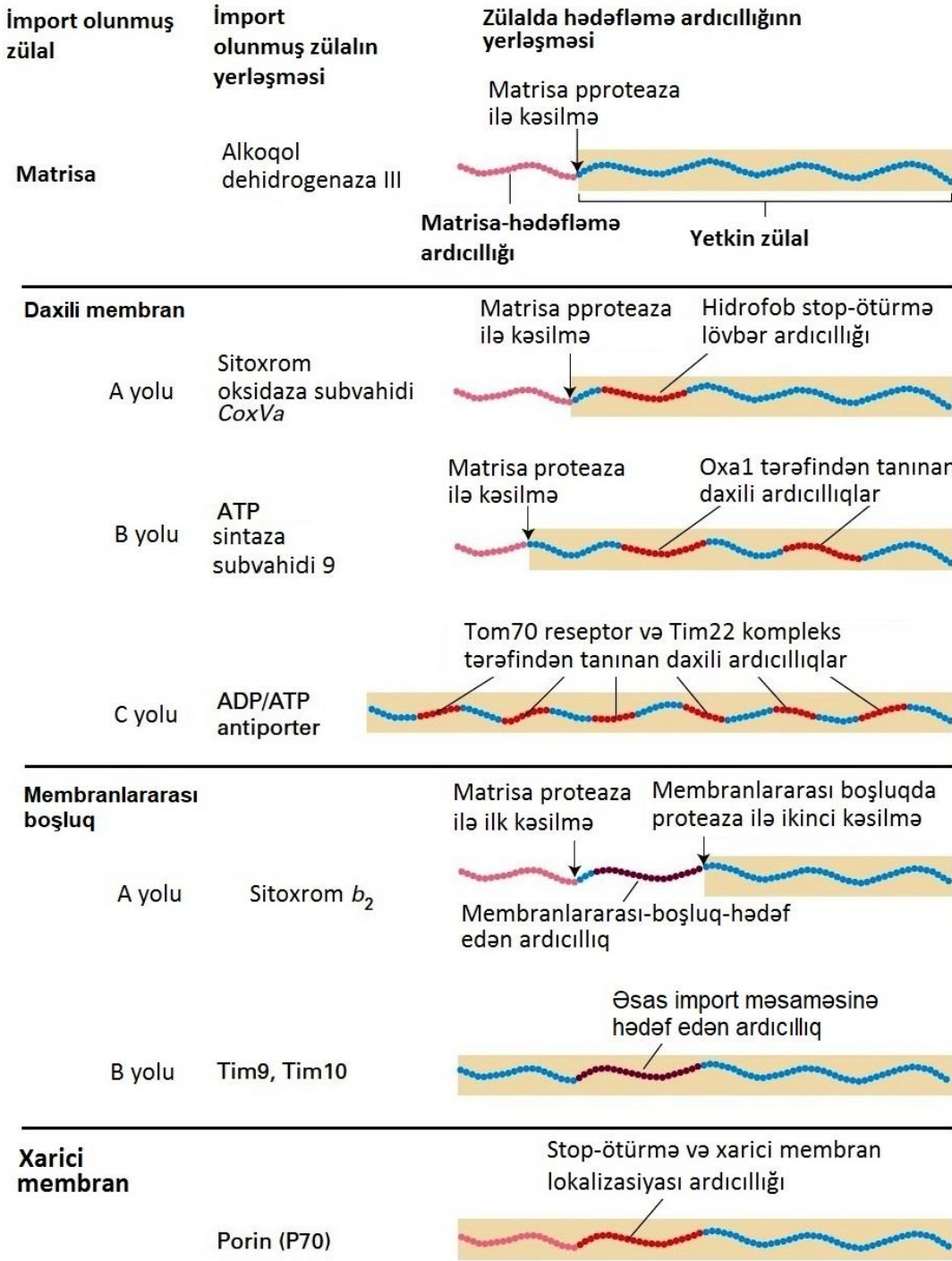
Çoxsaylı matrisa Hsp70 molekullarının translokasiya edən zülalə ardıcıl birləşməsi və onların ATP- ilə idarə olunan şəkildə buraxılması sadəcə olaraq bükülməmiş zülalı matrisada tuta (tələyə sala) bilər. Alternativ olaraq, zülalı matrisaya çəkmək üçün Tim44 zülalı vasitəsi ilə membrana lövbər etmiş matrisa Hsp70 molekulyar motor kimi fəaliyyət göstərə bilər (bax Şəkil 13-24). Belə olan halda, matrisa Hsp70 və Tim44-ün fəaliyyəti uyğun olaraq BiP və Sec63 çaperon kompleksinin ER lümeninə post-translyasiya translokasiyasındakı fəaliyyətinə oxşar olmalıdır (bax Şəkil 13-9).

Mitoxondrial zülal importu üçün tələb olunan üçüncü enerji mənbəyi daxili membrandan keçən H^+ elektrokimyəvi qradienti və ya proton-*hərəkətverici qüvvəsidir*. Fəsil 12-dən yada salaq ki, elektron nəqliyyatı zamanı protonlar nasosla matrisadan membranlararası boşluğa vurularaq daxili membrandan keçən transmembran potensialı yaradır. Ümumiyyətlə, yalnız fəal şəkildə tənəffüs edə bilən və ona görə də daxili membranda proton-*hərəkətverici* güvvəni yarada bilən mitoxondrilər sələf zülalları sitozoldan mitoxondrial matrisaya translokasiya etməyə qabildirlər. Mitoxondrilərin oksidativ fosforlaşma(sı)nın sianid və ya dinitrofenol kimi inhibitorlarla və ya ayırıcılar ilə işlənilməsi bu proton-*hərəkətverici* güvvəni dağıdır. Hərçənd ki, sələf zülallar hələ də belə zəhərlənmiş mitoxondrilərdə reseptorlara sıx şəkildə birləşə bilirlər, amma istər intakt hüceyrədə, istərsə də hüceyrəsiz sistemdə, hətta çaperonların və ATP-nin iştirakı ilə, yenə də import oluna bilmirlər. Sələf zülalların matrisaya daxil olmasını asanlaşdırmaq üçün proton-*hərəkətverici* güvvənin necə istifadə olunduğunu alimlər hələ tam anlamırlar. Zahirən kiçik olan bu potensial fərq, lipid ikiqatlısının çox dar hidrofob özəyində yaranır və təxminən 400000 V/sm-ə bərabər olan, həddən artıq böyük elektrik qradientini yaradır. Bir fərziyyə ondan ibarətdir ki, amfipatik matrisa-hədəfləmə ardıcılığında müsbət yüklər sadəcə olaraq “elektroforez” olunur və ya daxili-mənfi membran elektrik potensialı vasitəsi ilə matrisa boşluğuna dartılır.

Çoxsaylı Sıqnallar və Yollar Zülalları Submitoxondri Kompartmentlərinə Hədəf Edirlər

Zülalların matrisaya hədəf olunmasından fərqli olaraq, onların mitoxondrinin membranlararası boşluğuna, daxili membranına və xarici membranına hədəf olunması ümumiyyətlə birdən artıq hədəfləmə ardıcılığını tələb edir və bir sıra yollardan biri ilə baş verir. Şəkil 13-26 mitoxondrinin müxtəlif hissələrinə çeşidlənən zülalların hədəfləmə ardıcılığının təşkilini ümumiləşdirirək verir.

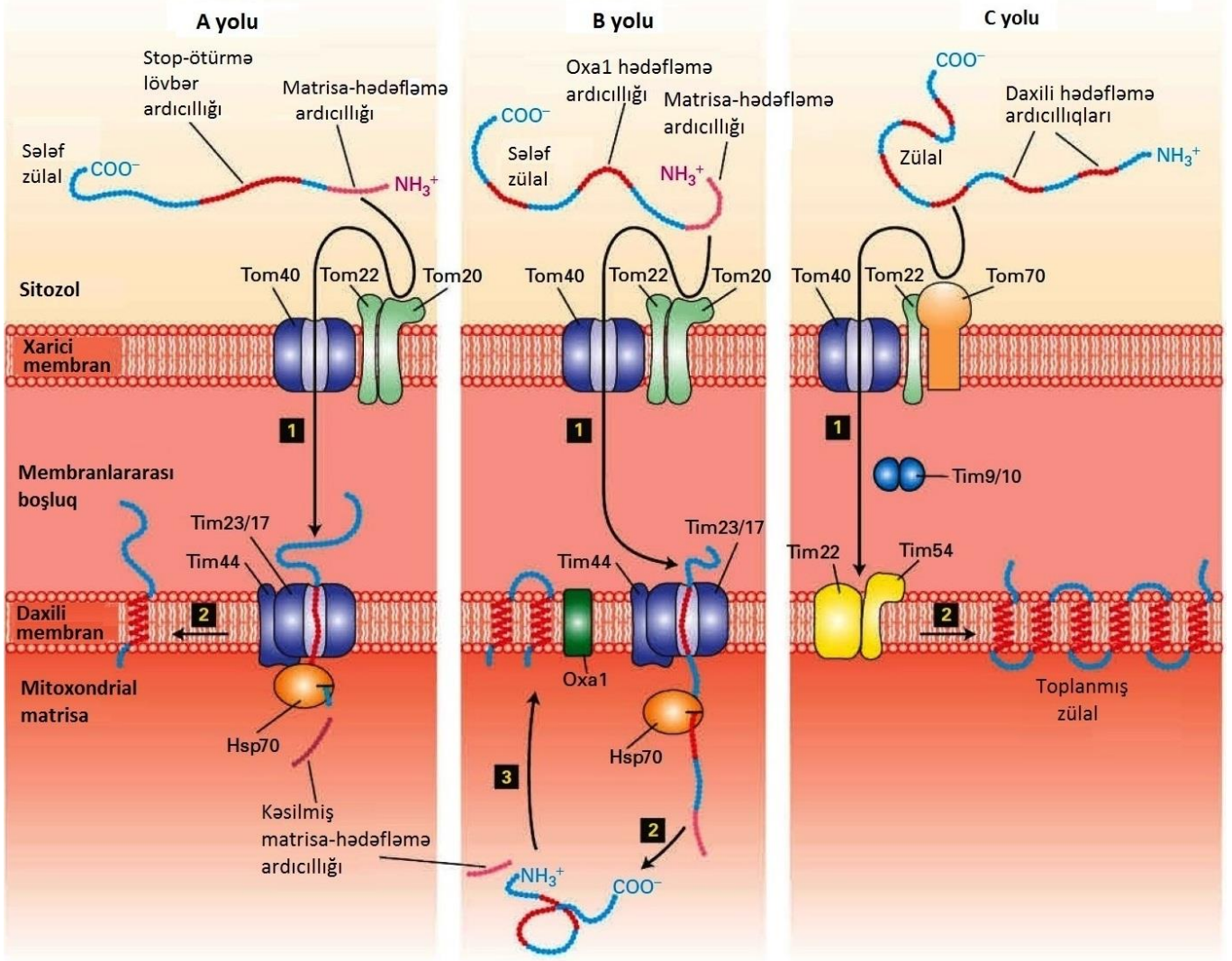
Daxili-membran zülalları Zülalların daxili mitoxondri membranına hədəf olunması üçün üç müxtəlif yol mövcuddur. Bir yol, matrisa zülallarının hədəf olunmasında istifadə olunan eyni mexanizmdən istifadə edir (Şəkil 13-27, A yolu). Sitoxrom oksidazanın **CoxVa** adlanan subvahidi bu yolla daşıyan zülaldır. Tom20/22 import reseptor tərəfindən tanınan, N-sonluq matrisa-hədəfləmə ardıcılığına malik olan CoxVa-nın sələf forması, xarici membranın Tom40 əsas məsaməsi ilə və daxili membranın Tim23/17 translokasiya kompleksi ilə ötürülür. CoxVa import zamanı kəsilib atılan matrisa hədəfləmə ardıcılığından başqa, hidrofob stop-ötürmə ardıcılığına da malikdir. Zülal Tim23/17 kanalını keçən kimi, stop-ötürmə ardıcılığı daxili membrandan C-sonluğun translokasiyasını blok edir. Sonra, membrana lövbər edən intermediat, ER membranına birləşmiş I tip inteqral membran zülalının ER membranına daxil olduğu kimi (bax Şəkil 13-11), lateral olaraq daxili membran ikiqatlısına keçirilir.



ŞƏKİL 13-26 İmport olunan mitochondrial zülallarda hədəfləmə ardıcılığı. Mitochondrial zülalların əksəriyyəti N-sonluqda matrisa-hədəfləmə ardıcılığına (bənövşəyi) malikdir, bu müxtəlif zülallarda çox oxşardır amma identik deyildir. Daxili membran, membranlararası boşluq və ya xarici membran üçün olan zülallar bir və ya daha artıq əlavə hədəfləmə ardıcılığına malikdirlər, bu da zülalların bir sıra müxtəlif yollarla həmin mövqelərə yönəldilməsində fəaliyyət göstərirlər. Hərflərlə işarələnmiş yollar Şəkil 13-26-da və 13-27-də işıqlandırılanlarla uyğundur. Bax W. Neupert, 1997, *Ann.Rev.Biochem.* **66**:863.

Daxili membrana ikinci yol, sələflərində həm matrisa-hədəfləmə ardıcılığı həm də, *Oxa1* adlanan daxili-membran zülalı tərəfindən tanınan daxili hidrofob domenlər olan zülallarla (məsələn, ATP sintazanın 9-cu subvahidi ilə) davam edir. Belə güman olunur ki, bu yol ən azı sələfin bir hissəsinin Tom40 və Tim23/17 kanalları vasitəsi ilə matrisaya translokasiya olunmasını əhatə edir. Matrisa-hədəfləmə ardıcılığı kəsilib atıldıqdan sonra, zülal, *Oxa1* ilə və yaqin ki, digər daxili-membran zülalları ilə qarşılıqlı əlaqəni tələb edən proseslə daxili membrana keçirilir (Şəkil 13-27, yol B). *Oxa1*, bakteriyalarda

bəzi sitoplazmatik membran zülallarının daxil edilməsində iştirak edən bakterial zülala yaxındır. Bu yaxınlıq göstərir ki, *Oxa1* ola bilsin ki, son anda mitoxondriyə çevrilən endosimbiotik bakteriyaların translokasiya maşınından yaranmışdır. Amma, mitoxondrilərdə daxili membran kanallarını əmələ gətirən zülallar bakterial translokonlardakı zülallarla yaxın deyillər. *Oxa1* həmçinin, mitoxondri DNT-sində kodlaşdırılan və matrisada mitoxondrial ribosomlarda sintez olunan müəyyən zülalların (məsələn, sitoxrom oksidazanın II subvahidinin) daxili membrana keçirilməsində iştirak edir.



ŞƏKİL 13-27 Sitolozdan daxili mitoxondrial membrana üç yol. Müxtəlif hədəfləmə ardıcılığına malik olan zülallar daxili membrana müxtəlif yollarla yönəldilir. Hər üç yolda, zülallar xarici membranı Tom40 ümumi import məsaməsindən kəşib keçir. A və B yolu ilə çatdırılan zülallar, xarici membrandakı Tom20/22 import reseptoru tərəfindən tanınan N-sonluqlu matrişa hədəfləmə ardıcılığına malikdirlər. Baxmayaraq ki, bu yolların hər ikisi Tim23/17 daxili membran kanalından istifadə edir, amma onlar onunla fəqlənirlər ki, tam sələf zülal matrişaya daxil olur və sonra B yolu vasitəsi ilə daxili

membrana yönəldilir. Matrişa Hsp70, onun həll olan matrişa zülallarının importundakı roluna (bax Şəkil 13-23) oxşar rolu oynayır. C yolu ilə çatdırılan zülallar, Tom70/Tom22 import reseptorları tərəfindən tanınan daxili ardıcılıqlara malikdirlər, bu yolda fərqli daxili-membran translokasiya kanalından (Tim22/54) istifadə olunur. İki membranlararası zülal (Tim9 və Tim10) daxili və xarici kanallar arasında ötürülməni asanlaşdırır. Müzakirə üçün tekstə bax. Bax R.E. Dalbey and A. Kuhn, 2000, *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* **16**:51 və N. Pfanner and A. Geissler, 2001, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:339.

Daxili mitoxondrial membrana keçirilmək üçün sonuncu yolun ardınca, ADP/ATP antiporter kimi altı membrana-sarınan domenlərə malik olan çoxkəsibkeçən zülallar gəlir. Adı N-sonluqlu matrişa-hədəfləmə ardıcılığı olmayan bu zülallar, çoxsaylı daxili mitoxondrial hədəfləmə ardıcılığına malik olurlar. Daxili ardıcılıqlar, xarici-membran zülalları Tom70 və Tom22-dən ibarət olan ikinci import reseptoru tərəfindən tanındıqdan sonra, import olunan zülal ümumi import məsamələri vasitəsi ilə xarici membranı kəşib keçir (Şəkil 13-27, C yolu). Sonra zülal, daxili membranda Tim22, Tim18 və Tim54 zülallardan təşkil olunmuş ikinci translokasiya kompleksinə ötürülür. Tim22/18/54 kompleksə ötürülmə

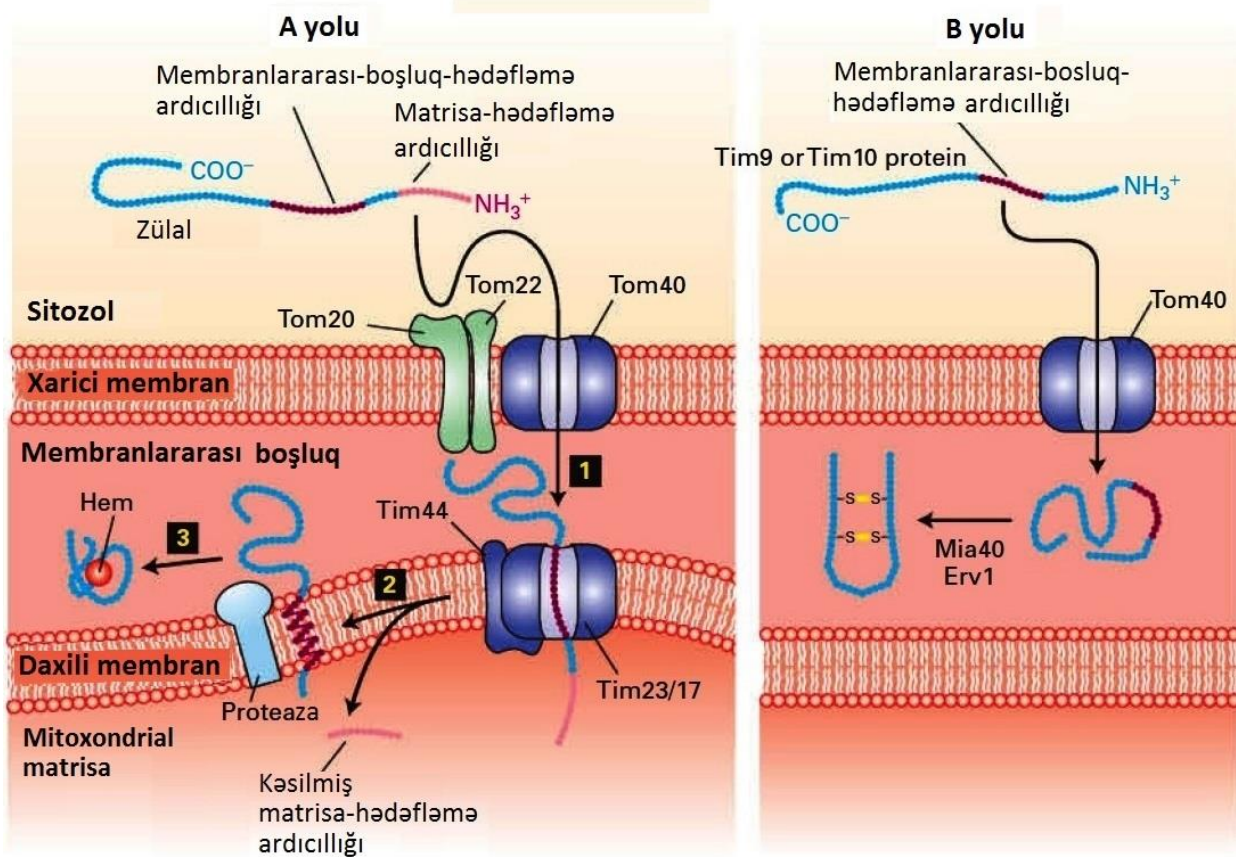
mebranlararası boşluqda məskunlaşan iki kiçik zülalın –Tim9 və Tim10-un multimer kompleksindən asılıdır. Güman olunur ki, kiçik Tim zülallar çaperon kimi fəaliyyət göstərirlər, import olunan sələf zülalların hidrofob rayonlarına birləşməklə onların ümumi import məsaməsindən daxili membranda Tim22/18/54 kompleksə gətirməsinə yol göstərir, membranlararası boşluğun maye mühitində onların həllolmayan aqreqatları əmələ gətirməsinə mane olur. Sonda, Tim22/18/54 kompleksi, import olunan zülalların çoxsaylı hidrofob seqmentlərinin daxili membrana birləşmələrini (inkorporasiyasına) həyata keçirir.

Membranlararası-Boşluq Zülalları İki yol sitozol zülallarını daxili və xarici mitoxondri membranları arasındakı boşluğa çatdırır. Əsas yolun ardınca, sonda kəsilib atılan iki müxtəlif N-sonluqlu hədəfləmə ardıcılıqlarını daşıyan sələf zülallarına malik olan sitoxrom b_2 kimi zülallar gəlir. Bu iki ardıcılıqdan N-sonluqlu ən yaxın olanı matrisa-hədəfləmə ardıcılığıdır və matrisa proteazası ilə kəsilib atılır. İkinci hədəfləmə ardıcılığı, zülalın daxili membrandan keçərək tam translokasiya olunmasını blok edən hidrofob seqmentdir (Şəkil 13-28, A yolu). Nəticədə əmələ gələn membrana-batmış intermediat Tim23/17-translokasiya kanalından kənara lateral diffuziya edir, membrandakı proteaza hidrofob transmembran seqment yaxınlığından zülalı kəsir və yetkin zülal həllolan formada membranlararası boşluğa buraxılır. İkinci proteolitik kəsilmə istisna olmaqla, bu yol CoxVa kimi daxili-membran zülallarının yoluna oxşardır (bax Şəkil 13-27, A yolu).

Membranlararası boşluqda məskunlaşan kiçik Tim9 və Tim10 zülalları, membranlararası boşluğa hədəf olunmanın ikinci yolunu təsvir edir. Bu yolla import olunan zülallar N-sonluqlu matrisa-hədəfləmə ardıcılığına malik deyillər və heç bir membranlararası translokasiya faktorunun iştirakı olmadan ümumi import məsaməsi vasitəsi ilə birbaşa membranlararası boşluğa çatdırılırlar (Şəkil 13-28, B yolu). Əsas import məsaməsi Tom40 vasitəsi ilə translokasiya, görünür energetik cəhətdən əlverişli olan heç bir proseslə birləşmir, amma, membranlararası boşluqda yerləşdikdən sonra, Tim9 və Tim10 zülallarının hər biri iki disulfid əlaqəsini və sıx bükülmüş yığcam quruluşu qazanırlar. Göründüyü kimi, translokasiyanı

xarici membrandan biristiqamətli aparən mexanizmə xarici membrandan keçən passiv diffuziya və ardınca da zülalın bükülməsi və onu geriye dönməyən şəkildə membranlararası boşluqda tutub saxlayan disulfid əlaqələrinin formalaşması daxildir. Membranlararası boşluqda disulfid əlaqələrinin formalaşması prosesi bir çox cəhətdən, ER lümenindəki prosesi xatırladır və buna disulfid əlaqələrinin yaradən Erv-1 zülalı və disulfid ötürən zülal Mia40 daxildir.

Xarici-Membran Zülalları Mitoxondriinin xarici membranında məskunlaşan zülalların çoxu, o cümlədən Tom40 məsamənin özü və mitoxondriial porin β -çəllək quruluşu malikdirlər və onun daxilində antiparalel zəncirlər mərkəzi kanalı əhatə edən hidrofob transmembran seqmentləri əmələ gətirirlər. Bu cürə zülallar, əvvəlcə əsas import məsaməsi Tom40 ilə qarşılıqlı əlaqəyə girərək xarici membran daxilinə birləşirlər, sonra, onlar ən azı üç xarici-membran zülallarından təşkil olunmuş **SAM (sorting and assembly machinery – çeşidləmə və toplanma mexanizmi)** adlanan kompleksə ötürürlər. Bu üç zülaldan biri olan Sam50, β -çəllək zülallarının qramm-mənfi bakterialların xarici membranına keçirilməsi üçün lazım olan bakterial zülal BamA-ya çox yaxındır. Bu yaxınlıq membran zülallarının daxil edilməsi mexanizminin bakteriyalar və mitoxondriilər arasında konservativliyinin başqa bir nümunəsidir. Yəqin ki, β -çəllək zülalların çox stabil hidrofob təbiəti sonda onların stabil şəkildə xarici membrana inkorporasiyasına səbəb olur, amma bu prosesin getməsi üçün SAM kompleksin şəraiti necə yaratması hələ məlum deyil.



ŞƏKİL 13-28 Mitoxondrial membranlararası boşluğa iki yol. A yolu, zülalları sitozoldan membranlararası boşluğa çatdırın əsas yoldur və zülalları daxili membrana çatdırın A yoluna oxşardır (bax Şəkil 13-26). Əsas fərq ondan ibarətdir ki, sitoxrom *b₂* kimi bu zülallarda olan daxili hədəfləmə ardıcılığını daxili-membran proteazası tanıyır və zülalı membranın membranlararası-boşluq tərəfində kəsir. Sonra, azad olmuş zülal bükülür və membranlararası boşluqda özünün hem kofaktoruna birləşir. B yolu Tim9 və Tim10 zülallarını membranlararası boşluğa çatdırın xüsusiləşdirilmiş yoldur. Bu zülallar

Xloroplast Stroma Zülallarının İmportu Mitoxondri Matrisa Zülallarının İmportuna Oxşardır

Xloroplast stromasında tapılan zülallar arasında, fotosintezin gedişi zamanı karbon ikioksidi karbohidratlara qədər fiksasiyasını aparan Kalvin tsikli fermentləri (Fəsil 12) vardır. Ribuloza 1,5-bisfosfat karboksilazanın (rubisco) böyük (L) subvahidi xloroplast DNT-si tərəfindən kodlaşdırılır və xloroplast ribosomları vasitəsi ilə stroma boşluğunda sintez olunur. Rubisco-nun kiçik (S) subvahidi və bütün başqa Kalvin tsikli fermentləri nüvə genləri ilə kodlaşdırılır və sitozolda sintez olunduqdan sonra xloroplastlara daşınırlar. Bu stroma zülallarının sələf formaları N-sonluqlu *stroma-import* ardıcılığına malikdirlər (bax Cədvəl 13-1).

Şəkil 13-23-də təsvir olunan mitoxondriylə aparılan eksperimentlərə oxşar olan, ayrılmış xloroplastlarda aparılan eksperimentlər göstərdi ki, onlar rubisco S-subvahid sələfini onun sintezindən sonra import edə bilirlər. Bükülməmiş sələf stroma boşluğuna daxil olduqdan sonra, o keçici olaraq stroma Hsp70 çaperonuna birləşir və N-sonluqlu ardıcılığı kəsilir. Stroma boşluğunda yerləşən Hsc60 çaperoninlə aparılan reaksiyada səkkiz S subvahidi səkkiz L subvahidlə birləşərək fəal rubisco fermentini əmələ gətirir.

Stromaya importun ümumi prosesi zülalların mitoxondri matrisasına importu prosesi ilə çox oxşardır (bax Şəkil 13-24). Məlumdur ki, stromal-import ardıcılığını və translokasiya kanal zülalını birləşdirən reseptor daxil olmaqla ən azı üç xloroplast xarici membran zülalı və beş xloroplast daxili membran zülalı, zülalların stromaya istiqamətləndirməsi üçün vacibdir. Baxmayaraq ki, bu zülallar funksiyalarına görə mitoxondri membranındakı kanal və reseptor zülallarına analojidirlər, amma quruluşlarına görə homoloji deyillər. Xloroplast və mitoxondri zülalları arasındakı ardıcılıq oxşarlığının olmaması göstərir ki, onlar ola bilsin ki, təkamül prosesində bir-birindən asılı olmadan yaranmışlar.

Mövcud olan dəlillər göstərir ki, xloroplast stroma zülalları, mitoxondrial matrisa zülalları kimi, bükülməmiş vəziyyətdə import olunurlar. Stroma daxilində import, funksiyası mitoxondrial matrisada Hsp70-in və ER lümenində BiP-nin fəaliyyətinə oxşar olan stromal Hsp70 çaperonun kataliz etdiyi ATP hidrolizindən asılıdır. Mitoxondridən fərqli olaraq, xloroplastlar daxili membrandan keçən elektrokimyəvi qradienti (proton-hərəkətverici qüvvəni) yaratmırlar. Beləliklə, xloroplast stromasına zülal importu energetik cəhətdən yalnız ATP hidrolizi ilə təmin olunur.

Zülallar Bakteriyal Zülal Translokasiyasına Oxşar Olan Mexanizmlərlə Tilakoidə Hədəf Olunurlar

əsaslıqla əsas import məsələsi Tom40-ı kəsb keçə bilir və onlar artıq membranlararası boşluqda olanda bükülür və Tom40 vasitəsi ilə onların geriye translokasiya olunmasına mane olan disulfid əlaqələrini əmələ gətirirlər. Disulfid əlaqələri Erv1 tərəfindən yaradılır və Mia40 vasitəsi ilə Tim9 və Tim10-a ötürülür. Bax R.E. Dalbey and A. Kuhn, 2000, *Ann. Rev. Mol. Cell Biol.* **16**:51; N. Pfanner and A. Geissler, 2001, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:339 və K. Tokatlidis, 2005, *Cell* **121**:965-967.

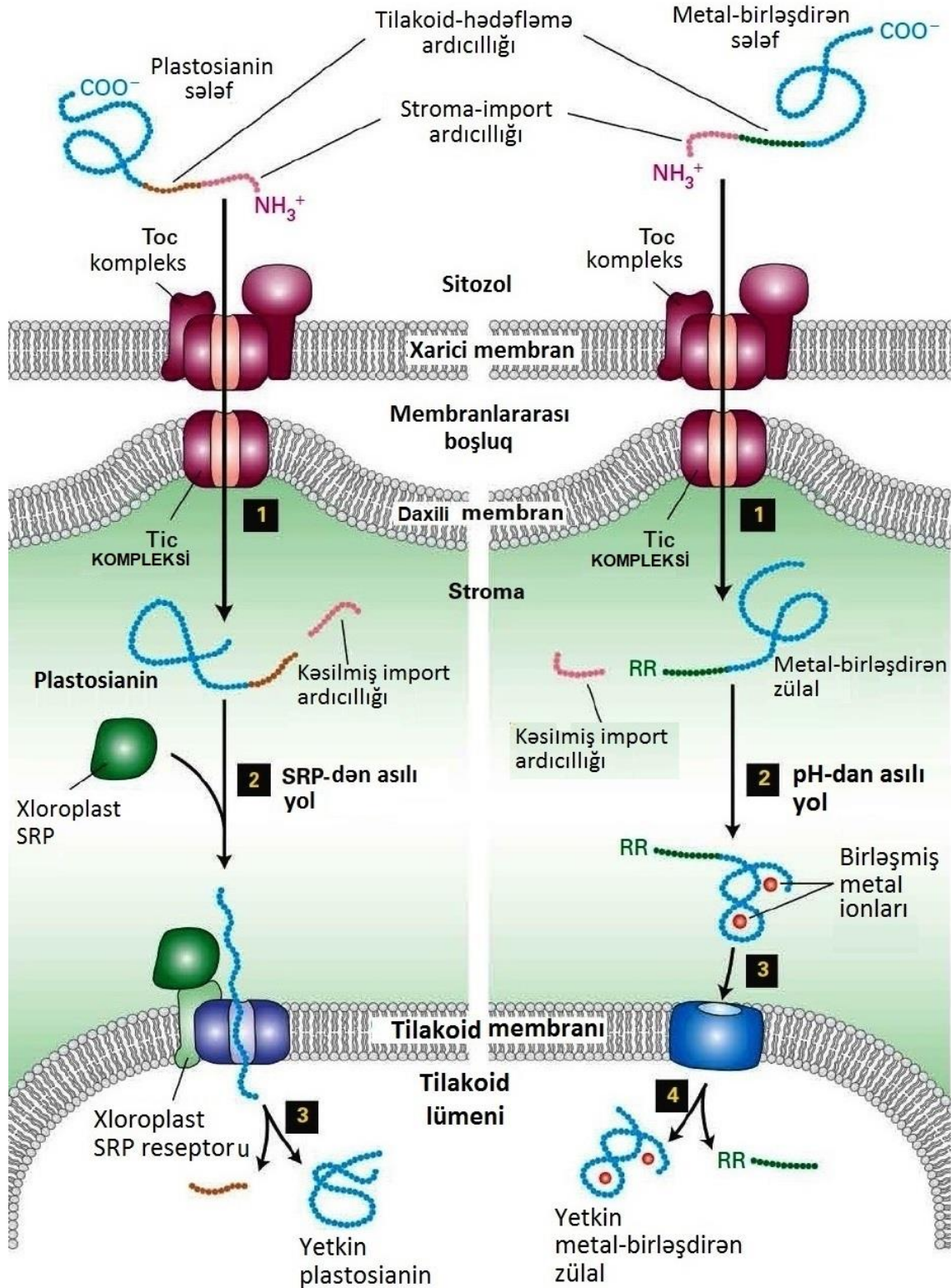
Xloroplastlar, onları əhatə edən ikiqat membrandan başqa, öz aralarında birləşmiş daxili membran kisələrindən təşkil olunmuş **tilakoidlərə** də malikdirlər (bax Şəkil 12-37). Fotosintezin bütün kimyəvi reaksiyaları tilakoid membranlarında və ya lümenində baş verir və bu xüsusi subkompartimentlərdə yerləşən fermentlərlə kataliz olunurlar. Bu zülalların çoxu, çoxsaylı hədəfləmə signallarına malik olan sələf zülal kimi sitozolda sintez olunurlar. Məsələn, tilakoid lümeni üçün təyin olunan plastosianin və başqa zülallar iki udma-hədəfləmə ardıcılıqlarının ardıcıl fəaliyyətini tələb edir. Birinci N-sonluqlu stroma-import ardıcılığıdır, zülalı rubisco-nun S-subvahidinin import olduğu eyni yolla stromaya yönəldir. İkinci ardıcılıq zülalı stromadan tilakoid lümeninə hədəf edir. Bu hədəfləmə ardıcılıqlarının rolu rekombinant DNT metodu ilə yaradılmış mutant zülalların ayrılmış xloroplast daxilinə udulmasını ölçməklə aparılan eksperimentlərdə göstərilmişdir. Məsələn, tilakoid-hədəfləmə ardıcılığı olmayan, amma intakt stroma-import ardıcılığına malik olan mutant plastosianin stromada toplanır və tilakoid lümeninə daşınır.

Zülalların stromadan tilakoid daxilinə daşınmasının dörd ayrı-ayrı yolları identifikasiya olunmuşdur. Aşkar edilmişdir ki, bütün bu dörd yol bakteriyalardakı analoji daşınma mexanizmi ilə bir-birinə çox yaxındır və bu stroma membranı ilə bakteriyal plazma membranı arasında təkamülcə yaxınlıq münasibətlərini göstərir. Plastosianin və buna yaxın olan zülalların stromadan tilakoid lümeninə daşınması xloroplast SRP-dən-asılı olan yolla baş verir və Sec61 kompleksin bakteriyal versiyası olan SecY-ə oxşar olan translokondan istifadə edir (şəkil 13-29, *solda*). Zülalların tilakoid lümeninə daşınmasının ikinci yolunda bakteriyal SecA-ya yaxın olan zülal iştirak edir, bu da zülalın SecY translokondan vasitəsi ilə translokasiyasını həyata keçirmək üçün ATP hidrolizindən alınan enerjiden istifadə edir. Zülalları tilakoid membranına hədəf edən üçüncü yol mitoxondrial Oxa1 zülalına yaxın olan və bakteriyal zülala homoloji olan zülaldan asılıdır (bax Şəkil 13-27, B yolu). Xloroplast DNT-si ilə kodlaşdırılan və stromada sintez olunan və ya sitozoldan stromaya daşınan bəzi zülallar bu yolla tilakoid membranına daxil edilir.

Nəhayət, metal-saxlayan kofaktorları birləşdirən tilakoid zülalları tilakoid lümeninə başqa yolla girirlər (Şəkil 13-29, *sağda*). Bu zülalların bükülməmiş sələfləri əvvəlcə stromaya hədəf olunur, burada N-sonluqlu stroma-import ardıcılığı kəsilir atılır, sonra zülal bükülür və öz kofaktoruna birləşir. Tilakoid-membran zülalları dəsti bükülmüş zülalın və ona birləşmiş kofaktorun tilakoid lümeninə translokasiya edilməsinə kömək edir, bu proses enerji cəhətdən, normal halda tilakoid membranında saxlanılan H⁺ elektrokimyəvi qradient vasitəsi ilə təmin olunur. Zülalı bu yola yönəldən tilakoid-hədəfləmə ardıcılığında bir-birinə çox yaxın yerləşmiş, tanınmaq üçün

kritik əhəmiyyət kəsb edən iki arginin qalığı vardır. Bakteriyal hüceyrələrin də bükülmüş zülali sitoplazmatik membrandan tranlokasiya etmək üçün, buna bənzər argininə-malik ardıcılığı olan, **Tat** (*twin arginine translocation*) yolu kimi məlum olan mexanizmi vardır. Bu cürə çox böyük bükülmüş qlobulyar zülalların tilakoid membranından translokasiya etdiyi

molekulyar mexanizm tam başa düşülməmişdir, amma, müvafiq cüt arginin signalına malik olan bükülmüş zülalın mövcud olması, membrandakı Tat zülallarının məsamələlərə bənzər quruluşu əmələ gətirmək üçün oliqomerləşməsini induksiya edir. Bu baxımdan, Tat yolu, növbəti hissədə təsvir olunan bükülmüş zülalların peroksisomlara importu yoluna bənzəyir.



ŞƏKİL 13-29 Zülalların xloroplast tilakoidlərinə daşınması.

Zülalların sitozoldan tilakoid lümeninə daşınması üçün dörd yoldan ikisi burada göstərilmişdir. Bu yollarda, bükülməmiş sələflər, stromada-yerləşən zülalları import edən eyni xarici-membran zülalları vasitəsi ilə stromaya çatdırılırlar. N-sonluqlu stroma-import ardıcılığının stroma proteazası ilə kəsilməsi sonra tilakoid-hədəfləmə ardıcılığını aşkar edir (pillə1). Bu baxımdan, bu iki yol uzaqlaşmışdır (divergensiya etmişdir). SRP-dən-asılı olan yolda (*soldakı*) plastosianin və buna oxşar olan zülallar stroma boşluğunda çaperonlar dəsti (göstərilmiş) vasitəsi ilə bükülməmiş şəkildə saxlanılırlar və tilakoid-hədəfləmə ardıcılığı tilakoid lümeninə zülal daşınmasını vasitələndirən, bakteriyal SRP, SRP reseptor və SecY translokasiya zülallarına çox oxşar olan zülallara birləşir (pillə2). Tilakoid-hədəfləmə ardıcılığı tilakoid lümenində ayrıca endopeptidaza vasitəsi ilə

atıldıqdan sonra, zülal öz yetkin konformasiyasında bükülür (pillə3). pH-dan-asılı olan yolda (*sağdakı*), metal-birləşdirən zülallar stromada bükülür və kompleks redoks (oksidləşdirici reduksiya edici) kofaktorlar əlavə edirlər (pillə2). Tilakoid-hədəfləmə ardıcılığının N-sonluğundakı iki arginin qalığı (RR) və daxili membrandakı pH qradienti bükülmüş zülalın tilakoid lümeninə daşınması üçün tələb olunurlar (pillə3). Tilakoid membrandakı translokon, bakteriyal sitoplazmatik membrandakı zülallara çox yaxın olan, ən azı dörd zülaldan təşkil olunmuşdur. İki arginin qalığına malik olan tilakoid hədəfləmə ardıcılığı tilakoid lümenində kəsilir (pillə4). Bax, R. Dalbey and C. Robinson, 1999, *Trends Biochem Sci.* **24**:17; R.E. Dalbey and A. Kuhn, 2000, *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* **16**:51; və C. Robinson and A. Bolhuis, 2001, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:350.

13.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Zülalların Mitoxondrilərə və Xloroplastlara Hədəf Olunması

- Mitoxondri və xloroplast zülallarının əksəriyyəti nüvə genlərində kodlaşdırılır, sitozol ribosomlarında sintez olunur və orqanoidlərə post-translyasiya import olunurlar.
- Sələf zülalını sitozoldan mitoxondri matrisasına və ya xloroplast stromasına hədəf etmək üçün tələb olunan bütün məlumat N-sonluq hədəfləmə ardıcılığında saxlanılır. Zülal import olunduqdan sonra, hədəfləmə ardıcılığı matrisa və ya stroma daxilində proteazalarla kəsilib atılır.
- Sitozol çaperonları mitoxondri və xloroplast zülallarının sələflərini bükülməmiş vəziyyətdə saxlayırlar. Yalnız bükülməmiş zülallar orqanoidlər daxilinə import oluna bilirlər. Mitoxondri daxilinə translokasiya orqanoidin xarici və daxili membranlarının bir-birinə çox yaxın olduqları saytlarda baş verir.
- Mitoxondri matrisası üçün nəzərdə tutulan zülal xarici mitoxondri membrandakı reseptorlara birləşir və sonra xarici membrandakı ümumi import məsaməsinə (Tom40) ötürülür. Xarici və daxili membran vasitəsi ilə translokasiya eyni vaxtda baş verir. Translokasiya matrisada Hsp70 vasitəsilə ATP hidrolizi ilə (bax Şəkil 13-24) və daxili membrandan keçən proton-hərəkətverici qüvvə ilə idarə olunur.
- Matrisa istisna olmaqla, mitoxondri təyinatı ilə çeşidlənən bütün zülallar adətən iki və ya daha artıq hədəfləmə ardıcılığına malik olurlar, bunlardan biri N-sonluq matrisa-hədəfləmə ardıcılığı ola bilər (bax Şəkil 13-26).
- Membranlararası boşluq və ya daxili membran üçün nəzərdə tutulan bəzi mitoxondrial zülallar əvvəlcə matrisaya daşınır (import olunur) və sonra yenidən son məkana yönəldilir, digərləri isə heç zaman matrisaya daxil olmurlar və birbaşa son məkanlarına gedirlər.
- Zülalın xloroplast stromasına importu daxili-membran və xarici-membran translokasiya kanalları vasitəsi ilə baş verir, bu kanallar funksiyasına görə mitoxondrial kanallara analogidirlər, amma ardıcılığına görə müvafiq mitoxondrial zülallardan fərqlənən zülallardan təşkil olunmuşlar.
- Tilakoid üçün təyin olunmuş zülallar ikinci hədəfləmə ardıcılığına malikdirlər. Bu zülallar stromaya daxil olduqdan sonra, stroma-hədəfləmə ardıcılığının kəsilməsi tilakoid-hədəfləmə ardıcılığını aşkara çıxarır.

- Zülalların xloroplast stromasından tilakoidə keçməsi üçün məlum olan dörd yol bakteriyal sitoplazmatik membrandan keçən translokasiyanı çox xatırladır (bax Şəkil 13-29). Bu sistemlərdən biri, bükülmüş zülalları translokasiya edə bilər.

13.5 Peroxisom Zülallarının Hədəf Olunması

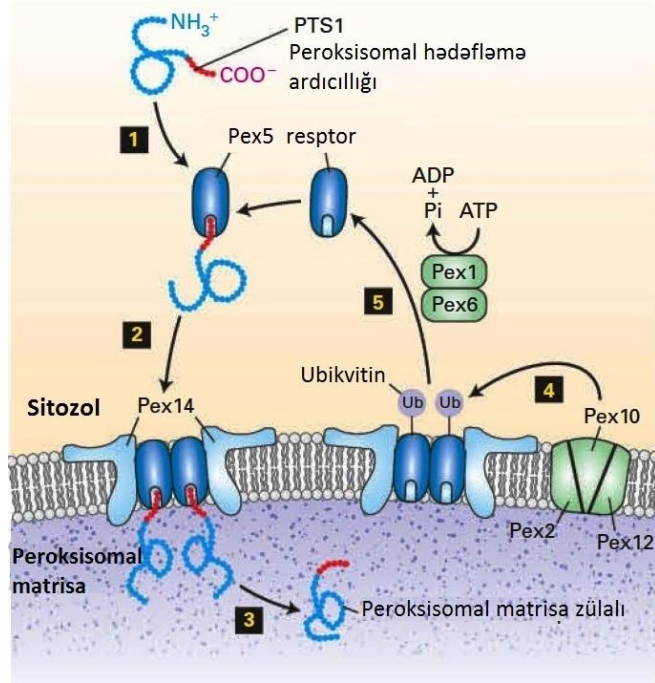
Peroxisomlar tək membranla əhatə olunan kiçik orqanoidlərdir. Mitoxondri və xloroplastlardan fərqli olaraq peroksisomlarda DNT və ribosomlar yoxdur. Ona görə də bütün peroksisomal zülallar nüvə genlərində kodlaşdırılır, sitozolda sərbəst ribosomlarda sintez olunur və yeni yaranan və ya artıq mövcud olan peroksisomlarla birləşirlər. Peroxisomlar zülalların (və lipidlərin) əlavə olunması ilə böyüdüyündən onlar da, mitoxondrilərdə və xloroplastlarda olduğu kimi sonda bölünərək yeni peroksisomları yaradırlar.

Peroxisomların ölçüsü və ferment tərkibi müxtəlif növ hüceyrələrdə əhəmiyyətli dərəcədə dəyişir. Amma, bütün peroksisomlar molekulyar oksigendən istifadə edərək amin turşusu və yağ turşuları kimi müxtəlif substratları oksidləşdirən, onları biosintez yollarında istifadə etmək üçün kiçik komponentlərə parçalayan fermentlərə malikdirlər. Bu oksidləşmə reaksiyaları ilə əmələ gələn hidrogen peroksid (H_2O_2) həddən artıq reaktivdir və hüceyrə komponentləri üçün potensial zədələyicidir, lakin peroksisomlar başqa fermentlərə də həmçinin – H_2O_2 -i səmərəli şəkildə H_2O -ya çevirən katalaza kimi fermentlərə də malikdirlər. Məməlilərdə peroksisomlar qaraciyər hüceyrələrində daha zəngindir, onlar burada hüceyrənin ümumi həcmindən təxminən 1-2 faizini təşkil edirlər.

Sitozol Reseptorları Zülalları C-Sonluqdakı SKL Ardıcılıqla Peroxisomal Matrisaya Hədəf Edir

Peroxisomal hədəfləmə siqnalı ilk dəfə peroksisomal hədəfləmədə sesifik qüsura görə delesiya olan peroksisomal zülalları sınaqdan keçirərək identifikasiya olunmuşlar. Əvvəllər aparılmış tədqiqatların birində, ışıqdaböcək (firefly) lüsiferazanın geni kultura olunan həşarat hüceyrələrində ekspressiya olunmuşdu və göstərilmişdi ki, əmələ gələn zülal peroksisomlara düzgün hədəf olunur. Amma, zülalın C-sonluğunda kiçik bir hissənin itirilməsinə səbəb olan kəsilməsinin ekspressiyası peroksisomlara hədəf oluna bilməyən və sitozolda qalan lüsiferazanın yaranması ilə nəticələndi. Müxtəlif

lüsiferaza mutant zülallarını bu sistemdə sınaqdan keçirməklə tədqiqatçılar aşkar etdi ki, Ser-Lys-Leu ardıcılığı (bir hərfli işarələrlə SKL) və ya buna yaxın olan ardıcılıq peroksisomlara hədəf olunmaq üçün vacibdir. Normal halda sitozolda olan zülalın C-sonluğuna SKL ardıcılığının əlavə edilməsi ilə aparılan sonrakı tədqiqatlar kultura olunan hüceyrələrdə bu zülalın peroksisomlara sorulması ilə nəticələnmişdir. Çox cüzi istisna ilə bütün çoxsaylı peroksisomal matrisa zülalları, *peroksisomal-hədəfləmə ardıcılığı* və ya sadəcə olaraq *PTS1* kimi məlum olan bu tip ardıcılıqları daşıyırlar.



ŞƏKİL 13-30 Peroksisomal matrisa zülallarının PTS1 ilə yönəldilən importu. Pilla 1: Peroksisomal matrisa zülallarının əksəriyyətinin C-sonluğunda Pex5 sitozol reseptoruna birləşən PTS1 hədəfləmə ardıcılığı (qırmızı) var. Pilla 2: Matrisa zülalı ilə birləşmiş Pex5 peroksisomal membranda yerləşən Pex14 reseptorla multimer kompleksi əmələ gətirir. Pilla 3: Matrisa zülalı-Pex5-Pex14 kompleksi toplandıqdan sonra, matrisa zülalı Pex5-dən dissosiasiya edir və peroksisomal matrisaya buraxılır. Pilla 4 və 5: Pex5 sonra, membran zülalları Pex2, Pex10 və Pex12 vasitəsilə ubiquitinləşmənin iştirak etdiyi proseslər və ardınca AAA-ATP-ə zülalları Pex1 və Pex6 vasitəsilə membrandan ATP-dən asılı olan uzaqlaşdırma prosesi ilə sitozola qaydır. Qeyd edək ki, bükülmüş zülallar peroksisomlara daxilinə import oluna bilər və hədəfləmə ardıcılığı matrisada atılır. Bax P. E. Purdue and P. B. Lazarow, 2001, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17:701; S. Subramani et al., 2000, *Annu. Rev. Biochem.* 69:399; və V. Dammai and S. Subramani, 2001, *Cell* 105:187

Katalazanın və digər PTS1 daşıyan zülalların peroksisomal matrisaya import yolu Şəkil 13-30-da təsvir edilmişdir. Stozolda PTS1 Pex5 adlanan reseptora birləşir. Pex5-in monomer həllolan formadan peroksisomal membrana batmış membran zülalı Pex14 ilə kompleksdə oliqomer formaya keçmək kimi nəzərə çarpacaq bir xüsusiyyəti var. Hələ tam məlum olmayan bir yolla PTS1-daşıyan zülal Pex5-in oliqomer formasından peroksisom daxilinə buraxılır. Peroksisom import maşını, zülalların ER, mitoxondri və xloroplast daxilinə keçməsinə

həyata keçirən çox sistemlərdən fərqli olaraq zülalları membrandan bükülmüş vəziyyətdə translokasiya edə bilər. Məsələn, katalaza peroksisom membranından translokasiya etməzdən öncə sitoplazmada bükülmüş vəziyyəti alır və öz heminə birləşir. Hüceyrəsiz sistemlərdə aparılmış tədqiqatlar göstərdilər ki, peroksisom import maşını çox böyük makromolekulyar obyektləri, o cümlədən 9 nm diametrdə olan qızıl zərrəciklərini, onlara PTS1 yarlıq qoşulduğuna görə daşıya bilirlər. Sübut olunmuşdur ki, PTS1-daşıyan yük molekuluna birləşmiş Pex5-in oliqomerlərinin ölçüsü və Pex14 PTS1-daşıyan yük molekulalarına görə nizamlanır. Oliqomerlərin dinamik əmələ gəlməsi, görünür ki, PTS1-daşıyan yük molekulalarının peroksisomal membranın bütövlüyünü pozan böyük stabil məsələləri əmələ gəlmədən yerləşdirilə bildiyi əsas mexanizmdir.

PTS1-daşıyan yük molekulu peroksisom daxilinə buraxıldıqdan sonra, Pex5 və Pex14-ün oliqomer kompleksi fəal şəkildə dağılır, beləliklə Pex5 həllolan vəziyyətdə geriye sitoplazmaya buraxılır. Pex5-in təkrar istifadəsində membran-birləşmiş Pex5-in ubiquitinləşmə modifikasiyası baş verir. Peroksisomal membran zülalları Pex10, Pex12 və Pex2-nin kompleksi ubiquitin hissəsini Pex5-ə ötürür. Pex15 ilə peroksisomal membrana lövbər etmiş Pex1 və Pex6 AAA-ATP-ə ubiquitinləşmiş Pex5-i tanıyır və ATP hidrolizindən alınan enerjini istifadə edərək onu Pex14 ilə oliqomer kompleksdən ayırır və sitozola buraxır. Ubiquitinlə modifikasiya atıldıqdan sonra Pex5 PTS1-daşıyan zülala birləşmənin yeni dövrəsini yerinə yetirməyə hazır olur.

Təminlənmiş komponentlərlə aparılan peroksisomal import tədqiqatları göstərdi ki, Pex5-in PTS1-daşıyan zülala birləşməsi, Pex5 ilə Pex14-ün kompleksinin toplanması və PTS1-daşıyan zülalın peroksisom daxilinə buraxılması, bunların hamısı ATP kimi kimyəvi enerji mənbəyi olmadan spontan baş verə bilər. Bunun əksinə, həm Pex5-in ubiquitinlə modifikasiyası, həm də Pex5-in AAA-ATP-ə ilə yenidən tsiklə qoşulması ATP hidrolizi ilə təmin olunur. Aydın ki, import prosesində yenidən tsiklə qoşulmaq pilləsi yük molekulalarının peroksisomal membrandan keçən biristiqamətli translokasiyasını aparmaq üçün enerjiden istifadə edir.

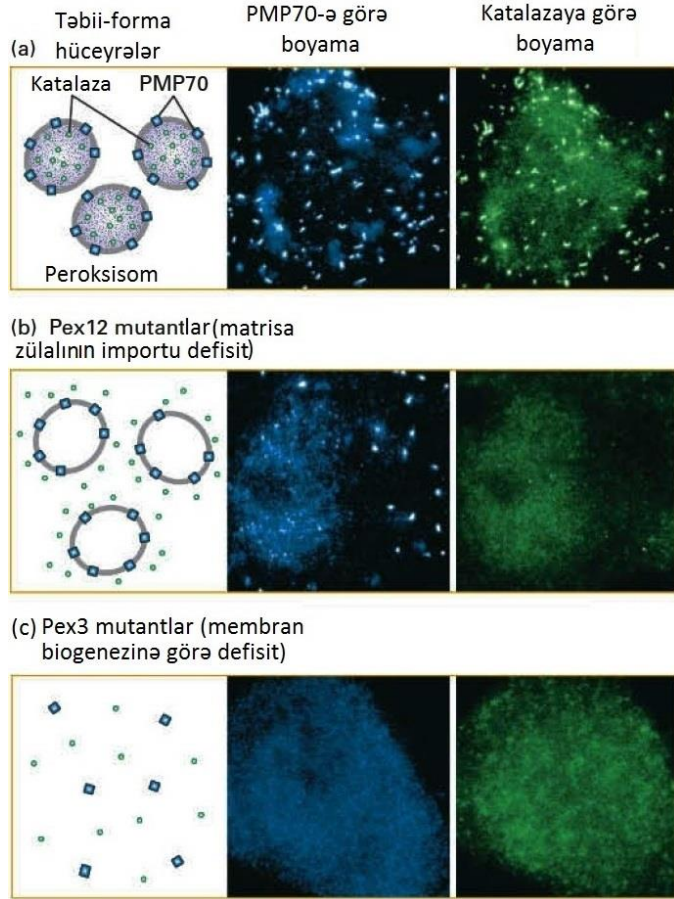
Tiolaza kimi çox az peroksisomal matrisa zülalları, N-sonluqlu hədəfləmə ardıcılığı olan və *PTS2* kimi məlum olan, sələf zülalı kimi sintez olunurlar. Bu zülallar başqa sitozol reseptor zülalına birləşirlər, amma güman olunduğu kimi, əks halda onların importu PTS1-ə malik olan zülallarda olduğu kimi eyni mexanizmlə baş verir.

Peroksisomal Membran və Matrisa Zülalları Müxtəlif Yollarla İnkorporasiya Olunurlar



Qüsurlu peroksisom toplanmaya səbəb olan autosomal resesiv mutasiya insan populyasiyasında təbii halda baş verir. Bu cürə qüsurlar inkişafda, qranofasal anomaliyalarla bağlı olan çox ciddi qüsurların yaranması ilə nəticələnir. Məsələn, *zellveger sindromunda* və buna bənzər pozuntular zamanı, zülalların çoxunun və ya hamısının peroksisom matrisasına daşınması pisləşir: yeni sintez olunan peroksisom fermentləri sitozolda qalırlar və tədricən sonda parçalanırlar. Zellveger

xəstələrindən alınan kultura olunmuş hüceyrələrin və oxşar mutasiyalara malik olan maya hüceyrələrinin genetik analizləri peroksisomların biogenezdə iştirak edən 20-dən artıq geni identifikasiya etdi. ■

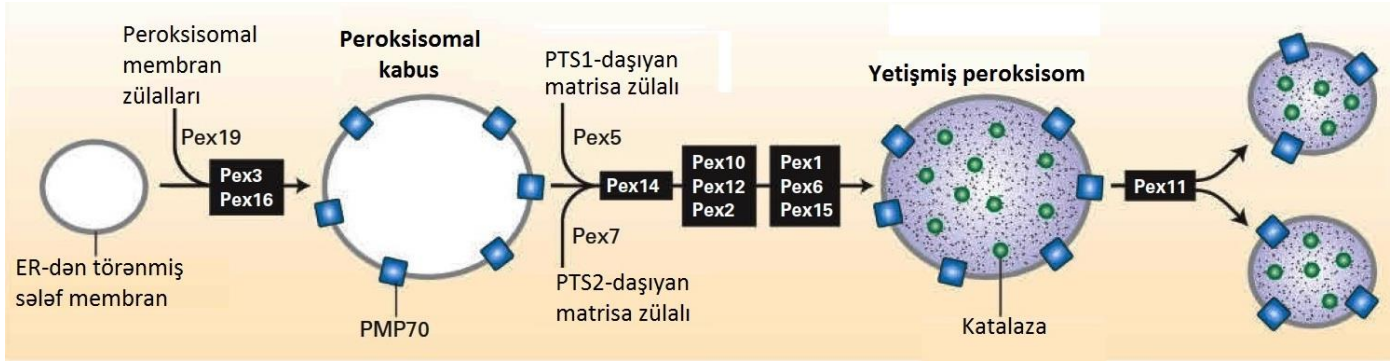


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 13-31 Tədqiqatlar peroksisomal membran ilə matrisa zülallarının birləşməsində müxtəlif yolları aşkar etdi. Hüceyrələr peroksisomal membran zülalı PMP70-ə olan fluorescent anticismlərlə və ya peroksisomal matrisa zülalı katalazaya olan fluorescent anticismlərlə boyandılar, sonra isə fluorescent mikroskopunda müşahidə olundular. (a) Təbii formalı hüceyrələrdə həm peroksisomal membran həm də matrisa zülalları çoxsaylı peroksisomal cismlərdə parlaq fokus kimi görünür. (b) Pex12-çatışmayan xəstələrin hüceyrələrində, katalaza bütün sitozol boyu birformalı paylanır, halbuki PMP70 peroksisomal cismlərdə yeləşir. (c) Pex3-çatışmayan xəstələrin hüceyrələrində peroksisomal membranlar toplana bilmir və nəticədə peroksisomal cismlər əmələ gəlmirlər. Beləliklə, həm katalaza həm də PMP70 sitozolda səhv lokalizasiya olunurlar. [Nəzakətli Stephen Gould, Johns Hopkins University School of Medicine tərəfindən.]

Peroksisom-toplanması mutantları ilə aparılan tədqiqatlar göstərdilər ki, peroksisomal matrisa zülallarının importunda və zülalların peroksisom membranına daxil edilməsində müxtəlif yollardan istifadə olunur (Şəkil 13-31). Məsələn, bəzi Zellvegersindromu xəstələrindən alınan hüceyrələrin analizi, Pex5-genin və eləcə də Pex5-təkrar istifadə üçün lazım olan başqa Pex genlərin (Pex10, Pex12 və Pex2-ni kodlaşdıran genlərin) identifikasiyası ilə nəticələnmişdir. Bu zülalların istənilən hər hansı birində qüsurlu olan mutant hüceyrələr matrisa zülalını peroksisomlara daxil edə bilmir, bununla belə, hüceyrələr, normal peroksisomal mümbəran zülallar dəstinə malik olan boş peroksisomlara malik olurlar (Şəkil 13-31b). Aşkar olunmuşdur ki, digər üç genin istənilən birində mutasiya peroksisomal membran zülalının daxil edilməsini və eləcə də matrisa zülallarının importunu blok edir (Şəkil 13-31c). Bu kəşflər göstərir ki, zülalların bir dəsti həll olan zülalları peroksisom matrisasına translokasiya edir, amma başqa bir dəsti zülalların peroksisom membranına daxil edilməsi üçün tələb olunur. Bu vəziyyət ER-də, mitoxondridə və xloroplastda olan vəziyyətdən nəzərə çarpacaq dərəcədə fərqlənir, membran zülallarının və həll olan zülalların bu orqanoidlərə daxil edilməsi eyni komponentlərin oxşarlığına malikdirlər.

Baxmayaraq ki, peroksisomların əksəriyyəti mövcud olan orqanoidlərin bölünməsi yolu ilə əmələ gəlir, amma bu orqanoidlər Şəkil 13-32-də verilmiş üçmərhələli proseslə **de nova** yarana bilirlər. Bu halda, peroksisomun toplanması ER-də başlanır. Ən azı iki peroksisom zülalı, Pex3 və Pex16, 13.2 bölməsində təsvir olunan mexanizmlərlə ER membranına daxil edilir. Sonra Pex3 və Pex16, ER-dən tumurcuqlayıb ayrılı bilən peroksisomal sələf membranı yaratmaq üçün ER membranında xüsusi (ixtisaslaşmış) rayonun yaradılması üçün Pex19-u səfərbər edir. Peroksisomal membran zülalının yetkin peroksisomlarda toplanması, peroksisomal membran zülallarının hədəfləmə ardıcılığı üçün həllolan reseptor kimi fəaliyyət göstərən Pex19-u və Pex19 üçün membran reseptoru kimi fəaliyyət göstərən Pex3 və Pex16-nı tələb edir. Peroksisomal membran zülallarının tam dəstinin daxil edilməsi (inersiyası), matrisa zülallarının daxil edilməsi üçün lazım olan bütün komponentlərə malik olan membranları yaradır və yetkin funksional peroksisomların formalaşmasına səbəb olur.

Peroksisomların hüceyrə daxilində sayını müəyyən edən yetkin peroksisomların bölünməsi, hələ də başqa bir zülaldan, Pex11-dən asılıdır. Pex11 zülalın superekspressiyası peroksisomların sayında kəskin artmaya səbəb olur və göstərir ki, bu zülal peroksisom bölünmə dərəcəsini idarə edir. Bölünmə yolu ilə əmələ gələn kiçik peroksisomlar əlavə matrisa və membran zülallarının əvvəldə təsvir olunan yolla birləşməsi (inkorporasiyası) ilə böyüyə bilirlər.



ŞƏKİL 13-32 Peroksisomların biogenezi və bölünməsi modeli.

Peroksisomların de-nova əmələ gəlməsinin birinci mərhələsi peroksisomal membran zülallarının ER-dən ayrılmış sələf membranlara daxil edilməsidir. Pex19 membran-hədəfləmə ardıcılıqları üçün reseptor kimi fəaliyyət göstərir. Zülalların (məsələn, PMP70) formalaşmaqda olan peroksisomal membrana düzgün daxil edilməsi üçün Pex3 və Pex16-nın kompleksi tələb olunur. Bütün peroksisomal membran zülallarının daxil edilməsi, matrisaya hədəf olunan zülalları import etmək qabiliyyətinə malik olan peroksisomal kabusu (**ghost**)

yaradır. PTS1- və PTS2-daşıyan matrisa zülallarının import olunması üçün yollar, yalnız hədəfləmə ardıcılıqlarını birləşdirən sitozol reseptorlarının (uyğun olaraq Pex5 və Pex7) identikliyinə görə fərqlənirlər (bax Şəkil 13-30). Matrisa zülallarının tam daxil edilməsi yetkin peroksisomu əmələ gətirir. Baxmayaraq ki, peroksisomlar, yenicə təsvir etdiyimiz kimi, de-nova əmələ gələ bilər, əksər şəraitlərdə peroksisomların proliferasiyası yetkin peroksisomların Pex11 zülaldan asılı olan proseslə bölünməsinə əhatə edir.

13.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Peroksisom Zülallarının Hədəf Olunması

- Bütün lüminal peroksisomal zülallar sitozol ribosomlarında sintez olunur və translyasiyadan sonra orqanoid daxilinə birləşirlər.
- Peroksisomal matrisa zülallarının əksəriyyəti C-sonluqda PTS1 hədəfləmə ardıcılığına malik olur, az bir hissəsi isə N-sonluqda PTS2 hədəfləmə ardıcılığına malik olur. Hədəfləmə ardıcılıqlarının heç biri import olunduqdan sonra kəsilir.
- Peroksisom matrisası üçün nəzərdə tutulmuş bütün zülallar, PTS1- və PTS2-daşıyan zülallar üçün fərqli olan sitozol reseptor zülallarına birləşirlər və sonra peroksisomal membrandakı ümumi translokasiya maşınına yönəldirlər (bax Şəkil 13-30).
- Matrisa zülallarının peroksisomal membrandan translokasiyası ATP hidrolizindən asılıdır. Zülalların ER-ə, mitoxondriyə və xloroplasta importundan fərqli olaraq çox peroksisomal matrisa zülalları sitozolda bükülür və bükülmüş konformasiyada membranı keçirlər.
- Peroksisomal membranlar üçün nəzərdə tutulmuş zülallar, peroksisomal matrisa zülallarından fərqli hədəfləmə ardıcılığına malik olurlar və başqa yolla import olunurlar.
- Mitoxondrilərdən və xloroplastlardan fərqli olaraq, peroksisomlar ER-dən törənmiş sələf membranlardan de-nova yarana bilirlər, eləcə də artıq mövcud olan orqanoidin bölünməsi yolu ilə (**de**) yarana bilirlər (bax Şəkil 13-32).

13.6 Nüvə daxilinə və Xaricinə Daşınma

Nüvə sitoplazmadan **nüvə qabığı**nı əmələ gətirən iki membranla ayrılmışdır (bax Şəkil 1-12a). Nüvə qabığı ER-la davam edir və onun bir hissəsini təşkil edir. Zülalların sitoplazmadan nüvəyə daşınması və makromolekulların, o

cümlədən mRNT, tRNT və ribosomal subvahidlərin nüvədən xaricə daşınması, nüvə qabığının hər iki membranına sarınan **nüvə məsamələri** ilə həyata keçirilir. Zülalların nüvə daxilinə importu bəzi fundamental xüsusiyyətlərinə görə zülalların başqa orqanoidlərin daxilinə daşınması ilə eynidir. Məsələn, nüvə daxilinə daşınan zülallar **nüvə lokalizasiya signalı (NLS)** adlanan xüsusi hədəf ardıcılığını daşıyırlar. Amma, zülallar nüvə daxilinə bükülmüş vəziyyətdə daşınırlar, ona görə də zülalların nüvəyə daşınması zülalların (polipeptidlərin) bükülməmiş halda ER, mitoxondri və xloroplast membranından keçərək translokasiyasından köklü şəkildə fərqlənir. Biz bu bölmədə, zülalların və ribosomlar kimi bəzi ribonukleo-zülalların nüvəyə daxil olmasının və çıxmasının əsas mexanizmlərini müzakirə edirik. Biz həmçinin, nüvəyə zülal importundan mexaniki şəkildə fərqlənən proseslə mRNT-lərin və başqa ribonukleo-zülal komplekslərinin nüvədən necə eksport olunduqlarını müzakirə edirik.

Böyük və Kiçik Molekullar Nüvə Məsaməsi Komplekslərindən Keçərək Nüvəyə Daxil və Xaric Ola Bilir

Bütün eukariot hüceyrələrdə çoxsaylı məsamələr nüvə qabığını dəşir. Hər bir nüvə məsaməsi **nüvə məsamə kompleksi (nuclear pore complex - NPC)** adlanan dəqiq quruluşdan təşkil olunmuşdur, bu da hüceyrədə ən böyük zülal toplusundan ibarət olan kompleksdir. Məsamənin quruluşunun ümumi çəkisi onurğalılarda 60,000–80,000 kDa-dur, bu da ribosomdan təxminən 16 dəfə böyükdür. NPC-lər **nukleoporinlər** adlanan 30-a qədər müxtəlif zülalların çoxsaylı nüsxələrindən təşkil olunmuşdur. Nüvə məsaməsinin elektron mikroskopundakı şəkili onun, əsasən akvaporları əhatə edən membrana-batmış üzük (halqa) quruluşunun olduğunu göstərir. Təxminən 100 nm uzunluqda səkkiz filament nüvə plazmasına uzanır, bu filamentlərin son uzaq ucları terminal halqa ilə birləşərək *nüvə*

səbəti adlanan quruluşu əmələ gətirirlər. Sitoplazma filamentləri NPC-in sitoplazma tərəfindən sitozol daxilinə uzanırlar.

İonlar, kiçik metabolitlər və 40 kDa ölçüyə qədər olan qlobulyar zülallar nüvə məsəməsi kompleksinin mərkəzi sulu (akva) rayonunda diffuziya yolu ilə passiv şəkildə keçirlər. Amma, böyük zülallar və ribonukleozülal kompleksləri nüvədən bayıra və daxilə diffuziya edə bilmirlər. Ona görə də bu makromolekullar NPC-dən, bu makromolekullara birləşən və nukleoporinlə qarşılıqlı əlaqədə olan həll olan daşıyıcı (transport) zülalların köməyi ilə fəal şəkildə daşınırlar. Bu cürə fəal transport üçün NPC-lərin qabliyyəti və səmərəliliyi çox maraqlıdır. Belə hesab olunur ki, bir dəqiqənin müddətində NPC, 50-250 mRNT molekulunun, 10-20 ribosom subvahidinin və 1000 tRNT molekulunun nüvədən kənara daşınmasını həyata keçirdiyi halda 60000 zülal molekulunu nüvə daxilinə keçirir.

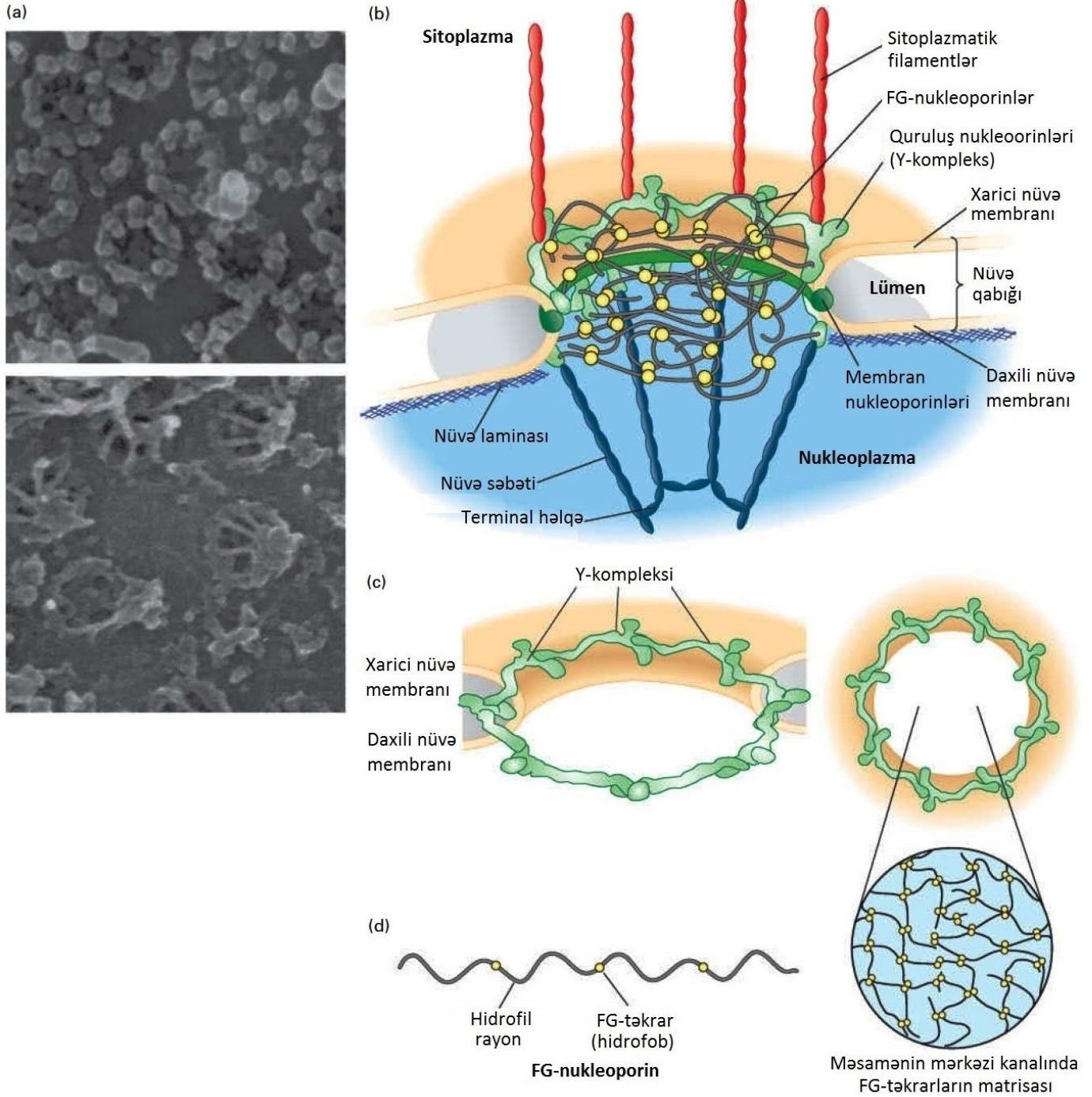
Ümumiyyətlə nukleoporinlər üç tipdə olurlar: *quruluş (struktur) nukleoporinləri, membran nukleoporinləri və FG-nukleoporinləri*. Quruluş nukleoporinləri nüvə məsəmələrində, səkkiz guşəli simmetriyadan ibarət olan və nüvə qabığının hər iki tərəfinə keçən, üzük halqa yaradan skaffoltu formalaşdırırlar. Nüvə qabığının daxili və xarici qatlarının membranları NPC-lərdə nüvə nukleoporinlərinin membrana batdığı (yükləndiyi), membranın yüksək əyilmiş rayonu vasitəsi ilə birləşirlər (bax Şəkil 13-33b). Yeddi ədəd quruluş nukleoporinlər dəsti, təxminən ribosom ölçüdə, *Y-kompleksi* kimi tanınan Y-şəkilli quruluşu formalaşdırır. Y-kompleksin onaltı nüsxəsi məsəmələrin əsas quruluş skaffoltunu əmələ gətirir, bu da nüvə qabığını keçən bilateral simmetriya malik olur və nüvə qabığının yastılaşmış hissəsində səkkiz guşəli fırlanma simmetriyanı əmələ gətirir. Y-kompleks daxilində bir neçə dəfə təkrar olunan bu quruluş motivi, hüceyrə daxilində örtüklü qovucuqların hərəkətini həyata keçirən COPII zülallarda tapılan quruluşa çox yaxındır (bax Fəsil 14). Nüvə məsəməsinin quruluş zülalları ilə qovucuqların örtük zülalları arasındakı bu yaxınlıq əlaqəsi göstərir ki, bu iki tip membran örtük kompleksləri ümumi mənşəyə malikdirlər. Bu elementin əsas funksiyası ola bilsin ki, zülal çəpər şəbəkəsini yaratmaqdır və bu şəbəkə membran nukleoporinləri ilə kompleksdə membranı yüksək dərəcədə burulmuş quruluşa deformasiya edir.

Nüvə məsəməsi kompleksinin kanalı daxilində düzülən, həmçinin nüvə səbəti ilə və sitoplazmatik filamentlərlə birləşən FG-nukleoporinlər, fenilalanin (F) və qlisin (G) qalıqları ilə

zəngin olan çoxsaylı qısa hidrofob təkrarlara (FG-təkrarlar) malikdirlər. Güman olunur ki, hidrofob FG-təkrarlar, mərkəzi daşınma kanalını dolduran, əks halda hidrofilolan polipeptid zəncirin genişlənmiş rayonlarında meydana çıxır. FG-nukleoporinlər NPC-nin fəaliyyəti üçün çox əhəmiyyətlidir, amma NPC, hətta FG-təkrarların yarısı silinən (delesiya olunan) halda belə fəal olur. Belə hesab olunur ki, FG-nukleoporinlər, çox xassəyə malik olan, dəyişkən gələ-bənzər matrisanı yaradırlar, bu da kiçik molekulaların diffuziyasına imkan verir, amma, çaperondan ayrılmış 40 kDa böyük hidrofil zülalları buraxmır (bax Şəkil 13-33d).

Nüvə Nəqliyyat Reseptorları Nüvə-Lokalizasiya Siqnalına Malik Olan Zülalları Nüvə Daxilinə Aparır

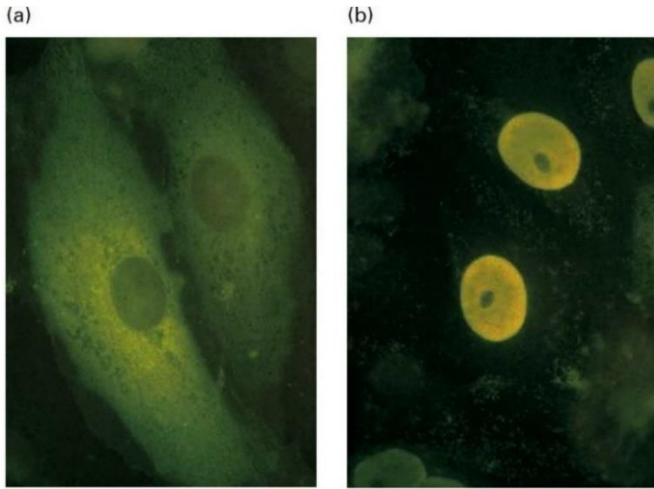
Nüvədə tapılmış bütün zülallar – histon zülalları, transkripsiya faktorları, həmçinin DNT və RNT polimerazalar – sitoplazmada sintez olunurlar və nüvə məsəmələri kompleksləri vasitəsi ilə nüvəyə import olunurlar. Belə zülallar, onların selektiv nəqliyyatını nüvəyə istiqmətləndirən *nüvə lokalizasiya siqnalına (NLS)* malikdirlər. NLS-lər ilk dəfə, simian virusu 40 (SV40) vasitəsi ilə kodlaşdırılan böyük T-antigenin gen mutantlarının analizləri vasitəsi ilə aşkar olunmuşdur. Böyük T-antigenin təbii-forması virusla yoluxmuş hüceyrənin nüvəsində lokalizasiya olunduğu halda böyük T-antigenin bəzi mutasiya olunmuş formaları sitoplazmada toplanırlar (Şəkil 13-34). Belə dəyişilmiş hüceyrə lokalizasiyasına səbəb olan mutasiyaların hamısı, zülalın C-sonluğu yaxınlığında əsas amin turşuları ilə zəngin olan, xüsusi yeddi-qalıqlı ardıcılığın: **Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val** – daxilində baş verir. Bu ardıcılığın sitozol zülalına qovşaq olunması ilə yaradılmış hibrid zülallarla aparılan təcrübələr göstərdi ki, bu ardıcılıq zülalların daşınmasını nüvəyə yönəldir və nəticədə NLS kimi fəaliyyət göstərir. NLS ardıcılıqlar həmçinin, nüvəyə import olunan bir sıra başqa zülallarda da identifikasiya olunmuşdur. Bunların çoxu SV40 böyük T-antigenindəki əsas NLS ardıcılıqlara oxşardır, digər NLS-lər isə kimyəvi cəhətdən kifayət qədər fərqlidirlər. Məsələn, RNT-birləşdirən zülal hnRNP A1-də NLS hidrofobdur. Beləliklə, çox müxtəlif olan bu ardıcılıqların tanınması üçün çoxsaylı mexanizmlər mövcuddur.



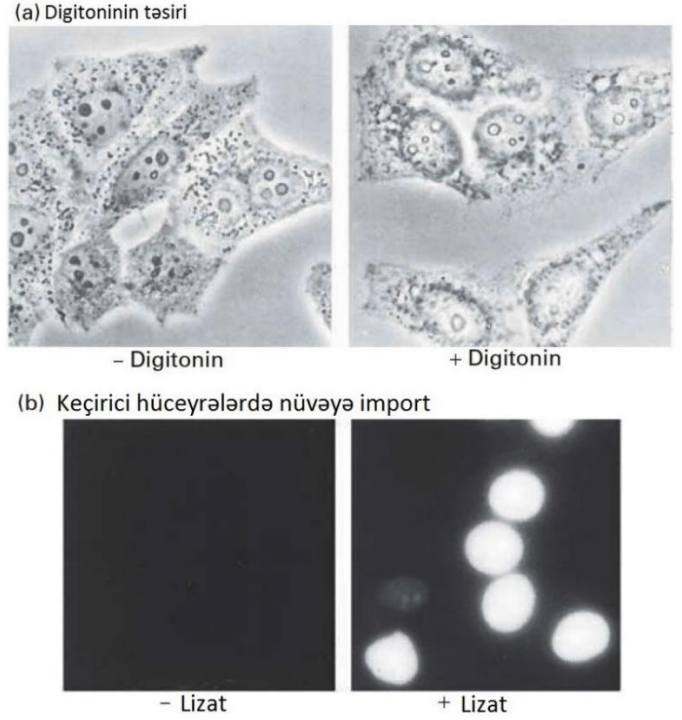
ŞƏKİL 13-33 Nüvə məsamələri kompleksi müxtəlif rezolyusiya səviyyəsində. (a) *Xenopus* oositinin çox böyük nüvəsinin skanerli elektron mikroskopu ilə görüntüləndirilən nüvə qabığı. *Yuxarıda*: Sitoplazmatik üzün görünüşü nüvə məsaməsi kompleksinin membrana batmış hissəsinin səkkiz guşəli formada olduğunu aşkar edir. *Aşağıda*: Nüvə plazması üzünün görünüşü membran hissəsindən uzanaraq çıxan nüvə səbətini göstərir. (b) Məsamə kompleksinin kəsilib çıxarılmış modeli, membran nukleoporinləri, quruluş nukleoporinləri və FG-nukleoporinlər tərəfindən əmələ gələn əsas quruluş xüsusiyyətlərini göstərir. (c) Y-kompleksin onaltı nüsxəsi nüvə məsamələri kompleksinin quruluş skaffoltunun əsas hissəsini təşkil edir. Y-kompleksin üç-ölçülü quruluşu məsamə quruluşu daxilində modelləşdirilmişdir. Nüvənin cüt membranları arasından keçən iqiqat

simmetriyaya (*solda*) və məsamə oxu ətrafında səkkiz qat fırlanma simmetriyasına (*sağda*) diqqət yetirək. (d) FG-nukleoporinlərin geniş nizamsız quruluşları vardır və hidrofob rayonlar arasında səpələnmiş Phe-Gly ardıcılığının təkrarlarından təşkil olunmuşlar (*solda*). FG-nukleoporinlər məsamənin mərkəzi hissəsində daha zəngindir və güman olunur ki, FG-təkrarlanan ardıcılıqlar mərkəzi kanalı geləbənzər matrisa ilə doldururlar (*sağda*). Bax K. Ribbeck and D. Görlich, 2001, *EMBO J.* **20**:1320–1330 və M. P. Rout and J. D. Atchison, 2001, *J. Biol. Chem.* **276**:16593. [(a) hissəsi Elsevier razılığı ilə Doye, V. and Hurt, E., “Nucleoporins to Nuclear Pore Complexes,” *Curr. Opin. Cell Biol.* **9**(3):401-411, 1997-dəm yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsilə alınmışdır.]

Nüvə məsələlərinin mexanizmi üzrə aparılan ilkin tədqiqatlar göstərdi ki, əsasi NLS-ə malik olan zülallar, SV40 böyük T-antigenində olduğu kimi, onlar yalnız sitozol ekstraktı ilə təmin olunarkən ayrılmış nüvə daxilinə səmərəli şəkildə daşınırlar (Şəkil 13-35). Bu sınaq sistemindən istifadə etməklə, tədqiqatçılar tələb olunan iki sitozol komponentlərini ayıraraq təmizlədilər: **Ran** və **nüvə nəqliyyat reseptoru**. *Ran* kiçik monomer G-zülalıdır, ya GTP-birləşmiş və ya GDP-birləşmiş iki konformasiyadan birində mövcud olur (bax Şəkil 3-34). Məhz *Ran* zülalının GTP-birləşmiş və GDP-birləşmiş konformasiyalar arasındakı dövrəsidir ki, GTP-nin GDP-yə xalis hidrolizinə gətirib çıxarır və nəticədə makromolekulların nüvə məsələləri kompleksindən keçərək biristiqamətli daşınmasını enerji ilə təmin edir. *Nüvə nəqliyyat reseptoru* həm nüvə daxilinə daşınan yük zülalında olan NLS-ə həm də nukleoporinlərdəki FG-təkrarlara birləşir. Hələ tam aydın olmayan fiziki proseslə, nüvə nəqliyyat reseptoru FG-təkrarlara keçici birləşməklə nüvə məsələsinin mərkəzi kanlında olan FG-təkrara-malik olan matrisadan tez keçib getmək imkanı qazanır, halbuki eyni ölçüdə olan, amma bu xüsusiyyətə malik olmayan başqa zülallar mərkəzi kanaldan buraxılırlar. Nüvə nəqliyyat reseptorları, həm NLS həm də FG-təkrarlara birləşə bilən tək bir polipeptiddən təşkil olunmuş monomer ola bilərlər və ya onlar bir subvahidi NLS-ə digəri isə FG-təkrarlara birləşə bilən dimerdən təşkil oluna bilərlər.



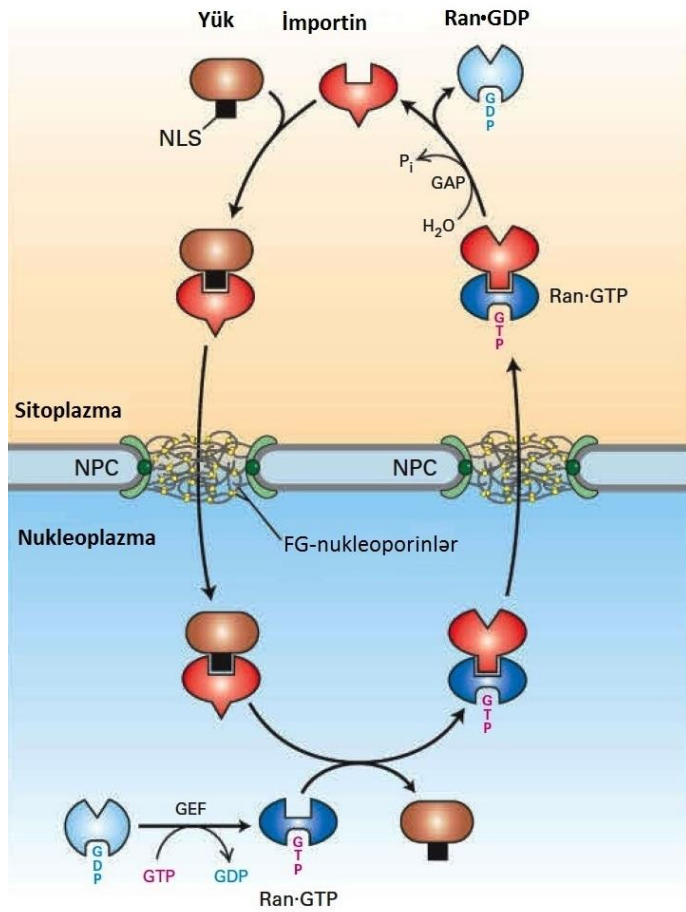
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 13-34 Nüvə lokalizasiya siqnalı (NLS) zülalları hüceyrə nüvəsinə yönəldir. Sitolazmatik zülallara nüvə lokalizasiya siqnalı qovşaq olunarsa onlar nüvəyə daşına bilərlər. (a) Kultura olunan hüceyrələr xüsusi anticismə işləndikdən sonra immunofluoresensiya ilə vizuallaşdırılan normal piruvat kinaza (sarı) sitoplazmada lokalizasiya olunur. Çox böyük olan bu sitozol zülalı karbohidratların metabolizmində fəaliyyət göstərir. (b) N-sonluğunda SV40 NLS-ə malik olan ximer piruvat kinaza zülalı hüceyrədə ekspressiya olunanda o nüvədə aşkar olunur. Ximer zülal, transfeksiya olunmuş SV40 NLS-i kodlaşdıran virus geni fraqmentinin piruvat kinaza geninə qovşaq olunması ilə yaradılmış gendən ekspressiya olunur. [Elsevier-in razılığı ilə D. Kalderon et al., "A Short Amino Acid Sequence Able to Specify Nuclear Location," 1984, *Cell* **39**(Pt2), 499-509, razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsilə alınmışdır.]



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 13-35 Sitolazmatik zülalları nüvə nəqliyyatı üçün tələb olunurlar. Keçiricilik qabliyyəti olan kultura olunmuş hüceyrələrdə hüceyrə lizati olmayanda nüvə nəqliyyatının baş tutmaması göstərir ki, bu proses zamanı həll olan sitozol komponentlərinin iştirakı lazımdır. (a) İşlənilməmiş və digitoninlə keçirici edilmiş HeLa hüceyrələrin faza-kontrast mikrofotusu. Kultura olunan birqatlı hüceyrələrin, ionlaşmayan mülayim detergent digitoninlə işlənilməsi plazma membranını keçirici edir, beləliklə, sitoplazmanın tərkib hissəsi hüceyrədən kənara elə axır ki, nüvə qabığı və NPC-lər intakt qalırlar. (b) Sintetik SV40 T-antigenin NLS peptidini kimyəvi yolla birləşdirilmiş fluorescent zülalla inkubasiya olunan digitoninlə keçirici edilmiş HeLa hüceyrələrinin hüceyrə lizati (sitolazma) olan və olmayan halda fluoresensiya mikrofotusu. Nəqliyyat substratın nüvəyə toplanması yalnız inkubasiya zamanı sitozol mövcud olan halda baş verir (sağda). [©1990 S. Adam et al., *The Journal of Cell Biology* **111**:807-816. doi:10.1083/jcb.111.3.807.]

Sitolazmatik yük zülallarının importu mexanizmi Şəkil 13-36-da göstərilən nüvə import reseptoru vasitəsi ilə həyata keçir. Sərbəst nüvə nəqliyyat reseptoru sitoplazmadakı yük zülalında ona doğma olan NLS-ə birləşir və importin-yük kompleksini əmələ gətirir. Sonra, importin FG-təkrarlara qarşılıqlı əlaqəyə girərək yük kompleksini NPC kanalı vasitəsi ilə translokasiya edir. Yük kompleksi sürətlə nüvə plazmasına çatır və orada importin Ran•GTP ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir, bu nüvə nəqliyyat reseptorunda konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, nəticədə NLS sıxışdırılıb çıxarılır və yük zülalı nüvə plazması daxilinə buraxılır. Sonra importin-Ran•GTP kompleksi NPC kanalı ilə geriye diffuziya edir. Importin-Ran•GTP kompleksi NPC-nin sitoplazma tərəfinə çatan kimi NPC-nin sitoplazmatik filamentinin bir komponenti olan xüsusi *GTP-aza fəallaşdırılan zülalla* Ran əlaqəyə girir (*Ran-GAP*). Bu qarşılıqlı əlaqə Ran-ı ona birləşmiş GTP-ni GDP-yə hidroliz etmək üçün stimullaşdırır, onun importinə qarşı aşağı affinitli konformasiya almasına səbəb olur, beləliklə sərbəst importin sitoplazmaya buraxılır, burada o, başqa bir import tsiklində

iştirak edə bilər. Ran•GDP məsələlər vasitəsi ilə geriye nüvə plazmasına qaydır, o burada spesifik *qvanin nukleotidi-mübadiləsi faktoru (Ran-GEF)* ilə qarşılaşır və onun təsiri ilə birləşdiyi GDP-ni buraxıb GTP-ni birləşdirir. Bu reaksiyalar sırasının xalis (son) nəticəsi GTP hidrolizinin NLS-daşıyan zülalın sitoplazmadan nüvə daxilinə keçirilməsi ilə birləşməsidir, beləliklə o nüvəyə daşınmanın idarə olunması üçün enerjini təmin edir.



ŞƏKİL 13-36 Zülalların nüvəyə importu mexanizmi. Sitoplazmada (*yuxarıda*) sərbəst importin yük zülalında NLS-ə birləşərək importin-yük kompleksini yaradır. İmportin-yük kompleksi FG-nukleoporinlərlə keçici əlaqəyə girərək NPC ilə diffuziya edir. Nukleoplazmada Ran•GTP importinə birləşərək onda konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir, nəticədə onun NLS-ə olan afinliyi azalır və yükü buraxır. İmportun yeni tsiklini təmin etmək üçün importin-Ran•GTP kompleksi geriye sitoplazmaya daşır. NPC-nin sitoplazmatik filamentləri ilə birləşmiş GTP-aza-fəallaşdırıcı zülal (GAP) birləşdiyi GTP-ni hidroliz etmək üçün Ran zülalını stimullaşdırır. Bu onun nüvə transport reseptorundan dissosiasiya etməsinə səbəb olan konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir və o, nüvəyə importun yeni dövrəsini başlaya bilər. Ran•GDP nukleoplazmaya qaydır, burada qvanin nukleotidi-mübadiləsi faktoru (GEF) GDP-nin buraxılmasına və GTP-nin yenidən birləşməsinə səbəb olur.

Baxmayaraq ki, importin-yük kompleksi nizamsız diffuziya ilə məsələlərdən keçərək hərəkət edir, yükün nüvəyə nəql olunmasının ümumi prosesi biristiqamətlidir. İmport kompleksi nüvə plazmasına çatarkən tez dissosiasiya etdiyindən nüvə importin-yük kompleksinin NPC tərəflərində qatılıq qradienti yaranır: kompleksin toplandığı sitoplazmada yüksək olur, onların dissosiasiya etdiyi nüvə plazmasında isə aşağı olur. Bu qatılıq qradienti nüvəyə importun biristiqamətli olmasını təmin edir. Oxşar qatılıq qradienti importinin nüvədən geriye, sitoplazmaya aparılmasına həyata keçirir. İmportin-Ran•GTP kompleksinin qatılığı onların toplandığı nüvə plazmasında NPC-nin onların dissosiasiya etdikləri sitoplazma tərəfinə nisbətən yüksəkdir. Nəticədə, nəqliyyat prosesinin istiqaməti Ran-GEF və Ran-GAP-in asimmetrik paylanmasından asılıdır. Ran-GEF nüvə plazmasında Ran zülalını Ran-GTP formasında saxlayır, o burada yük kompleksinin dissosiasiyasını təşviq edir. Ran-GAP isə NPC-nin sitoplazma tərəfində Ran-GTP-ni Ran-GDP-yə çevirir, importin-Ran-GTP kompleksini dissosiasiya edir və sərbət importini sitozola buraxır.

Nüvə Nəqliyyat Reseptorlarının İkinci Tipi Nüvə Eksport Sıqnaqları Olan Zülalları Nüvədən Bayıra Aparır

Bizim yenidən müzakirə etdiyimiz mexanizmə çox oxşar olan mexanizm zülalların, tRNT-lərin, və ribosomal subvahidlərin nüvədən sitoplazmaya eksport olunmasında da istifadə olunur. Bu mexanizm ilk əvvəl, nüvə və sitoplazma arasında müəyyən ribonukleo zülal komplekslərin “daşınması” üzrə tədqiqatlarda izah olundu. Belə “Şatlı” zülallar, nüvəyə daşınmanı həyata keçirən NLS-lə yanaşı, onların nüvə məsələləri ilə nüvədən sitoplazmaya eksportunu stimullaşdıran *nüvə-eksport siqnalına (NES)* malik olurlar. Nüvə daxilinə və xaricinə daşıyan şatlı zülalın müxtəlif seqmentlərinə qovşaq olunmuş nüvə-məhdudiyətli geni kodlaşdırıcı yaradılmış hibrid genlərlə aparılan eksperimentlər ən azı üç müxtəlif sinif NES-ləri identifikasiya etdi: PKI-lərdə (*protein-kinaza inhibitoru*) və insanın immun-çatışmazlığı virusunda (HIV) olan Rev zülalında rast gəlinən leysinlə-zəngin ardıcılıq, eləcə də iki başqa ardıcılıq iki müxtəlif heterogen ribonukleo zülal zərrəciklərdə (hnRNP) identifikasiya olunmuşdurlar. Nüvə eksportunu müəyyən edən, hər bir tip ardıcılığın funksional əhəmiyyətli quruluş xüsusiyyətləri hələ də tam anlaşılmamış qalır.

Şatlı edən zülalların nüvədən eksport olduğu bu mexanizm leysinlə-zəngin ardıcılığa malik olan NES-lər üçün daha yaxşı başa düşülür. Şəkil 13-37a-da göstərilən hazırkı modelə görə, **eksportin 1** adlanan xüsusi nüvə nəqliyyat reseptoru, nüvədə əvvəlcə Ran•GTP ilə kompleks əmələ gətirir, sonra da yük zülalında NES-ə birləşir. Eksportin 1-in Ran•GTP-yə birləşməsi eksportin 1-də konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, bu da onun NES-ə olan afinliyini artırır, beləliklə, *üçmolekullu yük kompleksi* əmələ gəlir. Digər nüvə nəqliyyat reseptorları kimi, eksportin 1 FG-nukleoporinlərin FG domenləri ilə keçici əlaqə yaradır və NPC ilə diffuziya edir. Yük kompleksi, NPC-nin sitoplazmatik filamentlərində Ran•GAP ilə qarşılaşanda dissosiasiya edərək Ran zülalının öz birləşdiyi GTP-ni hidroliz etməsini stimullaşdırır və onu eksportin 1-ə qarşı aşağı afinli konformasiyaya çevirir. Ran•GTP üçmolekullu yük kompleksindən dissosiasiya etdikdən sonra, eksportin 1 onun

konformasiyasını NES üçün aşağı afınli konformasiyaya dəyişir və yükü sitozola buraxır. Eksport prosesinin istiqaməti yükün eksportin 1-dən sitoplazmaya elə dissosiasiya olunması ilə aparılır ki, yük kompleksinin NPC tərəflərində, nüvə plazmasında yüksək və sitoplazmada aşağı olan qatılıq qradientinin yaranmasına səbəb olur. Eksportin 1 və Ran•GDP NPC vasitəsi ilə geriye, nüvəyə daşınır.

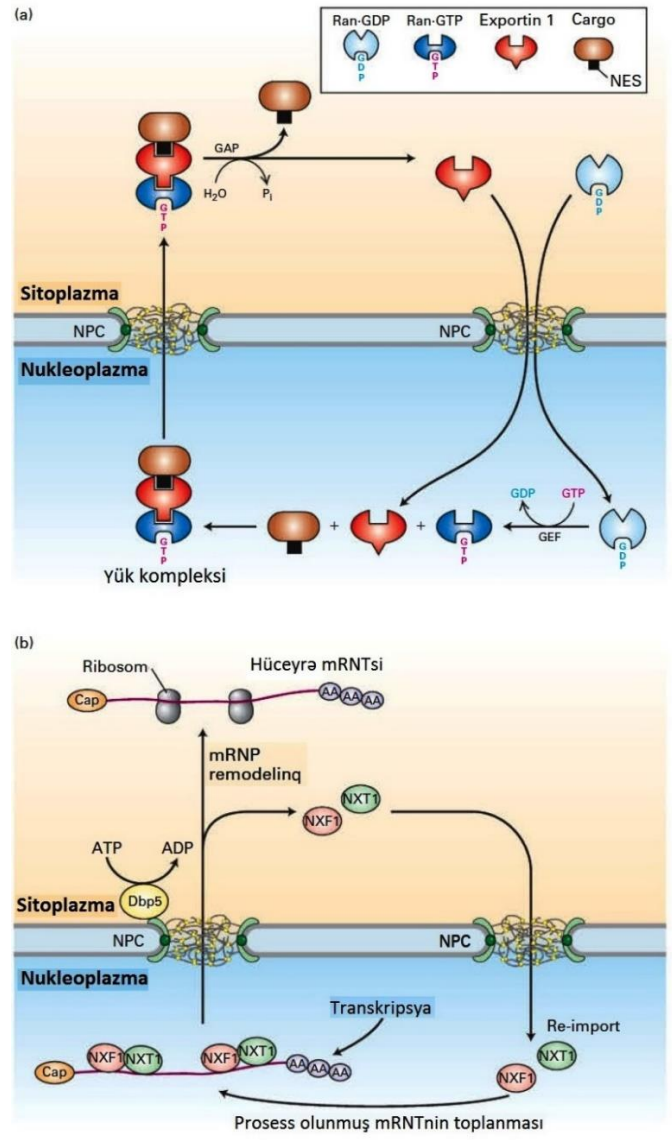
Nüvə eksportu üçün olan bu modeli Şəkil 13-36-da verilmiş nüvə importu üçün olan model ilə müqayisə etdikdə, aydın bir fərqi aşkar edə bilərik: Ran•GTP import zamanı deyil, yalnız eksport zamanı yük kompleksinin bir hissəsi olur. Bu fərqdən başqa, iki nəqliyyat prosesi kifayət qədər oxşardır. Hər iki prosədə, nüvə nəqliyyat reseptorunun nüvə plazmasında Ran•GTP ilə assosiasiyası, reseptorda onun nəqliyyat siqnalına olan afınliyinə təsir edən konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur. İmport zamanı, qarşılıqlı əlaqə yükün ayrılmasına səbəb olur, halbuki ekport zamanı bu qarşılıqlı əlaqə yük ilə assosiasiyayı gücləndirir. Həm eksportda həm də importda Ran•GTP hidrolizinin sitoplazmada Ran-GAP vasitəsi ilə stimullaşması Ran zülalında konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir, nəticədə o nüvə nəqliyyat reseptorunu buraxır. Nüvə eksportu zamanı, yük də buraxılır. Ran-GAP və Ran-GEF-in uyğun olaraq sitoplazmada və nüvədə lokalizasiyası yük zülalının NPC-dən keçərək biristiqamətli daşınmasının əsasını təşkil edir.

Funksiyalarındakı oxşarlıqlarına uyğun olaraq, bu iki tip nüvə nəqliyyat reseptorları – importinlər və eksportinlər – ardıcılıqlarına və quruluşlarına görə yüksək dərəcədə homolojiyə təşkil edirlər. Nüvə nəqliyyat reseptorları ailəsi mayada 14, məməlilərin hüceyrəsində isə 20-dən artıq nümayəndəyə malikdirlər. Onların birləşdiyi NES-lər və ya NLS-lər onların yalnız bir qismi üçün müəyyən edilmişdir. Bəzi fərdi nüvə nəqliyyat reseptorları həm eksport həm də importda fəaliyyət göstərir.

Göstərilmişdir ki, oxşar şatl mexanizmi başqa yükləri də nüvədən eksport edir. Məsələn, eksportin-t tRNT-ləri eksport etmək üçün fəaliyyət göstərir. Eksportin-t Ran•GTP ilə kompleksdə tam proses olunmuş tRNT-yə birləşir, NPC-lər vasitəsi ilə diffuziya edir və NPC-nin sitoplazmatik filamentlərindəki Ran-GAP ilə əlaqəyə girərkən dissosiasiya olunaraq tRNT-ni sitozola buraxır. Ran-dan asılı olan proses, zülal və rRNT komponentləri nüvədə tam düzgün yığıldıqdan sonra, ribosomal subvahidlərin NPC-lər vasitəsi ilə nüvədən eksport olunması zamanı da tələb olunur. Eləcə də, xüsusi hnRNP zülallarla assosiasiya edən müəyyən spesifik mRNT-lər Ran-dan asılı olan mexanizmlə eksport oluna bilərlər.

mRNT-lərin Əksəriyyəti Nüvədən Ran-dan-Asılı Olmayan Mexanizmlə Eksport Olunur

Nüvədə mRNT-nin prosesinqi tamamlandıqdan sonra, o xüsusi hnRNP zülallarla birləşmiş vəziyyətdə olur, buna *mesencer ribonukleo-zülal kompleksi* və ya mRNP deyilir. mRNP-lərin nüvədən kənara əsas daşıyıcısı, *nüvə eksport faktoru 1 (NXF1)* adlanan böyük subvahiddən və *nüvə eksport transporteri 1 (NXT1)* adlanan kiçik subvahiddən təşkil olunmuş heterodimer zülal **mRNP eksporter**dir. Çoxsaylı NXF1/NXT1 dimerlər, RNT ilə və transkripsiyanın elonqasiyası zamanı və pre-mRNT prosesinqi zamanı yeni sintez olunan pre-mRNT-yə birləşmiş başqa mRNP adaptor zülallarla kooperativ qarşılıqlı əlaqə vasi-



ŞƏKİL 13-37 Nüvəyə Ran-dan asılı olan və Ran-dan asılı olmayan eksport. (a) Leysinlə-zəngin nüvə-eksport siqnalına (NES) malik olan yük zülallarının Ran-dan asılı olan mexanizmlə nüvədən eksportu. Nüvə plazmasında (aşağıda) eksportin 1 zülalı daşınmaq üçün yük zülalında NES-ə və Ran•GTP-yə kooperativ şəkildə birləşir. Əmələ gələn yük kompleksi NPC-dən FG-nukleoporinlərin FG domenləri ilə keçici əlaqə yaratmaqla diffuziya edərək keçdikdən sonra, NPC sitoplazmatik filamentlərlə assosiasiyada olan GAP GTP hidrolizini stimullaşdırır, Ran•GTP-ni Ran•GDP-yə çevirir. Ran zülalında baş verən konformasiya dəyişikliyi kompleksin dissosiasiyasına səbəb olur. NES-yə malik olan yük zülalı sitozola buraxılır, eksportin 1 və Ran•GDP NPC-lər vasitəsi ilə geriye, nüvəyə daşınır. Sonra, Ran-GDP nüvə plazmasında Ran•GDP-nin Ran•GTP-yə çevrilməsini stimullaşdırır. (b) mRNT-lərin Ran-dan asılı olmayan eksportu. Heterodimer NXF1/NXT1 kompleksinə (mRNP-lər) birləşir. NXF1/NXT1 nüvə eksport faktoru kimi fəaliyyət göstərir və FG-nukleoporinlərlə keçici əlaqə yaradaraq birləşmiş mRNP-ni NPC-nin daxili kanalına yönəldir. NPC-nin sitoplazmatik tərəfində yerləşən RNT helikaza (Dbp5) ATP hidrolizi ilə aparılan reaksiya ilə NXF1 və NXT1 zülallarını mRNT-dən uzaqlaşdırır. Sərbəst NXF1 və NXT1 zülalları, Şəkil 13-36-da göstərilən Ran-dan asılı olan proseslə geriye, nüvəyə yenidən istifadəyə qaytarılırlar.

təsi ilə nüvə mRNP-lərə birləşirlər. NXF1/NXT1 çox hallarda, NLS-ə və ya NES-ə birləşən nüvə nəqliyyat reseptoru kimi elə fəaliyyət göstərir ki, hər iki subvahid FG-nukleopordinlərin FG-domeni ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir və onların NPC-nin mərkəzi kanalı ilə diffuziya etməsinə imkan yaradır.

mRNP eksport prosesi Ran-ın iştirakını tələb etmir və beləliklə, mRNTnin nüvədən kənara biristiqamətli daşınması Ran vasitəsi ilə GTP hidrolizindən başqa enerji mənbəyini tələb edir. mRNP-NXF1/NXT1 kompleksi NPC-nin sitoplazmatik tərəfinə çatanda, NXF1 və NXT1 sitoplazmatik NPC filamentləri ilə assosiasiyada olan RNT helikaza, Dbp5-in köməyi ilə mRNP-dən dissosiasiya edir. Xatırladaq ki, RNT helikaza RNT molekulu boyunca hərəkət etmək və ikizencirli RNT zəncirlərini ayıraraq RNT-zülal kompleksini dissosiasiya etmək üçün ATP hidrolizindən alınan enerjiden istifadə edir (bax Fəsil 5). Bu belə sadə bir ideyaya səbəb olur ki, nüvə məsələləri kompleksinin sitoplazmatik tərəfinə assosiasiya edən Dbp5, mRNP kompleksləri NPC-nin sitoplazmatik tərəfinə çatanda, onlardan NXF1/NXT1-i ayırmaq üçün ATP ilə işləyən motor kimi fəaliyyət göstərir. NPC-nin nüvə plazması tərəfində NXF1/NXT1-in mRNP komplekslərdə toplanması və NPC-lərin sitoplazmatik tərəfində NXF1/NXT1-in mRNP-lərdən ATP-dən-asılı olan yolla ayrılması mRNP-NXF1/NXT1-in qatılıq qradientini yaradır, bu da biristiqamətli eksportu aparır. mRNP-dən ayrıldıqdan sonra, Dbp5 helikaza vasitəsi ilə mRNT-dən çıxarılmış sərbəst NXF1 və NXT1 zülalları, Ran və nüvə nəqliyyat reseptorundan asılı olan proseslə geriyyə, nüvəyə import olunurlar (Şəkil 13-37b).

Ran-dan asılı olan nüvə eksportunda (əvvəlki paraqrafda müzakirə olunan) NPC-nin sitoplazma tərəfində GTP-nin Ran vasitəsi ilə hidrolizi nüvə nəqliyyat reseptorunun yük zülalından dissosiasiyasına səbəb olur. Ümumilikdə, burada müzakirə olunan Ran-danasılı olmayan nüvə eksportu, NPC-nin sitozol tərəfindəki Dbp5p-nin ATP hidrolizindən istifadə edərək mRNP eksporterini mRNT-dən dissosiasiya etməsi istisna olmaqla, oxşar mexanizmlə fəaliyyət göstərir.

13.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Nüvə daxilinə və Xaricinə Daşınma

- Nüvə qabığı çoxsaylı nüvə məsələləri komplekslərinə (NPC) malik olur, bunlar çox böyük mürəkkəb quruluşa malik olub, *nukleopordinlər* adlanan 30 qədər zülalın çoxsaylı nüsxələrindən təşkil olunmuşlar (bax Şəkil 13-33). Qısa

Açar Sözlər

bir dəfə keçən membran zülalı
bükülməmiş-zülal cavabı
çoxkəsibkeçən membran zülalı
dislokasiya
dolixol fosfat
əsas import məsələsi
FG-nukleopordin
hədəfləmə ardıcılığı

hidrofob ardıcılığın çoxsaylı təkrarlarına (FG-təkrarlar) malik olan FG-nukleopordinləri mərkəzi transporter kanala düzülür və bütün makromolekulların nüvə məsələləri vasitəsi ilə daşınmasında iştirak edirlər.

- 40 kDa-dan böyük olan makromolekulların nüvə məsələləri vasitəsi ilə daşınması, həm daşınan molekulla həm də FG-nukleopordinlərin FG-domenləri ilə əlaqə yaradan nüvə nəqliyyat reseptorlarının köməyini tələb edir.
- Nüvəyə import olunan və ya nüvədən eksport olunan zülallar, nüvə-lokalizasiya siqnalı (NLS) və ya nüvə-eksport siqnalı (NES) kimi fəaliyyət göstərən spesifik aminturşu ardıcılığına malik olurlar. Nüvə daxilində məhdud olan zülallar NLS-ə malik olurlar, amma NES-ə olurlar, nüvə və sitoplazma arasında daşınmada şatlı kimi iştirak edən zülallar isə hər iki siqnala malik olurlar.
- Bir sıra müxtəlif tipli NES və NLS-lər identifikasiya olunmuşlar. Güman olunur ki nüvə-nəqliyyat siqnalının hər bir tipi, homoloji zülallar ailəsinə daxil olan spesifik nüvə nəqliyyat zülalları ilə əlaqəyə girirlər.
- NES və ya NLS daşıyan yük zülalı onun doğma nüvə nəqliyyat reseptoruna birləşmiş nüvə məsələlərindən keçib translokasiya olunur. Nüvə nəqliyyat reseptorları ilə FG-təkrarlar arasında keçici əlaqə, nüvə nəqliyyat reseptoru-yük kompleksinin, FG-təkrarların hidrofob matrisası ilə dolu olan NPC mərkəzi kanal vasitəsi ilə çox sürətli diffuziyasının yaranmasına imkan verir.
- Nüvə məsələləri vasitəsi ilə zülal eksportunun və importunun biristiqamətli təbiəti, birləşdiyi GTP və GDP-dən asılı olaraq fərqli konformasiyalara malik olan monomer Ran G-zülalının iştirakının nəticəsidir. Ran qanin nukleotidi-mübadiləsi faktorunun (GEF) nüvədə və Ran GTP-aza-fəallaşdıran faktorunun (GAP) sitoplazmada lokalizasiyası, Ran•GTP-nin nüvədə və Ran•GDP-nin sitoplazmada yüksək olan qatılıq qradientini yaradır. İmport olunan yük komplekslərinin nüvə plazmasında Ran•GTP ilə qarşılıqlı əlaqəsi kompleksin dissosiasiyasına səbəb olur və yükü nukleoplazmaya buraxır (bax Şəkil 13-36), halbuki eksport yük komplekslərinin toplanması nüvə plazmasında Ran•GTP ilə əlaqəyə girərək stimullaşdırılır (bax Şəkil 13-37).
- mRNP-lərin əksəriyyəti nüvə plazmasında FG-təkrarlarla qarşılıqlı əlaqədə olan heterodimer mRNP eksportera birləşməklə nüvədən eksport olunur. Daşınmanın istiqaməti (nüvədən sitoplazmaya) NPC-lərin sitoplazmatik filamentləri ilə assosiasiyada olan RNT helikazanın fəaliyyətinin nəticəsidir, daşınma kompleksi sitoplazmaya çatanda heterodimer mRNP eksporteri ayıraraq uzaqlaşdırır.

hidropatlıq profili
kotranslyasiya translokasiyası
qırıqlı ER
mikrosom
molekulyar çaperonlar
N-əlaqəli oliqosaxaridlər
nüvə məsələsi kompleksi
nüvə nəqliyyat (transport) reseptoru

O-əlaqəli oliqosaxaridlər
post-translyasiya translokasiyası
Ran zülalı
siqnal-lövbər ardıcılığı
siqnal-tanıyan zərrəcik (SRP)
stop-ötürmə lövbər ardıcılığı

topogenik ardıcılıq
topologiya
translokon
zülal disulfid izomeraza (PDI)

Konsepsiyalara Baxış

1. Aşağıdakı nəticələr ifrazat zülallarının translyasiyasının ilkin tədqiqatları zamanı alınmışdır. Bu proses barədə indi bizim bildiklərimizə əsaslanaraq hər bir nəticənin nəyə görə müşahidə olunduğunu izah edin.

(a) Yalnız RNT və ribosomlardan təşkil olunmuş in vitro translyasiya sistemi hüceyrədə translyasiya olunan eyni (identik) zülaldan böyük olan ifrazat zülallarının sintezi ilə nəticələndi.

(b) Mikrosomların da daxil olduğu oxşar sistem, ölçüsünə görə hüceyrədə tapılan zülallarla identik olan ifrazat zülallarını istehsal edir.

(c) Mikrosomlar in vitro translyasiyadan sonra əlavə olunanda, sintez olunan zülallar yenədə ölçülərinə görə hüceyrədə sintez olunan həmin zülallardan böyük olur.

2. (a) Endoplazmatik şəbəkədə (ER) kotranslyasiya translokasiyasında; (b) ER-də posttranslyasiya translokasiyasında; (c) mitoxondri matrisasına translokasiyada membrandan biristiqamətli keçmənin baş verməsi üçün lazım olan enerji mənbəyini və ya mənbələrini təsvir edin.

3. Orqanoidlərin əksəriyyətinin daxilinə translokasiya adətən bir və ya daha artıq sitozol zülallarının fəallığını tələb edir. ER-ə, mitoxondrilərə və peroksisomlara translokasiya üçün tələb olunan müvafiq üç müxtəlif siotozol faktorlarının əsas funksiyasını təsvir edin.

4. Zülallar daxilində topogenik ardıcılıqları identifikasiya etmək üçün tipik (səciyyəvi) prinsipləri və bunların kompüter alqoritmlərinin inkişaf etdirilməsində necə istifadə oluna biləcəyini təsvir edin. Topogenik ardıcılıqların identifikasiyası çoxkəsbkeçən zülalların membranda düzülməsinin proqnozlaşdırılmasına necə səbəb olur? Siqnal-lövbər ardıcılığının membrandakı orientasiyası ilə nisbətə müsbət yüklərin düzülməsinin əhəmiyyəti nədən ibarətdir?

5. ER-də düzgün bükülməmiş zülalların çoxluğu bükülməmiş zülal cavabının (UPR) və ER-assosiasiyalı parçalanma (ERAD) yollarının fəallaşmasına səbəb ola bilər. UPR hansı tip genlərdə gen ekspressiyasını dəyişməklə bükülməmiş zülalların miqdarını azaldır? ERAD səhv bükülmüş zülalları hansı şəkildə müəyyən edir? Səhv bükülmüş bu zülalların sitoplazmaya dislokasiyası nə üçün lazımdır?

6. N-əlaqəli qlikozilləşmədə dolixol-oliqosaxarid sələfin sintezində hər bir fermentativ mərhələnin blok olduğu temperatura-həssas maya mutantları ayrılmışdır. Dolixol-PP-(GlcNAc)₂Man₅ quruluşunda olan intermediatın sintezini blok edən mutasiyaların N-əlaqəli oliqosaxarid zəncirinin ifrazat zülallarına əlavə olunmasına tam mane olduğu halda bu intermediatın tamamlanmış sələfə – Dolixol-PP-(GlcNAc)₂Man₉Glc₃ – çevrilməsini blok edən mutasiyaların N-əlaqəli oliqosaxarid zəncirlərinin ifrazat zülallarına əlavə olunmasına nəyə görə imkan verməsini izah edin.

7. ER lümeni daxilində ifrazat zülallarının modifikasiyasına və/və ya bükülməsinə şərait yaradan dörd müxtəlif zülal

adlandırın. Bu zülallardan hansının substrat zülallarını kovalent modifikasiya etdiyini və hansının substrat zülalında yalnız konformasiya dəyişikliyi etdiyini müəyyən edin.

8. Aşağıdakı mitoxondri mutant tiplərində mitoxondriyal matrisa zülalının sələfində hansı dəyişikliklər baş verdiyini təsvir edin: (a) Tom22 siqnal reseptorunda mutasiya; (b) Tom70 siqnal reseptorunda mutasiya; (c) matrisa Hsp70-də mutasiya; (d) matrisa siqnal peptidazada mutasiya.

9. Mitoxondri matrisasına və xloroplast stromasına import mexanizmləri arasındakı oxşar və fərqli cəhətləri təsvir edin.

10. Dihidrofolat reduktazaya (DHFR) qovşaq olunmuş mitoxondriyal sələf zülallardan təşkil olunan ximer zülallardan istifadə edərək, matrisa-hədəfləmə ardıcılığının matrisa-prosesinq proteazası vasitəsi ilə kəsilməsi üçün sələf zülalların nə qədərini mitoxondri matrisasına çıxmasını (uzanmasını) təyin etmək üçün istifadə oluna bilən eksperimentlər dəstini tərtib edin.

11. Peroksisomlar, müxtəlif substratları oksidləşdirmək üçün molekulyar oksigendən istifadə edən fermentlərə malikdirlər, amma, prosesdə DNT və zülalları zədələyən birləşmə – hidrogenperoksid əmələ gəlir. Hidrogenperoksidin suya parçalanmasını həyata keçirən fermentin adı nədir? Bu zülalın peroksisoma importunu hansı mexanizm edir və bu mexanizm hansı zülallar daxildir?

12. Hesab edək ki, siz funksional peroksisomlardan məhrum olan yeni mutant hüceyrə xəttini identifikasiya etmişiniz. Mutantın peroksisomal membran zülallarının və ya matrisa zülallarının daxil edilməsi/yığılması üçün ilk növbədə qüsurlu olub olmadığını necə müəyyən edə bilərsiniz? Biləcəyinizi təsvir edin.

13. 40 kDa-dan böyük olan zülalların nüvəyə import olunması hansı amin turşu ardıcılığının olmasını tələb edir? Nüvəyə importun mexanizmini təsvir edin. Nüvə nəqliyyat reseptorları nüvə məsələləri kompleksindən necə keçə bilərlər?

14. Nəyə görə Ran-GAP-ın nüvədə və Ran-GEF-in sitoplazmada lokalizasiyası NES-ə malik olan yük zülalının biristiqamətli nəqliyyatı üçün vacibdir?

İstinadlar

Zülalların Membrana və Membrandan Keçən Hədəflənməsi:

Egea, P. F., R. M. Stroud, and P. Walter. 2005. Targeting proteins to membranes: structure of the signal recognition particle. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **15**:213–220.

Osborne, A. R., T. A. Rapoport, and B. van den Berg. 2005. Protein translocation by the Sec61/SecY channel. *Annu. Rev. CellDev. Biol.* **21**:529–550.

Wickner, W., and R. Schekman. 2005. Protein translocation across biological membranes. *Science* **310**:1452–1456.

Membran Zülallarının ER-ə Daxil Edilməsi

Englund, P. T. 1993. The structure and biosynthesis of glycosylphosphatidylinositol protein anchors. *Annu. Rev. Biochem.* **62**:121–138.

Mothes, W., et al. 1997. Molecular mechanism of membrane protein integration into the endoplasmic reticulum. *Cell* **89**:523–533.

Shao, S., and R. S. Hegde. 2011. Membrane protein insertion at the endoplasmic reticulum. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **27**:25–56.

Wang, F., et al. 2011. The mechanism of tail-anchored protein insertion into the ER membrane. *Mol. Cell* **43**:738–750.

Zülalların ER-də Modifikasiyası, Bükülməsi və Keyfiyyət Nəzarəti

Braakman, I., and N. J. Bulleid. 2011. Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. *Annu. Rev. Biochem.* **80**:71–99.

Hegde, R. S., and H. L. Ploegh. 2010. Quality and quantity control at the endoplasmic reticulum. *Curr. Opin. Cell Biol.* **22**:437–446.

Helenius, A., and M. Aebi. 2004. Roles of N-linked glycans in the endoplasmic reticulum. *Annu. Rev. Biochem.* **73**:1019–1049.

Kornfeld, R., and S. Kornfeld. 1985. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu. Rev. Biochem.* **45**:631–664.

Patil, C., and P. Walter. 2001. Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus: the unfolded protein response in yeast and mammals. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:349–355.

Sevier, C. S., and C. A. Kaiser. 2002. Formation and transfer of disulphide bonds in living cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**:836–847.

Smith, M. H., H. L. Ploegh, and J. S. Weissman. 2011. Road to ruin: targeting proteins for degradation in the endoplasmic reticulum. *Science* **334**:1086–1090.

Zülalların Mitoxondriyə və Xloroplastlara Hədəf Olunması

Dalbey, R. E., and A. Kuhn. 2000. Evolutionarily related insertion pathways of bacterial, mitochondrial, and thylakoid membrane proteins. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **16**:51–87.

Dolezal, P., et al. 2006. Evolution of the molecular machines for protein import into mitochondria. *Science* **313**:314–318.

Koehler, C. M. 2004. New developments in mitochondrial assembly. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **20**:309–335.

Li, H.-M., and C.-C. Chiu. 2010. Protein transport into chloroplasts. *Ann. Rev. Plant Biol.* **61**:157–180.

Matouschek, A., N. Pfanner, and W. Voos. 2000. Protein unfolding by mitochondria: the Hsp70 import motor. *EMBO Rep.* **1**:404–410.

Neupert, W., and M. Brunner. 2002. The protein import motor of mitochondria. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**:555–565.

Robinson, C., and A. Bolhuis. 2001. Protein targeting by the twin-arginine translocation pathway. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:350–356.

Schmidt, O., N. Pfanner, and C. Meisinger. 2010. Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **11**:655–667.

Peroksisomal Zülalların Hədəf Olunması

Dammai, V., and S. Subramani. 2001. The human peroxisomal targeting signal receptor, Pex5p, is translocated into the peroxisomal matrix and recycled to the cytosol. *Cell* **105**:187–196.

Gould, S. J., and D. Valle. 2000. Peroxisome biogenesis disorders: genetics and cell biology. *Trends Genet.* **16**:340–345.

Hoepfner, D., et al. 2005. Contribution of the endoplasmic reticulum to peroxisome formation. *Cell* **122**:85–95.

Ma, C., G. Agrawal, and S. Subramani. 2011. Peroxisome assembly: matrix and membrane protein biogenesis. *J. Cell Biol.* **193**:7–16.

Purdue, P. E., and P. B. Lazarow. 2001. Peroxisome biogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **17**:701–752.

Smith, J. J., and J. D. Aitchison. 2013. Peroxisomes take shape. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:803–817.

Nüvə Daxilinə və Xaricinə Daşınma

Chook, Y. M., and G. Blobel. 2001. Karyopherins and nuclear import. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **11**:703–715.

Cole, C. N., and J. J. Scarcelli. 2006. Transport of messenger RNA from the nucleus to the cytoplasm. *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**:299–306.

Johnson, A. W., E. Lund, and J. Dahlberg. 2002. Nuclear export of ribosomal subunits. *Trends Biochem. Sci.* **27**:580–585.

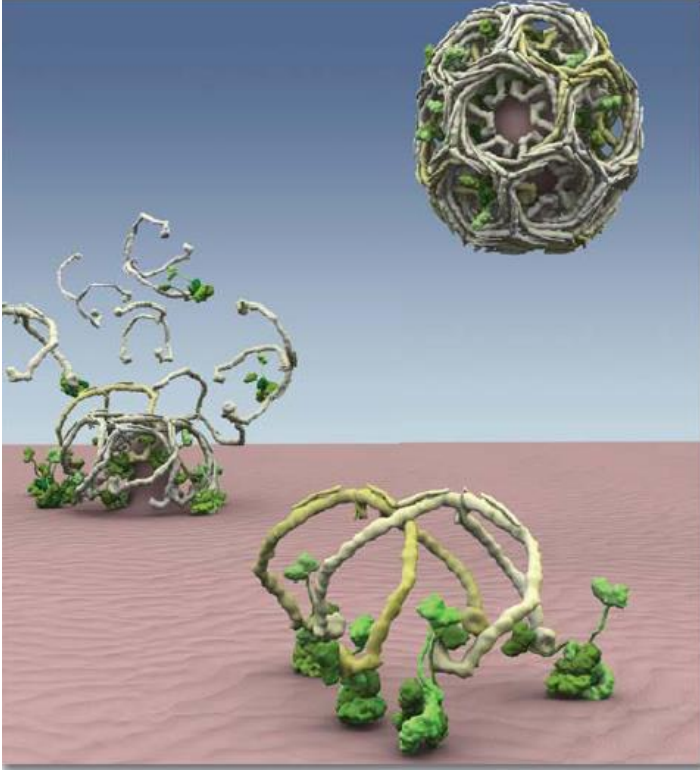
Ribbeck, K., and D. Gorlich. 2001. Kinetic analysis of translocation through nuclear pore complexes. *EMBO J.* **20**:1320–1330.

Rout, M. P., and J. D. Aitchison. 2001. The nuclear pore complex as a transport machine. *J. Biol. Chem.* **276**:16593–16596.

Schwartz, T. U. 2005. Modularity within the architecture of the nuclear pore complex. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **15**:221–226.

Stewart, M. 2010. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem. Sci.* **35**:609–617.

Terry, L. J., and S. R. Wentz. 2009. Flexible gates: dynamic topologies and functions for FG nucleoporins in nucleocytoplasmic transport. *Eukaryot. Cell* **8**:1814–1827.



Klatrinlə-örtülü qovucuqların əmələ gəlməsinin sxematik təsviri. Proses AP2 komplekslərin (yaşıl) plazma membranının daxili səthinə səfərbər olunması və nəticədə üçayaqlı triskelionun tutulması ilə başlayır. Əlavə AP2 və klatrin triskelionların səfərbər olunması ilə qəfəsin toplanması davam etdikcə altıda yerləşən membranın əyilməsi qabıqlı qovucuğun formalaşması tamamlanana qədər artır. [Nəzakətə Ema Cocucci, Janet Iwasa, and Tom Kirchhausen.]

Əvvəlki fəsildə biz zülalların bir neçə müxtəlif orqanoidə, o cümlədən endoplazmatik şəbəkəyə, mitoxondrilərə, xloroplastlara, peroksisomlara və nüvəyə membrandan keçərək necə hədəf olunduqlarını və öyrəndik. Biz bu fəsildə diqqətimizi **ifrazat yollarına** və zülalların hüceyrədən ifraz olunmasına və ya onların plazma membranına və ya lizosomlara çatdırılmasına imkan verən qovucuqlarla daşınmasının mexanizmlərinə yönəldirik. Biz həmçinin, zülalların və kiçik molekulaları ya hüceyrə xaricindən ya da sitoplazmadan parçalanmaq üçün lizosomların daxilinə çatdıran endositozun və avtofagiyanın buna oxşar proseslərini müzakirə edəcəyik.

İfrazat yolları ona görə belə adlandırılmışdır ki, o ilk dəfə insulin və ya həzm fermentləri kimi böyük miqdarda zülalları hüceyrə xaricinə ifraz edən xüsusi ifrazat hüceyrələrində tədqiq olunmuşdur. Sonralar aşkar edilmişdir ki, zülalların hüceyrə xaricinə ifrazı üçün istifadə olunan eyni yol ER-ə daxil olan bütün həllolan və membran zülallarının öz son məkanlarına, hüceyrə səthinə və ya lizosomlara çatdırılmasında istifadə olunur. Plazma membranına çatdırılan zülallara hüceyrə-səth reseptorları, qidanın qəbul edilməsi üçün daşıyıcılar və plazma membranı tərəflərində ion və elektrokimyəvi tarazlığı saxlayan ion kanalları daxildirlər. Belə membran zülalları, plazma membranına çatdıqdan sonra onun daxilinə yüklənilirlər. İfraz olunan həllolan zülallar da həmçinin hüceyrə səthinə qədər ifrazat yolunu keçir, amma membran daxilinə yüklənmək əvəzinə onlar hüceyrəxarici sulu mühitə buraxılır. İfraz olunan zülallara nümunə kimi həzm fermentlərini, peptid hormonları,

zərdab zülallarını və kolageni göstərmək olar. Lizosom, Fəsil 4-də təsvir edildiyi kimi, daxilində turş mühitə olın orqanoiddir və əsasən lazımsız zülalların parçalanmasında və amin turşuları kimi kiçik molekulaların ehtiyat saxlanılmasında istifadə olunur. Müvafiq olaraq, lizosomal membrana çatdırılan zülalların tiplərinə, sitozoldan H^+ -i lizosomun turş lümenlərinə vuran V sinif proton nasoslarının subvahidləri və eləcə də lizosomda ehtiyat saxlanılan kiçik molekulaları sitoplazma daxilinə buraxan daşıyıcılar (transporterlər) daxildirlər. Bu yolla çatdırılan həllolan zülallara proteazalar, qlikozidazalar və lipazalar kimi lizosomal həzm fermentləri daxildirlər.

Zülalların hüceyrə səthinə hədəf olunmasına imkan verən ifrazat yolunun əksinə, **endositoz yolu** maddələrin hüceyrə səthindən götürülməsi və onların hüceyrə daxilinə daşınmasında istifadə olunur. Endositoz yolu zülalları plazma membranından selektiv şəkildə uzaqlaşdırma bilir və beləliklə plazma membranının zülal tərkibinin tənzimlənməsində rol oynayır. Bundan başqa, endositoz yolu Fəsil 11-də müzakirə olunan daşınma mexanizmləri ilə membrandan keçirilə bilməyən çox böyük müəyyən qida maddələrinin udulmasında istifadə olunur. Məsələn, endositoz yolu LDL zərrəciklərlə daşınan xolesterinin və dəmir-birləşdirən zülal transferrin vasiyyəsi ilə daşınan dəmir atomlarının sorulmasında istifadə edilir. Bundan başqa, endositoz yolu reseptor zülalların fəallığını zəiflətmək üçün azalan-tənzimləmə yolu kimi onların hüceyrə səthindən çıxarılmasında da istifadə oluna bilər.

QISA İCMAL

14.1 İfrazat Yolunu Öyrənmək Üçün Metodlar

14.2 Qovucuqların Tumurcuqlaması və Qovuşmasının Molekulyar Mexanizmləri

Vahid ümumiləşdirilmiş prinsip ifrazat və endositoz yollarında bütün zülal daşınmasını idarə edir: membran və həllolan zülalların bir membrana-birləşmiş kompartmentdən digərinə daşınması bir kompartmentin membranında yaranan tumurcuqlarda “yük” zülallarını toplayaraq özündə saxlayan, növbəti kompartmentin membranı ilə qovuşaraq yük zülalını həmin kompartmentə çatdırən **daşıyıcı qovucuqlarla** həyata keçirilir. Qeyd etmək vacibdir ki, nəqliyyat qovucuqları bir membrandan tumurcuqlayıb ayrılarda və növbəti membran ilə qovuşanda, membranın eyni üzünü həmişə sitozola yönəlmiş vəziyyətdə qalır. Ona görə də, zülal membrana və ya ER lümeninə keçiriləndən sonra, bu zülal ifrazat yolu ilə aparıla bilər, başqa membrandan translokasiya etmədən və ya membran daxilində yerləşmə istiqamətini dəyişmədən bir orqanoiddən başqasına keçir. Buna oxşar olaraq, endositoz da zülalların plazma membranından endosomlara və lizosomlara daşınmasında qovucuqlarla daşınmadan istifadə edir və beləliklə onların bu orqanoidlərin membranında yerləşmə istiqamətini (orientasiyasını) qoruyub saxlayır. Şəkil 14-1 hüceyrədə olan əsas endositoz və ifrazat yollarını təsvir edir.

Ən sadə elementlərinə qədər endirilən ifrazat yolu iki mərhələdə fəaliyyət göstərir. Birinci mərhələ qırıq endoplazmatik şəbəkədə (ER) baş verir (Şəkil 14-1, pillə 1). Fəsil 13-də təsvir edilmiş kimi, yeni sintez olunan həllolan və membran zülalları ER daxilində translokasiya olunur, burada onlar öz xüsusi konformasiyalarında bükülərək N-əlaqəli və O-əlaqəli karbohidratları və disulfid əlaqələri kimi kovalent modifikasiyaları alırlar. Yeni sintez olunan zülal ER-də lazım olan xüsusi bükülmədən və ER lümenində düzgün modifikasiyanı aldıqdan sonra, onlar ifrazat yolunun ikinci mərhələsinə: Qolciyə və Qolcidən keçib gedən daşınmaya daxil olurlar.

İfrazat yolunun ikinci mərhələsi aşağıdakı kimi ümumiləşdirilə bilər. ER-də, yük zülalları **anterograde** (irəliyə doğru gedən) nəqliyyat qovucuqları daxilində bükülür (Şəkil 14-1, pillə 2). Bu qovucuqlar biri digəri ilə qovuşaraq yastılaşmış *cis*-Qolci şəbəkəsi və ya *cis*-Qolci **sisternası** (“sisterna” su və ya başqa mayeni saxlamaq üçün qab) adlanan, membranla əhatə olunmuş kompartmenti əmələ gətirirlər. Müəyyən zülallar, xüsusən də ER-də fəaliyyət göstərən zülallar *cis*-Qolci sisternadan çıxarıla **retrograd** (geriyə doğru istiqamətlənmiş) nəqliyyat qovucuqları ilə ER-ə qaytarıla bilirlər (pillə 3). Konveyer xəttini xatırladan bir şəkildə, yeni *cis*-Qolci sisterna öz yükü və ya zülalları ilə birlikdə fiziki olaraq *cis* vəziyyətindən (ER yaxınlığında) *trans* vəziyyətinə (ER-dən daha uzaq) keçir, ardıcıl olaraq, əvvəlcə *medial*-Qolci sisternanı sonra isə *trans*-Qolci sisternanı əmələ gətirir (pillə 4). Bu proses **sisterna yetişməsi** kimi məlumdur, əsasən retrograd nəqliyyat

14.3 İfrazat Yolunun İlk Mərhələləri

14.4 İfrazat Yolunun Sonrakı Mərhələləri

14.5 Reseptorlar-Vasitəsi ilə Endositoz

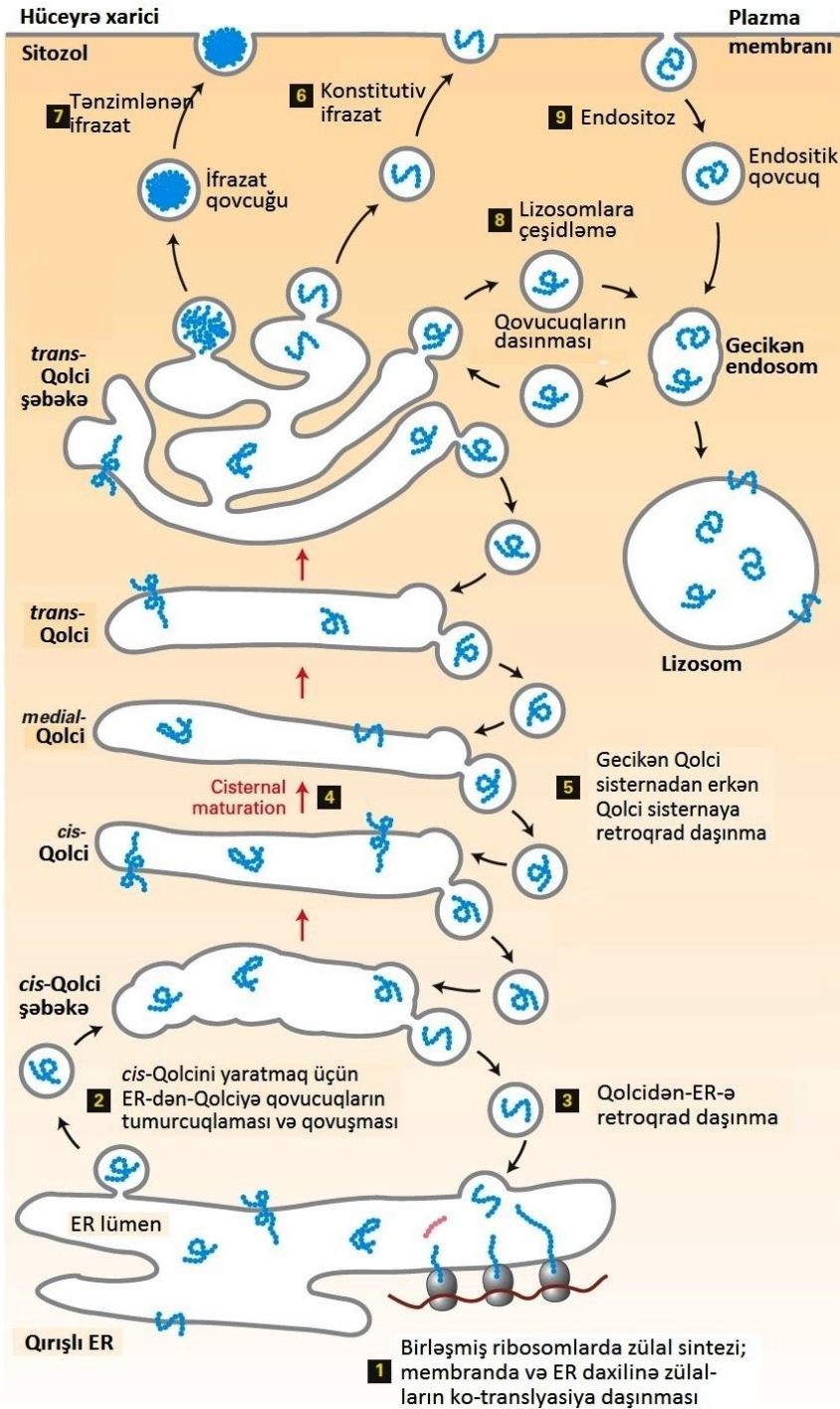
14.6 Membran Zülallarının və Sitozol Materiallarının Lizosomlara Yönləndirilməsi

qovucuqları bura daxildirlər (pillə 5), fermentləri və Qolcidə-yerləşən digər zülalları sonrakı Qolci sisternadan əvvəlkinə qaytarır və beləliklə *cis*-Qolci sisternanı *medial*-Qolci sisternaya və *medial*-Qolci sisternanı *trans*-Qolci sisternaya “yetaşdırir”. İfrazat zülalları Qolcidən keçdikcə, onlara birləşmiş karbohidratlar fərqli Qolci kompartmentində yerləşən spesifik qlikozi transferazalar vasitəsi ilə daha da modifikasiya oluna bilirlər.

İfrazat yolundakı zülallar sonda membranların və qovucuqların əmələ gətirdiyi **trans-Qolci şəbəkə (TGN)** adlanan kompleks şəbəkəyə çatdırılır. *Trans*-Qolci şəbəkə ifrazat yolunun əsas şəxələnmə nöqtəsidir. Bu elə bir nöqtədir ki, zülallar müxtəlif tip qovucuqlara yüklənir və bu yolla müxtəlif təyinat yerlərinə çatdırılırlar. Zülalların hansı tip qovucuqların daxilinə yüklənməsindən asılı olaraq, o ya plazma membranına çatdırılacaq və dərhal ifraz olunacaq, sonra buraxılacaq üçün ehtiyat saxlanılacaq, ya da lizosomlara daşınacaq (pillə 6-8). Qovucuqların plazma membranına gətməsi, onunla qovuşması və tərkibindəkiləri oraya buraxması prosesi **eqzositoz** adlanır. Bütün hüceyrə tiplərində ən azı bəzi zülallar fasiləsiz ifraz olunur (buna ümumilikdə *konstitutiv ifrazat* deyilir), digərləri isə, hüceyrə daxilində o vaxta qədər saxlanılır ki eqzositoz siqnalı onların buraxılmasına səbəb olur. Lizosomlar üçün təyin olunan ifrazat zülalları adətən əvvəlcə qovucuqlarla *trans*-Qolci şəbəkədən **gecikən endosom** adlanan kompartmentə daşınır, sonra zülallar endosomların birbaşa lizosom membranı ilə qovuşması yolu ilə lizosoma ötürülür.

Endositoz mexaniki olaraq ifrazat yoluna aiddir. Endositoz yolunda qovucuqlar plazma membranının daxili tərəfindən tumurcuqlayıb, membran zülallarını və onlara birləşmiş liqandı hüceyrə daxilində gətirir (bax Şəkil 14-1, *sağda*). Endositozla daxilə mənimsənilədikdən sonra, bəzi zülallar gecikən endosomlar vasitəsi ilə lizosomlara daşınır, başqaları isə yenidən istifadə üçün hüceyrə səthinə qaytarılırlar.

Biz bu fəsildə əvvəlcə, ifrazat yolu və endositoz barədə biliklərimizin artırılmasına imkan verən eksperimental metodları müzakirə edəcəyik. Sonra diqqətimizi membran tumurcuqlaması və qovuşmasının əsas mexanizmlərinə yönəldəcəyik. Biz görəcəyik ki, baxmayaraq müxtəlif tipli nəqliyyat qovucuqları onların əmələ gəlməsi və qovuşması üçün müxtəlif zülallar dəstindən istifadə edirlər, bütün bu qovucuqlar tumurcuqlamaq üçün, xüsusi yük molekullarının seçilməsi üçün və müvafiq hədəf membranı ilə qovuşmaq üçün eyni bir ümumi mexanizmdən istifadə edirlər. Bu fəsilin qalan bölmələrində biz ifrazat yolunun ilkin və sonrakı mərhələlərini, o cümlədən müxtəlif son məkanlara hədəf olunmanın spesifikliyinin necə əldə olunmasını müzakirə edirik və zülalların endositoz yolu ilə lizosomlara necə daşınmasının müzakirəsi ilə yekunlaşdırırıq.



ŞƏKİL 14-1 Zülalların çeşidlənməsinin ifrazat və endositoz yolunun ümumi görünüşü. İfrazat yolu: ER siqnal ardıcılığını daşıyan zülalların sintezi qırıqlı ER-da baş verir **1** və yeni yaranmış polipeptid zənciri ER membranına keçirilir və ya membrandan keçərək lümenə daxil olur (Fəsil 13). Bəzi zülallar (məsələn ER fermentləri və ya quruluş zülalları) ER daxilində qalır. Qalanlar ER-dən tumurcuqlayıb ayrılan nəqliyyat qovucuqlarında bükülür **2** və cis-Qolci sisternanı əmələ gətirmək üçün qovuşurlar. Səhv çeşidlənmiş ER-rezident zülalları və yenidən istifadə üçün lazım olan qovucuq membran zülalları qovucuqlarla ER-ə qaytarılır **3**, cis-Qolcidən tumurcuqlayıb və ER ilə qovuşurlar. Hər bir cis-Qolci sisterna öz saxladığı zülal tərkibi ilə birlikdə fiziki olaraq sisternal yetişmə adlanan qeyri qovucuq yolu ilə Qolci kompleksinin cis üzündən trans üçün **4** keçir. Retrograd nəqliyyat qovucuqları **5** Qolci-rezident zülallarını xüsusi kompartmətə keçirir. Bütün hüceyrələrdə, müəyyən həllolan zülallar nəqliyyat qovucuqlarında hüceyrə səthinə keçir **6** və fasiləsiz şəkildə ifraz olunurlar (*konstitutiv ifrazat*). Bəzi hüceyrə tiplərində, bəzi həllolan zülallar ifrazat qovucuqlarında saxlanılır **7** və yalnız hüceyrə müvafiq neyronal və ya hormonal siqnalı aldıqdan sonra buraxılır (*tənzimlənən ifrazat*). Trans-Qolcidən tumurcuqlayaraq ayrılan qovucuqlarda daşıyan Lizosom-təyinatlı membran və ya həllolan zülallar **8**, əvvəlcə gecikən endosoma sonra isə lizosoma keçirlər. *Endosistik yol*: Plazma membranından tumurcuqlayaraq ayrılan qovucuqlar tərəfindən götürülmüş membran və həllolan hüceyrəxarici zülallar **9** endosomlar vasitəsi ilə lizosomlara keçə bilirlər.

14.1 İfrazat Yollarını Öyrənməyin Metodları

Zülalların ifrazat yolu ilə orqanoidlərdən keçərək necə daşınması barədə anlayışların açarı nəqliyyat qovucuqlarının əsas funksiyasının təsvirini inkişaf etdirmək olmuşdur. Nəqliyyat qovucuqlarının yaranması və qovuşması üçün tələb olunan çox komponentlər, bu fəsildə təsvir edilən genetik və biokimyəvi yanaşmaların əhəmiyyətli dərəcədə birləşməsi ilə aşkar edilmişdir. Zülalların hüceyrədaxili daşınmaları ilə bağlı olan

bütün tədqiqatlar verilmiş bir zülalın bir kompartmətdən digərinə daşınmasını yoxlamaq üçün müəyyən bir metoddan istifadə edir. Biz hüceyrədaxili zülal daşınmasının canlı hüceyrə daxilində necə baş verməsinin təsvirindən başlayırıq, və sonra ifrazat yolunun izah olunmasında faydalı olan genetik və in vitro sistemlərə baxırıq.

İfrazat Yolu ilə Zülalların Daşınması Canlı Hüceyrələrdə Yoxlanıla Bilər

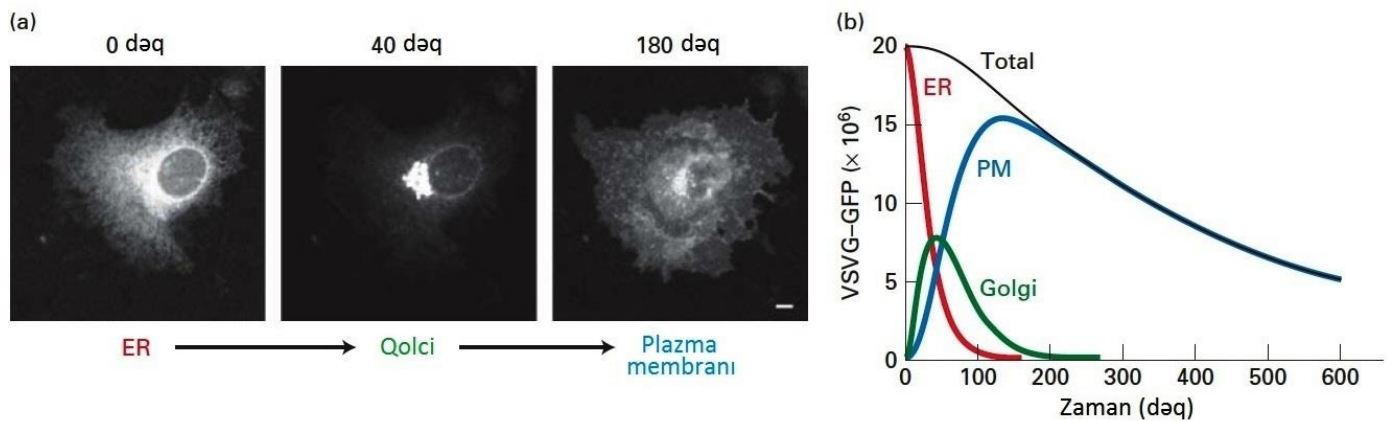
G. Palade və onun əməkdaşlarının klassik tədqiqatları 1960-cı illərdə ilk dəfə zülalların ifrazat yolunda bir orqanoiddən başqasına keçməsi yolunun ardıcılığını təyin etdi. Bu ilk tədqiqatlar həmçinin göstərdi ki, ifrazat zülalları heç vaxt sitozola buraxılmır, bu nəqliyyat zülallarının həmişə membranla-birləşmiş intermediatla (aralıq vasitəçi ilə) əlaqədə olması barədə ilk göstərici idi. Puls-izləmə yarlıqlaması (bax Şəkil 3-42) ilə avtoradiografiyanın kombinasiyasından ibarət olan bu eksperimentlərdə radioaktiv nişanlanmış amin turşuları daşıyanlarının mədəaltı vəzisinə inyeksiya edilmişdir. İnyeksiyadan sonra müxtəlif zaman müddətlərində heyvanlar kəsilmiş və mədəaltı vəz hüceyrələri dərhal qlutaraldehydlə fiksasiya olunaraq kəsiklərə ayrılmış və radionişanlanmış zülalların vizuallaşdırılması üçün avtoradiografiya istifadə edilmişdir. Radioaktiv amin turşuları qısa pulslarla verildiyindən, yalnız nişanlanmış amin turşuları inyeksiya olunan andan dərhal sonra sintez olunan zülallar radioaktiv nişanlanmışdır, əmələ gələn nişanlanmış zülalların fərqli qruplarının daşınması izlənilə bildi. Bundan başqa, mədəaltı asinar hüceyrələr ifrazat hüceyrələrinə aid olduqlarından demək olar ki, bu hüceyrələrdə olan bütün nişanlanmış amin turşuları ifrazat zülalları ilə birləşmişlər və daşınan zülalların müşahidə edilməsinə imkan yaratmışlar.

Baxmayaraq ki, bugün hüceyrə daxilində zülalların yerinin təyin olunmasında avtoradiografiya çox az istifadə olunur, amma bu eksperimentlər zülalların kompartmentlərarası daşınmasının istənilən sınağı üçün iki əsas tələbi işıqlandırır. Birincisi, zülallar qrupunu kompartmentin erkən dövründə nişanlamaq lazımdır ki, onların sonrakı kompartmentlərə daşınması izlənilə bilsin. İkincisi, nişanlanmış zülalların məskunlaşdığı kompartmenti identifikasiya etmək üçün yol

tapmaq lazımdır. Biz burada, demək olar ki, istənilən tip hüceyrədə ifrazat zülallarının hüceyrədaxili hərəkətini izləmək üçün iki müasir eksperimental üsulu təsvir edirik.

Hər iki üsulla, vazikulyar stomatit virusunun (VSV) zəngin membran qlikozülalını (G zülalı) kodlaşdıran gen məməlilərin kultura olunan hüceyrələrinə ya transfeksiya yolu ilə ya da sadəcə olaraq hüceyrələri bu virusa yoluxdurmaqla keçirilir. İşlənmiş hüceyrələr, hətta ifrazat üçün ixtisaslaşmayanlar ER-də hüceyrənin normal ifrazat zülalları kimi, sürətlə VSV G zülalını sintez etməyə başlayırlar. Temperatura-həssas VSV G zülalını kodlaşdıran mutantdan istifadə etmək tədqiqatçılara imkan verdi ki, zülalların müvafiq daşınmasını işə sala və ya dayandıra bilsinlər. 40 °C məhdudlaşdırıcı temperaturda yeni yaradılmış VSV G zülalı düzgün bükülmür, ona görə də, Fəsil 13-də təsvir edilən keyfiyyət-nəzarəti mexanizmləri sayəsində ER daxilində qalır, halbuki 32 °C yol verilən temperaturda zülal normal bükülür və ifrazat yolu ilə hüceyrə səthinə daşınır. Qeyd etmək vacibdir ki, temperatura-həssas VSV G zülalının düzgün bükülməməsi geriye dönəndir, ona görə də hüceyrələr 40 °C-də çoxalarkən mutant VSV G zülalını sintez edəndə və sonra onlar 32 °C keçiriləndə ER-də toplanan düzgün bükülməmiş VSV G zülalı yenidən büküləcək və normal daşınacaq. Zülal qrupunu müdafiə etmək baxımından temperatura-həssas mutasiyanın belə məharətli istifadə olunması ilə sonrakı daşınma izlənilə bilər.

Bu əsas prosesin iki variasiyasında VSV G zülalının daşınmasına müxtəlif metodlarla nəzarət edilir. Bu iki müasir nəqliyyat (**trafficking**) sınağı, əvvəllər Palladin apardığı eksperimentlər kimi, eyni nəticəyə gldi: məməlilərin hüceyrələrində zülal molekullarının qovucu vasitəsi ilə nəqliyyatı onların sintez olunduqları nahiyədən plazma membranına qədər 30 dəqiqədən 60 dəqiqəyə qədər müddətə baş verir.



EKSPERİMENTA ŞƏKİL 14-2 İfrazat yolu ilə zülal daşınması GFP yarlıqlanmış membran zülalını istehsal edən hüceyrənin fluoressent mikroskopiyası yolu ilə vizuallaşdırıla bilər. Kultura olunan hüceyrələr virusun membran qlikozülalını VSV G zülalını kodlaşdıran genlə yaşıl fluoressent zülalı (GFP) kodlaşdıran genin hibridi olan genlə transfeksiya olundular. Virus geninin elə mutant versiyası istifadə olundu ki, yeni istehsal olunmuş hibrid zülal (VSVG-GFP) 40 °C-də ER-də qalır, amma 32 °C-də daşınmaq üçün buraxılır. (a) Hüceyrələrin bir dəfə dərhal aşağı temperatura keçirilənə qədər və iki dəfə keçirildikdən sonrakı fluoressent mikrofotusu. VSVG-GFP-nin

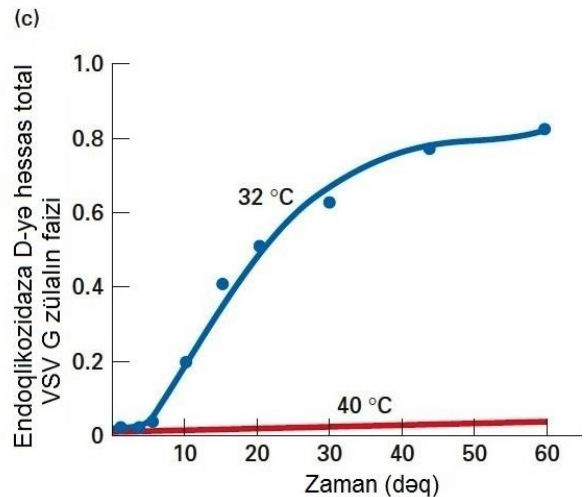
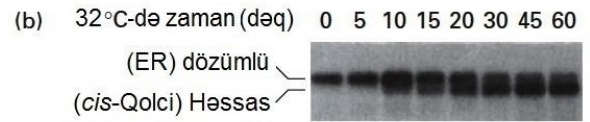
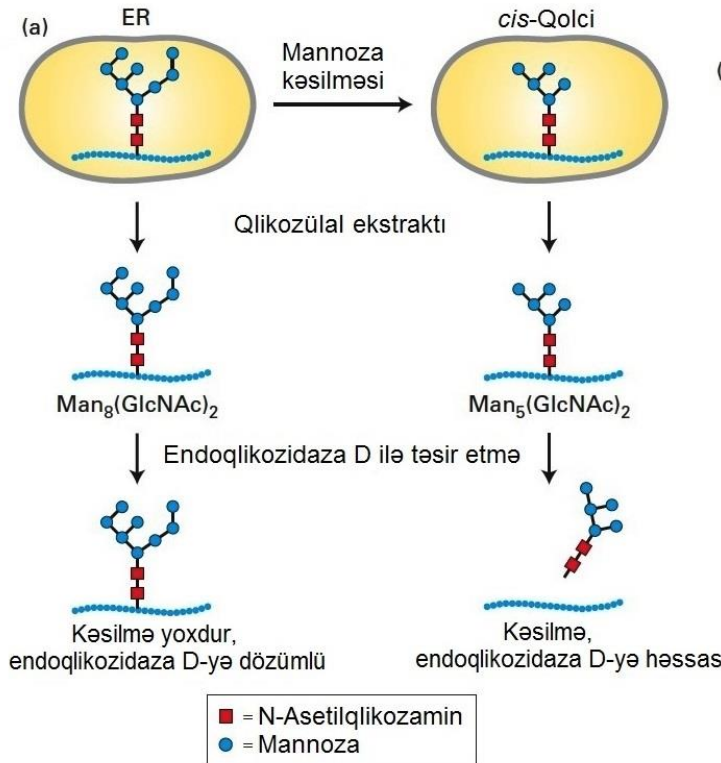
ER-dən Qolciyə və sonra hüceyrə səthinə keçməsi 180 dəqiqə müddətində baş verir. Miqyas barı 5 µm-dir. (b) Aşağı temperatura keçirildikdən sonra müxtəlif zamanlarda Endoplazmatik şəbəkədə (ER), Qolcidə və plazma membranında (PM) VSVG-GFP səviyyəsinin qrafiki. Bir orqanoiddən başqasına daşınmanın kinetikasi bu nəticələrin kompüter analizləri ilə qurula bilər. Ümumi fluoressensiyanın sonrakı zamanda azalması yəqin ki, GFP-fluoressensiyasının zəif fəalsızlaşması nəticəsində baş verir. [Jennifer Lippincott-Scwartz and Koret-Hirschberg, Metabolism Branch, National Institute of Child Health and Human development.]

GFP-Nişanlanmış VSV G Zülalının Mikroskopiyası VSV G zülalın daşınmasının müşahidə olunması üçün bir yanaşmada təbii fluorescent zülal olan *yaşıl fluorescent zülal* (*GFR*) kodlaşdırın genin qovşaq olunduğu hibrid genlərdən istifadə edilir (Fəsil 4). Fəsil 6-də təsvir olunan metodla hibrid gen kultura olunan hüceyrələrə keçirilir. Hibrid zülalın temperatura-həssas formasını (VSVG-GFP) ekspresiya edən hüceyrələr məhdudlaşdırıcı temperaturda artırıldıqda VSVG-GFP ER-də toplanır və hüceyrələr fluorescent mikroskopu altında müşahidə edilərkən membranların krujevalı şəbəkəsi kimi görünür. Sonra hüceyrələr yolverilən temperatura keçiriləndə VSVG-GFP-nin əvvəlcə nüvə yaxnlığında sıx şəkildə cəmlənmiş Qolci aparatının membranına və sonra da hüceyrə səthinə keçdiyini görmək olur (Şəkil 14-2a). Hüceyrəni yolverilən temperatura keçirdikdən sonra müxtəlif zaman müddətində VSVG-GFP paylanması müşahidə etməklə tədqiqatçılar VSVG-GFP-nin ifrazat yolunda olan hər bir orqanoiddə hansı zaman müddətində məskunlaşdığını təyin etdilər (Şəkil 14-2b).

Kompartiment-Spesifik Oligosaxarid Modifikasiyaların Təyini İfrazat zülallarını izləməyin ikinci yolu, ifrazat yolunun müxtəlif mərhələlərində onlarda meydana gələn karbohidrat yan zəncirlərinin modifikasiyalarından istifadə olunmasıdır. Bu yanaşmanı anlamaq üçün xatırladaq ki, ER-dən çıxan çox reseptor zülalları bir və ya daha artır nüsxədə, ER-də sintez olunaraq ifrazat zülallarına qoşulan N-əlaqəli oligosaxarid $\text{Man}_8(\text{GlcNAc})_2$ -ə malik olurlar (bax Şəkil 13-8). Bu fəsilin sonrakı bölmələrində müzakirə olunduğu kimi, zülal Qolci kompleksi ilə hərəkət etdikcə *cis*-, *medial*- və *trans*-Qolci sisternalarında yerləşmiş müxtəlif fermentlər nizamlı ardıcılıqla $\text{Man}_8(\text{GlcNAc})_2$ zəncirinə aparan reaksiyalar sırasını kataliz edirlər. Məsələn, spesifik olaraq *cis*-Qolci kompartimentində

yerləşmiş qlikozidazalar əsas oligosaxariddən mannoza qalıqlarını qoparıb və “budanmış” $\text{Man}_5(\text{GlcNAc})_2$ formasını əmələ gətirir. Alimlər ER-də qalan qlikozillənmiş zülalları *cis*-Qolciyə daxil olanlardan fərqləndirmək üçün endoqlikozidaza D kimi məlum olan xüsusi karbohidrat-kəsən fermentdən istifadə edirlər: budanmış *cis*-Qolci-spesifik oligosaxaridlər endonukleaza D vasitəsi ilə zülaldan kəsildiyi halda, ER daxilində ifrazat zülalında olan özək (budanmayan) oligosaxarid zəncir bu fermentlə kəsilməyə qarşı davamlıdır (Şəkil 14-3a). Endoqlikozidaza D-nin kəsməsi ilə yaranan deqlikozillənmiş zülal SDS gəldə müvafiq qlikozillənmiş zülala nisbətən daha sürətlə hərəkət etdiyindən bu zülallar asanlıqla fərqləndirilə bilirlər (Şəkil 14-3b).

Bu tip sınaq virusla yoluxmuş, radioaktiv amin turşuları ilə puls-nişanlanmış hüceyrələrdə VSV G zülalının hərəkətinin izlənməsində istifadə oluna bilər. Nişanlamadan dərhal sonra, bütün nişanlanmış VSV G zülallar hələ də ER-də yerləşirlər və ayrılma zamanı endoqlikozidaza D ilə doğranmaya qarşı dözümlü olurlar, amma müəyyən zamandan sonra, doğranmaya həssas olan ayrılmış qlikozülal fraksiyasının miqdarı artır. VSV G zülalının endoqlikozidaza D-yə dözümlü formadan endoqlikozidaza D-yə həssas formaya çevrilməsi zülalın qovucuqlarla ER-dən *cis*-Qolciyə daşınmasına tam müvafiqdir. Qeyd edək ki, istər oligosaxarid prosesinin ölçmələrinə, istərsə də VSVG-GFP fluorescent mikroskopiyaya ilə aparılan ölçmələrə görə VSV G zülalın ER-dən Qolciyə daşınması təxminən 30 dəqiqə çəkir (Şəkil 14-3c). Sonra, VSV G zülalın Qolci kompartimentində baş verən spesifik prosesinin Qolci aparatındakı hər bir mərhələsinin ölçülməsinin karbohidrat modifikasiyasına əsaslanan bir sıra müxtəlif sınaqları yaradılaraq inkişaf etdirilmişdir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-3 Membran qlikozülünün ER-dən Qolciyə daşınması endoqlikozidaza D ilə kəsilməyə olan həssaslığına görə yoxlanıla bilər. Temperatura həssas VSV G zülalını ekspresiya edən hüceyrələr yolverilməyən temperaturda pulsla verilmiş radioaktiv amin turşuları ilə nişanlanırlar, beləliklə nişanlanmış zülal ER-də tutulub saxlanılır. Dövrə vaxtlarında 32 °C yolverilən temperatura keçirildikdən sonra, VSV G zülalı hüceyrələrdən ekstraksiya olundu və endoqlikozidaza D ilə kəsildi. (a) Zülallar ER-dən *cis*-Qolciyə keçən kimi daxili (özək) oliqosaxarid $\text{Mans}(\text{GlcNAc})_2$ *cis*-Qolci kompartimentində yerləşən fermentlərlə budanaraq $\text{Mans}(\text{GlcNAc})_2$ -ə çevrilir. Endoqlikozidaza D *cis*-Qolcidə proses olunan zülallardakı oliqosaxarid zəncirini kəsir, amma ER-də olan zülallardakını kəsə bilmir. (b) Doğranmış qatışıqın SDS gel

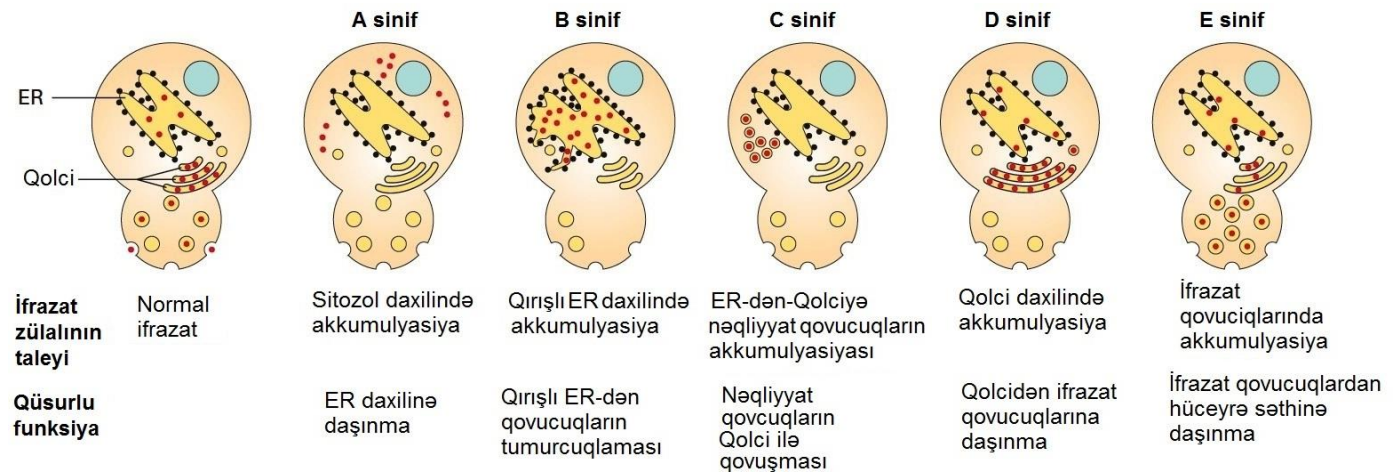
Maya Mutantları Qovucuqlarla Daşınmanın Əsas Mərhələlərini və Çox Komponentlərini Təyin Edir

İfrazat yolunun təşkili və qovucuqlarla daşınma üçün tələb olunan komponentlərin çoxu bütün eukariot hüceyrələrdə oxşardır. Bu cürə konservativliyinə görə, maya ilə aparılan genetik tədqiqatlar ifrazat yolundakı mərhələlərin ardıcılığını təsdiq etmək üçün və qovucuqlarla daşınmada iştirak edən çoxsaylı zülalların təyin edilməsi üçün faydalıdır. Bütün hüceyrələr kimi, maya hüceyrələri üçün də ifrazat yolu yeni zülalları və membranları hüceyrə səthinə daşımaq və çatdırmaq üçün vacibdir. Beləliklə, ifrazat yolunun əhəmiyyətli komponentlərini kodlaşdıran genlər hüceyrənin böyüməsi üçün vacibdir və yalnız Fəsil 8-də müzakirə olunmuş şərti mutantlar kimi öyrənilə bilər. Baxmayaraq ki, maya çoxaldığı mühitə az zülal ifraz edir, amma onlar fasiləsiz şəkildə plazma membranı ilə hüceyrə divarı arasındakı dar sahədə yerləşən çoxsaylı

elektroforezi nişanlanmış VSV G zülalının doğranmamış, davamlı (gəldə daha zəif hərəkət edən) və həssas, kəsilmiş (daha sürətlə hərəkət edən) formalarını ayırır. Elektroforeqramda göstərilirdiyi kimi, ilk əvvəl bütün VSV G zülalları kəsilməyə qarşı davamlı olurlar, amma müəyyən zamandan sonra doğranmış həssas fraksiyalar artır, bu zülalın ER-dən Qolciyə miqrasiya etməsini və proses olunmasını əks etdirir. 40 °C-də saxlanılmış nəzarət hüceyrələrində yalnız yavaş miqrasiya edən kəsilməyə-düzümlü VSV G zülallar 60 dəqiqədən sonra aşkar edilir (göstərilməyib). (c) Elektriforez nəticələrindən alınmış doğranmaya həssas olan VSV G zülalı hissəsinin qrafiki eyni ER→Qolci istiqamətli daşınmanın gedişini göstərir. [C.J. Beckers et al., 1987, Cell 50:523-dən.]

fermentləri ifraz edirlər. Bunlardan ən yaxşı öyrənilən invertaza, disaxarid şəkəri qlükoza və fruktozaya hidroliz edir.

Böyük sayda maya mutantları, əvvəlcə bir temperaturda zülalı ifraz etmək və digər, daha yüksək yolverilməyən temperaturda ifraz edə bilməmək, ingibirləşdirmək qabiliyyətlərinə görə identifikasiya olunmuşlar. Bu temperatura-həssas *ifrazat (sec) mutantlar* aşağı temperaturdan yuxarı temperatura keçirildikdə, onlarda ifrazat yolunun mutasiya ilə blok olunmuş nöqtəsində ifrazat zülalları toplanır. Belə mutantların analizi, sitozolda, qırıqlı ER-də, zülalları ER-dən Qolci kompleksinə aparan kiçik qovucuqlarda, Qolci sisternalarında və ya konstitutiv ifrazat qovucuqlarında zülal akkumulyasiyası ilə xarakterizə olunan beş sinifi (A-E) identifikasiya etdi (Şəkil 14-4). Müxtəlif siniflərdə *sec* mutantların daha sonrakı səciyyənləndirilmələri, sonrakı bölmələrdə müzakirə edəcəyimiz molekulyr mexanizmlərin fundamental komponentlərini izah etməyə kömək etdi.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-4 Maya *sec* mutantlarının fenotipləri ifrazat yolunun beş mərhələsini aşkar etdi. Temperatura-həssas bu mutantlar, hüceyrəni yolverilən temperaturdan yüksək, yolverilməyən temperatura keçirərkən yeni sintez olunmuş ifrazat zülallarının (qırmızı

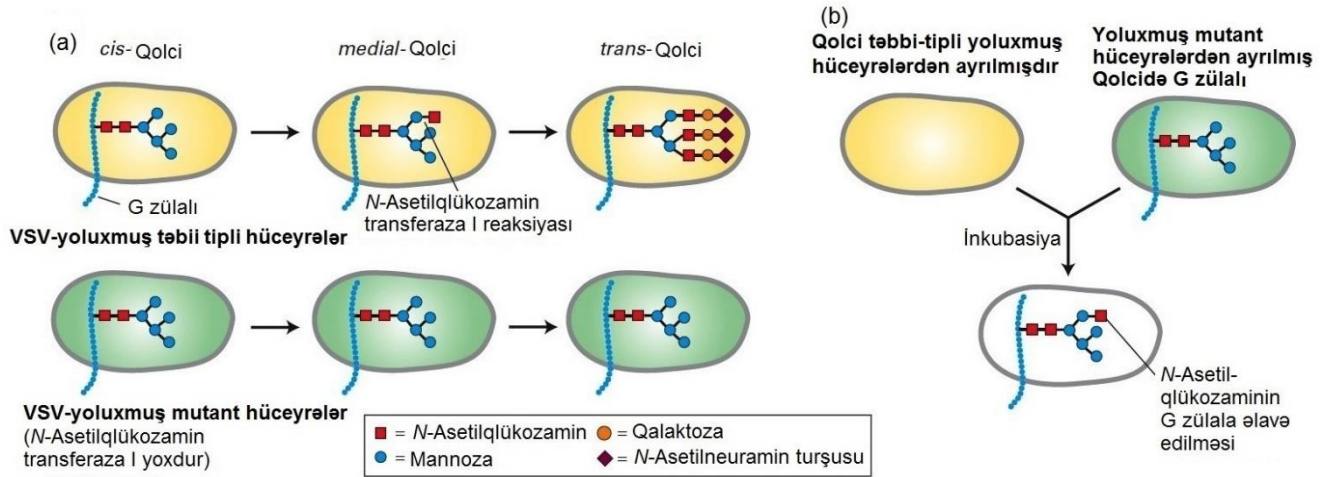
nöqtələr) akkumulyasiya saytlarına əsasən beş sinifdə qruplaşdırıla bilərlər. İkiqat mutantların analizləri təyin edilən mərhələlərin ardıcıl düzümünü təsdiq etdi. [Bax R. Novick et al., 1981, Cell 25:46 və C.A. Kaiser and R. Schekman, 1990, Cell 61:723.]

Bu yoldakı pillələrin ardıcılığını təyin etmək üçün tədqiqatçılar ikiqat *sec* mutantları analiz etilər. Məsələn, maya hüceyrələri həm B sinifinin həm də D sinifinin funksiyasında mutasiya uğradıqda, zülallar Qolci sisternalarında deyil, qırıqlı ER-də toplanırlar. Zülallar blok olunmuş ilkin pillələrdə toplandığından bu nəticələr göstərir ki, B sinif mutasiyalar D

sinif mutasiyalara nisbətən ifrazat yolunun erkən dövründə fəaliyyət göstərməlidir. Bu tədqiqatlar təsdiq etdi ki, ifraz olunan zülallar sintez və ardınca da proses olunan kimi, ardıcıl olaraq sitozoldan qırıqlı ER-ə, ER-dən-Qolci nəqliyyat qovucuqlarına, Qolci sisternaya, ifrazat qovucuqlarına keçir və nəhayət sonda eqzositoz olunurlar.

Bu bölmədə şərh olunan üç metod ifrazat yolunun əsas mərhələlərini təsvir etmiş və qovucuqların tumurcuqlaması və qovuşmasını həyata keçirən zülalların əksəriyyətinin təyin olunmasına kömək etmişdi. Hazırda ifrazat yolundakı hər bir

fərdi pillə mexaniki detalları ilə öyrənilir və bu pillələrin hər birini fərdi zülal molekullarının funksiyası baxımından öyrənmək üçün getdikcə artan biokimyəvi analizlərdən və molekulyar genetik tədqiqatlardan istifadə olunur.



EKSPİMENTAL ŞƏKİL 14-5 Hüceyrəsiz sınaqlar bir Qolci sisternasından digərinə zülal daşınmasını nümayiş etdirir. (a)

Kultura olunan fibroblastların mutant xətləri bu tip sınaqlar üçün çox əhəmiyyətlidir. Bu nümunədə, hüceyrələrin N-asetilqlükozamin transferaza I fermenti yoxdur (Şəkil 14-14, pillə 2). Ferment təbii formalı hüceyrələrdə *medial*-Qolciddə yerləşmişdir və bir N-asetilqlükozamin əlavə etməklə N-əlaqəli oliqosaxaridləri modifikasiya edir. VSV ilə yoluxmuş təbii-formalı hüceyrələrdə virusun G zülalındakı oliqosaxarid, *trans*-Qolci panelində göstərdiyi kimi, tipik kompleks oliqosaxaridə modifikasiya olunur. Amma yoluxmuş mutant hüceyrələrdə, G zülal yalnız iki N-asetilqlükozaminə

və beş mannoza qalığına malik olan, daha sadə yüksək-mannoza oliqosaxarid ilə hüceyrə səthinə çıxır. (b) Yoluxmuş mutant hüceyrələrdən ayrılan Qolci sisterna yoluxmamış normal hüceyrələrdən ayrılan Qolci sisterna ilə inkubasiya olunduqda in vitro sithəsal olunan VSV G zülal əlavə N-asetilqlükozaminə malik olur. Bu modifikasiya, reaksiya qatışıqında nəqliyyat qovucuqları vasitəsi ilə təbii formalı *medial*-Qolci sisternadan mutant *cis*-Qolci sisternaya keçirilmiş transferaza fermentləri tərəfindən aparılır. Bax W.E. Balch et al., 1984, *Cell* 39:405 and 525; W.A. Braell et al., 1984, *Cell* 39:511; və J.E. Rathman nd T. Sollner, 1997, *Science* 276:1212.

Hüceyrəsiz Daşınma Sınaqları Qovucuqlarla Daşınmada Fərdi Mərhələləri Ayırmağa İmkan verir

Hüceyrədaxili qovucuqlarla daşınmalara cavab verən hüceyrə komponentlərinin identifikasiyası və analizləri üçün kompartimentlərarası daşınmanın in vitro sınaqları maya *sec* mutantları ilə tədqiqatların aparılmasında güclü komplementar yanaşmadır. Bu yanaşmanın bir istifadəsində, Qolciddə N-əlaqəli oliqosaxarid zəncirini modifikasiya edən fermentlərin birindən məhrum olmuş, kultura olunan mutant hüceyrələr vezikulyar stomatit virusla (VSV) yoluxdurulmuş və VSV G zülalın taleyi izlənilmişdir. Məsələn, əgər yoluxmuş hüceyrələr N-asetilqlükozamin transferaza I-dən məhrum olmuşsa, onlar böyük miqdarda VSV G zülalı istehsal edirlər, amma onlar təbii formalı hüceyrələr kimi *medial*-Qolciddə oliqosaxarid zəncirə N-asetilqlükozamin əlavə edə bilmirlər (Şəkil 14-5a). Belə mutant hüceyrələrdən ayrılmış Qolci membranları təbii formalı yoluxdurulmamış hüceyrələrdən ayrılmış Qolci membranı ilə qarışdırılarda N-asetilqlükozaminin VSV G zülalına əlavə edilməsi bərpa olunur (Şəkil 14-5b). Bu modifikasiya, N-asetilqlükozamin transferaza I-in qovucuqlar vasitəsi ilə təbii formalı *medial*-Qolciddən virusla yoluxmuş mutant hüceyrələrdən ayrılmış *cis*-Qolciyə nəql olunmasının nəticəsidir. Bu hüceyrəsiz sistemlərdə uğurlu kompartimentlərarası nəqliyyat, sitozol ekstraktı, kimyəvi

enerjinin ATP və GTP formasında mənbələri və fizioloji temperaturalarda inkubasiya kimi normal fizioloji proseslər üçün olan tələblərdən asılıdır.

Bundan başqa, müvafiq şərait altında N-asetilqlükozamin transferaza I-i *medial*-Qolciddən *cis*-Qolciyə keçirən nəqliyyat qovucuqlarının birformalı populyasiyası donor təbii-forma-tipli Qolci membranlarından sentrifugalama yolu ilə ayrılaraq təmizləyə bilər. Bu qovucuqlar daxilində toplanmış zəngin zülalları yoxlamaqla, alimlər çox sayda inteqral membran zülallarını və bu tip periferial qovucuqların quruluş komponenti olan qovucuq örtük zülallarını identifikasiya edə bildilər. Bundan başqa, hüceyrəsiz reaksiya qatışıqında nəqliyyat üçün tələb olunan sitozol ekstraktının fraksiyalara ayrılması, nəqliyyat qovucuqlarının əmələ gəlməsi üçün tələb olunan müxtəlif zülalların və qovucuqların müvafiq akseptor membrana hədəf olunması və qovuşması üçün tələb olunan zülalların ayrılmasına imkan verdi. Şəkil 14-5-də göstərilənə oxşar olan ümumi dizaynda olduğu kimi, in vitro sınaqlar ifrazat yolunda müxtəlif nəqliyyat pillələrini öyrənmək üçün istifadə olunmuşdur.

14.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

İfrazat Yolunu Öyrənmək Üçün Metodlar

- Canlı hüceyrələrdə zülalların ifrazat yolu ilə hərəkətini izləmək üçün aparılan bütün sınaqlar ifrazat zülalları qrupunun nişanlanması yolunu və nişanlanmış zülalların yerləşdiyi kompartimentlərin identifikasiyası yolunu tələb edirlər.
- Radioaktiv amin turşuları ilə puls nişanlanma yeni istehsal olunmuş zülallar qrupunu ER-də xüsusi olaraq nişanlaya bilər. Alternativ olaraq, yolverilməyən temperaturda natamam büküldüyünə görə ER-də qalan temperatura-həssas mutant zülal hüceyrə yolverilən temperatura keçiriləndə nəql olunmaq üçün qrup şəkilində azad olunacaq.
- Fluoresent nişanlanmış zülalların ifrazat yolu ilə daşınması mikroskopiya vasitəsi ilə müşahidə oluna bilər (Şəkil 14-2). Radionişanlanmış zülalların daşınması adətən zülalın kompartiment-spesifik kovalent modifikasiyalarını aparmaq vasitəsi ilə izlənilir.
- Zülalların hüceyrədaxili daşınması üçün tələb olunan komponentlərin çoxu, mayada yolverilməyən temperaturda ifrazat üçün qüsurlu olan zülalları əmələ gətirən temperatura-həssas *sec* mutantların analiz olunması ilə identifikasiya olunmuşdur (bax Şəkil 14-5).
- Kompartimentlərarası zülal daşınmasının hüceyrəsiz sınaqları, ifrazat yolunun fərdi pillələrinin biokimyəvi təhlilinə imkan verdi. Bu cürə *in vitro* reaksiyalar nəqliyyat qovucuqlarını yaratmaq üçün və hər bir fərdi nəqliyyat zülalının biokimyəvi funksiyasını yoxlamaq üçün istifadə oluna bilər.

14.2 Qovucuqların Tumurcuqlaması və Qovuşmasının Molekulyar Mexanizmləri

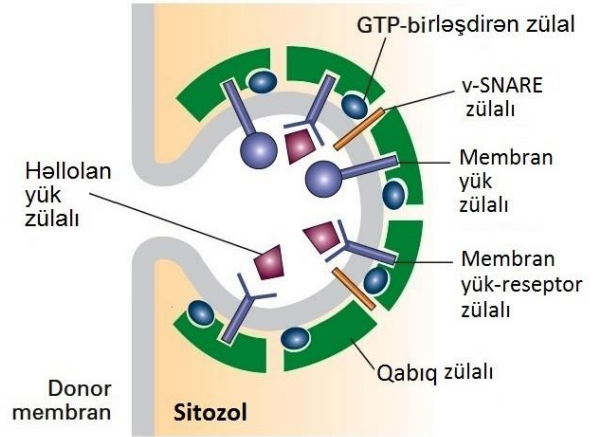
Zülalları bir orqanoiddən digərinə nəql edən membrana-birləşmiş kiçik qovucuqlar ifrazat və endositoz yollarının ümumi elementləridirlər (bax Şəkil 14-1). Bu qovucuqlar xüsusi “valideyin” (*donor orqanoidin* membranından tumurcuqlayır və “hədəf” (*təyinat*) *orqanoidin* membranı ilə qovuşur. Baxmayaraq ki, ifrazat və endositoz yollarının hər bir pilləsində müxtəlif tipli qovucuqlardan istifadə edilir, genetik və biokimyəvi metodlardan istifadə edilərək aparılan tədqiqatlar aşkar etdi ki, hər bir fərqli qovucuqla daşınma pillələri ümumi bir məqsədin sadə bir variasiyasıdır. Bu bölmədə biz, hər bir yol üçün unikal olan detalları müzakirə etməzdən öncə qovucuq tumurcuqlamasının və ümumi oxşarlığa malik olan bütün bu qovucuq tiplərinin qovuşmasının əsasında duran əsas mexanizmləri araşdırırıq.

Zülal Qabığının Toplanması Qovucuq Formalaşmasını və Yük Molekullarının Seçilməsini İdarə Edir

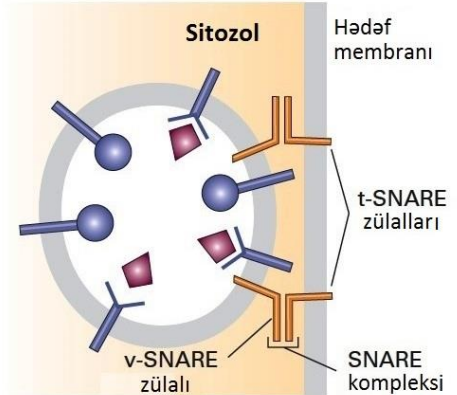
Qovucuqların öz valideyin membranından tumurcuqlaması həll olan zülal komplekslərinin qovucuq zülal qabığını əmələ gətirmək üçün membran üzərində polimerləşməsi ilə idarə olunur (Şəkil 14-6a). İnteqral membran zülallarının sitozol hissəsi ilə qovucuq qabığı arasındakı qarşılıqlı əlaqə müvafiq yük zülallarını formalaşmaqda olan qovucuq daxilinə toplayır. Beləliklə, qovucuqları əmələ gətirmək üçün qabıq membrana əyirlik verir və qovucuq daxilinə qəbul edilmək üçün hansı zülalın seçildiyinin təyin edilməsində filtr kimi fəaliyyət göstərir.

Sonda qovucuqların hədəf membranla qovuşmasını həyata keçirən, v-SNARE kimi məlum olan zülallar qovucuq qabığının toplanması zamanı qovucuq membranına daxil olur. Qabıq tamamlanmış qovucuqdan qopub ayrıldıqdan sonra, qovucuq membranına batmış (yüklənmiş) v-SNARE zülalları, qovucuqların yanaşdığı hədəf membranda onlara doğma olan t-SNARE zülalları ilə birləşmək üçün əlçatan olur. Bu qovuşma membranları çox yaxın duruma gətirir və hər iki ikiqatlınn qovuşmasına imkan yaradır (Şəkil 14-6b). Hədəf orqanoiddən asılı olmayaraq bütün nəqliyyat qovucuqları tumurcuqlamaq və qovuşmaq üçün v-SNARE və t-SNARE-lərdən istifadə edirlər.

(a) Qabıqlı qovucuq tumurcuqlaması



(b) Qabıqsız qovucuq qovuşması



ŞƏKİL 14-6 Qovucuqların tumurcuqlaması və hədəf membranla qovuşmasına ümumi baxış. (a) Tumurcuqlama kiçik GTP-birləşdirən zülalın donor membranının bir parçasına səfərbər olunması ilə inisiyasiya olunur. Sonra, sitozolda qabıq zülallarının kompleksi membran yük zülallarının sitozol domeninə birləşir, bunların bir hissəsi həmçinin lümenə həll olan zülalların birləşdiyi reseptor kimi fəaliyyət göstərir, beləliklə lümenal yük zülallarını tumurcuqlayan qovucuq daxilinə səfərbər edir. (b) Azad olduqdan və öz qabığını atdıqdan sonra, qovucuq doğma SNARE zülallarının qarşılıqlı əlaqələrinin daxil olduğu proseslə hədəf membranı ilə qovuşur.

Hər biri fərqli zülal qabığına malik olan və hər biri fərqli zülal subvahidləri dəstəsinin geriye dönmə şəkilində polimerləşməsindən əmələ gələn qabıqlı qovucuqların üç əsas tipi xarakterizə edilmişdir (Cədvəl 14-1). Öz əsas qabıq

zülallarına görə adlandırılmış hər bir tip qovucuq yük zülallarını xüsusi valideyin orqanoidlərdən xüsusi hədəf orqanoidlərinə aparır:

- COPII qovucuqlar zülalları ER-dən Qolciyə aparır.
- COPI qovucuqlar zülalları əsasən Qolci sistemaları arasında və *cis*-Qolcidən geriye ER-ə retroqrad (geriyə) istiqamətdə daşıyır.
- Klatrin qovucuqlar zülalları plazma membranından (hüceyrə səthindən) və *trans*-Qolci şəbəkədən gecikən endosomlara daşıyır.

Cədvəl 14-1 Zülal daşınmasında iştirak edən qabıqlı qovucuqlar

Qovucuq Tipi	Həyata Keçirilən Daşınma Pılləsi	Qabıq Zülalları	Assosasiya da olan GTP-aza
COPII	ER-dən <i>cis</i> -Qolciyə	Sec23/Sec24 və Sec13/Sec31 kompleksləri, Sec16	Sar1
COPI	<i>cis</i> -Qolci-dən ER-ə Sonrakı Qolci sistemadan əvvəlkinə	Yeddi müxtəlif COP subvahidlərinə malik olan koatomerlər	ARF
Klatrin və adaptor zülalları*	<i>trans</i> -Qolcidən endosoma	Klatrin + API kompleks	ARF
	<i>trans</i> -Qolcidən endosoma	Klatrin + GGA	ARF
	Plazma membranından endosoma	Klatrin + AP2 kompleks	ARF
	Qolcidən lizosoma, melanosoma və ya trombosit qovucuqlara	AP3 komplekslər	ARF

*Hər bir tip AP kompleksi dörd müxtəlif subvahiddən təşkil olunub. AP3 qovucuqların klatrinə malik olmaları məlum deyildir.

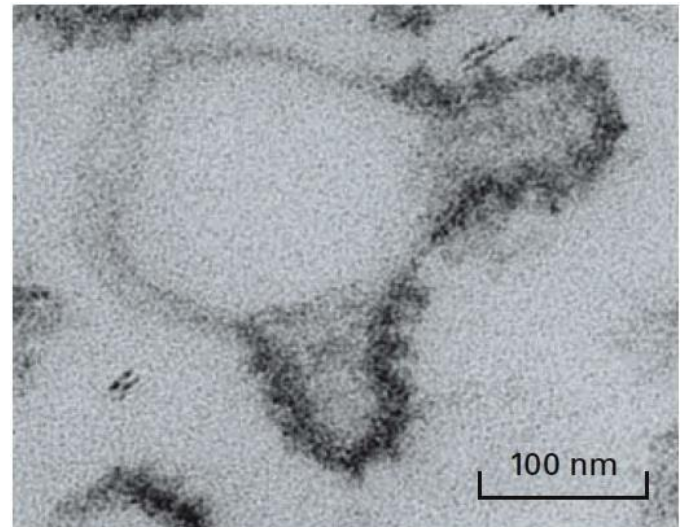
Qovucuq tumurcuqlamasının Şəkil 14-6a-da göstərilmiş əsas sxemi məlum olan üç tip qabıqlı qovucuqların hamısına aiddir. Ayırılmış və ya süni membranlarla və təmizlənmiş qabıq zülalları ilə aparılmış eksperimentlər göstərdi ki, qabıq zülallarının valideyin membranın sitozol üzündə polimerləşməsi membranda, təxminən 50 nm diametrdə olan nəqliyyat qovucuqları üçün tipik olan yüksək əyilmənin əmələ gəlməsi üçün lazımdır. İn vitro tumurcuqlama reaksiyasının elektron mikrofotusu çox zaman, valideyin membranın diskret rayonlarında sıx qabığı əmələ gətirən və tamamlanmış qovucuq üçün xarakterik olan əyilmə ilə müşayiət olunan quruluşları aşkar edir (Şəkil 14-7). Adətən *qovucuq tumurcuqları* adlanan belə quruluşlar, qabıq zülalları polimerləşməyə başladıqdan sonra, amma tamamlanmış qovucuqlar valideyin membrandan qopub ayrılmamışdan öncə görünən intermediatlardır. Guman olunur ki, polimerləşmiş qabıq zülalları, membranın sitozol üzünə yapışaraq qovucuq tumurcuqlarının əmələ gəlməsini həyata keçirən əyilmiş torlu qəfəsi əmələ gətirir.

GTP-aza Keçirici Zülalların Konservativ Dəsti Müxtəlif Qovucuq Qabıqlarının Toplanması Nəzarət Edir

Ayırılmış membranlarla və təmizlənmiş qabıq zülalları ilə aparılmış in vitro qovucuq-tumurcuqlama reaksiyalarına əsasən alimlər üç əsas tip qovucuğun hər birinin əmələ gəlməsi üçün tələb olunan qabıq komponentlərinin minimum dəstini təyin etdilər. Qabıq zülallarının əksəriyyətinin bu və digər qovucuq tiplərində kifayət qədər fərqlənməsinə baxmayaraq, bütün bu qovucuqların hamısının qabığı, qabığın toplanmasına nəzarət edən tənzimləyici subvahid kimi fəaliyyət göstərən kiçik GTP-birləşdirən zülallara malikdirlər (bax Şəkil 14-6a). *ARF zülal*

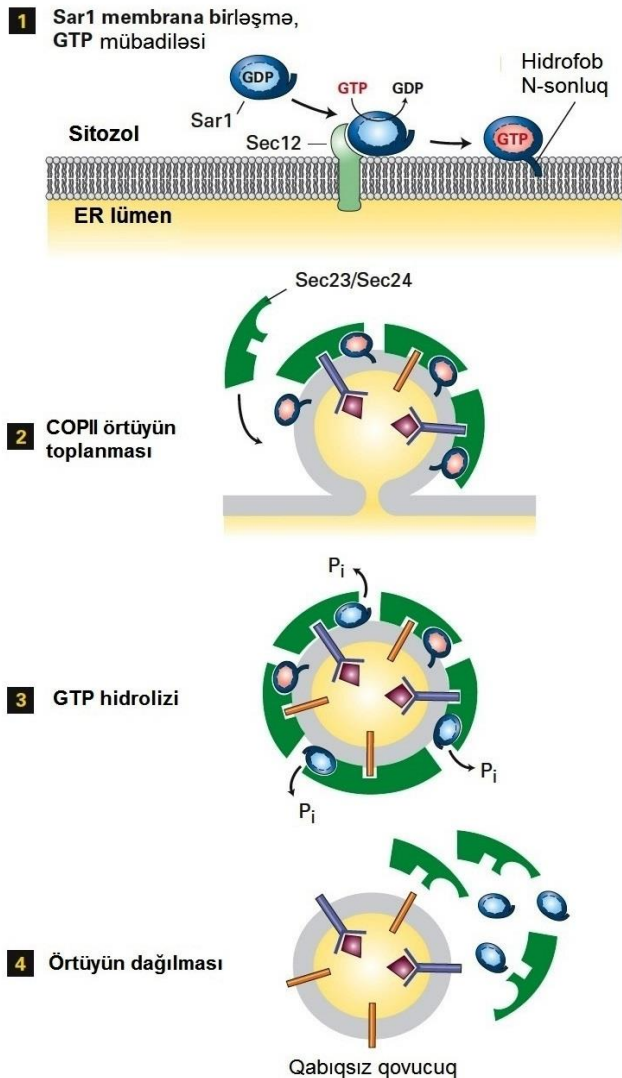
Guman olunur ki, hər bir qovucuq-vasitəsilə daşınma pılləsi müəyyən tip qovucuq qabığından istifadə edir, amma hər bir tip qovucuq üçün xüsusi qabıq zülal kompleksi identifikasiya olunmamışdır. Məsələn, zülalları *trans*-Qolcidən plazma membranına aparən qovucuqlar istər konstitutiv istərsə də tənzimlənən ifrazat yolu zamanı vahid ölçü və morfologiyasını nümayiş etdirirlər, bu da göstərir ki, onların yaranması adi qabıq quruluşunun toplanması ilə idarə olunur, hətə də tədqiqatçılar bu qovucuqları əhatə edən spesifik qabıq zülallarını identifikasiya etməyiblər.

kimi məlum olan GTP-birləşdirən zülal həm COPII həm də klatrin qovucuqlarda bu rolu yerinə yetirir. **Sar 1 zülal** kimi məlum olan fərqli, amma qohum olan GTP-birləşdirən zülal COPII qovucuqların qabığında olur. Həm ARF həm də Sar1 monomer zülallardır və ümumi quruluşuna görə, əsas hüceyrədaxili siqnal ötürən Ras zülala (bax Şəkil 16-19) oxşarırlar. ARF və Sar1 zülalları, Ras zülalı kimi keçirici zülalların **GTP-aza superailəsinə** aid olub GDP-birləşmiş və GTP-birləşmiş formalar arasında dövrə edirlər (GTP-aza “keçirici” zülalların mexanizmini nəzərdən keçirmək üçün Şəkil 3-34 bax).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-7 Qovucuq tumurcuqları in vitro tumurcuqlama reaksiyası zamanı vizuallaşdırıla bilir.

Təmizlənmiş COPII qabıq komponentləri ayrılmış ER qovucuqları ilə və ya süni fosfolipid qovucuqları (liposomlar) ilə inkubasiya olunarkən qabıq zülallarının qovucuq səthində polimerləşməsi yüksək dərəcədə əyilmiş tumurcuqların əmələ gəlməsini induksiya edir. In vivo tumurcuqlama reaksiyasının bu elektron mikrofotosunda, qovucuq tumurcuqlarında olan tünd zülal təbəqəsi kimi görünən fərqli membran qabığına diqqət edin. [Elsevier, razılığı ilə Matsuoka, K. et al., "COPII-coated vesicle formation reconstituted with purified coat proteins and chemically defined liposomes" 1998, *Cell* 93(2):263–275-dən yemnidən çap olunur; Razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]



GTP-nin ARF və Sar1 vasitəsi ilə birləşməsi və hidrolizi tsikli, ehtimal olunur ki, sxematik olaraq, Şəkil 14-8-də təsvir edilmiş COPII qovucuqlarda yığıldığı kimi, qabıq yığılmasının başlanmasına nəzarət edir. Birincisi, Sec12 kimi məlum olan ER membran zülalı GDP-nin sitozol Sar1-GDP-dən buraxılmasını və GTP-nin birləşməsinə kataliz edir. Yəqin ki, bu qanın nukleotidi-mübadiləsi faktoru (GEF) çox ehtimal ki, ER membranında daşınmaya hazır olan yük zülallarının mövcud olması da daxil olmaqla, hələ-də-məlum olmayan çoxsaylı

siqnalları qəbul edir və əlaqələndirir. GTP-nin birləşməsi Sar1-də konformasiya dəyişikliyi əmələ gətirir, onun hidrofob N-sonluğunun üstünü açır, o isə, sonra fosfolipid ikiqatlısına birləşərək Sar1-GTP-ni ER membranına bağlayır (Şəkil 14-8, pillə 1). Membrana-bərkidilmiş Sar1-GTP COPII subvahidlərin sitozol komplekslərinin membran üzərində polimerləşməsinə idarə edir, sonda qovucuq tumurcuqlarının yaranmasına səbəb olur (pillə 2). COPII qovucuqlar donor membrandan azad oldudan sonra Sar1-in GTP-ə fəallığı qovucuq subvahidlərinin birinin köməyi ilə qovucuq membranında Sar1•GTP-ni Sar1•GDP-yə hidroliz edir (pillə 3). Bu hidroliz COPII qabığının dağılmasına səbəb olur (pillə 4). Beləliklə Sar1 GTP-nin birləşməsi və hidrolizi tsikli COPII qabığının əmələ gəlməsi və sonra da dissosiasiyası ilə bağlayır.

ŞƏKİL 14-8 COPII qabığının toplanmasında və dağılmasında Sar1-n rolunu göstərən model. Pillə 1: Həll olan GDP-birləşmiş Sar1-in, ER inteqral membran zülalı mübadilə faktoru Sec12 ilə qarşılıqlı təsiri Sar1-də GTP-nin GDP ilə dəyişməsinə kataliz edir. Sar1-in GTP-birləşmiş formasında onun hidrofob N-sonluğu zülalın səthindən xaricə çıxır (uzanır) və Sar1-i ER membranına lövbər edir. Pillə 2: Membrana yapışmış Sar1 Sec23/Sec24 qabıq zülal kompleksi üçün birləşmə saytı rolunu oynayır. Membran yük zülalları sitozol rayonundakı xüsusi qısa ardıcılıqları (çəşidləmə siqnalı) vasitəsi ilə Sec23/Sec24 kompleksinin saytlarına birləşərək qovucuq tumurcuğunun əmələ gəlməsi üçün səfərbər olunurlar. Bəzi membran yük zülalları, həllolan zülalları lümenə birləşdirməklə reseptor kimi də fəaliyyət göstərir. Qabığının toplanması Sec13 və Sec31-dən ibarət olan (göstərilmir) ikinci tip qabıq kompleksinin toplanması ilə tamamlanır. Pillə 3: Qovucuq qabığı tamamlandıqdan sonra Sec 23 qabıq subvahidi Sar1 vasitəsi ilə GTP hidrolizini təşviq edir. Pillə 4: Sar1-GDP-nin qovucuq membranından buraxılması qabığının pozulmasına səbəb olur. Bax S. Springer et al., 1999, *Cell* 97:145.

ARF zülalı nukleotid mübadiləsinin oxşar tsiklinə və COPI və ya klatrindən və sonra müzakirə olunan başqa qabıq zülallarından (AP kompleksləri) təşkil olunmuş qovucuq qabığının toplanması ilə əlaqəli hidrolizə məruz qalır. ARF zülalın N-sonluğunda miristat lövbər kimi məlum olan kovalent zülal modifikasiyası ARF•GDP-ni Qolci membranı ilə zəif şəkildə bağlayır. Qolci membranına birləşmiş nukleotid mübadiləsi faktoru vasitəsi ilə GTP-nin birləşmiş GDP-ni əvəz etməsi nəticəsində ARF-da əmələ gələn konformasiya dəyişikliyi onun N-sonluq seqmentindəki hidrofob qalıqların membran ikiqatlısına keçməsinə imkan verir. Nəticədə, ARF-GTP-nin membranla əmələ gələn sıx assosiasiyası qabığının daha sonrakı toplanması üçün əsas yaradır.

Sar1 və ARF-ın başqa kiçik GTP-ə keçirici zülallarla quruluş oxşarlığına əsaslanaraq, tədqiqatçılar kultura olunan hüceyrələrə keçirlərkən qovucuqlarla daşınmaya ehtimal olunan təsiri göstərən iki zülalın mutant versiyasını kodlaşdıran genləri yaratdılar. Məsələn, Sar1 və ya ARF-ın GTP-ni hidroliz edə bilməyən mutant formasını ekspressiya edən hüceyrələrdə qovucuq qabığı əmələ gəlir və qovucuq qopub ayrılır. Amma, mutant zülallar qabığının dağılmasına səbəb ola bilmədiyindən, mümkün olan bütün qabıq subvahidləri sonda həmişəlik qabıqlı qovucuqlarla birləşmiş vəziyyətdə qalırlar və hədəf membranla qovuşa bilmirlər. Hidroliz oluna-bilməyən GTP analoqu in vitro qovucuq-tumurcuqlama reaksiyasına əlavə edilməsi də qovucuğun dağılmasına eyni şəkildə mane olur. Belə reaksiya

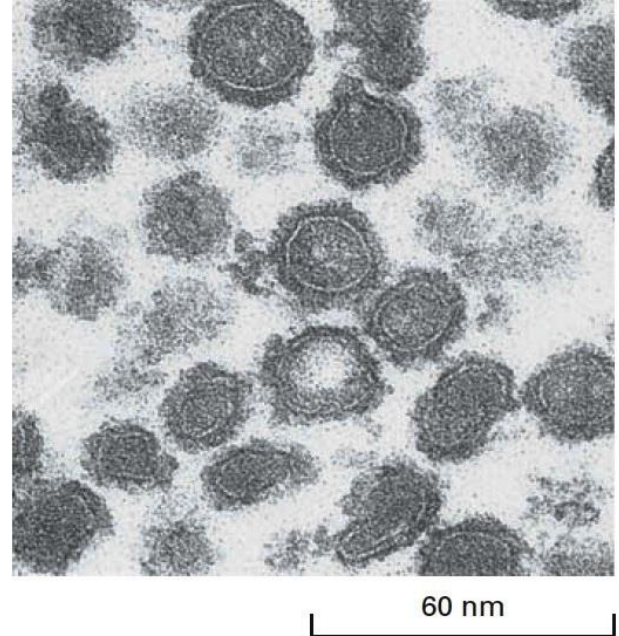
zamanı əməl gələn qovucuq heç zaman dissosasiya etməyən qabığa malik olur və onların quruluşunu və tərkibini asanlıqla analiz etməyə imkan verir. Şəkil 14-9-da göstərilən təmizlənmiş COPI qovucuqlar belə tumurcuqlama reaksiyası ilə yaradılmışdır.

Qovucuqların formalaşmasında kiçik GTP-azaların ikinci əsas funksiyası tamamlanmış qovucuğun valideyin membranından qoparaq ayrılmasıdır. *In vitro* tumurcuqlama eksperimentləri göstərir ki, Sar1 GTP-aza COPII qovucuqların qopub ayrılması üçün tələb olunur və ARF GTP-aza COPI qovucuqların qopub ayrılmasını idarə edir. Bu GTP-azaların membrandan qopub ayrılmasını həyata keçirmək üçün GTP hidrolizindən alınan enerjinin mexaniki qüvvəyə çevirməsi mexanizmi hələ tam anlaşılmamışdır. Bizim 14.4 bölməsində görəcəyimiz kimi, dinamin kimi məlum olan böyük polimer GTP-aza bu rolu klatrinlə-örtülü qovucuqlarda yerinə yetirir.

Yük Zülallarındaki Hədəfləmə Ardıcılığı Qabıq Zülallarla Spesifik Kontakt Əmələ Gətirirlər

Nəqliyyat qovucuqlarının spesifik zülalları bir kompartmentdən növbəti kompartmentə aparması üçün qovucuq tumurcuqları membranlar arasında potensial membran və həllolan yük zülallarını fərqləndirməyi bacarmalı və yalnız növbəti kompartment üçün üstünlüyə malik olan yük zülalını qəbul etməyi və donor kompartmentdə qalmalı olan zülalı istisna etməyi bacarmalıdır. Qovucuq qabığı donor mebranda əyilməni əmələ gətirməkdən başqa, spesifik zülalı yük kimi seçmək fəaliyyətini də nümayiş etdirir. Qovucuq qabığının yük molekullarını seçməsi üçün əsas mexanizm, membran yük zülalının sitoplazmatik hissəsində spesifik ardıcılığa və ya **çəşidləmə siqnalına** birbaşa birləşməsidir (bax Şəkil 14-6a). Beləliklə, ploimerləşmiş qabıq seçilmiş membran yük zülallarının formalaşmaqda olan qovucuq tumurcuğu içərisində klasterini yaratmaq üçün affinlik matrisası kimi fəaliyyət göstərir. Valideyin orqanoidin lümenləri daxilində həllolan zülallar qabıqla birbaşa əlaqədə ola bilmədiyindən onlar fərqli çəşidləmə siqnalının olmasını tələb edirlər. Həllolan lüminal zülallar, çox zaman müəyyən membran yük zülallarının lüminal

domenlərinə birləşmiş **lüminal çəşidləmə siqnalı** kimi anlaşıla bilən ardıcılığa malik olurlar. Membran və həll olan zülallarda məlum olan bir sıra çəşidləmə siqallarının xassəsi Cədvəl 14-2-də ümumiləşdirilmişdir. Biz sonrakı bölmələrdə bu siqalların rolunu daha ətraflı təsvir edəcəyik.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-9 Qabıqlı qovucuqlar GTP-nin hidroliz olunmayan analoqunun iştirakı ilə *in vitro* tumurcuqlama reaksiyası zamanı toplanırlar. Ayrılmış Qolci membranı COPI qabıq zülallarına malik olan sitozol ekstraktı ilə inkubasiya olunanda qovucuqlar tumurcuqlayaraq membrabdan ayrılırlar. GTP-nin hidroliz olunmayan analoqunun tumurcuqlama reaksiyasına daxil edilməsi qovucuq buraxıldıqdan sonra qabığın dağılmasına mane olur. Bu mikrofoto, belə reaksiya zamanı əmələ gələn və sentrifugalama yolu ilə membrandan ayrılmış COPI qovucuqları göstərir. Bu yolla hazırlanmış qabıqlı qovucuqlar, onların komponentlərini və xassələrini təyin etmək üçün analiz oluna bilərlər. [Nəzakətə L. Orcidən (Jeneva Universiteti, İsveçrə).]

CƏDVƏL 14-2 Zülalları Spesifik Nəqliyyat Qovucuğuna Yöndən Məlum Çəşidləmə Siqalları

Siqnal Ardıcılığı*	Siqnal-Daşıyan Zülallar	Siqnalı Zülallar	Siqnal-Reseptorunun birləşdiyi Qovucuq
LÜMINAL ÇƏŞİDLƏMƏ SIQNALLARI			
Lys-Arg-Glu-Leu (KDEL)	ER-də yerləşən həll olan zülal	<i>cis</i> -Qolci membranında KDEL reseptoru	COPI
Mannoza 6-fosfat (M6P)	Həllolan lizosom fermentləri <i>cis</i> -Qolci prosesinqindən sonra İfraz olunan lizosom fermenti	M6P reseptor <i>trans</i> -Qolci membranda M6P reseptor plazma membranda	Klatrin/AP1 Klatrin/AP2
SITOPLAZMATİK ÇƏŞİDLƏMƏ SIQNALLARI			
Lys-Lys-X-X (KKXX)	ER-də olan membran zülalları	COPI α və β subvahidlər	COPI
Di-arginin (X-Arg-Arg-X)	ER-də olan membran zülalları	COPI α və β subvahidlər	COPI
Di-turş (məsələn, Asp-X-Glu)	ER-də yük membran zülalları	COPII sec24 subvahidi	COPII
Asp-Pro-X-Tyr (NPXY)	Plazma membranda LDL reseptor	AP2 kompleks	Klatrin/AP2
Tyr-X-X-Φ (YXXΦ)	<i>trans</i> -Qolcidə membran zülalları Plazma membran zülalları	AP1 (μ1 subvahid) AP2 (μ2 subvahid)	Klatrin/AP1 Klatrin/AP2
Leu-Leu (LL)	Plazma membran zülalları	AP2 komplekslər	Klatrin/AP2

* X = istənilən amin turşusu; Φ = hidrofob amin turşular. Amin turşularının bir hərflili qısaltmaları mətərdə göstərilib.

Rab GTP-aza Qovucuqların Hədəf Membrana Birləşməsinə Nəzarət Edir

Kiçik GTP-birləşdirən zülalların, *Rab zülallar* kimi məlum olan ikinci dəsti nəqliyyat qovucuqları ilə assosasiya edir və qovucuqların daşınmasında və müvafiq hədəf membranı ilə birləşməsində əsas tənzimləyici kimi fəaliyyət göstərir. Sar1 və ARF kimi Rab zülalları da keçirici zülalların GTP-aza superailəsinə daxilirlər. Rab zülalları, onların qovucuq membranına bağlanmasına imkan verən izoprenoid lövbərə də malikdirlər. Fəallaşmış Rab zülalın spesifik qovucuq tipi ilə assosiasiyası əsasən iki-pilləli prosesdir. Birinci pillədə, Rab•GDP müvafiq qovucuğa hədəf olunur və öz izoprenoid lövbərini qovucuq membranına daxil etməklə ona birləşmiş vəziyyət alır. Çox zaman bu birləşmə pilləsi, Rab-GDP və onun adətən qüanin nükleotidi dissosiasiyası inhibitoru (GDI) kimi tanınan izoprenoid lövbəri ilə assosiasiya edən zülal tərəfindən asanlaşdırılır. İkinci pillədə, qovucuq membranında yerləşən spesifik GEF membran birləşmiş Rab•GDP-ni Rab•GTP-yə çevirir. Bu yolda lokalizasiya olunan və fəallaşan Rab-GTP-nin Rab-effektor kimi məlum olan müxtəlif zülallarla birləşməsinə imkan yaranır. Rab-GTP-nin Rab-effektora birləşməsi, sonda qovucuğun müvafiq hədəf membrana yan almasına səbəb olur (Şəkil 14-10a, pillə 1). Qovucuğun qovuşması baş verdikdən sonar, Rab zülala biurləşmiş GTP GDP-yə hidroliz olunur və Rab-GDP buraxılaraq GDP-GTP mübadiləsinin, birləşməsinin və hidrolizinin növbəti tsiklinə keçir.

Qovucuqların düzgün hədəf membranı ilə qovuşmasını mümkün edən Rab zülalının, yaxşı anlaşılan nümunəsi mayanın Sec4 zülalıdır, o ifrazat qovucuqlarını xüsusi olaraq yarlıqlayaraq onların plazma membranı ilə qovuşmasını mümkün edir. Buna uyğun olaraq, mutant Sec4 zülalını ekspressiya edən maya hüceyrələri plazma membranı ilə qovuşa bilməyən ifrazat qovucuqlarını toplayırlar (Şəkil 14-4-də E sinif mutantları). Sec4•GTP ifrazat qovucuqlarına birləşir, orada özü ifrazat qovucuqlarında yerləşən ona doğma olan GEF vasitəsi ilə Sec4•GTP-yə keçərək fəallaşır. Öz növbəsində, Sec4•GTP öz effektoruna, *eqzosist* kimi tanınan səkkiz subvahiddən təşkil olunmuş böyük bağlanma kompleksinə birləşir. İfrazat qovucuqlarının Sec4•GTP birləşməklə eqzositə bağlanması, sonda qovucuğun plazma membranı ilə qovuşmasına səbəb olur.

Məməlilərin hüceyrələrində Rab5 zülalı erkən endosomlar kimi məlum olan endosit qovucuqlarda yerləşir. Bu qabıqsız qovucuqlar, klatrinlə-örtülü qovucuqlar endositoz zamanı plazma membranından tumurcuqlayıb ayrıldıqdan dərhal sonra onlardan əmələ gəlir (bax Şəkil 14-1, pillə 9). Hüceyrəsiz sistemlərdə erkən endosomların bir-biri ilə qovuşması Rab5-in iştirakını tələb edir və hüceyrəsiz ekstraktlara Rab5 və GTP-nin əlavə edilməsi qovucuqların bir-biri ilə qovuşmasını sürətləndirir. Endosom membranında yerləşən, EEA1 (*erkən endosom antigen 1*) kimi məlum olan uzun spirallaşmış zülal Rab5 üçün effektor kimi fəaliyyət göstərir. Guman olunur ki, bu halda, bir endositik qovucuqdakı Rab5•GTP spesifik olaraq başqa bir endositik qovucuğun membranındakı EEA1 ilə birləşir və iki qovucuğun qovuşması mərhələsini yaradır.

Başqa Rab zülallarının effektor kimi motor zülalları vardır. Məsələn, Ypt31, və Ypt32 kimi Rab zülalları Sec4 kimi ifrazat qovucuqları ilə birləşir, amma GTP-birləşmiş fəal vəziyyətində myozin V effektor ifrazat qovucuqlarına səfərbər edilir. Myozin V-in ifrazat qovucuqlarının plazma membrandakı qovuşma

saytına getməsi üçün aktin filamentləri boyunca onun hərəkətini mümkün edir.

Hər bir nəqliyyat qovucuğu tipi bir və ya daha artıq spesifik Rab zülalı ilə nişanlanır. Guman olunur ki, bu Rab zülalları, membran bağlanmaları və molekulyar motorlar olan membran effektorları ilə spesifik assosiasiya etmək vasitəsi ilə qovucuqların düzgün hədəf membranına yönəlməsini təmin edirlər.

SNARE Zülallarının Cütləşmiş Dəsti Qovucuqların Hədəf Membranları ilə Qovuşmasını Həyata Keçirir

Əvvəllər qeyd olunduğu kimi, qovucuq donor membrandan tumurcuqlayıb ayrıldıqdan az sonra, qovucuq qabığı qovucuq-spesifik membran zülalı v-SNARE-nin üstünü açmaq üçün dağılır (bax Şəkil 14-6b). Eyni şəkildə, hüceyrədə hər bir hədəf olunan membran tipi spesifik olaraq v-SNARE ilə əlaqəyə girən t-SNARE membran zülallarına da malikdir. Qovucuqların Rab-vasitəsi ilə öz hədəf membranına yanaşmasından sonra, döğmə SNARE-lərin qarşılıqlı əlaqəsi iki membranı onların qovuşa bilməsi üçün bir-birinə kifayət qədər yaxın gətirir.

SNARE vasitəsilə qovuşmanın ilk yaxşı-anlaşılan nümunələrindən biri ifrazat olunan zülalların eqzositozu zamanı baş verir (bax Şəkil 14-10, pillə 2 və 3). Bu zaman, *VAMP* (qovucuqla assosiasiyada olan membran zülalı) kimi məlum olan v-SNARE ifrazat qovucuğu *trans*-Qolci şəbəkədən ayrılan kimi onun dxilinə inkorporasiya edir. t-SNARE-lər plazma membranında integral membran zülalları olan *sintaksinlər* və hidrofob liqand lövbərlə zülalın ortasında plazma membranına qoşulmuş SNAP-25-lərdir. Bu SNARE zülallarının hər birində sitozol rayonu, dörd α spiralin — biri VAMP-dan, biri sintaxindən və ikisi SNAP-25-dən olan — bir-biri ətrafında burulmağa və dörd-spirallı bükülmüş dəstin yaranmasına imkan verən, təkrarlanan heptad (yeddi) ardıcılığa malikdir (Şəkil 14-10b). Bükülmüş dəsti əmələ gətirən bu SNARE kompleksinin qeyri-adi stabilliyi onlardakı heptad təkrarlarda olan hidrofob və yüklü amin turşuları qalıqlarının düzülüşü ilə verilir. Hidrofob amin turşuları bükümün mərkəzi özəyində basdırılır və əks yüklü amin turşuları spirallar arasında əlverişli elektrostatik əlaqəni yaratmaq üçün düzülənirlər. Dörd spirallı çoxsaylı büküm formalaşan kimi, VAMP-ın və sintaksinin membrana batmış transmembran domenləri qovucuğu və hədəf membranını dərtdə çox sıx əlaqəyə cəlb edir. Dörd-spirallı bağlamaları (*bundles*) energetik cəhətdən əlverişli formalaşması, qovucuqda və hədəf membranlarda ümumiyyətlə mənfi yüklənmiş fosfolipid baş qruplarının elektrostatik itələnməsini aradan qaldıra bilər, iki membranın hidrofob daxili hissələrinin bir-biri ilə əlaqəyə girməsinə, iki membran arasında açıq sahənin yaranmasına imkan verir və nəticədə, qovucuq membranının hədəf membranla qovuşmasına səbəb olur.

In vitro eksperimentlər göstərdi ki, təmizlənmiş VAMP-a malik olan liposomlar sintaksin və SNAP-25-ə malik olan başqa liposomlarla inkubasiya olunanda, iki sinifə aid olan membranlar yavaş da olsa qovuşurlar. Alınan bu nəticə, SNARE kompleksinin yaranması sayəsində əmələ gələn membranların yaxın mövqələrinin membran qovuşmasını həyata keçirmək üçün kifayət etməsi barədə güclü sübutdur. Qovucuqların və hədəf membranın qovuşması hüceyrələrdə, qovuşmanın yalnız SNARE zülallarla kataliz olunduğu liposomlarla olan

eksperimentlərə nisbətən daha sürətlə və səmərəli baş verir. Bu fərqin daha düzgün olan izahı odur ki, hüceyrələrdə Rab zülalları və onların effektorları kimi başqa zülalları qovucuqların düzgün membrana hədəf olunmasında iştirak edirlər.

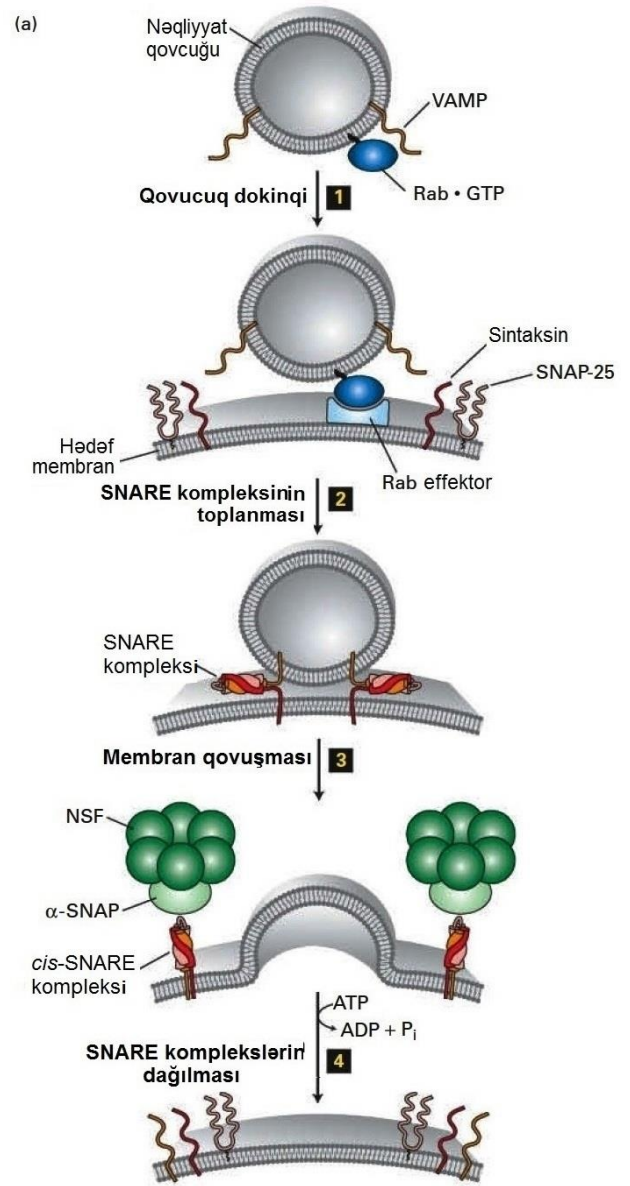
Maya hüceyrələri bütün eukariot hüceyrələr kimi, 20-dən artıq müxtəlif, əlaqəli v-SNARE və t-SNARE zülallarını ekspressiya edirlər. SNARE genlərinin hər birinin qüsurlu olduğu maya mutantlarının analizi, hər bir SNARE zülalının iştirak etdiyi spesifik membran-qovuşma hadisələrini identifikasiya etdi. Yoxlanılmış bütün qovuşma hadisələrində, SNARE-lər ifrazat qovucuqlarının plazma membranı ilə qovuşmasında iştirak edən, VAMP/sintaksin/SNAP-25 kompleksləri kimi, dörd-spirallı bağlardan ibarət kompleksləri əmələ gətirirlər. Amma, başqa bir qovuşma hadisəsində (məsələn, COPII qovucuqların *cis*-Qolci şəbəkə ilə qovuşmasında) iştirak edən hər bir SNARE zülalı bağlanmış dəstə (iki α spiral ilə qoşulan SNAP-25-dən fərqli olaraq) yalnız bir α spiralla qoşulur, bu halda SNARE kompleksləri bir v-SNARE və üç t-SNARE molekullarından təşkil olunurlar.

ŞƏKİL 14-10 Nəqliyyat qovucuqlarının öz hədəf membranlarına yanaşması və qovuşması modeli.

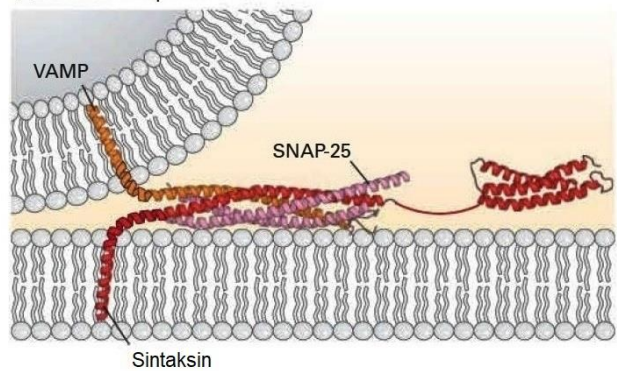
(a) Bu nümunədə göstərilən zülalları ifrazat qovucuqlarının plazma membranına qovuşmasında iştirak edirlər, amma oxşar zülalları bütün qovucuq-qovuşma hadisələrini həyata keçirirlər. Pillo 1: İfrazat qovucuqlarına lipid lövbəri ilə hörülmiş Rab zülalı plazma membranında effektor zülal kompleksinə birləşir, beləliklə nəqliyyat zülalını müvafiq hədəf membrana yaxınlaşdırır. Pillo 2: v-SNARE zülalı (indiki halda VAMP) doğma t-SNARE-lərin (indiki halda sintaksin və SNAP-25) sitozol domeni ilə əlaqəyə girir. Əmələ gəlmiş çox stabil spirallaşmış-spiral SNARE komplekslər qovucuqları hədəf membrana çox yaxın saxlayır. Pillo 3: İki membranın qovuşmasının ardınca dərhal SNARE kompleksləri əmələ gəlir, amma bunun necə baş verməsi hələ dəqiqliklə məlum deyil. Pillo 4: Membran qovuşmasının ardınca, NSF α -SNAP zülalla əlaqədə olaraq SNARE komplekslərinə birləşir. Sonra, ATP-nin NSF-kataliz olunan hidrolizi SNARE komplekslərinin dissosiasiyasına səbəb olur, SNARE zülallarını azad edərək yeni qovucuq qovuşması dövrəsi üçün hazır edir. Həmçinin bu zaman Rab•GTP Rab•GDP-yə hidroliz olunaraq Rab effektordan dissosiasiya edir (göstərilir). (b) SNARE kompleksi. İki SNAP-25-də və sintaksin və VAMP-ın hərəsində biri olan dörd uzun α spiral arasında çoxsaylı qeyri kovalent əlaqələr spirallaşmış-spiral quruluşu stabilləşdirir. Bax J. E. Rothman and T. Söllner, 1997, *Science* 276:1212; Y. A. Chen and R. H. Scheller, 2001, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2:98, və W. Weis and R. Scheller, 1998, *Nature* 395:328. [(b) hissəsi I. Fernandez et al., 1998, *Cell* 94:841-849, PDB ID 1br0, və R. B. Sutton et al., 1998, *Nature* 395:347-353, PDB ID 1sfc.]

In vitro liposom qovuşma sınağından istifadə edərək, tədqiqatçılar donör və hədəf membranların qovuşması üçün fərdi v-SNARE və t-SNARE zülallarının müxtəlif kombinasiyalarının mümkünliyünü yoxladılar. Yoxlanılmış böyük miqdarda müxtəlif kombinasiyaların yalnız çox az miqdarda membran qovuşmasını səmərəli şəkildə həyata keçirə bildi. Bu in vitro eksperimentlərdə aşkar edilmiş v-SNARE-lərin və t-SNARE-lərin funksional kombinasiyaları, maya hüceyrələrində məlum olan membran-qovuşma hadisələrini həyata keçirən əsil SNARE zülal əlaqələrinə əhəmiyyətli dərəcədə uyğun gəlir. Beləliklə, SNARE zülalları arasındakı qarşılıqlı əlaqənin spesifikliyi Rab və Rab-effektor zülalları arasındakı qarşılıqlı əlaqənin

spesifikliyi ilə birlikdə, xüsusi qovucuq tipi ilə onun hədəf membranı arasındakı qovuşmanın spesifikliyinin çoxuna bəlkə də hamısına aid oluna bilər.



(b) SNARE kompleksi



ATP Hidrolizi ilə Aparılan Membran Qovuşmasından Sonra SNARE Komplekslərinin Dissosiasiya Olunması

Qovucuqla onun hədəf membranı qovuşduqdan sonra, SNARE kompleksləri fərdi SNARE zülallarının əlavə qovuşma hadisələrində istifadə edilməsini mümkün etmək üçün dissosiasiya etməlidirlər. Çoxsaylı molekullararası qeyri kovalent əlaqələrlə bir yerdə saxlanılan SNARE komplekslərinin stabilliyinə görə onların dissosiasiyası əlavə zülallardan və enerji daxil olmasından asılıdır.

SNARE komplekslərinin dissosiasiyasının başqa zülalların köməyini tələb etməsi barədə ilk ipuçuları müəyyən sitozol zülallarını sərf etmiş *in vitro* nəqliyyat reaksiyalarından alınmışdır. Bu reaksiyalarda qovucuqların toplanmasının müşahidə olunması göstərdi ki, qovucuqlar yarana bilir, amma hədəf membranla qovuşa bilmirlər. Sonda aşkar olundu ki, *NSF* və α -SNAP kimi adlandırılan iki zülal *in vitro* nəqliyyat reaksiyasında baş verməkdə olan qovucuq qovuşması üçün tələb olunurlar. NSF-in funksiyası *in vivo* selektiv şəkildə N-metilalmeyimidlə (NEM) – NSF-də –SH qrupu ilə reaksiyaya gətirilən kimyəvi maddə (adı da buradan götürülmüşdür, NEM-həssas faktor) ilə blok oluna bilir.

SNARE funksiyası barədə bizim anlayışlarımıza maya mutantları da kömək etdi. C sinif maya *sec* mutantları arasında, məməlilərin müvafiq olaraq NSF və α -SNAP kimi maya oxşarları olan funksional Sec18 və ya Sec17-ə malik olmayan ştammlardır. C sinif mutantlar yolverilməyən temperaturda saxlanıldıqda onlar ER-dən-Qolciyə nəqliyyat qovucuqlarını toplayırlar, hüceyrələr aşağı, yolverilənn temperatura keçirildikdə toplanmış qovucuqlar *cis*-Qolci ilə qovuşma qabiliyyətinə malik olurlar.

NSF və α -SNAP-ı identifikasiya etmək üçün ilkin biokimyəvi və genetik tədqiqatların ardınca, daha təcrübəli və imkanlı *in vitro* nəqliyyat sınaqları yaradılaraq inkişaf etdirilmişdir. Daha yeni olan bu sınıalardan istifadə etməklə, tədqiqatçılar göstərdilər ki, NSF və α -SNAP zülalları aktual membran qovuşması üçün lazım deyillər, əksinə, onlar sərbəst SNARE zülallarının bərpa olunması üçün tələb olunurlar. Eyni subvahidlərin heksameri olan NSF, α -SNAP-ın (həllolan NSF-ə qoşulan zülal) köməyi ilə SNARE kompleksi ilə assosiasiyaya girir. Birləşmiş NSF sonra ATP-ni hidroliz edir SNARE kompleksinin dissosiasiya etməsi üçün kifayət qədər enerjini azad edir (Şəkil 14-10, pillə 4). Şübhəsiz ki, *in vitro* qovuşma sınaqlarında və Sec17 ilə Sec18 itirildikdən sonra maya mutantlarında əvvəllər müşahidə edilən qovucuqların qovuşmasındakı qüsurlar sərbəst SNARE zülallarının sürətlə dissosiasiya olunmayan SNARE kompleksinə keçməsinin və ona görə də membran qovuşmasını həyata keçirə bilməməsinin nəticəsi olmuşdur.

14.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Qovucuqların Tumurcuqlaması və Qovuşmasının Molekulyar Mexanizmləri

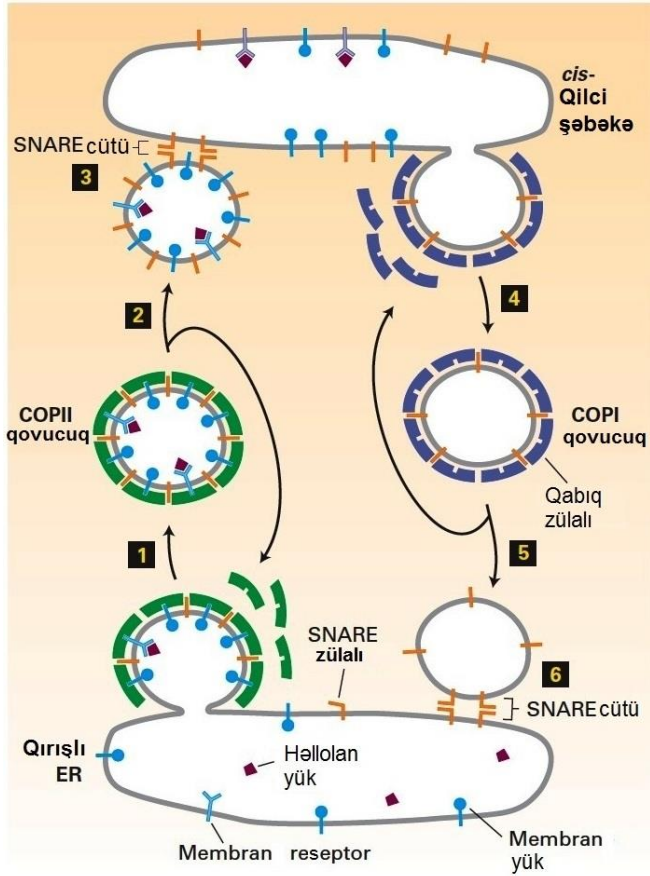
- Üç yaxşı xarakterizə olunmuş nəqliyyat qovucuğu – COPI, COPII və klatrin-örtüklü qovucuqlar onların qabığını əmələ gətirən zülallara görə və onların həyata keçirdikləri nəqliyyat yollarına görə fərqlənirlər (bax Cədvəl 14-1).

- Qabıqlı qovucuqların bütün tipləri, sonda membrandan qoparaq ayrılan və yetkin qovucuqları əmələ gətirən qovucuq tumurcuqlarını yaratmaq üçün sitozol qabıq zülallarının donor (valideyin) membranı üzərində polimerləşməsi nəticəsində yaranırlar. Qovucuq azad olduqdan az sonra, qabıq tökülür qovuşmaq üçün tələb olunan zülallar hədəf membranı ilə qovuşmağa məruz qoyulur (bax Şəkil 14-6).
- GTP-azalar ailəsinə aid olan kiçik GTP birləşdirən zülallar (ARF və ya Sar1), qovucuq tumurcuqlamasının ilkin mərhələsində qabıq zülallarının polimerləşməsinə nəzarət edirlər (bax Şəkil 14-8). Qovucuqlar donor membrandan ayrıldıqdan sonra ARF və ya Sar1-ə birləşmiş GTP-nin hidroliz olunması qovucuq qabığının dağılmasına səbə olur.
- Donor orqanoidlərin membran və lüminal zülallarında spesifik çeşidləmə siqnalları qovucuq tumurcuqlaması zamanı qabıq zülalları ilə əlaqəyə girir və yük zülallarını qovucuqlara səfərbər edir (bax Cədvəl 14-2).
- GTP birləşdirən zülalların ikinci dəsti, Rab zülalları spesifik qovucuq tiplərini nişanlayır və onların müvafiq membrana düzgün hədəf olunmasını tənzimləyir. Qovucuqlarda fəallaşmış Rab•GTP spesifik effektor zülalı ilə birləşə bilir. Effektorun bir tipi sap-şəkilli bağlayıcı zülal və ya qovucuğun hədəf membrana bağlanmasını mümkün edən böyük zülal kompleksidir. Effektorun başqa bir tipi, qovucuqların düzgün təyinat yerinə sitoskelet filamentlər boyu hərəkətini mümkün edən motor zülalıdır.
- Qovucuq membranındakı hər bir v-SNARE hədəf membranında ona doğma olan t-SNARE kompleksi ilə birləşir və iki membranın qovuşmasını induksiya edir. Qovuşma tamamlandıqdan sonra SNARE kompleksi, digər sitozol zülalları vasitəsi ilə ATP-dən asılı olan reaksiya ilə dağılır (bax Şəkil 14-10).

14.3 İfrazat Yolunun İlkin Mərhələləri

Bu bölmədə biz ER və Qolci arasında qovucuqlarla hərəkətə və əvvəlki bölmələrdə müzakirə olunmuş əsas mexanizmləri dəstəkləyən bəzi dəlillərə yaxından baxacağıq. Xatırladaq ki, ER-dən Qolciyə anteroqrad nəqliyyat, ifrazat yolunda qovucuqlarla hərəkətin ilk mərhələsi COPII qovucuqlarla həyata keçirilir. Bu qovucuqlar, Qolcu, hüceyrə səthi və ya liposom təyinatlı yeni sintez olunmuş zülallara və eləcə də qovucuqları *cis*-Qolci membranına hədəf edən SNARE kimi qovucuq komponentlərinə malik olurlar. ER ilə Qolci arasında zülalların düzgün çeşidlənməsi *cis*-Qolcidən ER-ə COPII qovucuqlar vasitəsi ilə həyata keçən retroqrad nəqliyyatı da həmçinin tələb edir (Şəkil 14-11). Bu retroqrad qovucuq nəqliyyatı, ER-dən əlavə qovucuq tumurcuqlamasının yeni dövrəsini materialla təmin etmək üçün, v-SNARE zülallarını və membranın özünün komponentlərini bərpa etmək kimi fəaliyyət göstərir. COPI vasitəsi ilə retroqrad nəqliyyat, həm də düzgün çeşidlənməmiş ER-resident zülalları çeşidləmə səhvini bərpa etmək üçün *cis*-Qolcidən geriye qaytarır.

Biz bu bölmədə *cis*-Qolcidən *trans*-Qolciyə şəbəkəsində Qolcinin ardıcıl kompartimentləri vasitəsi ilə zülalların Qolciyə düzgün çatdırıldığı prosesi də müzakirə edirik. Sisterna yetməsinin bu prosesinə anteroqrad deyil, retroqrad nəqliyyat qovucuqlarının tumurcuqlaması və qovuşması daxildir.



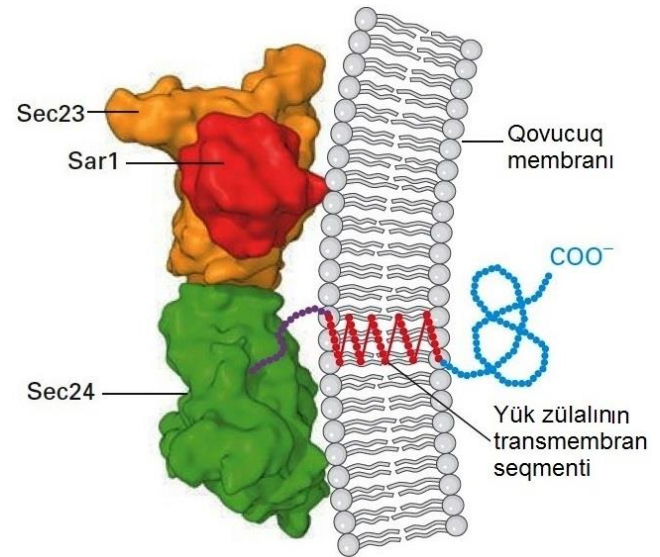
ŞƏKİL 14-11 ER ilə cis-Qolci arasında qovucuqlarla-həyata keçən zülal hərəkəti. Pillə 1-3: İrəliyə (anteroqrad) daşınma, həll olan COPII qabıq zülalı komplekslərinin (yaşıl) ER membranında polimerləşməsi nəticəsində yaranan COPII qovucuqlarla həyata keçir. v-SNARE (narıncı) və digər yük zülalları (mavi) ER membranında qabıq zülallarla əlaqəyə girərək qovucuq daxilinə keçirlər. Həllolan yük zülalları (çəhrayı), tumurcuqlayan qovucuqların membranında müvafiq reseptora birləşməklə səfərbər olunurlar. Qabığın dissosiasiyası sərbəst qabıq komplekslərini təkrar istifadəyə göndərir və qovucuq səthindəki v-SNARE zülallarının üstünü açır. Qabıqsız hala keçmiş qovucuq Rab-vasitəsilə aparılan prosesdə cis-Qolci membranına birləşdikdən sonra açıq vəziyyətdə qalmış v-SNARE ilə Qolci membranında ona doğma olan t-SNARE membranlarının qovuşmasına və qovucuq daxilindəkilərin cis-Qolci daxilinə buraxılmasına imkan verir (bax Şəkil 14-10). Pillə 4-6: COPI zülalları ilə (bənövşəyi) örtülmüş qovucuqlar vasiyyəti ilə geriye (retroqrad) nəqliyyat membran ikiqatlısını və müəyyən zülalları, məsələn v-SNARE-ləri və düzgün çeşidlənməmiş ER-rezident zülalları (göstərilmir) Qolcidən ER-ə qaytarır. Bütün SNARE zülalları narıncı rəngdə göstərilmişdir, hərçənd ki, v-SNARE-lər və t-SNARE-lər fərqli zülallardır.

COPII Qovucuqlar ER-dən Qolciyə Daşınmanı Həyata Keçirirlər

COPII qovucuqlar ilk dəfə mayanın qırıq ER membranlarının hüceyrəsiz ekstraktları sitozol ilə və hidroliz olunmayan GTP analoqu ilə inkubasiya olunduqda aşkar edildi. ER membranlarından əmələ gələn qovucuqlar COPI-dəkinə bənzər olan, amma COPII zülallara aid olan fərqli zülallardan təşkil olunmuş fərqli qabığa malik olurlar. COPII zülalların genlərində

mutasiya olunan maya hüceyrələri B sinif *sec* mutantlardır və zülalları qırıq ER-də toplayırlar (bax Şəkil 14-4). Belə mutantların analizi COPII qovucuqların əmələ gəlməsi üçün tələb olunan zülallar dəstini o cümlədən COPII qovucuq qabığını təşkil edən zülalları aşkar etdi.

Əvvəllər təsvir edildiyi kimi, COPII qovucuqların yaranması, ER membranında olan GEF Sec12-in Sar1-ə birləşmiş GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasını kataliz etməsi ilə başladı. Bu mübadilə, Sec23 və Sec24 zülallar kompleksinin birləşməsinin ardınca Sar1-in ER membranına birləşməsinə induksiya edir (bax Şəkil 14-8). Nəticədə, Sar1•GTP, Sec23 və Sec24 arasında əmələ gələn üçlü kompleksi Şəkil 14-12-də göstərilir. Bu əsas qabıq zülalı kompleksi sonra qabıq kompleksini tamamlamaq üçün Sec13 və Sec31 zülallardan ibarət olan ikinci kompleksin səfərbər olunması üçün birləşmə saytlarını təmin edir. Təmiz Sec13 və Sec31 zülalları spontan şəkildə çərçivəyəbənzər qəfəsdə toplanmağa başlayırsa, guman olunur ki, Sec13 və Sec31 COPII qovucuqlarda quruluş skafoltunu əmələ gətirirlər. Nəhayət, ER membranının sitozol üzünə birləşən, Sec16 adlanan böyük fibrilyar zülal Sar1•GTP ilə və başqa örtük zülallarını təşkil etmək üçün Sec13/31 və Sec23/24 kompleksləri ilə əlaqəyə girir, qabıq polimerləşməsinin səmərəliliyini artırır. Sec13/31 kimi, klatrin də qabığabənzər quruluşda özünü-toplama qabiliyyətinə malikdir, bu 14-4 Bölməsində müzakirə olunacaq.



ŞƏKİL 14-12 Sec23 və Sec24 COPII qabıq zülallarından və Sar1•GTP-dən ibarət olan üçlü kompleksin üç-ölçülü quruluşu.

COPII qabığının əmələ gəlməsinin erkən mərhələlərində, Sec23 (narıncı)/ Sec24 (yaşıl) kompleksi GTP-birləşmiş vəziyyətdə olan Sar1 (qırmızı) vasitəsi ilə ER membranına səfərbər olunur. Quruluş tədqiqatları w, w_n məhlulda stabil üçüncü quruluşu əmələ gətirmək üçün hidroliz oluna bilməyən GTP analoqu GppNHp istifadə olunur. ER membranında, yük zülalının sitozol domenindəki tripeptid di-əsid çeşidləmə signalının (tund qırmızı) Sec24-lə qarşılıqlı əlaqəyə girməsi nəticəsində yük zülalı COPII qovucuqlara səfərbər oluna bilər. COPII qovucuq membranının və yük zülalının transmembran seqmentinin guman olunan yerləşmə vəziyyəti göstərilir. Sar1-in onu membrana tükən N-sonluq seqmenti göstərilir. [Nature razılığı ilə, Bi. X. et al., "Structure of the Sec23/24-Sar1 pre-budding complex of the COPII

vesicle coat”, 2002, *Nature* **419**(6904):217-7-dən yenidən çap olunur; icazə Copyright Clearance Inc. tərəfindən alınmışdır.]

Bəzi inteqral ER membran zülalları Qolciyə daşınmaq üçün xüsusi olaraq COPII qovucuqlara səfərbər olunurlar. Bu zülalların çoxunun sitozol seqmentləri diasid (cüt-turşulu) çeşidləmə siqnalına malikdir (bu ardıcılıqda əsas qalıqlar Asp-X-Glu və ya bir-ışarəli koda görə DXE-dir) (bax cədvəl 14-2). COPII qabığının Sec24 subvahidinə birləşən bu çeşidləmə siqnalı müəyyən membran zülallarının ER-dən selektiv eksport olunması üçün əhəmiyyətlidir (bax Şəkil 14-12). Biokimyəvi və genetik tədqiqatlar membran yük zülalının COPII qovucuqlara yöndəlməsinə kömək edən əlavə siqnalları identifikasiya etdilər. Bütün məlum olan çeşidləmə siqnalları COPII-nin Sec24 subvahidində bu və ya digər sayta birləşirlər. Hal-hazırda davam edən tədqiqatlar həllolan yük zülallarının COPII qovucuqlara necə selektiv yükləndiyini təyin etmək yollarının axtarır. Məsələn, TANGO1 ER membran zülalıdır və eyni zamanda lümenə kollagenə və qabığının Sec24 subvahidinə birləşməklə kollagen üçün reseptor rolunu oynayır.



Sistik fibroz irsi xəstəlik ağ ciyərlərin epitel hüceyrələrində xlorid və natrium ionlarının nəqliyyatında tarazlığın pozulması ilə xarakterizə olunur, mayenin yığılmasına və tənəffüsün çətinləşməsinə səbəb olur. Sistik fibroz CFTR kimi adlandırılan zülaldə mutasiyanın əmələ gəlməsi ilə baş verir, ER-də inteqral membran zülalı kimi sintez olunan və epitel hüceyrələrinin plazma membranına daşınmazdan öncə Qolciyə nəql olunan bu zülal xlorid kanalı kimi fəaliyyət göstərir. Son zamanlar tədqiqatçılar göstərdi ki, CFTR zülalı COPII qovucuq qabığının Sec24 subvahidinə birləşən di-acidic (cüt-turşulu) çeşidləmə siqnalına malikdir və CFTR zülalının ER-dən kənara daşınması üçün lazımdır. Ən çox rast gəlinən CFTR mutasiyası zülalın ardıcılığında 508-ci fenilalaninin qalığının ($\Delta F508$ kimi məlum olan) delesiyaşdır. Bu mutasiya CFTR-in ER-dən tumurcuqlayan COPII qovucuq daxilinə yerləşdirilməsini blok edərək onun plazma membranına normal nəql olunmasına mane olur. Baxmayaraq ki, $\Delta F508$ mutasiya di-asid çeşidləmə siqnalı həddudlarından kənardadır, bu mutasiya CFTR-in sitozol hissəsinin konformasiyasını elə dəyişə bilər ki, siqnal Sec24-ə birləşə bilmir. Maraqlıdır ki, bu mutasiya ilə bükülmüş CFTR hələ də normal xlorid kanalı kimi düzgün fəaliyyət göstərir. Amma, o heç vaxt membrana çata bilmir, ona görə də xəstəlik kanalın qüsurluluğu ilə deyil membranda kanalın olmaması ilə baş verir. ■

Əvvəllər təsvir olunmuş, VSVG-GFP-nin kultura olunan məməli hüceyrələrinə keçirilməsinin ardınca gələn fluoressensiya mikroskopiyası eksperimentləri (bax Şəkil 14-2) ER-dən-Qolciyə nəqliyyatın intermediatlarında bir sıra yenilikləri aşkar etdi. Bəzi hüceyrələrdə, VSVG-GFP-yə malik olan kiçik fluoressent qovucuqların ER-dən əmələ gəldikləri və 1 μ m-dən az hərəkət edərək birbaşa *cis*-Qolci ilə qovuşduqları, görünə bilər. ER-in Qolci kompleksindən bir neçə mikrometr məsafədə yerləşdiyi başqa hüceyrələrdə, bir neçə ER törəməli qovucuların yarandıqdan qısa müddət sonra bir-biri ilə qovuşduqları və *ER-dən-Qolciyə aralıq kompartiment* və ya *cis-Qolci şəbəkə* kimi adlanan quruluşu əmələ gətirdikləri göründü. Belə çox böyük quruluşlar sonra mikroborucuqlar boyu *cis*-

Qolciyə daşındılar, yolun çoxunda neyronlarda qovucuqlar formalaşdıqları hüceyrə cismində, uzun aksondan aşağıya doğru terminal aksona daşınır (bax Fəsil 18). Mikroborucuqlar “dəmir yolları” kimi fəaliyyət göstərir, nəqliyyat qovucuqlarının bu böyük aqreqatlarının uzaq məsafəyə keçərk öz *cis*-Qolci məkanına çatmasını mümkündür. ER-dən-Qolciyə aralıq kompartimentin əmələ gəldiyi zaman, bəzi COPI qovucuqlar ondan tumurcuqlayaraq ayrılır və bəzi zülalları geriye ER-ə qaytarırlar.

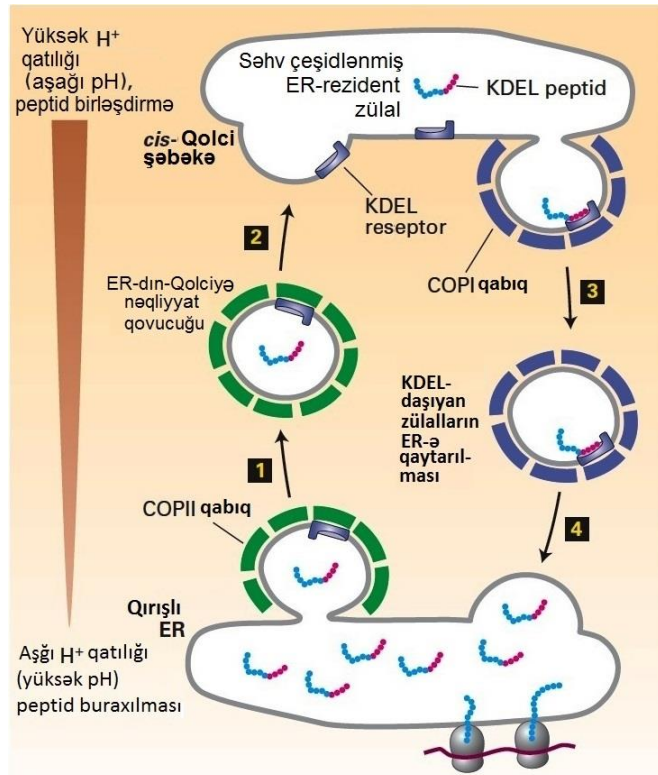
COPI Qovucuqlar Qolci Daxilində və Qolcidən ER-ə Retroqrad Nəqliyyatı Həyata Keçirirlər

COPI qovucuqlar ilk dəfə ayrılmış Qolci fraksiyaları tərkibində sitozol və hidroliz olunmayan GTP analoqu olan məhlulda inkubasiya olunduqda aşkar edilmişdir (bax Şəkil 14-9). Bu qovucuqların sonrakı analizləri göstərdi ki, *ko-avtomerlər* adlanan böyük sitozol komplekslərdən əmələ gələn qabıq yeddi polipeptid subvahiddən təşkil olunmuşdur. COPI zülallarında temperatura həssas mutasiyaya malik olan maya hüceyrələri qırıqlı ER-də yolverilməyən temperaturda zülalları toplayır, ona görə də onlar B sinif *sec* mutantları kimi təsnifləşdirilirlər (bax Şəkil 14-4). Baxmayaraq ki, bu mutantların aşkar olunması əvvəlcə göstərdi ki, COPI qovucuqlar ER-dən-Qolciyə nəqliyyatı həyata keçirirlər, amma sonrakı eksperimentlər aşkar etdi ki, onların əsas funksiyası həm Qolci sisternalar arasında, həm də *cis*-Qolcidən qırıqlı ER-ə retroqrad nəqliyyatı aparmaqdır (bax Şəkil 14-11, *sağda*). COPI mutantları əsas membran zülallarını geriye, qırıqlı ER-ə qaytara bilmədiyindən, tədricən ER-də ER zülalları, məsələn COPII qovucuqların fəaliyyəti üçün tələb olunan v-SNARE-lər tükənmiş olur. Nəhayət sonda, qovucuqların qırıqlı ER-dən əmələ gəlməsi dayanır, ifraz olunmalı zülallar sintez olunmaqda davam edir, amma ER-də toplanırlar, bu B sinif *sec* mutantlarını təyin edən əsas xüsusiyyətdir. Həm COPI, həm də COPII qovucuqların funksiyasında iştirak edən *sek* mutasiyaların həm anterograd, həm də retroqrad nəqliyyatın blok olunmasındakı ümumi qabliyyəti bu iki nəqliyyat prosesinin bir-birindən fundamental asılılığını göstərir.

Fəsil 13-də müzakirə olunduğu kimi, ER yeni zintez olunmuş ifrazat zülallarının bükülməsinə və modifikasiyasına həsr olunmuş bir sıra həllolan zülallara malikdir. Onlara, ER-in öz fəaliyyətini yerinə yetirmək üçün lazım olan çaperon BiP və disulfid izomeraza ferment zülalı daxilirlər. Hərçənd ki, belə ER-rezident lüminal zülallar COPII qovucuqlar tərəfindən xüsusi olaraq seçilmirlər, onların belə açıq aydın bolluğu onların fasiləsiz şəkildə *cis*-Qolci üçün təyin olunan qovucuqlara passiv daxil olmasına səbəb olur. Bu həllolan zülalların COPI qovucuqlar vasitəsi ilə geriye ER-ə daşınması onların sonda tükənməsinə mane olur.

Həllolan ER-rezident zülalların əksəriyyəti C-sonluğunda **Lys-Asp-Glu-Leu** (bir hərflili işarələmə ilə - KDEL) ardıcılığını daşıyırlar (bax Cədvəl 14-2). Bir sıra eksperimentlər, *KDEL çeşidləmə siqnalının* bu ardıcılığın daşıyan zülalların ER-də yerləşməsinə səbəb olmaq üçün həm vacib həm də kifayət olmasını nümayiş etdirdilər. Məsələn, bu dörd qalıq itirmiş mutant disulfid izomeraza zülalı kultura olunan fibroblastlarda sintez olunduqda, zülal ifraz olunur. Bundan başqa, əgər normal ifraz olunan zülal elə dəyişilsə ki, o C-sonluğunda KDL

çəşidləmə siqnalına malik olsun, onda zülal ER-də yerləşir. KDEL çəşidləmə siqnalı, ER ilə *cis*-Qolci arasında şatl olan kiçik nəqliyyat qovucuqlarında və *cis*-Qolci membranında olan transmembran zülal *KDEL reseptor* tərəfindən tanınır və ona birləşir. Bundan başqa, KDEL siqnalını daşıyan həllolan ER-rezident zülalların yalnız *cis*-Qolcidə və ya *cis*-Qolci şəbəkədə tapılmış fermentlərlə kataliz olunan oliqosaxarid zəncirlərini daşıyan modifikasiyaları vardır, beləliklə, bəzən bu zülallar ER-i tərk etməli və ən azı *cis*-Qolci şəbəkəyə qədər uzqğa daşınmalıdırlar. Bu nəticələr göstərir ki, KDEL reseptor əsasən, *cis*-Qolci şəbəkədən yayıman, KDEL çəşidləmə siqnal ardıcılığına malik olan həllolan zülalları geriye qaytarmaq və ER-ə çatdırmaq üçün fəaliyyət göstərir (Şəkil 14-13). KDEL reseptor öz liqandına aşağı pH-da daha möhkəm birləşir və belə hesab edilir ki, reseptor *cis*-Qolcidə KDEL peptidlərə birləşməyə və onları ER-də buraxmağa qabildir, çünki Qolcinin pH qiyməti ER-in qiymətindən bir az aşağıdır.



ŞƏKİL 14-13 KDEL reseptorun qolcidən gələn ER-rezident lüminal zülalların alınmasında rolu. ER lüminal zülallar, xüsusən də yüksək qatılıqda olanlar passiv şəkildə COPI qovucuqlara inkorporasiya oluna və Qolciyə daşına bilirlər (pillə 1 və 2). Çox belə zülallar C sonluqda onları geriye qaytarmağa imkan verən *KDEL* (*Lys-Asp-Glu-Leu*) ardıcılığı (qırmızı) daşıyırlar. Əsasən *cis*-Qolci şəbəkədə və həm COPI həm də COPII qovucuqlarda yerləşən KDEL reseptor KDEL çəşidləmə siqnalını daşıyan zülallara birləşir və onları ER-ə qaytarır (pillə 3 və 4). Bu axtarış sistemi, yeni istehsal olunmuş reseptor zülallarının düzgün bükülməsi üçün lazım olan zülallar kimi ER lümeni zülallarının tükənməsinə mane olur. KDEL reseptorunun birləşmə afinliyi pH-a çox həssasdır. ER-in pH-ı ilə Qolcinin pH-ı arasında kiçik fərq KDEL-daşıyan zülalların Qolcidən ayrılmış qovuculardakı reseptora birləşməsinə və ER-də onların buraxılmasına üstünlük verir. Bax J Semenza et al., 1990, *Cell* 61:1349.

KDEL reseptor və Qolcidən geriye, ER-ə daşınan başqa membran zülalları sitozola baxan C-sonluq seqmentlərinin ən sonunda **Lys-Lys-X-X (KKXX)** ardıcılığına malikdirlər (bax Cədvəl 14-2). COPI α və β subvahidlərin (COPI koavtomerdəki yeddi polipeptid subvahidin ikisinin) kompleksinə birləşən bu *KKXX çəşidləmə siqnalı*, ER-ə retroqrad daşınma zamanı membran zülallarının COPI qovucuqlara birləşməsi üçün həm lazımdır həm də kifayətdir. COPI α və ya COPI β olmayan temperatura-həssas maya mutantları *KKXX* siqnalına birləşə bilməməklə yanaşı, bu siqnalara malik olan zülalları geriye ER-ə daşıya bilmirlər, bu göstərir ki, COPI qovucuqlar retroqrad Qolci-dən-ER-ə nəqliyyatı yerinə yeyirlər

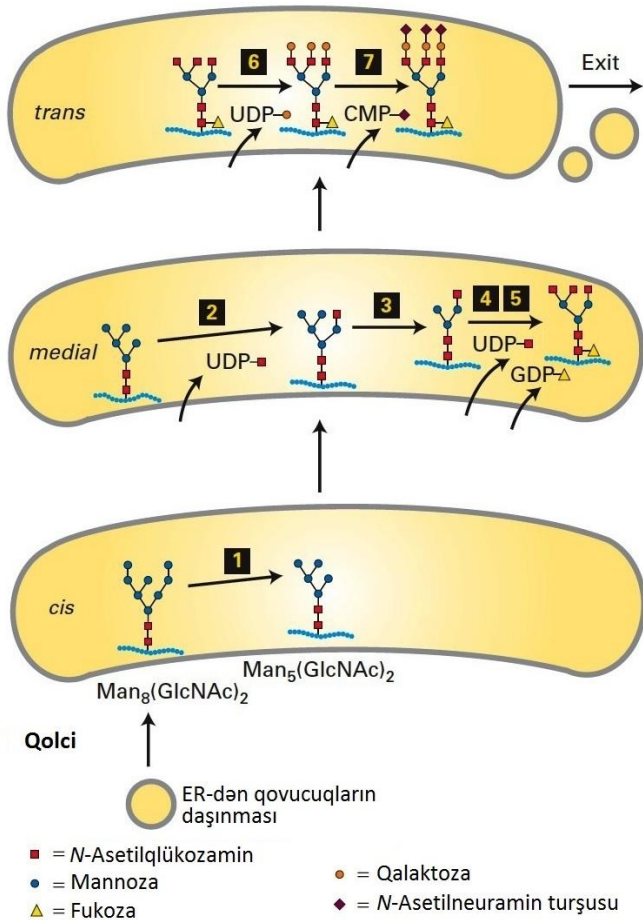
Zülalları COPI qovucuqlara hədəf edən və beləliklə Qolcidən ER-ə qaytaran ikinci çəşidləmə siqnalı di-arginin ardıcılığıdır. Zülalın sitoplazmaya yönələn C-sonluğunda yerləşən *KKXX* çəşidləmə siqnalından fərqli olaraq di-arginin çəşidləmə siqnalı membran zülalının membranın sitozol üzündə olan istənilən seqmentində ola bilər.

Zülalların ER və Qolci kompleksi arasında bölünməsi yüksək dinamik proses olub həm COPII (anteroqrad) həm də COPI (retroqrad) qovucuqardan asılıdır və bu qovucuqların hər bir tipi başqa tip qovucuğun fəaliyyət göstərməsi üçün lazım olan komponentin geriye daşınmasına cavab verir. Belə bölünmə prosesinin təşkil olunması çox maraqlı bir problemi (sual) qaldırdı: necə olur ki, qovucuqlar təkrar istifadəyə qaytarılan və donor membranla qovuşmanı təyin edən v-SNARE-lər əvəzinə düzün hədəf membranı ilə qovuşmanı müəyyən edən v-SNARE-ləri böyük üstünlüklə istifadə edirlər?

Son zamanlar, düzün membran bölünməsinə aid olan bu əsas suala COPII qovucuqlarla cavab verildi. Bu qovucuqlar yarandıqdan sonra, COPII qabıq zülallar *cis*-Qolci membranına qoşulmuş spesifik birləşdirmə faktoru ilə əlaqəyə girmək üçün kifayət qədər uzun müddət Sec23/Sec24 kompleksi ilə toplanmış vəziyyətdə qalır. v-SNARE-lərin üstünü açmaq üçün Qovucuqların qabıqdan çıxması yalnız COPII qovucuqlar artıq *cis*-Qolci membranı ilə sıx birləşdikdən sonra tamamlanır və COPII-nin v-SNARE-ləri onlara doğma olan t-SNARE-lər ilə kompleks yaratmaq mövqeyində yerləşirlər. Hərçənd ki, COPII qovucuqlar həmçinin, geriye *cis*-Qolciyə təkrar istifadəyə qaytarılan COPI-spesifik v-SNARE zülallarının da daşıyırlar, bu COPI v-SNARE zülallarının heç bir zaman ER-də yerləşən doğma t-SNARE zülallarıyla SNARE komplekslərini əmələ gətirmək imkanları olmamışdır.

Qolci Vasitəsi ilə Anteroqrad Daşınma Sisterna Yetişməsi ilə Baş verir

Qolci kompleksi üç kompartmetdə təşkil olunur, çox hallarda sisternalar adlanan yastılaşmış kisələrin bir yerə yığılmış dəstində qurulur. Qolcinin kompartmentləri biri-birindən malik olduqları fermentlərə görə fərqlənirlər. Bu fermentlərin çoxu Qolci kompleksinə daşınan ifrazat zülallarına qoşulan *N*-əlaqəli və *O*-əlaqəli karbohidratların modifikasiyasında iştirak edən qlikozidazalar və qlikoziltransferazalardır. Ümumilikdə, Qolci kompleksi, zülalların kompartmentlərlə ardıcıl hərəkət etməsi ilə daha çox konveyr (yığılma) xətti kimi fəaliyyət göstərir və bir kompartmetdə modifikasiya olunmuş karbohidrat zənciri növbəti kompartmentin fermentləri üçün substrat rolunu oynayır (Şəkil 14-14 modifikasiya pillələrinin tipik ardıcılığını göstərir).

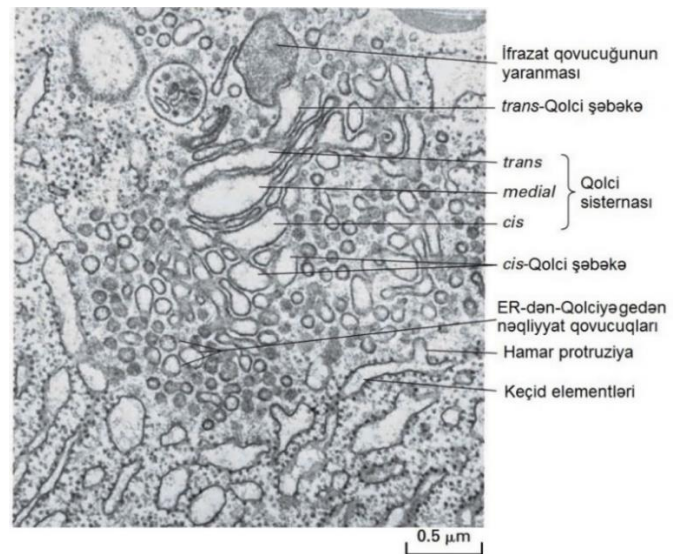


ŞƏKİL 14-14 Onurğahlıların hüceyrələrində qlikozülallarda cis-, medial- və trans-Qolci sisternalarda N-əlaqəli oliqosaxarid zəncirlərin prosessinqi. Hər bir pilləni kataliz edən fermentlər işarələnmiş kompartimentlərdə yerləşirlər. Üç mannoza qalığı çıxarıldıqdan sonra cis-Qolciddə (pillə 1) zülal sisterna yetişməsi yolu ilə medial-Qolciyə keçir. Burada üç N-aetilqlikozamin (GlcNAc) qalığı əlavə edilir (pillə 2 və 4), daha iki mannoza qalığı çıxarılır (pillə 3) və bir fukoza əlavə edilir (pillə 5). Prosessinq trans-Qolciddə üç qalaktoza qalığının əlavə edilməsi ilə (pillə 6) və sonda N-asetilneuramin turşusunun bu üç qalaktoza qalığının hər biri ilə əlaqələndirilməsi (pillə 7) tamamlanır. Spesifik transferaza fermentləri, sitozoldan import olunmuş şəkər nükleotid sələflərdən şəkərləri hər dəfə biri olmaqla oliqosaxaridə əlavə edir. Bu yol tipik məməli qlikozülalında Qolci prosessinqinin gedişini təmsil edir. N-əlaqəli oliqosaxaridlərin quruluşundakı variasiya Qolciddə prosessinq mərhələlərinin fərqi nəticəsində baş verir. Bax R. Kornfeld and S. Kornfeld, 1985, *Annu. Rev. Biochem.* **45**:631.

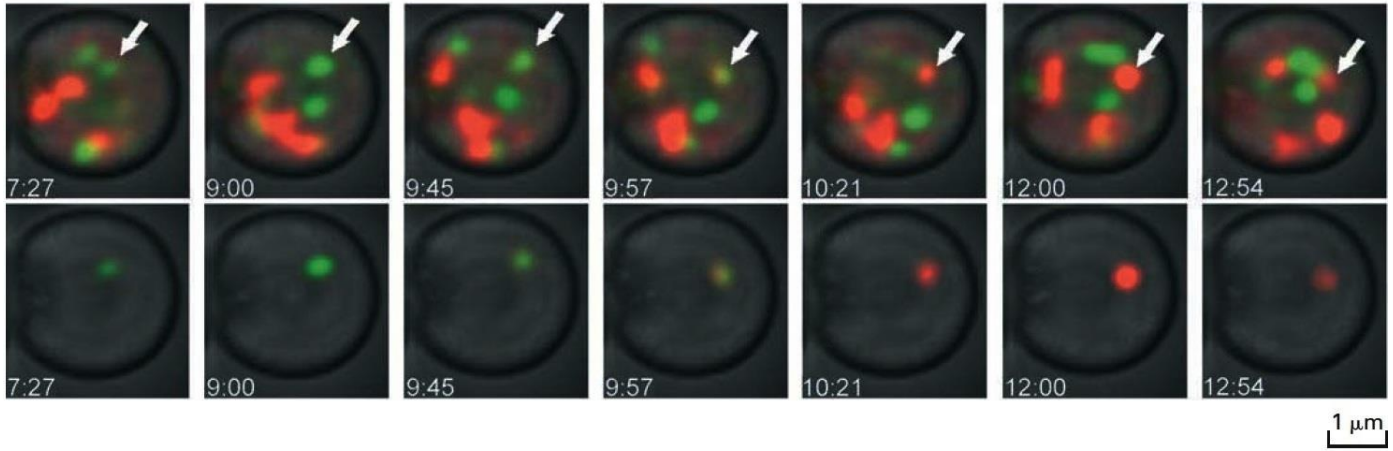
Uzun illər, guman olunurdu ki, qolci kompleksi ifrazat zülallarını cis-Qolciddən medial-Qolciyə və medial-Qolciddən trans-Qolciyə doğru apararıq kiçik nəqliyyat qovucuqları ilə kompartimentlərin mühüm statik şəbəkəsidir. Həqiqətən də elektron mikroskopiyası Qolci kompleksi ilə assosiasiyada olan və zülalları bir Qolci kompartimentindən digərinə apararıq çoxsaylı kiçik qovucuqları aşkar etdi (Şəkil 14-15). Amma, indi məlumdur ki, bu qovucuqlar retroqrad daşınmamı həyata keçirir, ER və ya Qolci fermentlərini ifrazat yolunda axırıncı kompartimentdən çıxarıq və əvvəlki kompartimentə qaytarır. Beləliklə, Qolci yüksək dərəcədə dinamik təşkil olunmuş və

fasiləsiz şəkildə yalnız retroqrad istiqamətdə hərəkət edən nəqliyyat qovucuqlarını əmələ gətirir. Bu retroqrad nəqliyyatın Qolcinin təşkilinə təsirini görmək üçün, fermentlər medial-Qolciddən cis-Qolciyə daşındığı halda fermentlərin trans-Qolciddən medial-Qolciyə keçməsinin medial-Qolci kompartimentinə olan xalis təsirini baxaq. Bu proses davam edərkən medial-Qolci fermentləri trans-Qolciddən alır, halbuki eyni zamanda medial-Qolcinin fermentləri cis-Qolciyə verilir, beləliklə yeni progressiv trans-Qolci kompartimentinə çevrilir. Bu yolda ifrazat yük zülalları düzgün ardıcılıqla, anteroqrad daşınma yolu ilə bir sisternadan başqasına keçmədən karbohidrat modifikasiyasını qazanır.

Yük zülallarının cis-Qolciddən trans-Qolciyə nəqliyyatının sisterna yetişməsinin bu progressiv mexanizmi ilə baş verdiyini sübut edən ilk dəlil yosun qabıqlarının (pulcuqlarının) sintezinin diqqətlə aparılan mikroskopik analizlərindən alındı. Bu hüceyrə divarının qlikozülalları cis-Qolciddə elektron mikroskopu ilə görünə bilən böyük komplekslərdə yığılır. Başqa ifrazat zülalları kimi, yeni istehsal olunmuş pulcuqlar cis-Qolciddən trans-Qolciyə keçir, amma onlar Qolci sisternasından tumurcuqlayıb ayrılan adi nəqliyyat qovucuqlarından 20 dəfə böyük ola bilirlər. Buna oxşar olaraq, fibroblastlarda kollagenin sintezində, prokollagen sələfin böyük aqreqatları çox hallarda cis-Qolcinin lümenlərində formalaşır (bax Şəkil 20-25). Prokollagen aqreqatlar kiçik nəqliyyat qovucuqlarının içərisinə yerləşmək üçün həddən artıq böyükdürlər, ona görə tədqiqatçılar nəqliyyat qovucuqlarında belə nəhəng aqreqatları tapa bilmədilər. Bu müşahidələr göstərdi ki, bunların irəliyə hərəkəti və yaqın ki, bütün ifrazat zülallarının bir Qolci kompartimentindən başqasına keçməsi kiçik qovucuqlar vasitəsi ilə baş verir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-15 Mədəaltı asinar hüceyrələrində qolci kompleksinin elektron mikrofotusu ifrazat və retroqrad nəqliyyat qovucuqlarını aşkar edir. trans-Qolci şəbəkəsindən böyük ifrazat qovucuğunun yarındığını görmək olur. Qırıqlı ER elementləri bu mikrofotonun aşağısında və sol tərəfindədir. Qırıqlı ER-ə yaxın olanlar (toxunanlar) keçici elementlərdir və onlardan hamar çıxıntıların tumurcuqladıqları görünür. Bu tumurcuqlar ifrazat zülallarını qırıqlı ER-dən Qolci kompleksinə daşıyan kiçik qovucuqları əmələ gətirirlər. Qolci sisternaları arasında səpələnər, indi anteroqrad deyil retroqrad nəqliyyatda iştirak edən digər kiçik qovucuqlardır. [George Palade.]



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-16 Fluorescent etiketli qovşaq zülallar canlı maya hüceyrələrində Qolci sisterna yetişməsinə nümayiş etdirir.

GFP (yaşıl fluoressensiya) ilə qovşaq olan Vrg4 erkən Qolci zülalını və DsRed (qırmızı fluoressensiya) ilə qovşaq olan Sec7 gecikən Qolci zülalını ekspressiya edən maya hüceyrələrinin zaman-fasilə mikroskopiyası ilə şəkili çəkilmişdir. Şəkillərin 1 dəqiqə fəslə ilə çəkilmiş yuxarı sırası Qolci sisternaların toplanmasını göstərir, verilmiş istənilən bir zaman ya Vrg4 ya da Sec7 kimi işarələnmişdir. Şəkilin aşağı sırası şəkilin rəqəmsal prosesinqi ilə ayrılmış yalnız bir qolci sisternanı göstərir. Birinci ayrılmış sisternada yalnız Vrg4-GFP

Maya hüceyrələrində sisterna yetişməsinin xüsusilə incə nümayiş etdirilməsində eyni vaxtda iki Qolci zülalının təsvirini vermək üçün iki-rəngli fluorescent nişanlamadan istifadə edilir. Şəkil 14-16 yaşıl fluoressent zülalla nişanlanmış *cis*-Qolci rezident zülalın və qırmızı fluoressent zülalla nişanlanmış *trans*-Qolci rezident zülalın eyni maya hüceyrəsində özlərini necə apardıqlarını göstərir. İstənilən verilmiş anda, fərdi Qolci sisterna fərqli kompartiment identikliyinə malik ola bilər, belə ki, onlar ya *cis*-Qolci zülalına ya da *trans*-Qolci zülalına malik olurlar, amma, yalnız çox seyrək hallarda hər iki zülala malik olurlar. Lakin, zaman keçdikcə *cis*-Qolci zülalı ilə nişanlanmış fərdi sisterna bu zülalı tədricən itirir və *trans*-Qolci zülalını qazanır. Bu davranış, Qolci rezident zülalların sonrakı Qolci kompartimentindən əvvəlki kompartimentə keçməsi ilə fərdi sisternanın tərkibinin dəyişdiyi ehtimal olunan sisterna yetişməsi modeli ilə tam eynidir.

Baxmayaraq ki, zülal daşınmasının çoxu sisterna yetişməsi mexanizmi ilə Qolci kompleksindən keçərək gedir, sübutlar göstərir ki, Qolci membranlarından tumurcuqlayıb ayrılan COPI nəqliyyat qovucularının ən azı bəziləri (Qolci fermentlərinə deyil) yük zülallarına malik olurlar və (retroqrad deyil) anteroqrad istiqamətdə hərəkət edirlər.

14.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

İfrazat Yolunun İlk Mərhələləri

- COPII qovucular zülalları qırıq ER-dən *cis*-Qolciyə daşıyır; COPI qovucular zülalları əks istiqamətdə daşıyır (bax Şəkil 14-11).

yerləşir, sonra ayrılmış sisternada yalnız Sec7-DsRed yerləşir, kiçik müddətdən sonra hər iki zülal bu kompartimentdə birgə yerləşir. Bu eksperiment sisterna yetişməsi nəzəriyyəsinin birbaşa nümayiş etdirilməsidir və göstərir ki, fərdi sisternaların tərkibi, erkən Qolci zülallarının itirilməsi və gecikən Qolci zülallarının qazanılması ilə xarakterizə olunan yetişmə prosesini keçir. [Nature-nin razılığı ilə Losev E. et al., "Golgi maturation visualized in living yeast" 2006, *Nature* 441:1002-1006-dan yenidən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsi ilə alınmışdır.]

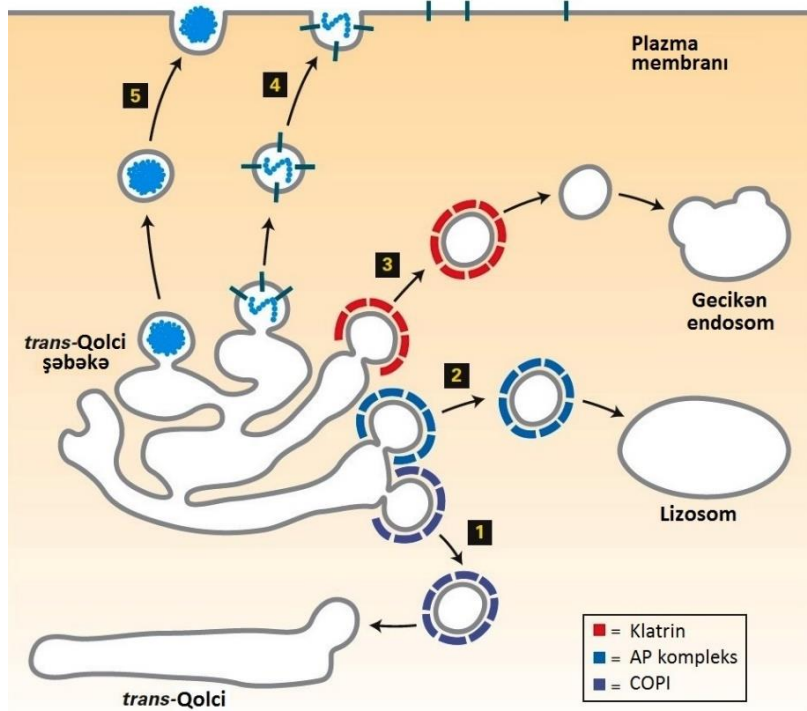
- COPII qabıq üç komponentdən ibarətdir: kiçik GTP-birləşdirən zülal Sar1, Sec23/Sec24 kompleksi və Sec13/Sec31 kompleksi.
- COPII qabığının komponenti öz sitozol rayonunda iki-turş və ya başqa çeşidləmə siqnalına malik olan membran yük zülallarına birləşir (bax Şəkil 14-12). Həllolan yük zülalları, yəqin ki, membran zülal reseptorlarına birləşməklə COPII qovuculara hədəf olunurlar.
- Həllolan ER rezident zülallarının çoxu KDEL çeşidləmə siqnalına malik olur. Bu qaytarılma ardıcılığının *cis*-Qolci membranında spesifik reseptor zülalına birləşməsi səhv çeşidlənmiş ER zülallarını retroqrad COPI qovuculara səfərbər edir (bax Şəkil 14-13).
- COPII qovucuları düzəltmək üçün lazım olan membran zülalları COPI qovucularla *cis*-Qolcidən (geriyə) gətirilə bilər. Membran zülallarını COPI qovuculara istiqamətləndirən çeşidləmə siqnallarından biri, qabığının subvahlərinə birləşən KKXX ardıcılığıdır. Fərqli di-arginin çeşidləmə siqnalı oxşar mexanizmlə fəaliyyət göstərir.
- COPI qovucular həm də Qolci-rezident zülalları Qolci kompleksində sonrakı kompartimentdən əvvəlkinə daşıyırlar.
- Həllolan və membran zülalları sisterna yetişməsi yolu ilə Qolcidən keçirlər, bu anteroqrad nəqliyyat prosesi, COPI qovucular daşınması ilə retroqrad istiqamətdə daşınan rezident Qolci fermentlərindən asılıdır.

14.4 İfrazat Yolunun Sonrakı Mərhələləri

Yük zülalları sisterna yetişməsi yolu ilə *cis*-Qolcidən *trans*-Qolciyə keçən kimi onların oliqosaxarid zəncirinin modifikasiyası Qolci-rezident fermentlər tərəfindən aparılır.

COPI qovucuqların sonrakı Qolci kompartimentindən əvvəlkinə retroqrad hərəkəti bu karbohidrat-modifikasiya edən fermentlərin kifayət qədər miqdarını müvafiq kompartmetdə saxlayır. Sonda düzgün proses olunmuş yük zülalı *trans*-Qolci şəbəkəyə, ən uzaq Qolci kompartimentinə çatır. Burada onlar son təyinat yerinə çatdırılmaq üçün müxtəlif tipli qovucuqlara çeşidlənilir. Plazma membranı, endosomlar və lizosomlar kimi hədəf olunan təyinat yerinin hər biri lipid və membran

zülallarının unikal tərkibinə malikdir və bu orqanoidlərin hər birinə onların unikal identikliyinə verən ilk növbədə *trans*-Qolci şəbəkəsindəki çeşidləmədir. Bu bölmədə biz, *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayıb ayrılan müxtəlif növlü qovucuqları, onlar arasında yük zülallarını ayıran mexanizmləri və ifrazat yolunun sonunda baş verən əsas prosesin hadisələrini müzakirə edirik. Tumurcuqlayaraq *trans*-Qolcidən ayrılan müxtəlif tipli qovucuqlar Şəkil 14-17-də ümumiləşdirilmişdir.



ŞƏKİL 14-17 Qovucuq-vasitəsilə *trans*-Qolci şəbəkədən zülal daşınması. COPI (bənbövşəyi) qovucuqlar qolci daxilində retroqrad nəqliyyatı həyata keçirirlər (1). Lizosomun lümenində və ya membranında fəaliyyət göstərən zülallar əvvəlcə klatrinlə-örtülü (qırmızı) qovucuqlarla *trans*-Qolci şəbəkədən daşınırlar (3); bu qovucuqlar qabıqdan çıxdıqdan sonra, onların tərkibini lizosomlara aparən endosomlarla qovuşurlar. Klatrinlə-örtülü qovucuqların əksəriyyətinin qabığı əlavə zülallara (AP kompleksinə) malik olur (burada göstərilmişdir). *trans*-Qolcidən lizosom təyinatlı yükü daşıyan bəzi qovucuqlar gecikən endosomlardan yan keçərək birbaşa lizosomla qovuşurlar (2). Bu qovucuqlar AP kompleksi ilə (mavi) örtülür; bu qovucuqların klatrinə malik olmaları hələ məlum deyil. Konstitutiv (4) və tənzimlənən (5) ifrazat qovucuqlarını əhatə edən qabıq zülalları hələ bu vaxta qədər xarakterizə olunmamışdır, bu qovucuqlar ifraz olunan zülalları və plazma membran zülallarını *trans*-Qolci şəbəkədən hüceyrə səthinə daşıyırlar.

Klatrin və Adaptor Zülallarla Örtülmüş Qovucuqlar *trans*-Qolcidən Nəqliyyatı Həyata Kleçirirlər

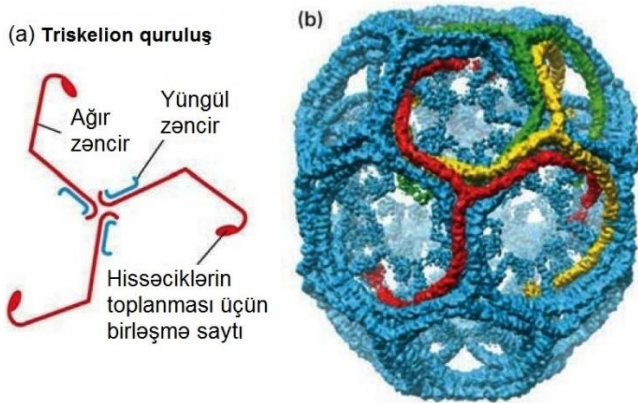
trans-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayıb ayrılan çox yaxşı öyrənilmiş qovucuğunun iki-qatlı qabığı vardır: xarici qat fibrilyar zülal klatrindən təşkil olunmuşdur, daxili qat isə adaptor zülal (AP) kompleksindən təşkil olunmuşdur. Üç-ayaqlı formaya malik olan təmizlənmiş klatrin molekulları triskelionlar adlanır, yunan sözü olub “üç-ayaqlı” deməkdir (Şəkil 14-18a). Hər bir üzv bir klatrin ağır zəncirdən (180000 Da MÇ) və bir klatrin yüngül zəncirdən (~35000-40000 Da MÇ) təşkil olunmuşdur. Triskelionlar polimerləşərək daxili ayrılıya malik olan çoxbucaqlı şəbəkəni əmələ gətirirlər (Şəkil 14-18b). Klatrin donor membranda polimerləşərkən, o bunu klatrin şəbəkələri ilə membran arasındakı boşluğu dolduran AP kompleksi ilə birlikdə edir. Hər bir AP kompleksi (340000 Da MÇ) dörd müxtəlif adaptor subvahidi zülallarının hər birindən bir nüsxəyə malik olur. Triskelionda hər bir klatrin ağır zəncirinin ucundakı qlobulyar domenlə AP kompleksinin bir subvahidi arasındakı spesifik assosiasiya həm klatrin triskelionların AP komplekslərlə yenidən toplanmasını təşviq edir həm də tamamlanmış qovucuq qabığına stabililik verir.

Membran zülalının sitozol üzünə birləşməklə adaptor zülallar hansı yük zülallarının tumurcuqlayan nəqliyyat qovucuqlarına spesifik daxil ediləcəyini (və ya istisna

ediləcəyini) təyin edir. Üç müxtəlif AP kompleksi (AP1, AP2 və AP3) məlumdur, bunların hər biri dörd müxtəlif, amma oxşar zülallardan ibarət subvahidlərdən təşkil olunmuşlar. Son zamanlar, göstərilmişdir ki, adaptor zülalın GGA kimi məlum olan ikinci əsas tipi vahid 70000-MÇ-li polipeptidə, çox böyük heterotrimer AP komplekslərdə tapıldığı kimi, həm klatrin- həm də yük-birləşən elementlərə malikdir. Aşkar olunmuşdur ki, hər bir adaptor tipinə (AP və ya GGA) malik olan qovucuq, spesifik nəqliyyat pilləsini həyata keçirir (bax Şədvəl 14-1). Qabığında bu komplekslərdən biri olan bütün qovucuqlar donor membranda qabığın toplanmasını inisiyasiya etmək üçün ARF-dən istifadə edir. ARF əvvəllər müzakirə olunduğu kimi, COPI qabıqların toplanmasını da inisiyasiya edir. ARF birləşdikdən sonra hansı tip qabığın toplanacağını təyin edən əlavə membran xüsusiyyətləri və ya zülal faktorları hələ tam məlum deyildir.

trans-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan qovucuqlar gecikən endosom yolu ilə lizosoma gedəndə (bax Şəkil 14-17, pillə 3) AP1 və ya GGA ilə birləşmiş klatrin qabığına malik olur. Həm AP1 həm də GGA donor membranda yük zülalının sitozol domeninə birləşir. Tyr-X-X-Φ ardıcılığa malik olan membran zülalı, burada X istənilən amin turşusu, Φ böyük həcmli hidrofob amin turşusu ola bilər, *trans*-Qolci şəbəkədən klatrin/AP1-qabıqlı qovucuqların tumurcuqlamasına səfərbər olunur. Bu YXXΦ çeşidləmə signalı qovucuq qabığında AP1

subvahidlərinin biri ilə əlaqəyə girir. Növbəti bölmədə bizim müzakirə edəcəyimiz kimi, endositoz zamanı plazma membranında birləşən klatrin/AP1-qabıqlı qovucuqlar da YXXΦ çeşidləmə signalını tanıya bilir. GGA zülallarla və klatrinlə örtülü olan qovucuqlar müxtəlif çeşidləmə signalı ilə yük molekullarına birləşir. GGA adaptor zülallara spesifik birləşən sitozol çeşidləmə signalına Asp-X-Leu-Leu və Asp-Phe-Gly-X-Φ (burada X və Φ yuxarıdakı kimi təyin edilir) ardıcılıqları daxildirlər.



ŞƏKİL 14-18 Klatrin qabığının quruluşu. (a) Triskelion adlanan klatrin molekulu üç ağır və üç yüngül zəncirdən təşkil olunmuşdur. O, ağır zəncirin əyilməsinə görə daxili ayrılığa malikdir. (b) Klatrin qabığı, membran olmadan təmizlənmiş klatrin ağır zəncirinin və klatrin yüngül zəncirinin AP2 kompleksi ilə in vitro qarışdırılmasıyla yaradılmışdır. 1000-dən artıq toplanmış altıbucaqlı klatrin çəllək zərrəciklərin krioelektron mikrofotosu ümumi quruluş təsvirini yaratmaq üçün rəqəmsal şəkil prosessinqi ilə analiz olunmuşdur. Prosess olunmuş şəkil yalnız klatrin ağır zəncirlərin 36 triskeliondan təşkil olunmuş quruluşunu göstərir. Triskelionların üç nümunəsi qırmızı, sarı və yaşıl rənglərlə işıqlandırılmışdır. Klatrin qəfəsin daxilinə qablaşdırılmış AP2 komplekslərinin bəziləri bu nümunələrdə görünür. Bax B. Pishvae and G. Payne, 1998, *Cell* 95:443. [(b) hissəsi Nature-nin razılığı ilə Fotin A. et al., "Molecular model for complete clathrin lattice from electron cryomicroscopy" 2004, *Nature* 432:573-dən yenidən çap olunmuşdur; Razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsi ilə alınmışdır.]

trans-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan bəzi qovucuqlar AP3 kompleksindən təşkil olunmuş qabığa malik olur. Baxmayaraq ki, AP3 kompleksi, AP1 və AP2 komplekslərdə olduğu kimi klatrin üçün birləşmə saytına (mərkəzinə) malikdir, amma AP3-ə malik olan qovucuqların fəaliyyəti üçün klatrinin lazım olub-olmadığı aydın deyildir, çünki klatrin birləşdirmə saytından tamamilə məhrum olmuş AP3-ün mutant versiyası tam funksionaldır. AP3-lə örtülü olan qovucuqlar lizosomlara gedən hərəkəti həyata keçirir, amma onlar gecikən endosomlardan yan keçirlər və birbaşa lizosom membranı ilə qovuşurlar (Şəkil 14-17, pillə 2). Müəyyən tip hüceyrələrdə, belə AP3 qovucuqlar zülalları lizosomlara aid olan xüsusi saxlama kompartimentinə daşıyırlar. Məsələn, AP3, zülalların dəri hüceyrələrində qara melanin pigmentinə malik olan melanosomlara və çoxsaylı trombosit hüceyrələrinə bölünən böyük meqakrayosit hüceyrələrdə olan trombosit saxlama qovucuqlarına çatdırılması üçün tələb olunur. İki müxtəlif AP3 subvahidinin istənilən birində mutasiyaya malik olan siçan

yalnız anormal dəri pigment-əmələgəlməsini deyil həmçinin qanaxma pozuntularını da nümayiş etdirir. Sonuncu ona görə baş verir ki, trombositlər damarlarda pozuntuları təmir etmək üçün normal ehtiyat saxlama qovucuqlarının olmasını tələb edirlər.

Dinamin Klatrinlə-Örtülü Qovucuqların Qopub Ayrılması Üçün Tələb Olunur

Nəqliyyat qovucuqlarının əmələ gəlməsinin fundamental pillələrindən biri, bizim hələ nəzər salmadığımız, qovucuq tumurcuqlarının donor membrandan necə qoparaq ayrılmasıdır. Klatrinlə-örtülü qovucuqlarda *dinamin* adlanan sitozol zülalı tamamlanmış qovucuğun buraxılması üçün vacibdir. Tumurcuq əmələ gəlməsinin sonrakı mərhələlərində dinamin tumurcuğun boyun hissəsi ətrafında polimerləşir və sonra GTP-ni hidroliz edir. Guman olunur ki, GTP-nin hidrolizindən ayrılan enerji, qovucuq qopub ayrılana kimi dinamində boyunu dartıb uzadan qovucumaşınaya dəyişikliyinə əmələ gəlməsini idarə edir (Şəkil 14-19).

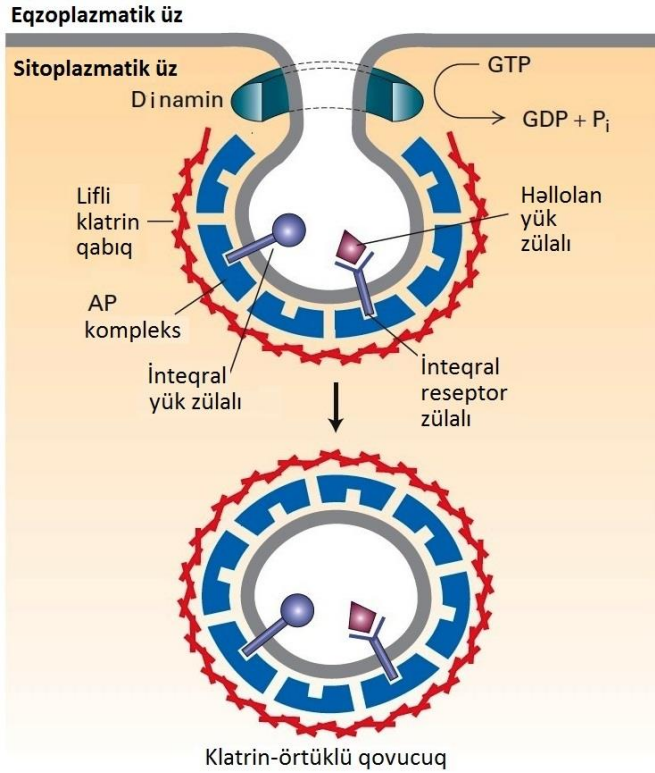
Hüceyrə ekstraktlarının GTP-nin hidroliz olunmayan törəməsi ilə inkubasiyası endositoz zamanı klatrin/AP2-örtüklü qovucuqların qopub ayrılmasında dinaminin əhəmiyyəti barədə dramatik dəlilləri təqdim edir. Belə işlənilmə həddən artıq uzun, polimer dinaminlə əhatə olunmuş, amma qopub ayrılmayan boyunlu klatrin-örtüklü qovucuq tumurcuqlarının toplanmasına səbəb olur (Şəkil 14-20). Eyni şəkildə, GTP birləşdirə biolməyem mutant formalı dinamini ekspressiya edən hüceyrələr klatrin-qabıqlı qovucuqları əmələ gətirə bilmir və əvəzində polimerləşmiş dinaminlə örtülü oxşar uzun boyunlu qovucuq tumurcuqlarını toplayır.

COPI və COPII qovucuqlar kimi, klatrin-qabıqlı qovucuqlar normal halda formalaşdıqdan dərhal sonra öz qabıqlarını itirirlər. Bütün eukariot hüceyrələrdə tapılmış konstitutiv çaperon zülalı olan sitozol Hsp70, guman olunur ki, klatrin qabığının triskelionlara de-polimerləşməsini aparmaq üçün ATP hidrolizindən alınan enerjiden istifadə edir. Endositik qovucuqlar olan hada, qabıqdançıxma əlavə qovucuqların yaranmasında yenidən istifadə olunmaq üçün triskelionları buraxmaqla bərabər hədəf membranlarla qovuşmada istifadə etmək üçün v-SNARE-ni açıq vəziyyətə gətirir. Görünür qovucuqların sitozol Hsp70-lə qabıqdan çıxması, Hsp70 vasitəsi ilə ATP hidrolizini stimullaşdıran domenə malik olan ko-çaperon aqsillərlə fəallaşır. ARF GTP-birləşmiş vəziyyətdən GDP-birləşmiş vəziyyətə keçdikdə baş verən konformasiya dəyişikliyi, guman olunur ki, klatrin qabığının depolimerləşməsinin müddətini tənzimləyir, amma Hsp70-in və aqsillinin fəaliyyətinin ARF keçirici ilə necə birləşməsi hələ tam məlum deyil.

Mannoza 6-Fosfat Qalıqları Həllolan Zülalları Lizosomlara Hədəf Edir

Gördüyümüz kimi, ifrazat yolunda yük zülallarının hərəkətini yönəldən çeşidləmə signalının çoxu hədəf zülalında olan qısa amin turşu ardıcılıqlarıdır. Bunun əksinə, həllolan lizosom fermentlərini *cis*-Qolci şəbəkədən gecikən endosomlara istiqamətləndirən çeşidləmə signalı, *cis*-Qolcidə əmələ gələn

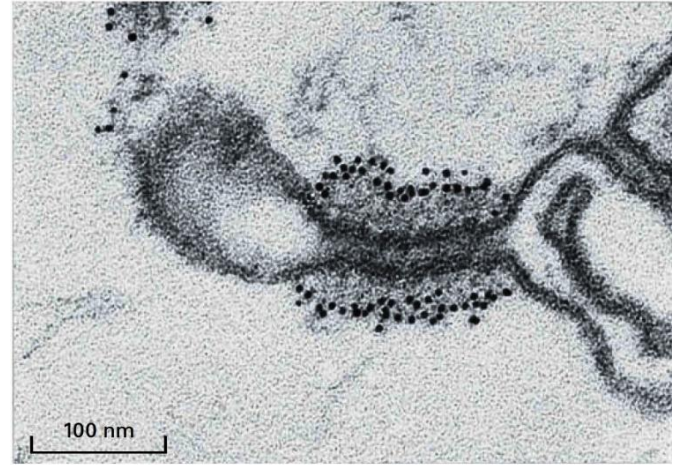
karbohidrat qalığı, *mannoza 6-fosfatdır* (M6P). Qırıxılı ER-də əvvəlcədən formalaşmış bir və ya daha artıq *N*-əlaqəli oliqosaxarid sələfin əlavə edilməsi və ilkin prosessinqi lizosomal fermentlərdə olduğu kimi membran və ifrazat zülallarında da eyni olub əsas (özək) $\text{Man}_8(\text{GlcNAc})_2$ zəncirlərini verir (bax Şəkil 13-18). *cis*-Qolcida, əksər lizosom fermentlərində mövcud olan *N*-əlaqəli oliqosaxaridlər, M6P qalıqlarını əmələ gətirən iki-pilləli reaksiya ardıcılığına məruz qalır. M6P qalıqlarının həllolan lizosomal fermentlərin oliqosaxarid zəncirinə əlavə edilməsi bu zülalların daha sonra, ifraz olunan və membran zülalları üçün xarakterik olan prosessinq reaksiyalarına girməsinə mane olur (bax Şəkil 14-14).



ŞƏKİL 14-19 Klatrin-qabıqlı qovucuqların dinamin-vasitəsilə qopub ayrılmasının modeli. Qovucuq tumurcuğu yarandıqdan sonra, dinamin boyunca polimerləşir. Hələ tam anlaşılmayan mexanizmlə, dinaminlə-kataliz olunan GTP hidrolizi qovucuqların donor membrandan buraxılmasına səbəb olur. Qeyd edək ki, membran zülalları qabıqdakı AP komplekslə əlaqəyə girərək donor membranda qovucuqlara daxil olur. Bax K. Takel et al., 1995, *Nature* **374**:186.

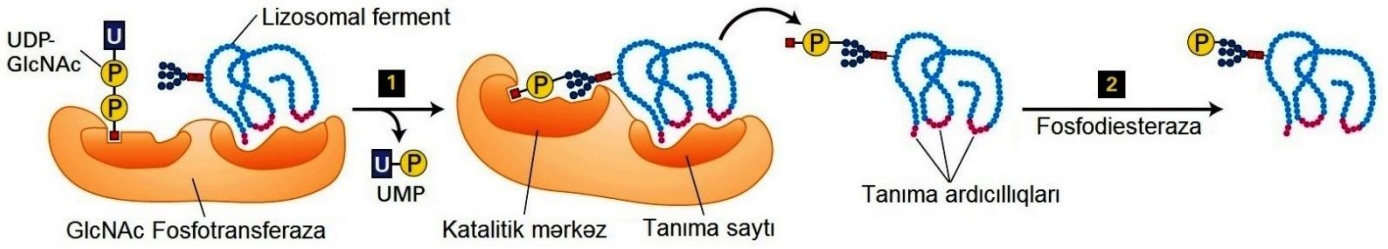
Şəkil 14-22-də göstəriləyi kimi, M6P-daşıyan lizosomal fermentlərin ifraz olunan zülallardan və membran zülallarından ayrılması *trans*-Qolci şəbəkədə baş verir. Burada transmembran *mannoza 6-fosfat reseptorlar* lizosom-təyinatlı zülallarda M6P qalığa çox möhkəm və spesifik şəkildə birləşir. Sonra, M6P reseptorlarına malik olan və lizosom fermentlərinə birləşmiş klatrin/API-qabıqlı qovucuqlar *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayırlar, qabıqlarını itirirlər və ardınca da, əvvəllər təsvir olunmuş mexanizmlə gecikən endosomlarla qovuşurlar. M6P reseptorları M6P ilə zəif turş mühitdə (pH~6.5) birləşdiyindən və ya *trans*-Qolci ilə 6-dan aşağı olmayan pH-da

birləşdiyindən birləşmiş lizosomal fermentlər daxili pH-ı 5.0-5.5 olan gecikən endosomlar daxilində buraxılırlar. Daha sonra, gecikən endosomlar daxilində fosfatazalar adətən lizosomal fermentlərdə M6P qalıqlarından fosfatı ayırır uzaqlaşdırırlar, aşağı pH-ın olmasına baxmayaraq, M6P reseptorları baş verə bilən istənilən hər hansı yenidən-birləşməyə mane olurlar. Gecikən endosomlardan qovucuqların *retromerlər* kimi məlum olan tumurcuqlaması M6P reseptorları geriye *trans*-Qolci şəbəkəyə yenidən istifadəyə qaytarır. Sonda, yetişmiş gecikən endosomlar lizosomlarla qovuşur və lizosomal fermentləri onların son təyinat yerinə çatdırırlar.



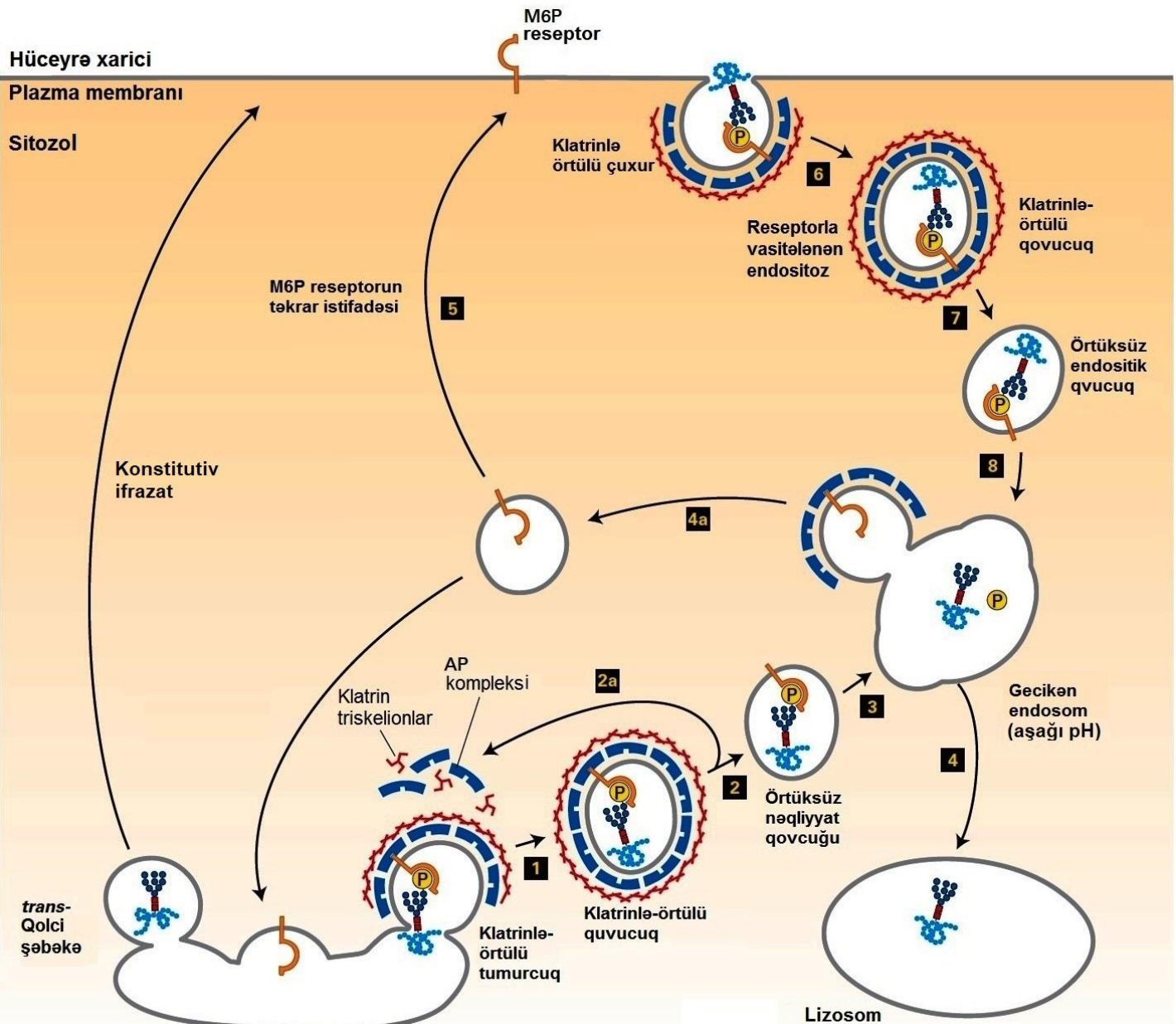
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-20 Hüceyrəsis ekstraktlarda klatrinlə-örtülü qivucuqların qopub ayrılması üçün GTP-nin dinaminlə hidrolizi tələb olunur. Geniş endositoza məruz qalan sinir uclarının preparatı distillə suyu ilə təsir etməklə lizis olundu və hidroliz oluna bilməyən GTP törəməsi GTP- γ -S ilə inkubasiya olundu. Preparat hissələrə ayrıldıqdan sonra qızılla-yarlıqlanmış anti-dinamin anticismə işlənilədi və elektron mikroskopunda baxıldı. Uzun-boyunlu klatrin/AP-qabıqlı tumurcuğun boyun hissəsində polimerləşmiş dinaminin düzüdüüyü bu təsvir aşkar edir ki, tumurcuqlar GTP hidrolizi baş vermədən əmələ gələ bilər, amma qovucuqlar qopub ayrılı bilmir. Dinaminin GTP- γ -S-in iştirakı ilə baş verən güclü polimerləşməsi normal tumurcuqlama prosesində baş vermir. [Nature-nin razılığı ilə Take K. et al., "Tubular membrane invaginations coated by dyamin rings are induced by GTP-gamma Sin nerve terminals"* 1995, *Nature* **374**(6518):186-190-dan yenidən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsi ilə alınmışdır.]

Həllolan lizosomal fermentlərin *trans*-Qolci şəbəkədə çeşidlənməsi (Şəkil 13-22, pillə 1-4) çox xüsusiyyətlərinə görə zülalların ER ilə *cis*-Qolci kompartmentləri arasındakı COPI və COPII qovucuqlarla hərəkətinə oxşardır. Birinci, M6P donor membranda reseptor zülalının lüminal domeni ilə əlaqəyə girərək çeşidləmə signalı kimi fəaliyyət göstərir. İkinci, membrana-batmış reseptorlar birləşdikləri liqandlarla birlikdə qovucuq qabığı ilə əlaqəyə girərək müvafiq qovucuqlara, indiki halda, ya GGA- ya da AP1-malik olan klatrin-qabıqlı qovucularla birləşirlər. Üçüncü, bu nəqliyyat qovucuqları yalnız bir spesifik orqanoiddə, bu halda spesifik v-SNARE-lər ilə t-SNARE-lər arasında qarşılıqlı əlaqənin nəticəsi kimi gecikən endosomlarla qovuşurlar. Nəhayət sonda, birləşdikləri liqandan dissosiasiya etmiş hüceyrədaxili nəqliyyat reseptorları retroqrad qovucuq hərəkəti ilə yenidən istifadəyə qayıdırlar.



ŞƏKİL 14-21 Həllolan fermentləri lizosomlara hədəf edən mannoza 6-fosfat (M6P) qalıqlarının əmələ gilməsi. Zülalları lizosomlara yönəldən M6P qalıqları *cis*-Qolcida iki Qolci-rezident fermentlər vasitəsi ilə yaranırlar. Pilla 1: *N*-asetilqlükozamin (GlcNAc) fosfotransferaza fosforlaşmış GlcNAc qrupunu bir və ya daha artıq mannoza qalıqlarının 6-cı karbon atomuna keçirir. Bu fermentlər tərəfindən tanınan və birləşən ardıcılığa (qırmızı) yalnız lizosomal

fermentlər malik olduğundan fosforlaşmış GlcNAc qrupları spşifik olaraq lizosomal fermentlərə əlavə edilir. Pilla 2: Modifikasiya olunmuş zülal fosfotransferazadan buraxıldıqdan sonra fosfodiesteraza GlcNAc qrupunu uzaqlaşdırır, fosforlaşmış mannoza qalığını lizosomal fermentlərdə saxlayır. Bax A.B. Cantor et al., 1992, *J. Biol. Chem.* 267:23349 və S. Komfeld, 1987, *FASEB J.* 1:462.



ŞƏKİL 14-22 Həllolan lizosomal fermentlərin trans-Qolci şəbəkədən və hüceyrə səthindən lizosomlara hərəkəti. ER-də istehsal olunan, yeni sintez olunmuş lizosomal fermentlər *cis*-Qolcida mannoza 6-fosfat (M6P) qalıqlarını qazanırlar (bax Şəkil 14-21). Sadəlik üçün yalnız bir fosforlaşmış oliqosaxarid zənciri göstərilir, hərçənd ki, tipik olaraq lizosomal fermentlər çox sayda belə zəncirlərə malik olurlar. *trans*-Qolci şəbəkədə, M6P çeşidləmə signalını daşıyan zülallar membranda M6P reseptorla əlaqəyə girirlər, beləliklə klattrin/AP1-qabıqlı qovucuğa yönəldirlər (pillə 1). Azad olmuş qovucuları əhatə edən qabıq dərhal de-polimerləşir (pillə 2) və qabıqsız nəliyyat qovucuları endosomlarla qovuşurlar (pillə 3).

Lizosomal Toplanıb Saxlanma Xəstəliklərinin Öyrənilməsi Lizosomal Çeşidləmə Yolunun Əsas Komponentlərini Aşkar Etdi



Lizosomal toplanıb saxlanma xəstəliyi (Lysosomal Storage Diseases) kimi adlanan genetik pozuntular bir və ya daha artıq lizosom fermentlərinin çatışmazlığı nəticəsində baş verir. Nəticədə, normal halda lizosom fermentləri ilə parçalanmalı olan həzm olunmayan qlikolipidlər və hüceyrəxarici komponentlər, böyük çöküntülər şəkilində lizosomlarda toplanır. Lizosomal toplanıb saxlama xəstəliyinə tutulmuş xəstələr, saxlama qüsurunun sərtliyindən və tipindən asılı olaraq müxtəlif inkişaf, fizioloji, neyroloji anormallıqlara malik ola bilərlər. *I-hüceyrə xəstəliyi*, lizosomlarda çoxsaylı fermentlərin yox olduğu lizosomal saxlama xəstəliyinin xüsusi sət tipidir. Bu xəstəliyə tutulmuş fərdlərdə, *cis*-Qolcida lizosomal fermentlərdə M6P qalıqlarının əmələ gəlməsi üçün tələb olunan *N*-aetilqlükozamin fosfotransferaza çatışmır (bax Şəkil 14-21). Normal fərdlərin lizosomal fermentlərinin *I-hüceyrə xəstəliyinə* tutulmuş xəstələrin lizosomal fermentləri ilə biokimyəvi müqayisəsi M6P-nin lizosomal çeşidləmə signalı kimi ilk dəfə aşkar olunmasına səbəb oldu. Bu signalın çatışmaması ilə, xəstə fərdlərin lizosomal fermentləri çeşidlənərək lizosomlarda ayrılmaqdan əvəz olaraq ifraz olunurlar.

I-hüceyrə xəstəliyinə tutulmuş xəstələrin fibroblastları M6P qalıqlarını daşıyan lizosom fermentlərinə malik olan mühitdə bitərkən xəstə hüceyrələr demək olar ki, lizosom fermentlərini normal hüceyrədəxili tərkibinə malik oldular. Bu nəticələr göstərdi ki, bu hüceyrələrin plazma membranı M6P reseptorlara malikdirlər və onlar hüceyrəxarici fosforlaşmış lizosomal fermentləri reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə daxilə mənimsəyə bilərlər. Birləşmiş zülalları və ya zərrəcikləri hüceyrə daxilinə gətirmək üçün çox hüceyrə-səthi reseptorlarının istifadə etdiyi bu proses növbəti bölmədə detalları ilə müzakirə olunur. İndi məlumdur ki, hətta normal hüceyrədə bəzi M6P reseptorlar plazma membranına daşınır və bəzi lizosomal fermentlər ifraz olunurlar (bax Şəkil 14-22). İfrz olunan fermentlər reseptorla-vasitələnən endositozla geriyyə alma və lizosomlara istiqamətləndirilə bilər. Beləliklə bu yol adi M6P çeşidləmə yolunu yan keçən istənilən lizosomal fermentləri kənarlaşdırma bilər.

I-hüceyrə xəstəliyi olan xəstələrdə hepatositlər lizosomal fermentlərin normal dəstinə malikdirlər və hətta bu hüceyrələr mannoza fosforlaşmasında qüsurlu olsalar da çöküntülər olmur. Bu kəşflər göstərir ki, hepatositlər (qaraciyərin ən çox yayılmış hüceyrə tipi) lizosomal fermentlərin çeşidlənməsində M6P-dən

Fosforlaşmış fermentlər M6P reseptordan dissosiasiya etdikdən və defosforlaşdıqdan sonra gecikən endosomlar lizosomlarla qovuşur (pillə 4). Qeyd edək ki, qabıq zülalları və M6P reseptorlar yenidən istifadəyə qayıdırlar (pillə 2a və 4a), bəzi reseptorlar isə hüceyrə səthinə çatdırılır (pillə 5). Fosforlaşmış lizosomal fermentlər arabilir *trans*-Qolciden hüceyrə səthinə çeşidlənir və ifraz olunurlar. Bu ifraz olunmuş fermentlər, lizosomal fermentlərin *trans*-Qolci şəbəkədən lizosomlara daşınması ilə yaxın paralel olan proseslə, reseptorla-vasitələnən endositozla geriyyə alma bilər (pillə 6-8). Bax G. Giffiths et al., 1988, *Cell* 52:329; Kornfeld, 1992, *Ann. Rev. Biochem.* 61:307; və G. Giffiths and Jş Gruenberg, 1991, *Trends Cell Biol.* 1:5.

asılı olan yoldan istifadə edirlər. Başqa hüceyrə tiplərində də fəaliyyət göstərə bilən bu yolun təbiəti hələ məlum deyil. ■

trans-Qolcidedə Zülal Aqreqasiyası Zülalların Tənzimlənən İfrazat Qovucularına Çeşidlənməsində Fəaliyyət Göstərə Bilər

Fəslin girişində qeyd olunduğu kimi, bütün eukariot hüceyrələr fasiləsiz şəkildə müəyyən zülalları ifraz edirlər (konstitutiv ifrazat). İxtisaslaşmış ifrazat hüceyrələri başqa zülalları qovucularda ehtiyat saxlayır və spesifik stimula alınan zaman onları ifraz edirlər. Belə tənzimlənən ifrazatın bir nümunəsi mədəaltı β hüceyrələrdə baş verir, burada yeni istehsal olunmuş insulin xüsusi ifrazat qovucularında saxlanılır və qanda qlükozanın miqdarının artmasına cavab olaraq ifraz olunur (bax Şəkil 16-39). Bu və digər ifrazat hüceyrələri, zülalları *trans*-Qolci şəbəkədən hüceyrə səthinə aparmaq üçün eyni zamanda iki müxtəlif tip ifrazat qovucularından istifadə edirlər: tənzimlənməyən nəqliyyat qovucuları (bunlar həmçinin konstitutiv ifrazat qovucuları adlanır) və tənzimlənən nəqliyyat qovucuları.

Ümumi bir mexanizm ACTH (adrenokortikotropik hormon) insullin, tripsinogen kimi geniş müxtəliflikdə tənzimlənən zülalları tənzimlənən ifrazat qovucularına çeşidləyir. Belə bir ümumi mexanizm barədə dəlillər, artıq ACTH sintez edən hipofiz şiş hüceyrələrində insullinin və tripsinogenin sintezi üçün rekombinant DNT texnologiyasının istifadə olunduğu eksperimentlərdən alınmışdır. Normal halda insullini və ya tripsinogeni ekspressiya etməyən bu hüceyrələrdə, hər üç zülal eyni tənzimlənən ifrazat qovucularına ayrılırlar (seqreqasiya edirlər) və hormon hipofiz hüceyrələrində reseptora birləşəndə və sitozolda Ca²⁺ ionlarının miqdarını yüksəldəndə birlikdə ifraz olunurlar. Hərçənd ki, bu üç zülal çeşidləmə signalı rolunu oynaya bilən identik aminturşu ardıcılığına malik deyillər, amma onlar onların tənzimlənən ifrazat qovucularına birləşməsinə signal verən başqa bir ümumi xüsusiyyətə malik olmalıdırlar.

Morfoloji dəlillər göstərir ki, tənzimlənən ifrazat yolunda çeşidləməyə selektiv zülal aqreqasiyası ilə nəzarət olunur. Məsələn, bu yolda *trans*-Qolci şəbəkədən yenidən tumurcuqlayan yetişməmiş qovucular, ifrazat zülallarının elektron mikroskopunda görünə bilən diffuziya aqreqatlarına malik olurlar. Həmçinin, tumurcuqlama prosesində olan qovucularda tapılmış bu aqreqatlar göstərir ki, tənzimlənən ifrazat qovucularına təyin edilən zülallar qovuculara qoşulmadan öncə birlikdə selektiv aqreqasiya edirlər.

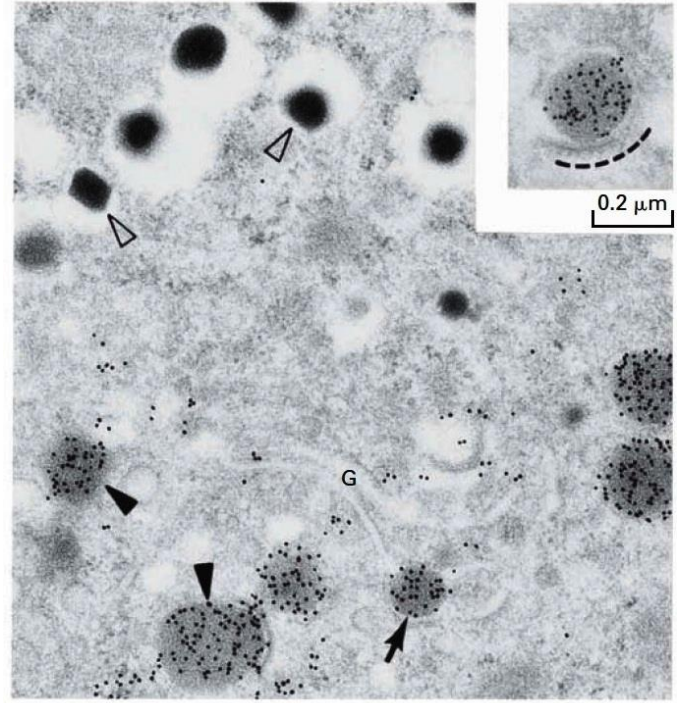
Başqa tədqiqatlar göstərdi ki, məməlilərin ifrazat hüceyrələrinin tənzimlənən ifrazat qovucuqları üç turş zülalə – *xromoqranin A*, *xromoqranin B* və *sekretoqranin II* zülallarına malikdir, guman olunur ki, *trans*-Qolci şəbəkədə bunlar ion şəraitində (pH 6.5 və 1mM Ca²⁺) inkubasiya olunarkən birlikdə aqreqat əmələ gətirirlər, belə aqreqatlar ER-in neytral pH-da əmələ gəlmir. Tənzimlənən ifrazat zülallarının xromoqranin A , xromoqranin B və sekretoqranin II ilə birlikdə selektiv aqreqat əmələ gətirməsi bu zülalların tənzimlənən ifrazat qovucuqlarına çeşidlənməsinin əsası ola bilər. Bu zülallarla assosiasiya etməyən və ona görə də aqreqasiya etməyən ifrazat zülalları ilkin olaraq tənzimlənməyən ifrazat qovucuqlarına çeşidlənməlidirlər.

Bəzi Zülallar *trans*-Qolcidən Çıxdıqdan Sonra Proteolitik Prosesinqə Məruz Qalırlar

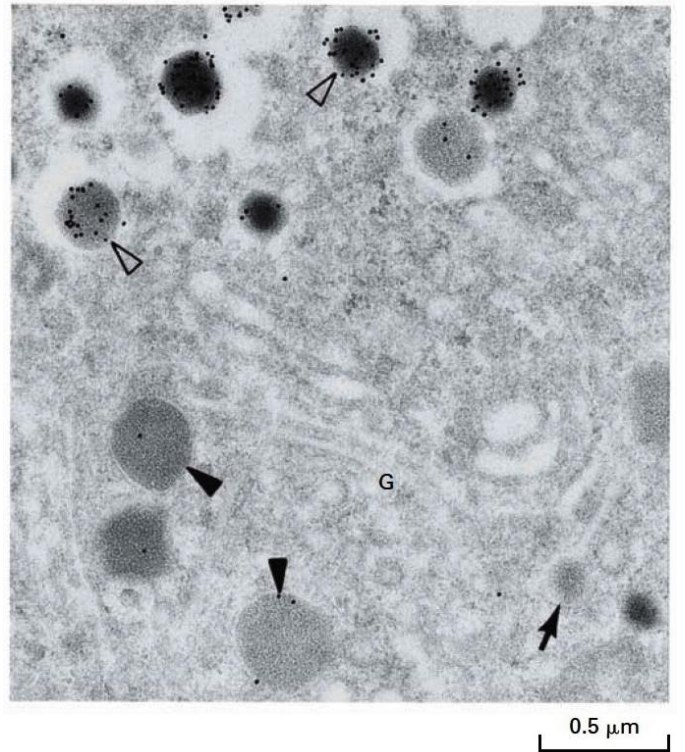
Bəzi ifrazat zülalları üçün (məsələn, boy hormonları) və müəyyən virus membran zülalları üçün (məsələn, VSV G zülalı) yeni sintez olunan zəncirdən N-sonluq ER siqnal ardıcılığının kəsilib atılması polipeptidi yetkin fəal zülalə çevirmək üçün tələb olunan məlum olan yeganə proteolitik kəsilmədir (bax Şəki 13-6). Amma, bəzi membran zülalları və çoxsaylı həllolan ifrazat zülalları ilkin olaraq *prozülallar* (*proproteins*) adlandırılan, nisbətən uzun-ömürlü, qeyri fəal sələf zülal kimi sintez olunurlar və yetkin fəal zülalları yaratmaq üçün onların daha da proteolitik prosesinqdən keçmələri tələb olunur. Belə prosesinqə məruz qalan zülalların nümunəsinə həllolan lizosomal fermentlər, qrip hemaqqlutinin (HA) kimi çoxsaylı membran zülalları, zərdab albumini, insulin, qlükaqon və maya α cütləşmə faktoru kimi ifraz olunan zülallar aiddir. Ümumiyyətlə, zülalın müvafiq yetkin zülalə proteolitik çevrilməsi *prozülalın trans*-Qolci şəbəkədə müvafiq qovucuqlara çeşidlənməsindən sonra baş verir.

EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-23 Proinsulinin proteolitik kəsilməsi tumurcuqlayib *trans*-Qolci şəbəkədən ayrıldıqdan sonra ifrazat qovucuqlarında baş verir. Insulin ifraz edən hüceyrələrin Qolci rayonunun serial kəsikləri (a) proinsulini tanıyan, amma insulini tanımayan monoklonal anticismlə, və ya (b) insulini tanıyan, amma proinsulini tanımayan başqa anticismlə rənglənmişdir. Elektronburaxmayan qızıl zərrəciklərlə birləşmiş anticismlər bu elektron mikrofotoda qaranlıq (tünd) nöqtələr kimi meydana çıxırlar (bax 4-33). Qeyri yetkin ifrazat qovucuqları (qapalı ox başlıqları) və *trans*-Qolcidən tumurcuqlayan qovucuqlar (oxlar) proinsulin anticismi ilə rənglənir, amma insulin anticismi ilə rənglənmir. Bu qovucuqlar proinsulin və başqa tənzimlənən ifrazat zülallarına malik olan diffuz zülal aqreqatlarına malikdirlər. Yetkin qovucuqlar (açıq ox başlıqları) insulin anticismi ilə rənglənir, amma proinsulin anticismi ilə rənglənmir və kristal insulindən ibarət olan sıx özəyə malikdir. Tumurcuqlar və qeyri yetkin ifrazat qovucuqları (insulinə deyil) proinsulinə malikdirlər, proinsulinin insulinə proteolitik çevrilməsi bu qovucuqlarda onlar *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqladıqdan sonra baş verməlidir. (a)-da əlavə daxiledilmə proinsulinlə-zəngin, zülal qabığıla əhatə olunmuş (qırıq xətlər) ifrazat qovucuğunu göstərir. [Elsevier-in razılığı ilə Orci L. et al., “Proteolytic maturation of insulin is a post-Golgi event which occur in acidifying clathrin-coated secretory vesicles” 1987, *Cell* 49(6):865-868-dən yenidən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsi ilə alınmışdır.]

(a) Proinsulin anticism



(b) İnsulin anticism



Həllolan lizosomal fermentlər olan halda, profermentlər adlanan *prozülallar* M6P reseptorla katalitik cəhətdən qeyri fəal fermentlər kimi çeşidlənir. Gecikən endosomlarda və ya lizosomlarda profermentlər, oxşar, amma fermentativ cəhətdən fəal polipeptidi əmələ gətirən proteolitik kəsilməyə məruz qalırlar. Lizosomal profermentlərin onların lizosomlara çatdırılmasına qədər fəallaşmasının gecikməsi ifrazat yolunun

əvvəlki kompartmentlərində onların makromolekulları dağıtmasına mane olur.

Normal halda, ifraz olunan zülalları hüceyrə səthinə daşıyan yetkin qovucuqlar prozülallara malik olan bir neçə yetişməmiş qovucuğun qovuşması ilə yaranır. Proinsulin kimi prozülalların proteolitik kəsilməsi onların *trans*-Qolci şəbəkədən uzaqlaşdırılmasından sonra qovucuqlarda baş verir (Şəkil 14-23). Konstitutiv ifraz olunan əksər zülalların (məsələn, albumin) prozülalı yalnız bir dəfə, Arg-Arg və ya Lys-Arg kimi iki-əsaslı tanınma ardıcılığının C-sonluq tərəfindəki saytıdan kəsilir (Şəkil 14-24a). İfraz olunması tənzimlənən zülalların proteolitik prosesinqi əsasən əlavə kəsilmələr ilə baş verir. Proinsulində vahid bir polipeptid zəncirinin çoxsaylı kəsilmələri yetkin insulinin disulfid rabitələrlə əlaqələmiş N-sonluqlu B zəncirini, C-sonluqlu A zəncirini və parçalanıb dağılan mərkəzi C peptidini əmələ gətirir (Şəkil 14-24b).

Bir sıra ifraz olunan zülalların prosesinqində əsas rol oynayan proteazaların identifikasiyasındakı irəliləyiş mayanın mutasiya olan *KEX2* geninin analizlərindən gəldi. Bu mutant hücerələr α cütləşmə faktorunun sələflərini sintez etdilər, amma proteolitik olaraq onları prosesinqlə funksional formaya gətirə bilmədilər, beləliklə əks cütləşmə tipinin hüceyrələri ilə cütləşə bilmədilər. Təbii formalı *KEX2* geni α faktorunun sələfini Arg-Arg və Lys-Arg qalıqlarından C-sonluğa tərəf kəsən endoproteazanı kodlaşdırır. Məməlilər mayanın *KEX2* zülalına homoloji olan entoproteazalar ailəsinə malikdirlər və bunların hamısı zülal zəncirini Arg-Arg və Lys-Arg ardıcılığını C-sonluq tərəfindən kəsir. Bunlardan *furin* adlanan biri bütün məməli hüceyrələrində tapılmışdır, o konstitutiv ifraz olunan albumin kimi zülalları proses edir. Əksinə, *PC2* və *PC3* endoproteazalar yalnız tənzimlənən ifrazatı nümayiş etdirən hüceyrələrdə tapılmışdır, bu fermentlər tənzimlənən ifrazat qovucuqlarında yerləşirlər və çox hormonların sələflərini spesifik saytlardan proteolitik kəsirlər.

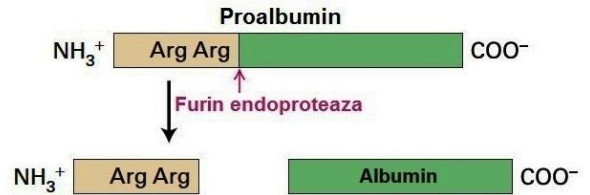
Bir Neçə Yol Membran Zülallarını Polyarlaşmış Hüceyrələrin Apikal və ya Bazolateral Rayonuna Çeşidləyir

Polyarlaşmış epitel hüceyrələri iki domenə, **apikal** və **bazolateral** domenlərə ayrılırlar. İki domen arasında yerləşən sıx qovşaq plazma-membranı zülallarının onlar arasında hərəkət etməsinə mane olur (bax Şəkil 20-11). Müxtəlif çeşidləmə mexanizmləri yeni sintez olunmuş membran zülallarını epitel hüceyrələrinin ya apikal ya da bazolateral domenlərinə yönəldir və istənilən hər hansı bir zülal birdən artıq mexanizmlə çeşidlənə bilər. Bu çeşidləmənin və plazma membranı daxilində zülalın hərəkətinin sıx qovşaqlarla məhdudlaşdırılması nəticəsində apikal və bazolateral domenlərdə zülalların müxtəlif dəstləri tapılmışdır. Müəyyən nəqliyyat zülallarının belə üstünlük təşkil edən lokalizasiyası, qida maddələrinin bağırsağ boşluqlarından sorulması və mədə boşluğunun turşulaşması kimi çoxsaylı müxtəlif fizioloji proseslərdə kritik əhəmiyyət kəsb edir (bax Şəkil 11-30 və 11-31).

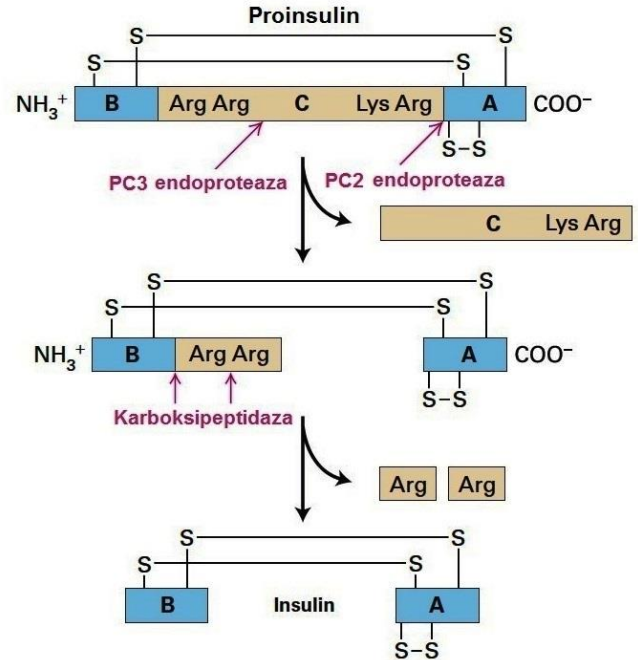
Mikroskopik tədqiqatlar və hüceyrə-fraksiyaladurma tədqiqatları göstərdi ki, apikal və ya bazolateral membran təyinatlı zülallar əvvəlcə birlikdə *trans*-Qolci şəbəkənin membranlarına daşınırlar. Bəzi hallarda, apikal membran üçün təyin edilmiş zülallar *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayır

ayrılan öz nəqliyyat qovucuqlarına çeşidlənir və sonra apikal rayona keçirlər, halbiki bazolateral membrana təyin edilmiş zülallar bazolateral rayona gedən başqa qovucuqlara çeşidlənirlər. Müxtəlif qovucuq tipləri onların zülal tərkiblərinə görə, o cümlədən onları müvafiq plazma membranı domeninə hədəf edən fərqli Rab və v-SNARE zülallarına görə fərqlənə bilərlər. Bu mexanizmdə, iki domen üçün təyin edilmiş zülalların ayrılması (secreqasiyası) yük zülalları *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan xüsusi tip qovucuqlara daxil olan kimi baş verir.

(a) Konstitutiv ifraz olunan zülallar



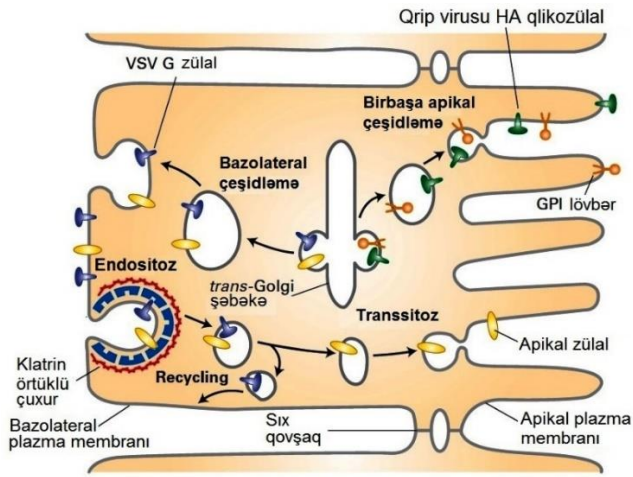
(b) Tənzimlənən ifraz olunan zülallar



ŞƏKİL 14-24 Zülalların konstitutiv və tənzimlənən ifrazat yollarında proteolitik prosesinqi. Proalbumin və proinsulinin prosesinqi müvafiq olaraq konstitutiv və tənzimlənən yolların nümunəsidir. Belə prosesinqdə fəaliyyət göstərən endoproteazalar iki ardıcıl amin turşusunun ardıcılığını C-sonluq ucundan kəsir. (a) Endoproteaza furin konstitutiv ifrazat zülallarının sələfi kimi fəaliyyət göstərir. (b) İki endoproteaza, PC2 və PC3 tənzimlənən ifrazat zülallarının sələflərinə təsir edir. Çox belə zülalların son prosesinqi, polipeptidin C-sonluğunda ardıcıl olaraq iki əsas (qələvi) amin turşusu qalıqlarını uzaqlaşdıran karboksipeptidaza ilə kataliz olunur. Bax D. Steiner et al., 1992, *J. Biol. Chem.* **267**:23435.

Bu cürə birbaşa bazolateral çeşidləmə kultura olunan Madin-Darbi köpək böyrəyi (MDCK) hüceyrələrində, kultura olunan polyarlaşmış epitel hüceyrə xəttində öyrənilmişdir (bax

Şəkil 4-4). Qrip virusuna yoluxdurulmuş MDCK hüceyrələrində yeni nəsil viruslar yalnız apikal membrandan tumurcuqladılar, halbuki vazikulyar stomatit virusu (VSV) yoluxdurulmuş hüceyrələrdə yeni nəsil viruslar yalnız bazolateral membrandan tumurcuqladılar. Bu fərq ona görə meydana gəldi ki, qrip virusunun HA qlikozülali Qolci kompleksindən yalnız apikal membrana, VSV G zülali isə yalnız bazolateral membrana daşınırlar (Şəkil 14-25).



ŞƏKİL 14-25 Polyarlaşmış hüceyrələrin apikal və bazolateral plazma membranlarına təyin olunmuş zülalların çeşidlənməsi.

Kultura olunan MDCK hüceyrələri eyni zamanda VSV və qrip virusu ilə yoluxdurulduqda VSV G zülalı (bənövşəyi) bazolateral membrana birləşir, halbuki qrip HA qlikozülali (yaşıl) yalnız apikal membrana birləşir. Bəzi hüceyrə zülalları (narıncı dairələr), xüsusən GPI lövbərə malik olan zülallar yəqin ki, birbaşa apikal membrana çeşidlənir, başqaları isə (göstərilmiş) *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan xüsusi nəqliyyat qovucuqları ilə bazolateral membrana çeşidlənir. Müəyyən polyarlaşmış hüceyrələrdə bəzi apikal və bazolateral zülallar birlikdə bazolateral səthə daşınırlar, sonra apikal zülallar (sarı oval) selektiv şəkildə endositoz və transsitoz yolu ilə hərəkət edərək apikal membrana keçirlər. Bax K. Simons and A. Wandinger-Ness, 1990, Cell 62:207 və K. Mostov et al., 1992, J. Cell Biol. 116:577.

Zülallarda, məsələn, bazolateral domenə hədəf olunan VSV G zülalında mutasiya tədqiqatları, onların sitozol domenlərində iki əsas sinifə bölünən hədəfləmə ardıcılığını müəyyən etdi. *Tirozin-əsaslı* motif və *di-leysin-əsaslı* motif kimi məlum olan bu motiflər növbəti bölmədə təsvir edilmiş və membran zülallarının klatrin adaptor komplekslərlə birləşməsi üçün tələb olunan motiflərə uyğun gəlir. Bu nəticələr zülalların bazolateral membrana çeşidlənməsində klatrin-örtüklü qovucuqların güclü şəkildə tətbiq olunduqlarını göstərir.

Qolcidə oxşar apikal-bazolateral çeşidləməyə məruz qalan hüceyrə zülalları arasında *qlikozilfosfatidilinositol (GPI) membran lövbərlərinə* malik olanlar da vardır. MDCK hüceyrələrində və əksər başqa tip epitel hüceyrələrində GPI-lövbərli zülallar apikal membrana hədəf olunurlar. Membranlarda GPI-lövbərli zülallar, sfinqolipidlərlə zəngin olan lipid sallarında klasterlər əmələ gətirirlər (bax Fəsil 7). Bu tapıntılar deməyə imkan verir ki, çox hüceyrələrdə lipid sallar daha üstünlüklə apikal membranda onları hissələrə bölən

zülallarla yanaşı yerləşirlər. Amma, GPI lövbər bütün polyarlaşmış hüceyrələrdə apikal çeşidləmə siqnalı deyildir, məsələn qalxanabənzər vəz (thyroid) hüceyrələrində GPI-lövbərli zülallar bazolateral membrana hədəf olunurlar. GPI lövbərlərdən başqa, zülalları istər apikal istərsə də bazolateral domenlərə hədəf etmək üçün həm zəruri olan həm də kifayət edən heç bir unikal ardıcılıq identifikasiya olunmamışdır. Bunun əvəzində, hər bir membran zülalı çoxsaylı çeşidləmə siqnalına malik ola bilər və onlardan istənilən biri zülalı müvafiq plazma membranı domeninə hədəf edə bilər. Hal-hazırda polyarlaşmış epitel hüceyrələrinin spesifik plazma membranı domenlərinə çeşidlənən çoxsaylı zülallar üçün bu kompleks siqnalların və onları tanıyan qovucuq qabıq zülallarının identikliyi araşdırılır.

Apikal və bazolateral zülalların çeşidlənməsinin Şəkil 14-25-də təsvir edilmiş başqa bir mexanizmi hepatositlərdə fəaliyyət göstərir. Hepatositlərin bazolateral membranı qana baxır (bağırsaqdaxili epitel hüceyrələrində olduğu kimi) və apikal membranlar içərisindən öd ifraz olunan kiçik hüceyrədaxili kanalları yaradır. Hepatositlərdə, yeni istehsal olunmuş apikal və bazolateral zülallar birinci qovucuqlarda *trans*-Qolci şəbəkədən bazolateral rayona daşınırlar və eqzositozla plazma membranına daxil olurlar (başqa sözlə, qovucuq membranlarının plazma membranı ilə qovuşması baş verir). Oradan, həm bazolateral həm də apikal zülallar eyni qovucuqlarda endositoz olunurlar, amma sonra onların yolu ayrılır. Endositoz olunan bazolateral zülallar onları yenidən istifadə üçün bazolateral membrana qaytaran nəqliyyat qovucuqlarına çeşidlənirlər. Əksinə, apikal təyinatlı endositoz olunmuş zülallar bütün hüceyrədən keçərək apikal membrana qovuşan nəqliyyat qovucuqlarına çeşidlənirlər, bu proses **transsitoz** adlanır. Bu proses hüceyrəxarici materialların epitelinin bir tərəfindən digər tərəfinə aparılmasında da istifadə olunur. Hətta, apikal-bazolateral zülal çeşidlənməsinin Qolcidə baş verdiyi MDCK hüceyrələri kimi epitel hüceyrələrində, transsitoz redaktə etmə funksiyasını da yerinə yetirə bilər, belə ki, səhvən bazolateral membrana çeşidlənmiş apikal zülal endositoza məruz qoyulur və düzgün olaraq apikal membrana çatdırılır.

14.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

İfrazat Yolunun Sonrakı Mərhələləri

- *trans*-Qolci şəbəkə ifrazat yolunda əsas şaxələnmə nöqtəsidir, burada həllolan ifrazat zülallarının, lizosomal zülalların və bəzi hüceyrələrdə bazolateral və apikal plazma membranlarına təyin olunmuş membran zülallarının müxtəlif nəqliyyat qovucuqlarına ayrılması baş verir.
- *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan çox qovucuqlar və eləcə də endositoz qovucuqları AP (adaptor zülal) kompleksindən və klatrindən təşkil olunmuş qabığı daşıyırlar (bax Şəkil 14-18).
- Klatrinlə-örülük qovucuqların qopub ayrılması, qovucuq tumurcuğunun boynu ətrafında xamut əmələ gətirən və GTP-ni hidroliz edən dinamin zülalını tələb edir (bax Şəkil 14-19).
- Lizosomlara təyin olunmuş həllolan fermentlər *cis*-Qolcidə çoxsaylı mannoza 6-fosfat (M6P) qalıqlarının onların

oliqosaxarid zəncirinə əlavə edilməsi ilə modifikasiya olunurlarlar.

- *trans*-Qolci şəbəkənin membranında M6P reseptorlar M6P qalıqlarını daşıyan zülallara birləşirlər və onları gecikən endosomlara yönəldirirlər, burada reseptorlar və onların liqand zülalları dissosiasiya edirlər. Sonra reseptorlar yenidən istifadə üçün Qolciyə və ya plazma membranına qaytarılırlar, lizosomal fermentlər isə lizosomlara çatdırılırlar (bax Şəkil 14-22).
- Tənzimlənən ifrazat zülalları qatılaşdırılır və ifrazat qovucuqlarında saxlanılaraq endositoz olunmaq üçün sinir və ya hormonal siqnalları gözləyirlər. *trans*-Qolci şəbəkə daxilində zülalın aqreqasiyası ifraz olunan zülalların tənzimlənən ifrazat yoluna çeşidlənməsində rol oynayır.
- İfrazat yolu ilə daşınan çox prozülallar yetkin və fəal zülalı əmələ gətirən post-Qolci proteolitik kəsilməyə məruz qalırlar. Bu proteolitik yetişmə *trans*-Qolci şəbəkədən zülalları hüceyrə səthinə daşıyan qovucuqlarda, gecikən endosomlarda və ya lizosomlarda baş verə bilər.
- Polyarlaşmış epitel hüceyrələrində, plazma membranının apikal və ya bazolateral domenlərinə təyin olunmuş membran zülalları *trans*-Qolci şəbəkədə müxtəlif qovucuqlar daxilinə çeşidlənir (bax Şəkil 14-25). GPI lövbəri bu vaxta qədər identifikasiya olunmuş yeganə apikal-bazolateral çeşidləmə siqnalıdır.
- Hepatositlərdə və bəzi başqa polyarlaşmış hüceyrələrdə bütün plazma membranı zülalları əvvəlcə bazolateral membrana yönəldilir. Sonra, apikal təyinatlı zülallar endositoz olunur və bütün hüceyrəni keçərək apikal membrana qovuşur (transsitoz).

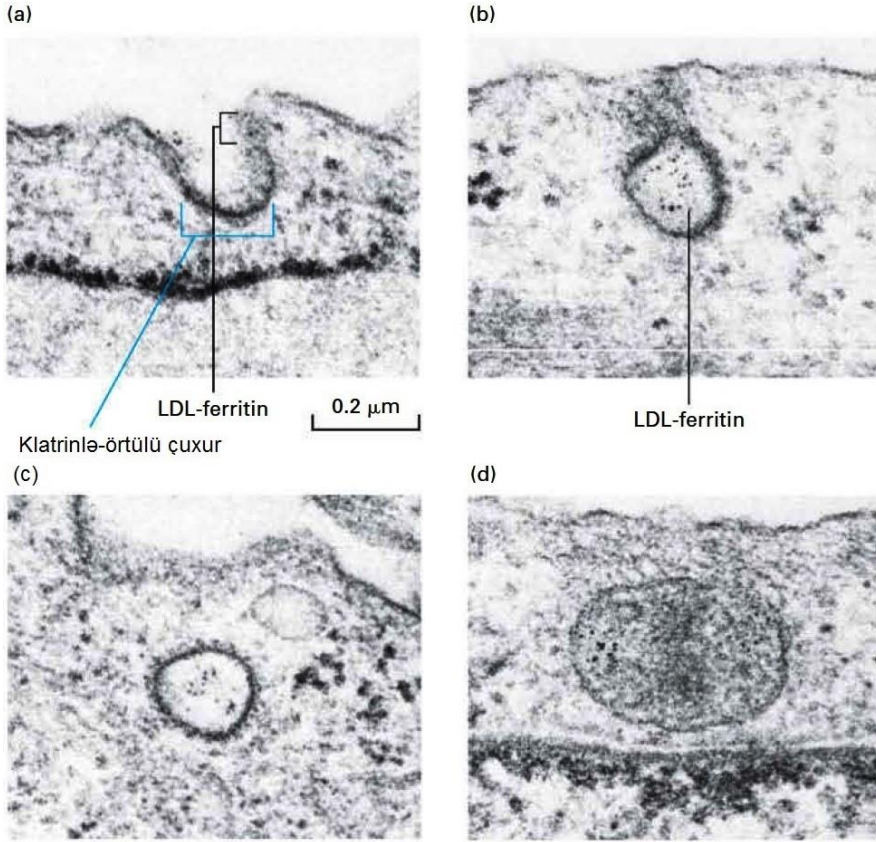
14.5 Reseptorlar-Vasitəsi ilə Endositoz

Əvvəlki bölmələrdə biz, qarışıq ER-də sintez olunan həllolan və membran ifrazat zülallarının hüceyrə səthinə və ya digər təyinat yerlərinə çatdırıldığı əsas yolları araşdırdıq. Hüceyrələr materialları onları əhatə edən mühitdən daxilə mənimsəyə və onları xüsusi təyinat yerinə çeşidləyə bilirlər. Çox az hüceyrə tipləri (məsələn, makrofaqlar) bütöv bakteriyaları və digər zərrəcikləri, plazma membranının genişlənərək udulan materialı əhatə edib **faqosomlar** adlanan böyük qovucuğu əmələ gətirdiyi, qeyri-selektiv, aktivləşdirilən proses olan **faqositoz** yolu ilə daxilə mənimsəyə bilirlər (bax Şəkil 17-19). Bütün eukariot hüceyrələr fasiləsiz şəkildə endositozla məşğul olaraq plazma membranını invaziya edərək membranla məhdudlaşan, təxminən 0.05-0.1 µm diametrdə olan

qovucuqları əmələ gətirirlər. Endositozun **pinositoz** adlanan bir formasında, hüceyrəxarici mayenin kiçik damlası və onda həll olan istənilən materiallar qeyri-spesifik udulur. Amma, bu bölmədə bizim diqqətimiz, reseptorla-vasitələnən endositoza yönəlir, bu zaman hüceyrə səthinə spesifik reseptor onun tanıdığı hüceyrəxarici makromolekulyar liqanda sıx şəkildə birləşir, reseptor-liqand kompleksinə malik olan plazma-membranı rayonu daxilə tumurcuqlayaraq batıq əmələ gətirir və sonra qoparaq nəqliyyat qovucuqlarına çevrilir.

Onurğalılarda hüceyrələrinin reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə daxilə mənimsədiyi geniş yayılmış makromolekullar arasında xolesterinə-malik olan *aşağı sıxlıqlı lipozülalların* (LDL) zərrəcikləri, dəmir-daşıyan transferrin zülalı, çoxsaylı zülal hormonlar (məsələn, insulin) və bəzi qlikozülalları göstərmək olar. Belə liqandların reseptorla-vasitələnən endositozu ümumiyyətlə klatrin/AP2-qabıqlı batıqlarla baş verir və qovucuqların əmələ gəlməsi lizosomal fermentlərin *trans*-Qolci şəbəkədə M6P reseptorlara birləşərək qatılaşdırıldığı (bax Şəkil 14-22) oxşar proseslə gedir. Əvvəllər qeyd olunduğu kimi, bəzi M6P reseptorlar hüceyrə səthinə tapılmışdır və bu reseptorlar səhvən ifraz olunmuş lizosomal fermentlərin reseptorla-vasitələnən endositozunda iştirak edirlər. Ümumiyyətlə, hüceyrəxarici liqandların udulmasında iştirak edən transmembran reseptor zülalları endositoz zamanı hüceyrə səthinə hüceyrə daxilinə keçirilir və sonra çeşidlənərək yenidən geriye hüceyrə səthinə qaytarılırlar, M6P reseptorlar kimi əksər reseptorlar plazma membranına və *trans*-Qolciyə qaytarılırlar. Liqandın hüceyrə daxilinə mənimsənilməsi sürət onun hüceyrə səthinəki müvafiq reseptorunun miqdarı ilə məhdudlaşır.

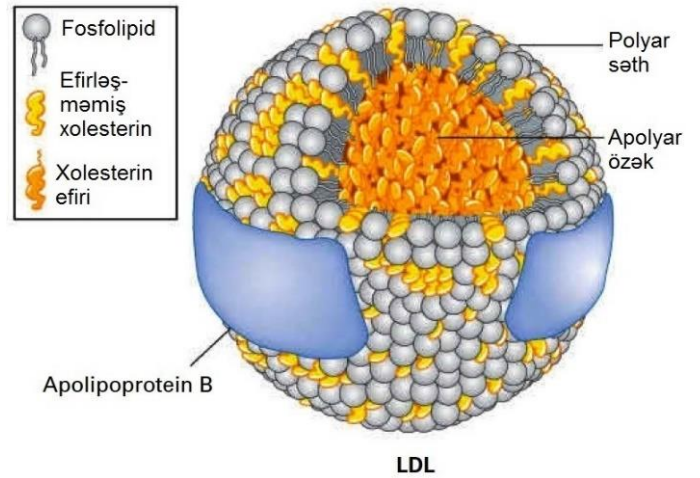
Klatrin/AP2-qabıqlı batıqlar hepatosit və fibroblastlarda hüceyrə səthinin təxminən 2 faizə qədərini təşkil edir. Daxilə mənimsənilmiş çox liqandlar klatrin/AP2-qabıqlı batıqlarda və qovucuqlarda müşahidə edilmişdir və guman olunur ki, bunlar hüceyrə-səth reseptorlarına birləşmiş əksər (bəlkə də bütün) liqandların endositozunda intermedialar kimi fəaliyyət göstərirlər (Şəkil 12-46). Bəzi reseptorlar, hətta liqand olmadıqda belə, klatrin-qabıqlı batıqlar üzərində klaster əmələ gətirirlər. Başqa reseptorlar plazma membranı müstəvisindən asanlıqla diffuziya edə bilirlər, amma onlar liqanda birləşəndə konformasiya dəyişikliyinə məruz qalırlar, belə ki, reseptor-liqand kompleksi klatrin-örtüklü batığa diffuziya etdikdə orada saxlanılır. LDL və transferrin kimi iki və ya daha artıq tiptə reseptor-birləşmiş liqandlar eyni qabıqlı batıqda və ya qovucuqda müşahidə oluna bilər.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-26 Aşağı-sıxlıqlı lipozülal zərrəciklərinin reseptorla-vasitələnmən endositozunun ilkin mərhələsi elektron mikroskopu ilə aşkar edilmişdir. İnsanın kultura olunan fibroblastı tərkibində elektron-sıx, dəmir-dəşiyən zülal ferritinlə kovalent əlaqəli LDL zərrəciklər olan mühitdə inkubasiya olunmuşdur, ferritindəki hər bir kiçik dəmir zərrəciyi elektron mikroskopu altında kiçik nöqtə kimi görünür. Hüceyrələr əvvəlcə 4 °C-də inkubasiya olundular, bu temperaturda LDL öz reseptoruna birləşə bilir, amma onun daxilə mənimsənilməsi baş vermir. LDL-in hüceyrəyə birləşməyən artıq hissəsi sonra yuyularaq atılır, sonra hüceyrələr 37 °C qızdırılır və dövrü intervalla mikroskopiya üçün hazırlanır. (a) Qabıqlı batıq temperatur qaldırıldıqdan dərhal sonra batığın daxili (sitozol) səthindəki klatrin örtüyü göstərir. (b) LDL-ə malik olan batıq, görünür qabıqlı qovucuğu əmələ gətirmək üçün özü-özünə örtülür. (c) Ferritin-yarlıqlı LDL zərrəciklərə malik olan qabıqlı qovucuq. (d) Ferritin-yarlıqlı LDL zərrəciklər, daxilə mənimsənilmə başladıqdan 6 dəqiqə sonra hamarsəthli gecikən endosomlarda. Həmçinin bax M.S. Brown and J. Goldstein, 1986, *Science* **232**:34. [Fotoqrafiya Nature-nin razılığı ilə Goldstain J. Et al., "Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis" 1979, *Nature* **279**:679-685-dən yenidən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsi ilə alınmışdır.]

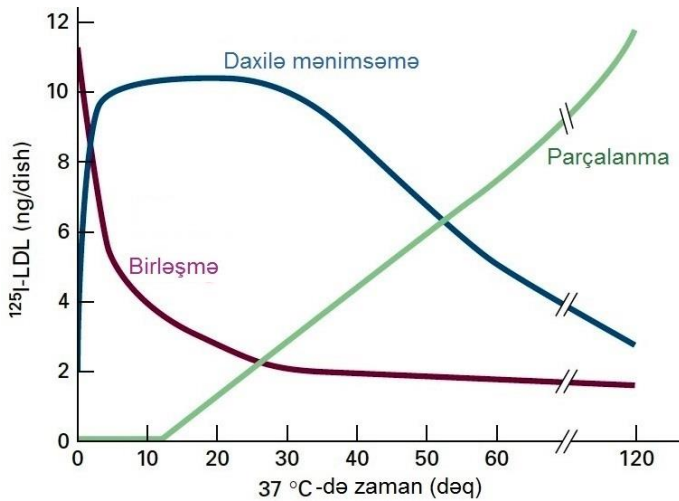
Hüceyrələr Qandan Lipidləri Böyük və Yaxşı-Təyin Edilmiş Lipozülal Kompleksləri Formasında Götürülər

Bağrsaqlarda qıdadan udulmuş və ya piy toxumalarında saxanılan lipidlər bütün bədən boyu hüceyrələrə çatdırıla bilər. Hüceyrələr arasında lipidlərin kütləvi ötürülməsinə imkan yaratmaq üçün təkamülün gedişində heyvanlar, yüzrlə və ya minlərlə lipid molekullarını suda-həllolan makromolekulyar daşıyıcılar lipozülallar şəkilində qablaşdırmağın, hüceyrələrin dövrəedicici sistemdən asanlıqla ansambl (qrup) kimi götürə biləcəyi çox əhəmiyyətli bir yolunu inkişaf etdirmişlər. Bütün lipozülal zərrəciklər, xolesterin-saxlayan fosfolipid birləşməsini örtən, zülallardan (*apolipozülallar*) təşkil olunmuş örtüyə malikdirlər. Qabıq amfipatikdir, çünki onun xarici səthi hidrofildir, zərrəcikləri suda-həllolan hala gətirir, daxili səthi isə hidrofobdur. Örtüyün hidrofob daxili səthinin altı xolesterin efrirlərindən və tri-qliseridlərdən və ya hər ikisindən təşkil olunmuş neytral lipidlər özəyindən ibarətdir. Məməlilərin lipozülalları fərqli üzən sıxlıqlarına görə müxtəlif siniflərə ayrılırlar. Bizim burada baxacağımız sinif *aşağı sıxlıqlı lipozülallardır (LDL)*. Şəkil 14-27-də verilmiş tipik LDL zərrəcik 20-25 nm diametrdə olan kürəciklərdir. Amfipatik xarici zireh (qabıq) fosfolipid birləşməsindən və *apoB-100* kimi məlum olan bir molekul böyük zülaldan təşkil olunmuşdur; zərrəciyin özəyi xolesterin efrirləri şəkilində xolesterinlə qablaşdırılmışdır.



ŞƏKİL 14-27 Aşağı sıxlıqlı lipozülal (LDL) modeli. Lipozülalların bütün sinifləri ümumi əsas quruluşa: apolipozülallardan təşkil olunmuş amfipatik zirehə (qabığa), fosfolipid birləşməsinə (ikiqatlıya deyil) və xolesterinə, bir də əsasən xolesterin efrirlərindən və ya triqliseridlərdən, ya da hər ikisindən, amma çox az miqdarda başqa neytral lipidlərlə (məsələn, bəzi vitaminlər) təşkil olunmuş hidrofob özəyə malikdirlər. LDL-in bu modeli elektron mikroskopuna və başqa aşağı rezolyusiyalı biofiziki metodlara əsaslanmışdır. LDL onunla unikaldir ki, o bir tip apolipozülalın (ApoB) yalnız bir molekuluna malik olub zərrəciklərə zülal bəndi kimi xarici tərəfdən sarınır. Başqa lipozülallar çox zaman müxtəlif tiplərdən ibarət olan çoxsaylı apolipozülal molekullarına malik olurlar. Bax M. Krieger, 1995, in E. Harber, ed., *Molecular Cardiovascular Medicine, Scientific American Medicine*, pp.31-47.

LDL zərrəciklərin hüceyrəyə necə daxil olduğunu öyrənmək üçün iki əsas eksperimental yanaşma istifadə olunmuşdur. Birinci metodda, LDL zərrəciklərin səthlərində apoB-100 zülalın tirozin qlığının yan zəncirinə kovalent birləşdirilmiş radioaktiv ^{125}I ilə nişanlanmış LDL istifadə edilmişdir. Kultura olunan hüceyrələr nişanlanmış LDL ilə bir neçə saat inkubasiya olunduqdan sonra, hüceyrə səthinə nə qədər LDL-in birləşdiyini, onlardan nə qədər daxilə mənimsəndiyini və LDL-in apoB-100 komponentinin nə qədərini fermentativ hidroliz yolu ilə fərdi amin turşularına qədər parçalandığını təyin etmək mümkündür. apoB-100-ün parçalanması ^{125}I -tirozinin kultura mühitinə azad olunması ilə aşkar edilə bilər. Şəkil 14-28 bu proseslərin zamandan asılı olan gedişini ^{125}I -nişanlanmış LDL-in fiksə olunmuş müəyyən qatılığında puls-izləmə eksperimentləri ilə təyin edilmiş hüceyrənin reseptorla-vasitələndirən LDL prosesində göstərir. Bu eksperimentlər hadisələrin ardıcılığını açıq şəkildə belə nümayiş etdirir: LDL-in səth birləşməsi → daxilə mənimsəmə → parçalanma. İkinci yanaşmaya LDL zərrəciklərin elektron mikroskopiyaya ilə aşkar edilə bilən elektron-sıx nişanı ilə yarlıklanması daxildir. Belə tədqiqatlar, LDL zərrəciklərin birinci klatrin-qabıqlı endositoz batıqlarında hüceyrə səthinə necə birləşdiyini və sonra da onların invaginasiya edərək və tumurcuqlayaraq qabıqlı qovucuqları əmələ gətirərək və sonda endosomlara daşınarkən qabıqlı batıqla necə assosiasiyada qalmalarını göstərə bilər (bax Şəkil 14-26).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 14-28 Puls-izləmə eksperimenti hüceyrə tərəfindən LDL-in udulmasında sələf-məhsul münasibətlərini nümayiş etdirir. İnsanın kultura olunan normal fibroblastları ^{125}I -LDL olan mühitdə 2 saat müddətində 4 °C-də inkubasiya olunur (puls). ^{125}I -LDL-in hüceyrələrə birləşməmiş artıq hissəsi yuyularaq atıldıqdan sonra hüceyrələr yenidən 37 °C-də qeyd olunan zaman miqdarında kənarından verilən LDL olmadan (izləmə) inkubasiya olunur. Səthə-birləşmiş, daxilə mənimsənilmiş və parçalanmış (hidroliz olunmuş) ^{125}I -LDL-in miqdarı ölçülür. 4 °C pulsda LDL-in daxilə mənimsənilməsi və ya hidrolizi olunması deyil, onun apoB-100 ilə birləşməsi baş verdi. Nəticələr, membran hərəkətinə imkan yaratmaq üçün hüceyrələr isidildikdən sonra birləşmiş ^{125}I -LDL-in daxilə udulmasından sonra səthdən çox sürətli yox olmalarını göstərir. 15-20 dəqiqə gecikdirmə müddətindən sonra daxilə mənimsənilmiş ^{125}I -LDL-in lizosomal parçalanması başlanır. Bax N.S. Brown and J.L. Goldstein, 1976, *Cell* 9:663.

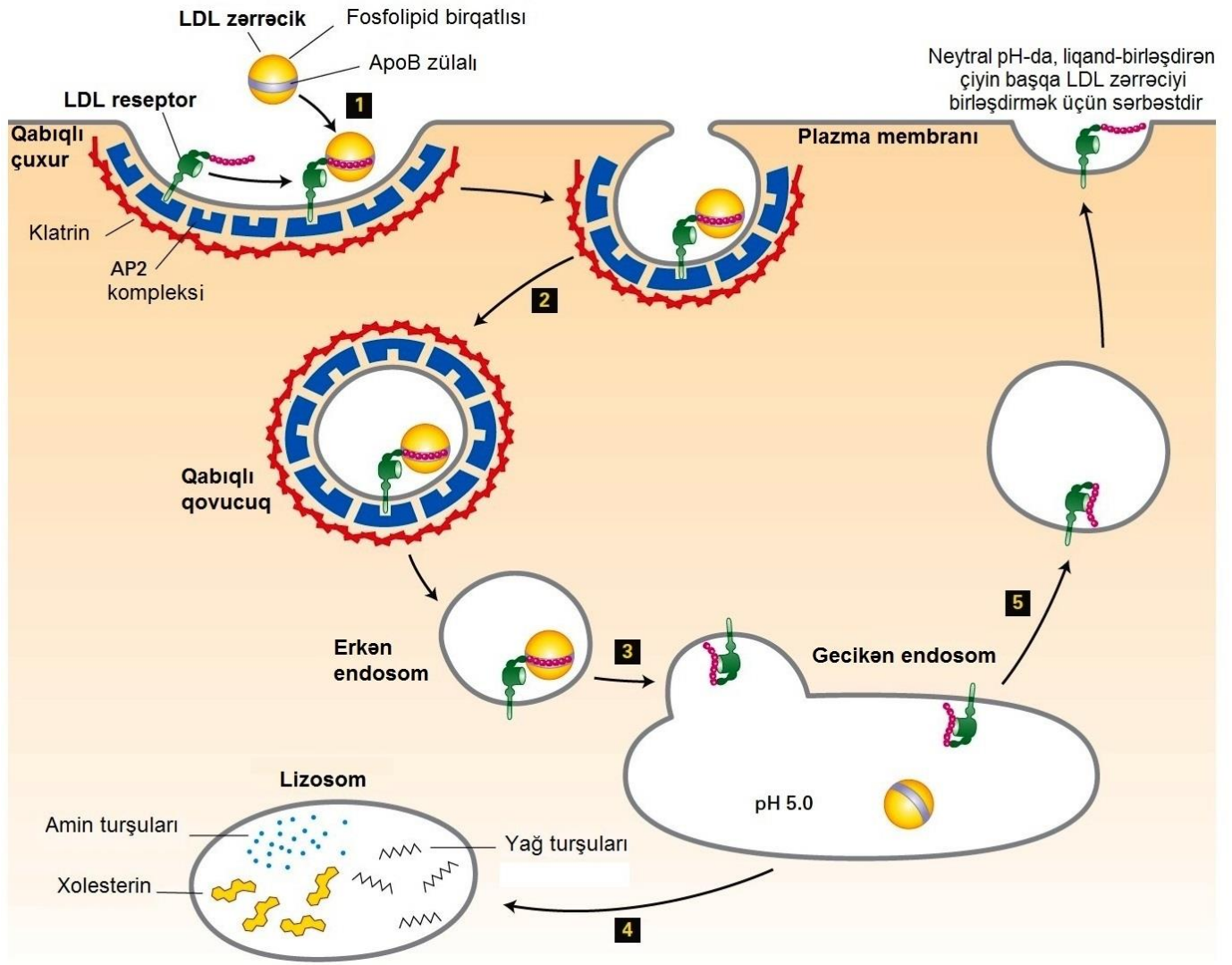
Makromolekulyar Liqandların Reseptorları Onları Endositoza Hədəf Edən Çeşidləmə Sinyalına Malikdir

LDL zərrəciklərin hüceyrə səthinə necə birləşdiyini və sonra endositoz qovucuqlarına götürüldüyünü anlamğın açarı *LDL reseptorun* aşkar edilməsi oldu. LDL reseptor 839 qalıqdan ibarət olan və tək bir transmembran seqmentə malik olan qlikozülaldır, onun qısa C-sonluq sitozol seqmenti və LDL-birləşdirən domenə malik olan uzun N-terminal eqzoplazmatik seqmenti var. Yeddi sisteinlə-zəngin təkrarlar, LDL zərrəcikdə apoB-100 molekulalla əlaqəyə girən LDL-birləşdirən domeni yaradır. Şəkil 14-29 LDL reseptorun reseptorla-vasitələndirən endositoz yolu ilə LDL zərrəciklərin daxilə mənimsənilməsinə necə şərait yaratdığını göstərir. Daxilə mənimsənilmiş LDL zərrəcik lizosomlara çatdıqdan sonra lizosomal proteazalar onların səth apolipozülallarını hidroliz edir və lizosomal xolesterin esterazalar onların özək (mərkəzi) xolesterin efilərini hidroliz edir. Efirizlənmiş xolesterin sonra lizosomları tərk etmək üçün və hüceyrə tərəfindən yeni membranların və ya xolesterin törəmələrinin sintezində istifadə olunmaq üçün sərbəst buraxılır.



LDL reseptorun kəşfi və onun necə fəaliyyət göstərməsinin başa düşülməsi *ailə hiperxolesterolemiya (FH)* xəstələrində hüceyrələrin öyrənilməsindən əmələ gəlmişdir, bu irsi xəstəlikdə plazmada LDL-in yüksək miqdarı qeyd olunmuşdur və indi məlumdur ki, buna LDL reseptor (LDLR) genində mutasiyanın baş verməsi səbəb olmuşdur. Bir normal və bir qüsurlu LDLR nüsxəyə malik olan (heteroziqot) xəstələrin qanında LDL iki dəfə yüksək olur. İki qüsurlu LDLR geninə malik olan (homoziq) xəstələrdə qanda LDL-in miqdarı dörd dəfədən altı dəfəyə qədər normaldan yüksək olur. Tibbi müdaxilələr olmadan, FH heteroziqotlarda ümumilikdə normal insanlara nisbətən 10 il tez ürək-damar xəstəliyi inkişaf edir, FH homoziqotlarda isə onlar 30 yaşa çatana qədər infarktdan ölürlər.

LDLR-də müxtəlif mutasiyalar FH əmələ gətirə bilər. Bəzi mutasiyalar LDLR sintezinə mane olur, digərləri ER-də reseptor zülalın düzgün bükülməsinə mane olur və onun yetişməmiş parçalanması ilə nəticələnir (vax Fəsil 13), başqa mutasiyalar da LDL reseptorun LDL-ə sıx birləşməsinə mane olur. Mutant reseptorların xüsusilə informativ qrupu hüceyrə səthində ekspressiya olunur və LDL ilə normal birləşir, amma birləşdikləri LDL-in hüceyrə daxilə mənimsənilməsinə həyata keçirə bilmir. Belə qüsura malik olan fərdlərdə başqa liqandların plazma membranı reseptorları daxilə normal mənimsənilirlər, amma mutant LDL reseptor qabıqlı batığa sərbəst olunmur. Bu mutant reseptorların və eksperimental yaradılmış fibroblastlarda ekspressiya olunan başqa mutant LDL reseptorların analizləri reseptorun sitozol seqmentində, daxilə mənimsənilmək üçün kritik əhəmiyyətli olan dörd qalıqdan ibarət motif: Asn-Pro-X-Tyr identifikasiya etdi, burada X istənilən amin turşusu ola bilər. Bu *NPXY çeşidləmə signalı* AP2 kompleksə birləşir, qabıqlı-batıqlarda klatrin/AP2 qabığı LDL reseptorun sitozol seqmenti ilə əlaqələndirir. NPXY signalın istənilən konservativ qalıqlarındakı mutasiya LDL reseptorun qabıqlı batıqlara daxil olması qabliyyətini yox edir.



ŞƏKİL 14-29 Aşağı sıxlıqlı lipozülulların (LDL) daxilə mənimsənilməsinin endositoz yolu. Pilla 1: Hüceyrə səthi LDL reseptoru, LDL zərrəciyin xarici fosfolipid qatına batmış ApoB zülalına birləşir. LDL reseptorun sitozol quyruğundakı NPXY çeşidləmə siqnalı ilə AP2 kompleksi arasındakı qarşılıqlı əlaqə reseptor-liqand kompleksini formalaşan endositik qovucuğa daxil edir. Pilla 2: Reseptor-LDL kompleksinə malik olan klatrin-qabıqlı batıqlar *trans*-Qolci şəbəkədə klatrin/AP1-örtüklü qovucuqların (bax Şəkil 14-19) əmələ gəlməsində istifadə olunan eyni dinaminlə-vasitələnən metodla qopub ayrılır. Pilla 3: Qovucuq qabığı töküldükdən sonra, qabıqsız endositoz qovucuğu (erkən endosom) gecikən endosomla

qovuşur. Kompartimentin daxili turş pH mühiti LDL reseptorda konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir, nəticədə birləşmiş LDL zərrəciyin ayrılmasına səbəb olur. Pilla 4: Gecikən endosomlar lizosomlarla qovuşur və lizosom daxilindəki fermentlər vasitəsi ilə sərbəst LDL-zərrəciyin zülalları və lipidləri onları təşkil edən hissələrə parçalanır. Pilla 5: LDL reseptor yenidən istifadə üçün hüceyrə səthinə qaytarılır, burada xarici mühitin neytral pH-ında reseptor elə konformasiya dəyişikliyinə məruz qalır ki, o başqa bir LDL zərrəciklə birləşə bilər. Bax M.S. Brown and J.L. Goldstein, 1986, *Science* **232**:34 və G. Rudenko et al., 2002, *Science* **298**:2353.

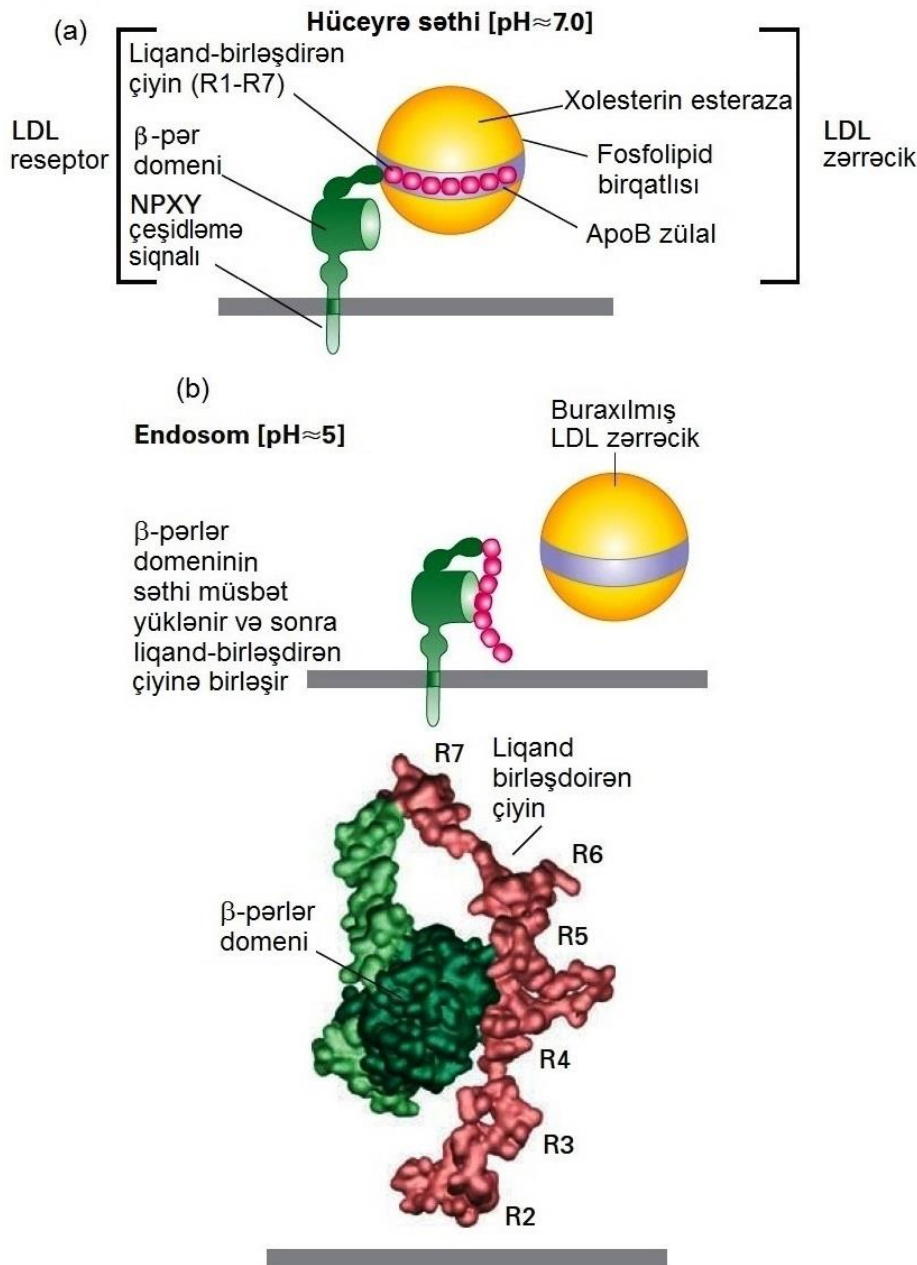
FH ilə əlaqəli adi simptomları nümayiş etdirən çox az fərdlər normal LDL reseptorunu istehsal edir. Bu fərdlərdə, NPXY çeşidləmə siqnalını birləşdirən AP2 subvahid zülalını kodlaşdıran gen qüsurlu olur. Nəticədə, LDL reseptorlar klatrin/AP2-qabıqlı qovucuqlara daxil ola bilmir və LDL zərrəciklərin endositozu sıradan çıxır. Genetik qüsurlara malik olan xəstələrin analizi zülalların klatrin-qabıqlı qovucuqlarla həyata keçirilən hərəkətində (trafficking) adaptor zülalların əhəmiyyətini xüsusi olaraq vurğulayır. ■

Mutasiya tədqiqatları göstərdi ki, başqa hüceyrə səth reseptorları YXXΦ çeşidləmə siqnalı ilə klatrin/AP2-qabıqlı batıqlara yönəldilə bilər. Övvəllər apardığımız müzakirələrdən xatırladaq ki, bu eyni çeşidləmə siqnalı membran zülallarını AP1 subvahidinə birləşdirməklə *trans*-Qolci şəbəkədən tumurcuqlayan klatrin/AP1-qabıqlı qovucuqlara səfərbər edir (bax Cədvəl 14-2). Bütün bu müşahidələr göstərir ki, YXXΦ membran zülallarının klatrin-qabıqlı qovucuqlara çeşidlənməsində geniş istifadə olunan siqnalıdır.

Amma, bəzi hüceyrə-səth zülallarında başqa ardıcılıqlar (məsələn, Leu-Leu) və ya kovalent əlaqəli ubikvitin molekulları endositoz üçün siqnallar kimi fəaliyyət göstərirlər. Klatrin/AP2-qabıqlı qovucuqlarla assosiyada olan zülallar arasında bir neçəsi spesifik olaraq ubikvitinə birləşən domenə malikdir və belə fərz olunur ki, bu qovucuq-assosiasiyalı zülallar ubikvitinləşmiş membran zülallarının endositoz qovucuqlarına selektiv daxil olmasını həyata keçirirlər. Sonra müzakirə edəcəyimiz kimi, endositoz olunan membran zülallarında ubikvitin yarlıq endositoz yolunun sonrakı mərhələlərində də tanınır və bu zülalların lizosomların daxilinə, onların sonra parçalanacağı sayta çatdırılmasında rol oynayır.

Gecikən Endosomların Turş pH-ı Əksər Reseptor-Liqand Kompleksinin Dissosiasiyasına Səbəb Olur

Plazma membranının ümumi endositik daxilə mənimsəmə sürəti kifayət qədər yüksəkdir: kultura olunan fibroblast müntəzəm olaraq hər saatda hüceyrə səth zülallarının və fosfolipidlərinin 50 faizini daxilə mənimsəyir. Endositoza uğrayan hüceyrə-səth reseptorlarının çoxu hüceyrə daxilində təkrar-təkrar öz liqandlarını verir və liqand molekullarının daxilə mənimsənilməsini həyata keçirmək üçün yenidən plazma membranına qayıdırlar. Məsələn, LDL reseptor hər 10-20 dəqiqə müddətində hüceyrənin daxilinə və xaricinə bir dövrə gedişni həyata keçirir, bu hüceyrənin 20 saatlıq ümumi həyat dövrəsində təxminən yüzə yaxın edir.



ŞƏKİL 14-30 LDL zərrəciklərin LDL reseptorla pH-dan asılı olan birləşməsi modeli. Hüceyrə səthində tapılmış LDL reseptorun sxematik təsviri neytral pH-da

(a) və plazma membranı daxilində tapılmış turş pH-da (b). (a) Hüceyrə səthində, apoB-100 LDL zərrəciyin səthində möhkəm şəkildə reseptora birləşir. Sisteinlə-zəngin yeddi təkrardan (R1-R7) liqand-birləşdirən qolda R4 və R5 LDL birləşməsi üçün daha kritik əhəmiyyət kəsb edir. (b yuxarıda) Endosomda, LDL reseptorun β-pərlər domenindəki histidin qalıqları protonlaşır, müsbət yüklənmiş pər yüksək afinitə mənfəi yüklü qalıqlara malik olan liqand-birləşdirən qola birləşərək LDL zərrəciyin buraxılmasına səbəb olur. (b, aşağıda) LDL reseptorun hüceyrəxarici rayonunun eksperimental elektron sıx və C_α özül izləmə modeli pH 5.3 qiymətində rentgen kristalloqrafiya analizlərinə əsaslanmışdır. Bu konformasiyada, geniş hidrofob və ion qarşılıqlı əlaqələri β pərlər ilə R4 və R5 təkrarlar arasında baş verir. [(b) hissəsində nəticələr G. Rudenko et al., 2002, *Science* 298:2353, PDB ID 1n7d.]

Daxilə mənimsənilmiş reseptor-liqand kompleksləri ümumilikdə Şəkil 14-22-də M6P reseptor üçün verilən yolla, Şəkil 14-29-da isə LDL reseptor üçün verilən yolla baş verir. Endositoz olunmuş hüceyrə-səth reseptorları adətən gecikən endosomlar daxilində öz liqandlarından dissosasiya edir və hüceyrə səthindən bir neçə mikrometr məsafədə yerləşmiş, boruvari şaxələnmiş membralara malik olan kürəşəkili qovucuqlar kimi görünür. Gecikən endosomu çeşidləmə kompartimenti kimi təyin edən orjinal eksperimentlərdə asialoqlikozülal reseptorlardan istifadə edildi. Bu qaraciyər-spesifik reseptor, oliqosaxaridləri normal sial turşusu əvəzinə qalaktoza ilə başa çatmış anormal qlikozülalların birləşməsinə və daxilə mənimsənilməsinə vasitəçilik edir, buradan da onların *asialo*-qlikozülallar adlandırılması götürülmüşdür. Asialoqlikozülallarla təsir edilmiş qaraciyər hüceyrələrinin elektron mikroskopiyası, daxilə mənimsənilmədən 5-10 dəqiqə sonra liqand molekullarını gecikən endosomların lümenlərində aşkar etdi, halbuki boruvari (tubulyar) membran genişlənmələrinin daxili reseptorla zəngin olur və nadir hallarda liqanda rast gəlinir. Bu tapıntılar göstərir ki, gecikən endosom reseptorla liqandın ayrıldığı orqanoiddir.

Reseptor-liqand kompleksinin gecikən endosomlarda dissosiasiyası yalnız endositoz yolunda deyil, həmçinin həllolan lizosom fermentlərinin ifrazat yolu ilə çatdırılmasında da baş verir (bax Şəkil 14-22). Fəsil 11-də müzakirə olunduğu kimi, endosomların və lizosomların membranları, qovucuq lümenlərində turş mühiti yaratmaq üçün Cl^- kanalları ilə birgə fəalyyət göstərən (bax Şəkil 11-14) V sinif proton nasoslarına malikdirlər. Reseptorların əksəriyyəti, M6P reseptor və LDL ilə asialoqlikozülalların hüceyrə-səth reseptorları da daxil olmaqla, öz liqandlarına neytral pH-da möhkəm birləşirlər, amma pH-6.0 və ya daha aşağı olduqda liqandı buraxırlar. Gecikən endosom reseptor-liqand kompleksi ilə rastlaşan ilk orqanoiddir, əksər endositoz reseptorlarının sıx birləşdiyi liqandan dissosiasiyasını sürətləndirmək üçün onun lüminal pH-ı kifayət qədər turşdur.

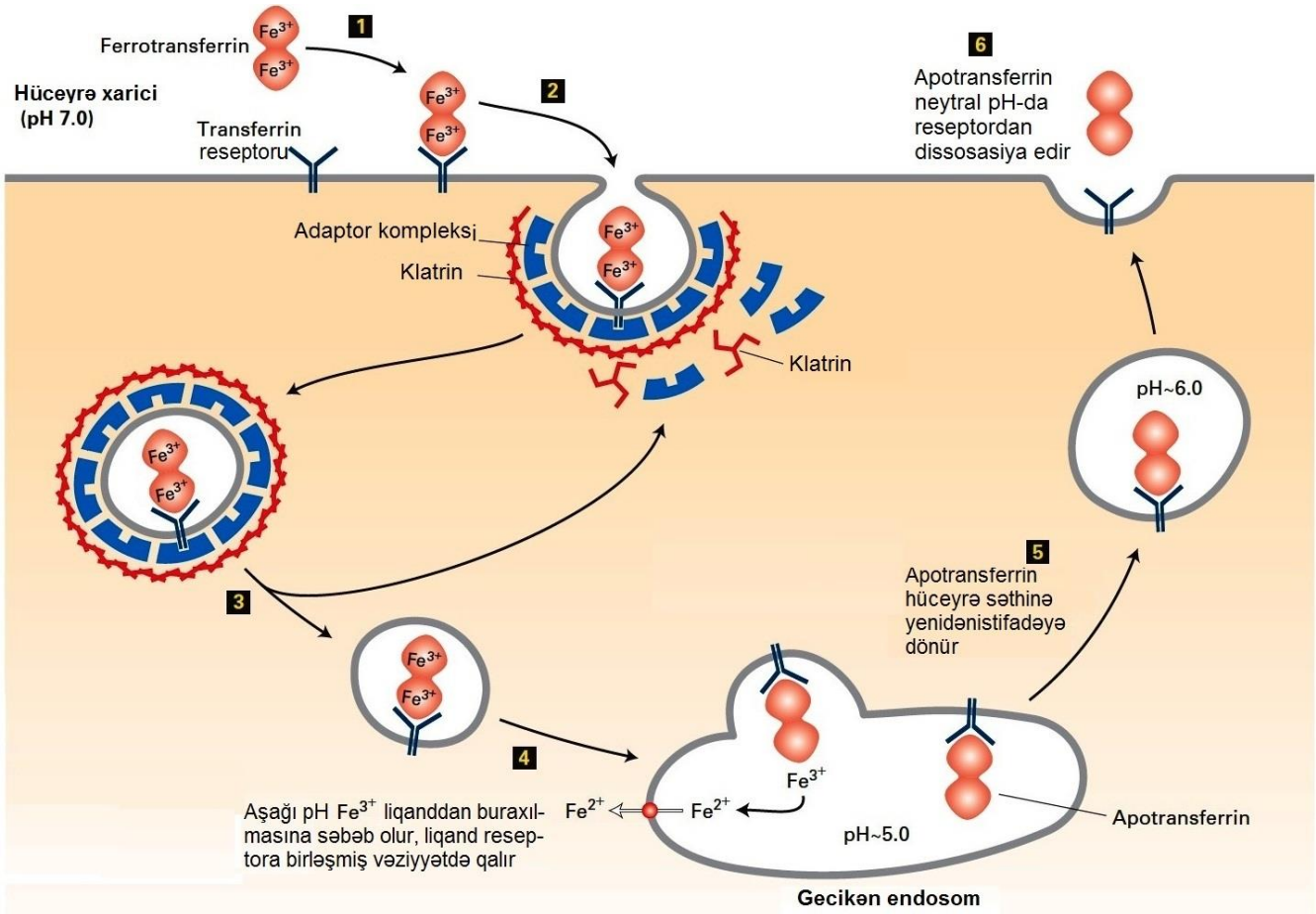
LDL reseptorun öz birləşdiyi LDL zərrəciyi buraxması mexanizmi artıq detalları ilə öyrənilmişdi (Şəkil 14-30). Endosomal pH 5.0-5.5-də, reseptorun β -pərlər domeni kimi məlum olan rayonunda histidin qalıqları protonlaşır, LDL-birləşdirmə domenindəki mənfi yüklənmiş sisteinlə-zəngin təkrarlanan rayona yüksək afinliklə birləşə bilən saytı əmələ gətirir. Belə molekul daxili qarşılıqlı təsir, apoB-100 ilə eyni vaxtda birləşə bilməyən konformasiyadakı təkrarları ayırır, beləliklə birləşmiş LDL zərrəciyin buraxılmasına səbəb olur.

Endositoz Yolu Endosomlarda Transferrin-Transferrin Reseptor Kompleksini Dissosasiya Etmədən Dəmiri Hüceyrələrə Çatdırır

Transferrin reseptoru və onun liqandının daxil olduğu endositoz yolu LDL yolundan onunla fərqlənir ki, reseptor-liqand kompleksi gecikən endosomlarda dissosasiya etmir. Bununla belə, pH dəyişməsi həm də dəmirin hüceyrəyə çatdırılmasında fəaliyyət göstərən transferrin yolunda reseptor və liqandların çeşidlənməsinə kömək edir.

Transferrin qanda dəmiri qaraciyərdən (dəmirin bədəndə saxlanıldığı əsas yer) və bağırsaqdan (dəmirin udulduğu mərkəz) bütün bədən toxumlarına daşıyan əsas qlikozüldür. *Apotransferrinin* dəmirdən-azad forması iki Fe^{3+} ionunu çox möhkəm birləşdirib *ferrotransferrini* əmələ gətirir. Bütün məməli hüceyrələri, neytral pH-da ferrotransferrini yüksək afinliklə birləşdirən hüceyrə-səthi transferrin reseptorlarına malikdir, reseptorla-birləşmiş ferrotransferrin sonra endositoza məruz qoyulur. LDL zərrəciyin komponentlərində olduğu kimi, iki Fe^{3+} atomu hüceyrədə qalır, amma liqandın apotransferrin hissəsi gecikən endosomlarda reseptordan dissosasiya etmir, və endositoz olunduqdan sonra, daqiqə ərzində apotransferrin hüceyrə səthinə qayıdır və hüceyrədən ifraz olunur.

Şəkil 14-31-də göstəriləndiyi kimi, transferrin reseptor-liqand kompleksinin davranışının izahı apotransferrinin gecikən endosomlarda aşağı pH qiymətində (5.0-5.5) transferrin reseptorla birləşmiş vəziyyətdə qala bilməsi kimi unikal qabiliyyətinə əsaslanmışdır. pH 6.0-dan aşağı olduqda iki birləşmiş Fe^{3+} atomu ferrotransferrindən dissosasiya edir, endosomlarda yerləşən metalloreduktaza ilə Fe^{2+} -ə reduksiya olunur və sonra ikivalentli metal ionlarına spesifik olan endosomal daşıyıcılarla sitozola eksport olunur. Dəmir atomlarının dissosiasiyasından sonra qalan reseptor-apotransferrin kompleksi geriye hüceyrə səthinə qaytarılır. Baxmayaraq ki apotransferrin pH 5.0 və ya 6.0 qiymətində öz reseptoruna möhkəm birləşir, amma o neytral pH-da birləşmir. Beləliklə, təkrar istifadə qovucuqları plazma membranı ilə qovuşduqda və reseptor-liqand kompleksi hüceyrəxarici toxuma mayesinin və ya böyümə mühitinin neytral pH-ı ilə qarşılaşdıqda birləşmiş apotransferrin transferrin reseptordan dissosasiya edir. Təkrar istifadəyə qaytarılan reseptor indi başqa ferrotransferrin molekulunu yenidən birləşdirmək üçün sərbəst olur, buraxılmış apotransferrin isə qanla qaraciyərdə və bağırsaqlarda metabolizmdən alınan dəmirə birləşməyə aparılır.



ŞƏKİL 14-31 Transferrin tsikli bütün inkişaf edən məməli hüceyrələrində fəaliyyət göstərir. Pilla 1: İki Fe^{3+} atomunu daşıyan, ferrotransferrin adlanan transferrin dimeri hüceyrə səthində transferrin reseptorla birləşir. Pilla 2: Transferrin reseptorun quyruğu ilə AP2 adaptor kompleksi arasındakı qarşılıqlı təsir reseptor liqand kompleksini endositoz klatrin-qabıqlı qovucuqlara daxil edir. Pilla 3 və 4: Qovucuğun qabığı tökülür və endositoz qovucuqları endosomun

membranı ilə qovuşur. Gecikən endosomun turş kompartimentində Fe^{3+} reseptor-ferrotransferrin kompleksindən buraxılır. Pilla 5: Apotransferrin zülalı bu pH-da reseptorla birləşmiş vəziyyətdə qalır və onlar hüceyrə səthinə birlikdə qaytarılır. Pilla 6: Xarici mühitdəki neytral pH ionsuz apotransferrinin buraxılmasına səbəb olur. Bax A. Ciechanover et al., 1983, *J. Biol. Chem.* **258**:9681.

14.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Reseptorlar-Vasitəsi ilə Endositoz

- Spesifik hüceyrə-səth reseptoruna birləşmiş bəzi hüceyrəxarici liqandlar öz reseptorları ilə birlikdə, qabığına AP2 kompleksi də olan klatrin-qabıqlı qovucuqlarda daxilə mənimsənilir (bax Şəkil 14-26).
- Hüceyrə səth reseptorlarının sitozol domenində çeşidləmə siqnalları onları daxilə mənimsənilmək üçün klatrin/AP2-qabıqlı batıqlara hədəf edir. Məlum olan siqnallara Asn-Pro-X-Tyr, Tyr-X-X-Φ və Leu-Leu ardıcılıqları daxildir (bax Cədvəl 14-2).
- Endositoz yolu bəzi liqandları (məsələn, LDL zərrəciklərini) liposomlara çatdırır, onlar orada parçalanırlar. Hüceyrə səthindən nəqliyyat qovucuqları əvvəlcə gecikən endosomlarla qovuşur, ardınca da liposomlarla qovuşurlar.
- Reseptor-liqand komplekslərinin əksəriyyəti gecikən endosomların turş mühitində dissosiasiya edir; reseptor

yenidən istifadə üçün plazma membranına qaytarılır, liqandlar isə liposomlara çeşidlənir (bax Şəkil 14-29).

- Dəmir hüceyrə daxilinə endositoz yolu ilə import olunur, gecikən endosomlarda Fe^{3+} ionları ferrotransferrindən sərbəst buraxılır. Qalan reseptor-apotransferrin kompleksi hüceyrə səthinə qaytarılır, orada kompleks dissosiasiya edərək həm reseptoru həm də apotransferrini təkrar istifadə üçün azad edir.

14.6 Membran Zülallarının və Sitozol Materiallarının Lizosomlara Yöndəlməsi

Lizosomların əsas funksiyası hüceyrə tərəfindən götürülmüş hüceyrəxarici materialları parçalamaqdır və müəyyən şərait altında hüceyrədaxili komponentləri parçalamaqdır. Parçalanmaq üçün təyin edilən material lizosomun lümeninə çatdırılmalıdır, orada müxtəlif parçalama fermentləri yerləşir. Bizim yenidən gördüyümüz kimi, endosomlarda reseptordan dissosiasiya edən endositoz olunmuş liqandlar (məsələn, LDL

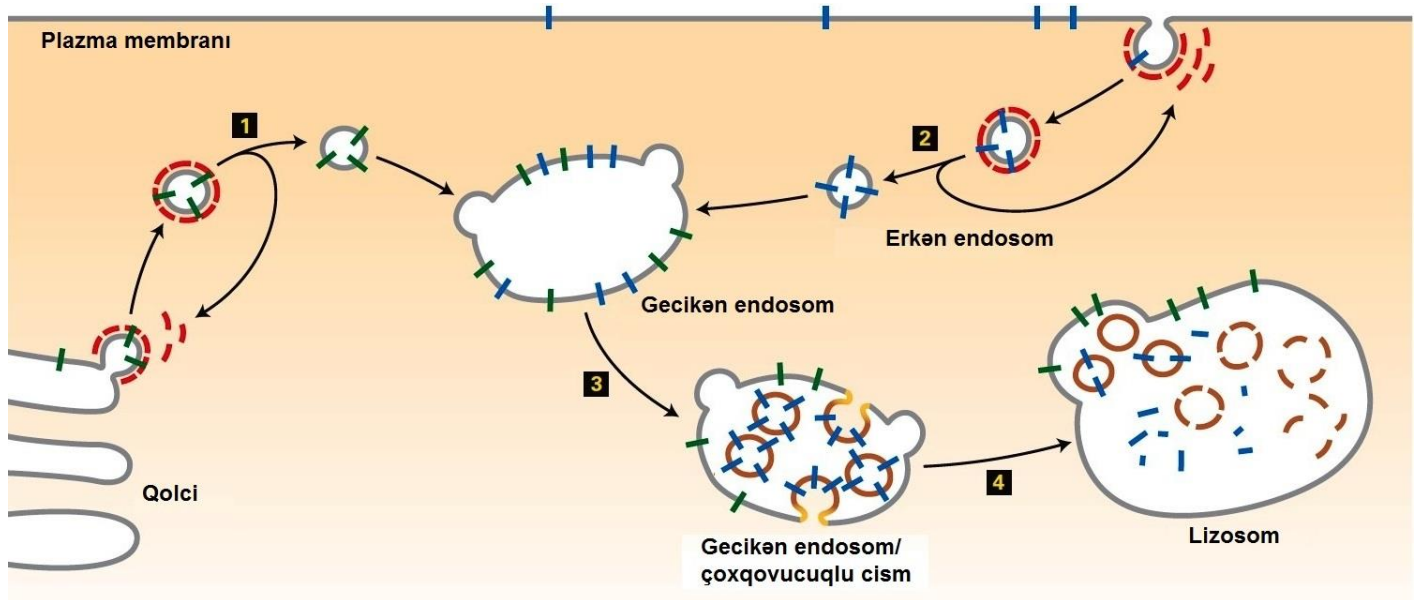
zərrəciklər), endosomun membranı lizosomun membranı ilə qovuşanda lizosom lümenlərinə daxil olurlar (bax Şəkil 14-29). Eləcə də, bakteriyaları və ya başqa zərrəcikləri daşıyan faqosomlar lizosomlarla qovuşa və tərkibindəkiləri parçalanmaq üçün lizosom lümeninə buraxa bilirlər.

Aydın ki, bu fəsilə müzakirə olunan qovucuqlarla hərəkət mexanizmi endosomal orqanoid daxilindəkilərin parçalanmaq üçün lizosom lümeninə çatdırılmasında istifadə oluna bilər. Amma, bizim bu fəsilə müzakirə etdiyimiz tipik qovucuq daşınma prosesi ilə lizosoma çatdırılan membran zülalları sonda lizosom membranına çatdırılmalıdır. Sonra membran zülalları parçalanmaq üçün lizosom daxilinə necə çatdırılır? Biz bu bölmədə görəyik ki, parçalanmaq üçün materialın lizosom lümeninə çatdırılmasında hüceyrənin iki müxtəlif ixtisaslaşmış yolu var, bunlardan biri membran zülalları üçün, digəri isə sitozol materialları üçündür. Endositoz olunmuş membran zülallarının parçalanması üçün istifadə olunan birinci yolda, çoxqovucuqlu endosomları əmələ gəlmək üçün birbaşa endosom daxilinə tumurcuqlayan qeyri adı qovucuqlardan istifadə edilir. Autofaqiya kimi məlum olan ikinci yola, autofaqosomlar adlanan iki-membranlı orqanoidin də yaranması daxildir, həllolan zülalları və ya bəzən də orqanoidləri, məsələn peroksisomları və mitoxondri kimi sitozol materialını əhatə edib örtür. Hər iki yol istər çoxqovucuqlu endosomun, istərsə də autusomun lizosomla qovuşmasına və bu orqanoidlərin tərkibindəkilərin parçalanmaq üçün lizosom lümeninə buraxılmasına səbəb olur.

Çoxqovucuqlu Endosomlar Lizosomal Membranlar üçün Təyin Edilmiş Membran Zülallarını Lizosomal Parçalanma Üçün Təyin Edilmiş Zülallardan Ayırır

V-sınıf proton nasosları və amin turşusu daşıyıcıları kimi rezident lizosomal membran zülalları, lizosom membranlarında qala və öz funksiyalarına yerinə yetirə bilirlər, burada onlar lümen daxilində həllolan hidrolitik fermentlərlə parçalanmaqdan müdafiə olunurlar. Belə zülallar lizosom membranına, ya *trans*-Qolci şəbəkədən ya da endosomlardan, əvvəlki bölmələrdə müzakirə olunmuş eyni əsas mexanizmlə, tumurcuqlayan nəqliyyat qovucuqları vasitəsilə çatdırılırlar. Əksinə, parçalanmalı olan endositoz olunmuş membran zülalları xüsusi çatdırma mexanizmi ilə bütövlükdə lizosom daxilinə keçirilirlər. Hüceyrə səth reseptorlarının lizosomal parçalanması hüceyrəxarici siqnal molekulları üçün ümumi mexanizm olub, hüceyrənin belə siqnalara qarşı həssaslığına nəzarət edir (bax Fəsil 15). Zədələnmiş reseptorlar da lizosomal parçalanmaya hədəf olunur.

Membranların membranla-məhdudlaşan kompartimentin lümeninə çatdırıla bilməsi barədə ilkin dəlillər, endosomlar və lizosomlar daxilində membran qovucuqlarını və membran fraqmentlərini göstərən elektron mikrofotodan gəlmişdir. Mayada aparılmış paralel eksperimentlər aşkar etdi ki, vakuola (mayada lizosoma ekvivalent olan orqanoidə) hədəf olunan endositoz olunmuş reseptor zülalları vakuolun səth membranı ilə deyil, əsasən vakuol daxilində membran fraqmentləri ilə və kiçik qovucuqlarla assosiasiyada olurlar.



ŞƏKİL 14-32 Plazma-membranı zülallarının parçalanmaq üçün lizosom daxilinə çatdırılması. *trans*-Qolci şəbəkənin endositoz olunmuş plazma membranı zülallarını (mavi) daşıyan və lizosomal membran zülallarını (yaşıl) daşıyan qovucuqları gecikən endosomlarla qovuşur, onların membran zülallarını endosomal membrana ötürür (pillə 1 və 2). Parçalanmalı olan zülallar, məsələn erkən endosomlardan olanlar, gecikən endosomlar daxilinə tumurcuqlayan qovucuqlara daxil olurlar, sonda belə çoxsaylı daxili qovucuqlara

malik olan çoxqovucuqlu endosomları əmələ gətirirlər (pillə 3). Çoxqovucuqlu endosomların birbaşa lizosomla qovuşması daxili qovucuqları lizosom lümeninə buraxır, burada onlar parçalanmağa bilirlər (pillə 4). Proton nasosu və başqa lizosomal membran zülalları normal halda daxili endosom qovucuqlarına daxil olmadıqlarından onlar lizosom membranına çatdırılırlar və parçalanmaqdan mühafizə olunurlar. Bax F. Reggiori and D.J. Klionsky, 2002, *Eukariot. Cell* 1:11, və D.J. Katzmann et al., 2002, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3:893.

Bu müşahidələr göstərdi ki, endositoz olunmuş membran zülalları endosomal membranlarda yaranan xüsusi qovucuqlar daxilinə girə bilirlər (Şəkil 14-32). Hərçənd ki, bu qovucuqlar ölçüsünə və görünüşünə görə oxşardılar, amma topologiyasına görə fərqlənirlər. Nəqliyyat qovucuqları donor orqanoidin səthinin *xarici tərəfindən* sitozol tərəfə tumurcuqlayır, halbuki endosomal daxilində qovucuqlar səthdən lümen *daxilinə tərəf* istiqamətində (sitozoldan uzaq) tumurcuqlayır. Daxilində çoxsaylı qovucuqlara malik olan yetkin endosomlar, adətən *çoxqovucuqlu endosomlar* (və ya *cismlər*) adlanır. Sonra, çoxqovucuqlu endosomun səth membranı lizosom membranı ilə qovuşur, beləliklə daxili qovucuqları və onların malik olduqları membran zülallarını parçalanmaq üçün lizosom daxilinə buraxır. Beləliklə endosomal membranda zülalların çeşidlənməsi onların hansının lizosom səthində qalacağını (məsələn, nasoslar və daşıyıcılar), hansının isə daxili qovucuqlara girəcəyini və sonda lizosomlarda parçalanacağını təyin edir.

Endosomal membranların daxilə tərəf tumurcuqlaması üçün tələb olunan çox zülallar ilk dəfə mayada aparılan, membran zülallarının vakuol daxilinə çatdırılmasını blok edən mutasiyalarla identifikasiya olunmuşdur. 10-dan artıq belə “tumurcuqlama” zülalı mayada identifikasiya olunmuşdur, bunların çoxu məməlilərin hüceyrələrində eyni funksiyaları yerinə yetirən məməli zülalları ilə əhəmiyyətli dərəcədə oxşarlığa malikdir. Məməli hüceyrələrində çoxqovucuqlu endosomları əmələ gətirmək üçün endosomal tumurcuqlamanın müasir modeli ilkin olaraq mayadakı tədqiqatlara əsaslanmışdır (Şəkil 14-33). Çoxqovucuqlu endosomlara daxil olan əksər yük zülalları ubikvitinlə yarlıqlanır. Çoxqovucuqlu endosomlara daxil olmaq üçün təyin olunan zülallar adətən öz yarlıqlarını plazma membranında, *trans*-Qolci şəbəkədə və ya endosomal membranda alırlar. Biz artıq gördük ki, ubikvitin yarlıqlama, sitozol və ya düzgün bükülməmiş ER zülallarının proteosomlarla parçalanması üçün necə siqnal kimi fəaliyyət göstərə bilər (bax Fəsil 3 və 13). Adətən, ubikvitin yarlıq proteosomal parçalanma üçün siqnal kimi istifadə ediləndə, o kovalent birləşmiş ubikvitin molekullarının zəncirindən (poliubikvitin) təşkil olunur, amma zülalları çoxqovucuqlu endosoma daxil edərək yarlıqlama üçün istifadə olunanda adətən ubikvitinin tək molekullarından (monoubikvitin) istifadə olunur. Endosomların membranında, **Hrs** kimi məlum olan ubikvitinlə yarlıqlanmış periferial membran zülalları ən azı üç müxtəlif zülal dəstəsinin komplekslərinin membrana səfərbər olunmasını asanlaşdırır. Bu **ESCRT** (nəqliyyat üçün tələb olunan endosom çeşidləmə kompleksi – endosomal sorting complexes required for transport) *zülallara* ubikvitin-birləşmiş zülal Tsg101 daxildir. Membrana birləşmiş ESCRT zülalları endosomun daxilinə istiqamətlənmiş qovucuqların tumurcuqlamasını və eləcə də spesifik monoubikvitinləşmiş membran yük zülalının qovucuqların tumurcuqlamasını daxilinə yüklənməsini idarə etmək üçün fəaliyyət göstərir. Nəhayət, ESCRT zülalları qovucuqların tumurcuqlanmasının boynunu daxilində sap şəkilli spirallı əmələ gətirməklə qovucuqları qoparıb ayırır, onu və spesifik yük zülallarını buraxmaqla endosomun daxilinə keçir. Vps4 kimi məlum olan ATP-ə ATP hidrolizindən ayrılan

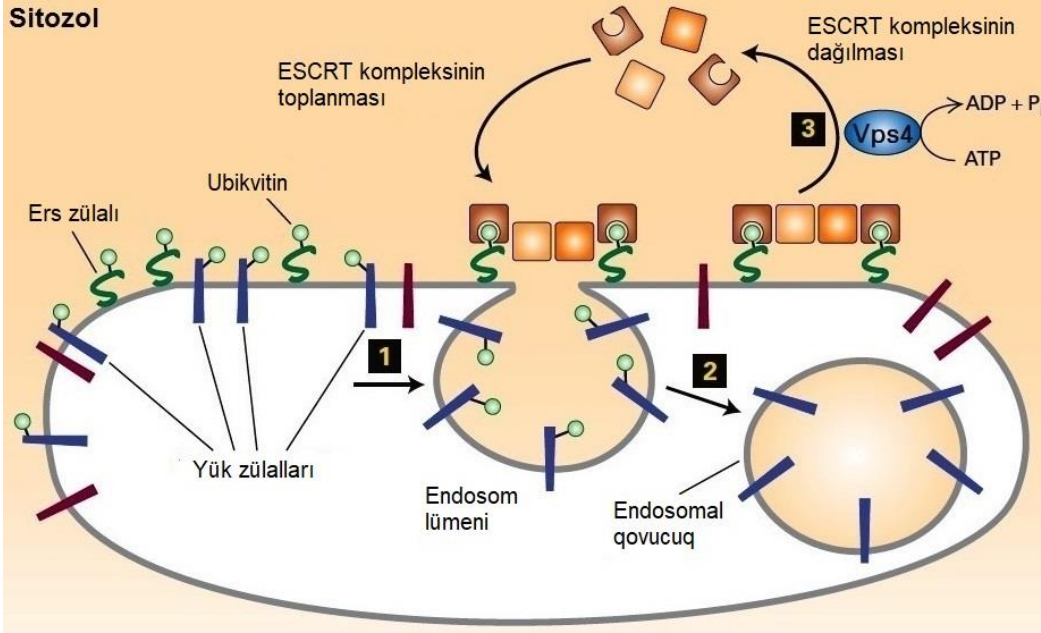
enerjidən istifadə edərək ESCRT zülallar kompleksini dağıdır, kompleksi yaratmayan yeni dövrəsi üçün onları sitozola buraxır. Tamamlanmış endosomal qovucuqları qoparıb ayıran qovuşma hadisəsində ESCRT zülalları və Vps4 müvafiq olaraq əvvəllər müzakirə olunmuş tipik membran-qovuşma prosesindəki SNARE-lər və NSF kimi fəaliyyət göstərə bilirlər (bax Şəkil 14-10).

Retroviruslar Çoxqovucuqlu Endosomların Formalaşmasına Oxşar Proseslə Plazma Membranından Tumurcuqlayırlar

Endosomun daxilinə tumurcuqlayan qovucuqlar virusla yoluxmuş hüceyrələrin plazma membranından tumurcuqlayan qabıqlı virus zərrəcikləri ilə oxşar topologiyaya malikdir. Bundan əlavə, son zamanların eksperimentləri nümayiş etdirdi ki, zülalların ümumi bir dəsti hər iki membrandan tumurcuqlama hadisəsi üçün tələb olunur. Faktiki olaraq, mexaniki detallarına görə bu iki prosesin bir-birinə bu qədər yaxın paralel olmaları göstərir ki, qabıqlı viruslar təkamüldə daxili endosomal tumurcuqlamada istifadə olunan hüceyrə zülallarını öz proseslərinə səfərbər etmək mexanizmini yaratmışlar.

İnsanın immun çatışmazlığı virusu (HIV – QİÇ) qabıqlı retrovirusdur və virusa yoluxmuş hüceyrələrin plazma membranından yetişmiş virus zərrəciyinin quruluş komponenti olan virus **Gag** zülallarının idarə etdiyi proses ilə tumurcuqlayıb ayrılır. Gag zülalı yoluxmuş hüceyrənin plazma membranına birləşir və 4000 qədər Gag zülal molekulu sferik zireh şəkilində polimerləşir, plazma membranından xaricə uzanaraq tumurcuqlayan qovucuqlara bənzər quruluş əmələ gətirir. HIV-lə aparılan mutasiya tədqiqatları aşkar etdi ki, plazma membranı ilə birləşmək üçün Gag zülalının N-sonluq seqmenti tələb olunur, C-sonluq seqmenti isə tamamlanmış HIV zərrəciyini qoparıb ayırmaq üçün tələb olunur. Məsələn, virus genomundan Gag zülalının C-sonluğunu kodlaşdıran hissə atılırsa HIV tumurcuqları yoluxmuş hüceyrələrdə əmələ gələcək, amma qopub ayrılma baş verməyəcək, beləliklə sərbəst virus zərrəciyi buraxılmayacaq.

HIV tumurcuqlamasının endosomlar daxilinə qovucuqların tumurcuqlaması ilə eyni molekulyar məşinadan istifadə etməsini göstərən ilk dəlillər, ESCRT zülalı Tsg101-in Gag zülalının C-sonluğuna birləşməsi müşahidələrindən gəldi. Daha sonrakı tapıntılar, bu iki proses arasında mexaniki paralelliyin olmasını açıq şəkildə göstərdi. Məsələn, virus tumurcuqlaması prosesinin bir hissəsi kimi Gag ubikvitinləşir və Tsg101 və ya Vps4 mutasiyalı hüceyrələrdə HIV virusunun tumurcuqları toplanır, amma membrandan qopub ayrılma bilmir (Şəkil 14-34). Bundan başqa, hüceyrənin Hrs zülalının seqmenti müvafiq hibrid gen konstruksiya metodu ilə xırdalanmış Gag zülallarına əlavə edildikdə virusun düzün tumurcuqlaması və virus zərrəciklərinin qopub ayrılması bərpa olunur. Bu nəticələr birlikdə göstərir ki, Gag zülalı Hrs zülalının funksiyasını yamsılayır, ESCRT zülallarını plazma membranına yönəldir, burada onlar virus zərrəciklərinin tumurcuqlamasında fəaliyyət göstərə bilirlər.



ŞƏKİL 14-33 Çoxqovucuqlu endosomların əmələ gəlməsi mexanizminin modeli. Endosomal tumurcuqlamada, endosomal membranda ubikvitinləşmiş Hrs spesifik membran yük zülallarının (mavi) yüklənməsini qovucuq tumurcuqları daxilinə yönəldir və sonra sitozol ESCRT kompleksini membrana səfərbər edir (pillə 1). Qeyd edək ki, həm Hrs həm də səfərbər olunmuş yük zülalı ubikvitinlə yarıqlanmışdır. Birləşmiş ESCRT komplekslər dəsti içəriyə tumurcuqlayan qovucuqların qopub ayrılmasını həyata keçirdikdən sonra (pillə 2) bu komplekslər Vps4 ATP-ə ilə ayrılırlar və sitozola qayıdırlar (pillə 3). Müzakirə üçün tekstə bax. Bax O. Pornillos et al., 2002, *Trends Cell Biol.* **12**:569.

Göstərilmişdir ki, **Murin leykomiya virusu** və **Rous sarkoma virusu** kimi başqa qabıqlı retroviruslar da tumurcuqlamaq üçün ESCRT komplekslərini tələb edirlər, hərçənd ki, bu virusların hər biri ESCRT kompleksini virus tumurcuqlama saytına səfərbər etmək üçün müəyyən qədər fərqli mexanizmi yaradıb inkişaf etdirmişlər.

Autofaqiya Yolu Sitozol Zülallarını və ya Tam Orqanoidi Lizosomlara Çatdırır

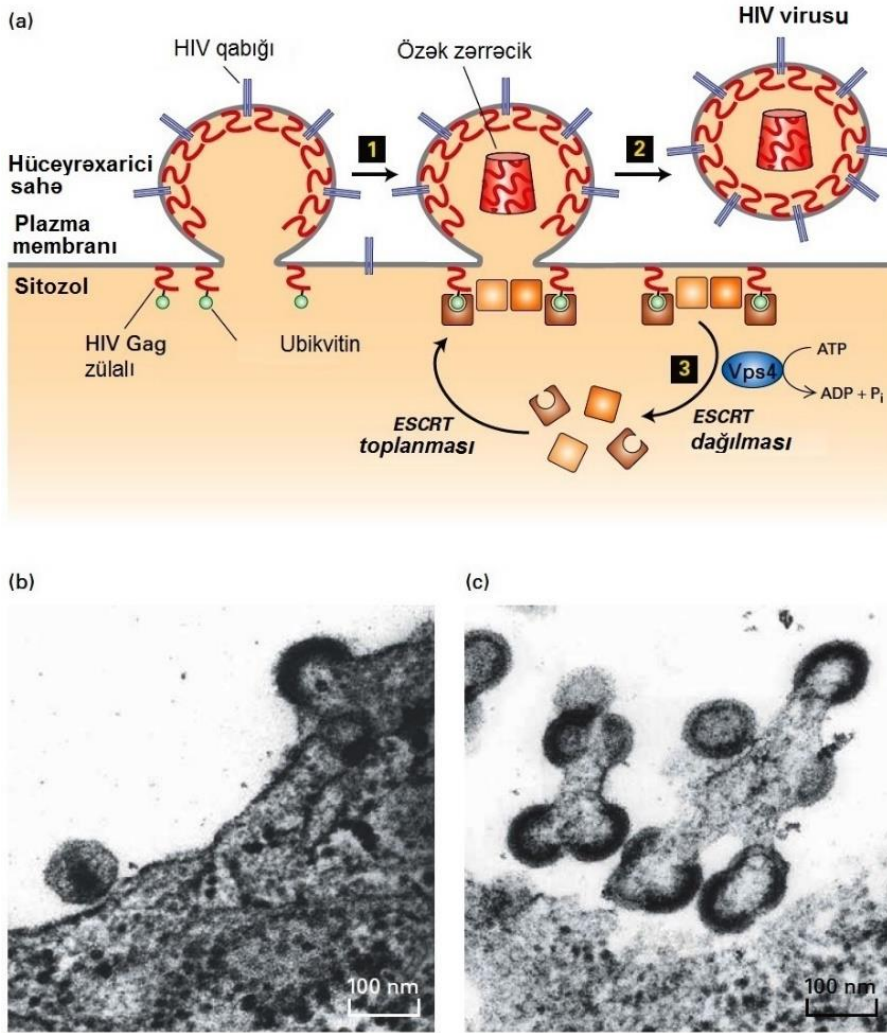
Hüceyrələr, aclıq kimi stress şəraitinə yerləşdirildikdə, onlar makromolekulları autofaqiya ("özünü yemək") kimi məlum olan proseslə lizosomal parçalamaqla qida maddəsi kimi yenidən istifadə etmək qabiliyyətinə malik olurlar. Autofaqiya yolu, sitozolun müəyyən bir hissəsini və ya tam bir orqanoidi (məsələn, mitoxondrini) əhatə edən yastılaşmış iki-qat membranlı fincan-şəkilli quruluşun *autofaqosomun* və ya *autofaqiya qovucuğunun* yaranması ilə başlayır (Şəkil 14-35). Autofaqosomun xarici membranı lizosomla qovuşa bilər, birtəqatlı membranla əhatə olunan böyük bir qovucuğu lizosom daxilinə buraxır. Lipazalar və proteazalar lizosom daxilində autofaqosomu və onun daxilindəkiləri, lizosoma çatdırılarkən, çoxqovucuqlu endosomların komponentlərində olduğu kimi, moleklyar komponentlərə parçalayır. Sonra lizosom membranında olan aminturşu-permeazalar, sərbəst amin turşularının yeni zülalların sintezində istifadə edilmək üçün geriyə sitozola daşınmasına imkan verirlər.

Alimlər autofaqiya yolunda qüsurlu olan mutantları öyrənməklə, aclıq zamanı hüceyrə komponentlərinin yenidən istifadə olunmasından başqa autofaqiyadan asılı olan bir prosesi də identifikasiya etdilər. *Drosophila*-da və siçanda aparılmış eksperimentlər göstərdi ki, autofaqiya, düzgün fəaliyyətindən

kənara çıxmış orqanoidləri məhv etməklə keyfiyyət-nəzarəti mexanizmində də iştirak edir. Xüsusilə, autofaqiya yolu, bütövlüyünü itirmiş və uzun müddət daxili membranlarından keçən elektrokimyəvi qradientə malik olmayan səhv fəaliyyətdə olan mitoxondrini hədəf edir. Müəyyən hüceyrə tiplərində, sahib hüceyrənin sitozolunda çoxalan patogen bakteriyalar və viruslar, sahib orqanizmin yoluxmaya qarşı müdafiə mexanizminin bir hissəsi kimi lizosomlarda dağılmaq üçün autofaqiya yoluna hədəf olunurlar.

Bu proseslərin hər birində və bütün eukariot orqanizmlərdə autofaqiya yolu üç əsas pillədən keçir. Baxmayaraq ki, bu pillələrin hər birinin əsasını təşkil edən mexanizmlər kifayət qədər zəif öyrənilmişdir, guman olunur ki, bu fəsilə müzakirə olunmuş qovucuqlarla hərəkətin mexanizmlərinə yaxındır.

Autofaqosomun Nukleasiyası Guman olunur ki, autofaqosom membranla əhatə olunmuş orqanoidin fraqmentindən əmələ gəlmişdir. Autosomların əmələ gəlməsi üçün tələb olunan bu membranın mənəbəyini identifikasiya etməyə kömək edə bilən məlum olan inteqral membran zülalı olmadığından, bu membranın mənşəini izləmək çətin olmuşdur. Mayada aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, Qolci daşınmasında qüsurlu olan bəzi mutantlar autofaqiyada da qüsurludur, bu göstərir ki, autofaqosom ilkin olaraq Qolci fraqmentindən törəmişdir. Aclıqla induksiya olunmuş autofaqiya, görünür sitoplazmanın təsadüfi bir hissəsinin, o cümlədən orqanoidlərin autofaqosomla örtülmüş olduğu qeyri-spesifik prosesidir. Bu hallarda nucleasiya (mərkəzləşmə) saytı demək olar ki, təsadüfidir. Qüsurlu orqanoidlər autofaqosomla əhatə olunduğu halda, autofaqosomu nucleasiyaya hədəf etmək üçün orqanoidin səthində bəzi siqnal tipi və ya birləşmə saytı olmalıdır.



ŞƏKİL 14-34 Plazma membranından HIV tumurcuqlama mexanizmi.

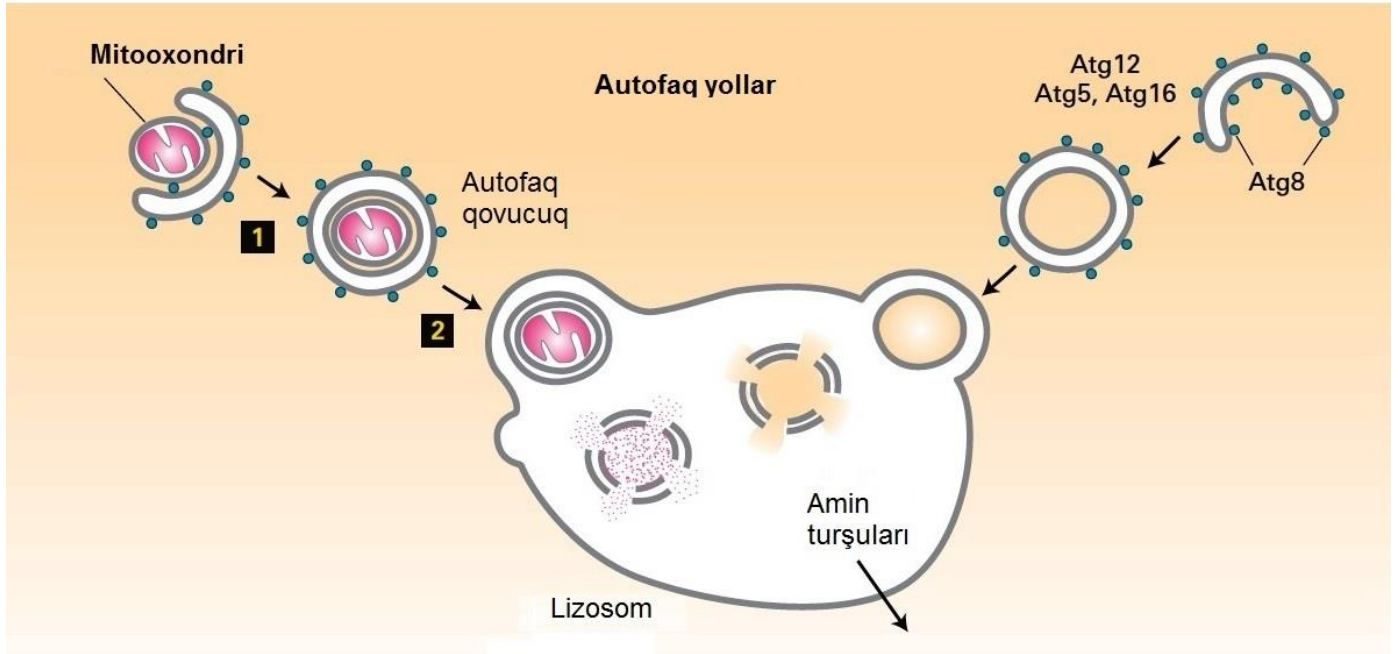
Çoxqovucuqlu endosomların formalaşması üçün tələb olunan zülallar plazma membranından virusun tumurcuqlaması üçün HIV tərəfindən istismar olunur. (a) HIV zərrəciklərin HIV-lə yoluxmuş hüceyrələrdən tumurcuqlaması virusla kodlaşdırılan Gag zülalı və hüceyrənin ESCRT və Vps4 zülallarını istifadə etməklə Şəkil 14-33-də göstərilmiş mexanizmlə baş verir (pillə 1-3). Ubikvitinləşmiş Gag tumurcuqlayan zərrəcik yaxınlığında Hrs kimi fəaliyyət göstərir. Müzakirə üçün tekstə bax. (b) HIV ilə yoluxmuş təbii formalı hüceyrələrdə virus zərrəcikləri plazma membranından tumurcuqlayır və sürətlə hüceyrə xarici boşluğa buraxılır. (c) Funksional Tsg101 ESCRT zülalından məhrum olan hüceyrələrdə virusun Gag zülalı sıx virusabənzər quruluşlar əmələ gətirir, amma bu quruluşların plazma membranından tumurcuqlaması tamamlana bilmir və tamamlanmamış virus tumurcuqlarının zəncirləri hələ də plazma membrandan asılmış vəziyyətdə yığılıb toplanır. [Wes Sundquist, University of Utah.]

Autofaqosomun Böyüməsi və Tamamlanması. Fincan-şəkilli orqanoidin böyüməsi üçün yeni membran autofaqosom membranına çatdırılmalıdır. Bu böyümə demək olar ki, nəqliyyat qovucuqlarının autofaqosom membranı ilə qovuşması nəticəsində baş verir. Autofaqosomların əmələ gilməsində iştirak edən təxminən 30 zülal, autofaqiya görə qüsurlu olan maya mutantlarında genetik ekranla identifikasiya olunmuşdur. Bu zülallardan biri, Şəkil 14-35-də göstərilən Atg8-dir, fosfatidiletanolamin lipidi ilə əlaqəli olan bu zülal ona görə də autofaqosomun sitozol üzünə qoşulmuşdur. Atg8-in membran qovucuğu ilə assosiasiyası qovucuğun böyüməkdə olan autofaqosoma qovuşmasında əsas mərhələdir.

Atg8-ə malik olan qovucuğun autofaqosomla qovuşmasına sitozolda Atg12, Atg5 və Atg16-nın toplanması daxildir. Atg12 quruluşuna görə ubikvitinə oxşardır və ubikvitin-konyuqasiyalı fermentlərə aid olan zülallar dəsti, ubikvitinin hədəf zülala birləşməsində istifadə olunan prosesə oxşar proseslə Atg12-nin Atg5 ilə kovalent birləşməsini həyata keçirir (bax Şəkil 3-31). Kovalent birləşmiş Atg12-Atg5 dimeri sonra Atg16 ilə birləşir

və autofaqosomun böyümə saytında yerləşən polimer kompleksi əmələ gətirir. Belə hesab edilir ki, məlüm olmayan mexanizmlə, bu sitozol kompleksi Atg8-saxlayan qovucuğun fincan-formalı faqosom daxilinə qovuşmasını həyata keçirir.

Autofaqosomun Hədəf Olunması və Qovuşması Guman olunur ki, tamamlanmış autofaqosomun xarici membranı, onu lizosomun membranı ilə qovuşmaq üçün hədəf edən zülallar dəstinə malikdir. Aşkar edilmişdir ki, qovucuğa-bərkidilmiş iki zülal autofaqosomların lizosomla qovuşması üçün tələb olunur, amma müvafiq SNARE zülalları tapılmamışdır. Autofaqosomun lizosomla qovuşması proteolitik kəsilmə yolu ilə Atg8 autofaqosom membranından azad olduqdan sonra baş verir və bu proteoliz pilləsi yalnız autofaqosomun tam bərkidilmiş iki-membranlı sistemi yarandıqdan sonra baş verir. Beləliklə, görünür Atg8 zülalı qovşaq zülallarını örtərək (maskalayaraq) autofaqosomun yetişmədən lizosomla qovuşmasına mane olur.



ŞƏKİL 14-35 Autofaqiya yolu. Autofaqiya yolu sitozol zülallarının və orqanoidlərinin parçalanmaq üçün lizosom daxilinə daşınmasına imkan verir. Autofaqiya yolunda fincan-formalı quruluş sitozol hissə ətrafında (sağda) və ya mitoxondri kimi orqanoid (solda) ətrafında əmələ gəlir. Membranın fasiləsiz şəkildə əlavə edilməsi, sonda tərkibindəkilər iki membranla tam örtülüdür olan autofaqosomun yaranmasına səbəb olur (pillə 1). Xarici membranın lizosom membranı

ilə qovuşması bir-membranlı qovucuqları və onun tərkibindəkiləri lizosom daxilinə buraxır (pillə 2). Lizosom daxilində zülal və lipid komponentlərinin hidrolazalarla parçalanmasından sonra, sərbəst buraxılmış amin turşuları lizosom membranından keçərək sitozola daşınırlar. Autofaqiya yolunda iştirak edən zülallara autophagosome ətrafında qabıq quruluşunu əmələ gətirən Atg8 daxildir.

14.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Membran Zülallarının və Sitozol Materiallarının Lizosomlara Yönləndirilməsi

- Lizosomlarda parçalanmaq üçün təyin edilmiş endositoz olunmuş membran zülalları endosomların daxilində tumurcuqlayan qovucuqlara daxil olur. Belə çoxsaylı daxili qovucuqlara malik olan çoxqovucuqlu endosomlar,
- Sitol plazmanın bir hissəsi və ya bütövlükdə orqanoid (məsələn, mitoxondri) yastılaşmış membran qabıq daxilində örtülür və tədricən sonda iki-membranlı autofaqosoma keçir.

Açar Sözlər

adaptor zülal (AP) kompleksləri
anteroqrad
ARF zülalları
aşağı sıxlıqlı lipozülalları (LDL)
autofaqiya
COPI
COPII
çəşidləmə siqnalı
çoxqovucuqlu endosom
dinamin
endositoz yolu
ESCRT zülalları
gecikən endosom
ifrazat (*secretion – sec*) mutantları

qovucuqları lizosom daxilinə çatdırmaq üçün lizosomla qovuşmaqlıdır (bax Şəkil 14-32).

- Endosomal membran daxilində tumurcuqlamanı həyata keçirən bəzi hüceyrə komponentləri (məsələn, ESCRT) viruslayılmış hüceyrənin plazma membranından qopub ayrılan HIV kimi qabıqlı virusların tumurcuqlanmasında və qopub ayrılmasında istifadə olunur (bax Şəkillər 14-33 və 14-34).

Autofaqosomun xarici qovucuq membranının lizosomla qovuşması onun qabıqla əhatə olunmuş tərkibini parçalanmaq üçün lizosom daxilinə buraxır (bax Şəkil 14-35)

ifrazat yolu
klatrin
konstitutiv ifrazat
mannoza 6-fosfat (M6P)
nəqliyyat qovucuqları
Rab zülalları
reseptorla-vasitələnmə endositoz
retroqrad
sisterna yetişməsi
tənzimlənən ifrazat
trans-Qolci şəbəkə
transsitoz
t-SNARE-lər

Konsepsiyalara Baxış

1. Palad və əməkdaşları mədəaltı vəzin asinar hüceyrələrində yeni sintez olunmuş zülalların yerini vizuallaşdırmaq üçün tədqiqatlarında radioaktiv-nişanlanmış amin turşuları və avtoradiografiya ilə puls-izləmə nişanlamasından istifadə etdilər. Aparılan ilk eksperimentlər zülalların sintezi və kompartmentlərarası daşınması barədə çox mühüm məlumatları təqdim etdi. Yeni metodlar bu ilkin yanaşmaları əvəz etdi, amma bu tip zülal nəqliyyatının öyrənilməsində istənilən sınaqları aparmaq üçün hələ də iki əsas tələb vacibdir. Onlar hansılardır və son zamanların eksperimentləri bu kriteriyalara necə cavab verir?
2. Qovucuqların tumurcuqlaması qabıq zülalları ilə əlaqəlidir. Qovucuqların tumurcuqlamasında qabıq zülallarının rolu nədən ibarətdir? Qabıq zülalları membranlara necə səfərbər olunur? Hansı tip molekulalar yeni formalaşan qovucuqlara böyük ehtimalla daxil edilir və ya çıxarılır? Böyük ehtimalla qovucuqların qopub ayrılmasında iştirak edən zülalların yaxşı öyrənilmiş hansı nümunəsi vardır?
3. Hüceyrələrin brefeldin A (BFA) dərmanı ilə işlənməsi Qolci membranlarının qabıqdan çıxmasına təsir edir, nəticədə hüceyrədə Qolci zülallarının çox böyük hissəsi ER-də tapılır. Bu müşahidələrdən, qabıq zülallarının qovucuqların əmələ gəlməsini təşviq etməklə yanaşı hansı digər rolu barədə nəticəyə gəlmək olar? ARF zülalında hansı tip mutasiyanın hüceyrənin BFA işlənməsiylə eyni effektdə malik olacağını tapın.
4. COPI-in β subvahidinin "əsas" rayonu ilə reaksiya girən EAGE kimi məlum olan anticismın mikroinyeksiyası Qolci fermentlərinin nəqliyyat qovucuqlarında yığılıb toplanmasına səbəb olur və yeni sintez olunmuş qovucuqların ER-dən plazma membranına anteroqrad nəqliyyatını ingibirləşdirir. Anticismın COPI fəallığına hansı təsiri vardır? Nəticəni izah edin.
5. Qovucuqlar arasında qovuşmanın spesifikliyi iki diskret və ardıcıl prosesi əhatə edir. İki prosedən birincisini və onun GTP keçirici zülalla tənzimlənməsini təsvir et. Erkən endosomların ölçüsünə nəyin təsiri GTP-birləşmiş vəziyyətdə olan Rab5-in mutant formasının superekspressiyasının nəticəsi ola bilər?
6. *Sec18* NSF-i kodlaşdıran maya genidir. Bu genin mutasiyası C sinif mutantlarını əmələ gətirir. Membran daşınmalarında NSF-in mexaniki rolu nədən ibarətdir? C sinif fenotipi ilə göstəriləndiyi kimi, NSF mutasiyası nəyə görə gizli yolun yalnız bir mərhələsi kimi görünən qovucuqların yığılmasına səbəb olur?
7. Prokollagen sintezinin hansı xüsusiyyəti Qolci sisterna yetişməsi modeli barədə ilkin sübutu təqdim edir?
8. İfrazat ylında zülalların retroqrad nəqliyyatına səbəb olan çeşidləmə siqnalları bəzən axtarış ardıcılığı kimi tanınır. Axtarış siqnallarının ER-də həllolan və membran zülalları üçün iki məlum olan nümunəsini göstərin. Həllolan ER zülallarının axtarış ardıcılığının mövcud olması onun *cis*-Qolci kompleksindən alınmasına necə səbəb olur? Axtarış ardıcılığı anlayışının sisterna-yetişməsi modelində necə əhəmiyyətli olmasını təsvir edin.
9. Klatrin adaptor zülal (AP) kompleksi membran zülallarının birbaşa sitozol üzünə birləşir, həmçinin klatrinlə qarşılıqlı əlaqəyə girir. Dörd adaptor zülalının kompleksləri hansılardır?

AP3-ün hansı müşahidələri göstərir ki, adaptor zülallarından təşkil olunmuş əsas qabıqda klatrin aksesör zülaldır?

10. I-hüceyrə xəstəliyi insanlarda zülal hədəflənməsində irsən ötürülmüş qüsurun klassik nümunəsi olub zülalların tam bir sinifinə, lizosomlarda həllolan zülallara təsir edir. I-hüceyrə xəstəliyində molekulyar qüsür nədən ibarətdir? Zülalların tam bir qrupunun hədəf olmasına təsir edən nədir? Hansı başqa tip mutasiyalar eyni fenotipi əmələ gətirə bilirlər?

11. Zülallar və lipidlər Qolci kompleksindən çıxdığından *trans*-Qolci şəbəkə çoxsaylı çeşidləmə proseslərinin saytı olur. Zülalların lizosomlara çeşidlənməsini və insulina malik olan qovucuqlar kimi tənzimlənən ifrazat qovucuqları daxilinə qablaşdırılmasını qarşı-qarşıya qoyun və müqayisə edin. MDCK hüceyrələrdə və hepatositlərdə zülalların bazolateralə qarşı apikal hüceyrə səthində çeşidlənməsini qarşı-qarşıya qoyun və müqayisə edin.

12. Qrip virusunun və qovucuqlu stomatit virusunun (VSV) polyarlaşmış MDCK hüceyrələrindən tumurcuqlaması yeni sintez olunmuş plazma membranı zülallarının apikal və ya bazolateral domenlərə çeşidlənməsi barədə nəyi aşkar etdi? İndi aşağıdakı nəticələri nəzərə alın: ardıcılığı VSV G zülalının sitoplazmatik domeninin ardıcılığına identik olan peptid G zülalın bazolateral səthə hədəf olunmasını ingibirləşdirir və HA-nın apikal membrana hədəf olunmasına təsir etmir, amma vahid tirozin qalığı alaninə mutasiya olunmuş peptid G zülalın bazolateral səthə hədəf olunmasına təsir etmir. Çeşidləmə prosesi haqqında bu sizə nə deyir?.

13. Mannoza 6-fosfat (M6P) ilə M6P reseptor arasında qarşılıqlı təsirin tənzimlənməsində pH-ın rolunu təsvir edin. Nəyə görə endosomal pH-ın qiymətinin qalxması yeni sintez olunmuş lizosomal fermentlərin hüceyrəxarici mühitə ifraz olunmasına səbəb olur?

14. Hansı mexaniki xüsusiyyətlər oxşardır: (a) endosom daxilinə tumurcuqlamaqla çoxqovucuqlu endosomların yaranması və (b) hüceyrə səthində HIV virusun xaricə tumurcuqlaması? Siz HIV tumurcuqlamasının peptid ingibitor/rəqibini dizayn etmək istəyirsiniz və sintetik peptiddə HIV Gag zülalının bir hissəsini təqlid etmək qərarına gə bilərsiniz. HIV Gag zülalının hansı hissəsi məntiqi seçim olacaq? Bu ingibitor hansı normal hüceyrə prosesini blok edəcək?

15. Faqositik və autofaqiya yolları iki fundamental fərqli rolları yerinə yetirirlər, amma hər ikisi öz qovucuqlarını lizosoma çatdırır. Bu iki yol arasında fundamental fərq nədən ibarətdir? Autofaqosomların əmələ gəlməsində və qovuşmasında üç əsas pilləni təsvir edin.

16. LDL-də və transferrin reseptorla-vasitələnən endostoz yollarında reseptor-liqand qarşılıqlı təsirin yerləşməsinə və pH həssaslığını tutuşdurun və müqayisə edin.

17. LDL reseptorun sitoplazmatik domenində nəsil hiperxolesterolemiyaya səbəb olan mutasiyalar reseptorla-vasitələnən endositoz yolu barədə nəyi aşkar etdi?

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

İfrazat yollarını öyrənməyin metodları

Beckers, C. J., et al. 1987. Semi-intact cells permeable to macromolecules: use in reconstitution of protein transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi complex. *Cell* **50**:523–534.

Kaiser, C. A., and R. Schekman. 1990. Distinct sets of SEC genes govern transport vesicle formation and fusion early in the secretory pathway. *Cell* **61**:723–733.

Lippincott-Schwartz, J., et al. 2001. Studying protein dynamics in living cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:444–456.

Novick, P., et al. 1981. Order of events in the yeast secretory pathway. *Cell* **25**:461–469.

Orci, L., et al. 1989. Dissection of a single round of vesicular transport: sequential intermediates for intercisternal movement in the Golgi stack. *Cell* **56**:357–368.

Palade, G. 1975. Intracellular aspects of the process of protein synthesis. *Science* **189**:347–358.

Qovucuqların Tumurcuqlamasın və Qovuşmasının Molekulyar Mexanizmi

Bonifacino, J. S., and B. S. Glick. 2004. The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell* **116**:153–166.

Hutagalung, A. H., and P. J. Novick. 2011. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology. *Physiol. Rev.* **91**:119–149.

Jahn, R., et al. 2003. Membrane fusion. *Cell* **112**:519–533.

Kirchhausen, T. 2000. Three ways to make a vesicle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**:187–198.

McNew, J. A., et al. 2000. Compartmental specificity of cellular membrane fusion encoded in SNARE proteins. *Nature* **407**:153–159.

Ostermann, J., et al. 1993. Stepwise assembly of functionally active transport vesicles. *Cell* **75**:1015–1025.

Schimmoller, F., I. Simon, and S. Pfeffer. 1998. Rab GTPases, directors of vesicle docking. *J. Biol. Chem.* **273**:22161–22164.

Weber, T., et al. 1998. SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion. *Cell* **92**:759–772.

Wickner, W., and A. Haas. 2000. Yeast homotypic vacuole fusion: a window on organelle trafficking mechanisms. *Annu. Rev. Biochem.* **69**:247–275.

Zerial, M., and H. McBride. 2001. Rab proteins as membrane organizers. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:107–117.

İfrazat Yolunun Erkən Mərhələləri

Behnia, R., and S. Munro. 2005. Organelle identity and the signposts for membrane traffic. *Nature* **438**:597–604.

Bi, X., et al. 2002. Structure of the Sec23/24-Sar1 pre-budding complex of the COPII vesicle coat. *Nature* **419**:271–277.

Glick, B. S., and A. Nakano. 2009. Membrane traffic within the Golgi apparatus. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **25**:113–132.

Gurkan, C., et al. 2006. The COPII cage: unifying principles of vesicle coat assembly. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:727–738.

Lee, M. C., et al. 2004. Bi-directional protein transport between the ER and Golgi. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **20**:87–123.

Letourneur, F., et al. 1994. Coatamer is essential for retrieval of dilysine-tagged proteins to the endoplasmic reticulum. *Cell* **79**:1199–1207.

Lord, C., S. Ferro-Novick, and E. A. Miller. 2013. The highly conserved COPII coat complex sorts cargo from the endoplasmic reticulum and targets it to the Golgi. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **5**:a013367.

Losev, E., et al. 2006. Golgi maturation visualized in living yeast. *Nature* **441**:1002–1006.

Pelham, H. R. 1995. Sorting and retrieval between the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. *Curr. Opin. Cell Biol.* **7**:530–535.

İfrazat Yolunun Sonuncu Mərhələləri

Bonifacino, J. S. 2004. The GGA proteins: adaptors on the move. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**:23–32.

Bonifacino, J. S., and E. C. Dell'Angelica. 1999. Molecular bases for the recognition of tyrosine-based sorting signals. *J. Cell Biol.* **145**:923–926.

Edeling, M. A., C. Smith, and D. Owen. 2006. Life of a clathrin coat: insights from clathrin and AP structures. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:32–44.

Fotin, A., et al. 2004. Molecular model for a complete clathrin lattice from electron cryomicroscopy. *Nature* **432**:573–579.

Ghosh, P., et al. 2003. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4**:202–213.

Mellman, I., and W. J. Nelson. 2008. Coordinated protein sorting, targeting and distribution in polarized cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**:833–845.

Schmid, S. 1997. Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu. Rev. Biochem.* **66**:511–548.

Simons, K., and E. Ikonen. 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature* **387**:569–572.

Steiner, D. F., et al. 1996. The role of prohormone convertases in insulin biosynthesis: evidence for inherited defects in their action in man and experimental animals. *Diabetes Metab.* **22**:94–104.

Tooze, S. A., et al. 2001. Secretory granule biogenesis: rafting to the SNARE. *Trends Cell Biol.* **11**:116–122.

Reseptorla-Vasitələnən Endositoz

Brown, M. S., and J. L. Goldstein. 1986. Receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* **232**:34–47. (Nobel Prize lecture.)

Kaksonen, M., C. P. Toret, and D. G. Drubin. 2006. Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:404–414.

Rudenko, G., et al. 2002. Structure of the LDL receptor extracellular domain at endosomal pH. *Science* **298**:2353–2358.

Membran Zülallarının və Sytozol Materiallarının Lizosoma Yöndəlməsi

Geng, J., and D. J. Klionsky. 2008. The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy. *EMBO Rep.* **9**:859–864.

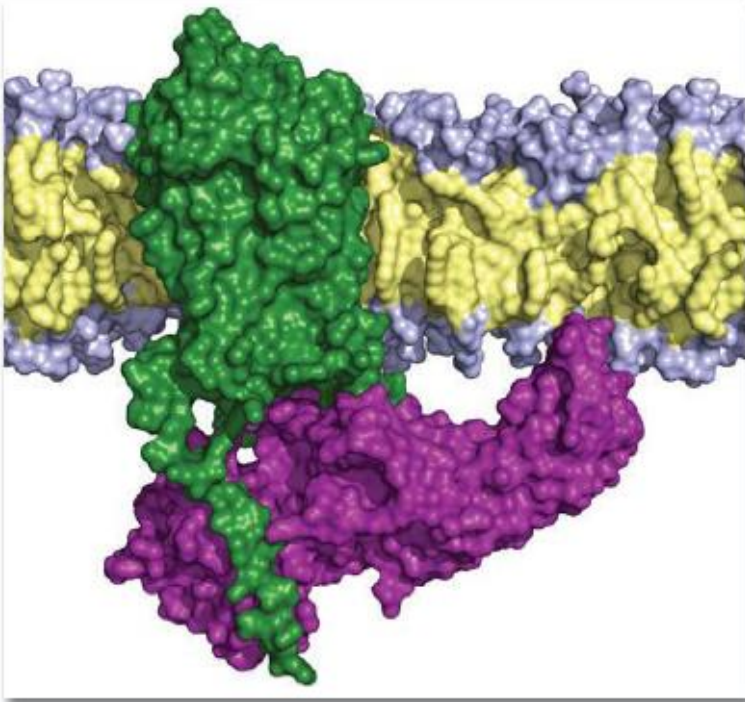
Henne, W. M., N. J. Buchkovich, and S. D. Emr. 2011. The ESCRT pathway. *Dev. Cell* **21**:77–91.

Katzmann, D. J., et al. 2002. Receptor downregulation and multivesicular-body sorting. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**:893–905.

Lemmon, S. K., and L. M. Traub. 2000. Sorting in the endosomal system in yeast and animal cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**:457–466.

Shintani, T., and D. J. Klionsky. 2004. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* **306**:990–995.

Sundquist, W. I., and H.-G. Krausslich. 2012. HIV-1 assembly, budding, and maturation. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**:a006924.



Siqnal Ötürülməsi və G Zülallarla- Cütləşən Reseptorlar

β -arrestinlə (bənövşəyi) birləşmiş G zülalla-cütləşən hüceyrə-səth reseptorunun (yaşıl) quruluşu. Uzun müddət ərzində fəal vəziyyətdə olan G zülalla-cütləşən hüceyrə-səth reseptorları fosforlaşır və arrestinlə birləşməyə və reseptorla siqnalın daha da verilməsinin ingibirləşməsinə səbəb olurlar. [verilənlər Y. Kang et al., 2015, *Nature* 523:561-567, PDB ID 4zwj, və xüsusi PDB-dən.]

Hüceyrə təklidə yaşamır, həyat tələb edir ki, bütün hüceyrələr öz ətraf mühitindəki kimyəvi və fiziki stimulu hiss etsinlər və bu stimula onların fəaliyyətinə və inkişafına təsir edə bilən dəyişikliklərlə cavab verə bilsinlər. Çox hüceyrələr işığı hiss edir və ona qarşı cavab verirlər: çox birhüceyrəli yosunlar fototaktikdirlər (bax Fəsil 1) və bu fəsildə biz sonra görəəcəyik ki, insan retinasında hüceyrə işığı necə hiss edir və beyinə siqnal yollamaqla ona cavab verir. Başqa hüceyrələr toxunmaq və ya istilik kimi fiziki stimulları hiss edir və onlara cavab verirlər.

Əksər siqnallar kimyəvi molekulardır, qoxu, dadılmı (dadına baxıla bilən çoxsaylı maddələr) və hətta oksigen virtual olaraq hər bir metazoan hüceyrəsinin və orqanizminin ətraf mühitidir. Siqnal molekullarının çox tipi bir hüceyrə tərəfindən buraxılır və başqa hüceyrənin cavab reaksiyasını induksiya edir, hüceyrə kommunikasiyası kimi məlum olan bu fundamental proses hər bir canlı orqanizmin inkişafını və funksiyasını formalaşdırır, hətta birhüceyrəli eukariot mikroorqanizmlər, məsələn maya, yosunlar, kif göbələyi və protozoanlar (ibtidailər) hüceyrəxarici siqnallar vasitəsi ilə əlaqə yaradırlar. Növbəti fəsildə biz **feromonlar** adlanan ifrazat molekullarının cinsi qovuşmanı və ya differensasiya zamanı müəyyən şərait altında sərbəst-yaşayan hüceyrələrin aqreqasiyasını koordinasiya etdiyini görəəcəyik.

Çoxhüceyrəli bitki və heyvan orqanizmlərində daha böyük əhəmiyyət kəsb edən **hormonlar** və başqa hüceyrəxarici siqnal molekullarıdır ki, şəkərlərin, yağların və amin turşularının metabolizmi də daxil olmaqla, müxtəlif proseslərə nəzarət etmək üçün, toxumaların böyüməsi və differensasiyası üçün, kiçik-molekullu hormonların və zülalların sintezi və ifrazı üçün, hüceyrədaxili və hüceyrəxarici mayenin tərkibinin saxlanması

üçün orqanizm *daxilində* fəaliyyət göstərirlər. Çox tip metazoan hüceyrələri işıq, oksigen, qoxu və qidalardakı dad kimi xarici mühitdən olan siqnallara da həmçinin cavab verirlər.

İstənilən hər hansı bir sistemdə, siqnalın hər hansı bir hədəfə təsir etməsi üçün birinci o qəbul olunmalıdır. Hüceyrələrdə, siqnallar yalnız hədəf hüceyrələrində **reseptorlar** vasitəsi ilə siqnala xüsusi cavab reaksiyasını yaradırlar. Bəzi reseptorlar üçün bu siqnal toxunmaq, işıq və ya istilik kimi fiziki stimullardır. Çoxsaylı müxtəlif tipli kimyəvi maddələr: kiçik molekul (məsələn, amin turşuları və ya lipid törəmələri, asetilxolin), qazlar (azot oksidi), peptidlər (məsələn, ACTH və vazopressin), həllolan zülallar (məsələn, insulin və boy hormonları) və hüceyrə səthinə hörülmüş və ya hüceyrəxarici matrisaya birləşmiş zülallar siqnal molekulları kimi istifadə olunurlar. Bu hüceyrəxarici siqnal molekullarının çoxu çoxhüceyrəli orqanizmlər daxilində xüsusiləşmiş siqnal hüceyrələrində sintez olunaraq ifrazat qovucuqlarına yerləşdirilərək xüsusiləşmiş siqnal hüceyrələri tərəfindən buraxılırlar. Fermentlər kimi, reseptorların çoxu bir molekulu və ya çox yaxın olan molekul qrupunu birləşdirirlər, fermentlədən fərqli olaraq reseptorlar birləşdikləri molekulları kimyəvi çevrilməyə kataliz etmirlər.

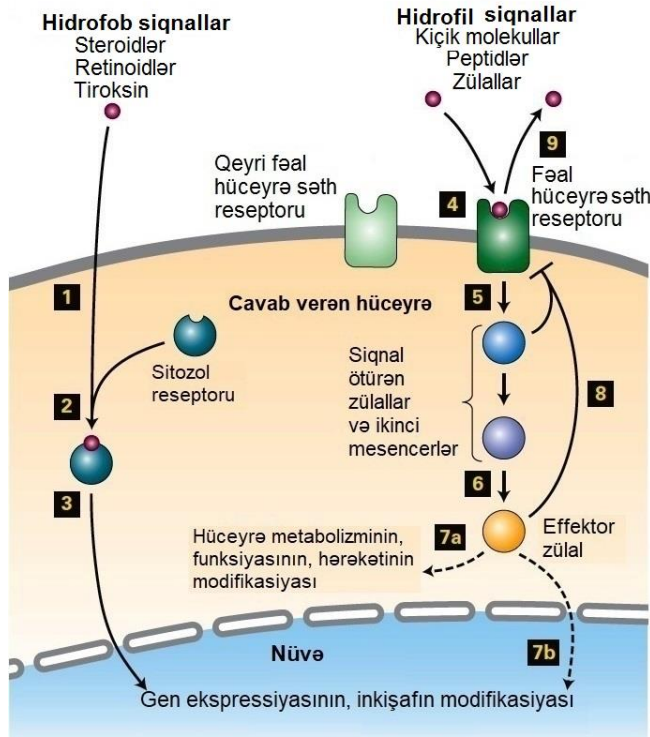
Hidrofob siqnal molekullarının böyük bir sinifi, ilk növbədə steroidlər, retinoidlər və tiroksin kimi hidrofob molekul plazma membranından spontan şəkildə diffuziya edir və hüceyrədaxili reseptorlara birləşirlər (Şəkil 15-1). Əksər hallarda bizim fəsil 9-da gördüyümüz kimi, reseptor-hormon kompleksi nüvə daxilində hərəkət edir, DNT-də spesifik tənzimləyici ardıcılıqlara birləşir və spesifik hədəf genin ekspressiyasını fəallaşdırır və ya repressiya edir.

QISA İCMAL

15.1 Sıgnal Ötürülməsi: Hüceyrəxarici Sıgnaldan Hüceyrə Cavabına

15.2 Hüceyrə-Səth Reseptorlarının və Sıgnal Ötürən Zülalların Öyrənilməsi

15.3 G Zülalla-Cütləşən Reseptorlar: Quruluşu və Mexanizmi



ŞƏKİL 15-1 Hüceyrənin Sıgnal Ötürülməsinə Ümumi Baxış.

Steroidlər və ona yaxın olan molekullar kimi hidrofob sıgnal molekulları plazma membranından diffuziya edərək keçir (pillə 1) və sitozolda reseptora birləşirlər (pillə 2). Reseptor sıgnal-kompleksi nüvəyə keçir (pillə 3), burada o DNT-dəki transkripsiya-nəzarət rayonu ilə birləşə və gen ekspresiyasını fəallaşdırır və ya ingibirləşdirə bilər. Sıgnal molekullarının çoxu, o cümlədən kiçik molekullar (adrenalin, asetilxolin), peptidlər (maya cütləşmə faktorları, qlükaqon) və zülallar (insulin, boy hormonları) hidrofildirlər və hüceyrə membranından diffuziya edərək keçə bilmirlər. Bu molekullar xüsusi hüceyrə-səth reseptor zülallarına birləşirlər, reseptorda konformasiya dəyişikliyi əmələ gətirir və beləliklə onu fəallaşdırırlar (pillə 4). Fəallaşmış reseptor sonra sıgnal yolunda aşağıya doğru bir və ya daha artıq sıgnal ötürən zülalları və ya kiçik-molekullu ikinci messencləri fəallaşdırır (pillə 5) və sonda bir və ya daha artıq effektor zülalının fəallaşmasına səbəb olur (pillə 6). Sıgnal kaskadının son nəticəsi kimi ya hüceyrə funksiyasının, metabolizminin və ya hərəkətinin qısa-müddətli dəyişməsi baş verir (pillə 7a), ya da gen ekspresiyasında və ya inkişafda uzun-müddətli dəyişiklik baş verir (pillə 7b). Hüceyrə cavabının terminasiyası və ya azalan-modulyasiyası hüceyrədaxili sıgnal molekulları tərəfindən geri-yə-əlaqə vasitəsi ilə (pillə 8) və hüceyrəxarici sıgnalın uzaqlaşdırılması ilə (pillə 9) baş verir.

15.4 İon Kanallarını Tənzimləyən G Zülalla-Cütləşən Reseptorlar

15.5 Adenilil Tsiklazanı Fəallaşdırən və ya İngibirləşdirən G Zülalla-Cütləşən Reseptorlar

15.6 Sitozolda və Mitoxondridə Ca^{2+} Səviyyəsini Qaldıran G Zülalla-Cütləşən Reseptorlar

Biz bu və növbəti fəsilə diqqətimizi plazma membranından diffuziya edib keçmək üçün həddən artıq böyük olan və çox hidrofil olan hüceyrəxarici sıgnal molekullarına yetirəcəyik. Bəs onlar sonra hüceyrədaxili proseslərə necə təsir edirlər? Bu sıgnal molekulları plazma membranına batmış inteqral membran zülalları olan hüceyrə-səth reseptorlarına birləşirlər. Hüceyrə-səth reseptorları əsasən üç diskret doməndən və ya seqmentdən təşkil olunub: hüceyrələrə baxan mayeyə baxan hüceyrəxarici domən, plazma membranına sarıyan, membranı kəsib keçən (transmembran) domən və sitozola baxan seqmentdən təşkil olunmuş hüceyrədaxili domən. Sıgnal molekulu **liqand** kimi fəaliyyət göstərir və reseptorların hüceyrəxarici və ya transmembran domənlərinin quruluşuna görə komplementar olan saytına birləşir. Liqandın reseptorda öz saytına birləşməsi reseptorda konformasiya dəyişikliyi induksiya edir, bu da membrana-sarıyan domən vasitəsi ilə hüceyrədaxili sitozol doməninə ötürülür. Bu konformasiya dəyişikliyi reseptorun sitozolda olan zülallara və ya plazma membranına qoşulmuş digər zülallara birləşərək onların fəallaşmasına və ya ingibirləşməsinə səbəb olur. Çox hallarda, fəallaşmış bu zülallar müəyyən kiçik molekulların sintezini kataliz edir və ya Ca^{2+} kimi ionların hüceyrədaxili qatılığını dəyişirlər. Bu hüceyrədaxili zülallar və ya kiçik molekul **ikinci messenclər** sıgnalı sonra fermentlər və ya transkripsiya faktorları kimi bir və ya daha artıq effektor zülallara ötürürlər.

Çox sıgnal molekulları, o cümlədən GTP-birləşdirən “keçirici” zülallar və Fəsil 3-də təqdim edilmiş proteinkinazalar sıgnal ötürən zülalların böyük bir sinifinin nümayəndələridirlər və təkamül prosesində yüksək dərəcədə qorunub saxlanmışlar. Hüceyrəxarici sıgnalların hüceyrədaxili cavaba çevrilməsinin ümumi prosesi eləcə də bu prosesin hər bir fərdi mərhələsi **sıgnal ötürülməsi (signal transduction)** adlanır, aralıq mərhələlərin (intermediatların) düzöldüyü zəncir isə sıgnal ötürülməsi yolu adlanır, çünki sıgnal reseptordan onun hədəfinə qədər ötürülərkən informasiya bir formadan digər formaya çevrilir və ya ötürülür. Bəzi sıgnal ötürən yollar yalnız iki və ya üçü aralıq intermediata malik olur, digərləri isə on və daha artıq mərhələni əhatə edə bilər. (Şəkil 15-1).

Şəkil 15-1-də göstəriləyi kimi, hüceyrəxarici sıgnal molekullarının hüceyrə-səth reseptoruna birləşməsi ilə başlayan sıgnal ötürülməsi iki əsas tip hüceyrə cavabını induksiya edir. Birinciyə (pillə 7a) spesifik fermentlərin və ya hüceyrədə artıq mövcud olan digər zülalların fəaliyyətindəki qısa-müddətli (saniyələr və ya dəqiqələr) dəyişmələr, çox zaman fosforlaşma və ya ubikvitinləşmə kimi kovalent modifikasiyalar və ya cAMP və ya Ca^{2+} kimi molekulların birləşməsi daxildir. İkinciyə (pillə 7b) spesifik transkripsiya faktorlarının çox hallarda fosforlaşma və ya digər kovalent modifikasiyalarla fəallaşması (və ya repressiyası) daxildir, bu da hüceyrə daxilində olan spesifik

zülalların miqdarında uzunmüddətli (saatlar və ya günlər) dəyişikliyə səbəb olur.

Eukariotlarda hüceyrə səth reseptorlarının təxminən ondan artıq sinifi var, bunlar hüceyrədaxili siqnal yollarının bir sıra tiplərini fəallaşdırırlar. Siqnal ötürülməsi barədə bizim biliklərimiz son vaxtlar geniş ölçüdə inkişaf etmişdir, çünki bu reseptorlar və yollar yüksək dərəcədə konservativdirlər və mahiyyətcə qurdlar, milçəklər, siçan və insanlar kimi geniş müxtəlifliyə malik olan orqanizmlərdə eyni yolla fəaliyyət göstərirlər. Biokimyəvi analizlərlə genetik tədqiqatların birləşməsi tədqiqatçılara liqandın birləşdiyi andan hüceyrənin son cavabına qədər bütün çoxsaylı siqnal yollarını izləməyə imkan verdi. Bu fəsildə, biz əvvəlcə siqnal ötürülməsinin, liqand reseptor birləşməsinin molekulyar əsasları kimi bir sıra əsas prinsiplərinə və siqnal ötürülməsi yollarının təkamül prosesində saxlanılmış müəyyən konservativ komponentlərinə baxacağıq. Növbəti hissədə biz hüceyrə-səthi reseptorlarının və siqnal ötürən zülalların biokimyəvi identifikasiyasını və xarakteristikasını təsvir edəcəyik.

Daha sonra, mayadan insana qədər bütün orqanizmlərdə tapılmış reseptorların çox böyük və təkamülcə konservativ olan sinifinin – **G zülallarla-cütləşən reseptorların** dərin müzakirəsinə başlayırıq. Onların adlarından göründüyü kimi, G zülallarla-cütləşən reseptorlar, hüceyrə daxilində siqnalları ötürən hüceyrədaxili G-zülallara birləşən inteqral membran reseptor zülallarından təşkil olunublar. İnsan genomu təxminən 800-dən artıq G zülallarla-cütləşən reseptorları kodlaşdırır, bunlar da identifikasiya olunan bütün insan zülallarının 4 faizə qədərini təşkil edir. Əksəriyyəti spesifik kiçik molekullarla və ya peptidlərlə birləşirlər, amma az hissəsi zülallarla birləşir. GPCR-lərə görmə kaskadına, qoxu və dadbilmə sistemlərinə daxil olan reseptorlar və çoxsaylı neuroötürücü reseptorlar və karbohidratların, amin turşularının və yağların metabolizmini, hətta davranışı tənzimləyən hormonların çoxsaylı reseptorları daxildir. Adətən GPCR-lər vasitəsi ilə siqnal ötürülməsi hüceyrənin metabolizmi və hərəkəti kimi fəaliyyətlərində qısamüddətli dəyişikliyi induksiya edir. Biz bu yolların hüceyrə fəaliyyətinin qlükoza metabolizmi, əzələ yığılmaları, işıq udulması və gen ekspressiyası kimi çox aspektlərinə necə təsir etdiyini göstəririk.

Hüceyrə səth reseptorlarının digər böyük sinifləri əsasən zülal liqandlarla birləşirlər. Bu reseptorların fəallaşması hüceyrənin gen ekspressiyası profilini dəyişir, hüceyrə differensiasiyasına və ya bölünməsinə və hüceyrədə başqa uzunmüddətli dəyişikliklərə səbəb olur. Bu reseptorlar və onların fəallaşdırdığı hüceyrədaxili siqnal yolları Fəsil 16-da tədqiq olunur. 22-ci fəsildə biz ion kanallarına birləşən sinir sistemi ilə məhdudlaşan reseptorların digər siniflərini müzakirə edirik.

15.1 Siqnal ötürülməsi: Hüceyrəxarici siqnalın hüceyrə cavabına

Bu bölmədə, biz siqnal molekullarının özlərindən başlayaraq siqnal yolunun əsas mərhələlərinə ümumi baxış keçirəcəyik. Biz liqand-reseptor birləşməsinin molekulyar əsaslarını və siqnalın öz reseptoruna birləşməsi ilə hədəf hüceyrələrdə inisiyaya olunan hadisələrin zəncirini tədqiq

edirik, diqqətimizi siqnal ötürülməsi yollarının əksəriyyətinin mərkəzində duran bir sıra komponentlərə yönəldirik.

Siqnal Molekulları Lokal və Uzaq Məsafədən Təsir Göstərirlər

Yuxarıda qeyd edildiyi kimi, hüceyrələr çox sayda müxtəlif siqnallara cavab verirlər, bunlardan bəziləri orqanizmə xaricdən gəlir, digərləri isə daxildə yaranırlar. Daxildə yarananlar öz hədəflərinə necə çatmaları ilə təsvir oluna bilərlər. Bəzi siqnal molekulları qan vasitəsi ilə uzun məsafədən daşınırlar, digərləri daha çox lokal təsirə malikdirlər. Heyvanlarda hüceyrəxarici molekullarla siqnallar, siqnalın təsir etdiyi məsafəyə əsaslanaraq üç tipdə təsnifləşdirilə bilər – **endokrin, parakrin** və ya **autokrin** (Şəkil 15-2a-c).

Endokrin siqnal zamanı siqnal molekulları siqnal hüceyrələri (məsələn, endokrin vəzlərində olanlar) tərəfindən sintez olunaraq ifraz olunurlar, orqanizmin dövrəedicisi sistemi tərəfindən daşınaraq sonda sintez olunduqları nahiyədən uzaq məsafədə olan hədəf hüceyrələrə təsir edirlər. Ümumilikdə **hormon** sözü endokrin siqnalların həyata keçirilməsində vasitəçilik edən siqnal molekullarına aid edilir. Mədəaltı vəz tərəfindən ifraz edilən insulin və böyrəküstü vəz (adrenal qlanda) tərəfindən ifraz olunan epinefrin hormonlarına aid olan nümunədir və qanla hərəkət edərək endokrin siqnalın həyata keçirilməsində iştirak edir.

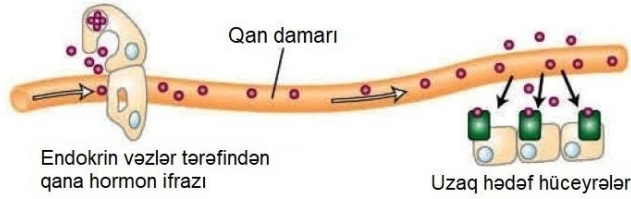
Parakrin siqnal zamanı hüceyrə tərəfindən buraxılan siqnal molekulları yalnız çox yaxınlıqdakı hədəf hüceyrələrə təsir edir. Sinir hüceyrələri tərəfindən ifraz olunan, yaxınlıqdakı sinir hüceyrələrinə və ya əzələ hüceyrələrinə təsir edən (əzələ dartılmasını induksiya və ya ingibirləşdirən) neyroötürücülər, məsələn asetilxolin, parakrin siqnala bir misaldır. Neyroötürücülərdən başqa, çox sayda **zülal boy faktorları** çoxhüceyrəli orqanizmlərdə inkişafı tənzimləyərək, qısa zaman müddətində təsir edirlər. Bu zülalların bəziləri sıx şəkildə hüceyrəxarici matrisanın komponentlərinə birləşirlər, ona görə də yaxınlıqdakı hüceyrəyə siqnalı ötürə bilmirlər, amma yoluxma və ya yaralanma ilə bu matrisa komponentlərinin müvafiq parçalanması fəal boy faktorlarının buraxılmasına səbəb olur və onların siqnal verməsini mümkün edir. Fəsil 16-da bizim müzakirə edəcəyimiz, inkişaf cəhətdən əhəmiyyətli olan çox sayda siqnal zülalları siqnal hüceyrələrindən uzağa diffuziya edərək qatılıq qradientini əmələ gətirirlər, siqnal zülalının qatılığından asılı olaraq hüceyrədə müxtəlif cavab reaksiyalarını induksiya edirlər.

Autokrin siqnal zamanı, hüceyrələr özləri buraxdıqları maddələrə cavab verirlər. Bəzi boy faktorları bu formada fəaliyyət göstərir və çox zaman kultura olunan hüceyrələr onların özlərinin inkişafını və proliferasiyasını stimullaşdıran boy faktorlarını ifraz edirlər. Bu tipli siqnal verilməsi xüsusən şiş hüceyrələrinə xarakterikdir və bunların çoxu şişin əmələ gəlməsinə səbəb olan prosesi, münasib olmayan və tənzimlənməyən öznü-proliferasiyanı stimullaşdıran boy faktorlarını çox istehsal edirlər.

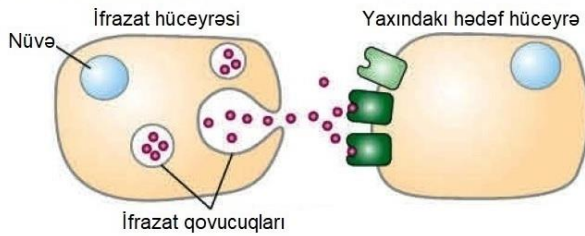
Hüceyrə səthində yerləşən **inteqral membran zülalları** da siqnal ötürülməsində əhəmiyyətli rol oynayırlar (Şəkil 15-2d). Bəzi hallarda, bir hüceyrədə olan belə membranla-bağlı siqnallar yaxındakı qonşu hədəf hüceyrənin səthində olan reseptorlara birləşir və onun differensiasiya olunmasını işə salır. Başqa

hallarda, membrana-birləşmiş siqnal zülalının proteolitik doğranması onun hüceyrəxarici seqmentini azad edir, o isə həll olan siqnal molekulu kimi fəaliyyət göstərir.

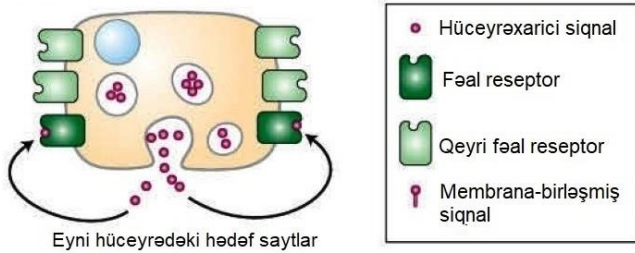
(a) Endokrin siqnalizasiya



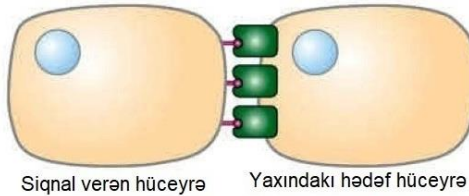
(b) Parakrin siqnalizasiya



(c) Autokrin siqnalizasiya



(d) Plazma-membranına-qoşulmuş zülallarla siqnalizasiya



ŞƏKİL 15-2 Hüceyrəxarici siqnalın tipləri. (a-c) Siqnalın hüceyrədən-hüceyrəyə hüceyrəxarici kimyəvi maddələr vasitəsi ilə ötürülməsi autokrin və parakrin siqnalillə bir neçə mikrometr məsafədən və endokrin siqnalı ilə bir neçə metr məsafədən ötürülür. (d) Bir hüceyrənin plazma membranına qoşulmuş zülalları yaxınlıqdakı hüceyrənin hüceyrə səthi reseptorları vasitəsi ilə birbaşa əlaqə yarada bilirlər.

Bəzi siqnal molekulları həm qısa həm də uzun siqnal yolunda fəaliyyət göstərir. Məsələn, *epinefrin* (həmçinin adrenalin kimi məlumdur) həm kəskin təhlükəli mühit üçün “döyüş və ya uçuş” (“fight or flight”) reaksiyasının bir hissəsi olan hormon kimi (endokrin siqnal ötürülməsində) həm də neyroötürücü (parakrin siqnal ötürülməsi) kimi fəaliyyət göstərir. Başqa bir nümunə,

Fəsil 16-da müzakirə olunan inteqral plazma membranı zülalı kimi sintez olunan epidermal boy faktorudur (EGF). Membrana-birləşmiş EGF yaxınlıqdakı hüceyrələrdə olan reseptorlara birləşə bilir. Bundan başqa, hüceyrəxarici proteazalarla doğranmaq EGF-in həll olan formasını azad edir, o isə siqnalı ya autokrin ya da parakrin üslubda ötürə bilir.

Reseptorlar Yalnız Bir Tip Hormona və ya Çox Yaxın Olan Hormonlar Qrupuna Birləşir

Bütün hüceyrəxarici kiçik hidrofilyar molekulların və siqnal zülal molekullarının reseptor zülalları hədəf hüceyrənin səthində yerləşirlər. Siqnal molekulları və ya liqand reseptorun hüceyrəxarici domenindəki sayta yüksək spesifikasiyaya və affinliklə birləşirlər. Liqand birləşməsi çoxsaylı zəif, qeyri kovalent qüvvələrdən (məsələn, ion, van-der Vaals və hidrofob əlaqələrdən) və reseptorla liqandın əlaqədə olan səthləri arasındakı molekulyar komplementarlıqdan asılıdır. Fermentdə olduğu kimi, hər bir reseptor, əsasən yalnız tək bir molekula və ya quruluşuna görə bir-birinə çox yaxın olan molekullar qrupuna birləşir. Məsələn, boy hormonu reseptoru boy hormonuna birləşir, amma çox oxşar olan, lakin identik quruluşda olmayan başqa hormonlara birləşmir. Buna oxşar olaraq, asetilxolin reseptorları yalnız bu kiçik molekula birləşirlər, lakin kimyəvi quruluşuna görə yüngülcə fərqlənən başqa molekullara birləşmirlər, halbuki insulin reseptoru insulinə və insulinə-bənzər boy faktorları 1 və 2 adlanan (IGF-1 və IGF-2) hormonlara birləşir amma başqa hormonlara birləşmir. Reseptorun *birləşmə spesifikasiyi* onun bir-birinə çox yaxın (oxşar) olan maddələrə birləşə bilmək və bilməmək qabiliyyəti hesab edilir.

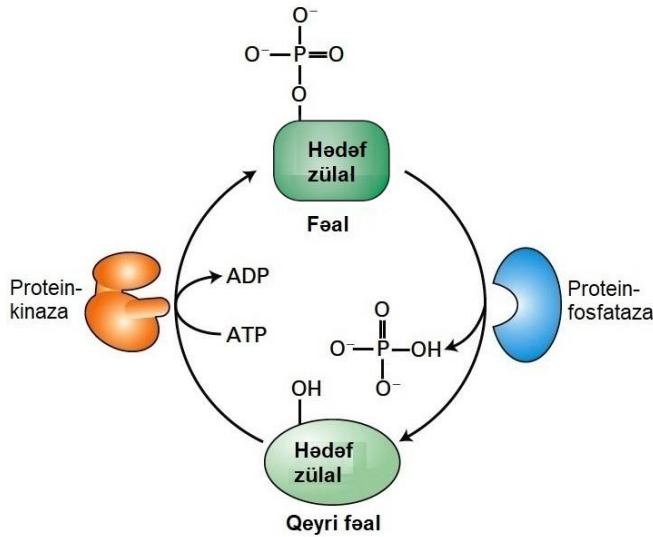
Liqandın reseptora birləşməsi reseptorda konformasiya dəyişikliyi əmələ gətirir, bu da hüceyrə daxilində spesifik cavaba səbəb olan reaksiyalar ardıcılığını inisiyasiya edir. Orqanizmlər tək bir ligandan istifadə etməklə müxtəlif hüceyrələrin fərqli yollarla cavab verməsini stimullaşdırmaq qabiliyyətində inkişaf etmişdir. Müxtəlif hüceyrə tipləri eyni liqand üçün müxtəlif reseptorlar dəstinə malik olurlar və hər bir reseptor tipinin fəallaşması müxtəlif hüceyrədaxili siqnal yollarını induksiya edir. Məsələn, skelet əzələ hüceyrələrinin, ürək əzələ hüceyrələrinin və hidrolitik həzm fermentlərini istehsal edən mədəaltı asınar hüceyrələrinin səthlərində hər biri asetilxolin üçün spesifik olan fərqli reseptor tiplərinə malikdirlər. Skelet əzələ hüceyrələrində, asetilxolinin motor neyronlarından buraxılması hüceyrələri asetilxolinlə-açılan ion kanallarının fəallaşması ilə əzələ dartılmalarını işə salmaq üçün innervasiya edir. Ürək əzələlərində, müəyyən neyronlar tərəfindən asetilxolinin buraxılması G zülalları-cütləşən reseptorları fəallaşdırır və əzələ dartılmasını və beləliklə də ürəyin döyülmə sürətini zəiflədir. Mədəaltı vəzin asinus hüceyrələrinin stimullaşması sitozolda Ca^{2+} artmasına səbə olur, o isə həzm prosesini həyata keçirmək üçün ifrazat qranulalarında saxlanılan həzm fermentlərinin eqzositozunu induksiya edir. Beləliklə müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif asetilxolin-reseptor komplekslərinin yaranması fərqli hüceyrə cavablarının yaranmasına səbəb olur.

Alternativ olaraq, eyni reseptor orqanizmdə müxtəlif hüceyrə tiplərində tapıla bilər, amma hüceyrə tərəfindən ekspressiya olunan zülalların verilmiş unikal dəstində xüsusi bir

liqandın reseptora birləşməsi hər bir hüceyrə tipində fərqli cavabı işə salır. Eyni epinefrin reseptoru (β -adrenargik reseptor) qaraciyərdə, əzələdə və piy (adipoz) hüceyrələrində tapılmışdır, bizim 15.5 bölməsində görəyimiz kimi, o birinci iki hüceyrə tipində qlükogenin qlükozaya depolimerləşməsinə stimullaşdırır, amma adipoz hüceyrələrində ehtiyat saxlanan piyin ifraz olunmasını və hidrolizini stimullaşdırır. Bu yollarla, eyni liqand müxtəlif yollarla müxtəlif hüceyrələri cavab vermək üçün induksiya edə bilər. Bu xüsusiyyət, reseptor-liqand kompleksinin *effektor spesifikliyi* adlanır.

Proteinkinaza və Fosfatazalar Çox Sıqnal Yollarında İstifadə Olunurlar

Faktiki olaraq bütün hüceyrə-səth reseptorlarının fəallaşması, hədəf zülalların spesifik qalıqlarına fosfat qrupunu əlavə edən ferment zülal **kinazaların** fəallaşması ilə birbaşa və ya dolayı yolla zülal fosforlaşmasında dəyişikliklərə gətirib çıxarır. Bəzi reseptorlar, hədəf zülallarda spesifik qalıqlardan fosfat qrupunu ayıraraq atan zülal **fosfatazaları** fəallaşdırır. Müxtəlif zülalların funksiyasını işə salmaq və dayandırmaq üçün fosfatazalar kinazalarla birlikdə fəaliyyət göstərir (Şəkil 15-3).



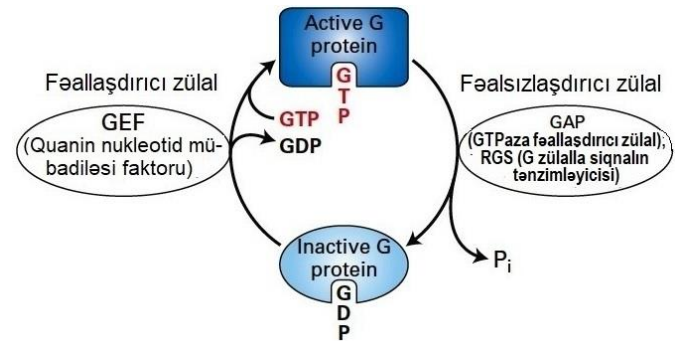
ŞƏKİL 15-3 Kinaza/fosfataza keçirici ilə zülal fəallığının tənzimlənməsi. Zülalın tsiklik fosforlaşması və defosforlaşması tənzimlənən zülal fəaliyyəti üçün ümumi hüceyrə mexanizmidir. Bu nümunədə hədəf və ya substrat zülal fosforlaşmayanda qeyri fəal olur (açıq yaşıl), fosforlaşanda (tünd yaşıl) isə fəal olur. Bəzi zülallar əks profilə malikdirlər. Həm proteinkinaza həm də fosfataza spesifik hədəf zülalında spesifik amin turşularına təsir edir və onların fəallıqları yüksək dərəcədə tənzimlənir.

İnsan genomu 600 yaxın proteinkinazaları və 100 müxtəlif fosfatazaları kodlaşdırır. Ümumiyyətlə, hər bir proteinkinaza spesifik hədəf dəstində və ya ekspressiya profili əsasən müxtəlif hüceyrə tiplərində fərqlənən zülallardan ibarət olan substratlarla spesifik amin turşusu qalıqlarını fosforlaşdırır. Heyvan hüceyrələri iki tip proteinkinazalara malik olurlar: fosfatı tirozin qalıqındakı hidroksil qrupuna əlavə edənlər (tirozinkinazalar) və fosfat qrupunu serin və ya treonin

qalıqlarındakı (və ya hər ikisindəki) hidroksil qrupuna əlavə edənlər (serin/treonin proteinkinazalar). Bu fəsilə və növbəti fəsilə biz görəyimiz ki, bütün məlum olan proteinkinazaların katalitik subvahidi N-sonluq və C-sonluq paylar da daxil olmaqla oxşar üç-ölçülü quruluşla malikdirlər, yüksək dərəcədə konservativ olan amin turşuları katalitik mərkəz ətrafında klaster əmələ gətirirlər və ATP birləşdirmək üçün çox əhəmiyyətliyərlər. Bütün kinazalar öz spesifik substratlarını yalnız fosforlaşan qalıqların yan zəncirinə birləşməklə deyil həmçinin fosforlaşan bu amin turşusunu əhatə edən spesifik qalıqlara birləşməklə tanıyırlar. Beləliklə, zülalda tirozin, serin və treonin qalıqlarını əhatə edən amin turşu ardıcılığına baxmaqla bu qalıqın hansı kinaza ilə fosforlaşa biləcəyini əvvəlcədən müəyyən etmək olar.

Çox zülallar çoxsaylı kinazaların substratlarıdır və bunların hər biri fərqli amin turşularını fosforlaşdırırlar. Hər bir fosforlaşma hadisəsi müxtəlif yollarla xüsusi hədəf zülalın fəallığını modifikasiya edə bilər, bəziləri onun funksiyasını fəallaşdırır, bəziləri isə onu ingibirləşdirir. Buna bir misal, bizim sonra qarşılaşacağımız, qlükoz metabolizminin əsas tənzimləyici fermenti qlükogen fosforilaza kinazadır (bax Şəkil 15-29). Çox hallarda, fosfat qrupunun amin turşu qalıqına əlavə olunması birləşmə səthini yaradır, bu isə ikinci zülalın birləşməsinə imkan verir; növbəti fəsilə biz çoxzülallı komplekslərin yığılmasının kinazay-ile-idarə olunan çoxsaylı nümunələri ilə qarşılaşacağıq.

Adətən proteinkinazanın katalitik fəallığı özlüyündə başqa kinazalar vasitəsi ilə fosforlaşdıqda, başqa zülalların ona birləşməsi ilə və müxtəlif kiçik hüceyrədaxili siqnal molekullarının və metabolitlərin miqdarının (səviyyəsinin) dəyişməsi ilə modulyasiya olunur. Əhəmiyyətlidir ki, bütün proteinkinazaların fəallıqları proteinfosfatazaların fəallıqlarının əksinədir və bunların bəziləri hüceyrəxarici siqnallar vasitəsi ilə öz-özünü tənzimləyir. Beləliklə hüceyrədə zülalın fəallığı adətən ona birbaşa və ya başqa zülalların fosforlaşması ilə dolayı yolla təsir edən çoxsaylı kinazaların və fosfatazaların fəaliyyətinin kompleks funksiyası ola bilər. Hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsində rast gəlinən bu fenomenin bir sıra nümunələri Fəsil 19-da təsvir olunur.

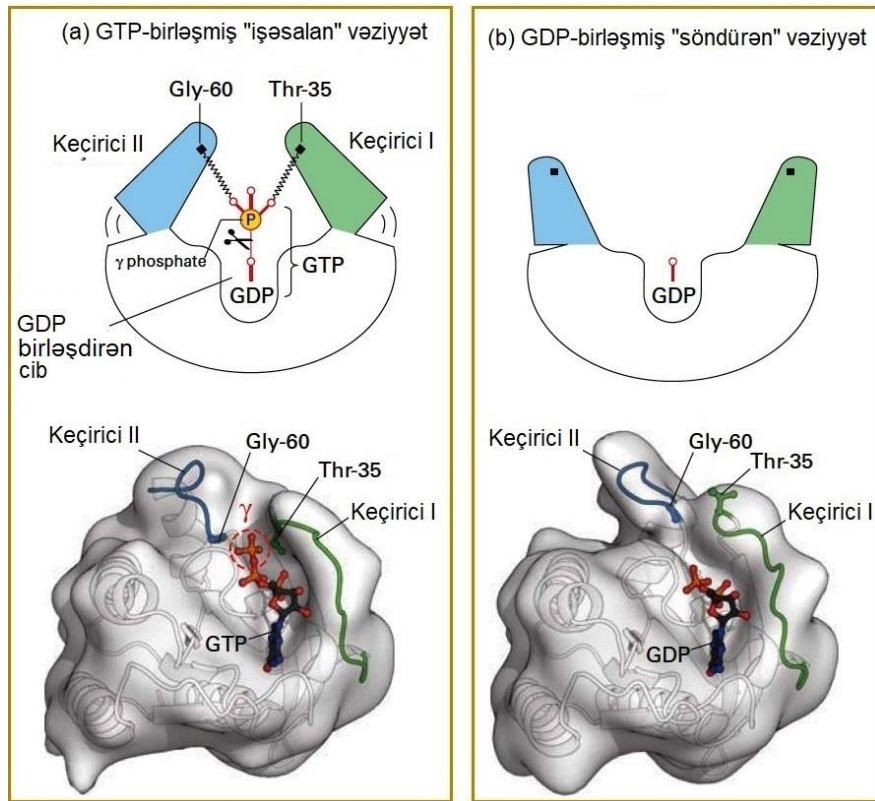


ŞƏKİL 15-4 GTP-aza keçirici zülallar fəal və qeyri fəal formalar arasında dövrə edirlər. Keçirici zülallar GTP-yə birləşəndə fəal olur, GDP-yə birləşəndə isə qeyri fəal olurlar. Birləşmiş GTP-nin hidrolizi vasitəsi ilə fəal formanın qeyri fəal formaya çevrilməsi GAP-lər (GTP-aza-fəallaşdırıcı zülallar) və başqa zülallar vasitəsi ilə sürətləndirilir. Yenidən fəallaşma, birləşmiş GDP-nin dissosiasiyasını və onun GTP ilə əvəz olunmasını kataliz edən GEF-lər (qvanin nukleotid mübadiləsi faktoru) vasitəsi ilə sürətləndirilir.

GTP Birləşdirən Zülallar Həmişə Sıqnal Ötürülməsində İşəsalan/Dayandıran Keçirici Kimi İstifadə Olunurlar

Bütün prokariotlarda və eukariotlarda tapılmış **GTP-aza superailəsi** zülalları çox hüceyrə proseslərində istifadə edilir. Bütün bu GTP-birləşdirən keçirici zülallar iki formada mövcud olurlar (Şəkil 15-4): (1) GTP (quanozin trifosfat) birləşmiş fəal ("işəsalan") forma, hansiki spesifik hədəf zülalların fəallığını modulyasiya edir; (2) GDP (quanozin difosfat) birləşmiş qeyri fəal ("dayandıran") forma, hədəf zülalların fəallığına təsir edə bilmirlər. Bu zülallar, onların zülal sintezindəki çox geniş yayılmış funksiyalarından görüldüyü kimi, təakmüləcə qədimdirlər [bunların sırasına zülal elonqasiyasında eIF2 inisiyasiya faktoru (Şəkil 5-23), EF1 α və EF2 zülalları (Şəkil 5-24); nüvə ilə sitoplazma arasında zülalların daşınması (Ran, Şəkil 13-36); nəqliyyat qovucularının əmələ gəlməsi (Sar zülallar, Şəkil 14-48) və onların hədəf membranlarla qovuşması (Rab zülallar, Şəkil 14-10); aktin sitoskeletonin yenidən təşkili (Fəsil 17-də müzakirə olunan Rho, Rac, və Cdc42 zülallar) daxilidirlər].

Biz burada bu superailənin sıqnal ötürülməsi yollarında iştirak edən və fəal GTP-birləşmiş formadan qeyri fəal GDP-birləşmiş formaya çevrilməklə sıx şəkildə tənzimlənən nümayəndələrinə diqqət yetirəcəyik. Qeyri fəal vəziyyətdən fəal vəziyyətə çevrilmə adətən sıqnal vasitəsi ilə (hormonun reseptora birləşməsi ilə) baş verir və GDP-nin keçirici (**switch**) zülaldan ayrılmasına səbəb olan *quanın nukleotidi mübadiləsi faktoru (GEF)* ilə həyata keçir. Ardınca, GDP ilə müqayisədə yüksək hüceyrədaxili qatılığına görə GTP-nin birləşməsi fəal formaya konformasiya dəyişikliyinə induksiya edir. Əsas konformasiya dəyişikliklərinə zülalın keçirici I və keçirici II adlanan iki əsas konservativ seqmentləri daxildir, bunlar zülalın sıqnal yolunda aşağıya doğru başqa sıqnal zülallarına birləşməsinə və onları fəallaşdırmasına imkan verir (Şəkil 15-5). Fəal formanın geriye, qeyri fəal formaya çevrilməsi GTP-aza vasitəsi ilə həyata keçir, bu zaman GTP-aza çox vaxt keçirici zülalın özünün bir hissəsi olub birləşmiş GTP-ni zəif şəkildə tədricən GDP-yə və P_i hidroliz edir, beləliklə keçirici I və keçirici II seqmentlərinin konformasiyasını elə dəyişir ki, nəticədə onlar hədəf effektor zülala birləşə bilmirlər.



ŞƏKİL 15-5 G zülallarının keçirici mexanizmi.

G zülalların başqa zülallarla qarşılıqlı əlaqəyə girmə və beləliklə də sıqnalı yaratma qabiliyyəti GTP-birləşmiş "işəsalan" və GDP-birləşmiş "dayandıran" vəziyyətlərində fərqlənir. (a) Fəal "işəsalan" vəziyyətdə keçirici I (yaşıl) və keçirici II (mavi) kimi adlanan iki domen GTP-nin terminal qamma fosfatına konservativ treonin və qlisin qalıqlarının özündəki amid qrupları ilə qarşılıqlı əlaqəsi vasitəsi ilə birləşir. Bu yolla GTP-yə birləşərkən iki keçirici domen elə konformasiyada olur ki, onlar aşağıya istiqamətdə spesifik effektor zülallara birləşə və onları fəallaşdırırlar. (b) Qamma fosfatın GTP-aza ilə-kataliz olunan buraxılması keçirici I və keçirici II-nin başqa konformasiyaya, qeyri fəal "dayandıran" vəziyyətə keçməsinə səbəb olur, bu vəziyyətdə onlar effektor zülallara birləşə bilmirlər. Burada göstərilən lent modelləri monomer G zülal Ras-ın hər iki konformasiyasını təsvir edir. Oxşar yay mexanizmi trimer G zülallarda üç keçirici seqmenti hərəkət etdirməklə (yerini dəyişməklə) alfa subvahidi fəal və qeyri fəal konformasiyalar arasında birindən digərinə keçirir. [I. Vetter and A. Wittinghofer, 2001, *Science* 294:1299-dan uyğunlaşdırılmışdır.]

GTP hidrolizinin sürəti keçirici zülalın fəal konformasiyada qalması və sıqnalı aşağıya doğru ötürə bilməsi müddətinin uzunluğunu tənzimləyir: GTP hidrolizi nə qədər zəif gədersə keçirici zülal bir o qədər uzun müddət fəal vəziyyətdə (konformasiyada) qalır. Çox zaman GTP hidrolizinin sürəti başqa zülallarla modulyasiya olunur. Məsələn, həm *GTP-aza fəallaşdırıcı zülallar (GAP)* həm də *G zülalı sıqnalının tənzimləyicisi (regulator of G protein signaling – RGS)* GTP

hidrolizini sürətləndirir (bax Şəkil 15-4). G zülalın fəallığının çoxsaylı tənzimləyicilərinin özlərinə də hüceyrəxarici sıqnallarla nəzarət olunur.

Sıqnal sistemində GTP-aza keçirici zülalların iki böyük sinifi istifadə olunur. **Heterotrimer G zülallar** müəyyən hüceyrə səth reseptorları ilə birbaşa birləşərək fəallaşırırlar. Bizim 15.3 Bölməsində görəcəyimiz kimi, G zülallarla-cütləşən reseptorlar quanın nukleotidi mübadiləsi faktorları (GEF-lər)

kimi fəaliyyət göstərirlər, onlar cütləşdikləri heterotrimer G zülaldə GDP-nin buraxılmasını və GTP-nin birləşməsinə işə salırlar, beləliklə G zülalı fəallaşdırırlar. **Monomer** (çox zaman **kiçik molekullu çəkili** adlandırılan) **G zülalları** o cümlədən **Ras**, **Ran** və **Sar** kimi müxtəlif Ras-bənzər zülallar birbaşa reseptorlara birləşmərlər, amma hüceyrə bölünməsinə və hüceyrə hərəkətliyini tənzimləyən çoxsaylı siqnal yollarında mühüm rol oynayırlar və sübut olunmuşdur ki, bu G zülalları kodlaşdıran genlərdəki mutasiyalar çox zaman xərcəng xəstəliyinin yaranmasına səbəb olur.

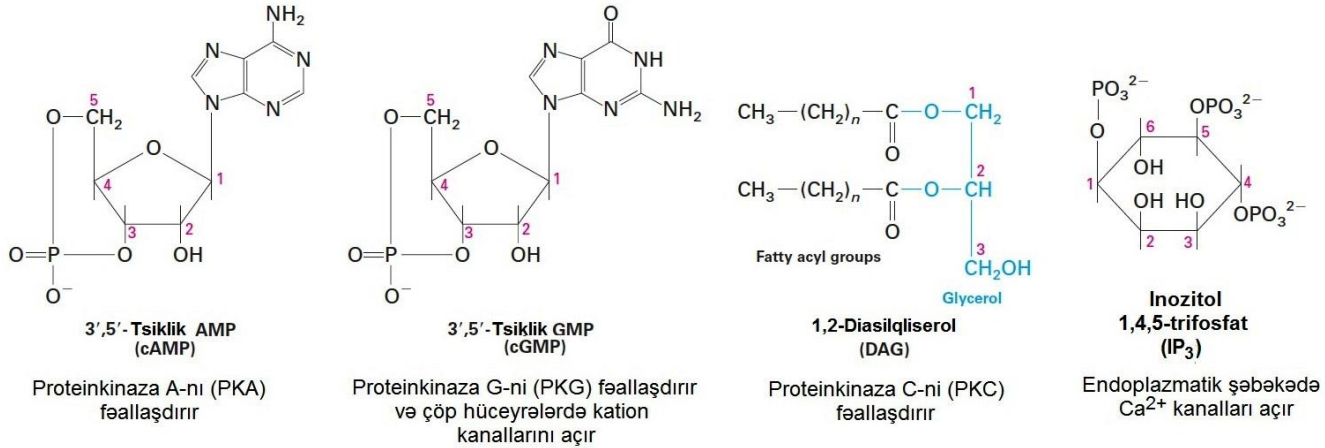
Hüceyrədaxili "İkinci Mesencerlər" Çoxsaylı Reseptorlardan Siqnalı Ötürür

Liqandların ("birinci mesencerlər") çoxsaylı hüceyrə-səth reseptorlarına birləşməsi, **ikinci mesencerlər** adlanan kiçik molekullu-çəkili hüceyrədaxili siqnal molekullarının qatılıqlarının qısa müddətli artmasına (və ya azalmasına) səbəb olur. Bu işə öz növbəsində başqa zülallara birləşərək onların fəallığını modifikasiya edir.

Faktiki olaraq bütün metazoanlarda istifadə olunan ikinci mesencerlərdən biri Ca^{2+} ionlarıdır. Fəsil 11-də biz qeyd etdik ki, sərbəst Ca^{2+} ionlarının sitozolda qatılığı, ATP-ile-ışləyən nasosla müntəzəm şəkildə hüceyrədən kənara, və ya endoplazmatik şəbəkə daxilinə (ER) vurulmaqla çox aşağı səviyyədə ($<10^{-7}$ M) saxlanılır. Ehtiyat saxlanılan Ca^{2+} ionlarının ER-dən siqnalla induksiya olunan buraxılması nəticəsində və ya onların müvafiq membrandakı kalsium kanalları vasitəsi ilə hüceyrəxarici mühitdən import olunması nəticəsində sitozolda Ca^{2+} səviyyəsi 10-dan 100 dəfəyə qədər arta bilər, bu dəyişiklik hüceyrə daxilinə keçirilmiş fluorescent

boya ilə aşkar edilə bilər (bax Şəkil 4-12). Əzələdə, Ca^{2+} ionlarının sitozolda siqnalla-induksiya olunan yüksəlməsi əzələ dartılmasına səbəb olur (bax Şəkil 17-34). Endokrin hüceyrələrində, Ca^{2+} ionlarının oxşar şəkildə artması hormon daşıyan ifrazat qovucuqlarının eqzositozunu və beləliklə dövriyyəyə buraxılmasını induksiya edir. Sinir hüceyrələrində, sitozolda Ca^{2+} ionlarının artması neyroötürücülərə malik olan qovucuqların eqzositozunu təşviq edir (bax Fəsil 22). Bütün hüceyrələrdə, sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin belə yüksəlməsi Ca^{2+} -birləşdirən zülallar, xüsusən də, bütün nümayəndələri spiral-İlgək-spiral motivinə (bax Şəkil 3-10b) malik olan *kalmodulin* kimi *EF əl ailəsinə* aid olan zülallar tərəfindən hiss olunur. Ca^{2+} -un kalmodulinə və başqa EF əl zülallarına birləşməsi onlarda konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir, bu da zülalın müxtəlif hədəf zülallara birləşməsinə və beləliklə onların fəaliyyətinin işə salınmasına və ya dayandırılmasına səbəb olur (bax Şəkil 3-33). Çox zaman Ca^{2+} -un yüksəlməsi sitozolda spesifik rayonlarda lokal olur, hüceyrənin istənilən başqa yerindəki proseslərə təsir etmədən ifrazat qovucuqlarının eqzositozu kimi prosesə imkan verir.

Demək olar ki, başqa bir universal ikinci mesencer **tsiklik AMP-dir (cAMP)**. Çox eukariot hüceyrələrdə cAMP-nin artması xüsusi proteinkinazanın, *proteinkinaza A*-nın fəallaşmasına səbəb olur, o işə öz növbəsində, hüceyrə metabolizmində spesifik dəyişikliyi induksiya etmək üçün spesifik hədəf zülalları fosforlaşdırır. Bəzi hüceyrələrdə, cAMP bəzi ion kanallarının fəallığını tənzimləyir. cAMP və üç başqa ümumi ikinci mesencerin quruluşu Şəkil 15-6-də göstərilmişdir. Biz sonra bu fəsildə spesifik G zülallalarla-cütləşən müxtəlif reseptorlarla fəallaşan siqnal yollarında ikinci mesencerlərin spesifik rollarını öyrənəcəyik.



ŞƏKİL 15-6 Ümumi olan dörd hüceyrədaxili ikinci mesencer. Hər bir birləşmənin əsas birbaşa təsiri və ya təsirləri onların quruluş formulasının altında göstərilmişdir. Kalsium ionları (Ca^{2+}) və bir sıra

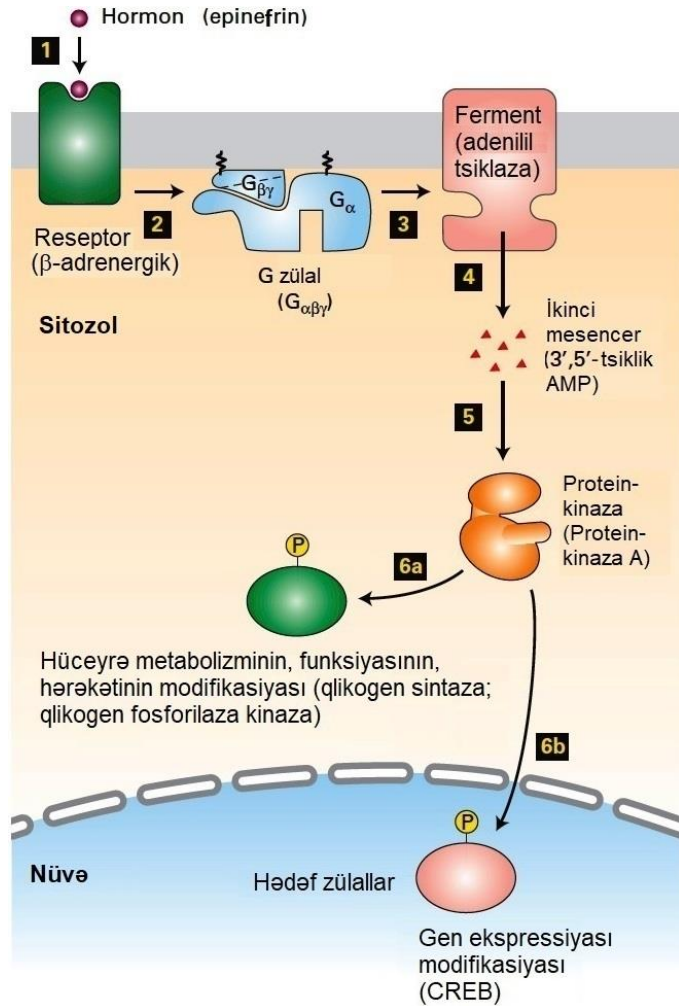
membrana-birləşmiş fosfatidilinozitol törəmələri ikinci mesencerlər kimi fəaliyyət göstərirlər.

Siqnal Ötürülməsi Yolu Hüceyrəxarici Siqnalın Təsirini Amplifikasiya Edir

Çoxsaylı siqnal ötürən zülallar siqnal ötürülməsi yollarını əmələ gətirmək üçün tez-tez hallarda birləşərək bir tip hüceyrə-

səth reseptorları vasitəsi ilə çoxsaylı hədəf zülallarının fəallaşmasına (və ya ingibirləşməsinə) imkan yaradırlar. Şəkil 15-7 əksər G zülallardan gələn tipik siqnal ötürülməsi yolunu göstərir. Burada, hormonun birləşməsi reseptorda konformasiya

dəyişikliyi əmələ gətirir, nəticədə G zülalların fəallaşmasına və GTP-nin GDP-yə hidroliz olunmasını kataliz etməsinə səbəb olur. Fəallaşmış G zülallar ikinci mesenceri sintez edən fermentə birləşərək onu fəallaşdırır, bu kiçik molekul proteinkinazaya birləşərək onu fəallaşdırır, o isə öz növbəsində bir və ya daha artıq hədəf zülalı fosforlaşdıraraq onun fəallığını dəyişir. Belə çoxzülallı siqnal yolunun bir spesifik nümunəsi – qaraciyərdə qlikogen metabolizminin epinefrin hormonu ilə tənzimlənməsi – 15.5 bölməsində ətraflı verilmişdir, bu yolda iştirak edən molekullar şəkil 15-7-də mötərizədə verilmişdir.



ŞƏKİL 15-7 G zülalın, ikinci mesencerin, proteininazanın və bir neçə hədəf zülalın daxil olduğu siqnal yolu. Şəkil ümumiləşmiş siqnal yolunu təsvir edir, mötərizədə 15-5 bölməsində müzakirə olunan spesifik siqnal yolunda iştirak edən molekullar verilmişdir. Hormonun hüçyrə səth reseptoruna birləşməsi (1) reseptorun GEF kimi fəaliyyət göstərməsi və GDP-nin itirilməsi və GTP-nin birləşməsinə səbəb olmaqla G zülalın fəallaşmasını həyata keçirir (2). Fəal G zülalı ikinci mesenceri (4) sintez edən fermentə birləşərək onu fəallaşdırır (3), o isə öz növbəsində proteinkinazaya (5) birləşərək onu fəallaşdırır. Kinaza da öz növbəsində bir və ya daha artıq hədəf zülalları fosforlaşdıraraq fəallığını dəyişir. Bu zülallar ya hüçyrə funksiyasının, metabolizminin və ya hərəkətinin dəyişməsinə induksiya edən sitozol zülalları ola bilər (6a) ya da gen ekspresiyasını induksiya edən transkripsiya faktorları (6b) ola bilər.

İkinci mesencerlərin başqa bir üstünlüyü odur ki, onlar hüçyrəxarici siqnalların *amplifikasiyasına* imkan yaradırlar. *Vahid bir* hüçyrə-səth reseptoru molekulunun fəallaşması sitozolda minlərlə cAMP molekullarının və ya Ca^{2+} ionlarının yaranması ilə nəticələnir. Bunların hər biri öz növbəsində öz hədəf zülallarını fəallaşdırmaqla siqnal yolunda aşağıya istiqamətdə çoxsaylı zülalların fəallığına təsir edirlər. Çoxsaylı siqnal ötürülməsi yollarında amplifikasiya ona görə lazımdır ki, hüçyrə-səth reseptorları adətən hər bir hüçyrədə təxminən minə yaxın olan az miqdarda nüsxəyə malik olduqları halda, nisbətən az sayda hormonların birləşməsi ilə induksiya olunan hüçyrə reaksiyaları çox hallarda hər bir hüçyrədə on və ya yüz minlərlə fəallaşmış effektor molekullarının yaranmasını tələb edir. G zülallarla-cütləşən hormon reseptorları olduğu halda, siqnalın amplifikasiyası qismən də ona görə mümkündür ki, hormonun birləşdiyi zaman müddətində tək bir reseptor çoxsaylı G zülalları fəallaşdırır və bunların hər biri öz növbəsində effektor zülalı fəallaşdırır. 15.5 bölməsində biz görəəcəyik ki, bu amplifikasiya kaskadı epinefrinin qanda 10^{-10} M kimi aşağı səviyyəsinin qaraciyərdə qlikogenin qlikozaya çevrilməsinin və qlükozanın qana buraxılmasının stimullaşmasına necə imkan verir, həmçinin biz Şəkil 15-30-da bu amplifikasiyanın çoxsaylı genlərin ekspresiyasını necə tənzimlədiyini görəəcəyik.

15.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Siqnal Ötürülməsi: Hüçyrəxarici Siqnaldan Hüçyrə Cavabına

- Çox hüçyrələr işığı və ya toxunmaq və istilik kimi fiziki stimulu hiss edir və onlara cavab verirlər.
- Bütün hüçyrələr hüçyrəxarici siqnallarla əlaqədə (ünsiyyətdə) olurlar. Biri hüçyrəli orqanizmlərdə hüçyrəxarici siqnal molekulları fərdlər arasında əlaqəni tənzimlədiyi halda, çoxhüçyrəli orqanizmlərdə onlar fiziologiyani və inkişafı tənzimləyirlər.
- Xarici siqnallara membrana-bağlanan və ifraz olunan zülallar və ya peptidlər (vazopressin və insulin), kiçik hidrofob molekullar (məsələn, steroid hormonları və tiroksin), kiçik hidrofil molekullar (məsələn, epinefrin), qazlar (məsələn, azot oksidi) və fiziki stimullar (məsələn, işıq) daxildir.
- Hidrofob siqnal molekulları sitozol reseptorları ilə əlaqəyə girirlər və əsasən gen ekspresiyasına təsir edirlər.
- Hüçyrəxarici siqnal molekullarının hüçyrə-səth reseptorlarına birləşməsi reseptorda konformasiya dəyişikliyinə baş verməsinə səbəb olur, o da öz növbəsində hüçyrəxarici siqnal ötürülməsi yollarının fəallaşmasına səbəb olur və sonda hüçyrə metabolizmini, funksiyasını və ya gen ekspresiyasını modulyasiya edir (bax Şəkil 15-1).
- Bir hüçyrənin siqnalları endokrin siqnal yolu ilə uzaqdakı hüçyrələrə, parakrin siqnal yolu ilə yaxınlıqdakı hüçyrələrə və ya autokrin siqnal yolu ilə hüçyrənin özünə təsir edir (bax Şəkil 15-2).
- Zülalların proteinkinazalar və fosfatazalarla fosforlaşması və de-fosforlaşması virtual olaraq bütün siqnal yollarında istifadə olunur. Kinazaların və fosfatazaların fəallığı çox saylı

reseptorlarla və siqnal ötürən zülallarla yüksək dərəcədə tənzimlənir (bax Şəkil 15-3).

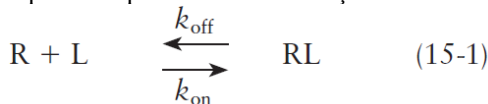
- GTP-aza superailəsinin GTP-birləşdirən zülalları çoxsaylı siqnal ötürən yolları tənzimləyərək keçirici kimi fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 15-4 və 15-5).
- Ca^{2+} , cAMP kimi bəzi qeyri zülal, kiçik molekullar (bax Şəkil 15-6) “ikinci mesencerlər” kimi fəaliyyət göstərir, liqand kimi fəaliyyət göstərən “birinci mesencerin” siqnallarını retranslyasiya edir və çox hallarda amplifikasiya edir. Liqandın hüceyrə-səth reseptoruna birləşməsi çox hallarda bu ionların və ya molekulların hüceyrədaxili qatılıqlarının kəskin artması ilə (və ya vaxtaşırı azalması ilə) nəticələnir.
- Siqnal ötürülməsi yolları hüceyrəxarici siqnalların amplifikasiyasına imkan verir, hüceyrə metabolizminin, hərəkətliyində və gen ekspressiyasında əsas dəyişiklikləri etmək üçün nisbətən kiçik sayda hüceyrə-səth reseptorlarının fəallaşmasını mümkün edir.

15.2 Hüceyrə-Səth Reseptorlarının və Siqnal Ötürən Zülalların Öyrənilməsi

Hüceyrənin xarici siqnala cavabı hüceyrənin siqnalı tanıyan və reseptor komponentindən və bu reseptorlarla fəallaşan siqnal ötürən yollardan asılıdır. Bu bölmədə, biz reseptor-birləşdirən liqandların spesifikliyinin biokimyəvi əsaslarını və eləcə də liqandın müxtəlif qatılıqlarının siqnal yolunu fəallaşdırmaq qabiliyyətini tədqiq edirik. Biz həmçinin, reseptor zülallarını xarakterizə etmək üçün eksperimental metodları yoxlayırıq. Bu metodların çoxu endositozda iştirak edən (vasitəçi olan) reseptorlara (bax Fəsil 14) və hüceyrə adgeziyasına (bax Fəsil 20) tətbiq oluna bilər. Biz bölməni, kinazalar və GTP-birləşdirən “keçirici” zülallar kimi siqnal ötürən komponentlərin fəallığını ölçmək üçün ümumi istifadə olunan metodların müzakirəsi ilə yekunlaşdırırıq.

Dissosiasiya Sabiti Reseptorun Öz Liqandına Affinlik Ölçüsüdür

Liqandın reseptora birləşməsinə adətən sadə geriye dönən reaksiya kimi baxıla bilər, reseptor R kimi, liqand L kimi, reseptor-liqand kompleksi isə RL kimi işarə olunur:



burada k_{on} sərbəst reseptor və reseptor-liqand kompleksinin liqandan formalaşmasının sürət sabitidir və k_{off} liqandın reseptordan dissosiasiyasının sürət sabitidir. Biz [R] və [L] müvafiq olaraq sərbəst reseptorun (bu liqand birləşməmiş reseptordur) və liqandın qatılığı kimi, [RL] isə reseptor-liqand kompleksinin qatılığı kimi qeyd edirik

Tarazlıqda reseptor-liqand kompleksinin formalaşmasının sürəti $[R][L] k_{on}$ onun dissosiasiya sürətinə $[RL]k_{off}$ bərabərdir: beləliklə tarazlıqda $[R][L] k_{on} = [RL]k_{off}$. Bu vəziyyət sadə bir tarazlıq-birləşmə tənliyi ilə təsvir oluna bilər: $K_d = k_{off}/k_{on}$, burada

dissosiasiya sabiti K_d reseptorun öz liqandına *affinlik* (və ya birləşmə möhkəmliyi) ölçüsüdür (bax Fəsil 2).

Müvafiq olaraq, tarazlıq-birləşdirmə bərabərliyi aşağıdakı kimi yazıla bilər:

$$K_d = \frac{[R][L]}{[RL]} \quad (15-2)$$

Dissosiasiya sabiti *kiçik* olduqca reseptor-liqand kompleksi də bir o qədər *sabit* olur. Bu əsas momenti görməyin başqa bir yolu, liqandın qatılığı K_d ($[L] = K_d$) bərabər olduqda, sərbəst reseptorun [R] qatılığının reseptor liqand kompleksinin [RL] qatılığına bərabər olmasıdır. K_d kiçik olduqca hüceyrə səth reseptorunun 50 faiz birləşməsi üçün aşağı liqand qatılığı tələb olunur. Burada birləşmə reaksiyası üçün K_d istənilən fermentin öz substratına olan afinliyini əks etdirən (bax Fəsil 3) Mixayles sabitinə K_m oxşar olur.



Hormon-reseptor sistemlərinin çoxu incə şəkildə tarazlaşdırılmışdır: həddən artıq çox və ya həddən artıq az hormonun olması problemə səbəb ola bilər. Bir sıra immun sistemi hüceyrələri tərəfindən ifraz olunan şiş nekrozis faktoru alfaya (TNF α) diqqət yetirək. TNF α yaralanma və ya yoluxma zamanı bir sıra immun hüceyrələrində TNF α reseptoruna birləşməklə və onları yoluxma və ya yaralanma nəhiyyəsinə səfərbər etməklə iltihabı induksiya edir; beləliklə orqanizm yoluxmaya qarşı müdafiə olunmaq üçün daha çox TNF α istehsal etməlidir, amma TNF α -nın qeyri normal dərəcədə yüksək səviyyəsi, uçurmuş dəri xəstəliyi psoriasis və ya oynaq xəstəliyi revmatoid artritlər kimi autoimmun xəstələrində rast gəlinən çox güclü iltihablamaya səbəb olur. Bu xəstəliklər qovşaqlarda və ya dövrəedicilərdə TNF α -nın artıq miqdarını parçalayan dərmanla müalicə olunur. Belə bir dərman hormonun reseptorlarının öz liqandlarına olan xarakterik yüksək afinliyinə və güclü spesifikliyinə əsaslanmışdır. Bu dərman insanın immunoqlobulin sabit (Fc) rayonuna qovşaq olunmuş TNF α reseptorunun hüceyrəxarici TNF α -birləşdirmə domeninə malik olan rekombinant DNT texnologiyası yolu ilə yaradılmış ximer “qovşaq” zülaldır (bax Şəkil 3-21 və 23-9). Suda həllolan bu dərman bədənə inyeksiya oluna bilər və orada potensial təhlükəli sərbəst TNF α ilə birləşir və onun hüceyrə-səth reseptorlarına birləşməsinə və beləliklə iltihab əmələ gətirməsinə mane olur, qovşaq olunmuş Fc domeni zülalın bədənə inyeksiya olunması zamanı onun stabilliyini təmin edir. ■

Birləşmə Sınaqları Reseptorları Aşkar Etmək Üçün və Onların Liqandlara Afinliyini və Spesifikliyini Təyin Etmək Üçün İstifadə Edilir

Adətən reseptorlar onların intakt hüceyrəni və ya hüceyrə fraqmentlərini əhatə edən maye mühitə əlavə edilmiş radioaktiv və ya fluoressent nişanlanmış liqandlara birləşməsi qabliyyəti ilə aşkar edilir və ölçülür. Bu sınaq reseptorların ümumi sayının $[R_T]$ sərbəst reseptorlarla [R] liqand birləşmiş reseptorların birlikdə miqdarına bərabər olması konsepsiyasına əsaslanmışdır:

$$[R_T] = [RL] + [R] \quad (15-3)$$

Liqandın yüksələn qatılığının əlavə edilməsi hüceyrə-səth reseptoru-liqand komplekslərinin [RL] miqdarının artması ilə nəticələnir; liqandın qatılığı artdıqca reseptor-liqand komplekslərinin sayı ümumi hüceyrə-səth reseptorlarının $[R_T]$

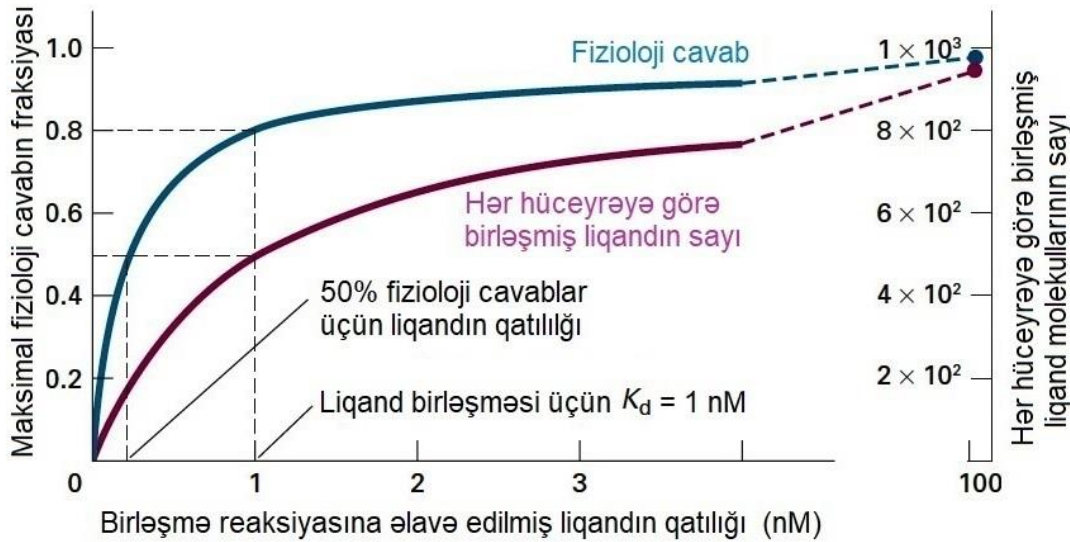
sayına yaxınlaşır, amma heç vaxt tam ona çatmır. Əksər hallarda, əlavə olunan liqandın miqdarı hüceyrə-səth reseptorlarının miqdarından çox artıq olur, ona görə belə hesab etmək olardı ki, sərbəst liqandın [L] qatılığı reaksiyaya əlavə olunan liqandın qatılığına bərabər olur. Beləliklə, bu reaksiyalarda liqandın əlavə olunduğu hər bir qatılıqda yalnız səth reseptorlarına birləşmiş liqandın [RL] miqdarını ölçmək lazımdır.

Reseptora birləşmiş liqandın [RL] miqdarının liqandın miqdarına [L] qarşı qurulmuş qrafiki əsasən 15-4 bərabərliyi ilə gedir, bu sadəcə olaraq 15-2 və 15-3 bərabərliklərinin sadə cəbr

çevrilməsidir. Tipik liqand birləşmə əyrisi Şəkil 15-8-dəki qırmızı xətlə görünür.

$$[RL] = \frac{R_T}{K_d + 1} [L] \quad (15-4)$$

Adətən R_T və K_d qiymətlərini hesablamaq üçün əyriləri-uyğunlaşdırma kompyuter proqramlarından istifadə edilir. Bu yanaşmadan istifadə etməklə, bu birləşdirmə əyrisindən hesablamaq olar ki, hər hüceyrə səthində 1000 reseptor olur və bu liqandın birləşməsi üçün $K_d = 1 \times 10^{-9}$ M, və ya 1 nM bərabərdir.



ŞƏKİL 15-8 Birləşmə sınaqları hər hüceyrəyə görə K_d qiymətini və reseptorların sayını təyin edir, amma xarici siqnala maksimal fizioloji cavab adətən bu reseptorların yalnız bir hissəsi liqandla tutularkən baş verir. Reseptorun liqanda olan affiniyini təyin etmək üçün tipik eksperiment zamanı radioaktiv və ya başqa cürə nişanlanmış liqand maraq reseptorunu ekspressiya etməyən hüceyrələrlə və hüceyrə səthindəki reseptoru ekspressiya etmək üçün rekombinant DNT texnologiyası ilə dəyişdirilmiş hüceyrələrlə inkubasiya olunur. İnkubasiya əsasən $+4^\circ\text{C}$ -də, bir saat müddətində aparılır, aşağı temperatur hüceyrə səth reseptorunun endositoz olunmasının qarşısını almaq üçün istifadə olunur. Sonra hüceyrələr, adətən sentrifugalama və buferlə yumaqla birləşməmiş liqandlardan ayrılır və hüceyrəyə birləşmiş radioaktivliyin miqdarı ölçülür. Reseptor-ekspressiya edən hüceyrələrdən nəzarət hüceyrələri ilə "Fon" birləşmə çıxılmış və hər bir hüceyrəyə görə birləşmiş liqandın miqdarı hesablanaraq liqand

qatılığı funksiyası kimi qrafik qurulmuşdur (qırmızı əyri). Qeyd edək ki, hətta nisbətən yuxarı liqand qatılığında, reseptor-birləşmiş liqand molekullarının sayı hüceyrə səth reseptorlarının sayına yaxınlaşır amma tam bərabər olmur. Buna baxmayaraq, 15-4 bərabərliyindən istifadə edərək alınan nəticələrin analizi ilə təyin etmək olar ki, bu hüceyrələr 1000 reseptor ekspressiya edirlər və liqandın birləşməsi üçün K_d 1 nM-dur. Paralel aparılmış eksperimentdə hüceyrənin liqandın artan qatılığına fizioloji cavabı da ölçülmüşdür (mavi xətlər). Adətən, liqandın reseptora birləşməsi dərəcəsinin və müxtəlif liqand qatılıqlarında fizioloji cavabın qrafikləri fərqlənir. Burada göstərilən nümunədə, maksimal fizioloji cavabın 50 faizi reseptorların yalnız 18 faizinin tutulduğu liqand qatılığında induksiya olunur. Eynilə, maksimal cavabın 80 faizi liqand qatılığı K_d qiymətinə bərabər olanda induksiya olunur və bu zaman reseptorların 50 faizi tutulmuş olur.

Siqnal Molekullarına Hüceyrənin Maksimala-Yaxın Cavabı Adətən Bütün Reseptorların Fəallaşmasını Tələb Etmir

Bütün siqnal sistemləri elə yaranıb inkişaf etmişdir ki, hüceyrəxarici siqnal molekullarının səviyyəsinin artması cavab verən hüceyrələrdə mütənasib reaksiyanı induksiya edir. Bunun baş verməsi üçün, hüceyrə-səth reseptorlarının siqnal molekullarına birləşmə affiniyi (K_d qiyməti) bu molekulun hüceyrəxarici mühitdə və ya qanda olan normal (stimulaşmamış) səviyyəsinə nisbətən yüksək olmalıdır. Biz bu prinsipi, insulinin bədəndə mövcud olan səviyyələrini və insulinin qaraciyər hüceyrələrində öz reseptoruna birləşmə K_d -

sini, 1.4×10^{-10} M (0.14 nM) müqayisə etməklə praktikada görə bilərik. Məsələn, fərz edək ki, qanda insulinin normal qatılığı 5×10^{-12} M-dır. Biz L və K_d qiymətini 15-2 bərabərliyində əvəz etməklə insulin reseptorlarının insulinlə birləşmiş fraksiyasını $[RL]/([R_T] + [R])$ 0.0344 tarazılığında hesablaya bilərik, bu insulinlə birləşmiş ümumi insulin reseptorlarının təxminən 3 faizini təşkil edir. Əgər insulinin qatılığı beş dəfə, 2.5×10^{-11} M qalxarsa, reseptor-hormon kompleksinin sayı uyğun olaraq, təxminən beş dəfə qalxacaq və ümumi reseptorun təxminən 15 faizi insulinə birləşmiş olacaq. Əgər induksiya olunan hüceyrə cavabının dərəcəsi, çox hallarda baş verdiyi kimi, insulin-

reseptor kompleksinin [RL] sayına paralel olursa, o zaman hüceyrə cavabı da təxminən beş dəfə artacaq.

Digər tərəfdən, hesab edək ki, qanda insulinin normal qatılığı K_d qiyməti, 1.4×10^{-10} M ilə eynidir, bu halda, ümumi reseptorun 50 faizi insulinlə birləşmiş olacaq. İnsulinin qatılığında beş dəfə 7×10^{-10} M artma bütün insulin reseptorlarının 83 faizinin insulinə birləşməsi ilə nəticələncək (66 faiz artma). Beləliklə, reseptorun liqandla birləşmiş fraksiyasının proporsional artmasına səbəb olan hormon qatılığının artması üçün K_d qiyməti hormonun normal qatılığından kifayət qədər yüksək olmalıdır.

Ümumiyyətlə, xüsusi bir liqanda maksimal hüceyrə cavabı, onun reseptorlarının 100 faizindən çox az hissəsi liqandla birləşmiş olduqda induksiya olunur. Bu fenomen, cavab dərəcəsini və müxtəlif liqand qatılıqlarında reseptor-liqand birləşməsi dərəcəsini təyin etməklə aşkar edilə bilər (Şəkil 15-8). Məsələn, sümük iliyi hüceyrəsi (eritroid əcdad hüceyrə adlanan), bu hüceyrələrin proliferasiya etməsini və qırmızı qan hüceyrələrinə differensiasiya etməsini induksiya edən zülal hormon eritropoietin üçün təxminən 1000 səth reseptoruna malikdir. Törədici hüceyrələrin bölünməsini induksiya etmək üçün bu reseptorlardan yalnız 100 reseptorun eritropoietinlə birləşməsi lazım olduğundan, maksimal hüceyrə cavabının 50 faizini induksiya etmək üçün lazım olan liqand qatılığı mütənasib olaraq birləşmənin K_d qiymətindən aşağı olmalıdır. Belə hallarda, liqand qatılığına qarşı maksimal birləşmə faizinin qrafiki, liqand qatılığına qarşı maksimal hüceyrə cavabının faizinin qrafikindən *fərqlidir*.

Hüceyrənin Xarici Sıqallara Qarşı Həssaslığı Səth Reseptorlarının Sayı və Onların Liqanda Afinliyi ilə Təyin Edilir

Xüsusi bir sıqnal molekuluna hüceyrə cavabı reseptor-liqand kompleksinin *sayından* asılı olduğundan, hüceyrənin səthində az sayda reseptor mövcud olursa, hüceyrə də həmin liqanda az *həssas* olur. Bunun nəticəsində, fizioloji cavabı induksiya etmək üçün, daha çox reseptorun olduğu vəziyyətə nisbətən daha yüksək liqand qatılığı lazımdır. Əksinə, əgər xüsusi bir liqand üçün reseptorun miqdarı artırsa hüceyrə bu liqanda qarşı daha həssas olacaq.



Epidermal boy faktoru (EGF), adından göründüyü kimi, çoxsaylı müxtəlif tip epiteli hüceyrələrinin (bax Fəsil 16 və 20), o cümlədən süd vəzisi kanallarını təşkil edən hüceyrələrin proliferasiyasını stimullaşdırır. Süd vəzi xərçənginin təxminən 25 faizdən artığında şiş hüceyrələri artıq miqdarda HER2 adlanan xüsusi EGF reseptorunu istehsal edir. Həddən artıq HER2 istehsalı, hüceyrəni, EGF-in mövcud mühit səviyyəsinə və normal halda hüceyrəni proliferasiya etməyə stimullaşdırmaq üçün çox az miqdarda olan müvafiq hormanlara qarşı hiperhəssas edir, nəticədə bu şiş hüceyrələrinin artması uyğun olmayan şəkildə EGF-lə stimullaşır. Biz Fəsil 24-də görəyik ki, HER2-nin rolunun müəyyən süd vəzisi xərçənglərində anlaşılması HER2-yə birləşən və beləliklə EGF sıqnal ötürülməsini blok edən monoklonal anticismlərin yaradılıb inkişaf etdirilməsinə səbəb oldu, şiş hüceyrələri HER2-ni

superekspressiya edən süd vəzi xərçəngi xəstələrinin müalicəsində bu anticismlərin istifadəsinin faydalı olması sübut olundu. ■

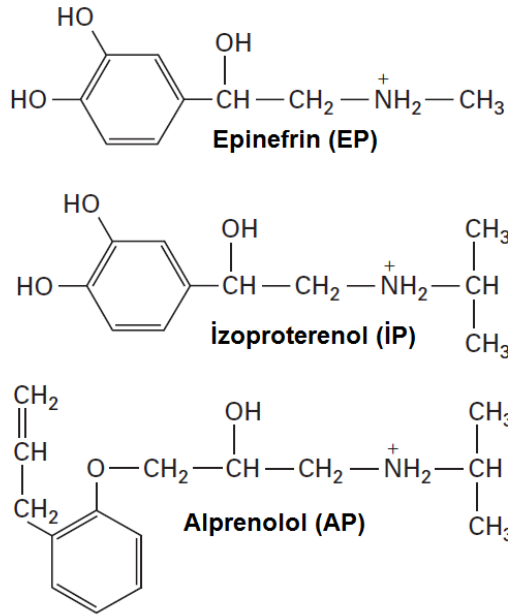
HER2–süd vəzi xərçəngi əlaqəsi qabarıq şəkildə nümayiş etdirir ki, hüceyrə tərəfindən ekspressiya olunan verilmiş sıqnal molekulu üçün reseptorun sayının tənzimlənməsi fizioloji və inkişaf prosesinin idarə olunmasında həlledici rol oynayır. Belə tənzimləmə transkripsiya, translyasiya və post-translyasiya prosesində səviyyəsində və ya reseptor parçalanmasına nəzarət səviyyəsində baş verə bilər. Alternativ olaraq, hüceyrə səthində reseptorların endositozu onun mövcud olan sayını əhəmiyyətli dərəcədə azalda bilər, belə ki, hüceyrənin cavab reaksiyası ləğv olunur (dayanar). Bizim sonrakı bölmədə müzakirə edəcəyimiz kimi, başqa mexanizmlər də reseptorun liqanda afinliyini azalda bilər və beləliklə liqandın verilmiş qatılığına hüceyrənin cavab reaksiyasını azaldır. Beləliklə, xüsusi bir liqanda qarşı hüceyrə həssaslığının *desensibilizasiya* (*həssaslığın azaldılması*) adlanan azalması müxtəlif mexanizmlər nəticəsində baş verə bilər və hüceyrənin xarici sıqnala müvafiq şəkildə cavab verə bilməsi qabliyyəti üçün kritik əhəmiyyət kəsb edir.

Hormon Analoqları Dərman Kimi Geniş İstifadə Olunur

Təbii hormonların sintetik analoqları həm hüceyrə-səth reseptorları ilə aparılan tədqiqat işlərində, həm də dərman kimi geniş istifadə olunur. Bu analoqlar iki əsas sinifə bölünür. Aqonistlər – bunlar təbii hormonun funksiyasını təqlid edərək onun reseptoruna birləşirlər və hüceyrənin hormona olan normal cavab reaksiyasını induksiya edirlər. Çoxsaylı sintetik aqonistlər reseptora təbii hormonlardan daha möhkəm şəkildə birləşirlər. Əksinə, antoqonistlər reseptora birləşirlər, amma hüceyrə cavabını induksiya etmirlər. Onlar reseptorda liqand birləşdirən mərkəzi zəbt etməklə təbii hormonların (və ya aqonistlərin) reseptora birləşməsini blok edirlər, beləliklə hormonun adı fizioloji fəaliyyətini azaldırlar. Başqa sözlə, antoqonistlər reseptorun sıqnal ötürməsini ingibirləşdirirlər.



Məsələn, astmanın müalicəsində istifadə olunan dərman izoproterenol baxaq. İzoproterenol kimyəvi yolla epinefrinə iki metil qrupunu əlavə etməklə alınır (Şəkil 15-9). Bronxial saya əzələ hüceyrələrinin epinefrinə-cavab verən G zülalla-cütləşən β_2 reseptorunun aqonisti olan izoproterenol reseptorla epinefrinə nisbətən on dəfə möhkəm (on dəfə az K_d malik olur) birləşir. Bu reseptorların fəallaşması bronxial saya əzələnin boşalmasını gücləndirir və beləliklə ağ ciyərlərə hava keçməsinin açılmasına səbəb olur, ona görə də izoproterenol və digər aqonistlər bronxial astmanın, xroniki bronxitlərin və emfisemanın müalicəsində istifadə olunur. Əksinə, ürək əzələsi hüceyrələrində başqa tip epinefrinə-cavab verən G zülalla-cütləşən reseptorun (β_1 -adrenerqik reseptor) fəallaşması ürək əzələsinin yığılması sürətini artırır. Bu reseptorun alprenolol kimi antoqonisti (bax Şəkil 15-9) və buna yaxın olan birləşmələr *beta-blokerlər* hesab edirlər, belə antoqonistlər ürək aritmiyalarında və stenokardiyalarda ürək yığılmasını zəiflətmək üçün istifadə edirlər. ■



ŞƏKİL 15-9 Təbii hormon epinefrin, sintetik aqonist izoproterenol və sintetik antoqonist alprenololun quruluşu.

Tekstdə müzakirə olunduğu kimi, izoproterenol və alprenolol, hər ikisi epinefrin reseptoruna birləşirlər, müxtəlif xəstəlikləri müalicə etmək üçün dərman kimi istifadə olunurlar.

Reseptorlar Afin Xromotoqrafiya Metodu ilə Təmizləne Bilər

Reseptorların necə fəaliyyət göstərdiyini tam anlamaq üçün onları təmizləmək və onların biokimyəvi xassələrini analiz etmək lazımdır. Məsələn, onların liqandla birləşmiş və birləşməmiş vəziyyətdə molekulyar quruluşlarının təyin olunması liqand birləşməsi zamanı baş verən və aşağıya istiqamətdə siqnal ötürən zülalları fəallaşdıran konformasiya dəyişikliklərini izah edə bilər. Amma hüceyrə səth reseptorlarının hüceyrənin digər zülallarından təmizlənməsi çətinidir. Məməlilərin “tipik” hüceyrəsi tək bir tip hüceyrə səthi reseptorunun 1000-dən 50000 qədər nüsxəsinə malik olur. Bu böyük rəqəm kimi görünə bilər, amma bunu nəzərə alsaq ki, eyni hüceyrə $\sim 10^{10}$ zülal molekuluna malik ola bilər və bunlardan $\sim 10^6$ -sı yalnız plazma mümbəranı zülallarıdır, o zaman anlayacağıq ki, bu reseptorlar bütün plazma mümbəranı zülallarının yalnız 0.1-dən 5 faizə qədərini təşkil edir. Hüceyrə-səth reseptorlarının belə aşağı zənginliyi onların ayrılıb təmizlənməsini çətinləşdirir. Bu inteqral mümbəran zülallarının təmizlənməsi həm də ona görə çətinidir ki, mümbəranlar əvvəlcə qeyri-ionlaşdırıcı detergentlər vasitəsi ilə reseptor zülalının üç-ölçülü quruluşunun və onun liqand birləşdirmə qabiliyyətinin saxlanıldığı şərait altında həll olan vəziyyətə gətirilməlidir (bax Şəkil 7-23). Sonra reseptoru digər hüceyrə molekullarından ayırmaq olar.

Reseptor zülallarını böyük miqdarda ekspressiya edən hüceyrəni yaratmaq üçün rekombinant DNT metodları istifadə oluna bilər. Amma, hətta rekombinant DNT metodları reseptorları böyük miqdarda ekspressiya edən hüceyrələri yaratmaq üçün istifadə olunsada, onları başqa mümbəran zülallarından ayırmaq təmizləmək üçün xüsusi metodlar tələb

olunur. Detergentlə həll olan formaya keçirilərkən liqand-birləşdirmə qabiliyyətini saxlayan hüceyrə-səth reseptorlarını təmizləmək üçün çox hallarda istifadə olunan bir metod anticislərdən istifadə etməklə tətbiq edilən *affin xromotoqrafiyası* metodunun bir tipidir (bax Şəkil 3-40c). Bu metodla reseptoru və ya bu reseptoru liqandını tanıyan anticism kimyəvi yolla kolonkanı yaratmaq üçün istifadə olunan dənəciklərə birləşdirilir. Sonra, mümbəran zülallarının detergentlə həll olan vəziyyətə gətirilmiş xam preparatı bu kolonkadan keçirilir. Yalnız maraq reseptor zülalı ona sıx şəkildə birləşmiş zülallarla birlikdə spesifik olaraq kolonkada ilişib qalacaq, başqa zülallar isə yuyularaq kolonkadan keçib çıxacaqlar. Başqa zülallar yuyulub kolonkadan uzaqlaşdırıldıqdan sonra reseptorlar həllolan liqandın yüksək qatılığını kolonkadan keçirməklə (liqand *affin xromotoqrafiyası*) və ya reseptoru anticismdən azad etmək üçün kimyəvi şəraitdən (məsələn pH dəyişməklə) istifadə edərək (*anticism *affin xromotoqrafiyası**) kolonkadan azad (“*elüsiya*”) edilə bilər. Bəzi hallarda, reseptor tək bir *affin-xromotoqrafiyası* mərhələsində 100000-dəfə qədər yüksək dərəcədə təmizləne bilər.

Siqnal Ötürən Zülalların Fəallığını Öyrənmək Üçün İmmunçökdürmə və Affinlik Metodları İstifadə Oluna Bilər

Liqand birləşməsinin ardınca, reseptorlar bir və ya daha artıq siqnal ötürən zülalı fəallaşdırırlar, onlar isə öz növbəsində çoxsaylı hədəf effektor zülallarının fəallığına təsir edə bilərlər (bax Şəkil 15-1 və 15-7). Siqnal kaskadını anlamaq üçün tədqiqatçıya bu siqnal ötürən zülalların miqdarını təyin etmək imkanı tələb olunur. Kinazalar və GTP birləşdirən zülallar çoxsaylı siqnal kaskadlarında tapılmışdır və bu bölmədə biz onların fəallıqlarını ölçmək üçün istifadə olunan bir sıra sınaqları (*assays*) təsvir edirik.

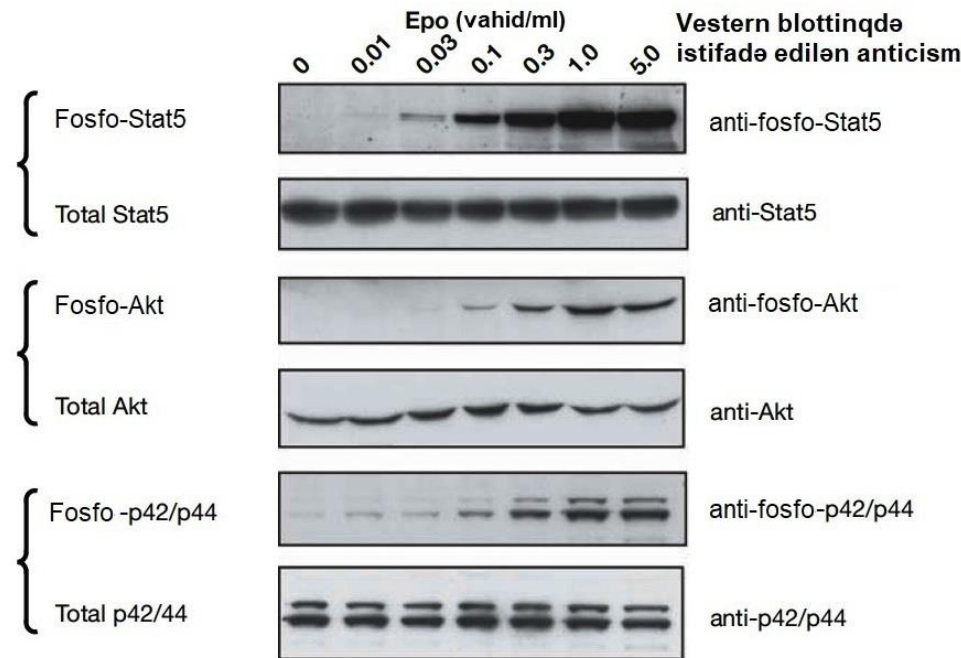
Kinazaların immun-çökdürülməsi Kinazalar virtual olaraq bütün siqnal yollarında fəaliyyət göstərirlər. Məməlilərin tipik hüceyrələri yüz və ya daha artıq müxtəlif tipli kinazalara malik olur, bunların hər biri yüksək dərəcədə tənzimlənir və çoxsaylı hədəf zülalları fosforlaşdırır. Anticislə-*affin xromotoqrafiyası*nın bir tipi olan immunçökdürmə-sınağı (bax Şəkil 3-40c) hüceyrə ekstraktlarında xüsusi bir kinazanın fəallığını ölçmək üçün tez-tez istifadə olunur. Metodun bir versiyasında, istədiyimiz kinazaya spesifik olan anticism əvvəlcə Zülal A ilə örtülmüş kiçik dənəciklərlə inkubasiya edilir, bu anticism öz Fc seqmenti vasitəsi ilə dənəciklərə birləşməsinə səbəb olur (bax Şəkil 4-33). Sonra dənəciklər tam hüceyrədən və ya orqanoiddən, məsələn nüvədən hazırlanmış preparatla qatışdırılır, ardınca sentrifüqaləmə ilə çökdürülür və spesifik olaraq anticislə birləşməyən və zəif birləşmiş zülalları ayırmaq üçün duz məhlulu ilə geniş şəkildə yuyulur. Beləliklə, hüceyrənin anticislə yalnız spesifik birləşmiş zülalları – kinazalar özləri və kinazalara möhkəm birləşmiş zülallar dənəciklərdə qalırlar. Bunun ardınca dənəciklər substrat zülallarının və yalnız γ -fosforu nişanlandığı γ - ^{32}P ATP olan bufer məhlulunda inkubasiya olunur. Substrat zülalına keçirilmiş γ - ^{32}P miqdarı kinaza fəallığının ölçüsüdür və onun miqdarı ya poliakrilamid gel elektroforezi (-38), ya da

substrata spesifik olan anticismlə immüncökdürmə və ardınca da immüncöküntünün radioaktivliyini saymaqla müəyyən edilə bilər. Məsələn, hüceyrə ekstraktlarını liqand əlavə olunana qədər və olunduqdan sonra müqayisə etməklə xüsusi bir kinazanın bu liqand vasitəsi ilə işə salınan siqnal yolunda fəallaşmasını və ya fəallaşmamasını təyin etmək olar.

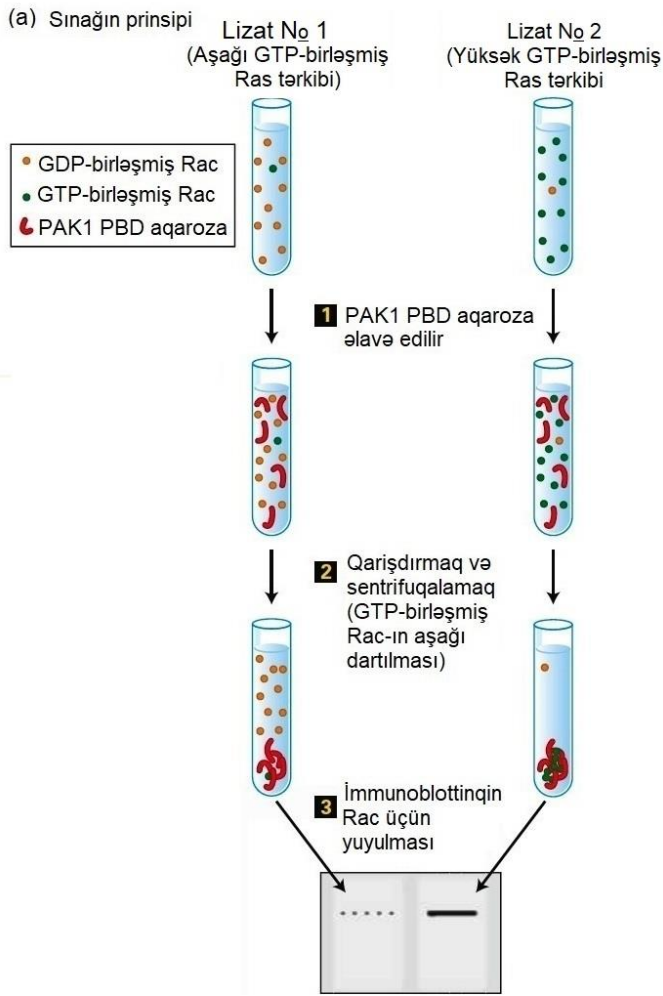
Fosforlaşmış peptidə spesifik olan monoklonal anticismlə Vestern Blotting. Biz yuxarıda qeyd etdik ki, çox zülallar bir sıra müxtəlif kinazalar vasitəsilə, adətən müxtəlif serin, treonin və ya tirozin qalıqlarında fosforlaşa bilərlər. Beləliklə, ayrılış xüsusi bir zülalda bir amin turşusunun yan zəncirinin fosforlaşma dərəcəsinin, adətən liqand əlavə edilənə qədər və edildikdən sonra ölçülməsi çox əhəmiyyətlidir. Belə fosforlaşma hadisələrini aşkar etmək üçün anticismlər həlledici rol oynayırlar. Xüsusi bir zülalda fosforlaşmış spesifik amin turşularını tanıya bilən anticismləri yaratmaq üçün, spesifik zülalda fosforlaşmış amin turşusunu əhatə edən amin turşusu ardıcılığı təxminən 15 amin turşusu uzunluqda olan peptidi kimyəvi sintez etmək lazımdır və fosfat qrupu kimyəvi yolla nəzərdə tutulmuş serinə, treoninə və ya tirozinə bağlanmalıdır. Bu peptidin immunogenliyini artırmaq üçün onun köməkçi peptidə birləşməsindən sonra (bax Fəsil 23), o monoklonal anticismlər dəstinin yaradılması üçün istifadə olunur (bax Şəkil 4-6). Sonra, fosforlaşmamış peptidlə deyil yalnız fosforlaşmış peptidlə birləşə bilən xüsusi bir anticism seçilir, belə anticism əsasən valideyin zülala o zaman birləşəcək ki, bu spesifik amin turşusu fosforlaşmış olsun. Belə spesifiklik ona görə mövcuddur ki, anticism eyni zamanda fosforlaşmış amin turşusuna və yaxınlıqdakı amin turşusunun yan zəncirinə birləşir. Belə

anticismlərin istifadə olunmasının nümunəsi kimi, Şəkil 15-10 göstərir ki, qırmızı qan hüceyrələrinin yaradıcılarında üç siqnal ötürən zülal eritropoietin hormonunun müxtəlif qatılıqları ilə stimullaşmanın 10 dəqiqəsi müddətində spesifik amin turşusu qalıqlarında fosforlaşır, bu hüceyrələrin qırmızı qan hüceyrələrinə differensasiya olunmasını işə salan ilkin mərhələ olan fosforlaşma Epo qatılığı ilə artır.

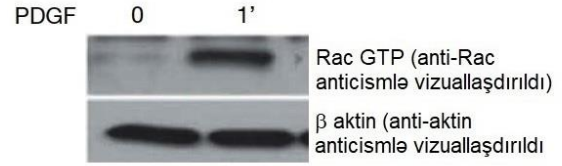
GTP-Birləşdirən Zülalların Puldaun Sınağı Biz gördük ki, hüceyrədaxili-keçirici zülalların GTP-aza superailəsi spesifik hədəf zülalın fəallığını modulyasiya edən GTP birləşmiş fəal ("işəsalan") forma ilə GDP birləşmiş qeyri fəal ("dayandıran") forma arasında dövrə edir. Bu sinif zülalların fəallığını ölçmək üçün əsas sınaq hər bir belə keçirici zülalın yalnız GTP birləşmiş formada olduğu halda birləşdiyi bir və ya daha artıq hədəfə malik olmasına əsaslanır, adətən hədəf zülal spesifik birləşmə domeninə malik olur, bu domen GTP-birləşdirən zülalların keçirici seqmentlərinə birləşir. Spesifik GTP-birləşdirən zülalların fəallaşmasını miqdar (kəmiyyət) analizi etmək üçün istifadə olunan aşağıya-dartma (pull-down) sınaqları immüncökdürməyə oxşardır, fərq odur ki, hədəf zülalın spesifik birləşmə domeni kiçik dənəciklər üzərində immobilizasiya olunur (Şəkil 15-11a). Dənəciklər hüceyrə ekstraktı ilə qatışdırılır və sonra sentrifüqə yolu ilə çökdürülür; dənəciklər üzərində GTP-birləşdirən zülalın miqdarı vestern (immuno) blotting ilə təyin edilir. Şəkil 15-11b göstərir ki, GTP birləşmiş kiçik GTP-aza Rac1-in fraksiyası trombosit törədən boy faktoru (PDGF) hormonla stimullaşdıqdan sonra əhəmiyyətli dərəcədə artır, bu göstərir ki, Rac1 PDGF hormonla fəallaşan siqnal ötürən zülaldır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 15-10
Ertropoietin (Epo) hormon vasitəsi ilə üç siqnal ötürən zülalın fosforlaşmaqla fəallaşması. Sıçanın eritrosit yaradan hüceyrələrinə 10 dəqiqə müddətində müxtəlif qatılıqlarda eritropoietin (Epo) hormonu ilə təsir edilir. Hüceyrə ekstraktları, üç siqnal ötürən zülalın fosforlaşmış formasına spesifik olan üç müxtəlif anticism vasitəsi ilə və eyni zülalların hər birində fosforlaşmamış seqmentin amin turşularını tanıyan anticismlərlə vestern blotting analizi olunur. Alınan nəticələr göstərir ki, Epo qatılığının artması ilə üç zülal fosforlaşır. 1 ml/vahid qatılıqda Epo ilə təsir etmək kifayətdir ki, hər üç yolu maksimal fosforlaşdıraraq fəallaşdırın. Stat 5 = tirozin 694 fosforlaşmış transkripsiya faktoru; Akt = serin 473 fosforlaşmış kinaza; p42/p44 = treonin 202 və tirozin 204 fosforlaşmış p42/p44 MAPkinaza. Bax Zhang et al., 2003, *Blood* **102**:3938. [Nəzakətlə Jing Zhang tərəfindən.]



(b) Hematopoietik sütun hüceyrələrin PDGF ilə təsir etmədən öncə və sonra vesterin blottingi



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 15-11 Aşağıya-dartma (pull-down) sınağı göstərir ki, kiçik GTP-birləşdirən zülal Rac1 trombosit törədən boy faktoru (PDGF) ilə fəallaşır. başqa kiçik GTP-azalar kimi, Rac1 GDP-birləşmiş qeyri fəal forma ilə GTP-birləşmiş fəal forma arasında dövrə etməklə molekulyar prosesləri tənzimləyir. Fəal (GTP-birləşmiş) vəziyyətdə Rac1, aşağıya istiqamətdə siqnal kaskadına nəzarət etmək üçün spesifik olaraq p21-ilə-fəallaşan proteinkinazanın p21-birləşdirən domeninə (PBD) birləşir. (a) Sınağın prinsipi: Rac-birləşdirən PBD domen rekombinant DNT metodu ilə yaradılır və aqaroza dənəciklərinə yapışdırılır, sonra isə hüceyrə ekstraktı ilə qarışdırılır (pillə 1). Dənəciklər spesifik olaraq sentrifüqalama yolu ilə çökdürülür (pillə 2) və GTP-birləşmiş Rac1-in miqdarı vesterin blotting metodu ilə anti-Rac1 anticismlə təyin edilir (pillə 3). (b) Vesterin blotting, hematopoietik sütun hüceyrələrinə 1 dəqiqə müddətində trombosit törədən boy faktoru (PDGF) ilə təsir etdikdən sonra Rac1-in fəallaşmasını göstərir. Aktin vesterin blotting nəzarəti kimi gələn hər bir yuvasına bərabər miqdarda ümumi zülal fraksiyasının yükləndiyini göstərir. [(a) Cell Biolabs Inc.-na görə; (b) hissəsi G. Ghiaur et al., "Inhibition of RhoA GTPase activity enhances hematopoietic stem and progenitor cell proliferation and engraftment," *Blood Journal*, 2006, **108**:2087–2094, Amerika Hematologiya Cəmiyyəti.]

15.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə-Səth Reseptorlarının və Siqnal Ötürən Zülalların Öyrənilməsi

- Liqandın reseptorlarının yarısının tutulduğu liqand qatılığı, dissosasiya konstantı (K_d) eksperimental yolla təyin edilə bilər və bu reseptorun liqanda olan affinlik ölçüsüdür (bax Şəkil 15-8).
- Reseptorların öz hədəf liqandına olan yüksək afinliyinə görə, reseptorların hüceyrəxarici domeni sərbəst hormonun miqdarını azaltmaq üçün dərman kimi istifadə oluna bilər.
- Hüceyrənin xüsusi bir liqanda maksimala-yaxın cavabı əsasən, reseptorların 100 faizdən azının liqanda birləşmiş olduğu liqand qatılığında baş verir (bax Şəkil 15-8).
- Affin-xromotoqrafiya metodları reseptorları hətta ən aşağı zənginlikdə olduqda belə, təmizləmək üçün istifadə oluna bilər.
- Proteinkinazalara spesifik anticimlərdən istifadə etməklə immunçökdürmə yolu ilə kinaza fəallığını ölçmək olar. Fosforlaşmış peptidlərə sipesifik olan anticimlərdən istifadə etməklə Vesterin blotting sınaqları hüceyrə daxilində istənilən nəzərdə tutulan zülalda spesifik amin turşusunun fosforlaşmasını təyin edə bilər (bax Şəkil 15-10).

- Hədəf zülalın zülal-birləşdirən domenindən istifadə etməklə aşağıya-dartma sınağı hüceyrə daxilində GTP-birləşdirən zülalın fəallıq dərəcəsini təyin edə bilər (bax Şəkil 15-11).

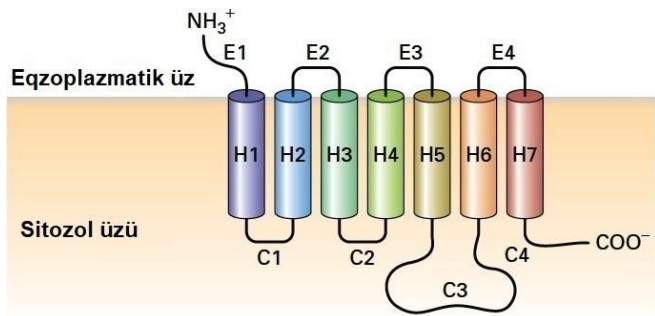
15.3 G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar: Quruluşu və Mexanizmi

Yuxarıda qeyd edildiyi kimi, yəqin ki, reseptorların ən böyük sayı malik olan sinifi G zülallarla-cütləşən reseptorlardır (GPCR). İnsanlarda, GPCR-lər çoxsaylı müxtəlif tipli siqnallara, o cümlədən neyroötürücülərə, qlikogen və piy metabolizmində iştirak edən hormonlara və hətta işıq fotonlarına cavab vermək üçün istifadə olunur. Çox GPCR-lər ilkin olaraq mərkəzi sinir sistemi hüceyrələrində tapılmışdır və Fəsil 23-də öyrənəcəyimiz kimi, neyronal siqnal yolunda istifadə olunurlar. GPCR-lər geniş tibbi (farmakoloji) əhəmiyyətə malikdirlər, belə ki, insanların istifadə etdiyi bütün dərmanların təxminən 30 faizi spesifik GPCR-lərin və ya oxşar olan GPCR qruplarının aqonisti və ya antoqonistidirlər. Cədvəl 15-1 bu dərmanların az bir hissəsini təsvir edir, qeyd edək ki, geniş müxtəliflikdə reseptorlar bu dərmanların hədəfidirlər və geniş müxtəliflikdə xəstəliklər də bu dərmanlarla müalicə olunurlar.

Cədvəl 15-1 İnsanın G zülallarla cütləşən reseptorlarının farmakoloji əhəmiyyəti

Reseptor	Təbii liqandı	Yerləşməsi	Fizioloji Funksiyası	Dərman	Tibbdə istifadəsi
Histamin H2 reseptoru	Histamin	Mədənin turşu ifraz edən hüceyrələri	Turşu ifrazını stimullaşdırır	Simetidin (Taqamet) Ranitidin (Zantak) (antagonistlər)	Mədə turşulaşmasına mane olur; peptik yazmanı müalicə edir
Histamin H1 reseptoru	Histamin	Saya əzələ; vazikulyar epitel hüceyrələri	Vazikulyar keçiriciliyi artırır və allergiya simptomuna səbəb olur	Feksofenadin (Alleqra) Loratadin (Klaritin) antagonistləri	Allergiya simptomunu zəiflədir
Serotonin 5HT _{2A}	Serotonin	Mərkəzi sinir sistemi	Neyronlar arasında sinaptik ötürülmə	Klozapin, risperidon (antagonistlər)	Şizofreniyaya qarşı müalicə
Serotonin 5HT _{1a}	Serotonin	Mərkəzi sinir sistemi	Neyronlar arasında sinaptik ötürülmə	Buspiron (BuSpar) (aqonist)	Depressiyanın müalicəsi, ümumi narahatlıq pozuntusu
Anqiotensin AT ₁	Anqiotenzin II	Vazikulyar saya əzələ hüceyrəsi	Qan damarlarının daralması, qan təzyiqinin artması	Lozartan (Kozarr) (antagonist)	Hipertoniyanı azaldır
β2-adrenergik reseptor	Epinefrin	Hava yollarını örtən saya əzələ hüceyrəsi	Tənəffüsü asanlaşdırır	Salmeterol (Severent) (aqonist)	Astmanın, ciyərlərin xroniki obstruktiv xəstəliklərinin müalicəsi
CysLT ₁	Leykotrienlər	Ağciyər, bronxial borular, mast hüceyrələri	Saya əzələlərin dartılması	Montelukast (Singulair) (antagonist)	Astmanın, mövsümi allergiyanın müalicəsi

Mənbə: A-dakı verilənlər Wise et al., 2002, *Drug Discovery Today* 7:235–246.



ŞƏKİL 15-12 G zülallarla-cütləşən reseptorların əsas quruluşu.

Bütün bu tip reseptorlar membranda eyni orientasiyaya malikdirlər və yeddi trans-membran α spiral rayonuna (H1-H7), dörd hüceyrəxarici seqmentə (E1-E4) və dörd sitozol seqmentlərinə (C1-C4) malikdirlər. Karboksil-sonluqlu seqment (C4), C3 ilgək və bəzi reseptorlarda C2 ilgək trimer G zülallarla cütləşmə əlaqəsində iştirak edirlər.

Bu müxtəlifliyə baxmayaraq, GPCR-lərlə ötürülən bütün siqnal yolları aşağıdakı ümumi elementləri bölüşürlər: (1) reseptorlar yeddi membrana-sarınan α spirallara malikdirlər; (2) reseptora cütləşən G zülallar, fəal və qeyri fəal formalar arasında dövrə edərək reseptorla fəallaşan keçirici kimi fəaliyyət göstərirlər; (3) membrana-birləşmiş effektor zülallar; (4) siqnal yolunun desensibilizasiyasında iştirak edən zülallar. İkinci mesencerlər də həmçinin çox GPCR yollarında iştirak edirlər. GPCR yolları adətən hüceyrədə ya fermentlər yaxud ion kanalları kimi mövcud olan zülallarda çox tez modifikasiyalar etməklə qısa-zamanlı təsirə malik olurlar. Beləliklə, bu yollar hüceyrəyə müxtəlif siqnallara qarşı, istər işıq kimi ətraf mühitin stimulu olsun, istərsə də epinefrin kimi hormonal təsir olsun, çox tez cavab verməyə imkan verirlər.

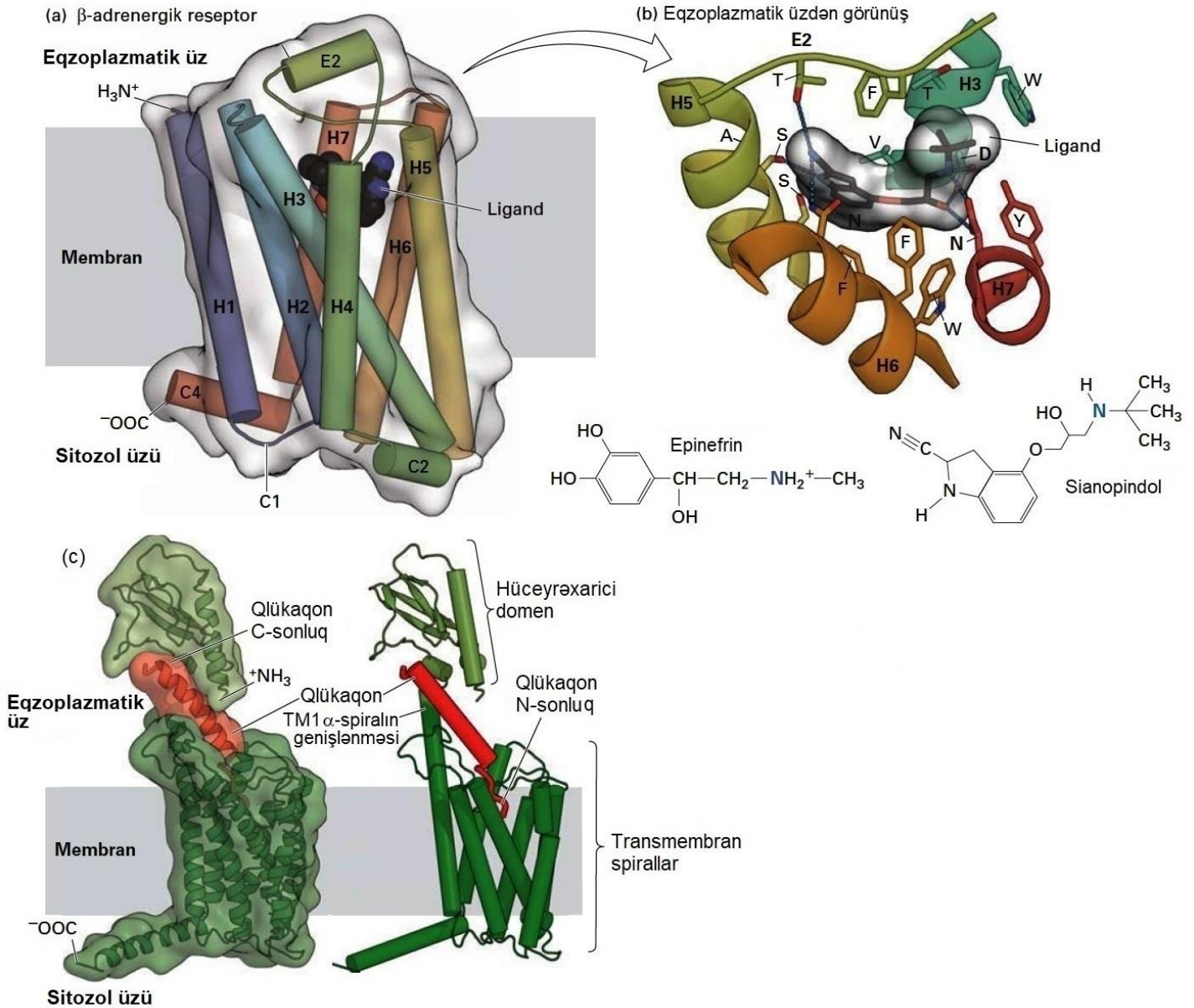
Bu bölmədə, biz GPCR-lərin əsas quruluşunu, mexanizmini və onlarla assosiasiyada olan trimer G zülalları müzakirə edirik. Biz 15.4 bölməsindən 15.6 bölməsinə qədər bir sıra müxtəlif effektor zülallarını fəallaşdıran GPCR yollarını təsvir edirik.

Bütün G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Eyni Əsas Quruluşa Malikdirlər

Bütün G zülallarla-cütləşən reseptorlar membranda eyni orientasiyaya malikdirlər və yeddi transmembran α spiral rayonlarına (H1-H7), dörd hüceyrəxarici seqmentə və dörd sitozol seqmentinə malikdirlər (Şəkil 15-12). Həmişə N-sonluq plazma membranının eqzoplazmatik üzündə, C-sonluq isə onun sitozol üzündə olur. İnsan genomu 800 qədər funksional GPCR-i kodlaşdırır, bunlar bir neçə subailəyə bölünürlər, bu subailələrin nümayəndələri xüsusən aminturşu ardıcılığına və quruluşuna görə oxşardırlar.

G zülallarla-cütləşən reseptorlar yeddi membrana-sarınan seqmentin xarici səthindəki çoxsaylı hidrofob qalıqlar vasitəsi ilə plazma membranının hidrofob özəyində stabil şəkildə lövbər etmişdir. G zülallarla-cütləşən reseptorların molekulyar detallarına qədər quruluşu məlum olan bir qrupu, epinefrin və norepinefrin kimi hormonlara birləşən **β -adrenergik reseptor**dur (Şəkil 15-13a). Bu və çoxsaylı digər reseptorlarda membrana batmış α spiralların bir sıra seqmentləri və hüceyrəxarici ilgəklər eqzoplazmatik səthə açılan liqand birləşdirən mərkəzi (saytı) əmələ gətirirlər. Şəkil 15-13b-də göstərilən antoqonist sianopindolil, aqonistlərin əksəriyyətindən çox yüksək affinliklə reseptora birləşir və liqand-reseptor kompleksinin kristalını alınmış və quruluşu təyin edilmişdir. Dörd transmembran α spiraldə və ikinci hüceyrəxarici ilgək E2-də

yerləşən 15 amin turşusunun yan zəncirləri liqandla qeyri kovalent əlaqə əmələ gətirir.

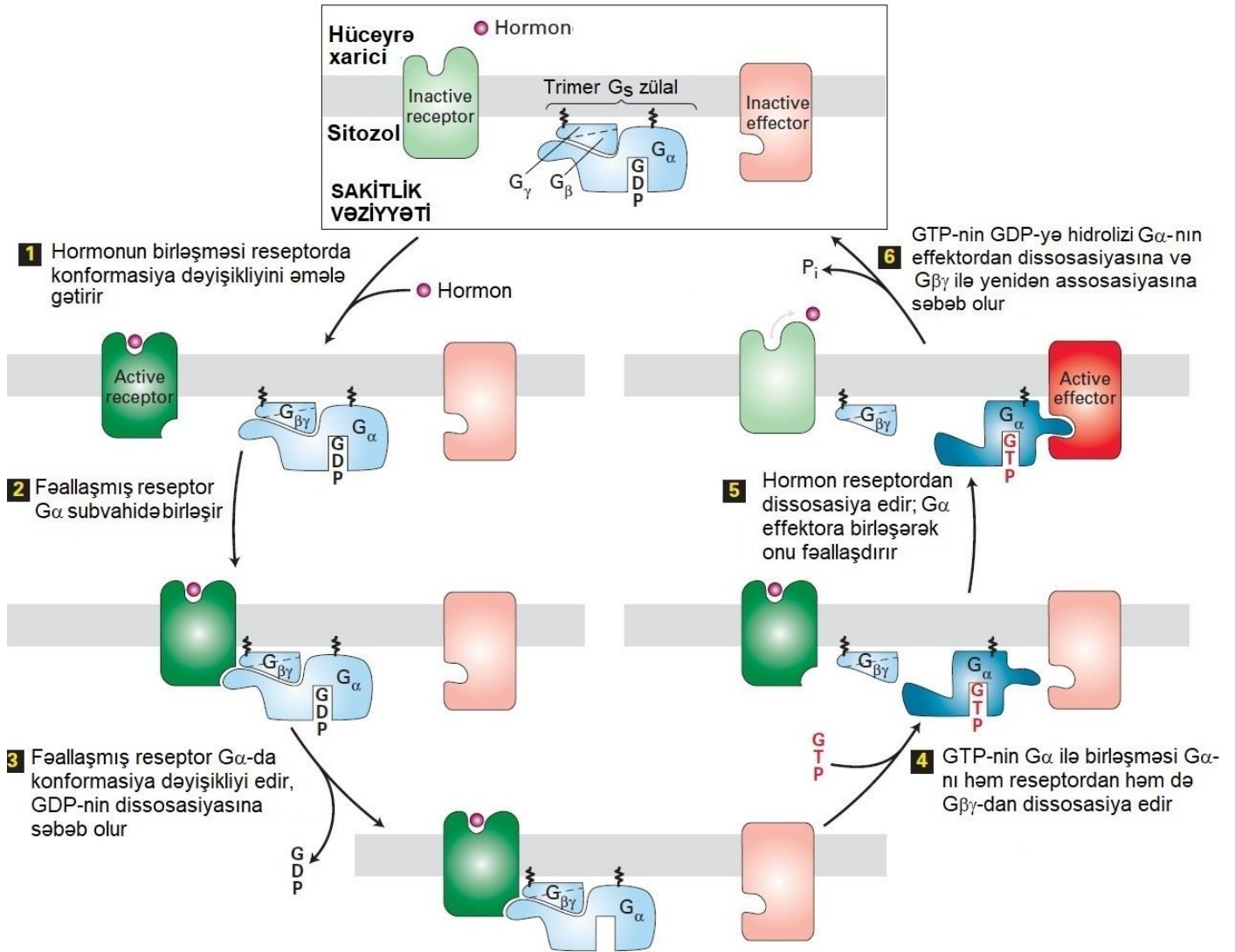


ŞƏKİL 15-13 Liqandların GPCR-lərə birləşməsi. (a) Öz antoqonisti sianopindol ilə birləşmiş hind toyuğu β₁-adrenergik reseptorunun quruluşu. Bu, yandən görünüş membran fosfolipid ikiqatlısının təxminini yerləşməsinə göstərir. Reseptorun sahə-dolduran model kimi boz rəngdə verilmiş sianopindol quruluşunun lentşəkill təsviri göy-qurşağı rəngindədir (N-sonluq mavi, C-sonluq qırmızı). Hüceyrəxarici ilgak 2 (E2) və sitoplazmatik ilgaklar 1, 2 və 4 (C1, C2 və C4) nişanlanmışdır. (b) Hormon birləşən cib bir sıra transmembran seqmentlərin qalıqları tərəfindən əmələ gəlmişdir. Xarici üzəndən görünüş, 3, 5, 6 və 7-ci spiralların və həmçinin hüceyrəxarici 2-ci ilgəyin amin turşuları tərəfindən yaranan və 4 və 5-ci spirallar arasında yerləşən liqand-birləşdirən cibi böyük-planda göstərilir. Sianopindol atomları boz rənglə (karbon) mavi rənglə (azot) və qırmızı rənglə (oksigen) verilmişlər. Liqand-birləşdirən cib dörd transmembran α-spiralın və hüceyrəxarici ilgak 2-nin 15 amin turşusu qalıqlarının yan

zəncirindən təşkil olunmuşdur. Spesifik birləşmə əlaqələrinə nümunə kimi, həm sianopindol həm də epinefrində tapılmış amin qrupundakı müsbət yüklənmiş N atomu, 3-cu spiraldə 121-ci aspartatın (D¹²¹) karboksil yan zənciri ilə və 7-ci spiraldə 329-cu asparaginin (N³²⁹) karboksil yan zənciri ilə ion əlaqəsini əmələ gətirirlər. (c) qlükaqon reseptoruna birləşməsi modeli. qlükaqon reseptorun yeddi transmembran α spiralı və 1-ci transmembran spiralin ekstrasitoplazmatik çıxıntısı tünd yaşıl, N-sonluq ekstrasitoplazmatik domen isə açıq yaşıl rənglənməmişdir. 29 amin turşulu qlükaqon peptidi (qırmızı) C-sonluğu reseptorun N-sonluq domeninə birləşir, qlükaqonun N-sonluğu isə güman olunur ki, yeddi transmembran α spiralların mərkəzində yerləşən birləşmə cibinə daxil olur. [(a) hissəsi ilə (b) hissəsindəki verilənlər T. Warne et al., 2008, *Nature* **454**:486, PDB ID 2vt4-dəndir. (c) hissəsinin verilənləri P. Siu et al., 2014 *Nature* **499**:444, custom PDB-dəndir.]

Qlükaqon 29-amin-turşulu peptid hormon olub mədəaltı vəzin α adacıq hüceyrələri tərəfindən ifraz olunur, sonra biz bu fəsilə görəyik ki, o qaraciyərdə qlükogenin parçalanması və qlükozanın qan dövranına ifrazını həyata keçirmək üçün fəaliyyət göstərir. Qlükaqon reseptoru β -adrenergik reseptorun başqa bir subailəsidir, onun standart yeddi transmembran α spirali vardır, o həmçinin birinci α transmembran spiralın uzantısına birləşmiş böyük hüceyrəxarici domenə malikdir. Bu hüceyrəxarici domen qlükagonun C-sonluğuna sıx bağlanır, N-sonluğu, β -adrenergik və digər GPCR-lərdə olduğu kimi, bir sıra

transmembran spiralların qalıqlarından əmələ gələn cibə bağlamaq üçün yönəlir (Şəkil 15-13c). Müxtəlif GPCR-lərin daxilini əmələ gətirən amin turşuları fərqli olub müxtəlif reseptorların qlükagon və epinefrin kimi hidrofily və ya çoxsaylı odorantlar kimi hidrofob olan çox fərqli molekullara birləşməsinə imkan verir. Amma bütün hallarda, liqandın birləşməsi reseptorda konformasiya dəyişikliyinə əmələ gəlməsinə səbəb olur ki, bu da onun heterotrimer G zülalında G_α subvahidinə GTP birləşməsinə fəallaşdırmaq qabiliyyətini mümkün edir.



ŞƏKİL 15-14 G zülalla-cütləşən reseptorla assosiasiyada olan effektor zülalların fəallaşmasının ümumi mexanizmi. Trimer G-zülalların G_α və $G_\beta\gamma$ subvahidləri kovalent birləşmiş lipid molekulları vasitəsi ilə membrana bağlıdır (dalğalı qara xətlər). Liqandın birləşməsinin, GDP-nin GTP ilə dəyişilməsinin və G zülal subvahidlərinin dissosiasiyasının (pillə 1-4) ardınca, sərbəst G_α -GTP effektor zülalla birləşərək onu fəallaşdırır (pillə 5). GTP-nin hidrolizi

siqnal ötürülməsini dayandırır və trimer G zülalın yenidən toplanmasına və sistemin sakitlik vəziyyətinə qayıtmasına səbəb olur (pillə 6). Başqa liqand molekullarının birləşməsi ilə tsiklin yenidən təkrar olunması inisiyasiya olunur. Bəzi yollarda, effektor zülalı sərbəst $G_\beta\gamma$ subvahidlə fəallaşır. Trimer G zülallarda s "stimulyatoru" göstərir. Bax W. Oldham and H. Hamm, 2006, *Quart. Rev. Biophys.* **39**:117 görə.

Liqandla-Fəallaşmış G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Trimer G Zülalların α Subvahidində GTP-nin GTP-yə Dəyişməsinə Kataliz Edirlər

Trimer G zülallar α , β və γ kimi adlandırılan üç subvahiddən təşkil olunmuşlar. Həm G_α həm də G_γ subvahidləri kovalent birləşmiş lipidlə membrana bağlıdırlar. β və γ subvahidlər həmişə bir yerdə birləşmiş vəziyyətdədirlər və adətən $G_{\beta\gamma}$ subvahid kimi adlandırılırlar. Sakitlik (qeyri fəal) vəziyyətində, liqand reseptora birləşərkən G_α subvahidi ona birləşmiş GDP-yə malik olur və $G_{\beta\gamma}$ ilə bir kompleksdə birləşmiş olur. Liqandın (məsələn, epinefrinin) və ya aqonistin (məsələn, izoproterenolun) G zülalla-cütləşən reseptora birləşməsi transmembran spiralların konformasiyasını dəyişir və reseptorun G_α subvahidlə birləşməsinə imkan yaradır (Şəkil 15-14, pillə 1 və 2). Bu birləşmə birləşmiş GDP-ni azad edir, beləliklə fəallaşmış liqandla-birləşmiş reseptor G_α subvahidi üçün qvanin nukleotidi mübadiləsi faktoru (GEF) kimi fəaliyyət göstərir (pillə 3). Sonra, GTP sürətlə G_α -daki “boş” guanin nukleotidi sayına birləşir və onun keçirici seqmentlərində konformasiya dəyişilməsinə səbəb olur (bax Şəkil 15-7). Bu dəyişilmələr G_α -nın həm reseptorla, həm də $G_{\beta\gamma}$ subvahidi ilə birləşməsinə zəiflədir (pillə 4). Çox hallarda, membrana lövbər etmiş vəziyyətdə qalan G_α •GTP, sonra effektor zülalla əlaqəyə girərək onu fəallaşdırır (pillə 5). Bəzi hallarda, G_α •GTP effektoru fəallaşdırmaq əvəzinə onu ingibirləşdirir. Bundan başqa, hüceyrənin və aid olan G zülalın tipindən asılı olaraq G_α subvahidindən azad olan $G_{\beta\gamma}$ subvahidi, bəzi hallarda effektor zülalla əlaqəyə girərək siqnal ötürülməsində iştirak edir.

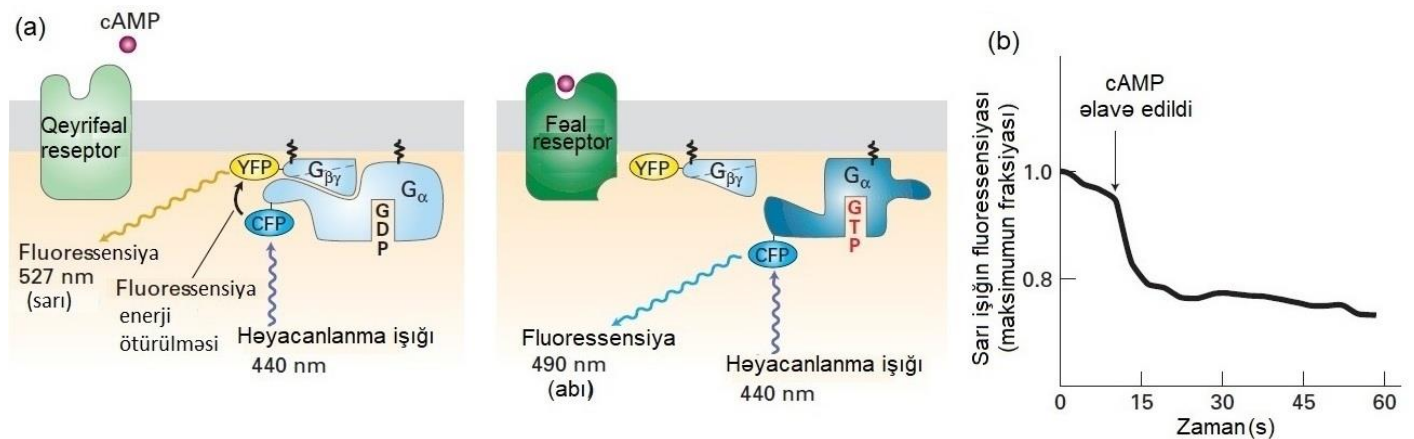
Fəal G_α •GTP vəziyyəti qısa ömürlüdür, çünki G_α subvahidinin daxili GTP-aza fəallığı ilə GTP-nin GDP-yə kataliz olunan sürətli hidrolizi dəqiqələr müddətində baş verir (bax Şəkil 15-14, pillə 6). Beləliklə G_α -nın konformasiyası geriye, qeyri fəal G_α •GDP vəziyyətinə qayıdır və effektor zülalının istənilən sonrakı fəallaşmasının qarşısı alınır. Nəticədə əmələ gələn G_α •GDP sürətlə yenidən $G_{\beta\gamma}$ ilə assosiasiya edir və kompleks yenidən fəallaşmış reseptorla əlaqəyə girməyə və bütün prosesi yenidən başlamağa hazır olur.

GTP hidrolizinin sürəti bəzi hallarda G_α •GTP kompleksinin effektor zülalla birləşməsi ilə güclənir, beləliklə, effektor zülal GTP-aza-fəallaşdırıcı zülal (GAP) kimi fəaliyyət göstərir. Bu geriye əlaqə mexanizmi effektor fəallaşmasının müddətini

əhəmiyyətli dərəcədə qısaldır və hüceyrənin həddən-artıq reaksiya verməsinin qarşısını alır. Çox hallarda, G zülalla siqnalın tənzimləyicisi (regulator of G protein signaling – RGS) adlanan ikinci tip GAP zülal da G_α subvahidi vasitəsi ilə GTP hidrolizini sürətləndirir, və effektor zülalın fəal vəziyyətdə qaldığı zamanın müddətini qısaldır. Beləliklə, GPCR siqnal ötürülməsi sistemi daxilən qurulmuş geriye-əlaqə (feedback) mexanizminə malikdir, bu da effektor zülalın reseptorun fəallaşmasından sonra yalnız qısa zaman — saniyələr və ya dəqiqələr müddətində fəal olmasına imkan verir, reseptorların liqandla birləşməsi ilə davam edən fasiləsiz şəkildə fəallaşması və ardınca da müvafiq G zülalın fəallaşması effektorun uzunmüddətli fəallaşması üçün əhəmiyyətlidir.

Şəkil 15-14-də göstərilən modeli dəstəkləyən ilkin sübutlar, quruluşuna görə GTP-yə oxşar olan, ona görə də GTP kimi G_α subvahidinə asanlıqla birləşən, amma daxili GTP-aza fəallığı ilə hidroliz oluna bilməyən GTP analoqu adlanan birləşmələrlə aparılan tədqiqatlardan alınmışdır. Bu birləşmələrin bəzilərində, GTP-də β və γ fosfatları birləşdirən P-O-P fosfodiefir əlaqəsi hidroliz oluna bilməyən P-CH₂-P və ya P-NH-P əlaqəsi ilə əvəz olunur. Belə GTP analoqlarının xüsusi reseptorun aqonistinə mövcud olduğu plazma membranı preparatına əlavə olunması G zülalın və onunla assosiasiyada olan effektor zülalın GTP ilə fəallaşmalarına nisbətən daha uzun müddətli fəallaşmasına səbəb olur. Bu eksperimentdə, G_α -ya birləşmiş GDP-ni hidroliz oluna bilməyən GTP analoq ilə əvəz etdikdə, o həmişəlik G_α birləşmiş vəziyyətdə qalır. G_α •GTP-analoq kompleksi effektor zülalın fəallaşdırmasında normal G_α •GTP kompleksi kimi funksional olduğundan effektor həmişəlik fəal qalır.

Trimer G-zülalların GPCR vasitəsilə dissosiasiyası canlı hüceyrələrdə də aşkar edilə bilər. Bu tədqiqatlarda *Forster rezonans enerji ötürülməsi (FRET)* fenomenindən istifadə edilir, bu zaman, iki fluorescent zülal qarşılıqlı əlaqəyə girəndə emissiya olunan fluorensensiyanın dalğa uzunluğu dəyişir (bax Şəkil 4-24). Şəkil 15-15, bu eksperimental yanaşmanın, liqand əlavə edildikdən sonra bir neçə saniyə müddətində G_α • $G_{\beta\gamma}$ kompleksinin dissosiasiya olunmasını necə nümayiş etdirdiyini göstərir və G-zülal tsikli modelini sübutlarla təsdiq edir. Bu ümumi eksperimental yanaşma, canlı hüceyrələrdə digər zülal-zülal komplekslərinin yaranmasının və dissosiasiyasının izlənilməsində istifadə oluna bilər.



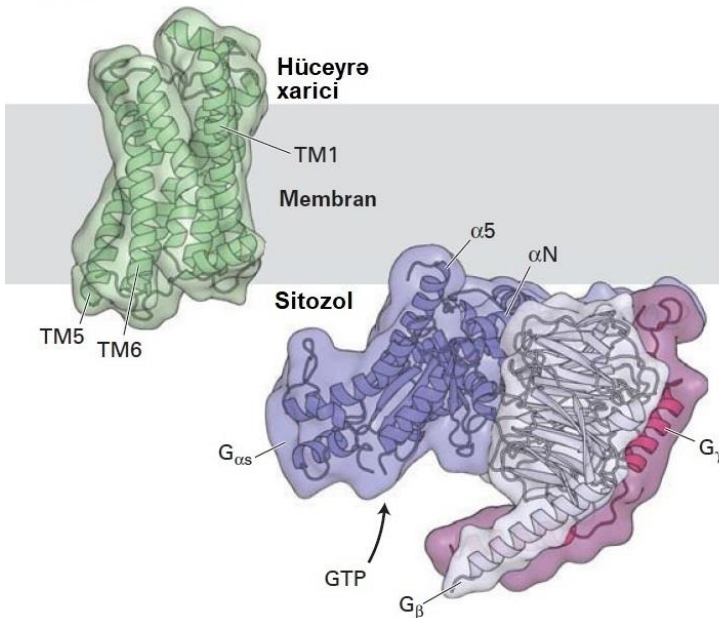
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 15-15 G zülallarının fəallaşması liqandın öz hüceyrə səthi G zülalla-cütləşən reseptoruna birləşməsindən sonra saniyələr müddətində baş verir. Ameoba *Dictyostelium discoideum* hüceyrələrində cAMP hüceyrəxarici siqnal molekulu kimi fəaliyyət göstərir və G zülallarla-cütləşən reseptora birləşir, o ikinci mesencer deyildir. Ameoba hüceyrələrinə iki qovşaq zülallarını kodlaşdıran gen keçirilmişdir: G_{α} , yaşıl fluoressent zülalın (GFP) mutant forması abı (cyan) fluoressent zülalla (CFP) və G_{β} başqa bir GFP varianta, sarı fluoressent zülala (YFP) qovşaq olundu. GFP normal halda 490 nm işıqda, YFP isə 527 nm işıqda fluoressensiya edir. (a) GFP və YFP, qeyri fəal $G_{\alpha}\cdot G_{\beta\gamma}$ kompleks kimi bir yerdə olanda GFP və YFP arasında fluoressensiya enerji ötürülməsi baş verir (*solda*). Nəticədə, sakitlikdə olan hüceyrələrin 440 nm işıqla (GFP-ni

birbaşa həyacanlandırır, amma YFP-ni etmir) şüalandırılması YFP üçün xarakterik olan 527 nm (sarı) işıq emissiyasının yaranmasına səbəb olur. Amma, əgər liqandın birləşməsi G_{α} və $G_{\beta\gamma}$ subvahidlərin dissosiasiyasına səbəb olursa, onda fluoressensiya enerji ötürülməsi baş verə bilmir. Belə olan halda, hüceyrələrin 440 nm-də şüalandırılması CFP üçün xarakterik olan (*sağda*) 490 nm işıqda (abı) emissiyaya səbəb olacaq. (b) Transfeksiya olunmuş tək bir amoeba hüceyrəsindən sarı işığın (527 nm) emissiyasının qrafiki bu hüceyrələrdə G zülallarla-cütləşən reseptorun hüceyrəxarici liqandı olan cAMP (ox) əlavə edilənə qədər və edildikdən sonra. G_{α} -GFP qovşaq zülalın G_{β} -YFP qovşaq zülaldan dissosiasiyası nəticəsində baş verən fluoressensiyanın azalması cAMP əlavə edildikdən sonra saniyə müddətində baş verir. [C. Jenetopoulos et al., 2001, *Science* **291**:2408 götürülmüşdür.]

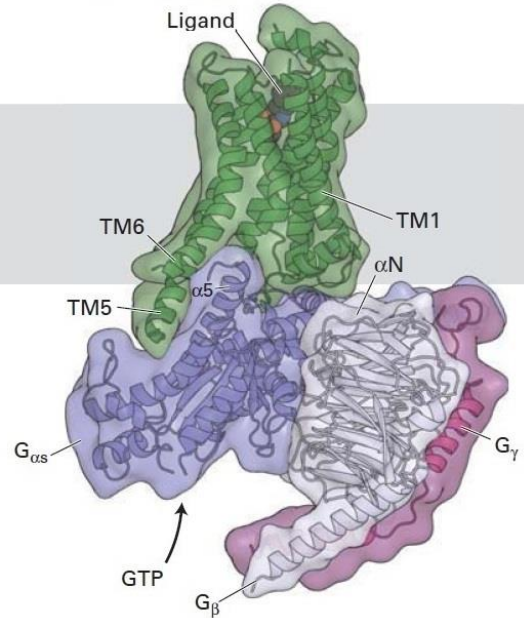
Uzun illər, eyni GPCR-in quruluşunu fəal və qeyri fəal vəziyyətdə təyin etmək mümkün olmamışdır. Bu artıq β_2 -adrenerqik reseptorda (və eləcə də, 15.4-cü bölmədə müzakirə olunan rodopsində) həyata keçirildi. Robert Lefkoviç (Robert Lefkowitz) tərəfindən β_2 -adrenerqik reseptorun ilkin klonlaşdırılması və xarakterizə edilməsi və Brian Kobilka tərəfindən əldə edilmiş Şəkil 15-16-da təsvir edilən üç-ölçülü quruluş 2012-ci ildə Kimya üzrə Nobel mükafatı ilə təltif olundu. β_2 -adrenerqik reseptorun yeddi membrana-yüklənmiş α

spiralı aqonistin və ya antaqonistin qeyri-kovalent birləşə bildiyi mərkəzi cibi əmələ gətirir (bax Şəkil 15-13). Aqonistin reseptora birləşməsi əsas konformasiya dəyişikliklərini induksiya edir (Şəkil 15-16a), nəticədə transmembran spiral 5 və 6-da nəzərə çarpacaq yerdəyişmə və C3 ilgəyin quruluşunda dəyişikliklər baş verir; bunlar birlikdə $G_{\alpha s}$ subvahidinin seqmentinə birləşə bilən səthi əmələ gətirir (Şəkil 15-19b). Qeyd edək ki, liqandla birləşməmiş reseptorun (Şəkil 15-16a) G zülala komplementar olan səthi olmur, ona görə də ona birləşə bilmir.

(a) Qeyri fəal reseptor



(b) Fəal reseptor



ŞƏKİL 15-16 β_2 -adrenerqik reseptorun fəal və qeyri fəal vəziyyətlərində və onun trimer G zülal, $G_{\alpha s}$ -lə assosiasiya olan vəziyyətdə quruluşu. (a) Antaqonistə birləşmiş və qeyri fəal vəziyyətdə olan β_2 -adrenerqik reseptorun (göstərilmiş) üç-ölçülü quruluşu. Ondan sonra yerləşdirilənlər heterotrimer G zülalı G_s -in subvahidlərinin $G_{\alpha s}$ (tünd bənövşəyi) G_{β} (açıq bənövşəyi) və G_{γ} (çəhray) subvahidlərin üç-ölçülü quruluşlarıdır və sakitlikdə olan reseptorun birləşərək $G_{\alpha s}$ -i fəallaşdırmaq qabiliyyətində olmadığını göstərir. (b) Fəal reseptor kompleksinin sitozol səthindən görünüşü

aqonistə birləşmiş və $G_{\alpha s}$ -lə geniş qarşılıqlı əlaqəyə girən β -adrenerqik reseptoru (qara və qırmızı kürəciklər) göstərir. Qeyd edək ki, əsas dəyişikliklər transmembran spirallar 5 (TM5) və 6 (TM6)-nın hüceyrədaxili domenlərinin konformasiyasında görünür. Fəal vəziyyətdə, TM5 iki spiral dövrəsi genişlənir, TM6 isə 1.4 nm kənara çıxır. [Verilənlər S. Rasmussen et al., 2011, *Nature* **476**:549, PDB ID 3sn6; və V. Cherezov et al., 2007, *Science* **318**:1258, PDB ID 2rh1-dən.]

Fəallaşmış β_2 -adrenerqik reseptorla onunla cütləşən G zülal G_s -in kompleksinin retgen-kristalloqrafiya tədqiqatları G

zülalların subvahidlərinin bir-biri ilə necə əlaqə yaratdıqlarını da aşkar etdi və GTP-nin birləşməsinin G_{α} -nın $G_{\beta\gamma}$ subvahidindən

necə dissosiasiya etməsinə səbəb olması dəlillərini təmin etdi. Fəallaşmış reseptorla birləşdikdən sonra G_{α} subvahidi kiçik konformasiya dəyişikliyinə uğrayır, $\alpha 5$ spiralını uzunadır. Bu dəyişiklik, əsasən N-sonluğun α -spiral seqmentləri αN -dən və fəallaşmış reseptorun 5 və 6-cı transmembran spiralları ilə birləşən $G_{\alpha s}$ zülalının $\alpha 5$ spiralından ibarət olan böyük səthi yaradır (bax Şəkil 15-16b). Eyni zamanda G_{α} -dakı bu konformasiya dəyişməsi GDP-nin buraxılmasına səbəb olur. Qeyd edək ki, αN də daxil olmaqla $G_{\alpha} \cdot GDP$ -nin böyük səthi G_{β} ilə əlaqəyə girir, amma $G_{\alpha} \cdot GDP$ G_{γ} subvahidi ilə birbaşa birləşmir. GPCR-a birləşmənin ardınca, başqa G zülallarda olduğu kimi, G_{α} subvahidinin açılması, birləşmiş GDP-nin oradan çıxarılması və onun GTP ilə əvəz olunması baş verir, dərhal bunun ardınca keçirici I və II-də konformasiya dəyişikliyi baş verir, bu da G_{α} və $G_{\beta\gamma}$ arasında molekulyar qarşılıqlı əlqəni qırır və onların dissosiasiyasına səbəb olur.

Müxtəlif G zülallar Müxtəlif GPCR-lərlə Fəallaşmalar və Sonra Müxtəlif Effektor Zülalları Tənzimləyirlər

GPCR yolunda bütün effektor zülalları ya membrana-birləşmiş ion kanallarıdır ya da Şəkil 15-6-də göstərilmiş ikinci mesencerlərin sintezini kataliz edən membrana-birləşmiş fermentlərdir. Bizim 15.4-dən 15.6-ya qədər bölmələrdə öyrəndiyimiz GPCR siqnal ötürülməsi mövzusunda variyasiyalar ona görə meydana gəlmişdir ki, eukariot genomunda müxtəlif fəaliyyətə malik olan çoxsaylı G zülallar kodlaşdırılır. İnsan orqanizmində 21 müxtəlif G_{α} subvahidini kodlaşdırılan 16 müxtəlif gen vardır və bunlardan bir neçəsi alternativ splyasinqə uğrayır, altı G_{β} subvahidi və 12 G_{γ} subvahidi kodlaşdırılır. Bu vaxta qədər məlum olan müxtəlif $G_{\beta\gamma}$ subvahidləri funksiyaları arasında əhəmiyyətli dərəcədə dəyişə bilirlər, amma müxtəlif G_{α} subvahidləri müxtəlif G zülallara onların spesifikliyini verir.

Cədvəl 15-2 müxtəlif G zülalların əsas siniflərinin G_{α} subvahidləri ilə funksiyalarını ümumiləşdirilmiş şəkildə verir. Bu zülalların çoxcəhətliliyini işıqlandırmaq üçün, biz müxtəlif tipli məməli hüceyrələrində tapılmış epinefrin üçün olan G

zülallarla cütləşən reseptorlar dəstinə baxacağıq. Epinefrin hormonu bədən stressə cavabının həyata keçirilməsi üçün xüsusən əhəmiyyətlidir, bu da **fight-or-flight** cavabı kimi məlumdur. Biz 15.5 bölməsində ətraflı qeyd edəcəyik ki, qorxu və ağır məşqlər zamanı, toxumaların ATP sintez etməsi üçün qlükoza və yağ turşularının katobalizminə ehtiyacı olarkən, epinefrin siqnalları ilə qlükogenin hepatik (qaraciyər) hüceyrələrində qlükozaya sürətli parçalanması, piy (adipose) hüceyrələrində triasilqliseridlərin yağ turşularına parçalanması ilə saniyələr ərzində bu əsas metabolik yanacaqlar qanda təmin olunur. Məməlilərdə qlükozanın və yağ turşusunun azad olması epinefrinin (və ya onun törəməsi noroepinefrinin) qaraciyər və ya piy hüceyrəsi səthindəki β_2 adrenerqik reseptorlara birləşməsi ilə başlayır. β -adrenerqik reseptorun β_1 və β_2 kimi adlanan hər iki yarım tipi *stimullaşdırıcı* G zülalla (G_s) birləşir, onun alfa subvahidi ($G_{\alpha s}$) adenilil tsiklaza adlanan membrana birləşmiş fermenti fəallaşdırır. Fəallaşdıqdan sonra bu ferment, ikinci mesencer cAMP-nin sintezini kataliz edir

Epinefrinin başqa fiziki təsirləri də vardır. Məsələn, ürək əzələsi hüceyrələrində β_1 -adrenerqik reseptorlara birləşmiş epinefrin dartılma dərəcəsini gücləndirir, nəticədə toxumalara qan təminatı güclənir. Başqa bir tip epinefrin GPCR, α_1 -adrenerqik reseptor bağırsaq traktında, dəridə və böyrəklərdə qan damarlarının səthini örtən sayə əzələ hüceyrələrində tapılmışdır. Epinefrinin bu reseptorlara birləşməsi arteriyaların yığılmasına səbəb olur və bu orqanlarda qanın dövrə etməsini dayandırır. α_1 -adrenerqik reseptorla cütləşən $G_{\alpha q}$ subvahidi, başqa effektor fermenti, iki digər ikinci mesencerləri DAG və IP3 (bax Şəkil 15-6) əmələ gətirən **fosfolipaza C**-ni fəallaşdırır. Amma, başqa bir epinefrin reseptoru α_2 -adrenerqik reseptor orqanizmin çox hüceyrə tiplərində tapılmışdır, o da $G_{\alpha i}$ subvahidi ilə cütləşir və bu hədəf heceyrələrdə adenilat tsiklazanı ingibirləşdirir. Epinefrinin belə çoxmüxtəlifli təsirləri bütün orqanizm boyu, hamısı ümumi bir sonluğa yönəlmiş razılaşdırılmış (inteqrasiya olunmuş) cavab reaksiyalarının nizamlanmasına kömək edir: əsas dayaq-hərəkətedici əzələləri enerji ilə təmin edir, eyni zamanda onu fiziki stressə qarşı cavabda çox da əhəmiyyətli olmayan başa orqanlardan ayırır.

CƏDVƏL 15-2 Məməlilərin Heterotrimer G Zülallarının Əsas Sinifləri və Onların Effektorları

G_{α} Sinif	Assosiasiya edən effektor	İkinci mesencer	Reseptor nümunələri
$G_{\alpha s}$	Adenilat tsiklaza	cAMP (artır)	β -adrenerqik (epinefrin) reseptor; qlükaqon, serotonin, vazopresin üçün reseptorlr
$G_{\alpha i}$	Adenilat tsiklaza K^+ kanalı ($G_{\beta\gamma}$ effektoru fəallaşdırır)	cAMP (azalır) Membran potensialı dəyişilir	α_2 -adrenerqik reseptor Muskarin asetilxolin reseptoru
$G_{\alpha olf}$	Adenilat tsiklaza	cAMP (artır)	Burunda qoxubilmə reseptoru

$G_{\alpha q}$	Fosfolipaza C	IP ₃ , DAG (artır)	α_1 -adrenerqik reseptor
$G_{\alpha o}$	Fosfolipaza C	IP ₃ , DAG (artır)	Endotelial hüceyrələrdə asetilxolin reseptoru
$G_{\alpha t}$	cGMP fosfodiesteraza	cGMP (azalır)	Çöp hüceyrələrdə rodopsin (ışıq reseptoru)

*Verilmiş G_{α} yarımsinifləri birdən artıq effektor zülalla assosiasiya edə bilər. Bugün yalnız bir əsas $G_{\alpha s}$ identifikasiya olunmuşdur, amma çoxsaylı $G_{\alpha q}$ və $G_{\alpha i}$ zülalların təsvir edilmişdir. Effektor zülallar ümumilikdə G_{α} ilə tənzimlənirlər, amma bəzi hallarda $G_{\beta\gamma}$ ilə və ya G_{α} və $G_{\beta\gamma}$ -nin birkə (kombinasiyası) ilə tənzimlənirlər. IP₃ = inozitol 1, 4, 5-trisfosfat; DAG = 1, 2-diasilqliserol. Mənbə: bax L. Birnbaumer, 1992, *Cell* 71:1069; Z. Farfel et al., 1999, *New Engl. J. Med.* 340:1012; and K. Pierce et al., 2002, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3:639.



Bəzi bakterial zəhərlər (toksinlər) hədəf məməli hüceyrələrinin plazma membranından nüfuz edib keçən subvahidə malikdirlər və onlar sitozolda G_{α} zülalların kimyəvi modifikasiyasını kataliz etməklə onların birləşmiş GTP-ni GDP-yə hidroliz etməsinə mane olurlar. Məsələn, vəba əmələ gətirən *Vibrio cholera* bakteriyasının və ya *E. coli*-nin bəzi ştammlarının istehsal etdiyi zəhərlər bağırsağ epitel hüceyrələrində G_{as} zülalının kovalent modifikasiyasını kataliz edirlər. Nəticədə, G_{as} fəal vəziyyətdə qalır, hormonal stimullaşma olmadan fasiləsiz şəkildə effektor zülalı olan adenilil tsiklazanı fəallaşdırır. Nəticədə hüceyrədaxil cAMP-nin yüksək miqdarda əmələ gəlməsi elektrolitlərin və suyun bağırsağ lümeninə buraxılmasına (itirilməsinə) səbəb olur və xəstədə bu bakteriyalarla yoluxmaya xass olan sulu diarrhea (qarınxması) baş verir. Boğucu öskürəyi əmələ gətirən tənəfüss traktının ümumi yoluxdurucusu *Bordetella pertussis* bakteriyasının istehsal etdiyi zəhər G_{ai} -in modifikasiyasını kataliz edir və birləşmiş GDP-nin buraxılmasına mane olur. Nəticədə, G_{ai} qeyri fəal vəziyyətdə qapanır və adenilil tsiklazanın ingibirləşməsi azalır. cAMP-nin miqdarının artması nəticəsində hava yollarının epitel hüceyrələrində mayenin və elektrolitlərin itirilməsi və bəlgəm ifrazı güclənir. ■

Ümumilikdə 800 nümayəndə ilə bütün G zülallarla-cütləşən reseptorlar insan genomunda ən böyük zülallar ailəsini təşkil edirlər. Bu zülalları kodlaşdıran genlərin təxminən yarısı guman olunur ki, sensor (hissiyat) reseptorlarını kodlaşdırırlar, bunların isə əsas hissəsi qoxubilmə (olfactory) sistemindədirlər və odorantlara birləşirlər. *Yetim (orphan) GPCR-lər* adlanan çoxlarına birləşən təbii liqandlar hələ identifikasiya olunmamışdır, bunlar ehtimal olunan GPCR-lərdir və doğma liqandları məlum deyildir. Çox guman ki, bu yetim reseptorların çoxu, əvvəllər identifikasiya olunmamış siqnal molekullarına, o cümlədən yeni peptid hormonlara birləşirlər. Yetim GPCR-lərin liqandlarının identifikasiya olunmasında daha səmərəli hesab edilən bir yanaşma reseptoru kodlaşdıran genlərin transfeksiya olunmuş hüceyrələrdə ekspressiya olunması və bu hüceyrələrin toxuma ekstraktlarında reseptoru və sonra gələn siqnal ötürülməsi yollarını fəallaşdıran maddələrin təyininə reporter sistem kimi istifadə olunmasıdır. Bu yanaşma iki yeni peptidin aşkar olunmasına səbəb oldu, termal oreksin A və oreksin B (Yunanca *orexis* sözündən “iştah” mənasını verir) qlükaqon reseptorlarla bir ailədə olan iki yetim GPCR üçün liqand kimi identifikasiya olundu. Sonrakı tədqiqatlar aşkar etdi ki, *oreksin* geni yalnız hipotalamusda, beyinin qidalanmasını tənzimləyən hissəsində ekspressiya olunur. Oreksinin heyvanların beyin mədəciyinə inyeksiya olunması onların daha çox yemələrinə səbəb oldu və aclıq zamanı oreksin genin ekspressiyası əhəmiyyətli dərəcədə artdı. Bu kəşflərin hər ikisi oreksinin iştahın artmasındakı rolu ilə tam uyğun gəlir. Son dərəcə maraqlıdır ki, oreksinlərdən məhrum olan siçan narkolepsiyadan, insanlar gündüz zamanı həddən artıq yuxulu olmaq (siçanlarda gecə yuxulu olmaq) kimi pozuntulardan (nasazlıq) əziyyət çəkir. Bundan başqa son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, oreksin sistemi insanların narkolepsi xəstələrinin əksəriyyətində qeyri-funksionaldır, oreksin peptidləri onların onurğa beyni mayesində aşkar oluna bilmir (hərçənd ki, onların *oreksin* genlərində mutasiyanın baş verməsi

barədə heç bir məlumat yoxdur). Bu kəşflər həm insanlarda həm də heyvanlarda oreksin neuropeptidlərini və onların reseptorlarını həm qidalanma həm də yuxu davranışı ilə əlaqələndirir.

15.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar: Quruluşu və Mexanizmi

- G zülallarla-cütləşən reseptorlar (GPCR), yeddi membrana sarınan α spiraldan ibarət ümumi quruluşlu və liqandlar üçün spesifik olan daxili liqand-birləşdirən cibə malik olan böyük və geniş müxtəlifliyi olan ailədir (bax Şəkil 15-12 və 15-13).
- GPCR-lər, α , β , və γ kimi adlandırılan üç subvahiddən təşkil olunmuş trimer G zülallarla birləşirlər. G_{α} subvahidi GTP-ə keçirici zülaldır və GTP birləşmiş fəal (“işəsalan”) və GDP birləşmiş qeyri fəal (“dayandıran”) formalar arasında dəyişilir. “İşəsalan” forma β və γ subvahidlərdən ayrılır və membrana-birləşmiş effektoru fəallaşdırır. β və γ subvahidləri birlikdə birləşmiş vəziyyətdə olurlar və yalnız zaman-zaman siqnal ötürürlər (bax Şəkil 15-14).
- Liqandın birləşməsi GPCR-in membrana-sarınan müəyyən spirallarında və hüceyrədaxili ilgəklərində konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur və ona imkan verir ki, G zülala birləşsin və birləşdiyi G_{α} subvahidində GDP-nin disosiasiyasını kataliz edərək və GTP-nin birləşməsinə imkan yaradaraq qanın nukleotidi mubadiləsi faktoru (GEF) kimi fəaliyyət göstərsin. Nəticədə, G_{α} -nın keçirici rayonunun konformasiyasında əmələ gələn dəyişiklik onun $G_{\beta\gamma}$ subvahidindən və reseptordan dissosiasiya etməsinə və effektor zülalla əlaqəyə girməsinə səbəb olur (bax Şəkil 15-14).
- FRET eksperimentləri canlı hüceyrələrdə birləşmiş G_{α} və $G_{\beta\gamma}$ subvahidlərinin reseptorlar vasitəsilə dissosiasiyasını nümayiş etdirdi (bax Şəkil 15-15).
- Heterotrimer G zülallarla fəallaşmış (və ya fəalsızlaşmış) effektor zülallar ya ikinci mesencerləri yaradan fermentlərdir (məsələn, adenilil tsiklaza, fosfolipaza C), ya da ion kanallarındırlar (bax Cədvəl 15-2). Hər bir halda G zülalların fəaliyyətini təyin edən və onların spesifikliyini müəyyən edən G_{α} subvahididir.
- Liqandın birləşdiyi reseptorun subtipindən asılı olaraq GPCR-lərin bir sıra hüceyrə funksiyaları vardır. Məsələn, döyüş-ya-uçuş (fight-or-flight) cavabını həyata keçirən epinefrin hormonu, fizioloji fəaliyyətinə görə fərqlənən müxtəlif hüceyrə tiplərində GPCR-lərin çoxsaylı subtiplərinə birləşir.
- Yetim GPCR-lərin identifikasiya olunması cəhdləri, həm insanlarda həm də heyvanlarda qidalanmanı və yaxud davranışı tənzimləyən oreksin hormonunun aşkar edilməsi ilə nəticələndi.

15.4 İon Kanallarını Tənzimləyən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

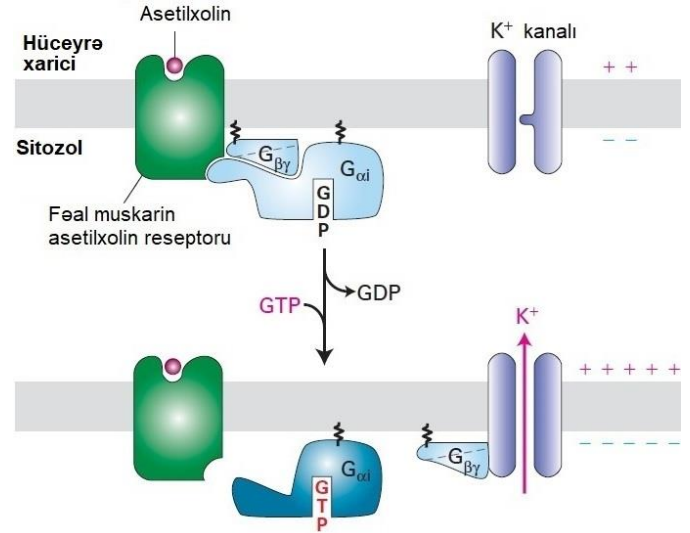
Hüceyrənin siqnala ən sadə cavablarından biri, sinir impulslarının ötürülməsi üçün çox əhəmiyyətli olan ion kanallarının açılması və ya bağlanmasıdır. Sinir impulsları, işıq və qoxu kimi ətraf mühitin stimullaşdırıcı hissələrinin qavranması üçün, informasiyanın beyinə və beyindən ötürülməsi üçün və əzələ hərəkətlərinin stimullaşdırılması üçün çox vacibdir. Sinir impulslarının ötürülməsi zamanı, ion kanallarının qapanması və açılması membran potensialında dəyişikliyə səbəb olur. Çox neyroötürücü reseptorlar liqandla-bağlanan ion kanallarıdır, və liqandın birləşməsinə cavab olaraq açılır. Belə reseptorlara bəzi tip qlutamat, serotonin, və asetilxolin reseptorları, o cümlədən sinir-əzələ sinapslarında tapılmış asetilxolin reseptoru daxildir. Neyroötürücü reseptorlar kimi fəaliyyət göstərən liqandla-bağlanan ion kanalları Fəsil 22-də təsvir edilmişdir.

Amma, çoxsaylı neyroötürücü reseptorlar, effektor zülalları Na^+ və ya K^+ kanalları olan G zülallarla-cütləşən reseptorlardır. Neyroötürücülərin bu reseptorlara birləşməsi assosiasiyada olan (birləşmiş) ion kanallarının açılmasına və ya bağlanmasına səbəb olur, bu da membran potensialının dəyişməsi ilə nəticələnir. Hələ başqa neyroötürücü reseptorlar, eləcə də burunda qoxu reseptorları və gözdə fotoreseptorlar G zülallarla-cütləşən reseptorlardır, bunlar ikinci mesencərlərin təsiri ilə dolayı yolla ion kanallarının fəallığını modulyasiya edirlər. Bu bölmədə biz, ion kanallarının tənzimlənməsinin birbaşa və ya dolayı mexanizmini işıqlandıran iki G zülallarla-cütləşən reseptorlara: ürəkdə muskarin asetilxolin reseptoru və gözdə işıqla fəallaşan rodopsin zülalına baxacağıq.

Asetilxolin Reseptorları Ürək Əzələlərində K^+ Kanallarını Açan G Zülalı Fəallaşdırır

Muskarin asetilxolin reseptorları ürək əzələlərində tapılmış GPCR tipidir. Fəallaşanda, bu reseptorlar ürək əzələsi yığılmasının sürətini *zəiflədir*. Asetilxolinin analoqu olan muskarin bu reseptorları fəallaşdırdığından onlar “muskarinlər” adlandırılır. Bu tip asetilxolin reseptorlar $G_{\alpha i}$ subvahidi ilə cütləşir və liqandın birləşməsi plazma membranda K^+ kanallarının (effektor zülalı) açılmasına səbəb olur (Şəkil 15-17). Ardınca K^+ ionlarının sitozoldan bayıra axması plazma membranında adətən daxilə mənfi olan potensialın artmasına səbəb olur, bu bir neçə saniyə davam edir. Membranın **hiperpolyarlaşması** adlanan bu vəziyyət, əzələ yığılmasının tezliyini azaldır. Bu effekti, ayrılmış ürək əzələsi hüceyrələrinə asetilxolinin əlavə olunması və hüceyrəyə salınmış mikroelektrodlarla membran potensialını ölçməklə eksperimental yolla göstərmək olar (bax Şəkil 11-19).

Şəki 15-7-də göstərdiyi kimi, fəallaşmış muskarin asetilxolin reseptorundan gələn siqnal effektor kanal zülalına $G_{\alpha i} \cdot \text{GTP}$ ilə deyil azad olmuş $G_{\beta\gamma}$ subvahid vasitəsi ilə ötürülür. $G_{\beta\gamma}$ subvahidinin birbaşa K^+ kanalını fəallaşdırması, membranın kiçik bir yamağında vahid bir ion kanalından keçən ion axını ölçə bilən (bax Şəkil 11-22) **yamaq-sıxacı (patch-clamping)** eksperimentlərində nümayiş etdirilmişdir. Təmizlənmiş $G_{\beta\gamma}$ zülalı ürək əzələsi plazma membranında yamağın sitozol üzünə əlavə ediləndə, K^+ kanalları, hətta asetilxolin və ya digər neyroötürücü olmadıqda belə dərhal açılır, bu aydın şəkildə göstərir ki, effektor zülalı K^+ kanalının açılmasına səbəb olan $G_{\beta\gamma}$ zülalıdır.



ŞƏKİL 15-17 Ürək əzələlərində muskarin asetilxolin reseptoru G_i zülalın $G_{\beta\gamma}$ subvahidi vasitəsi ilə öz effektoru K^+ kanalını fəallaşdırır. Asetilxolinin birləşməsi ənənəvi yolla $G_{\alpha i}$ subvahidinin fəallaşmasına və onun $G_{\beta\gamma}$ subvahidindən dissosiasiyasına səbəb olur (bax Şəkil 15-14). Bu halda, azad olmuş $G_{\beta\gamma}$ subvahidi ($G_{\alpha i} \cdot \text{GTP}$ -dənsə) assosiasiyada olan effektor zülalı K^+ kanalına birləşərək onu açır. K^+ keçiriciliyinin artması membranı hiperpolyarlaşdırır, hansı ki, ürək əzələsi yığılmasının tezliyini azaldır. Baxmayaraq burada göstərilməmişdir, G_{α} -ya birləşmiş GTP ($G_{\alpha i}$ zülalının daxili hissəsi olan GAP fermenti ilə) GDP-yə hidroliz olunanda fəallaşma sona çatır və $G_{\alpha i} \cdot \text{GDP}$ yenidən $G_{\beta\gamma}$ subvahidi ilə birləşir. Bax K. Ho et al., 1993, *Nature* 362:31 və Y. Kubo et al., 1993, *Nature* 362:127.

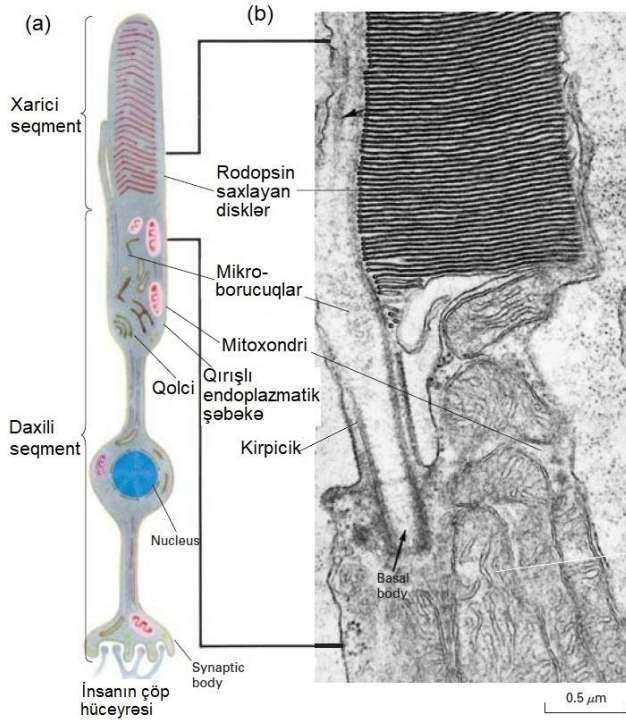
İşıq Gözün Çöp (Rod) Hüceyrələrində G zülalla-cütləşən Rodopsini Fəallaşdırır

İnsanın torlu qişası (retina) iki tip fotoreseptor hüceyrələrinə malikdir – çöp (rod) və kolba (cones), bunlar vizual stimullaşmanın ilkin əsas qəbulediciləridirlər. Kolbacıqlar rənglərin görünməsində iştirak edirlər, çöpcüklər isə Ay işığı kimi zəif işıqdan başlayaraq geniş miqyasda dalğa uzunluqları ilə stimullaşdırılır. Fotoreseptor hüceyrələri, fotoreseptor hüceyrələrinin müxtəlif kombinasiyaları ilə innervasiya olunan interneuronların biri-digərinin üstündəki qatları ilə siqnala verir (sinaps edir). Bütün bu siqnallar proses olunaraq görmə talamusu vasitəsilə beyinin *görmə qabığı* adlanan hissəsinə ötürülür və burada şərh (interpretasiya) olunur.

Çöp (rod) hüceyrələr işığı *rodopsin* adlanan, işığa həssas GPCR vasitəsi ilə hiss edirlər. Rodopsin vizual GPCR quruluşuna malik olan opsin zülalından və ona kovalent birləşmiş retinal adlanan işıq-udan pigmentdən təşkil olunub. Yalnız çöp (rod) hüceyrələrində tapılmış rodopsin, çöp-şəkilli olan bu hüceyrələrin xarici seqmentini əmələ gətirən minlərlə və ya daha artıq yastılaşmış membran diskələrində yerləşir (Şəkil 15-18). İnsanın bir çöp hüceyrəsi təxminən 4×10^7 molekul rodopsinə malikdir. Rodopsinə birləşən *transdusin* adlanan trimer G zülalı (G_t) $G_{\alpha t}$ adlanan G_{α} subvahidinə malikdir; rodopsin kimi, $G_{\alpha t}$ yalnız çöp hüceyrələrində tapılmışdır.

Rodopsin (R) başqa GPCR-lərdən onunla fərqlənir ki, liqandın birləşməsi reseptoru fəallaşdırır. Əksinə, reseptora birləşmiş retinal tərəfindən işıq fotonunun udulması fəallaşdırıcı

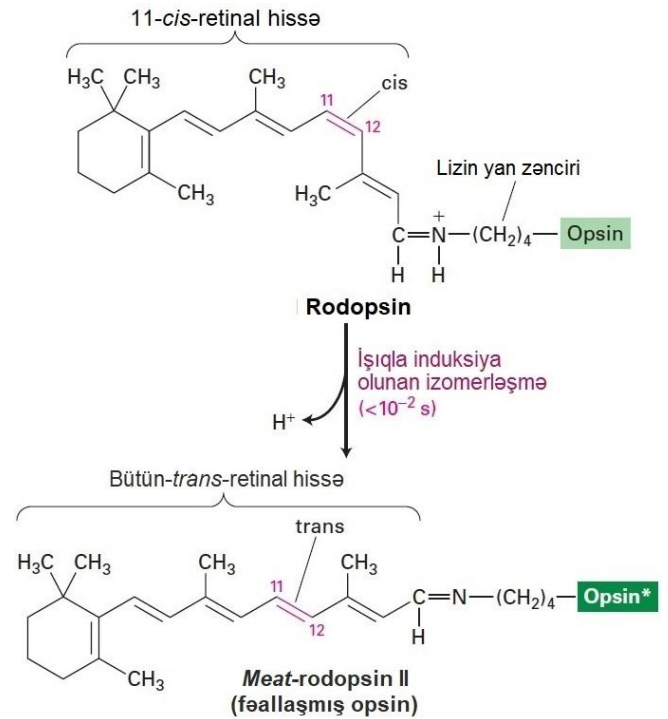
siqnaldır. Fotonun udulmasıyla rodopsinin retinal hissəsi dərhal *cis* izomer formasından (11-*cis*-retinal kimi məlum olan) bütün-*trans*-izomer formaya çevrilir və opsin zülalında konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur (Şəkil 15-19). Bu, başqa G zülallarla-cütləşən reseptorlarda liqand birləşməsi ilə baş verən konformasiya dəyişikliyinə fəallaşmasına ekvivalentdir; bu konformasiya dəyişikliyi rodopsinə cütləşdiyi G zülalı transdusindəki G_{at} subvahidinə birləşməsinə imkan verir və onun $G\alpha$ subvahidində GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasına səbəb olur. R^* kimi işarələnən, yaranan fəallaşmış rodopsinin retinala olan kovalent əlaqələri spontan şəkildə kəsildiyindən, o qeyri sabitdir. Retinaldan azad olan opsin transdusini tapa bilmədiyindən vizual siqnal ötürülməsinin inisiasiyası bu nöqtədə qırılır. Sərbəst bütün-*trans*-retinal qaranlıqda çöp hüceyrələrində və bunlara bitişik olan retinal piqment epitelisinin hüceyrələrində olan fermentlərin daxil olduğu bir sıra mərhələlərdən keçərək geriye 11-*cis* retinala çevrilir. Yaranmış 11-*cis*-retinal çöp hüceyrələrinə keçir və orada yenidən opsinlə birləşərək rodopsini əmələ gətirir və rodopsin vizual tsikli tamamlayır.



ŞƏKİL 15-18 İnsanın çöp (rod) hüceyrələri. (a) Bütöv çöp hüceyrəsinin sxematik diaqramı. Sinaptik cisimdə, çöp hüceyrələr bir və ya daha artıq aralıq neyronla sinapsisləri əmələ gətirir. İşığa həssas G zülalla-cütləşən reseptor Rodopsin, hüceyrənin xarici seqmentinin yastılaşmış membran disklərində yerləşir. (b) Çöp hüceyrələrinin (a)-da mötərəzə ilə göstərilmiş rayonunun elektron mikrofotusu. Bu rayona daxili və xarici seqmentlərin qovşağı daxildir. [(b) hissəsi Don W. Fawcett/Science Source.]

Rodopsinin Işıqla Fəallaşması cGMP ilə Nizamlanan Kation Kanalının Bağlanması Səbəb Olur

Qaranlıqda, çöp hüceyrələrinin membran potensialı təxminən -30 mV-dur, bu tipik neyronların və başqa elektrikli fəallaşan hüceyrələrin sakitlik potensialına (-60 mV-dan -90 mV qədər) nisbətən əhəmiyyətli dərəcədə müsbətdir (az mənfidir) (bax Fəsil 11). Membranın **depolyarlaşma** vəziyyəti adlanan bu vəziyyətdə qaranlıqda çöp hüceyrələrinin dayanmadan fasiləsiz neyroötürücüləri ifraz etməsinə səbəb olur və beləliklə bunlarla sinaps əmələ gətirən neyronları fasiləsiz şəkildə stimullaşdırırlar. Saklitlikdə olan çöp hüceyrələrin plazma membranının depolyarlaşmış vəziyyəti, həm Na^+ həm də Ca^{2+} ionlarını hüceyrəyə buraxan böyük miqdarda açıq *qeyri selektiv* ion kanallarının mövcud olmasının nəticəsidir. Fəsil 11-dən yada salaq ki, Na^+ və Ca^{2+} kimi kationların (müsbət yüklənmiş ionların) hüceyrə xaricindən daxilinə keçməsi daxili-mənfi membran potensialının qiymətini azaldır və ya membranı depolyarlaşdırır. Bu qeyriselektiv kation kanalları ikinci mesencer tsiklik quanozin monofosfat və ya cGMP-nin (bax Şəkil 15-16) birləşməsinə cavab olaraq açılır. Çöp-hüceyrənin xarici seqmentləri fasiləsiz şəkildə qanulil tsiklaza tərəfindən kataliz olunan reaksiya vasitəsilə GTP-dən əmələ gələn, qeyri adi dərəcədə yüksək qatılıqda (~ 0.07 mM) cGMP-yə malik olur, ona görə də cGMP-ile açılıb qapanan kanallar çox hallarda açıq vəziyyətdə saxlanılırlar.

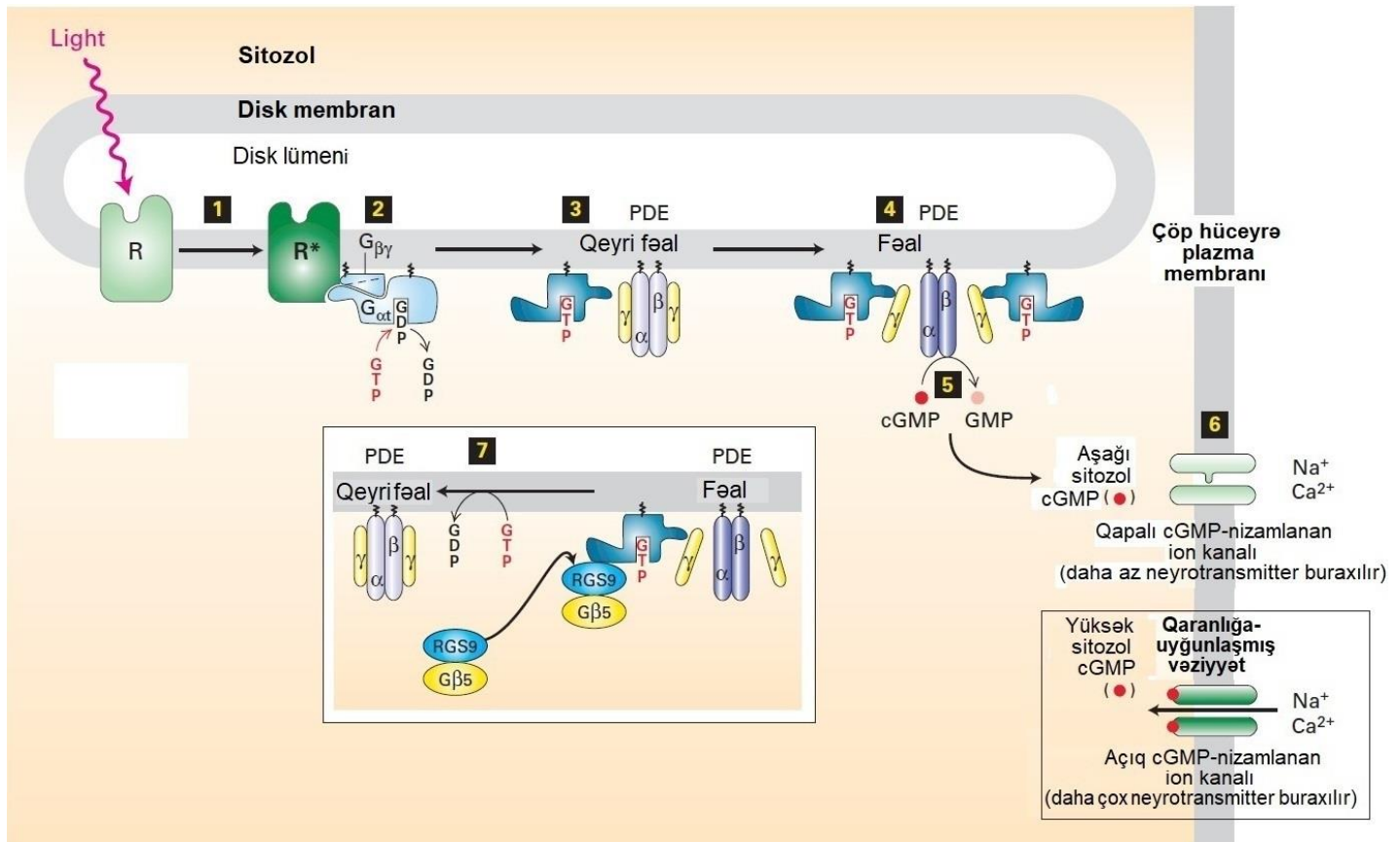


ŞƏKİL 15-19 Görmə rodopsinin retinal hissəsinin işıqla-başlaşan izomerləşməsindən asılıdır. Rodopsin opsin zülal hissəsindəki 296-cı lizin qalığının amin qrupuna kovalent birləşmiş işıq udan piqment 11-*cis*-retinaldan ibarətdir. Işığın udulması, birləşmiş 11-*cis*-retinalın sürətlə bütün-*trans*-retinala fotoizomerləşməsinə səbəb olur. Bu dəyişilmə opsin zülalında konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur və qeyri stabil aralıq meta-rodopsin II və ya fəallaşmış opsinə əmələ gətirir (bax Şəkil 15-21, aşağıda), bu da G_t zülalını fəallaşdırır. Saniyələrlə müddətində bütün-*trans*-retinal opsindən dissosiasiya edir və çöp hüceyrələrində və piqment epitelində bir sıra fermentlərlə geriye *cis*-izomərə çevrilir və yenidən başqa opsin molekuluna birləşir. Bax J. Nathans, 1992, *Biochemistry* **31**:4923.

İşığın rodopsinlə udulması qeyri selektiv kation kanallarının bağlanmasına səbəb olur və membran potensialı *daha çox* mənfi olur. Öncə müzakirə olunmuş muskarin asetilxolin reseptoru ilə assosiasiyada olanlardan fərqli olaraq, rodopsinlə fəallaşan G zülalı ion kanallarına birbaşa təsir etmir. Çöp-hüceyrə plazma membranında kation kanallarının bağlanması cGMP səviyyəsinin nəzərə çarpacaq dərəcədə aşağı düşməsi nəticəsində baş verir (Şəki 15-20). İşığın rodopsinlə udulması *cGMP-fosfodiesterazının* (PDE) kəskin fəallaşmasına səbəb olur, o isə cGMP-nin 5'-GMP-yə hidroliz olunmasını kataliz edir. cGMP qatılığının işıqla induksiya olunan belə azalması kanalın bağlanmasına səbəb olur. Bu isə öz növbəsində, membranın hiperpolarlaşması və neyroötürücülərin buraxılmasının azalması ilə nəticələnir. Rodopsinlə daha çox foton udulduqca daha çox cGMP hidroliz olunur, daha çox kanallar bağlanır, daha az Na^+ və Ca^{2+} ionları membranı xaricdən kəşib keçir, membran potensialı daha çox

mənfi olur və daha az neyroötürücü buraxılır. Neyroötürücülərin buraxılmasının azalması bir sıra neyronlar vasitəsilə beynə ötürülür və orada bu işıq kimi qavranılır.

Şəkil 15-20-də təsvir edildiyi kimi, $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$ həm də onun effektoru PDE lipid lövbərlər vasitəsi ilə çöp hüceyrələrin disk membranının sitoplazmatik üzündə yerləşir. Rodopsinin fəallaşması ilə yaranan $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$ kompleksləri membran səthi boyu lateral hərəkət edə bilirlər və cGMP-fosfodiesterazının iki inhibitor γ subvahidinə birləşirlər (bax Şəkil 15-20; qeyd edək ki, stoixiometriya 1:1-dir, yəni bir $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$ bir γ subvahidə birləşir). $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$ kompleksinin γ subvahidinə birləşməsi katalitik fəal olan $\alpha\beta$ dimerini azad edir, o isə öz növbəsində cGMP-ni GMP-yə çevirir. Bu, siqnal yolunda inhibitor subvahidin siqnalla-induksiya olunaraq uzaqlaşdırılmasının fermenti necə fəallaşdırdığına – siqnal yollarının ümumi mexanizminə aid təmiz bir nümunədir.



ŞƏKİL 15-20 İşıqla-fəallaşan rodopsin yolu və çöp hüceyrələdə kation kanallarının bağlanması. Qaranlığa-adaptasiya olunmuş çöp hüceyrələrində cGMP-nin yüksək səviyyəsi nukleotidlə-tənzimlənən qeyri selektiv kation kanallarını açıq vəziyyətdə saxlayır, plazma membranının depolyarlaşmasına və neyroötürücülərin buraxılmasına səbəb olur. İşığın udulması fəallaşmış rodopsini, R^* yaradır (pillə 1), o isə, qeyri fəal GDP-birləşmiş $\text{G}_{\alpha t}$ zülalına birləşir və GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasını həyata keçirir (pillə 2). Yaranan sərbəst $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$, sonra cGMP fosfodiesterazını (PDE) onun inhibitor γ subvahilərinə birləşməklə (pillə 3) və onları α və β subvahidlərindən dissosiasiya etməklə (pillə 4) fəallaşdırır. Onların ingibirləşməsini buraxmaqla,

PDE-nin α və β subvahidləri cGMP-ni GMP-yə hidroliz edir (pillə 5). Nəticədə sitozolda cGMP səviyyəsinin aşağı enməsi plazma membranında cGMP-nin nukleotidlə-tənzimlənməsinə və kanalın bağlanmasına səbəb olur (pillə 6). Sonra membran müvəqqəti (keçici) hiperpolarlaşır və neyroötürücülərin buraxılması azalır. $\text{G}_{\alpha t} \cdot \text{GTP}$ kompleksi və PDE γ subvahidləri $\text{RGS9-G}\beta 5$ adlanan GTP-aza fəallaşdırıcı kompleksə birləşir (pillə 7); bu, birləşmiş GTPni hidroliz etməklə fosfodiesterazın sürətlə fizioloji fəalsızlaşmasına səbəb olur. Bax V. Arshavski and E. Pugh, 1998, *Neuron* 20:11 və V. Arshavsky, 2002, *Trends Neurosci.* 25:124.

Çöp hüceyrələrinin fəaliyyətində cGMP-nin rolunun birbaşa dəstəklənməsi çöp hüceyrələrinin plazma membranının xarici seqmentlərindən ayrılmış, cGMP ilə nizamlanan kation kanalları ilə zəngin olan hissələrindən istifadə edərək aparılmış yamaq-sıxac tədqiqatlarından əldə olunmuşdur. cGMP bu yamaqların sitozol səthinə əlavə edildikdə açıq ion kanallarının sayı kəskin artır; cGMP birbaşa kanal zülalındakı mərkəzə (sayta) birləşərək onları açıq vəziyyətdə saxlayır. Fəsil 11-də müzakirə olunan K^+ kanalları kimi, cGMP ilə açılıb-bağlanan (tənzimlənən) kanal zülalı dörd subvahidə malik olur (bax Şəkil 11-20). Bu halda, subvahidlərin hər biri özünə cGMP molekulunu birləşdirmək qabiliyyətinə malik olur. Kanalı açmaq üçün hər bir kanala üç və ya dörd cGMP molekulunu birləşməlidir, beləliklə allosterik qarşılıqlı əlaqə kanalın açılmasını cGMP səviyyəsindəki kiçik dəyişikliklərə çox həssas edir.

G_{at} daxili GTP-ə fəallığına malikdir və birləşmiş GTP-ni GDP-yə hidroliz edərək qeyri fəal $G_{at}\cdot GDP$ kompleksini yaradır, o da artıq PDE γ subvahidi ilə birləşə bilmir. Fəal $G_{at}\cdot GTP$ -nin geriyə, qeyri fəal $G_{at}\cdot GDP$ -yə çevrilməsi xüsusi GTP-ə fəallaşdırıcı zülalla (GAP) sürətləndirilir. Məməlilərdə, normal halda G_{at} fəal GTP-birləşmiş vəziyyətdə saniyənin yalnız kiçik bir hissəsi müddətində olur. GTP-nin sürətlə GDP-yə hidroliz olunması və ardınca da G_{at} -nin fəalsızlaşması birləşmiş PDE γ subvahidlərinin azad olmasına səbəb olur və onlar yenidən α və β subvahidləri ilə birləşərək $\alpha\beta\gamma$ tetramerini əmələ gətirirlər. Beləliklə, işığın stimulu yox olduqda fosfodiesteraza sürətlə öz fəallığını itirir və cGMP-nin qatılığı ilkin, işıqla-induksiya-olunan səviyyəyə qədər qalxmağa başlayır. Bu proses vasitəsilə göz hərəkətdə olan əşya ilə bağlı olan işığın dəyişilmə profilinə və ya baxışın və ya nəzərin dəyişməsinə qarşı çox tez cavab verə bilir.

Siqnalın Amplifikasiyası Rodopsinlə Ötürülən Siqnal Yolunu Kəskin Şəkildə Həssaslaşdırır

Olduqca maraqlıdır ki, sakitlikdə olan çöp hüceyrələri vasitəsi ilə vahid fotonun udulması membran potensialında 1 mV qədər kiçik hiperpolarlaşma şəkilində ölçülə bilən zəif cavabı yaradır, bu da amfibiyalarda bir və ya iki saniyə davam edir. İnsanlar, yüzlərlə və ya minlərlə çöp hüceyrələrin hesabına beşə qədər çox az fotonun qığılcımını hiss edə bilir, bir fotonun udulmasına qarşı bu cürə cavab gecə görməsi üçün çox vacibdir. İşığı-aşkar edən sistem ona görə belə həssasdır ki, siqnal ötürülməsi yolunda siqnal güclü şəkildə amplifikasiya olunur. Fəal olduğu zaman müddətində çöp hüceyrənin disk membranında hər bir fəallaşmış opsin 500 G_{at} molekulalarını fəallaşdırır, bunların isə hər ikisi öz növbəsində bir fosfodiesteraza molekulunu fəallaşdırır. Hər bir fosfodiesteraza molekulunu saniyənin kiçik bir hissəsində fəal olduğu müddətdə yüzlərlə cGMP molekulalarını hidroliz edir. Beləliklə tək bir fotonun udulması, bir fəallaşmış opsini əmələ gətirərək plazma membranında minlərlə kation kanallarının (və ya açıq kanalların 5 faizinin) bağlanmasına və hüceyrənin membran potensialında çox cüzi dəyişikliyin əmələ gəlməsinə səbəb olur.

Rodopsin Siqnal Ötürülməsi Yolunun Tez Dayandırılması İti Görmə Üçün Əhəmiyyətlidir

Bütün G zülalla-cütləşən siqnal yollarında olduğu kimi, rodopsin siqnal yolunun vaxtında dayandırılması tələb edir ki, bütün fəallaşmış intermediatlar sürətlə fəalsızlaşsınlar, sistemi ilkin (bazal) vəziyyətinə qaytarsınlar və yenidən siqnal ötürməsinə hazır olsunlar. Beləliklə üç zülal intermediat, fəallaşmış rodopsin (R^*), $G_{at}\cdot GTP$ və fəallaşmış cGMP fosfodiesteraza (PDE), hamısı qeyri fəal olmalıdır və GTP-dən cGMP-ni istehsal edən **quanilil-tsiklaza** fermenti vasitəsi ilə sitoplazmatik ikinci mesencer cGMP səviyyəsi onun qaranlıqdakı səviyyəsinə qaytarılmalıdır. Məməlilərin çöp hüceyrələrində bir fotonun cavab zamanı rodopsinin fəallaşmasının və fəalsızlaşmasının tam prosesi təxminən ~50 millisaniyə müddətində başa çatır, və bu, gözün işıq şəraitinin dəyişilməsinə və ya başqa dəyişikliklərə cavab verməsini mümkün edir. Belə çox tez cavabı mümkün etmək üçün bir sıra mexanizmlər birgə fəaliyyət göstərirlər.

$G_{at}\cdot GTP$ -ni qeyri fəal hala gətirən GTP-ə fəallaşdırıcı zülallar (GAP) Birinci, fosfodiesterazanın inhibitor γ subvahidindən və $G_{at}\cdot GTP$ -dən ibarət olan kompleks iki əlavə zülalı – RGS9 və G β 5-i sfərbər edir və birlikdə GAP zülalı kimi fəaliyyət göstərərək birləşmiş GTP-ni GDP-yə hidroliz edir (pillə 7, Şəkil 15-20). GTP-nin hidrolizi öz növbəsində, PDE γ subvahidinin buraxılmasına səbəb olur, o isə yenidən PDE α və β subvahidi ilə birləşir və fosfodiesterazanın fəallığına son qoyur (pillə 8). RGS9 geni nokaut olan siçanla aparılan eksperiment göstərdi ki, bu zülal siqnal kaskadının in vivo fəalsızlaşması üçün çox vacibdir. Siçanın tək bir çöp hüceyrəsində bir qığılcımdan bərpə olunmanın zamanı normal siçanda 0.2 saniyədən RGS9-defisit mutantlarda təxminən 9 saniyəyə qədər artır. Bu təxminən 45 dəfə artmanı təmsil edir və RGS9 zülalın $G_{at}\cdot GTP$ -GAP kompleksindəki əhəmiyyətini təsdiq edir.

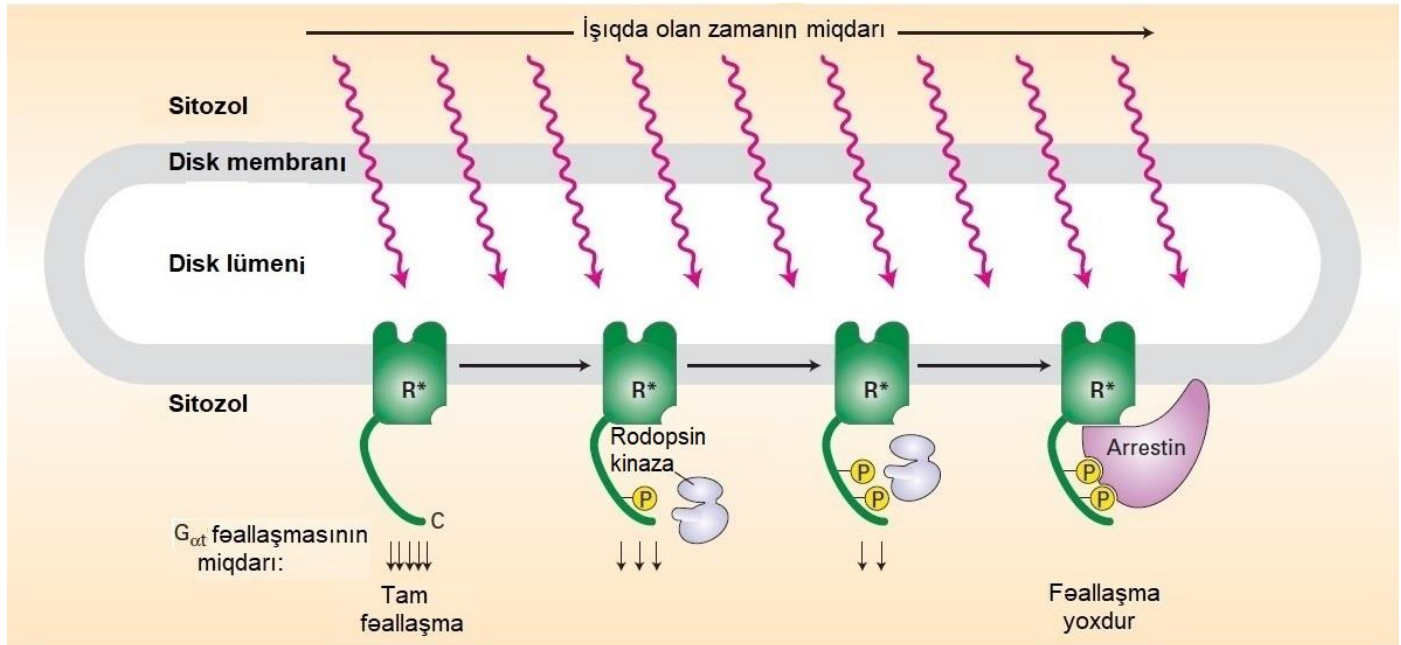
Quanilat Tsiklazanı Fəallaşdırıcı Ca^{2+} -ə Həssas Zülallar İkinci, cGMP-ile-tənzimlənən kation kanallarının işıqla-tənzimlənən qapanması sitozolda çöp hüceyrələrində sitozol Ca^{2+} qatılığının azalmasına səbəb olur. Bu ona görə baş verir ki, Ca^{2+} fasiləsiz şəkildə, cGMP səviyyəsinin təsir etmədiyi antiporter zülal (Na^+/Ca^{2+} - K^+ mübadilə edən) tipi vasitəsi ilə hüceyrədən xaricə daşınır. Hüceyrədaxili Ca^{2+} səviyyəsinin enməsi, *quanilat tsiklaza fəallaşdırıcı zülallar* kimi (və ya GSAP) məlum olan Ca^{2+} -birləşdirən zülallar tərəfindən hiss olunur və onlar quanilat tsiklaza ilə birləşərək onun fəallığını stimullaşdırırlar, beləliklə cGMP səviyyəsini yüksəldərək cGMP ilə nizamlanan ion kanallarının yenidən açılmasına səbəb olurlar. Bu mənfi geriyə əlaqənin başqa bir nümunəsidir, və aşağıya istiqamətdə ikinci mesaj — indiki halda sitozolda Ca^{2+} -un aşağı qatılığı sonrakı siqnal ötürülməsinin inhibitoru kimi fəaliyyət göstərir və hüceyrənin həddən artıq reaksiya verməsinə mane olur.

Rodopsinin Fosforlaşması və Arrestinin Birləşməsi Üçüncüsü, Vizual cavabı supressiya edən və dayandırılmasına kömək edən əsas prosesə rodopsinin qeyri fəal və ya qaranlıq (R) formasının deyil, onun fəal konformasiyasının (R^*) fosforlaşmasını daxildir. GPCR kinazalar sinifinin nümayəndəsi olan *rodopsinkinaza* (Şəkil 15-21) bu fosforlaşmanı kataliz edən fermentdir. Hər bir opsin molekulunu sitozola baxan C-sonluqlu C4 seqmentində üç əsas serin fosforlaşma saytına malikdir. Nə

qədər çox sayt fosforlaşarsa G_{at} -ni fəallaşdırın və beləliklə cGMP ilə nizamlanan kation kanalının bağlanması induksiya edən bir o qədər az R^* mümkün olur.

Yalnız iki və ya üç serin qalığı fosforlaşarkən, rodopsinə sıx şəkildə birləşən *Arrestin* zülalı fəalsızlaşma prosesini dramatik şəkildə sürətləndirir. Fosforlaşmış R^* ilə birləşmə *Arrestin* G_{at} ilə qarşılıqlı əlaqənin yaranmasına tamamilə mane olur, G_{at} •GTP kompleksinin yaranmasını tam blok edir və

cGMP fosfodiesterazanın fəallaşmasının qarşısını tam alır. Bütövlükdə rodopsinin fosforlaşması və onun *Arrestin*lə tamamilə fəalsızlaşması prosesi 50 millisaniyə müddətində çox sürətlə baş verir. Eyni zamanda, rodopsinlə əlaqəli olan fosfatlar fasiləsiz şəkildə spesifik rodopsin fosfatazalar vasitəsilə uzaqlaşdırılır, bu uzaqlaşdırma *Arrestin*in dissosiasiyasına və rodopsinin sürətlə öz orjinal, nativ işığa həssas vəziyyətinə qayıtmasına səbəb olur.



ŞƏKİL 15-21 Rodopsin siqnalının rodopsinkinaza ilə ingibirləşməsi. Qaranlığa-uyğunlaşmış rodopsin deyil, işıqla fəallaşan rodopsin (R^*) rodopsinkinazanın substratıdır. Rodopsinin fosforlaşma dərəcəsi hər bir rodopsin molekulunun işıqla-fəallaşmış formada keçirdiyi zamanın miqdarına mütənasibdir, fosforlaşma dərəcəsi nə

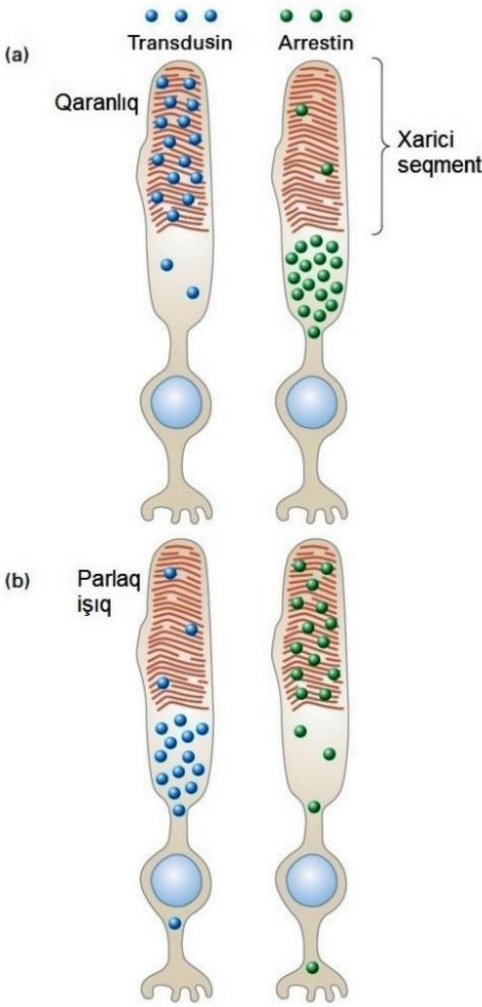
qədər yüksək olarsa və R^* -in transdusini fəallaşdırma imkanları bir o qədər azalır. *Arrestin* tam fosforlaşmış opsinə birləşir və transdusini tamamilə fəallaşdırma bilməyən kompleksi əmələ gətirir. Bax A. Mendez et al., 2000. *Neuron* 28:153 və V. Arshavski, 2002 *Trends Neurosci.* 25:124.

Çöp Hüceyrələr Ətraf Işığın Müxtəlif Səviyyələrinə *Arrestin* və Transdusinin Heceyrədaxili Daşınması ilə Uyğunlaşdırılır

Kolbacıq hüceyrələr aşağı səviyyəli işığa qeyri həssas olduqları halda çöp hüceyrələrin funksiyası yüksək intensivli işıqla doymuşdur. Biz parlaq günəş işığından zəif işıqlı otağa keçəndə ilk əvvəl ətrafımızdakı əşyaları görə bilmirik. Bunun səbəbi odur ki, otaqda bizim çöp hüceyrələrimizin aşağı işıq səviyyəsinə həssaslaşması üçün müəyyən zaman keçir və tədricən biz cisimləri görə və fərqləndirə bilirik. Bu zaman intervalı müddətində bizim çöp hüceyrələrimiz işığa öz həssaslığını "artırır". Digər tərəfdən, biz zəif işıqlandırılmış otaqdan bayıra parlaq işıqlandırılmış günəş işığına tez çıxdıqda əks hadisə baş verir: bizim çöp hüceyrələrimiz işığa həssaslığını "azaldırlar". *Vizual adaptasiy* adlanan bu prosesin nəticəsində, çöp hüceyrələr işıq kontrastını mühitin işığına nisbətən 100000 dəfə artıq dərəcədə, çox zəif işıqdan parlaq gün işığına qədər qəbul edə və qavraya bilir. Həssaslığın belə geniş diapozonu ona görə mümkündür ki, udulan işığın mütləq miqdarı deyil, görmə sahəsində işıq səviyyəsinin fərqləri sonda beyin tərəfindən hiss olunur və normal vizual təsvirlərin yaranmasında istifadə

olunur. Biz aşağıda görəcəyik ki, çöp hüceyrələrin belə qeyri adi geniş həssaslıq diapozonuna səbəb olan, siqnal yolunda siqnal ötürən iki əsas zülalın, məhz çöp hüceyrələrin yüksək dərəcədə həssaslığına kömək edən *Arrestin* və transdusinin subhüceyrə daşınmasına daxil olmasıdır.

Qaranlığa uyğunlaşmış çöp hüceyrələrdə, G_{at} və $G_{\beta\gamma}$ transdusin subvahidlərinin təxminən ~80-dan 90 faizə qədəri xarici seqmentlərdə olur, halbuki *Arrestin*in 10 faizdən azı burada yerləşir (Şəkil 15-22). Məkanca bu paylanma aşağıya istiqamətdə effektor fosfodiesterazanın maksimal fəallaşmasına və beləliklə işığın kiçik dəyişikliyinə qarşı maksimal həssaslığa imkan verir. Amma, 10 dəqiqə orta intensivli gündüz işığında saxlama bu zülalların tamamilə yenidən paylanmasına səbəb olur: G_{at} və $G_{\beta\gamma}$ subvahidlərinin 80 faizindən çoxu xarici seqmentdən kənara çıxıb hüceyrənin başqa hissəsinə keçir, amma eyni zamanda ingibitor *Arrestin*in 80 faizindən çoxu xarici seqmentə keçir.



ŞƏKİL 15-22 Qaranlıq-uyğunlaşan və işıq-uyğunlaşan çöp hüceyrələrində transdusin və arrestinin paylanmasının sxematik təsviri. (a) Qaranlıqda, transdusin əsas hissəsi (mavi dairelər) xarici seqmentdə yerləşir, arrestin əsas hissəsi (yaşıl dairelər) hüceyrənin başqa hissəsində tapılmışdır, belə şəraitdə görmə çox aşağı işıq səviyyəsinə daha həssasdır. (b) Parlaq işıqda, xarici seqmentdə az miqdarda transdusin tapılmışdır və burada çox zəngin arrestin aşkar edilmişdir, bu şəraitdə, görmə işığın səviyyəsindəki kiçik dəyişikliklərə nisbətən az həssasdır. Bu zülalların razılaşdırılması yerdəyişməsi görüntüləri ətraf mühitin işıq səviyyəsinə nisbətən 100000 dəfə artıq diapozonda qavraya bilməyimizə kömək edir. Bax P. Calvert et al., 2006, *Trends Cell. Biol.* **16**:560.

Bu zülalların hüceyrə daxilində yerdəyişmə mexanizmi hələ tam məlum deyil, amma yəqin ki, buraya zülalları və başqa zərrəcikləri müxtəlif subhüceyrə rayonları daxilində və xaricinə daşıyan mikro-borucuqlarla birləşmiş motorlar daxildir (bax Fəsil 18). Parlaq işıqda, xarici seqmentdə G_{at} və $G_{\beta\gamma}$ subvahidləri ilə transdusin səviyyəsinin azalması göstərir ki, sadəcə olaraq fəallaşmış rodopsinlə birləşməyə qabil olan G_{at} yoxdur. Nəticədə, daha az cGMP fosfodiesteraza fəallaşır. Eyni zamanda, xarici seqmentdə arrestinin miqdarının artması göstərir ki, mövcud olan istənilən fəallaşmış rodopsin sürətlə qeyri fəal olacaqdır. Transdusin səviyyəsindəki azalma və arrestinin səviyyəsinin artması birlikdə, aşağıya istiqamətdə effektor fosfodiesterazanı fəallaşdırmaq üçün işıq

səviyyəsindəki kiçik artma qabliyyətini güclü sürətdə reduksiya edir, beləliklə, yalnız işığın səviyyəsindəki böyük (güclü) dəyişmələr çöp hüceyrələr tərəfindən hiss olunacaq. Bu zülal yerdəyişmələri ətraf mühitin işıq səviyyəsi aşağı enəndə geriye döndür.

15.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

İon Kanallarını Tənzimləyən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

- Ürək muskarin asetilxolin reseptoru effektor zülalı K^+ ion kanalı olan GPCR-dir. Reseptorun fəallaşması $G_{\beta\gamma}$ subvahidini buraxır, o isə K^+ kanalına birləşərək onu açır (bax Şəkil 15-17). Nəticədə hüceyrə membranının hiperpolyarlaşması ürək əzələsi yığılmasının sürətini azaldır.
- Çöp hüceyrələrdə işığa həssas GPCR rodopsin, opsin zülalından və ona birləşmiş 11-cis-retinaldan təşkil olunmuşdur. 11-cis-retinal hissəsinin işıqla-induksiya olunan izomerləşməsi fəallaşmış opsini əmələ gətirir, o isə sonra G_{at} subvahidinə birləşmiş GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasını kataliz etməklə cütləşən trimer G zülal transdusini (Gt) fəallaşdırır (bax Şəkil 15-19 və 15-20).
- Rodopsin yolunda effektor zülalı, $G_{at}\cdot GTP$ -vasitəsilə inhibitor subvahidlərinin buraxılması nəticəsində fəallaşan cGMP fosfodiesterazadır. Bu fermetlə cGMP səviyyəsinin azalması cGMP- Na^+/K^+ kanallarının bağlanması, membranın hiperpolyarlaşmasına və neyroötürücülərin buraxılmasının azalmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-20).
- Vizual siqnalın dayandırılmasında bir sıra mexanizmlər fəaliyyət göstərir: GAP zülalları $G_{at}\cdot GTP$ -ni fəalsızlaşdırır, Ca^{2+} -həssas zülallar qanilat tsiklazanı fəallaşdırır, rodopsinin fosforlaşması ilə arrestinin birləşməsi isə transdusin fəallaşmasını ingibirləşdirir.
- Ətraf mühitin geniş diapozonda olan işıq səviyyəsinə uyğunlaşma transdusin və arrestinin çöp hüceyrələrinin xarici seqmentinin daxilinə və xaricinə keçməsi ilə həyata keçirilir, bunlar birlikdə işığın səviyyəsindəki kiçik artmanın aşağıya istiqamətdə effektor fosfodiesterazanın fəallaşdırılmasını və beləliklə çöp hüceyrələrinin mühit işığının müxtəlif səviyyələrinə olan həssaslığını modullaşdırır.

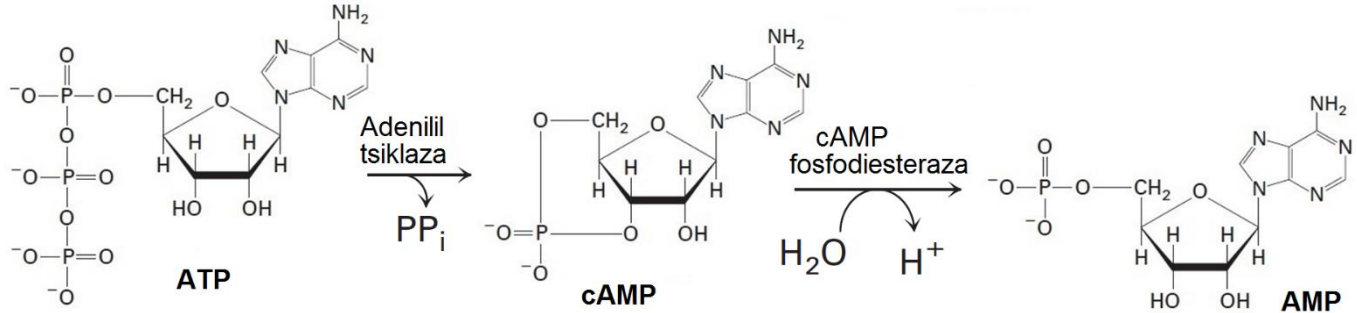
15.5 Adenilil Tsiklazanı Fəallaşdıran və ya İngibirləşdirən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

Adenilil tsiklazanı effektor zülal kimi və cAMP-ni ikinci mesencer kimi istifadə edən GPCR siqnal ötürülməsi yolları əksər məməlilərin hüceyrələrində tapılmışdır və onlar burada yağların və şəkərlərin metabolizmi, hormonların sintezi və ifrazı, həmçinin əzələ yığılması kimi geniş müxtəliflikdə hüceyrə funksiyalarını tənzimləyirlər. Bu yollar, Şəkil 15-14-də təsvir olunan əsas GPCR mexanizmi ilə davam edirlər: liqandın reseptora birləşməsi G_{as} adlanan cütləşən trimer G zülalı fəallaşdırır, o isə effektor zülalı, indiki halda diffuziya edə bilən ikinci mesencer cAMP-ni ATP-dən sintez edən adenilil tsiklazanı fəallaşdırır (Şəkil 15-23). cAMP isə öz növbəsində,

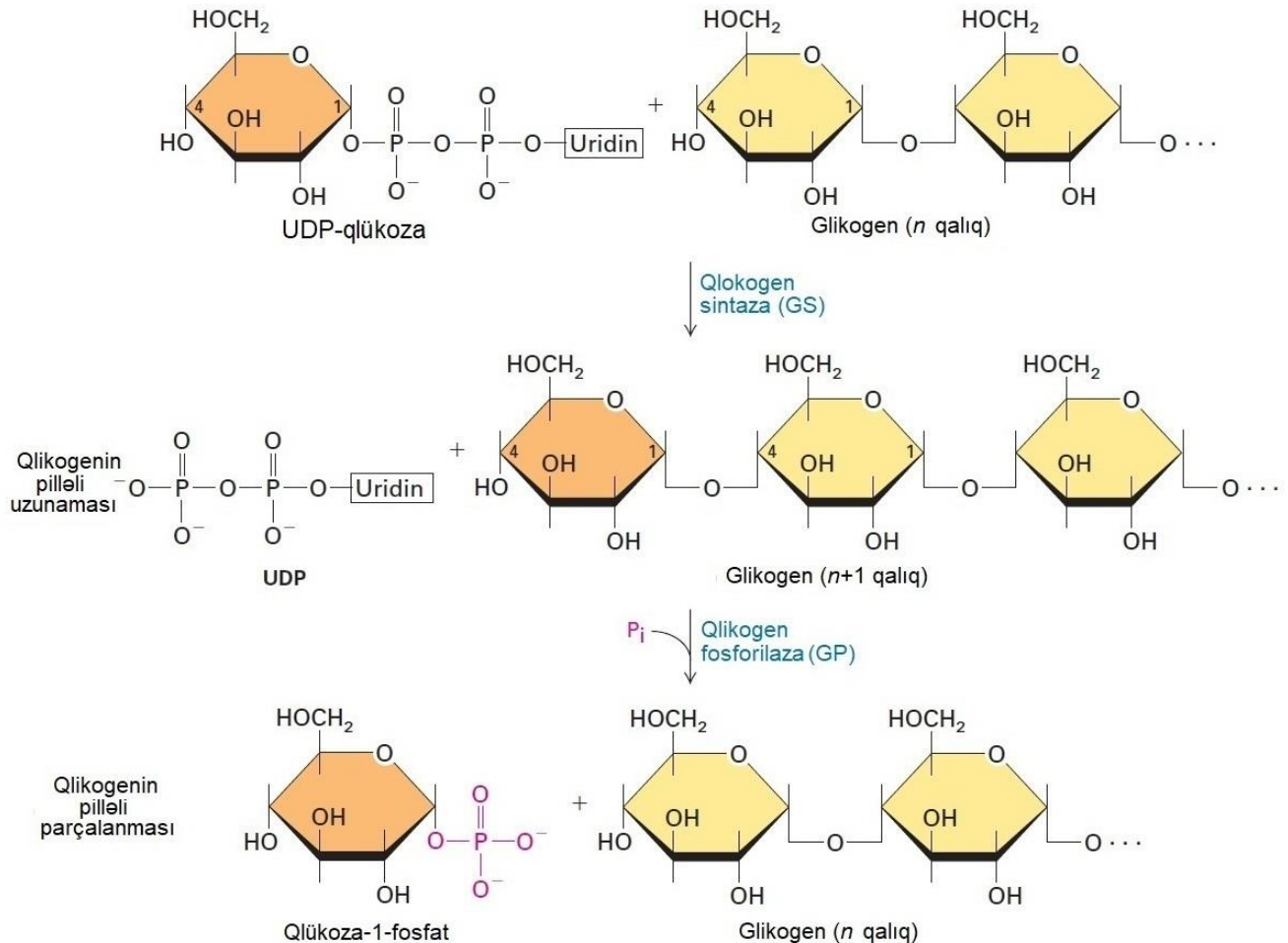
spesifik hədəf zülalları fosforlaşdırən cAMP-dən asılı olan proteinkinazı fəallaşdırır. Məməlilərdə 30-dan artıq müxtəlif GPCR $G_{\alpha s}$ və adenilil tsiklazı fəallaşdırır, hüceyrə tiplərinin əksəriyyəti bir və ya daha artıq belə GPCR-i ekspressiya edir. Adenilil tsiklazın fəallaşması mexanizminin ilkin tədqiqatları reseptorla siqnal ötürülməsində ilk GTP-birləşdirən zülalın rolunun aşkar edilməsinə səbəb oldu.

GPCR/cAMP yolunu tədqiq etmək üçün, biz diqqətimizi aşkar edilmiş birimci belə bir yola: ehtiyat qlükoza polimeri **qlikogendən** hormon-stimullaşması ilə qlükoza 1-fosfatın

əmələ gəlməsinə yönəldirik (Şəkil 15-24). Epinefrin və qlükaqon kimi hormonlara cavab olaraq əzələ və qaraciyər hüceyrələrində baş verən qlikogenin parçalanması (*qlikogenoliz*) enerji tələbatı zamanı qlükozanın hüceyrə üçün əldə oluna bilən formada əmələ gəldiyi əsas yoldur. Bu nümunə GPCR-ın fəallaşmasının fizioloji cəhətdən mühüm bir vəzifəni, qlikogenin metabolizminin yerinə yetirilməsini koordinasiya edən sıra hüceyrədaxili fermentləri necə stimullaşdırdığını və ya ingibirləşdirdiyini göstərir.



ŞƏKİL 15-23 cAMP-nin adenilil tsiklaza və fosfodiesteraza ilə sintezi və hidrolizi. Oxşar reaksiya GTP-dən cGMP-nin sintezi və cGMP-nin hidrolizi zamanı baş verir.



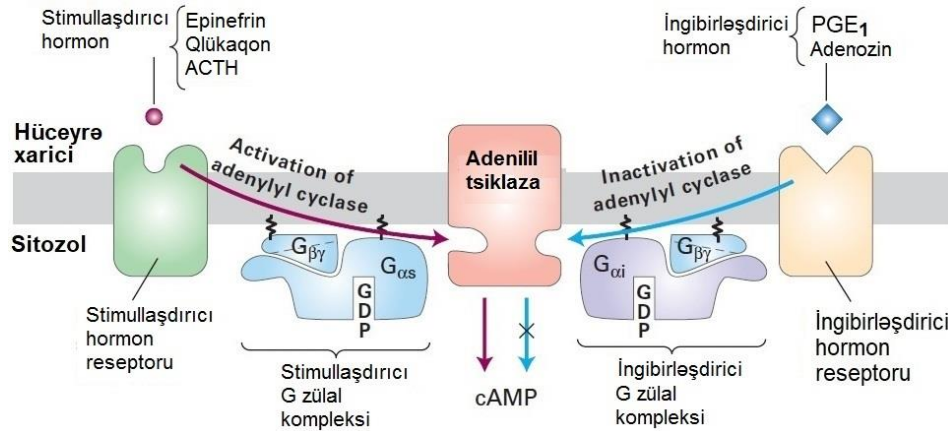
ŞƏKİL 15-24 Qlikogenin sintezi və parçalanması. Qlikozanın UDP-qlikozadan qlikogenə inkorporasiyası qlikogen sintaza ilə kataliz olunur. Qlikogendən qlükoza vahidinin çıxarılması qlikogen

fosforililaza ilə kataliz olunur. Qlikogenin əmələ gəlməsi və parçalanması fərqli fermentlərlə kataliz olunduğundan bu iki reaksiya bir-birindən asılı olmadan tənzimlənə bilər.

Adenilil Tsiklaza Fərqli Liqand-Reseptor Kompleksləri ilə Stimullaşır və İngibirləşir

Qanda şəkərin az olması ilə əlaqədar orqanizmin qlükozanın yüksək olmasını tələb etdiyi şəraitdə, mədəaltı vəzin adacıklarındaki α hüceyrələr tərəfindən *qlikaqon* buraxılır, qəfil stress zamanı, böyrəküstü vəz epinefrini buraxır. Həm qlükaqon həm də epinefrin qaraciyər və əzələ hüceyrələrinə qlikogenin depolimerləşməsi və fərdi qlükoza molekullarının yaradılması signalını verir. Qaraciyərdə qlükaqon və epinefrin fərqli G zülalla-cütləşən reseptorlarla birləşirlər, amma hər iki reseptor adenilil tsiklazanı fəallaşdıran eyni stimullaşdırıcı G zülalla əlaqəyə gilərək onu fəallaşdırır (Şəkil 15-25). Beləliklə hər iki hormon eyni metabolik cavabı induksiya edir. Adenilil tsiklazanın fəallaşması və beləliklə cAMP səviyyəsinin artması, hər iki hormonun öz müvafiq reseptoru ilə birləşməsinin nəticəsi olan $G_{\alpha s} \cdot GTP$ -nin ümumi qatılığına proporsionaldır.

Adenilil tsiklaza fəallığının müsbət (fəallaşma) və mənfi (ingibirləşmə) tənzimlənməsi çoxsaylı hüceyrə tiplərində baş verir, cAMP səviyyəsinə incə-nizamlanmış nəzarəti və aşağıya istiqamətdə hüceyrə cavablarını təmin edir (Şəkil 15-25). Məsələn, piy hüceyrələrində, triasilqliseridlərin (səhifə 49) yağ turşusuna və qliserinə parçalanması (*lipoliz*) epinefrinin, qlükaqonun və ya adrenokortikotropik hormonun (ACTH) adenilil tsiklazanı fəallaşdıran ayrı-ayrı reseptorlara birləşməsi ilə stimullaşır. Əksinə, iki başqa hormonun, prostoqlandin E_1 (PGE_1) və ya adenzinin öz müvafiq G zülalla-cütləşən reseptorlarına birləşməsi adenilil tsiklazanı ingibirləşdirir. Prostoqlandin və adenzin reseptorları fərqli G_{α} subvahidinə ($G_{\alpha i}$) malik olan ingibitor G zülalı G_i fəallaşdırır. Fəal $G_{\alpha i} \cdot GTP$ kompleksi $G_{\beta\gamma}$ -dan dissosiasiya etdikdən sonra, o adenilil tsiklazaya birləşərək onu (stimullaşdırmaq əvəzinə) ingibirləşdirir və cAMP-nin səviyyəsinin azalmasına nail olur.

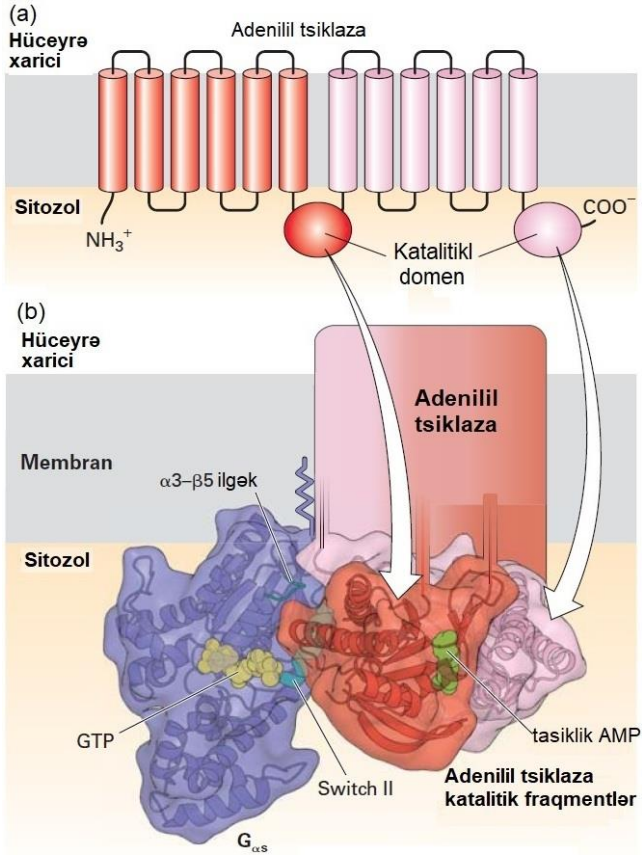


ŞƏKİL 15-25 Piy hüceyrələrində adenilil tsiklazanın hormonla-induksiya olunan fəallaşması və ingibirləşməsi. Liqandın $G_{\alpha s}$ -cütləşən reseptora birləşməsi adenilil tsiklazanın fəallaşmasına səbəb olduğu halda, liqandın $G_{\alpha i}$ -cütləşən reseptora birləşməsi bu fermentin ingibirləşməsinə səbəb olur. $G_{\beta\gamma}$ subvahid həm stimullaşdırıcı həm də ingibirləşdirici G zülallarda identikdir, yalnız G_{α} subvahidlər və onların müvafiq reseptorları fərqlənirlər. Fəal $G_{\alpha} \cdot GTP$ komplekslərinin liqandala-stimullaşan formalaşması, həm $G_{\alpha s}$ həm də $G_{\alpha i}$ zülallar üçün eyni mexanizmlə baş verir (bax Şəkil 15-14). Amma, $G_{\alpha s} \cdot GTP$ və $G_{\alpha i} \cdot GTP$ adenilil tsiklaza ilə fərqli əlaqələr əmələ gətirir, belə ki, onlardan biri katalitik fəallığı stimullaşdırır, digəri isə ingibirləşdirir. Bax A.G. Gilman, 1984, *Cell* 36:577

Quruluş Tədqiqatları $G_{\alpha s} \cdot GTP$ -nin Adenilil Tsiklazaya Necə Birləşdiyini və Fəallaşdırdığını Müəyyən Etdi

Rentgen kristalloqrafiya analizləri $G_{\alpha s} \cdot GTP$ -nin adenilil tsiklaza ilə qarşılıqlı əlaqə yaratdığı rayonu aşkara çıxardı. Bu ferment membrana çoxsarınan transmembran zülal olub, hər biri ATP-yə birləşərək onu cAMP-yə çevirən iki böyük katalitik sitozol domeninə malikdir (Şəkil 15-26a). Belə transmembran zülalları kristallaşdırmaq çox çətin olduğundan, alimlər adenilil tsiklazanın müxtəlif katalitik domenlərindən, iki həll olan zülal fraqmentlərini hazırladılar, bu domenlər katalitik fəal adenilil tsiklaza fermentində yenidən bükülərək bir-biri ilə sıx assosiasiyada oldular. Bu seqmentlərə həm $G_{\alpha s} \cdot GTP$ -nin həm də froskolinin (bitki mənşəli kimyəvi maddə adenilil tsiklazaya birləşərək onu fəallaşdırır) iştirakı ilə assosiasiya etməyə imkan verildə onlar öz fəal katalitik konformasiyalarında stabilləşə bildilər.

Nəticədə əmələ gələn suda həllolan kompleks (adenilil tsiklaza katalitik domeni $G_{\alpha s} \cdot GTP$ və froskolinlə birlikdə), tam uzunluqlu intakt adenilil tsiklaza kimi cAMP sintez edən fermentativ fəallığa malik olur. Bu kompleksdə, $G_{\alpha s} \cdot GTP$ -nin iki rayonu – keçirici II spirali və $\alpha 3$ - $\beta 5$ ilgək – adenilil tsiklaza fraqmentləri ilə əlaqəyə girir (Şəkil 15-26b). Güman olunur ki, bu əlaqələr, fermentin $G_{\alpha s} \cdot GTP$ ilə fəallaşması üçün vacibdir. Xatırladaq ki, keçirici II G_{α} subvahidinin seqmentlərindən biridir və onun GTP birləşmiş və GDP birləşmiş hallarda konformasiyaları fərqlidir (bax Şəkil 15-5). $G_{\alpha s}$ -in $G_{\beta\gamma}$ -dan dissosiasiyasını təmin edən GTP-ilə-induksiya olunan konformasiyası, $G_{\alpha s}$ -in adenilil tsiklazaya birləşməsi üçün vacib olan dəqiq konformasiyadır.



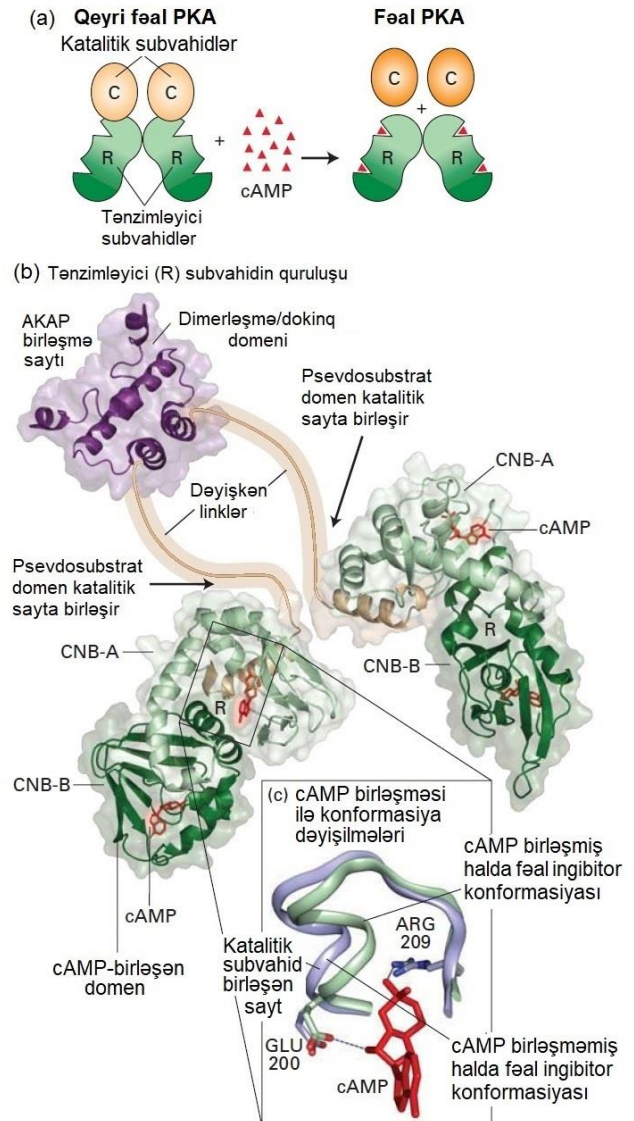
ŞƏKİL 15-26 Məməlilərin adenilil tsiklazasının katalitik domeninin $G_{\alpha s}$ •GTP ilə birləşərək fəallaşması. (a) Məməlilərin adenilil tsiklazasının sxematik diaqramı. Membrana-birləşmiş ferment, membranın sitozol üzündə ATP-ni cAMP-yə çevirən iki oxşar katalitik domənə və hər birinin altı transmembran α spiralından ibarət olduğu guman olunan iki integral membran domənlərinə malikdir. (b) Rentgen kristalloqrafiya ilə təyin edildiyi kimi, bir funksional adenilil tsiklazada in vitro bərpa olunmuş katalitik domeninin iki fraqmenti ilə $G_{\alpha s}$ •GTP-nin kompleksinin üç-ölçülü quruluş modeli. Yeni əmələ gəlmiş cAMP yaşıl rəngdə göstərilir. $G_{\alpha s}$ •GTP-nin $\alpha 3$ - $\beta 5$ ilgəyi (boz) və II keçirici rayonundakı spiral (mavi) eyni zamanda adenilil tsiklazanın spesifik rayonu ilə əlaqəyə girir. GTP (sarı) quruluşuna görə Ras zülalına oxşar olan GTP-birləşdirən domənə birləşir (bax Şəkil 15-5). İki adenilil tsiklaza fraqmenti qırmızı və çəhrayı rənglərdə göstərilmişdir. [(b) hissəsi J.J.G. Tesmer et al., 1997, *Science* 278:1907, PDB ID 1azs -dən.]

cAMP İngibitor Subvahidlərini Buraxmaqla Proteinkinaza A-nı Fəallaşdırır

Adenilil tsiklaza vasitəsilə sintez olunan ikinci məsencər cAMP, çoxhüceyrəli heyvanların müxtəlif hüceyrə tiplərində geniş müxtəlifliyə malik olan fizioloji siqnalları ötürür. Virtual olaraq cAMP-nin bütün müxtəlif effektləri, *cAMP*dən-asılı olan *proteinkinaza* kimi də adlandırılan və müxtəlif hüceyrə tiplərində ekspressiya olunan çoxsaylı hüceyrədaxili hədəf zülalları fosforlaşdıran, **proteinkinaza A (PKA)** vasitəsi ilə həyata keçirilir. Qeyri fəal PKA tetramer olub iki tənzimləyici (R) subvahiddən və iki katalitik (C) subvahiddən təşkil olunub (Şəkil 15-27a). Hər bir R subvahid, ardıcılığı peptid substratın ardıcılığına bənzəyən psevdosubstrat domeninə malikdir və katalitik domenin fəal məkəzinə birləşir amma fosforlaşmır,

beləliklə psevdosubstrat domen katalitik subvahidlərin fəallığını ingibirləşdirir. Qeyri fəal PKA cAMP ilə birləşərək fəal vəziyyətə keçir. Hər bir R subvahidin, CNB-A və CNB-B adlandırılan iki müxtəlif cAMP birləşdirmə mərkəzi vardır (Şəkil 15-27b). cAMP-nin hər iki mərkəzə birləşməsi R subvahidində onun psevdosubstrat domeni də daxil olmaqla elə konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur ki, o artıq katalitik domənə birləşib onu ingibirləşdirə bilmir və ondan ayrılır, onun katalitik mərkəzinə açır və kinaza fəallığını fəallaşdırır (Şəkil 15-27c).

cAMP-nin proteinkinaza A-nın R subvahidinə birləşməsi kooperativ formada baş verir, belə ki, birinci cAMP molekulunun CNB-B ilə birləşməsi, ikinci cAMP molekulunun CNB-A ilə birləşməsinin K_d -ni azaldır. Beləliklə, sitozol cAMP-nin səviyyəsindəki kiçik dəyişilmə, dissosiasiya olunmuş C subvahidinin sayında proporsional şəkildə böyük dəyişilməyə və beləliklə hüceyrədaxili kinaza fəallığına səbəb olur. İngibitorun hormonla-nizamlanan dissosiasiyası nəticəsində fermentlərin sürətli fəallaşması siqnal yollarının əksəriyyəti üçün ümumi bir xüsusiyyətdir.



ŞƏKİL 15-27 Proteinkinaza A-nın (PKA) quruluşu və onun cAMP ilə fəallaşması. (a) Proteinkinaza A (PKA) iki tənzimləyici (R) subvahiddən və iki katalitik (C) subvahiddən ibarətdir. cAMP (qırmızı üçbucaq) tənzimləyici subvahidə birləşəndə katalitik subvahid buraxılır, beləliklə PKA fəallaşır. (b) İki tənzimləyici subvahid, dimerləşmə/dokinq domeni ilə qovuşmaqla və A-kinaza-fəallaşdırıcı zülalın (AKAP; bax Şəkil 15-31) birləşə bildiyi dəyişkən linkerlə dimer əmələ gətirirlər. Hər bir R subvahid iki cAMP-birləşən domenə: CNB-A və CNB-B və katalitik subvahidin birləşməsi üçün mərkəzə (ox) malikdir. (c) cAMP-nin CNB-A domeninə birləşməsi onun incə konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, nəticədə katalitik subvahid R-dən ayrılır, bu da onun fəallaşmasına səbəb olur. Birləşmiş cAMP olmadan, CNB-A domenin bir ilgəyi (bənövşəyi) katalitik (C) subvahidi birləşdirən bilən konformasiyada olur. Qlutamat (E200) və arginin (R209) qalıqları cAMP-nin (qırmızı) birləşməsində iştirak edirlər, bu birləşmə ilgəkdə ilgəyin C subvahidinə birləşməsinə mane olan konformasiya dəyişikliyinə (yaşıl) əmələ gətirir. [(b) hissəsində cAMP, CNB-A, and CNB-B verilənləri və (c) hissəsində cAMP birləşmiş verilənlər Y. Su et al., 1995, *Science* **269**:807, PDB ID 1gs.-dən. (b) hissəsində dokinq domen verilənlər P. Banky et al., 2003, *J. Mol. Biol.* **330**:1117, PDB ID 2ezw. (c) hissəsində katalitik subvahid birləşmiş verilənlər C. Kim, N. H. Xuong, and S. S. Taylor, 2005, *Science* **307**:690, PDB ID 1u7e.]

Qlikogen Metabolizmi Proteinkinaza A-nın Hormonla-İnduksiya Olunan Fəallaşması ilə Tənzimlənilir

Bütün biopolimerlərdə olduğu kimi, qlikogen bir ferment dəsti ilə sintez olunur və başqa bir dəsti ilə parçalanır (Şəkil 15-24). Qlikogenin parçalanması və ya qlikogenoliz polimerin bir ucundan qlükozanın fosforlaşma reaksiyası ilə qlikogendən mərhələlərlə bir-bir ayrılması ilə baş verir və bu reaksiyanı *qlikogen fosforilaza (GP)* həyata keçirir və qlükoza-1-fosfatı əmələ gətirir.

Həm əzələ həm də qaraciyər hüceyrələrində qlikogendən alınmış qlükoza-1-fosfat qlükoza-6-fosfata çevrilir. Əzələ hüceyrələrində, bu metabolit qlikolitik yola daxil olaraq əzələ dartılmalarını eneji ilə təmin edən ATP istehsal etmək üçün parçalanır (bax Fəsil 12 və 17). Əzələ hüceyrələrindən fərqli olaraq, qaraciyər hüceyrələri qlükoza-6-fosfatı qlükozaya hidroliz edən fosfatazaya malikdirlər, alınan qlükoza isə əsasən plazma membrandakı qlükoza-daşıyıcıları (transporterləri) (GLUT2) vasitəsi ilə (bax Fəsil 11) eksport olunur. Beləliklə, qaraciyərdə saxlanan qlikogen ehtiyatları əsasən qlükozaya parçalanır və dərhal qana buraxılır, onları qidalandırmaq üçün başqa toxumalara, xüsusən əzələlərə və beyinə daşınır. Hər iki tip hüceyrədə qandakı epinefrinin miqdarının artması ilə stresə-qarşı (**fight of flight**) cavabının bir hissəsi kimi qlikogenoliz induksya olunur.

Fəallaşmış PKA qlikogenin qlükoza-1-fosfata çevrilməsini iki yolla: qlikogenin sintezini *ingibirləşdirməklə* və qlikogenin parçalanmasını *stimullaşdırmaqla* gücləndirir (Şəkil 15-28a). PKA qlikogeni sintez edən ferment qlikogen sintazanı (GS) birbaşa fosforlaşdırmaqla onu fəalsızlaşdırır. PKA qlikogen parçalanmasını dolayı yolla, intermediat (aralıq) kinaza, qlikogen fosforilaza kinazanı (GPK) fosforlaşdırmaqla fəalsızlaşdıraraq gücləndirir. Öz növbəsində, fəal GPK qlikogeni parçalayan ferment qlikogen fosforilazanı (GP) fosforlaşdıraraq fəallaşdırır.

Skelet əzələsinin GPK ($\alpha\beta\gamma\delta$)₄ subvahid tərkibindən ibarət olan çox böyük zülaldır. γ subvahidi kinaza katalitik fəallığına, digərləri isə tənzimləyici fəallığa malikdirlər; δ subvahid hər yerdə mövcud olan və dörd kalsium ionunu birləşdirən mərkəzə malik olan (bax Şəki 3-33) kalmodulin zülalındır. GPK ferment fəallığı həm α və β subvahidlərin PKA ilə fosforlaşmasıyla, həm də δ subvahidinə Ca^{2+} birləşməsi ilə yüksəlir, maksimal fəallıq isə hər iki stimullaşdırıcı tələb edir.

Hər üç ferment – GS, GPK və GP fosfoprotein fosfataza (PP) adlanan fosfatazaya əks təsir göstərir. cAMP-nin yüksək səviyyəsində PKA fosfoprotein fosfatazayı qeyri fəal vəziyyətdə saxlayan fosfoprotein fosfataza inhibitorunu (IP) fosforlaşdırır (bax Şəkil 15-28a, *sağda*).

Epinefrin və ya $G_{\alpha s}$ -i fəallaşdırıcı başqa hormon uzaqlaşdırıldıqda və cAMP səviyyəsi azaldıqda, proteinkinaza A fəalsızlaşır və tam proses geriye dönür. PKA qeyri fəal olanda, o artıq fosfoprotein-fosfatazanın inhibitorunu (IP) fosforlaşdırma bilmir, ona görə bu fosfataza (PP) fəallaşır (Şəkil 15-28b). Fosfoprotein-fosfataza (PP), əvvəllər PKA vasitəsi ilə qlikogen sintazaya (GS) və qlikogen fosforilaza kinazaya (GPK), eləcə də qlikogen fosforilazaya (GP) əlavə olunmuş fosfat qalıqlarını uzaqlaşdırır. Bunun nəticəsində, qlikogenin GS vasitəsi ilə sintezi güclənir və qlikogenin GP vasitəsi ilə parçalanması ingibirləşir.

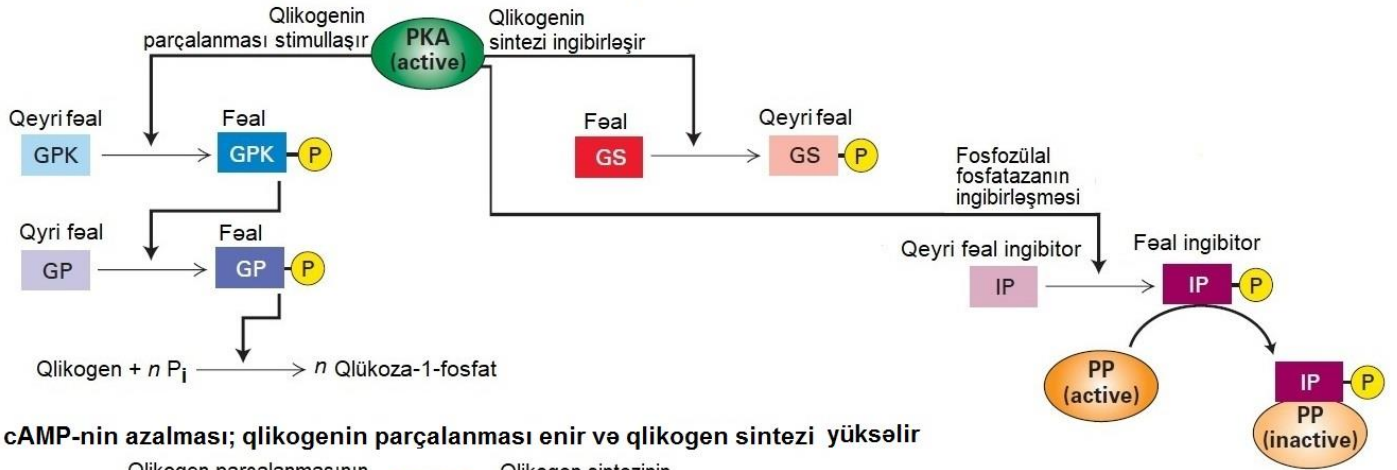
Beləliklə epinefrinlə-induksiya olunan qlikogenoliz ikili tənzimləmə nümayiş etdirir: qlikogenin parçalanmasını kataliz edən fermentlərin fəallaşdırılması və qlikogen sintezini gücləndirən fermentlərin ingibirləşməsi. Belə ikili tənzimləmə, xüsusi hüceyrə reaksiyalarının səmərəli mexanizmini təşkil edir və hüceyrə biologiyası üçün ümumi bir fenomendir.

PKA-nın cAMP Vasitəsilə Tənzimlənməsi Müxtəlif Hüceyrə Tiplərində Geniş Cavab Reaksiyalarını Yaradır

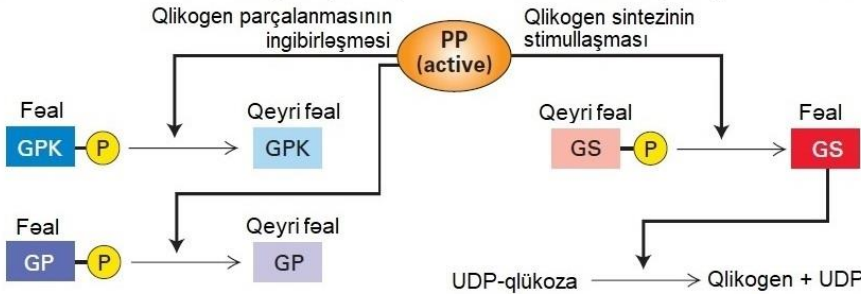
Piy hüceyrələrində epinefrinlə-induksiya olunaraq fəallaşmış proteinkinaza A (PKA) ehtiyat saxlanan triqliseridləri sərbəst yağ turşularına və qliserinə hidrolizi edən lipazanı fosforlaşdıraraq onun fəallaşmasına səbəb olur. Alınan bu yağ turşuları qana buraxılır və ürək, böyrək və əzələ kimi başqa toxumalarda hüceyrələr tərəfindən enerji mənbəyi kimi mənimsənilir (bax Fəsil 12). Ona görə də, iki müxtəlif hüceyrə tipində – qaraciyər və piy hüceyrələrində PKA-nın epinefrinlə fəallaşması müxtəlif təsirlərə malik olur. Həqiqətdə, cAMP və PKA, çoxsaylı toxumalarda hormonla-induksiya olunan hüceyrə cavablarının böyük bir sırasının həyata keçirilməsində iştirak edirlər (Cədvəl 15-3).

Baxmayaraq ki, proteinkinaza A müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif substratlara təsir edir, o həmişə eyni ardıcillıq motifində: X-Arg-(Arg/Lys)-X-(Ser/Thr)- Φ yerləşən serin və ya treonin qalıqlarını fosforlaşdırır. Burada X istənilən amin turşusu ola bilər və Φ hidrofob amin turşuların göstərir. Başqa serin/treonin kinazalar başqa ardıcillıq motivi daxilində olan hədəf qalıqlarını fosforlaşdırırlar.

(a) cAMP-nin artması; qlikogenin parçalanması artır, qlikogenin sintezi azalır



(b) cAMP-nin azalması; qlikogenin parçalanması enir və qlikogen sintezi yüksəlir



- Qısaltmalar:**
- PKA Proteinkinaza A
 - PP Fosfözülal fosfataza
 - GPK Qlikogen fosforilaza kinaza
 - GP Qlikogen fosforilaza
 - GS Qlikogen sintaza
 - IP Fosfözülal fosfatazanın ingibirləşməsi

ŞƏKİL 15-28 cAMP və PKA tərəfindən qlikogen metabolizminin tənzimlənməsi. Fəal fermentlər daha tünd kölgələrlə, qeyri fəal formalar isə açıq kölgələrlə işarələnmişlər. (a) Sitozolda cAMP artması proteinkinaza A (PKA)-nı fəallaşdırır, o isə birbaşa qlikogen sintezini ingibirləşdirir və proteinkinaza kaskadı vasitəsi ilə qlikogenin parçalanmasını gücləndirir. Fəal PKA həmçinin proteinkinaza kaskadı vasitəsi ilə qlikogenin parçalanmasını gücləndirir. cAMP-nin yüksək

səviyyəsində, PKA həmçinin fosfoprotein-fosfatazanı (PP) fosforlaşdıraraq ingibirləşdirir. Fosforlaşmış ingibitorun PP-ə birləşməsi bu fosfatazaya kinaza kaskadında fəallaşmış fermentləri və ya qeyri fəal qlikogen sintezinin defosforlaşdırmasına mane olur. (b) cAMP-nin azalması PKA-nı fəalsızlaşdırır, fəal formalı PP buraxılmasına səbəb olur. PP-nin fəallaşması qlikogenin sintezini gücləndirir və qlikogen parçalanmasını ingibirləşdirir.

Cədvəl 15-3 Müxtəlif Toxumalarda cAMP-nin Hormonla-İnduksiya olunan Artmasına Hüceyrə Cavabı*.

Toxuma	cAMP artmasını induksiya edən homon	Hüceyrə cavabı
Piy	Epinefrin; ACTH; qlükaqon	Triqliseridlərin hidrolizinin artması; amin turşularının udulmasının azalması
Qaraciyər	Epinefrin; norepinefrin; qlükaqon	Qlikogenin qlükozaya çevrilməsinin artması; qlikogen sintezinin ingibirləşməsi; amin turşularının udulmasının artması; qlikoneogenezin (amin turşularından qlükozanın sintezi) artması
Yumurtalıq kisəsi	FSH; LH	Estrogenin, progesteronun sintezinin artması
Adrenal korteks	ACTH	Aldosteron, kortizol sintezinin artması
Ürək əzələsi	Epinefrin	Əzələ yığılması sürətinin artması
Tiroid vəz	TSH	Tirotinin ifrazı
Sümük	Paratiroid hormon	Sümükdən kalsiumun udulmasının (rezorbsiyası) artması
Skelet əzələsi	Epinefrin	Qlikogenin qlükoza-1-fosfata çevrilməsi
Bağırsaq	Epinefrin	Maye ifrazı
Böyrək	Vazopressin	Suyun udulması (rezorbsiyası)
Qan trombositləri	Prostaqlandin 1	Aqreqasiya və ifrazatın ingibirləşməsi

*Demək olar ki, cAMP-nin təsirinin hamısı cAMP-nin birləşməsi ilə fəallaşan proteinkinaza A (PKA) vasitəsi ilə həyata keçir.

Mənbə: E.W.Sutherland, 1972, *Science* 177:401.

cAMP-Proteinkinaza A yolunda Sıgnalın Amplifikasiyası Baş Verir

Biz gördük ki, β -adrenerqik reseptorlar kimi reseptorlar az zənginliyə malik olan zülallardır, adətən hər bir hüceyrədə bir neçə yüz və ya bir neçə min nüsxəyə malik olurlar. Lakin, epinefrin kimi hormonla induksiya olunan hüceyrə cavabları, hər hüceyrəyə görə böyük miqdarda cAMP-nin istehsalını və fəallaşmış ferment molekullarını tələb edə bilər. Məsələn, G_{as} -lə-cütləşən reseptorların fəallaşmasının ardınca cAMP-nin hüceyrədaxili qatılığı təxminən 10^{-6} M qədər yüksəlir. Tərəfləri təxminən $15 \mu\text{m}$ -ə malik olan tipik kubik hüceyrədə bu qatılıq hər bir hüceyrə üçün təxminən 2 milyon molekul cAMP-ə bərabərdir. Beləliklə, sıgnalın kifayət qədər amplifikasiyası lazımdır ki, o hüceyrə cavabını kifayət qədər induksiya edə bilsin. Biz artıq, görmənin çöp hüceyrələrində fotonun udulmasının ardınca sıgnal amplifikasiyasının necə baş verdiyini gördük. G zülallarla-cütləşən hormon reseptorları olan halda, sıgnal qismən amplifikasiya olunur, çünki həm reseptorlar həm də G zülalları plazma membranından sürətlə diffuziya edə bilərlər. Tək bir epinefrin-GPCR kompleksi, epinefrinin reseptordan dissosiasiya etməsinə qədər müddətdə 100-ə qədər qeyri fəal G_{as} molekullarının fəal formaya çevrilməsinə səbəb olur. Hər bir fəal $G_{as}\cdot\text{GTP}$ öz növbəsində bir adenilil tsiklaza molekulunu fəallaşdırır, o isə öz növbəsində $G_{as}\cdot\text{GTP}$ -nin ona birləşdiyi müddətdə çox saylı cAMP molekullarının sintezini kataliz edir.

Belə sıgnal ötürən kaskadda baş verən amplifikasiya ondakı mərhələlərin sayından və müxtəlif komponentlərin nisbi qatılığından asılıdır. Məsələn, Şəkil 15-7 və Şəkil 15-29-da göstərilən epinefrinlə-induksiya olunan kaskadda, qanda epinefrinin 10^{-10} M qədər aşağı səviyyəsi qaraciyərdə qlükogenolizi induksiya edə və qlükozanı buraxa bilər. Bu miqyasda epinefrin stimullaşması 10^{-6} M qədər hüceyrədaxili cAMP qatılığını yaradır, yəni 10^4 dəfə amplifikasiya edir. Qlükozanın yaranıb azad olması daha üç katalitik mərhələni keçdiyindən əlavə bir 10^4 dəfə amplifikasiya baş verə bilər, nəticədə epinefrin sıgnalı 10^8 dəfə amplifikasiya olunur. Eninəzolaqlı əzələlərdə qlükogenolitik kaskadda üç ardıcıl fermentin – PKA, GPK və GP-nin qatılığı 1:10:240 nisbətində olduğundan (potensial 240 dəfə maksimal amplifikasiya olur) amplifikasiya daha az dramatik baş verir.

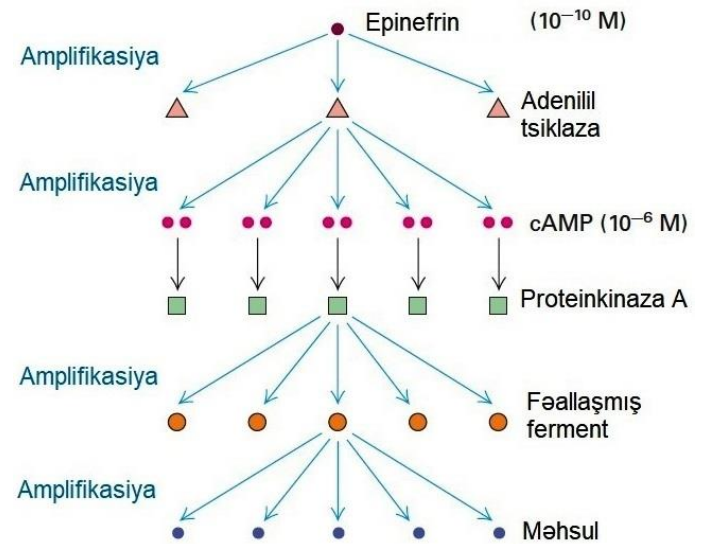
CREB cAMP və PKA-nı Gen Transkripsiyasının Fəallaşması ilə Əlaqələndirir

PKA-nın fəallaşması çox genlərin ekspressiyasını stimullaşdırır, hüceyrədə uzun müddətli təsirə səbəb olur. Məsələn, qaraciyər hüceyrələrində, PKA, *qlükoneogeneza* – piruvat kimi üç karbonlu turşuların qlükozaya çevrilməsinə (bax Şəkil 12-3) daxil olan bir sıra fermentlərin ekspressiyasını induksiya edir, beləliklə qanda qlükozanın qatılığını artırır və fəallaşmış PKA üzərində qısa müddətli təsiri gücləndirir.

Proteinkinaza A ilə tənzimlənən bütün genlər *cis*-təsirli DNT ardıcılığına – yalnız nüvədə tapılmış *CREB* (*CRE*-birləşən) zülal adlanan transkripsiya faktorunun fosforlaşmış formasının birləşdiyi *cAMP*-cavab *elementinə* (*CRE*) malikdirlər. cAMP səviyyəsinin artmasının və fəal proteinkinaza A katalitik subvahidinin buraxılmasının ardınca

katalitik subvahidlərin bir hissəsi nüvəyə translokasiya olunurlar. Burada onlar CREB zülalında serin-133 qalığı fosforlaşdırırlar. Fosforlaşmış CREB zülalı CRE-yə-malik olan hədəf genə birləşir, həmçinin *CBP/300* adlanan *ko-aktivator* birləşir. *CBP/300* CREB-i RNT polimeraza II ilə və digər gen-tənzimləyici zülallarla əlaqələndirir və bununla da genin transkripsiyasını stimullaşdırır (Şəkil 15-30).

Beləliklə, proteinkinaza A çox sayda müxtəlif tipli zülalları fosforlaşdırır: bəziləri hüceyrə metabolizmində saniyələrdən dəqiqələrə qədər nisbətən qısa-müddətli təsirə malik olur, CREB kimi digər substratlar spesifik genlərin ekspressiyasını fəallaşdırmaqla hüceyrə metabolizminə saatlarla və ya günlərlə təsir edə bilərlər.



ŞƏKİL 15-29 cAMP və PKA-nın daxil olduğu sıgnal yolu ilə hüceyrəxarici sıgnalın amplifikasiyası. Burada spesifik nümunə Şəkil 15-7-də verilmiş yoldur. Bir epinefrin molekulunun G zülalla-cütləşən reseptora birləşməsi, cAMP-nin sintezini kataliz edən adenilil tsiklaza fermentinin bir neçə molekulunun fəallaşmasını induksiya edir və bu ferment molekullarının hər biri böyük miqdarda cAMP molekullarını sintez edir, bu amplifikasiyanın birinci səviyyəsidir. İki molekul cAMP bir molekul PKA-nı fəallaşdırır, amma hər bir PKA çoxsaylı hədəf zülalları fosforlaşdıraraq fəallaşdırır. Bu amplifikasiyanın ikinci səviyyəsidir, bura bir sıra ardıcıl reaksiyalar daxil ola bilər və bu reaksiyaların birinin məhsulu ikinci reaksiyanı kataliz edən fermenti fəallaşdırır. Belə kaskadda nə qədər çox reaksiya mərhələsi olarsa bir o qədər yüksək amplifikasiya mümkün olacaq.

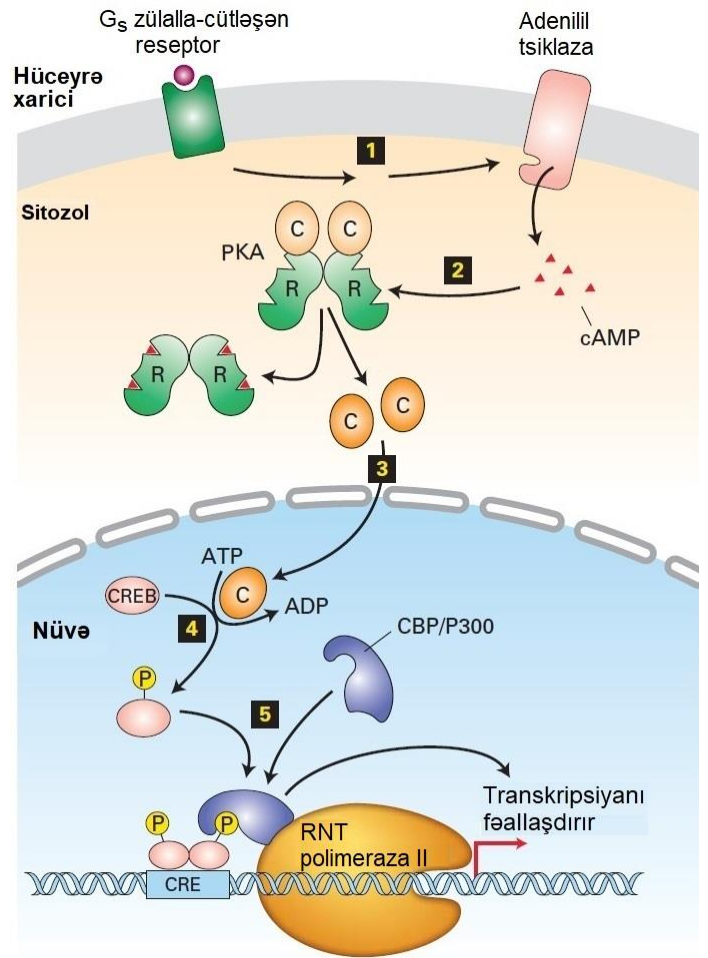
Lövbər Edən Zülallar cAMP-nin Təsirini Hüceyrənin Spesifik Rayonlarına Lokalizasiya Edir

Çox hüceyrə tiplərində, cAMP səviyyəsinin artması hüceyrənin bir hissəsində lazım olan, amma başqa hissəsində lazım olmayan, bəlkə də zərərli olan cavabı yarada bilər. Lövbər edən zülallar ailəsi spesifik subhüceyrə hissələrində proteinkinaza A (PKA)-nın izoformalarının yerini tapır, bununla da cAMP-dən-asılı olan cavabı bu yerdə məhdudlaşdırır. *A kinaza-asosiyatlı zülallar* (*AKAP*) adlanan, təxminən 50 belə zülalın hər biri iki-domenli quruluşa malikdir, bu domenlərdən biri spesifik subhüceyrə lokalizasiyasını təmin edir, digəri isə PKA-nın

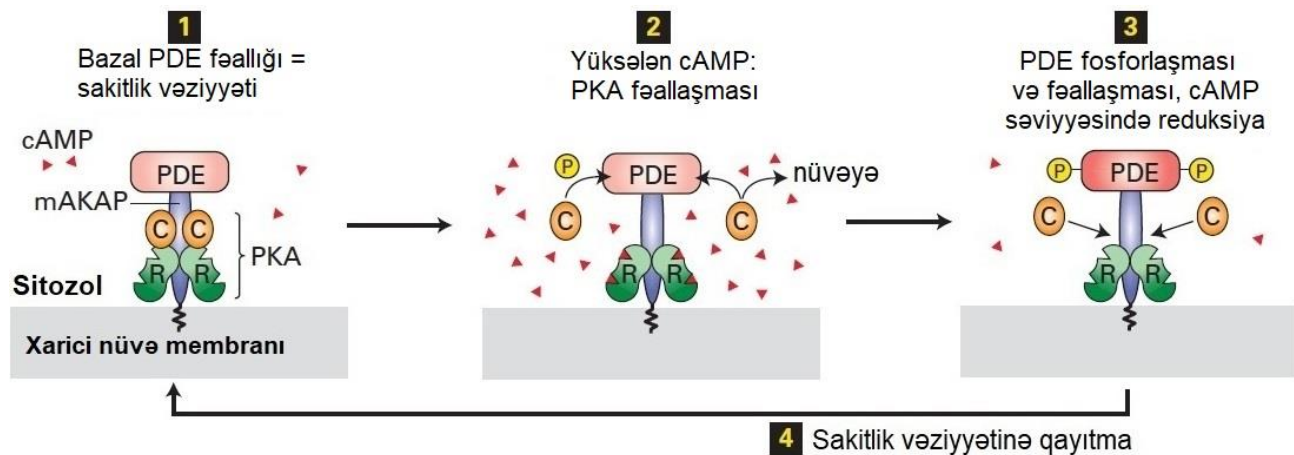
tənzimləyici (R) domeninə birləşir (bax Şəkil 15-29b). AKAP-lar hüceyrədə cAMP və PKA ilə siqnal ötürülməsini həm zamana, həm də məkana görə tənzimləyirlər.

Bir AKAP ürək əzələsində həm PKA-nı, həm də cAMP-ni AMP-yə hidroliz edən (bax Şəkil 15-23) cAMP PDE fermentini xarici nüvə membranına lövbər edir (Şkil 15-31). Bu iki zülalın bir-birinə çox yaxın olmasına görə mənfi (neqativ) geri-yə-əlaqə cAMP qatılığında və uyğun olaraq lokal PKA fəallığında sıx (möhkəm) şəkildə nəzarəti təmin edir. Hormonla stimullaşmaya qarşı cavab kimi cAMP səviyyəsi qalxanda, PKA fəallaşır və fəallaşmış PKA PDE də daxil olmaqla bir sıra hədəf zülalları fosforlaşdırır. Fəal PDE öz növbəsində cAMP-ni hidroliz edir, beləliklə PKA-nı öz qeyri fəal vəziyyətinə qaytarır. PKA-nın nüvə membranı yaxınlığında yerləşməsi onun katalitik subvahidinin nüvəyə daxil olmasını asanlaşdırır, burada onlar CREB transkripsiya faktorunu fosforlaşdıraraq fəallaşdırır (bax Şəkil 15-30).

Müəyyən ürək əzələsi hüceyrələrində fərqli bir AKAP, xüsusi tip qapanan Ca^{2+} kanalının yaxınlığında plazma membranının sitozol üzünə bağlı olur. Ürəkdə β -adrenərik reseptorların epinefrinlə fəallaşması (döyüş-ya-uçuş cavabının bir hissəsi kimi) Ca^{2+} kanallarının PKA ilə kataliz olunan fosforlaşmasına və beləliklə onların açılmasına səbəb olur, nəticədə Ca^{2+} ionlarının daxilə sorulması ürək əzələ yığılmalarının sürətini artırır. AKAP-ın PKA ilə birləşməsi kinazanı bu kanalın yanında yerləşdirir, bununla da PKA katalitik subvahidlərin onların yarandıqları yerdən Ca^{2+} kanalı substratına qədər diffuziya etməsi üçün tələb olunan zamanı qısaldır.



ŞƏKİL 15-30 Liqandın Gs zülalla-cütləşən reseptora birləşməsindən sonra CREB transkripsiya faktorunun fəallaşması. Reseptorun stimullaşması (1) proteinkinaza A (PKA)-nın fəallaşmasına səbəb olur (2). PKA-nın katalitik subvahidi nüvəyə translokasiya olunur (3) və orada CREB transkripsiya faktorunu fosforlaşdıraraq fəallaşdırır (4). CREB tənzimləyici elementlə nəzarət olunan müxtəlif hədəf genlərin transkripsiyasını stimullaşdırmaq üçün fosforlaşmış CREB “koaktivator CBP/P300” ilə (5) və başqa zülallarla assosiasiya girir. Bax K.A. Lee and N. Masson, 1993, *Biochem. Biophys. Acta* 1174:221 və D. Parker et al., 1996, *Mol. Cell. Biol.* 16(2):694.



ŞƏKİL 15-31 Ürək əzələlərində PKA-nın və PDE-nin A-kinaza-assoasiyalı zülalla (AKAP) nüvə membranına yerləşməsi. mAKAP kimi adlandırılan AKAP ailəsinin bu üzvi, həm cAMP PDE-nin həm də PKA-nın tənzimləyici (R, bax Şəkil 15-27b) subvahidlərini nüvə membranına lövbər edir, onları mənfi əks-əlaqə ilgəyində saxlamaqla cAMP səviyyəsində və PKA fəallığında sıx lokal nəzarəti təmin edir. Pillə 1: Hormon olmasıqda (sakitlik dövründə) PDE fəallığının bazal vəziyyəti cAMP-nin səviyyəsini onun PKA-nın fəallaşması üçün tələb olunduğundan aşağı saxlayır. Pillə 2 və 3: β -adrenerqik reseptorların fəallaşması cAMP səviyyəsini onun PDE ilə parçalana biləcəyindən

Çoxsaylı Mexanizmlər GPCR/cAMP/PKA Yolundan Gələn Sıqnalı Dayandırır

Hüceyrələrin onları əhatə edən mühitdəki dəyişiklikərə səmərəli cavab verməsi üçün onlar yalnız sıqnal yolunu fəallaşdırmalı deyil, onlar həmçinin, artıq lazım olmayanda cavabı azalan istiqamətdə-modulyasiya etməli və ya dayandırmalıdır, əks halda sıqnal ötürülməsi yolu uzun müddət "işləyən" vəziyyətdə və ya çox yüksək səviyyədə qalmalı və hüceyrələr həddən artıq stimullaşmış vəziyyətdə olmalı idilər.

Biz əvvəllər, rodopsinlə sıqnal ötürən yolun sürətlə dayandırılması mexanizmlərini, o cümlədən G_{at} -yə birləşmiş GTP-nin hidrolizini stimullaşdıran GAP zülalları, qanilat tsiklazanı fəallaşdıran Ca^{2+} -birləşdirən zülalları və fəal rodopsinin rodopsinkinaza ilə fosforlaşmasını və ardınca arrestinin birləşməsinə gördük (bax Şəkil 15-21). Faktiki olaraq G zülallarla-cütləşən reseptorların əksəriyyəti, β -adrenerqik reseptorlarla və adenilil tsiklazanı fəallaşdıran G_{as} -lə cütləşən başqa reseptorlara olan nümunələrdə olduğu kimi onların fəallığını azalan şəkildə tənzimləyən çoxsaylı mexanizmlərlə modulyasiya olunurlar.

- Birincisi, G_{as} -in daxili GTP-ə fəallığı birləşmiş GTP-ni GDP-yə çevirir, bununla da onun aşağı istiqamətdə hədəf adenilil tsiklazanı fəallaşdırmaq qabiliyyətini dayandırır. Əhəmiyyətlidir ki, G_{as} -ə birləşmiş GTP-nin hidroliz sürəti G_{as} adenilil tsiklazaya birləşdikdə yüksəlir, cAMP istehsalının müddətini azaldır; beləliklə, adenilil tsiklaza G_{as} -GTP üçün GAP kimi fəaliyyət göstərir. Ümumiyyətlə, G_{as} -GTP kompleksinin əksəriyyətinin, bəlkə də hamısının öz müvafiq effektor zülalına birləşməsi GTP hidrolizinin sürətini gücləndirir.

- İkincisi, cAMP fosfodiesteraza fəaliyyət göstərərək cAMP-ni 5'-AMP-yə hidroliz edir və hüceyrə cavabını dayandırır. Beləliklə, hormonun kifayət qədər yüksək qatılıqda davam edən şəkildə mövcud olması adenilil tsiklazanın davam edən fasiləsiz şəkildə fəallaşması və yüksək cAMP qatılığının saxlanılması üçün tələb olunur. Hormonun qatılığı kifayət qədər aşağı enəndə cAMP-nin səviyyəsi düşür və bütün hüceyrə cavabı tez şəkildə dayanır.

GPCR-lərin çoxu *geriyə-əlaqə repressiyası* ilə da azalan-tənzimlənir, bu ifadə ilə sıqnal yolunun son məhsulunun yolun başlanğıc mərhələsini blok etdiyi vəziyyət təsvir edilir. Məsələn, G_{as} -zülalla-cütləşən reseptor bir neçə saat müddətində hormonal stimullaşmaya məruz qoyulduqda, reseptorun sitozol domenində bir sıra serin və treonin qalıqları PKA ilə fosforlaşır. Fosforlaşmış reseptor öz liqandına birləşə bilir,

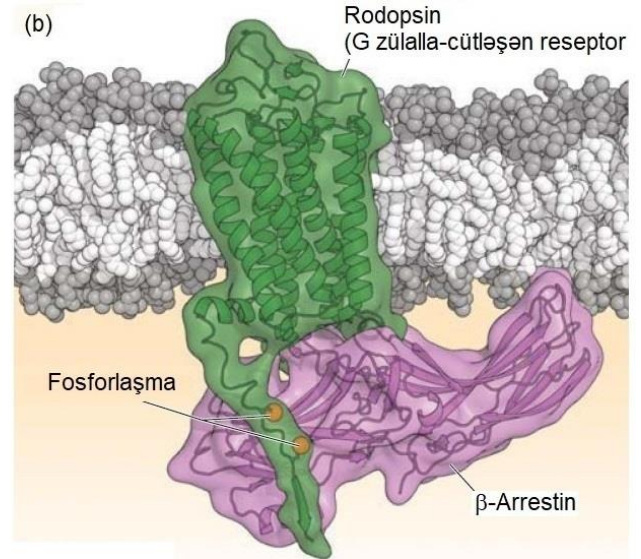
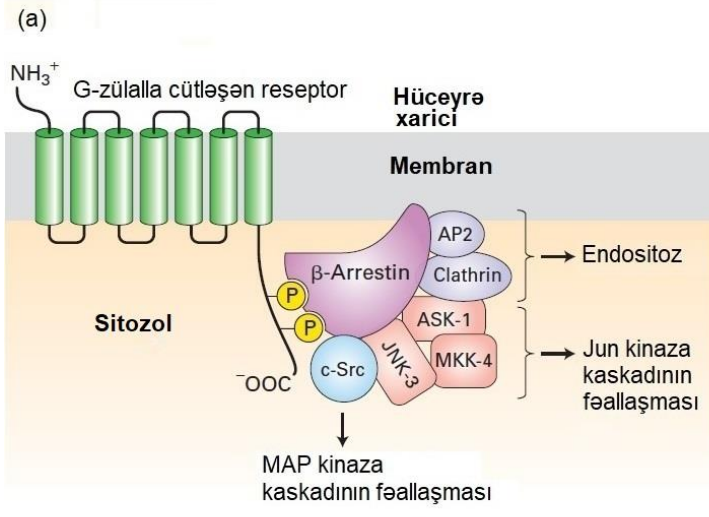
artıq yüksəlməsinə səbəb olur. Nəticədə cAMP-nin PKA-nın tənzimləyici (R) subvahidinə birləşməsi fəal katalitik subvahidləri (C) sitozola buraxır. Bəzi C subvahidlər nüvəyə daxil olur, burada onlar müəyyən transkripsiya faktorlarını fosforlaşdıraraq fəallaşdırırlar (bax Şəkil 15-30). Digər C subvahidlər PDE-ni fosforlaşdıraraq onun katalitik subvahidini fəallaşdırırlar. Fəal PDE cAMP-ni hidroliz edir, cAMP səviyyəsini geriyə, bazal səviyyəsinə endirir və qeyri fəal PKA-R kompleksinin yenidən yaranmasına səbəb olurlar. Pillə 4: Sonra PDE-nin defosforlaşması kompleksi əvvəlki sakitlik vəziyyətinə qaytarır. Bax K.L. Dodge et al., 2001, EMBO J. 20:1921.

amma G_{as} -i səmərəli şəkildə fəallaşdırma bilmir, beləliklə fosforlaşmış reseptora liqandın birləşməsi adenilil tsiklazanın fosforlaşmamış reseptorla müqayisədə zəif fəallaşmasına səbəb olur. PKA fəallığı G_{as} -i fəallaşdıran istənilən hormonla induksiya olunan cAMP-nin yüksək miqdarı ilə artdığından, belə hormonlardan biri ilə, deyək ki, epinefrinlə uzunmüddətli təsir etmək tək β -adrenerqik reseptorun deyil eyni zamanda başqa liqanda (məsələn, qaraciyərdə qlükaqon reseptoruna) birləşən G_{as} zülalla-cütləşən başqa reseptorun da həssaslığını azaldır. Belə kəşifən tənzimlənməyə *heteroloq desensitizasiya* deyilir.

β -adrenerqik reseptorun sitozol domenindəki, PKA ilə fosforlaşan qalıqlarından fərqli olan bir neçə qalığı *β -adrenerqik reseptorkinaza (BARK)* fermenti ilə fosforlaşır, amma bu yalnız epinefrin və ya aqonist reseptora birləşdikdə və beləliklə, reseptor fəal konformasiyada olduqda baş verir. BARK rodopsinkinaza ilə eyni kinazalar ailəsinin nümayəndəsidir və onun fəaliyyəti fəallaşmış rodopsinin rodopsinkinaza ilə fosforlaşmasına və azalan modulyasiyasına oxşardır (bax Şəkil 15-21). Bu proses *homoloji desensitizasiya* adlanır, çünki yalnız o reseptorlar fəal konformasiyadadırlar və fosforlaşma ilə fəalsızlaşmaya məruz qalırlar.

Biz qeyd etdik ki, arrestinin geniş şəkildə fosforlaşmış opsinə birləşməsi cütləşən G zülalın fəal opsin vasitəsilə fəallaşmasını tamamilə ingibirləşdirir (bax Şəkil 15-21). Faktiki olaraq, *β -arrestin* adlandırılan oxşar zülal, β -adrenerqik reseptor da daxil olmaqla, başqa G zülallarla-cütləşən reseptorların susdurulmasında oxşar rol oynayır (Şəkil 15-32).

Hüceyrə-səth reseptorlarının tənzimlənməsində β -arrestinin əlavə funksiyası ilkin olaraq β -adrenerqik reseptorun liqand birləşməsinə cavab olaraq hüceyrə səthindən yox olmasının BARK və β -arrestinin superekspressiyası ilə stimullaşdığı müşahidələrindən irəliyə gəlmişdir. Sonra aparılan tədqiqatlar aşkar etdi ki, β -arrestin yalnız fosforlaşmış reseptorlarla deyil, eyni zamanda plazma membranından olan endositozda iştirak edən qabıqlı qovucuqların iki əsas komponenti ilə, kltrin və onunla assoasiyada olan AP2 adlanan zülalla birləşir (Şəkil 15-32, həmçinin bax Fəsil 14). Bu qarşılıqlı əlaqələr qabıqlı batıqların əmələ gəlməsini və assoasiyada olan reseptorların endositozunu gücləndirir, bununla da hüceyrə səthində açıq qalmış reseptorların sayını azaldır. Sonda daxilə keçirilmiş reseptorların bəziləri hüceyrə daxilində parçalanır, bəziləri isə endosomlarda defosforlaşır. β -arrestinin dissoasiyasının ardınca, yenidən həssaslaşmış (defosforlaşmış) reseptorlar, LDL reseptorlarda olduğu kimi (bax Fəsil 14) yenidən istifadə üçün hüceyrə səthinə qayıdırlar.



ŞƏKİL 15-32 β-arrestinin fosforlaşmış GPCR-lərə birləşməsi reseptor həssaslığının itirilməsinə və bir sıra müxtəlif siqnal ötürən zülalların fəallaşmasına səbəb olur. (a) β-arrestin G zülallarla-cütləşən reseptorların (GPCR) C-sonluqlu seqmentində fosforlaşmış serin və treonin qalıqlarına birləşir. β-arrestinlə birləşən iki başqa zülal, kltrin və AP2 reseptorun endositozunu gücləndirir (bax Şəkil 14-29). β-arrestin bir sıra sitozol kinazalarına birləşərək və onları fəallaşdıraraq siqnalların fəallaşmış reseptordan ötürülməsində də fəaliyyət göstərir. Src MAP-kinaza yolunu fəallaşdırır və əsas transkripsiya faktorlarının fosforlaşmasına səbəb olur (bax Fəsil 16). β-arrestinin üç başqa zülalla,

o cümlədən JNK-3 (Jun N-sonluq kinazası) ilə qarşılıqlı əlaqəsi başqa transkripsiya faktorunun, Jun-un fosforlaşmasına və fəallaşmasına səbəb olur. Bax W. Miller and R.J. Lefkowitz, 2001, *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:139 və K. Pierce et al., 2002, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **3**:639. (b) Arrestinə birləşmiş rodopsinin üç-ölçülü quruluşu. Arrestin fəallaşmış rodopsinin iki fosforlaşmış qalığının daxil olduğu C-sonluq sitozol alfa spiralının seqmentlərinə və 7-ci transmembran spiralının bir hissəsinə birləşir. [(b) hissəsindəki verilənlər Y. Kang et al., 2015, *Nature* **523**:561-567, PDB ID 4zwj, və xüsusi PDB.]

β-arrestin reseptor fəallığının tənzimləyicisi rolundan başqa, siqnalların G zülallarla-cütləşən reseptorlardan nüvəyə ötürülməsində adaptor zülal kimi də fəaliyyət göstərir (bax Fəsil 16). GPCR-arrestin kompleksi bir sıra sitozol kinazalarının birləşməsində və fəallaşmasında skafold kimi fəaliyyət göstərir, (bax Şəkil 15-32) bunların detalları növbəti fəsillərdə müzakirə olunacaq. Bu kinazalara, MAP-kinaza yolunu və hüceyrənin bölünməsi üçün (bax Fəsil 16 və 19) lazım olan genlərin transkripsiyasına aparan başqa yolları fəallaşdıran sitozol zülal tirozinkinaza Src daxildir. Jun-N-sonluqlu kinaza (JNK-3) da daxil olmaqla arrestin-birləşmiş üç zülalın kompleksi sonda inkişafı-gücləndirən müəyyən fermentlərin və stresə cavab verməkdə hüceyrəyə kömək edən başqa zülalların ekspressiyasını gücləndirən Jun transkripsiya faktorunu fəallaşdıran kinaza kaskadını inisiyasiya edir. Beləliklə, BARK-β-arrestin yolu əvvəlcə belə güman olunurdu ki, GPCR ilə siqnalı supressiya edir, əslində G zülallarla siqnalı dayandıran və başqa siqnal yollarını işəsalan keçirici kimi fəaliyyət göstərir. β-arrestinin çoxsaylı funksiyası adaptor zülallarının həm siqnal yolunun tənzimlənməsində, həm də hüceyrə-səth reseptorlarından siqnalın ötürülməsində əhəmiyyətini göstərir.

15.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Adenilil Tsiklazanı Fəallaşdıran və ya İngibirləşdirən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

- Liqandın $G_{\alpha s}$ -i fəallaşdıran G zülallarla-cütləşən reseptorlara birləşməsi, ATP-ni ikinci mesencərə, tsiklik-AMP-yə çevirən

membrana birləşmiş adenilil tsiklaza fermentinin fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-23). Liqandın $G_{\alpha i-1}$ fəallaşdıran G zülallarla-cütləşən reseptorlara birləşməsi adenilil tsiklazanın ingibirləşməsi və cAMP səviyyəsinin enməsi ilə nəticələnir (bax Şəkil 15-25).

- $G_{\alpha s}$ •GTP və $G_{\alpha i}$ •GTP adenilil tsiklazanı fəallaşdırmaq və ya ingibirləşdirmək üçün onun katalitik domeninə birləşir (bax Şəkil 15-25 və 15-26).
- cAMP korperativ şəkildə proteinkinaza A-nın (PKA) tənzimləyici subvahidinə birləşir, onun fəal katalitik kinaza subvahidini azad edir (bax Şəkil 15-27).
- Qaraciyər və əzələ hüceyrələrində PKA-nın epinefrin və başqa hormonlarla induksiya olunaraq fəallaşması ikili təsir göstərir, kinaza kaskadı vasitəsi ilə qlikogen sintezini ingibirləşdirir və qlikogen parçalanmasını sürətləndirir (bax Şəkil 15-28), ATP sintezi üçün qlükozanın səviyyəsinin artmasına səbəb olur.
- PKA əksər hüceyrələrdə cAMP-nin müxtəlif təsirlərini yerinə yetirir (bax Cədvəl 15-3). PKA-nın substratları və beləliklə PKA-nın hormonla-induksiya olunan fəallaşmasına hüceyrə cavabı hüceyrə tipləri arasında fərqlənir.
- GPCR/adenilil tsiklaza/cAMP/PKA siqnal yolunu fəallaşdıran siqnal ikinci mesencərə və kinaza kaskadları vasitəsi ilə çox güclü şəkildə amplifikasiya olunur (bax Şəkil 15-7 və 15-29).
- PKA-nın fəallaşması çox hallarda nüvə CREB zülallarının fosforlaşmasına səbəb olur, o isə CBP/300 ko-aktivatorla birlikdə genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır, beləliklə hüceyrənin zülal tərkibində uzunmüddətli dəyişikliyi inisiyasiya edir (bax Şəkil 15-30).

- PKA-nın lövbər edən zülallar vasitəsi ilə hüceyrənin spesifik rayonlarında lokalizasiyası cAMP-nin təsirini xüsusi subhüceyrə hissəsində məhdudlaşdırır (bax Şəkil 15-31).
- G_s -cütləşən reseptorlardan siqnalın verilməsi çoxsaylı mexanizmlərlə azalan şəkildə tənzimlənir: birinci, $G_{\alpha s}$ adenili tsiklaza ilə birləşdikdə $G_{\alpha s}$ -in ona birləşmiş GTP-ni GDP-yə çevirən daxili GTP-aza fəallığı güclənir (bu çox $G_{\alpha} \cdot GTP$ komplekslərin öz müvafiq effektor zülalları ilə birləşməsi zamanı baş verir); ikinci, cAMP fosfodiesteraza cAMP-ni 5'-AMP-yə hidroliz etməklə fəaliyyət göstərir və hüceyrə cavabını dayandırır.
- GPCR-lərin əksəriyyəti *aks-alaqə repressiyası* ilə də azalan-tənzimlənir, bu zaman siqnal yolunun son məhsulu (məsələn PKA) yolun öncəki mərhələsini blok edir. Rodopsində olduğu kimi, β -arrestinin fosforlaşmış β -adrenergik reseptorlara birləşməsi cütləşmiş G zülalları tamamilə ingibirləşdirir (bax Şəkil 15-32).
- β -adrenergik reseptorların fəallığı, reseptorun sitozol qalıqlarını onun fəal konformasiyasında fosforlaşdıran β -adrenergik kinazalarla (BARK) dayandırılır. Liqandla birləşmiş β -adrenergik reseptorların BARK-la fosforlaşması həmçinin β -arrestinin birləşməsinə və reseptorun endositozuna səbəb olur. Ardınca hüceyrə-səth reseptorlarının sayındakı azalma hüceyrəni əlavə hormona qarşı daha az həssas edir.
- GPCR-arrsetin kompleksi, bir sıra sitozol kinazalarını fəallaşdıran skafolt kimi fəaliyyət göstərir, hüceyrənin inkişafına nəzarət edən çox genlərin transkripsiyasını fəallaşdıran kaskadları inisiyasiya edir (bax Şəkil 15-32).

15.6 Sitozolda və Mitoxondridə Ca^{2+} Səviyyəsini Qaldıran G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

Kalsium ionlarının çox siqnalı hüceyrə cavabının tənzimlənməsində vacib rol oynayır, və çox GPCR-lər və başqa tip reseptorlar sitozolda Ca^{2+} ionlarının qatılığına təsir etməklə hüceyrəyə öz təsirini göstərir. Bizim Fəsil 11-də gördüyümüz kimi, sitozolda Ca^{2+} səviyyəsi, daimi Ca^{2+} ionlarını plazma membranından keçərək hüceyrə xaricinə və ya endoplazmatik şəbəkə lümeni daxilinə və başqa qovucuqlara daşıyan ATP ilə işləyən Ca^{2+} nasosunun və Ca^{2+} qatılıq qradientinin əksinə daşıyan Na^+/Ca^{2+} antiporterlərinin fasiləsiz fəaliyyəti ilə submikromolyar ($\sim 0.1 \mu M = 100 nM$) səviyyədə saxlanılır.

Sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin çox az artması müxtəlif hüceyrə cavablarını, o cümlədən endokrin hüceyrələr tərəfindən hormon ifrazını, mədəaltı ekzokrin hüceyrələr tərəfindən həzm fermentlərinin ifraz olunmasını və əzələ yığılmasını induksiya edir (Cədvəl 15-4). Məsələn, mədəaltı vəzin ifrazat hüceyrələrində və qulaq ardı tüpürcək vəzlərin hüceyrələrində GPCR-lərin asetilxolinlə stimullaşması, ifrazat qovucuqlarının plazma membranı ilə qovuşmasına və onların zülal tərkibinin hüceyrəxarici mühitə buraxılmasına səbəb olan sitozol Ca^{2+} miqdarının artmasını induksiya edir. Qan laxtalanması kaskadında olan ferment trombin trombositlərdə olan GPCR-ə birləşir. Bu birləşmə, reseptorları fəallaşdırır və sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin artmasına səbəb olur, o isə öz növbəsində trombositlərdə konformasiya dəyişiklərini əmələ gətirir və

yaralanmış qan damarlarında qanaxmanın qarşısını alan qan laxtalanmasının mühüm mərhələsi olan trombositlərin aqreqasiya olunmasına səbəb olur.

CƏDVƏL 15-4 Müxtəlif Toxumalarda* Sitozol Ca^{2+} Ionlarının Hormonla-Induksiya Olunan Artmasına Hüceyrənin Cavabı

Toxuma	Ca^{2+} hormonla induksiya olunan artması	Hüceyrə cavabı
Mədəaltı (asiner hüceyrələr)	Asetilxolin	Amilaza və tripsinogen kimi həzm fermentlərinin ifraz olunması
Parotid (tupurçək) vəzi	Asetilxolin	Amilazanın ifraz olunması
Damarlı və ya mədə saya əzələləri	Asetilxolin	Əzələ dartılması
Qaraciyər	Vazopresin	Qlikogenin qlükozaya çevrilməsi
Qan trombositləri	Trombin	Aqreqasiya, forma dəyişikliyi, hormonların ifraz olunması
Mast hüceyrələri	Antigen	Histamin ifraz olunması
Fibroblastlar	Peptid boy faktoru	DNT sintezi, hüceyrə bölünməsi (məsələn, bombesin və PDGF)

* Hormonun stimullaşması, endoplazmatik şəbəkədə ehtiyat saxlanılan Ca^{2+} buraxılmasını induksiya edən ikinci mesencer inozitol 1,4,5-trifosfatın (IP_3) istehsalına səbəb olur.

Mənbə: M.J. Berridge, 1987, *Ann. Rev. Biochem.* **56**:159 və M.J. Berridge and R.F. Irvine, 1984, *Nature* **312**:315

Biz 12-ci fəsilə öyrəndik ki, mitoxondri matrisində sərbəst Ca^{2+} artması piruvatın oksidləşməsinə və ATP istehsalını sürətləndirir. Beləliklə, əzələdə Ca^{2+} qatılığının artması həm əzələ dartılmasının induksiya olunmasında həm də, bu dartılmanı enerji ilə təmin etmək üçün mitoxondridə APT sintezinin koordinasiya olunan şəkildə artırılmasında istifadə olunur.

Bu bölmədə, biz əvvəlcə alimlərin zülallara sıx şəkildə bağlanmayan Ca^{2+} ionlarının, endoplazmatik şəbəkə və mitoxondri kimi orqanoidlərdə olan sərbəst Ca^{2+} ionlarının qatılığını ölçmək üçün istifadə etdikləri eksperimental vasitələri müzakirə edirik. Bizim əsas diqqətimiz sitozolda Ca^{2+} ionlarının artmasına səbəb olan əhəmiyyətli siqnal ötürən mexanizm — GPCR-ın stimullaşması ilə fəallaşan fosfolipaza C (PLC) üzərində olacaq. PLC-lər müəyyən fosfolipidlərdə fosfoefir əlaqələrini hidroliz edən iki ikinci mesenceri əmələ gətirən fermentlər ailəsidir və yaranan bu ikinci mesencərlər sitozol Ca^{2+} səviyyəsinin artmasında və proteinkinazalar C (PKC-lər) kimi məlum olan kinazalar ailəsinin fəallaşmasında iştirak edirlər, PKC-lər isə öz növbəsində, inkişaf və differensiasiya kimi çoxsaylı hüceyrə proseslərinə təsir edirlər və eləcə də çox zülalların fəallıqlarını dəyişirlər.

Bəzi PLC-lər, burada bizim təsvir etdiyimiz kimi, GPCR-lərlə fəallaşır, növbəti fəsilə təsvir olunan başqaları isə başqa tip reseptorlarla fəallaşır. Fosfolipaza C-lər həmçinin aktin sitoskeletonin remodelinqi üçün əhəmiyyətli olan (bax Fəsil 17) və qovucuqların qovuşması və endositozu üçün əhəmiyyətli olan

zülalların birləşməsi üçün (bax Fəsil 14) vacib olan ikinci mesencerləri əmələ gətirirlər. Daha sonra biz bu bölmədə, Ca^{2+} kimi ikinci mesencerlərin hüceyrələrin öz cavablarını birdən daha artıq hüceyrəxarici siqnallara inteqrasiya etməsi üçün necə istifadə olunduğunu görəcəyik. Bölmənin son hissəsində biz, bir PLC yolunun azot oksidi qazının (NO) sintezinə səbəb olduğunu və bu azot qazının diffuziya edərək hüceyrədən kənara, qonşu hüceyrəyə necə keçməsinə və burada bir sıra hüceyrə fəaliyyətlərini dəyişən kinazanın fəallığını induksiya etməsinə görəcəyik.

Mitoxondri Matrisasında, ER-də, və Sitozolda Kalsiumun Qatılığı Hədəf Olunan Fluorescent Zülalla Ölçülə Bilər

Biz 4-cü fəsildə, *fura-2* fluorescent kiçik molekullu boyanın spontan şəkildə hüceyrəxarici mayedən sitozola necə diffuziya edə bildiyini, Ca^{2+} birləşərək *fura-2* fluoressensiyasının müəyyən dalğa uzunluğunda necə artdığını və canlı hüceyrələrin sitozolunda bu boyanın sərbəst Ca^{2+} -un qatılığının ölçülməsində (bax Şəkil 4-12) necə istifadə oluna biləcəyini öyrəndik. Bir sıra zülallar da Ca^{2+} ilə birləşəndə işıq emissiya edirlər (buraxırlar) və onlar başqa subhüceyrə kompartimentlərində sərbəst Ca^{2+} qatılığının ölçülməsində eksperimental istifadə oluna bilirlər.

Belə zülallardan biri, *Aequoria victoria* hidrozoandan ayrılmış, kalsiumla fəallaşan bioluminescent zülal **aequorin**dir. Aequorin zülal subvahidlərdən təşkil olunmuşdur və hüceyrələrdə rekombinant DNT texnologiyası yolu ilə qovşaq (fusion) zülal kimi onu ER lümeni (bax Şəkil 13-6) və ya mitoxondrinin mebranlararası boşluğu və ya matrisası (bax Şəkil 13-26) kimi spesifik orqanoidə hədəf edən siqnal ardıcılığı ilə ekspressiya oluna bilirlər. Aequorinin Ca^{2+} üçün birləşmə mərkəzi kimi fəaliyyət göstərən üç **EF hand-i** (bax Fəsil 3) vardır. Kiçik molekullu prostetik qrup **koelenterazin** kultura mühütünə əlavə edildikdə o hüceyrə daxilinə diffuziya edir və aequorinlə birləşir, sonra da hüceyrə spesifik dalğa uzunluqlarında subhüceyrə hissəsindəki sərbəst Ca^{2+} qatılığına mütənəsb olaraq işıq şüalandırır (emissiya edir).

Subhüceyrə kompartimentində mövcud olan ümumi (total) kalsium sərbəst Ca^{2+} -un summa qiymətidir və aequorinlə və fluoressensiyası sərbəst kalsium qatılığına mütənəsb olan başqa kalsium sensorları ilə ölçülə bilər, ER və mitoxondridə olan birləşmiş Ca^{2+} miqdarı isə guman olunur ki, sərbəst Ca^{2+} -un miqdarından çox yüksəkdir. Sərbəst Ca^{2+} -un ölçülməsi göstərdi ki, sakitlikdə olan müxtəlif tip hüceyrələr arasında onun qatılıqları tipik olaraq $Ca^{2+}_{\text{sitozol}} = \sim 100 \text{ nM}$, $Ca^{2+}_{\text{ER}} = \sim 400 \mu\text{M}$ və $Ca^{2+}_{\text{mitoxondri}} = \sim 100 \text{ nM}$ qədər dəyişə bilər. ER lümeni bir neçə Ca^{2+} birləşdirən zülallara, o cümlədən kalretikulün və kalneksin şaperonlarına (səhifə 605) malikdir, bunlar da aşağı affinlikli və böyük miqdarda Ca^{2+} birləşdirmək qabiliyyətinə malikdirlər, bu da onları Ca^{2+}_{ER} buferi edir.

Müxtəlif tipli hüceyrələrin hormonlarla və ya neyronal siqnallarla stimullaşması sərbəst Ca^{2+} qatılığının orqanoidlərdə əhəmiyyətli dərəcədə variyasiyasına səbəb olur, amma o dəyişilməz şəkildə Ca^{2+}_{sitozol} -un $1 \mu\text{M}$ qədər, $Ca^{2+}_{\text{mitoxondri}}$ -nin $1-10 \mu\text{M}$ qədər artması və eləcə də Ca^{2+}_{ER} -in $100 \mu\text{M}$ qədər azalması ilə nəticələnir. Ca^{2+} -un ER lümeni və mitoxondri

matrisası daxilinə və xaricinə daşınması bu dəyişmələrin təbiətinin nəzarət olunmasında və beləliklə hüceyrədə kalsium siqnalının ötürülməsində əhəmiyyətli rol oynayır.

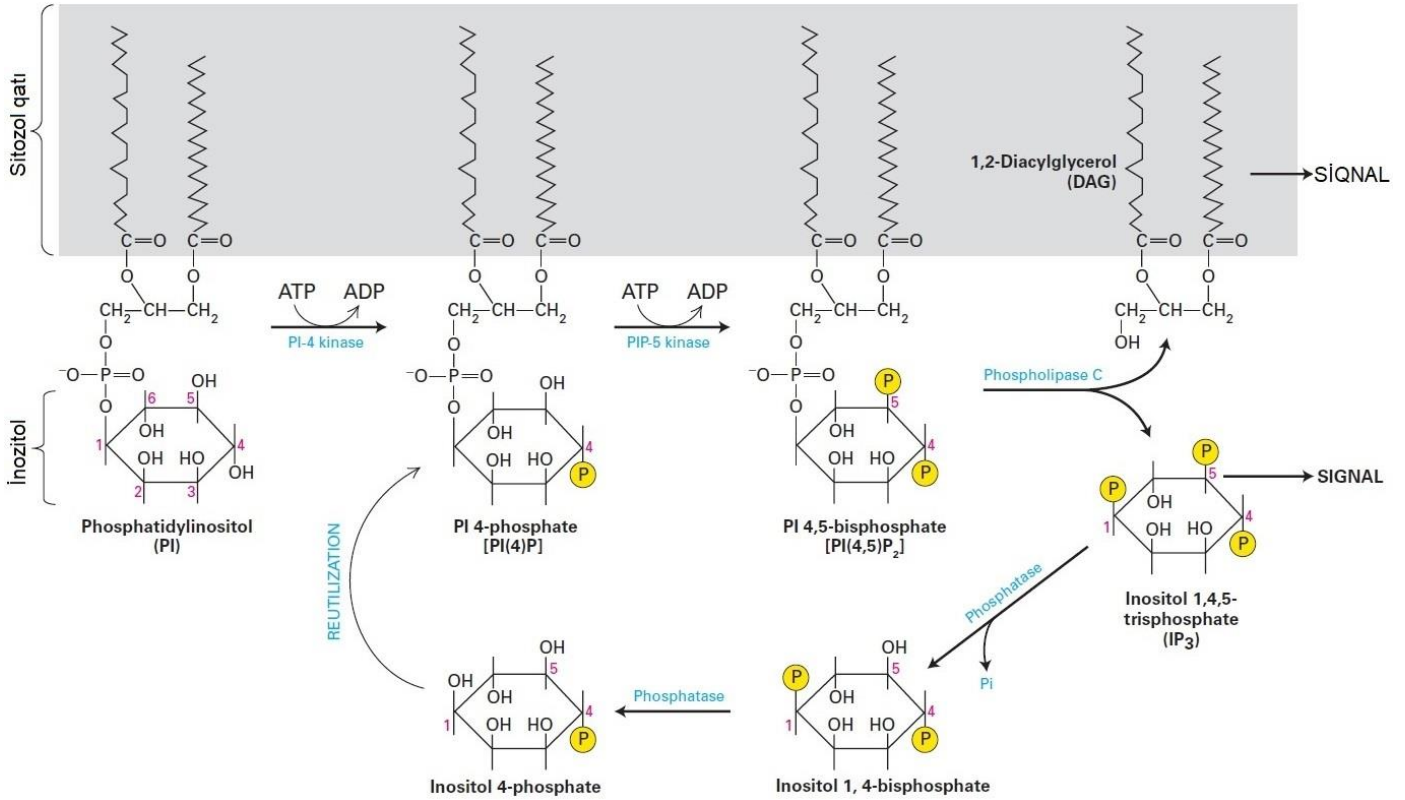
Fəallaşmış Fosfolipaza C Membran Lipidi Fosfatidilinozitol 4,5-Difosfatdan Törənən İki İkinci Mesenceri Yaradır

Bir neçə siqnal yolunda sitifadə olunan bir sıra əhəmiyyətli ikinci mesencerlər membran lipidi *fosfatidilinozitol*dan (*IP*; Şəkil 15-33) törəyir. Bu fosfolipidlərdə həmişə sitozola baxan inozitol qrupu, Fəsil 16-da müzakirə olunan müxtəlif kinazaların və fosfatazaların birgə fəaliyyəti nəticəsində bir və ya daha artıq mövqedə geriyə dönə bilən şəkildə fosforlaşır. PI-ın bir törəməsi, lipid fosfatidil inozitol 4,5-disfosfat [$PI(4,5)P_2$] fəallaşmış iki fosfatın mərhələlərlə PI-ə əlavə olunması ilə alınır. $PI(4,5)P_2$ sonra fəallaşmış fosfolipaza C tərəfindən kəsilərək iki əhəmiyyətli ikinci mesencerə ayrılır: membranla assosiasiyada qalan lipofil molekül 1,2-diasilqliserol (DAG) və asanlıqla sitozola diffuziya edə bilən inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3 ; Şəkil 15-35). Burada biz bu iki ikinci mesencerin birlikdə *IP₃/DAG yolu* kimi daxil olduqları aşağıya istiqamətdə hadisələrə baxırıq.

Fosfolipaza C $G_{\alpha o}$ və ya $G_{\alpha q}$ subvahidlərinə malik olan G zülalla fəallaşır. Assosiasiya etdikləri GPCR-in hormonla fəallaşmasına cavab olaraq GTP ilə birləşmiş $G_{\alpha o}$ və $G_{\alpha q}$ subvahidləri $G_{\beta\gamma}$ subvahidlərindən ayrılır və membranda fosfolipaza C-yə birləşərək onu fəallaşdırır (Şəkil 15-34a, pillə 1). Fəallaşmış fosfolipaza C öz növbəsində $PI(4,5)P_2$ -ni kəsib DAG və IP_3 əmələ gətirir (Şəkil 15-3a, pillə 2). Bu iki ikinci mesencer iki fərqli, amma qarşılıqlı əlaqədə olan aşağıya istiqamətdəki effektoru induksiya edir.

Ca^{2+} -un IP_3 ilə İnduksiya Olunaraq ER-dən Buraxılması

Fosfolipaza C-ni fəallaşdıran G zülalla-cütləşən reseptorlara liqandın birləşməsi, hətta hüceyrəni əhatə edən xarici mayədə Ca^{2+} ionları olmadıqda belə sitozolda Ca^{2+} yüksəlməsini induksiya edir. Belə olan halda, Ca^{2+} sitozola ER lümenindən (yuxarıda qeyd olunduğu kimi Ca^{2+} burada hətta millimolyar qatılığa qədər toplanır) ER membranındakı *IP₃-lə-nizamlanan Ca^{2+} kanalının* fəaliyyəti ilə Şəkil 15-34a-da göstəriləndiyi kimi buraxılır (pillə 3 və 4). (Kanal zülallarının bu ailəsi quruluşuna görə əzələ hüceyrələrinin sarkoplazmatik şəbəkə (retikulum) membranlarındakı ryanodin reseptorlar adlanan gərginliyə-həssas Ca^{2+} kanallarına oxşadırlar; bax səhifə 105.) Bu böyük, IP_3 -lə nizamlanan kanal zülallarının hər biri dörd eyni subvahiddən təşkil olunmuşdur və bunların hər biri N-sonluqlu sitozol domenində IP_3 birləşmə mərkəzinə malikdir. IP_3 -ün birləşməsi kanalın açılmasını induksiya edir, Ca^{2+} -un qatılıq qradientinin azalan istiqamətində ER-dən sitozola axmasına imkan verir. Normal halda hüceyrədə tapılan fosforlaşmış müxtəlif inozitol ER qovucuqlarının preparatına əlavə edildikdə yalnız IP_3 Ca^{2+} ionlarının qovucuqlardan buraxılmasına səbəb olur. Bu sadə eksperiment IP_3 -ün təsirinə spesifikliyini nümayiş etdirir.



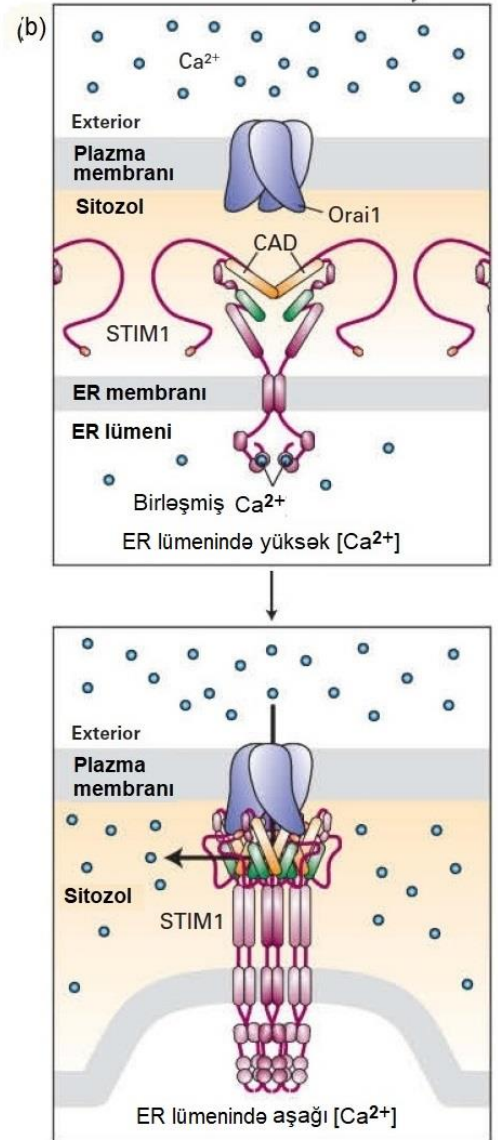
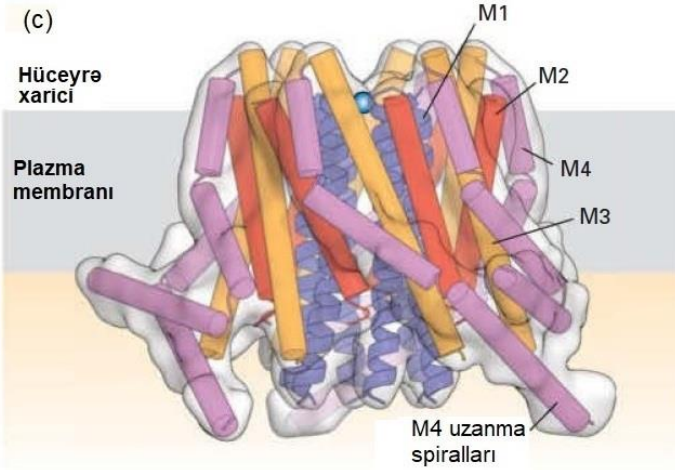
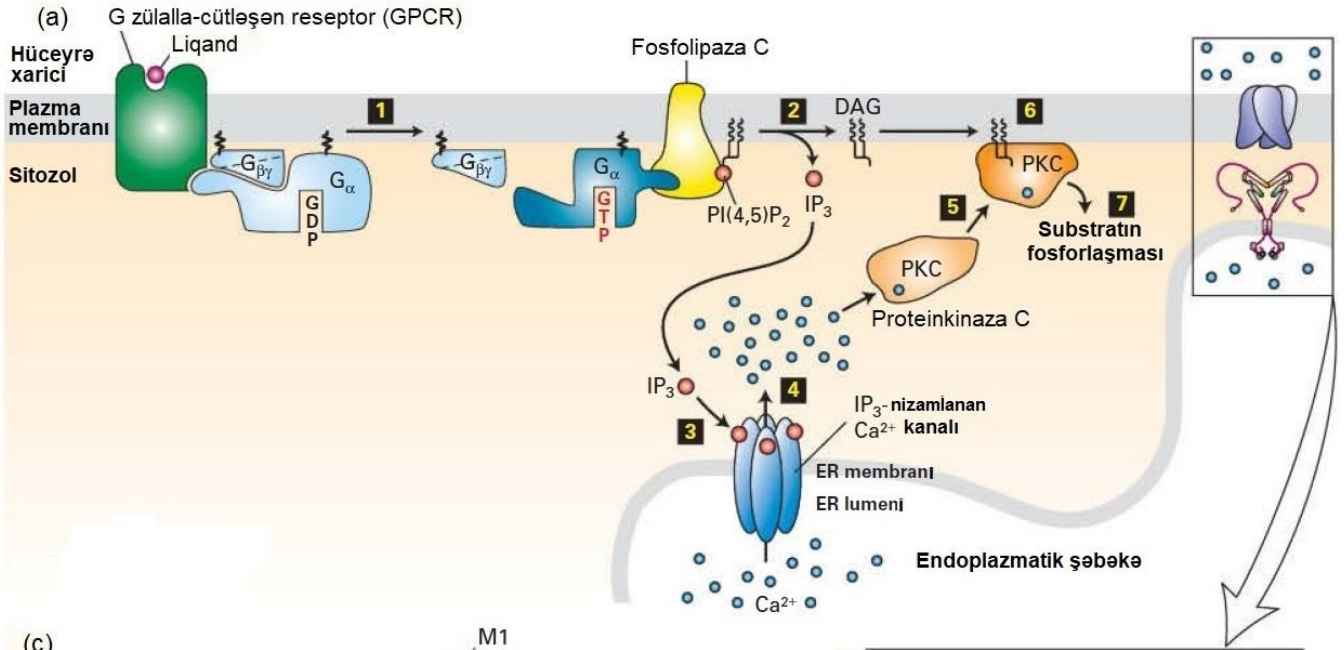
ŞƏKİL 15-33 Fosfatidilinozitol (PI) DAG və IP₃ ikinci mesencerlərin sintezi. Hər bir membrana-birləşmiş IP kinaza fosfatı (sarı dairelər) inozitol həlqəsindəki spesifik hidroksil qrupuna yerləşdirərək fosforlaşmış törəmələri – PI(4)P və PI(4,5)P₂-ni əmələ gətirir. PI(4,5)P₂-nin fosfolipaza C ilə kəsilməsi iki çox əhəmiyyətli ikinci mesenceri – DAG və IP₃ əmələ gətirir. Fosfataza 5-fosfatı IP₃-

dən çıxardıqda siqnal ötürülməsi dayandırılır, ikinci fosfatıza isə 1-fosfatı çıxarır və inozitol 4-fosfat PI 4-fosfatın sintezində təkrar istifadə edilir. [Bax A. Tokar and L.C. Cantley, 1997, *Nature* **387**:673 və C.L. Carpenter and L.C. Cantley, 1996, *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**:153.

Sitozol Ca²⁺ səviyyəsinin IP₃-vasitəsilə həyata keçən yüksəlməsi keçicidir, çünki plazma membranında və ER membranında olan Ca²⁺ nasosları Ca²⁺ ionlarını sitozoldan fəal şəkildə uyğun olaraq hüceyrəxarici mühitə və ER lümeninə daşıyır. Bundan başqa, onun yarandığı saniyə ərzində IP₃-ün 5-karbonuna birləşmiş fosfat qrupu (bax Şəkil 15-33) hidroliz olunaraq inozitol 1,4-difosfatı əmələ gətirir. Bu birləşmə IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanalı zülalına birləşə bilmir, ona görə də ER-dən Ca²⁺ ionlarının buraxılmasını stimullaşdırır.

Ca²⁺-un ER-dən Mitoxondri Matrisasına Daşınması IP₃-lə İşə salınır Biz 12-ci fəsilə də öyrəndik ki, ER membranının mitoxondri-assosiasiyalı membranlar (MAM) adlanan xüsüsülənmiş rayonları arasındakı birbaşa əlaqələr və xarici

mitoxondri membranı mitoxondrinin quruluşuna, dinamikasına və funksiyasına təsir edir. Ca²⁺-un MAM-lardan keçərək ER lümenindən mitoxondri matrisası daxilinə tənzimlənən şəkildə hərəkəti bu tənzimlənmənin əsas hissəsidir (Şəkil 15-35a). Sitozolda IP₃-ün qalxmasına cavab olaraq MAM-larda IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanalları açılır (pillə 1a, Şəkil 15-35a). Xarici mitoxondri membranındakı MAM-lara yaxın yerləşən, GRP75 zülalı ilə fiziki olaraq IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanalları ilə əlaqəli olan gərginlikdən-asılı olan anion kanalları (VDAC) ER lümenindən azad olan Ca²⁺-u membranlararası boşluğa keçirir (pillə 2). Daxili mitoxondri membranındakı mitoxondri kalsium uniporteri (MCU) sonra Ca²⁺-u mitoxondri matrisasına daşıyır, burada o ATP sintezini artırır və başqa yollarda mitoxondri fəallığını gücləndirir.



ŞƏKİL 15-34 IP₃/DAG yolu və sitozol Ca²⁺-un artması. (a)

Endoplazmatik şəbəkənin Ca²⁺ kanalının açılması. Bu yol liqandın, fosfolipaza C-nin fəallaşmasına səbəb olan istər G_{αo} və istərsə G_{αq} alfa subvahidini fəallaşdıran GPCR-ə birləşməsi ilə başlanıla bilər (pillə 1). PIP₂-nin fosfolipaza C ilə kəsilməsi ilə IP₃ və DAG əmələ gəlir (pillə 2). IP₃ sitozolla diffuziya etdikdən sonra endoplazmatik şəbəkənin membranında Ca²⁺ kanalı ilə qarşılıqlı əlaqəyə girərək onu açır, pillə 3) və ehtiyat Ca²⁺-un sitozola buraxılmasına səbəb olur (pillə 4). Sitozolda Ca²⁺ səviyyəsinin qalxması ilə induksiya olunan bir sıra hüceyrə cavablarından biri proteinkinaza C-nin (PKC) plazma membranına cəlb olunmasıdır (pillə 5), o burada DAG-la fəallaşır (pillə 6). Fəallaşmış membranla assosiasiyada olan kinaza müxtəlif hüceyrə fermentlərini və reseptorları fosforlaşdıraraq onların fəallıqlarını dəyişir (pillə 7). (b) Plazma membranında Ca²⁺ kanallarının açılması. *Yuxarıda:* Sakitlikdə olan hüceyrələrdə, endoplazmatik şəbəkə lümenində Ca²⁺ səviyyəsi yüksək olur və Ca²⁺ ionları (mavi dairelər) transmembran STIM zülallarının EF əl domenlərinə birləşir. *Aşağıda:* Endoplazmatik şəbəkənin Ca²⁺ ehtiyatı tükəndikdə və Ca²⁺ ionları EF əllərdən dissosiasiya edəndə, STIM-lər oliqomerləşir və ER membranını plazma membranına yaxın olan sahələrinə yerləşirlər. Burada STIM CAD domenlər (narıncı) plazma membranındakı ehtiyat-idarə olunan

MCU-lar yalnız membranlararası boşluqda Ca²⁺-un yüksək qatılığında açıq olur. MCU-nun membrandaxili boşluğa baxan tənzimləyici subvahidləri (Şəkil 15-35b) nisbətən aşağı affinliklə Ca²⁺-a birləşən Ca²⁺-birləşdirən EF əllərə malikdir (bax Fəsil 3), MCU-nu açmaq üçün bu subvahidlər Ca²⁺ ilə birləşməlidir. Bu subvahidlərdən birini kodlaşdıran gendə mutasiyası olan fərdin skelet əzələlərində qüsurlar olur və öyrənmə qabiliyyəti olmur, başqa mitoxondrial çatışmazlıqları da müşahidə edilən bu simptomlar mitoxondrial metabolizmdə bu uniporterlərin əhəmiyyətini təsdiq edir.

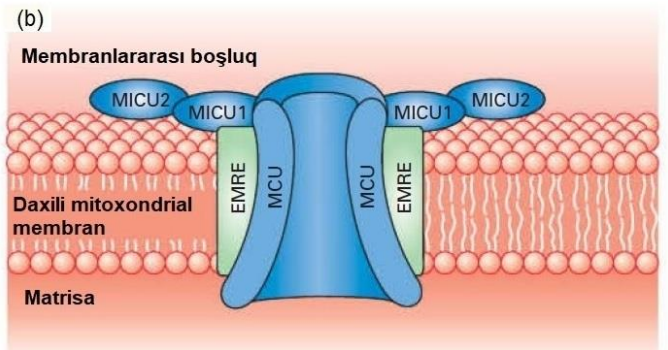
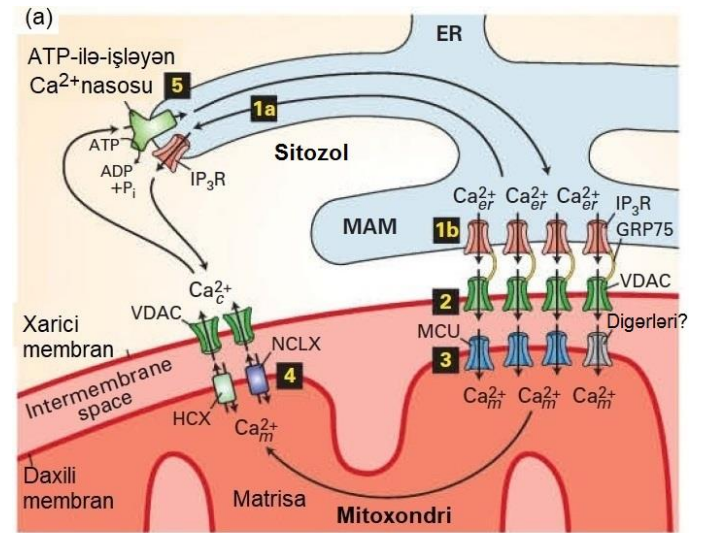
Potensial toksik olan mitoxondriaxili kalsiumun toplanmasına mane olmaq üçün mitoxondri matrisası Ca²⁺-u tədricən sitozola buraxır. Kalsium əvvəlcə Na⁺/Ca²⁺ və H⁺/Ca²⁺ antiporterlər vasitəsi ilə daxili mitoxondrial membrandan membranlararası boşluğa keçir, sonra isə, çox ehtimal ki, VDAC-lar vasitəsi ilə xarici mitoxondrial membranı keçir (pillə 4). Kalsiumun daşınması dövrəsi sitozol kalsiumun ATP- ilə işləyən Ca²⁺-nasosu vasitəsilə ER-ə daxil olduqdan sonra (pillə 5; bax Şəkil 11-10) və ya plazma-membranında ATP- ilə işləyən Ca²⁺-nasosu vasitəsilə hüceyrədən xaricə vurulduqdan sonra tamamlanır.

Ehtiyat-Saxlama-Əməliyyatlı Plazma-Membranı Ca²⁺ Kanalı

ER membranında IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanalının fasiləsiz davam edən şəkildə açılması, plazma-membranı Ca²⁺ nasosunun fasiləsiz işləməsi sonda hüceyrədaxili ehtiyat Ca²⁺-un tükənməsinə səbəb olacaq və hüceyrənin hormonla-induksiya olunan IP₃-ə cavab verməsi üçün Ca²⁺ səviyyəsini tezliklə qaldırmağa imkanı olmayacaqdır. Yamaq-sıxac tədqiqatları (bax Şəkil 11-22) aşkar etdi ki, plazma membranının ehtiyat-saxlama-əməliyyatlı kanalı adlanan Ca²⁺ kanalı ER-də Ca²⁺ ehtiyatlarının tükənməsinə cavab olaraq açılır və hüceyrəxarici Ca²⁺-u hüceyrə daxilində qəbul edir. Hər bir potensial Ca²⁺ kanalı zülalının hər dəfəyə biri olmaqla shRNT ilə nok-daun olduğu tədqiqatlar (bax Şəkil 6-42) bu kanal zülalını *Orai1* kimi təyin etdi; *Orai1*-in aminturşu ardıcılığı və üç-ölçülü quruluşu məlum olan bütün başqa ion-kanalı zülallarından fərqlənir (bax Şəkil 15-34c), bu da onun ehtiyat-saxlanma-fəaliyyətli kanal kimi

Ca²⁺ kanalına (*Orai1*) birləşərək onun açılmasına səbəb olur, hüceyrəxarici Ca²⁺ daxilə axmasına imkan yaradır. (c) *Orai1*-in qapanmış vəziyyətdə üç-ölçülü quruluşunun cizgisi. *Orai1* Ca²⁺ kanalı altı eyni subvahiddən təşkil olunub mərkəzi Ca²⁺ məsaməsi ətrafında düzlənmişdir. Hər bir subvahid dörd transmembran α spirala – M1 (mavi), M2 (qırmızı), M3 (narıncı) və M4 (bənövşəyi) – və M4-ün ardınca gələn və sitozola tərəf uzanan (bənövşəyi, M4 genişlənmə spirali adlanır) spirala malikdir. M1 spiralların cizgisi lent şəkildə göstərilir, M2-M4 spirallar silindr şəkildə verilir. Məsamələr altı M1 spirallarla cərgələnir; qapalı vəziyyətdə Ca²⁺ ionları hüceyrəxarici girişdə məsamələrə birləşmişlər, amma ona daxil ola bilmirlər. CAD-ların birləşməsi kanalın açılmasına səbəb olur, böyük ehtimalla, bu M1 spiralların xaricə doğru hərəkət etməsi ilə məsamələrin genişlənməsi nəticəsində baş verir. M1 spiralin hüceyrədaxili ucu güman olunur ki, M4 genişlənmə kimi, STM CAD-ın hissəsi ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir və belə fərz edilir ki, CAD-lar M1 spiralların sitozol hissəsi ilə M4/M4 genişlənmə spirallarını körpü edir. Bax J. W. Putney, 1999, *P. Natl. Acad. Sci. USA* 96:14669; Y. Zhou, 2010, *P. Natl. Acad. Sci. USA* 107:4896; və M. Cahalan, 2010, *Science* 330:43. [(c) hissəsinin verilənləri X. Hou et al. 2012, *Science* 338:1308, PDB ID 4hks-dən.]

identifikasiya olunmasının nəyə görə belə uzun zaman müddətinə olduğunu qismən izah edir.



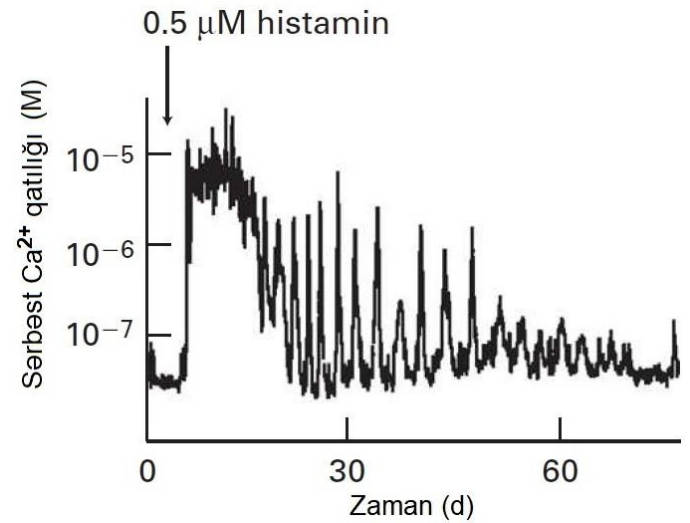
ŞƏKİL 15-35 Ca²⁺-un sitozol, mitoxondri və endoplazmatik şəbəkə arasında hərəkəti. (a) ER Ca²⁺-un əsas hüceyrədaxili saxlama deposudur. IP₃-ün endoplazmatik şəbəkənin membranlarında IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanalları (IP₃R) ilə birləşməsi Ca²⁺-u sitozol daxilində buraxır (pillə 1a); bu birləşmə həmçinin mitoxondri ilə

assosiasiyada olan membranda (MAM) IP₃-lə nizamlanan Ca²⁺ kanallarını da açıq (pillə 1b). Pillə 2: MAM-lara yaxın olan xarici mitoxondri membranında VDAC kanalları GRP75 zülalları vasitəsi ilə fiziki olaraq IP₃R ilə əlaqəli olur, onlar MAM-lardan azad olmuş Ca²⁺-u effektiv şəkildə membranlararası boşluğa keçirir. Pillə 3: Membranlararası boşluqda Ca²⁺-un yüksək qatılığı MCU-ların və ya daxili membrandakı başqa Ca²⁺-kanallarının açılmasını induksiya edir, mitoxondrial matrisada Ca²⁺-un səviyyəsinin aşağı düşməsinə səbəb olur. Pillə 4: Müəyyən vaxtdan sonra, Ca²⁺ mitoxondridən daxili membrandakı Na⁺/Ca²⁺ (MCLX) və H⁺/Ca²⁺ (HCX) antiporterlər vasitəsi ilə azad olur, sonra VDAC vasitəsi ilə və ya xarici membrandakı digər Ca²⁺ kanalları vasitəsi ilə sitozola daşınır. Nəhayət sonda, Ca²⁺-un ER membranındakı (pillə 5) və ya plazma membranında ATP-ilə işləyən Ca²⁺-nasosu vasitəsi ilə sitozoldan vurulması Ca²⁺-un ER-də yüksək səviyyəsini və sitozolda aşağı səviyyəsini bərpa edir. (b) Mitoxondrial kalsium uniporter kompleksin modeli. Multimer MCU subvahidləri tənzimlənən Ca²⁺ məsələlərini əmələ gətirirlər. Əlavə subvahidlərə inteqral membran zülalı EMRE və tənzimləyici subvahidlər MICU1 və MICU2 daxildirlər. MICU subvahidlərə Ca²⁺ birləşməsi MICU məsələləri açır, Ca²⁺-un membranlararası boşluqdan matrisaya axmasına səbəb olur. Bax M. Schäfer et al., 2014, *Cell Tissue Res.* 357:395 və K. Kamer and V. Mootha, 2015, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 16:545.

Endoplazmatik şəbəkənin Ca²⁺-a həssas zülalı ER membranında olan transmembran STIM zülalıdır (bax Şəkil 15-34b). Kalmodulinə oxşar olan EF-əl zülalı (bax Şəkil 3-33) ER membranının lüminal tərəfində, Ca²⁺ səviyyəsi lümenə yüksək olduqda ona birləşir. ER-də ehtiyat Ca²⁺ tükəndikdə, STIM zülalları onlara birləşmiş Ca²⁺ itirirlər, oliqomerləşirlər, məlum olmayan yolla ER membranının plazma membranına yaxın olan sahəsində yerləşirlər (Şəkil 15-34b). Burada STIM zülallarının CAD domenləri Ori1-ə birləşərək onun açılmasına səbəb olurlar və hüceyrəxarici Ca²⁺-un hüceyrə daxilinə keçməsinə imkan verirlər (bax Şəkil 15-34c). Kultura olunan hüceyrələrdə Ori1 və STIM zülallarının birlikdə superekspressiyası bu hüceyrələrdə Ca²⁺ udulmasının nəzərə çarpacaq dərəcədə yüksəlməsinə səbəb olur, bu göstərir ki, bu iki zülal ehtiyat-saxlama-əməliyyatlı Ca²⁺ yolunun əsas komponentləridir.

Sitozol Ca²⁺ Qatılığında Sıçrayışların Yaranmasına Səbəb Olan Geriyə Əlaqə İlgəklər Müəyyən G zülalla-cütləşən reseptorların fasiləsiz şəkildə fəallaşması sitozol Ca²⁺ səviyyəsində çox tez, təkrarlanan sıçrayışları induksiya edir (Şəkil 15-36). Sitozol Ca²⁺ səviyyəsindəki bu tərəddüdlər sitozol Ca²⁺ qatılığı ilə IP₃-lə-nizamlanan Ca²⁺ kanalı zülalı arasındakı kompleks geriyə-əlaqə ilgəyi ilə baş verir. Sakitlik dövründə olan hüceyrələrdə sitozol Ca²⁺-un submikromolyar səviyyəsi bu kanalın IP₃ vasitəsi ilə açılmasını daha da gücləndirir, beləliklə, hüceyrə-səthi G zülalla-cütləşən reseptorların hormonla stimullaşmasının ardınca sitozol Ca²⁺-un səviyyəsinin sürətli yüksəlməsinə imkan yaradır. Amma, sıçrayışın ən yüksək pikinə çatmış sitozol Ca²⁺-un yüksək səviyyəsi Ca²⁺ kanallarının IP₃-ə olan affiniyini azaltmaqla Ca²⁺-un hüceyrədaxili ehtiyatlardan IP₃-lə induksiya olunan buraxılmasını ingibirləşdirir. Nəticədə, IP₃-lə nizamlanan kanal qapanır və Ca²⁺ nasosla ER lümeninə və hüceyrədən xaricə vurulduğundan sitozol Ca²⁺-un səviyyəsi sürətlə düşür. Beləliklə, IP₃-lə-nizamlanan Ca²⁺ kanalları açıq olarkən sitozoldakı Ca²⁺ Ca²⁺-un sitozolda artmasına səbəb olan geriyə-əlaqə (feedback) ingibitorudur. Buna bir nümunə olaraq,

bu mexanizm ovulyasiyaya nəzarət olunmasında və beləliklə dişi fərdin bala vermə qabiliyyətinə nəzarətdə mühüm rol oynayan lüteinləşdirici hormonu (LH) ifraz edən hipofiz vəzi hüceyrələrində baş verən kalsium ionu tərəddüdlərini yaradır. LH ifrazı bu hüceyrələrdə lüteinləşdirici hormonu-buraxan hormonun (LHRH) G zülalla-cütləşən reseptorlarla birləşməsi ilə induksiya olunur, LHRH-ın birləşməsi təkrarlanan Ca²⁺ sıçrayışlarını induksiya edir. Hər bir Ca²⁺ sıçrayışı LH-a malik olan bir neçə ifrazat qovucununun, çox ehtimal ki, plazma membranına yaxın olanların eqzositozunu induksiya edir.



ŞƏKİL 15-36 İnsanın HeLa hüceyrələrinə histaminlə təsir etdikdən sonra Sitozol Ca²⁺ qatılığının tərəddüdləri. Tekstdə müzakirə olunan LH reseptorları kimi histamin GPCR IP₃-DAG siqnal yolunu fəallaşdırır. Geriyə əlaqə ilgəyinin sitozol Ca²⁺-da yaratdığı sıçrayışlar tekstdə ətraflı təsvir edilmişdir. [Verilənlər Miyawaky et al., 1997, *Nature* 388:882.]

Ca²⁺-Kalmodulin Kompleksi Xarici Siqnalara Çoxsaylı Hüceyrə Cavablarını Həyata Keçirir

Hər yerdə mövcud olan kiçik sitozol zülalı kalmodulin, Ca²⁺ ionlarının hüceyrədə çoxsaylı təsirlərini vasitələndirən çoxməqsədli keçirici zülal kimi fəaliyyət göstərir. Ca²⁺-un kalmodulinin dörd mərkəzinə birləşməsi kalmodulində çoxsaylı fermentlər və başqa zülallarla əlaqəyə girib onları modullaşdıran konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir (bax Şəkil 3-33). Dörd Ca²⁺ kalmodulinlə kooperativ qaydada birləşdiyindən sitozol Ca²⁺-un səviyyəsindəki kiçik dəyişiklik fəal kalmodulinin səviyyəsində böyük dəyişikliyə səbəb olur. Ca²⁺-kalmodulin kompleksi ilə fəallaşan yaxşı öyrənilmiş ferment, myozinin fəallığını tənzimləyən və bu yolla əzələ hüceyrələrinin dartılmalarını tənzimləyən myozin yüngül-zəncir kinazasıdır (bax Fəsil 17). Digəri, isə cAMP-ni 5-AMP-yə parçalamaqla onun təsirlərini dayandıran ferment cAMP fosfodiesterazdır (bax Şəkil 15-31). Beləliklə bu reaksiya, hüceyrə cavabının dəqiq nizamlanması üçün qarşılıqlı əlaqədə olan iki ikinci-mesencerlə vasitələnən siqnal yollarının qarşılıqlı əlaqəsinə aid olan çoxsaylı nümunələrdən birini, Ca²⁺ və cAMP-ni əlaqələndirir.

Çox hüceyrələrdə, fosfolipaza C ilə yaranan IP_3 vasitəsi ilə ötürülən reseptor siqnalının ardınca sitozol Ca^{2+} miqdarının artması spesifik transkripsiya faktorlarının fəallaşmasına səbəb olur. Bəzi hallarda, Ca^{2+} -kalmodulin proteinkinazını fəallaşdırır, o isə öz növbəsində transkripsiya faktorlarını fosforlaşdırır və beləliklə onların fəallığını modifikasiya edir və gen ekspressiyasını tənzimləyir. Başqa hallarda, Ca^{2+} -kalmodulin transkripsiya faktorlarından fosfat qrupunu uzaqlaşdıraraq onu fəallaşdıran fosfatazaları fəallaşdırır. Bu mexanizmin əhəmiyyətli nümunəsinə immun sisteminin T hüceyrələri daxildir (bax Fəsil 23).

DAG Proteinkinaza C-ni Fəallaşdırır

$PI(4,5)P_2$ -nin fosfolipaza C ilə kataliz olunan hidrolizindən əmələ gələn hidrofob DAG (bax Şəkil 15-34a) plazma membranı ilə assosiasiyada qalır. DAG-ın əsas funksiyası ümumilikdə **Proteinkinaza C (PKC)** adlanan proteinkinazalar ailəsini fəallaşdırmaqdır. Hormon stimullaşması olmadıqda, proteinkinaza C katalitik cəhətdən qeyri fəal vəziyyətdə, həll olan sitozol zülalı kimi mövcud olur. Sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin qalxması proteinkinaza C-nin plazma membranının sitozol vərəqəsinə translokasiya olunmasına səbəb olur, burada o membranla-assosiasiyada olan DAG ilə əlaqəyə girə bilər (bax Şəkil 15-34a, pillə 5 və 6). Beləliklə, proteinkinaza C-nin fəallaşması Ca^{2+} ionlarının artmasından və DAG-dan asılı olur, bu da IP_3 /DAG yolunun iki istiqaməti arasında qarşılıqlı əlaqənin olduğunu göstərir.

Proteinkinaza C-nin müxtəlif hüceyrələrdə fəallaşması hüceyrə cavabının çox müxtəlif sıralarının yaranması ilə nəticələnir və bu göstərir ki, o hüceyrə böyüməsinin və metabolizminin çoxsaylı aspektlərində rol oynayır. Bir çox hüceyrələrdə, PKC sitozolda yerləşən transkripsiya faktorlarını fosforlaşdıraraq onların nüvəyə keçməsinə səbəb olur və bu faktorlar orada hüceyrə bölünməsi üçün lazım olan genləri fəallaşdırırlar. Qaraciyər hüceyrələrində PKC qlikogen sintazını fosforlaşdıraraq ingibirləşdirməklə qlikogen metabolizminə kömək edir.

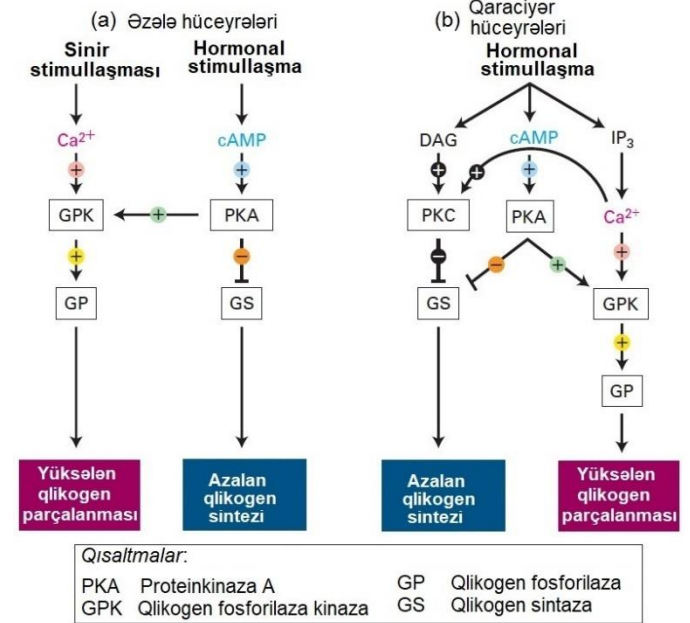
İkinci Mesencerlər Ca^{2+} və cAMP-nin Qarşılıqlı Əlaqəsi Qlikogenolizi Tənzimləyir

Bütün hüceyrələr daimi öz xarici aləmindən çoxsaylı siqnalları, o cümlədən metabolitlərin, hormonların və NO və oksigen kimi qazların səviyyəsinin dəyişməsi kimi siqnalları alır. Bütün bu siqnallar inteqrasiya olunmalıdır. Qlikogenin qlikozaya parçalanması (qlikogenoliz) hüceyrələrin birdən daha artıq olan siqnallara qarşı öz cavablarını necə inteqrasiya etməsinə aid çox gözəl nümunədir. Bölmə 15.5-də müzakirə olunduğu kimi, əzələ və qaraciyər hüceyrələrinin epinefrinlə stimullaşması, qlikogenin parçalanmasını gücləndirən ikinci mesencer cAMP-nin miqdarının artması ilə nəticələnir (bax Şəkil 15-28a). Həm əzələ, həm də qaraciyər hüceyrələrində, başqa siqnal yolları da qlikogenolizin yüksəlməsinin eyni hüceyrə cavabını yaradır.

Saya əzələ hüceyrələrində (bax Şəkil 17-30), sinir impulslarının stimullaşması sarkoplazma şəbəkəsindən Ca^{2+} ionlarının buraxılmasına və əzələ dartılmalarını işə salan sitozol Ca^{2+} qatılığının artmasına səbəb olur. Sitozolda Ca^{2+} qatılığının

yüksəlməsi Ca^{2+} -un qlikogen fosforilaza kinazının (GPK) kalmodulindən ibarət olan δ subvahidinə birləşməsinə imkan verir, beləliklə γ subvahidin katalitik fəallığını artırır və bununla da qlikogenin qlükoza-1-fosfata parçalanmasını stimullaşdırır, o isə uzun müddətli əzələ dartılmasını enerji ilə təmin edir.

Qanda epinefrinin qatılığının artmasını adenilil tsiklazanın fəallığının artmasına, cAMP-nin qatılığının yüksəlməsinə səbəb olur. Xatırladaq ki, cAMP-dən-asılı olan PKA vasitəsi ilə fosforlaşma GPK-nı fəallaşdırır (bax Şəkil 15-28), ona görə də GPK-nın maksimal fəallaşması və beləliklə qlikogenoliz həm fosforlaşmanı, həm də Ca^{2+} -u tələb edir. Beləliklə, qlikogenolizin əsas tənzimləyicisi əzələlərdə həm, sinir həm də hormonal tənzimləməyə hədəf olunur (Şəkil 15-37a).



ŞƏKİL 15-37 Qlikogenolizin Ca^{2+} və cAMP/PKA yolları ilə inteqrasiya olunan tənzimlənməsi. (a) Eninəzolaqlı əzələ hüceyrələrinin neyronal stimullaşması və ya onların səthində β -adrenerqik reseptorlara epinefrinin birləşməsi müvafiq olaraq ikinci mesencerlər Ca^{2+} və ya cAMP-nin sitozolda qatılıqlarının artmasına səbəb olur. Əsas tənzimləyici ferment olan qlikogen fosforilaza kinaza (GPK) Ca^{2+} ionlarının birləşməsi və cAMP-dən-asılı olan proteinkinaza A (PKA)-ın fosforlaşması ilə fəallaşır. (b) Qaraciyər hüceyrələrində, β -adrenerqik reseptorların hormonal stimullaşması cAMP-nin və iki digər ikinci mesencerin – diasilqliserolun (DAG) və inozitol 1,4,5-trifosfatın (IP_3) sitozolda qatılıqlarının artmasına səbəb olur. Fermentlər ağ düzbucaqlılarda göstərilmişdir. (+) = fermentin fəallığının artması; (-) = ingibirləşməsidir.

Qaraciyər hüceyrələrində, effektor zülalı fosfolipaza C-nin hormonla-induksiya olunan fəallaşması da ikinci mesencerlər DAG və IP_3 əmələ gətirməklə qlikogenin parçalanmasını tənzimləyir. Bizim indi öyrəndiyimiz kimi, IP_3 sitozolda Ca^{2+} artmasını induksiya edir, o isə öz növbəsində, əzələ hüceyrələrində olduğu kimi, GPK-nı fəallaşdırır və qlikogenin parçalanmasına səbəb olur. Bundan başqa, DAG və Ca^{2+} -un artmasının birgə təsiri proteinkinaza C-ni fəallaşdırır (bax Şəkil 15-34). Sonra bu kinaza qlikogen sintazını fosforlaşdıraraq onu

ingibirləşdirir və bununla da qlikogen sintezinin sürətini azaldır. Beləliklə biz, çox mühüm metabolik prosesi tənzimləmək üçün çoxsaylı hüceyrədaxili siqnal ötürülməsi yollarının necə qarşılıqlı əlaqədə olduqlarını gürdük (Şəkil 15-37b).

Xatırladak ki, Ca^{2+} ionları δ (kalmodulin) subvahidinə birləşdikdə və α subvahidi proteinkinaza A ilə fosforlaşdıqda GPK maksimum fəallığa malik olur. Əzələ hüceyrələrinin neyronal stimullaşmasından sonra, GPK həтта fosforlaşma belə hormonal stimullaşma olmadan qlikogenin parçalanmasına imkan vermək üçün kifayət qədər fəal olur. Ca^{2+} -un δ subvahidə birləşməsi ola bilsin ki GPK-nın fermentativ fəallığı üçün vacibdir. PKA ilə α subvahidin, eləcə də β subvahidin fosforlaşması δ subvahidin Ca^{2+} -a olan affiniyini artırır, Ca^{2+} ionlarına imkan verir ki, sakitlikdə olan hüceyrələrdə tapılmış submikromolyar qatılıqda fermentə birləşsinsin.

Vazikulyar Səya Əzələlərdə Siqnalla-İnduksiya Olunan Boşalma Ca^{2+} -Azot Oksidi-cGMP-İlə Fəallaşan Proteinkinaza G Yolu ilə Vasitəlidir

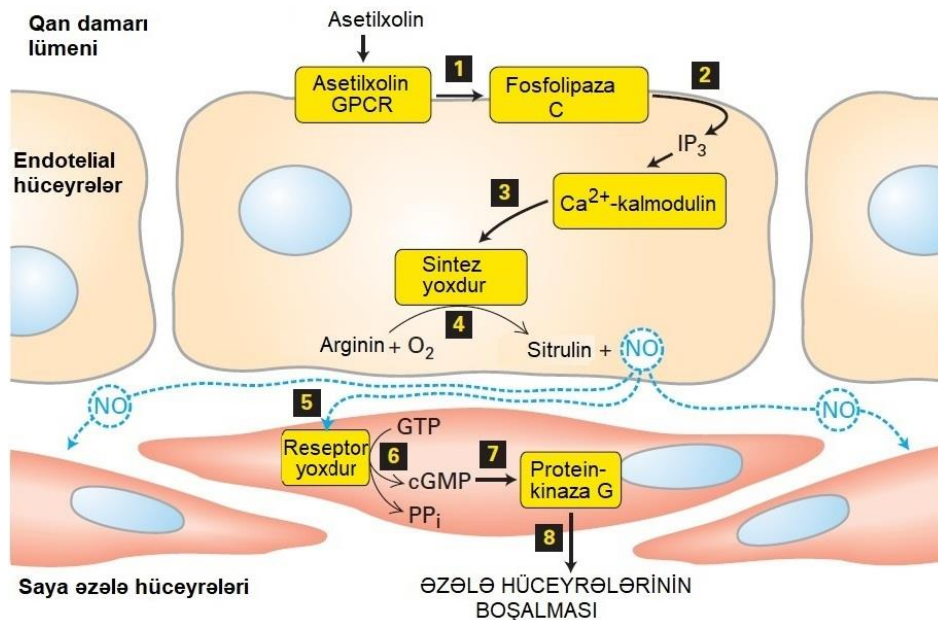


On doqquzuncu əsrin sonlarında Alfred Nobel (Nobel mükafatının yaradıcısı) şaxtaları və qayaları partlatmaq üçün nitroqliserini partlayıcı kimi istifadə etməyin necə təkmilləşdirilməsini aydınlaşdırdı, amma bir əsirdən artıqdır ki, nitroqliserin ürək ağrıların və stenokardiyanın gərgin müalicəsində istifadə olunur. Məlum idi ki, bədəndə *azot oksid* (NO) qədər yavaş-yavaş parçalanma, ürək əzələlərinin özünü "qidalandıran" qan damarlarını əhatə edən səya əzələ hüceyrələrinin boşalmasına səbəb olur, beləliklə qan damarlarının diametrlərini artırır və ürək əzələlərinə oksigen daşıyan qanın axmasını gücləndirir. Müasir təbabətdə çox maraqlı kəşflərdən biri olan, maşınlarda buraxılan zərərli NO qazı, faktiki olaraq təbii siqnal molekuludur. ■

Səya əzələlərinin boşalmasının induksiya olunmasında NO-nin rolu barədə qəti sübutlar qan damarlarını əhatə edən səya əzələ hüceyrələrindən hazırlanmış eksperimental preparata (bax Şəkil 1-25) asetilxolinin əlavə olduğu eksperimentlər dəstəndən alınmışdır. Asetilxolinin bu hüceyrələrə birbaşa tətbiq olunması, vazikulyar əzələ hüceyrələrində gözənlidyi kimi, onların dartılmasına səbəb oldu. Amma asetilxolinin ayrılması kiçik qan damarının lümeninə əlavə edilməsi bu damarlarda səya əzələlərinin dartılmasına deyil boşalmasına səbəb oldu. Daha sonra aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, asetilxolinə cavab olaraq, qan damarlarının lümenində düzülən endotelial hüceyrələr bəzi maddələri buraxırlar, onlar isə öz növbəsində əzələ-hüceyrələrinin boşalmasına səbəb olurlar. Bu maddənin NO olduğu aşkar olundu.

Biz indi bilir ki, vazikulyar endotelial hüceyrələr $G_{\alpha o}$ zülalla-cütləşən reseptora malikdirlər, bu reseptor asetilxolinə birləşir və fosfolipaza C-ni fəallaşdıraraq sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin artmasına səbəb olur. Ca^{2+} kalmodulinə birləşdikdən sonra əmələ gələn Ca^{2+} /kalmodulin kompleksi, O_2 və argininin amin turşusundan NO sintezini kataliz edən NO sintaza fermentinin fəallığını stimullaşdırır. NO qısa yarımparçalanma dövrünə (2-30 saniyə) malik olduğundan o yalnız sintez olduğu lokal toxumadan diffuziya edə bilər. Xüsusən, NO vazikulyar endotelial hüceyrələrdən qonşu səya əzələ hüceyrələrinə diffuziya edir və orada əzələ boşalmalarına səbəb olur, qan damarlarının diametrlərini artırır (**vazodilyasiya**) (Şəkil 15-38).

Səya əzələlərdə NO-nin təsiri, səya əzələ hüceyrələrində ekspressiya olunan hüceyrədaxili sitozol NO reseptoru ilə əmələ gələn ikinci mesencer cGMP vasitəsilə həyata keçir. Bu reseptorun hem qrupuna NO-nun birləşməsi onda konformasiya dəyişməsinə səbəb olur ki, bu da onun daxili kuantil tsiklaza fəallığını artırmaqla sitozolda cGMP-nin səviyyəsini yüksəldir.



ŞƏKİL 15-38 Ca^{2+} /azot oksidi (NO)/cGMP yolu və arterial səya əzələlərinin boşalması. Azot oksidi asetilxolin GPCR-lərin, və fosfolipaza C-nin fəallaşmasına və ardınca da sitozol Ca^{2+} səviyyəsinin qalxmasına cavab olaraq endotelial hüceyrələrdə sintez olunur (pillə 1-4). NO toxumalar vasitəsi ilə lokal diffuziya olunur və yaxınlıqda yerləşən səya əzələ toxumasında kuantil tsiklaza fəallığı olan hüceyrədaxili NO reseptorunu fəallaşdırır (5). Nəticədə cGMP-nin səviyyəsinin artması (6) proteinkinaza G-ni fəallaşdırır (7), əzələnin boşalmasına və qan damarlarının genişlənməsinə səbəb olur (8). PP_i = pirofosfat. Bax C.S. Lowerstein et al., 1994, *Ann. Intern. Med.* **120**:227 və H.K. Surks, 2007, *Circ Res.* **101**:1078.

cGMP-nin əksər təsirləri, həmçinin **proteinkinaza G (PKG)** kimi məlum olan cGMP-dən-asılı olan proteinkinaza vasitəsi ilə həyata keçir, bu proteinkinaza PKA-a oxşar şəkildə tənzimlənir, amma ondan fərqli olaraq tənzimləyici domen PKG polipeptidin bir hissəsidir. Bu N-sonluq domeni kinaza domeninə birləşərək onun fəallığını ingibirləşdirən psevdosubstrat seqmentinə və eləcə də iki cGMP-birləşmə mərkəzə malikdir. cGMP-nin birləşməsi tənzimləyici domendə konformasiya dəyişilməsini induksiya edir və bu dəyişilmə psevdosubstratın PKG-ni ingibirləşdirməsinə mane olur. Vazikulyar sayə əzələlərdə, PKG hüceyrə boşalmasına və qan damarlarının genişlənməsinə səbəb olan siqnal yolunu fəallaşdırır. Genişlənməyə səbəb qismən endoplazmatik şəbəkədə Ca^{2+} kanalının ingibirləşməsi (bax Şəkil 15-34a) və nəticədə sitozolda Ca^{2+} qatılığının azalmasıdır. Fəsil 17-də (**səhifə 808**) biz öyrəndik ki, sayə əzələdə sitozol Ca^{2+} azalması myozinin tənzimləyici yüngül zəncirinin fosforlaşmasının azalmasına, aktin-myozin dartılma quruluşunun dağılmasına və əzələ dartılmasının ingibirləşməsinə səbəb olur. Vazikulyar sayə əzələ hüceyrələrində cGMP proteinkinaza G vasitəsi ilə dolayı yolla təsir edir, halbuki çöp hüceyrələrdə cGMP birbaşa plazma membranında kation kanallarına birləşərək onların açılmasına təsir edir (bax Şəkil 15-20).



Vazikulyar sayə əzələ hüceyrələrində cGMP-nin səviyyəsinin yüksəlməsinə səbəb olan, cGMP-ni hidroliz edən PDE fermentinin ingibitoru kişilərdə keçəlliyin müalicə vasitəsi kimi yaradılmışdır. Külli miqdarda kliniki cəhdlər göstərdi ki, onlar tükün bitməsinə nail ola bilmədilər, amma əlavə təsiri — uzunmüddətli ereksiyanı müşahidə etdilər. Sonra, ereksiya disfunksiyasını müalicə etmək üçün bir neçə PDE ingibitoru tez şəkildə yaradılıb inkişaf etdirildi. Biz burada ətraflı məlumat verməyəcəyik amma istənilən maraqlanan oxucu geniş istifadə olunan dərmanların necə işlədiyini çox tez öyrənə bilər. ■

15.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Sitozolda və Mitoxondridə Ca^{2+} Səviyyəsini Qaldıran G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar

Açar Sözlər

adenilil tsiklaza
β-adrenerqik reseptor
aqonist
amplifikasiya
anataqonist
arrestin
autokrin
azot oksidi (NO)
desensibilizasiya
endokrin
epinefrin
fosfataza

- Sitozolda Ca^{2+} -un az miqdarda artması müxtəlif hüceyrələrdə hormon ifrazı, əzələ dartılması və trombosit aqreqasiyası kimi müxtəlif cavabları induksiya edir (bax Cədvəl 15-4).
- Çox hormon, $G_{\alpha o}$ və ya $G_{\alpha q}$ subvahidlərinə malik olan G zülallarla cütləşən GPCR-lə birləşir. GTP ilə birləşmiş $G_{\alpha o}$ və ya $G_{\alpha q}$ ilə fəallaşan effektor zülalı fosfolipaza C fermentidir.
- Fosfalipaza C $PI(4,5)P_2$ kimi məlum olan fosfolipidi kəsir, iki ikinci mesenceri — asanlıqla diffuziya edən IP_3 və membrana birləşmiş DAG yaradır (bax Şəkil 15-33).
- IP_3 endoplazmatik şəbəkədə IP_3 ilə-nizamlanan Ca^{2+} kanallarının açılmasına və sitozolda sərbəst Ca^{2+} artmasına təkan verir.
- Endoplazmatik şəbəkədə IP_3 ilə nizamlanan Ca^{2+} kanallarının açılması da mitoxondri matrisasında Ca^{2+} artmasına və ATP sintezinin sürətlənməsinə səbəb olur (bax Şəkil 15-35).
- ER-də Ca^{2+} ehtiyatının tükənməsi plazma membranının ehtiyat-saxlama-əməliyyatlı Ca^{2+} kanallarının açılmasına və hüceyrəxarici mühitdən Ca^{2+} -un daxilə axmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-34b).
- Ca^{2+} -kalmodulin kompleksi cAMP fosfodiesteraza və müxtəlif transkripsiya faktorlarının fəallığına nəzarət edən proteinkinaza və fosfatazalar da daxil olmaqla çoxsaylı müxtəlif zülalların fəallığını tənzimləyir.
- Sitozolda Ca^{2+} səviyyəsinin qalxmasına cavab olaraq proteinkinaza C plazma membranına toplanır və orada DAG-la fəallaşır (bax Şəkil 15-34a).
- Qlikogenin parçalanması və sintezi, hüceyrədaxili səviyyələri müvafiq olaraq sinir və hormonal stimullaşma ilə tənzimlənən Ca^{2+} və cAMP kimi ikinci mesencerlərlə koordinasiya olunan şəkildə tənzimlənir (bax Şəkil 15-37).
- Endotelial hüceyrələrdə G zülalla-cütləşən asetilxolin GPCR-lərin stimullaşması sitozolda Ca^{2+} artmasını və ardınca da NO sintezini induksiya edir. Ətrafdakı sayə əzələ hüceyrələrinə diffuziya etdikdən sonra, cGMP-ni sintez etmək üçün NO hüceyrədaxili qanilat tsiklazanı fəallaşdırır. Nəticədə cGMP-nin artması proteinkinaza G-nin fəallaşmasına səbəb olur, o isə öz növbəsində əzələ boşalmasına və qan damarlarının genişlənməsinə səbəb olan siqnal yolunu işə salır (bax Şəkil 15-38).

fosfolipaza C (PLC)
G zülallarla-cütləşən reseptorlar (GPCR)
hormon
heterotrimer G zülalı
ikinci mesencerlər
 IP_3 /DAG yolu
kalmodulin
kinaza
qlikogenoliz
qlükaqon
muskarin asetilxolin reseptorları
parakrin

proteinkinaza A (PKA)
proteinkinaza C (PKC)
proteinkinaza G (PKG)
rodopsin

siqnal ötürülməsi
transdusin
tsiklik adenozin mono fosfat (cAMP)

Konsepsiyalara Baxış

1. Hüceyrənin əksər siqnal sistemlərində hansı ümumi xüsusiyyətlər vardır?
2. Hüceyrəxarici həll olan molekullarla siqnal verilməsi endokrin, parakrin və autokrin kimi təsnifləşdirilə bilər. Hüceyrə siqnal ötürülməsinin bu üç tipinin necə fərqləndiyini təsvir et. Boy hormonu, beyinin əsasında yerləşən hipofizdən ifraz olunur və qaraciyərdə yerləşən boy hormonu reseptorları vasitəsi ilə təsir edir. Bu endokrin, parakrin və autokrin siqnal ötürülməsinin hansının nümunəsidir? Niyə?
3. Liqand iki müxtəlif reseptora K_d qiyməti 10^{-7} M ilə reseptor 1-ə və 10^{-9} M ilə reseptor 2-ə birləşir. Liqand hansı reseptora daha yüksək affinitet göstərir? Əgər sərbəst liqandın qatılığı 10^{-8} M olarsa reseptorun liqand birləşmiş fraksiyasını ($[RL]/R_T$) reseptor 1 və reseptor 2 olan halda hesabla.
4. Siqnal yolunun necə işlədiyini anlamaq üçün çox zaman, hüceyrə-səth reseptorunu ayırmaq və aşağıya istiqamətdə effektor zülalının fəallığını müxtəlif şəraitlərdə ölçmək sərfəli olur. Hüceyrə səth reseptorlarını ayırmaq üçün siz affinitet xromotografiyanı necə istifadə edərsiniz? Siz liqandla stimullaşmış hüceyrələrdə hansı metodla fəallaşmış G zülalın (GTP birləşmiş forma) miqdarını ölçə bilərsiniz? Hansı yanaşmadan istifadə edəcəyinizi təsvir edin.
5. Yeddi transmembran domenli G zülallarla-cütləşən reseptorlar siqnalı plazma membranından necə ötürürlər? Cavabınıza liqand birləşməsi ilə reseptorda baş verən konformasiya dəyişikliyinə daxil edin.
6. Siqnal ötürən trimer G zülal α , β və γ kimi adlandırılan üç subvahiddən ibarətdir. G_α subvahid GTP-ə keçirici zülaldır və GTP və ya GDP ilə birləşməsindən asılı olaraq fəal vəziyyətlə qeyri fəal vəziyyət arasında dövrə edir. Effektor zülalların trimer G zülallar vasitəsi ilə yerinə yetirilən, liqandla-induksiya olunan fəallaşmasını nəzərdən keçirin. Fərz edin ki, siz GTP-ə fəallığına malik olan mutant G_α subvahidini ayırmırsınız. Bu mutasiyanın G zülala və effektor zülala hansı təsiri olacaqdır?
7. Epinefrin reseptorla fəallaşmanın ardınca G_{as} və adenilil tsiklazanın birləşməsini (assosiasiyasını) monitor etmək üçün FRET-in necə istifadə oluna biləcəyini izah edin.
8. Aşağıdakı mərhələlərdən hansı epinefrin siqnalına cavabı hüceyrədə amplifikasiya edir: G zülalların reseptorla fəallaşması, G zülallarla adenilil tsiklazanın (AC) fəallaşması, cAMP ilə PKA fəallaşması və ya qlikogen fosforilaza kinazının (GPK) PKA ilə fosforlaşması? Hansı dəyişiklik siqnal amplifikasiyası üzərində böyük təsirə malik olacaqdır: epinefrin reseptorun sayının artması, və ya G_{as} zülalların sayının artması?
9. *Vibrio cholera* bakteriyasının istehsal etdiyi *xolera* zəhəri, yoluxmuş fərdlərdə sulu diarrheə əmələ gəlməsinə səbəb olur. *Xolera* zəhərinin bu təsirinin molekulyar əsasında nə durur?
10. Həm görmə sistemində rodopsin, həm də ürəkdə muskarin asetilxolin reseptor sistemi G zülallar vasitəsi ilə ion kanallarına qovuşurlar. Bu iki sistem arasındakı fərqləri və oxşar cəhətləri təsvir edin.

11. Epinefrin həm β -adrenergik, həm də α -adrenergik reseptorlara birləşir. Epinefrinin bu iki tip reseptora birləşməsi ilə ortaya çıxan effektor zülalı adenilil tsiklazaya bu iki tip reseptorun belə əks təsirlərini təsvir edin. Aqonistin və ya antaqonistin β -adrenergik reseptora əlavə edilməsinin adenilil tsiklazanın fəaliyyətinə təsirini təsvir edin.
12. Qaraciyər və əzələ hüceyrələrində cAMP yolunun epinefrinlə stimullaşması qlikogenin parçalanmasını fəallaşdırır və qlikogen sintezini ingibirləşdirir, halbuki piy toxumalarında epinefrin triasilgliseridlərin hidrolizini fəallaşdırır və başqa hüceyrələrdə geniş müxtəliflikdə başqa hüceyrə cavablarına səbəb olur. Bu hüceyrələrdə cAMP siqnal yolunun hansı mərhələsi hüceyrə cavabının spesifikliyini müəyyənləşdirir?
13. *G_s* zülalla-cütləşən reseptora öz liqandı ilə uzunmüddətli fasiləsiz təsir etmək desensitibilizasiya kimi məlum olan fenomenə səbəb olur. Desensitibilizasiyanın bir neçə molekulyar mexanizmini təsvir et. Reseptor özünün orjinal həssaslaşmış vəziyyətinə necə keçirilə bilər? Serin və ya treonin fosforlaşma saytını itirən mutant reseptor hüceyrədə hansı təsirə malik olacaqdır?
14. Kinaza A-assosiasiyalı zülallar (AKAP) nə üçündür? AKAP-ların ürək əzələsində necə işlədiyini təsvir edin.
15. İnazitol 1,3,5-trifosfat (IP₃) və diasilqliserol (DAG), fosfatidilinozitol 4,5-difosfatın (PIP₂) fəallaşmış fosfolipaza C ilə kəsilməsindən alınan ikinci mesencer molekullarıdır. Sitozol Ca²⁺ qatılığının artmasında IP₃-ün rolunu təsvir et. Hüceyrələr sitozolda Ca²⁺-un sakitlik dövründə qatılığını necə bərpa edirlər? DAG-ın əsas fəaliyyəti nədən ibarətdir?
16. Fəsil 3-də kalmodulin EF-əlin Ca²⁺ birləşdirmə K_d -si $\sim 10^{-6}$ M verilmişdir. Çox zülallar öz müvafiq liqandlarına daha çox yüksək afinitetə malikdirlər. Nəyə görə IP₃ istehsalının inisiasiyası edilməsi kimi Ca²⁺-la ötürülən siqnal prosesində kalmodulinin spesifik afiniteti əhəmiyyətlidir?
17. Hüceyrənin cAMP-yə qısa-müddətli fizioloji cavablarının əksəriyyəti PKA fəallaşması ilə baş verir. cGMP başqa bir ümumi ikinci mesencerdir. cGMP-nin çöp və sayə əzələ hüceyrələrində hədəfi nədir?

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Hüceyrə Səth Reseptorlarının və Siqnal Ötürən Zülalların Öyrənilməsi

- Flock, T., et al. 2015. Universal allosteric mechanism for *G_α* activation by GPCRs. *Nature*, doi:10.1038/nature14663.
- Garland, S. 2013. Are GPCRs still a source of new targets? *J. Biomol. Screen.* **18**:947–966.
- Grecco, H., M. Schmick, and P. Bastiaens. 2011. Signaling from the living plasma membrane. *Cell* **144**:897–909.
- Gross, A., and H. F. Lodish. 2006. Cellular trafficking and degradation of erythropoietin and NESP. *J. Biol. Chem.* **281**: 2024–2032.
- Scott, J. D., et al., 2013. Creating order from chaos: cellular regulation by kinase anchoring. *Annu. Rev. Pharmacol.* **53**:187–210.
- Taylor, S. S., and A. Kornev. 2011. Protein kinases: evolution of dynamic regulatory proteins. *Trends Biochem. Sci.* **36**:65–77.

G Zülalla-Cütləşən Reseptorlar: Quruluşu və Mexanizmi

Audel, M., and M. Bouvier. 2012. Restructuring G-proteincoupled receptor activation. *Cell* **151**:14–23.

Benovic, J. 2012. G-protein-coupled receptors signal victory. *Cell* **151**:1–3. (A review of the research leading to the 2011 Nobel Prize.)

Irannejad, R., et al. 2013. Conformational biosensors reveal GPCR signalling from endosomes. *Nature* **495**:534–538.

Tesmer, J. 2010. The quest to understand heterotrimeric G protein signalling. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**:650–652.

İon Kanallarını Tənzimləyən G Zülallarla Cütləşən Reseptorlar

Calvert, P., et al. 2006. Light-driven translocation of signaling proteins in vertebrate photoreceptors. *Trends Cell Biol.* **16**:560–568.

Hofmann, K. P., et al. 2009. A G protein-coupled receptor at work: the rhodopsin model. *Trends Biochem. Sci.* **34**:540–552.

Pearring, J. N. 2013. Protein sorting, targeting and trafficking in photoreceptor cells. *Prog. Retin. Eye Res.* **36**:24–61.

Sitozol və Mitoxondrial Kalsiumun Yüksəlməsini İşə Salan G Zülallarla Cütləşən Reseptorlar

Hoflich, K. P., and M. Ikura. 2002. Calmodulin in action: diversity in target recognition and activation mechanisms. *Cell* **108**:739–742.

Hogan, P. G., R. S. Lewis, and A. Rao. 2010. Molecular basis of calcium signaling in lymphocytes: STIM and ORAI. *Annu. Rev. Immunol.* **28**:491–533.

Smith, S. O. 2010. Structure and activation of the visual pigment rhodopsin. *Annu. Rev. Biophys.* **39**:309–328.

Adenilat Tsiklazananı Fəallaşdıran və İngibirləşdirən G Zülallarla Cütləşən Reseptorlar

Agius, L. 2010. Physiological control of liver glycogen metabolism: lessons from novel glycogen phosphorylase inhibitors. *Mini-Rev. Med. Chem.* **10**:1175–1187.

DeWire, S., et al. 2007. β -Arrestins and cell signaling. *Annu. Rev. Physiol.* **69**:483–510.

Lefkowitz, R. J., and S. K. Shenoy. 2005. Transduction of receptor signals by β -arrestins. *Science* **308**:512–517.

Shula, A., et al. 2014. Visualization of arrestin recruitment by a G-protein-coupled receptor. *Nature* **512**:218–222.

Somsak, L., et al. 2008. New inhibitors of glycogen phosphorylase as potential antidiabetic agents. *Curr. Med. Chem.* **15**:2933–2983.

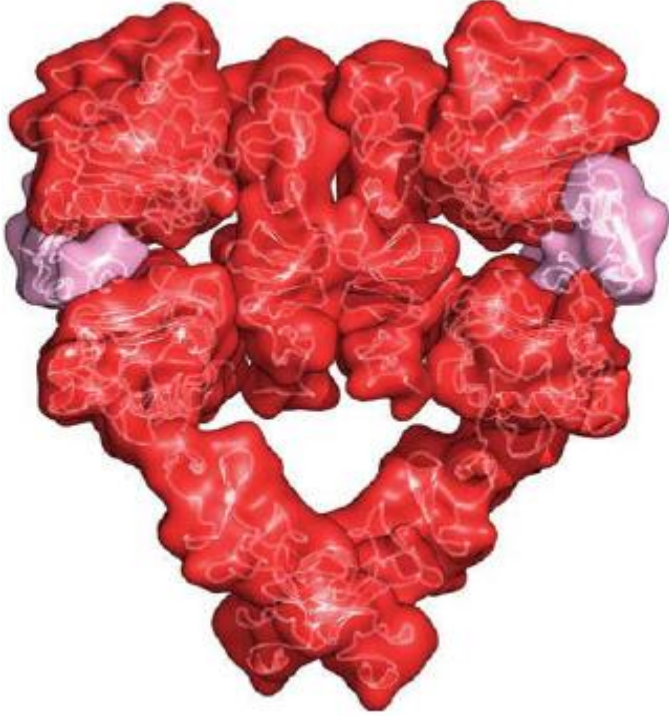
Taylor, S. S., et al. 2012. Assembly of allosteric macromolecular switches: lessons from PKA. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:646–658.

Kaufman, R., and J. Amphora. 2014. Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics. *Biochim. Biophys. Acta* **1843**:2233–2239.

Parekh, A. 2011. Decoding cytosolic Ca^{2+} oscillations. *Trends Biochem. Sci.* **36**:78–87.

Soboloff, J., et al. 2012. STIM proteins: dynamic calcium signal transducers. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:549–565.

Zhou, Y., et al. 2010. Pore architecture of the ORAI1 store-operated calcium channel. *P. Natl Acad. Sci. USA* **107**:4896–4901.



Molekulyar valentina – epidermal boy faktoru reseptorunun dimerləşmiş hüceyrəxarici domeni (qırmızı) iki molekul epidermal boy faktoruna birləşmişdir (çəhrayı). [Verilənlər H. Ogiso et al., 2002, Cell 110:775, PDB ID 1ivo-dan.]

Gen Ekspressiyasına Nəzarət Edən Sıqnal Yolları

Hüceyrəxarici sıqnal hüceyrədə həm qısa- həm də uzun-müddətli təsirə malik olurlar. Qısa-müddətli təsirlər bir qayda olaraq, bizim Fəsil 15-də gördüyümüz kimi, mövcud olan zülalların və ya fermentlərin modifikasiyasına səbəb olurlar. Çoxsaylı hüceyrəxarici sıqnal gen ekspressiyasına da təsir edir, beləliklə hüceyrənin funksiyasında uzunmüddətli dəyişikliyə səbəb olur. Bu dəyişikliklərə, hüceyrə bölünməsi və inkişafında hüceyrə müqəddaratının təyini və differensiasiyası zamanı baş verən dəyişilmələr daxildir. Orqanizmin bizim bu fəsildə sonra müzakirə edəcəyimiz *sitokinlərə* cavab olaraq qırmızı qan hüceyrələrini, ağ qan hüceyrələrini və trombositləri istehsal etməsi, hüceyrənin proliferasiyasına və differensiasiyasına təsir edən gen ekspressiyasındakı sıqnalla-induksiya olunan dəyişilmələrə aid gözəl nümunədir. Gen ekspressiyasındakı dəyişilmələr həmçinin differensiasiya etmiş hüceyrələrə formalarında, metabolizmində və ya hərəkətlərində dəyişiklik etməklə onları əhatə edən mühitə cavab verməyi mümkün edir. Məsələn, immun sistemi hüceyrələrində, bir sıra hormonlar, sonda yoluxmaya qarşı immun cavabında iştirak edən 150-dən artıq genin ekspressiyasına təsir edən bir tip transkripsiya faktorunu (NF-κB) fəallaşdırırlar. İnkişafın, metabolizmin və hərəkətin kritik aspektlərinin həyata keçirilməsində gen transkripsiyasının geniş rolunu nəzərə alsaq təccübləndirici deyildir ki, belə sıqnal yollarında mutasiyalar xərcəng, diabet və immun pozuntuları kimi çoxsaylı insan xəstəliklərinə səbəb olur.

Biz bu fəsildə, hüceyrələrin gen ekspressiyasına təsir etmək üçün istifadə etdikləri əsas sıqnal yollarını tədqiq edirik. Eukariotlarda hüceyrə-səthi reseptorlarının təxminən 10-dan

artıq yüksək konservativ sinifi vardır və bunlar bir neçə tip yüksək konservativ sıqnal ötürülən yolları fəallaşdırırlar. Bu yolların çoxu çoxsaylı zülallardan, kiçik hüceyrədaxili molekulardan və Ca^{2+} kimi ionlardan təşkil olunublar və bunlar birlikdə kompleks kaskadı əmələ gətirirlər. Bu mürəkkəbliyi nəzərə alaraq, ilk baxışdan, hüceyrənin sıqnal ötürməsinin öyrənilməsi yeni başlanmaq üçün çətin mövzudur; həqiqətən də, hər bir yolda rast gəlinən çoxsaylı adlandırılmalar və qısaltmalar çətin və mürəkkəb ola bilər. Bu mövzu çox diqqətli tədqiqatı tələb edir amma, bu yolla tanış olduqda, bioloji proseslərin böyük bir sırasının belə tənzimlənmə mexanizminin dərin yolunu anlamaq mümkündür.

Sadəlik üçün, sıqnal ötürülməsi yolları, hüceyrədaxili proseslərin ardıcılığına əsaslanaraq bir neçə əsas tipdə qruplaşdırıla bilər. Sıqnal ötürülməsi yolunun çox yayılmış bir tipində (Şəkil 16-1a), liqandın reseptora birləşməsi reseptorla-assosiasiyada olan kinazanın fəallaşmasını işə salır. Bu kinaza xassəsi reseptor zülalın daxili bir hissəsi ola bilər və ya reseptora möhkəm şəkildə birləşmiş ola bilər. Bu kinazalar çox zaman birbaşa sıqnal ötürən zülalları, o cümlədən sitozolda yerləşən transkripsiya faktorlarını fosforlaşdırır və fəallaşdırır (Şəkil 16-1a, pillə 1). Bəzi reseptor kinazalar, Ras kimi kiçik GTP-birləşdirən “keçirici” zülalları da fəallaşdırır (Şəkil 16-1a, pillə 2). Çox sıqnal ötürən yollara, məsələn Ras zülalları ilə fəallaşanlara bir sıra kinazalar daxildir və burada bir kinaza digər bir kinazanı fosforlaşdıraraq onu fəallaşdırır (bəzi hallarda isə ingibirləşdirir), bu kinazaların biri və ya daha çox hissəsi sonda transkripsiya faktorlarını fosforlaşdıraraq fəallaşdırır.

İCMAL

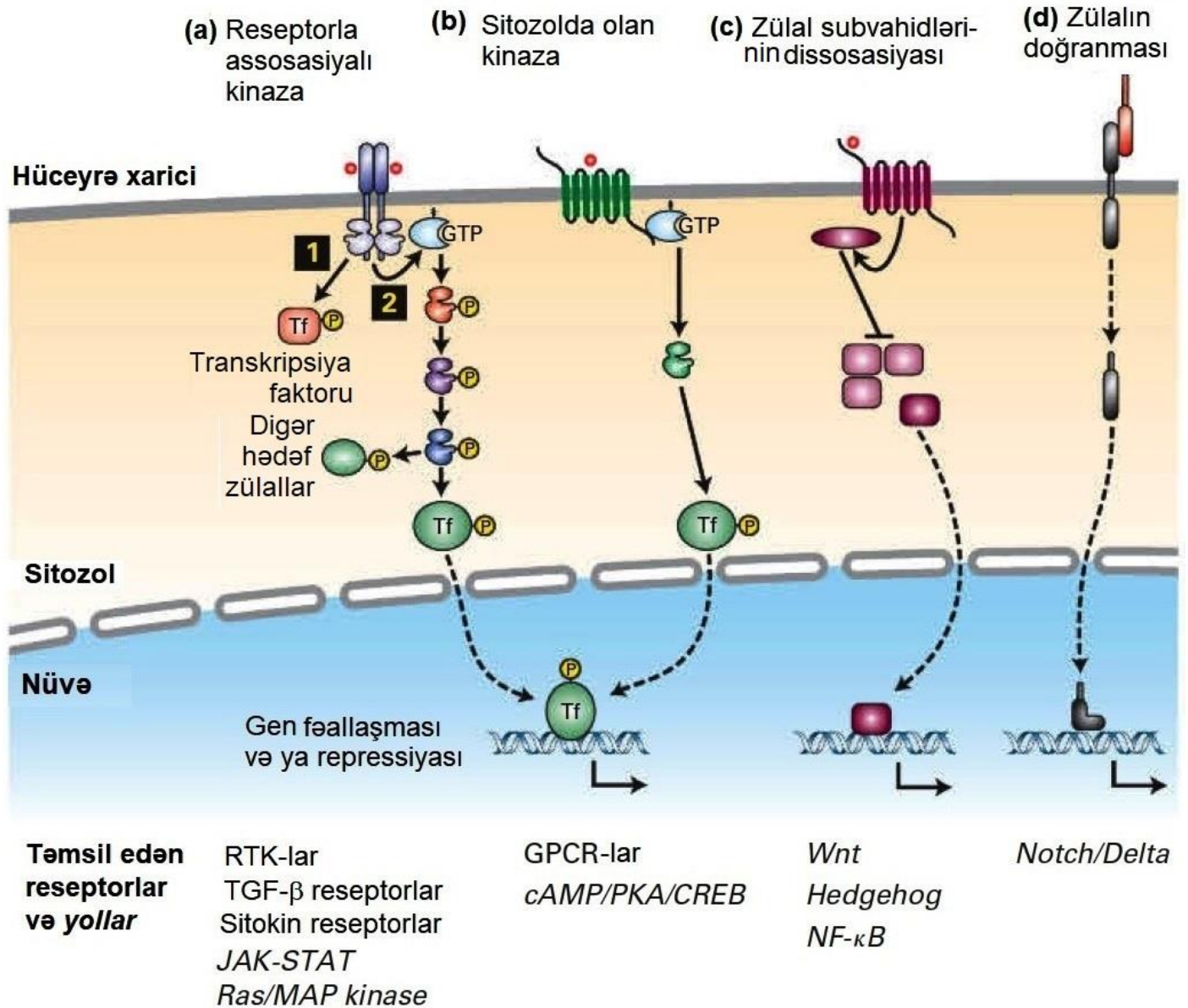
- 16.1 Smad-ları Fəallaşdırən Serinkinaza Reseptoru
- 16.2 Sitokin reseptorlar və JAK/STAT siqnal yolu
- 16.3 Reseptor Tirozinkinazalar
- 16.4 Ras/MAP Kinaza Yolu
- 16.5 Fosfoinozitid Siqnal Ötürülməsi Yolu

Bu reseptorların çoxu liqandın birləşməsi ilə induksiya olunan konformasiya dəyişilməsi ilə fəallaşır. Bəzi reseptorlar, xüsusən də Fəsil 15-də təqdim edilən yeddi dəfə membranı kəsib keçən reseptorlar GTP birləşdirən böyük G_α zülalları fəallaşdırır (Şəkil 16-1b). Onların da fəallaşması adətən bir və ya daha artıq proteinkinazanın fəallaşmasına səbəb olur, sonuncular isə öz növbəsində, çoxsaylı hədəf zülalları, o cümlədən transkripsiya faktorlarını fosforlaşdıraraq fəallaşdırır.

Digər siqnal yollarında, liqandın reseptora birləşməsi sitozolda çoxzülallı kompleksin dağılmasını işə salır,

- 16.6 Ubikvitinləşmə və Zülal Parçalanması ilə Nəzarət Olunan Siqnal Yolu: Wnt, Hedgehog və $NF-\kappa B$
- 16.7 Zülal Doğranması ilə Nəzarət olunan Siqnal Yolu: Noç/Delta, SREBP və Alzheimer Xəstəliyi
- 16.8 Hüceyrə Cavablarının Müxtəlif Siqnal Yollarına İntegrasiyası: İnsulinin təsiri

transkripsiya faktorlarının buraxılmasına səbəb olur, sonra onlar da nüvəyə translokasiya olunurlar (Şəkil 16-1c). Nəhayət, sonuncu çox yayılan tiptə, inhibitorun və ya reseptorun özünün proteolitik kəsilməsi fəal transkripsiya faktorunu buraxır, o isə sonra nüvəyə keçir (Şəkil 16-1d). Hər bir siqnal yolunun özünəməxsus fərqləri və incəlikləri vardır, demək olar ki, onların hər biri bu əsas tiplərdə qruplaşa bilərlər.



ŞƏKİL 16-1 Bir-sıra geniş yayılmış hüceyrə-səth reseptorları və siqnal ötürən yollar. (a) Çox reseptorların sitozol domenləri proteinkinazadır və ya sitozol kinazaları ilə sıx assosiasiyadadırlar, ümumilikdə kinazalar liqand birləşməsi ilə və ardınca da reseptorun dimerləşməsi ilə fəallaşır. Bu kinazaların bəziləri, birbaşa transkripsiya faktorlarını (1) və ya başqa siqnal zülallarını fosforlaşdıraraq fəallaşdırırlar. GTP birləşdirən “keçirici” zülal Ras-la fəallaşan (2) siqnal yolları kimi çoxsaylı siqnal ötürən yollara bir neçə kinazalar daxildir, bu zaman bir kinaza başqa bir kinazanı fosforlaşdıraraq onun fəallığını fəallaşdırır (arabir ingibirləşdirir). Bu

Bizim bu fəsildə müzakirə etdiyimiz yollar təkamül prosesində qorunub saxlanmışdır və demək olar ki, milçəklərdə, qurdlarda və insanda eyni qaydada fəaliyyət göstərirlər. Zülallar arasında kifayət qədər homolojiya nümayiş etdirən bu siqnal yolları tədqiqatçılara onları müxtəlif eksperimental sistemlərdə öyrənməyə imkan vermişdir. Məsələn, ifraz olunan siqnal zülalı Hedgehog (Hh) və onun reseptoru *Drosophila* mutantlarında aşkar edilmişdir. Ardınca, bu zülalın insanda və siçanda olan homoloqları klonlaşdırılmış və göstərilmişdir ki, differensasiya gedişində çoxsaylı əhəmiyyətli siqnal proseslərində iştirak edirlər, nəticədə insanın bir sıra şiş hüceyrələrində Hh-un qeyri normal fəallaşmasının baş verdiyi aşkar edilmişdir. Belə kəşflər, siqnal yollarında həm genetik—milçəklərdə, siçanda qurdlarda, mayada və başqa orqanizmlərdə—həm də biokimyəvi tədqiqatların əhəmiyyətini göstərir.

Çox reseptorlar bədənin çoxsaylı müxtəlif hüceyrə tiplərində ekspressiya olunurlar, amma bu reseptorların eyni hormonla fəallaşması hər bir hüceyrə tipində genlər dəstəsinin induksiyasına (və ya repressiyasına) səbəb olur. Başqa sözlə, fəallaşmış eyni transkripsiya faktoru müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif genlər dəstəsinin ekspressiyasını induksiya (və ya repressiya) edir. Bu əsas momenti anlamaq üçün, Fəsil 9-dan yada salaq ki, ali orqanizmlərdə hər bir genin ekspressiyası çoxsaylı transkripsiya faktorları ilə və xromatin modifikasiya edən fermentlərlə tənzimlənir və çox genlər çoxsaylı hüceyrə tiplərinin hər birində çox dəqiq, amma çox zaman müxtəlif səviyyələrdə ekspressiya olunurlar.

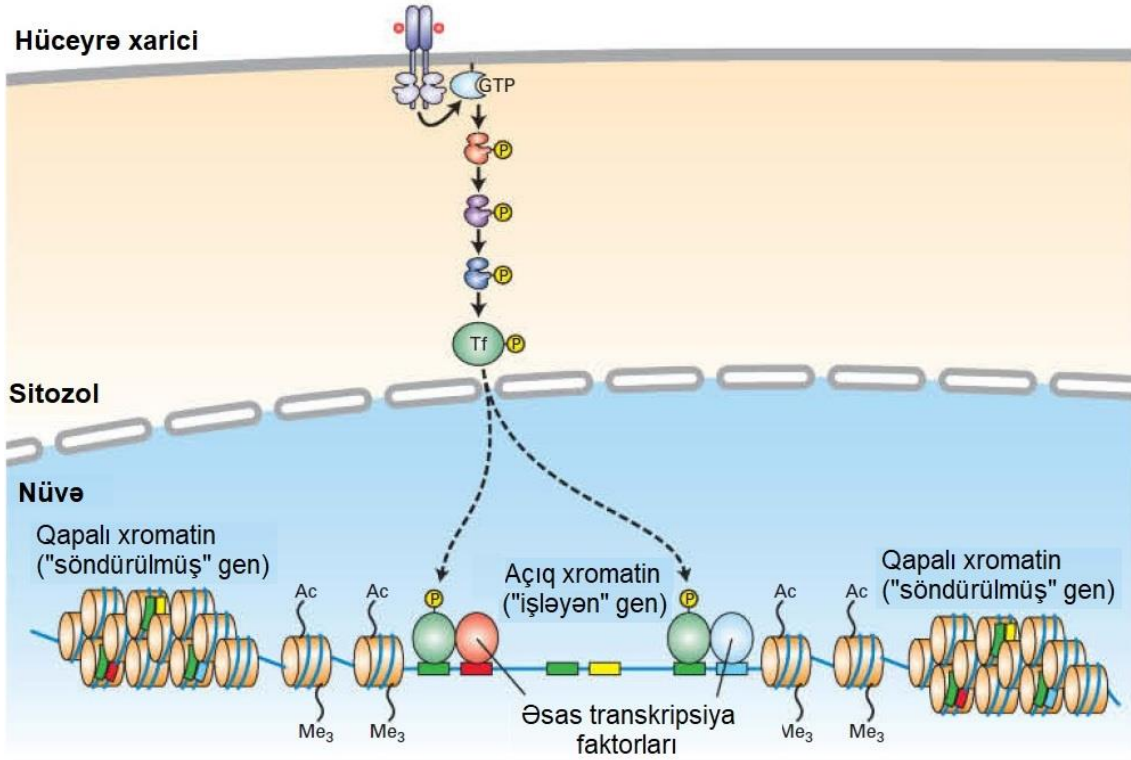
Hüceyrə-səth reseptoru ilə fəallaşan transkripsiya faktorunun xüsusi bir hüceyrədə geni induksiya (və ya repressiya) etməsi birincisi, hüceyrənin inkişaf tarixi ilə müəyyən olunan onun epigenetik vəziyyətindən asılıdır (Şəkil 16-2). Bizim Fəsil 9-da öyrəndiyimiz kimi, epigenetik vəziyyət genin ya fəal “açıq” xromatin konformasiyası vəziyyətində olmasını diktə edir, ona görə də o transkripsiya faktorlarının birləşməsi üçün əlçatan olur, ya da susdurulmuş “qapalı” vəziyyətdə olur və transkripsiya faktorları ilə tənzimləmək mümkün olmur. Başqa sözlə, verilmiş transkripsiya faktoru xromosom DNT-sində çoxsaylı potensial gen tənzimləyici saytlarına birləşə bilər, amma istənilən verilmiş hüceyrə tipində bu saytların yalnız müəyyən fraksiyası birləşmək üçün əlçatan olacaqdır.

siqnal yollarında kinazaların çoxu, müxtəlif hüceyrə tiplərində fərqli olan çoxsaylı zülal hədəflərini, o cümlədən transkripsiya faktorlarını fosforlaşdırır. (b) Başqa reseptorlar, xüsusən də yeddi dəfə membrana sarınan reseptorlar böyük GTP-birləşdirən *Gα* zülalları fəallaşdırır, onlar isə öz növbəsində spesifik kinazaları və ya başqa siqnal zülallarını fəallaşdırırlar. (c) Bir sıra siqnal yollarına sitozolda çoxzülallı komplekslərin pozulması daxildir, bu zaman transkripsiya faktoru azad olur və sonra nüvəyə translokasiya edir. (d) Bəzi siqnal yolları geriə dönməyəndir; çox hallarda reseptorun proteolitik kəsilməsi fəal transkripsiya faktorunu azad edir.

İkincisi, başqa transkripsiya faktorları, histon oxuyucuları və modifikatorları və fəallaşmış xüsusi transkripsiya faktoru ilə əlaqəyə girən xromatin remodellediriciləri genin tənzimləyici ardıcılığına faktorun birləşməsi ilə hansı genin induksiya olunacağını və ya repressiya olunacağını müəyyən edirlər. Xüsusilə də, çox hüceyrə tipləri bir və ya daha artıq *əsas (master) transkripsiya faktorunu* ekspressiya edir, bu da hüceyrənin kimliyini və inkişaf taleyini təyin edir. Son zamanların tədqiqatları göstərir ki, hüceyrə səth reseptorları tərəfindən fəallaşan transkripsiya faktorları xromosom DNT-sində tənzimləyici saytlarda – əsasən də enhanserlərdə – bu master faktorlara yaxın birləşir və beləliklə hüceyrə-spesifik genləri induksiya (və ya repressiya) edirlər (bax Şəkil 16-2).

Siqnal yolu təklikdə fəaliyyət göstərmir. Çox sayda hüceyrələr çoxsaylı müxtəlif hormonlara və başqa siqnal molekullarına cavab verirlər, məməlilərin bəzi hüceyrələri təxminən yüzə qədər müxtəlif tipli hüceyrə-səth reseptorlarını ekspressiya edirlər, bunların hər biri fərqli liqanda birləşir. Çox genlər, müxtəlif hüceyrədəxili siqnal yolları ilə fəallaşan və ya repressiya olunan çoxsaylı transkripsiya faktorları ilə tənzimləndiyindən, istənilən bir genin ekspressiyası çoxsaylı hüceyrəxarici siqnallarla tənzimləyə bilər. Xüsusən inkişafın erkən dövründə, siqnal yolları arasında gözlənilməyən belə “çarpaz keçidlər” və nəticədə genin ekspressiyası profilində əmələ gələn ardıcıl dəyişilmələr sonda elə geniş ola bilər ki, hüceyrə tamam fərqli inkişaf taleyinə malik olur. Bu fəsildə, biz qanda qlükozanın səviyyəsi və piy hüceyrələrinin (piy saxlayan hüceyrələrin) əmələ gəlməsi kimi metabolizmin mühüm aspektlərini tənzimləmək üçün çoxsaylı siqnal yollarının necə qarşılıqlı təsirdə olduqlarını görəcəyik.

Biz reseptorların böyük bir sinifinin—serinkinazalar reseptorunun—müzakirəsi ilə başlayırıq, bu reseptorlar öz müvafiq hormonları ilə fəallaşanda bir və ya daha artıq transkripsiya faktorlarını birbaşa fosforlaşdıraraq fəallaşdırırlar, fəallaşan bu faktorlar öz növbəsində birbaşa nüvəyə miqrasiya edirlər. Biz dəqiqliklə görəcəyik ki, bu faktorlar xromatinin epigenetik vəziyyətindən və master transkripsiya faktorlarının və digər hüceyrəspesifik zülalların mövcud olmasından asılı olaraq müxtəlif hüceyrə tiplərində çox müxtəlif genləri necə fəallaşdırırlar.



ŞÖKİL 16-2 Xüsusi bir genin transkripsiya faktoru ilə induksiya yalnız bu faktorun birləşmə saytıdan asılı deyildir, həmçinin bu genin epigenetik vəziyyətindən və master transkripsiya faktorunun və digər nüvə zülallarının mövcudluğundan asılıdır. İstənilən verilmiş fəallaşmış transkripsiya faktorunun xromosom DNT-si üzərində onun potensial birləşə bildiyi çoxsaylı saytları vardır (yaşıl), amma istənilən verilmiş hüceyrədə o yalnız “açıq xromatin” konformasiyasında olan və spesifik master transkripsiya faktorlarının

və ya digər hüceyrə-spesifik zülalların (onlar burada müvafiq olaraq mavi və qırmızı rəngdə verilir) DNT-nin yaxınındakı rayonuna birləşmiş olduğu saytlara birləşəcəkdir. Başqa potensial transkripsiya faktoru birləşən saytlar bu hüceyrə tipində ekspressiya olunmayan başqa master transkripsiya faktorlarının birləşmə saytlarına btişik (yaxın) yerləşirlər (sarı), beləliklə də transkripsiya faktoru o saytlara birləşməyəcək.

16.1 Smad-ları Fəallaşdıran Serin Kinaza Reseptoru

Bu bölmədə biz, təkamül gedişində qorunub saxlanmış serin kinaza reseptorlar ailəsinin (TGF- β reseptor superailəsi) və onlara birləşən qorunub saxlanmış siqnal molekullarının böyük ailəsinin (TGF- β superailəsi) müzakirə edəcəyik. Bu reseptorlar, bir sıra inkişaf və differensiasiya yollarını tənzimləyən konservativ transkripsiya faktorlarının birini (Smad) fosforlaşdıraraq fəallaşdırırlar. Stimullaşmamış hüceyrələrdə Smad-lar sitozolda yerləşirlər, amma fəallaşarkən transkripsiyanı tənzimləmək üçün nüvəyə keçirlər. TGF- β yolu müxtəlif hüceyrə tiplərində çox geniş müxtəliflikdə təsirə malikdir, çünki TGF- β superailəsinin müxtəlif üzvləri TGF- β reseptor ailəsinin müxtəlif nümayəndələrini fəallaşdırır, onlar da öz növbəsində Smad-lar sinifinə aid olan transkripsiya faktorlarının müxtəlif nümayəndələrini fəallaşdırırlar. Bundan əlavə, biz görəyik ki, fəallaşmış eyni Smad zülal müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif transkripsiya faktorlarına tərəfdaş (partnyor) olacaq, beləliklə də müxtəlif hüceyrələrdə müxtəlif gen dəstlərini fəallaşdıracaqlar.

Transformasiya edici boy faktoru β (transforming growth factor β – TGF- β) superailəsinə, həm onurğasızlarda,

həm də onurğalılarda inkişafın tənzimlənməsində geniş rol oynayan, bir-birinə yaxın olan çoxsaylı hüceyrəxarici siqnal molekulları daxildirlər. TGF- β superailəsinin əsasını təşkil edən nümayəndəsi TGF- β 1, xərçəngin erkən mərhələsində kultura olunan bir sıra məməli hüceyrə xətlərində (“transformasiya edən boy faktoru”) bəd xassəli fenotipi induksiya etmə qabiliyyətinə əsasən identifikasiya olunmuşdur, bu halda, TGF- β 1 metastazi, Fəsil 24-də müzakirə olunan, ilkin şiş hüceyrələrinin yayılmasını və orqanizmi “zəbt etməsini” təşviq edir. Amma, insanın üç TGF- β izoformalarının, TGF- β 1, 2 və 3-ün hamısının məməlilərin əksər normal (xərçəng olmayan) hüceyrələrində əsas funksiyası hüceyrə tsiklini ingibirləşdirən zülalların, o cümlədən hüceyrə tsiklinin S fazaya keçməsi üçün vacib olan tsiklindən asılı olan kinazaları (CDK) ingibirləşdirən (bax Şəkillər 1-21 və 19-10) p15^{INK4B} zülalının sintezini induksiya etməklə onların proliferasiyasına potensial mane olmaqdır.

TGF- β orqanizmdə çox hüceyrələr tərəfindən istehsal olunur və həm ifraz edən hüceyrənin (avtokrin siqnal verilməsi) həm də qonşu hüceyrələrin (parakrin siqnal verilməsi) inkişafını ingibirləşdirir. TGF- β reseptorların və ya TGF- β yolundakı istənilən hüceyrədaxili siqnal zülalının itməsi hüceyrələri böyümənin belə ingibirləşməsindən azad edir və çox hallarda insan şişlərinin erkən inkişafı baş verir. TGF- β zülallar toxumunun təşkilində əhəmiyyətli rol oynayan (bax Fəsil 20)

hüceyrə-adgeziya molekullarının və hüceyrəxarici-matrisa molekullarının ekspressiyasını da gücləndirir. TGF-β-ın *Drosophila*-da Dpp zülalı adlanan homoloqu milçəyin rüşeyminin dorsal-ventral formalaşmasında iştirak edir. TGF-β superailəsinin məməllilərdəki başqa nümayəndələri olan **aktivinlər** və **ingibinlər** urogenital traktın inkişafının erkən dövründə təsir edirlər. Bu superailənin başqa bir nümayəndəsi *sümük morfogenetik zülalı* (*bone morphogenetic protein – BMP*) ilk dəfə kultura olunan hüceyrələrdə sümük formalaşmasını induksiya etmək qabiliyyətinə görə identifikasiya olunmuşdur. Hazırda BMP7 adlandırılan zülaldan ağır sümük sınıqlarından sonra sümüyün bərkiməsində kliniki istifadə olunur. Daha sonra tapılmış çoxsaylı BMP zülallarının əksəriyyəti inkişafın əsas mərhələlərini o cümlədən mezodermanın və ilkin qan-əmələ gətirən hüceyrələrin formalaşmasını induksiya edir. Bu zülalların çoxunun isə sümüklə heç bir əlaqəsi yoxdur.

TGF-β Zülallar Hüceyrəxarici Matrisada Qeyri Fəal Formada Saxlanılır

TGF-β, Qolci kompleksində kəsilərək ayrılan uzun N-sonluq *prodomeni* ilə birlikdə sintez olunur. TGF-β-nin monomer forması üç molekul daxili konservativ disulfid əlaqəyə malikdir. Hər bir monomerin ortasında olan əlavə sistein TGF-β monomerlərini endoplazmatik şəbəkədə tapılmış funksional homodimerlərdə və heterodimerlərdə birləşdirir (bax Şəkil 16-3a). Zülal ifraz olunarkən prodomen qeyri kovalent əlaqə ilə TGF-β boy faktoru domeninə bağlanmış vəziyyətdə olur və TGF-β-nin öz hüceyrə-səth reseptoruna birləşməsinə mane olur. Latent (gizli) prohormon-TGF-β kompleksi ifrazedici hüceyrə yaxınlığında hüceyrəxarici matrisanın spesifik komponentlərinə bağlanmış vəziyyətdə saxlanılır.

Proteazalarla kəsilmə də daxil olmaqla, bir sıra mexanizmlər fəal TGF-β-ni hüceyrəxarici matrisadan azad edir və hüceyrənin siqnal ötürməsinin sürətlə fəallaşmasına səbəb olur. TGF-β-nin fəallaşmasının ikinci əhəmiyyətli və qeyri adi yolu TGF-β1 və TGF-β3-ün prodomenlərinin malik olduğu, hüceyrə-səthi membran zülallarının inteqrinlər adlanan sinifinə birləşən (Fəsil 20-də müzakirə olunur) üç-amin-turşulu motifin, **RGD (Arg-Gly-Asp)** tanınmasından meydana gəlir, inteqrinlər çox hüceyrəxarici-matrisa zülallarında olan RGD motifə birləşirlər. Qeyd edək ki, αvβ6 və ya αvβ8, kimi adlandırılan iki inteqrindən istənilən birinin TGF-β prodomenindəki RGD motifə birləşməsinin ardınca inteqrin ekspressiya edən hüceyrələrin dartılması (daralması) baş verir, prodomeni fiziki olaraq latent TGF-β-dan kənara itələyir, onu eyni hüceyrədəki hüceyrə-səth reseptorlarına birləşmək üçün sərbəst vəziyyətə gətirir və siqnal ötürülməsini inisiyasiya edir.

Üç Ayrı TGF-β Reseptor Zülalı TGF-β-nin Birləşməsində və Siqnal Ötürülməsinin Fəallaşdırılmasında İştirak Edir

Tezliklə tədqiqatçılar TGF-β1-i inkişafın əsas ingibitor faktoru kimi aşkar etdilər, amma onun necə fəaliyyət göstərdiyini anlamaq üçün tədqiqatçılar onun birləşdiyi reseptoru tapmalı idilər. Reseptoru identifikasiya etmək üçün onların axtarışlara necə başlama məntiqi tipik biokimyəvi yanaşma yolu ilə oldu

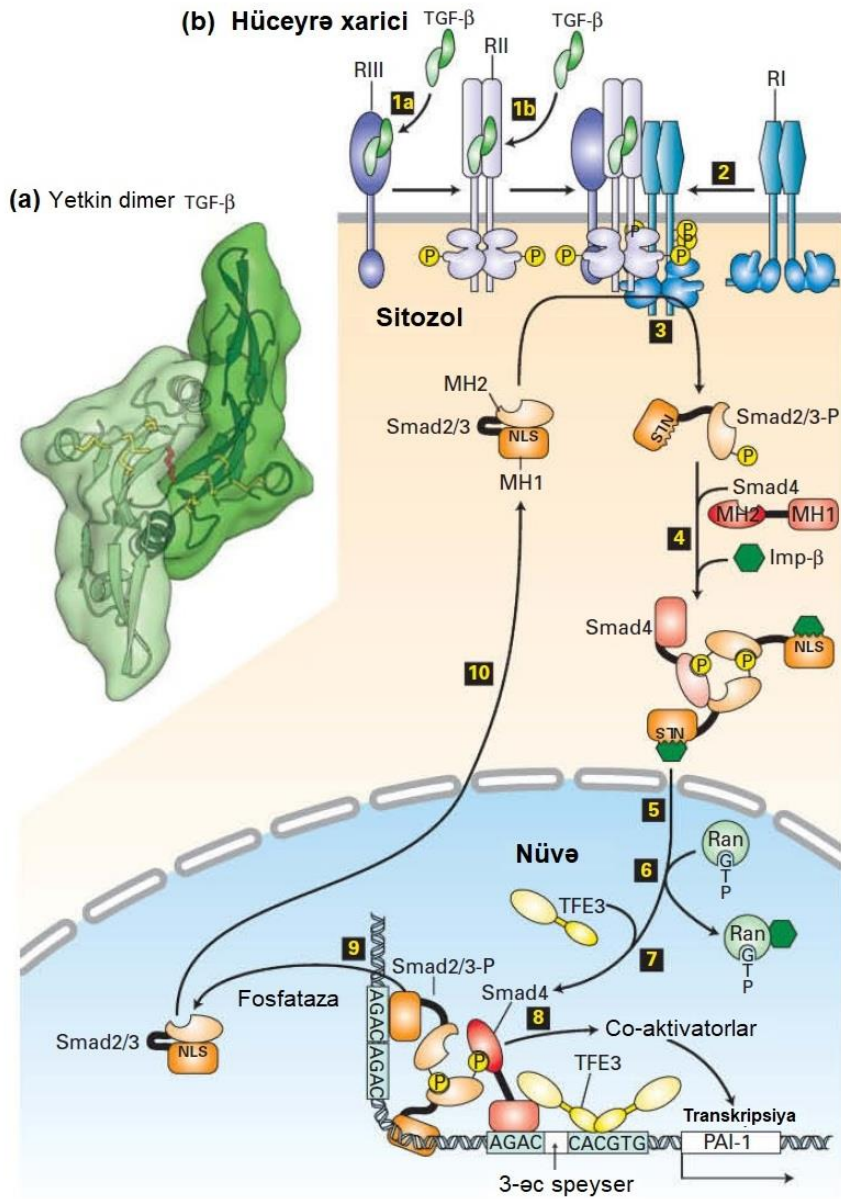
(bax Bölmə 15-2). Əvvəlcə tədqiqatçılar təmizlənmiş boy faktoruna radioaktiv yod-125 (¹²⁵I) ilə elə təsir etdilər ki, yod açıqda qalan tirozin qalıqlarına birləşsin və onları effektiv nişanlasın. Sonra, ¹²⁵I-nişanlanmış TGF-β zülalı kultura olunan hüceyrələrlə inkubasiya olundu və nişanlanmış TGF-β-ni onun hüceyrə səthindəki reseptoruna kovalent-bağlayan kimyəvi agentlə inkubasiya qatışığına təsir edildi. ¹²⁵I-nişanlanmış TGF-β-reseptor kompleksinin təmizlənməsi 55, 85 və 280 kDa molekul çəkiyə malik olan üç müxtəlif polipeptidi aşkar etdi, bunlar da uyğun olaraq RI, RII və RIII TGF-β reseptoru kimi qeyd olundular.

Şəkil 16-3 (pillə 1 və 2) üç TGF-β reseptor zülalının qarşılıqlı münasibətlərini göstərir. Həm də β-qlıkan kimi adlanan, daha zəngin olan RIII hüceyrə-səth **proteoqlikanıdır**. Proteoqlikan, heparin sulfat və xondroitin sulfat kimi **qlükozaminqlikan (GAG)** zəncirinə (Şəkil 20-32) birləşmiş zülaldan təşkil olunmuşdur. Transmembran zülal RIII hüceyrə səthinə yaxın yerləşən TGF-β molekullarına birləşərək onları qatılaşdırır və onların RII reseptorla birləşməsinə şərait yaradır. RI və RII reseptorlar, sitozol domeninin bir hissəsi kimi serin/treonin kinazaya malik olan dimer transmembran zülallardır. RII *konstitutiv* kinaza fəallığı nümayiş etdirir, ona görə də o, hətta TGF-β ilə birləşmədikdə belə fəal olur. TGF-β-nin RII ilə birləşməsi TGF-β-RII interfeysində yeni molekulyar səthi əmələ gətirir və RI ilə birləşir, RI və RII-nin hər birinin iki nüsxəsinə malik olan komplekslərin əmələ gəlməsini induksiya edir, bu hüceyrə səth reseptorlarının ligandla-induksiya olunan hetero-oligomerləşməsinin başqa bir nümunəsidir. Sonra RII subvahidi RI subvahidin plazma membranının sitozol üzünə yaxın yerləşən, yüksək dərəcədə konservativ olan ardıcılığında serin və treonin qalıqlarını fosforlaşdırır, bununla da RI kinaza fəallığını fəallaşdırır.

Fəallaşmış TGF-β Reseptorlar Smad transkripsiya Faktorlarını Fosforlaşdırır

Drosophila və *C. elegans* ilə aparılan tədqiqatlarda tədqiqatçılar siqnal yolunda TGF-β reseptordan sonra gələn transkripsiya faktorlarını aşkar etdilər. *Drosophila*-da bu transkripsiya faktorları və onurğulılarda buna yaxın olan zülallar indi **Smad** zülallar adlandırılır. TGF-β siqnal yolunda üç tip Smad zülalı iştirak edir: R-Smad-lar (reseptorla tənzimlənən Smad-lar, Smad 2 və 3), ko-Smad-lar (Smad4), və I-Smad-lar (ingibitor Smad-lar, Smad7).

Şəkil 16-3-də göstəriləndiyi kimi, R-Smad (Smad 2 və ya Smad 3) MH1 və MH2 kimi adlandırılan, bir-birindən dəyişkən linker rayonu ilə ayrılan iki domenə malikdir. N-sonluq MH1 domeni xüsusi DNT-birləşdirən seqmentə malikdir və bu domenə *nüvə-lokalizasiya-siqnalı (NLS)* da deyilir. NLS virtual olaraq sitozolda tapılmış bütün transkripsiya faktorlarında vardır və bu onların nüvəyə daşınması üçün tələb olunur (bax Fəsil 13). Amma, R-Smad-lar qeyri fəal fosforlaşmamış vəziyyətdə olanda NLS gizlənmiş vəziyyətdə olur, beləliklə o importinə birləşə bilmir (bax Şəki 13-36) və MH1 və MH2 domenlər elə bir assosiasiya olunmuş vəziyyətdə olurlar ki, onlar DNT-yə və ya ko-Smad-a birləşə bilmirlər. TGF-β RI reseptorlar vasitəsilə fəallaşan R-Smad-ın C-sonluğu yaxınlığında iki serin qalığının fosforlaşması iki domeni ayırır importinin NLS-ə birləşməsinə mümkün edir və Smad-ların nüvəyə daxil olmasını kataliz edir.



ŞƏKİL 16-3 TGF- β /Smad siqnal yolu. (a) Yetkin TGF- β dimerin lent diaqram quruluşu. Hər bir monomerdə üç zəncirdaxili disulfid əlaqə (sarı) sistein-düyükünlü domeni əmələ gətirir, başqa disulfid əlaqə (qırmızı) iki monomeri əlaqələndirir. (b) Pillo 1a: Bəzi hüceyrələrdə, TGF- β onu II tip reseptora (RII) təqdim edən III tip TGF- β reseptora (RIII) birləşir. Pillo 1b: Başqa hüceyrələrdə, TGF- β birbaşa konstitutiv fəal kinaza RII-yə birləşir. Pillo 2: Liqand-birləşmiş RII TGF- β ilə birbaşa birləşməyən I tip reseptorun (RI) membrana yaxın yerləşən seqmentini səfərbər edir və fosforlaşdırır. Bu RI kinaza fəallığının ingibirləşməsinə azad edir. Pillo 3: Fəallaşmış RI sonra Smad2 və ya Smad3-ü (burada Smad 2/3 kimi göstərilir) fosforlaşdırır, onun nüvə lokalizasiya siqnalını (NLS) üzə çıxaran konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir. Pillo 4: Smad2/3-ün iki fosforlanmış molekulu, fosforlaşmamış ko-Smad (Smad4) molekulu ilə və importinlə birləşir və böyük sitozol kompleksini əmələ gətirir. Pillo 5 və 6: Əmələ gəlmiş tam kompleks nüvəyə translokasiya olunduqdan sonra, Fəsil 13-də müzakirə olunduğu kimi, Ran•GTP importinin dissosiasiyasına səbəb olur. Pillo 7: Nüvə transkripsiya faktoru (məsələn, TFE3) sonra Smad2/3/Smad4 komplekslə birləşir və hədəf genin tənzimləyici ardıcılıqlarına kooperativ birləşən fəallaşma kompleksini əmələ gətirir. Pillo 8: Sonra bu kompleks, transkripsiya ko-aktivatorunu səfərbər edir və genin transkripsiyasını induksiya edir (bax Fəsil 9). Smad2/3 nüvə fosfatazası vasitəsi ilə defosforlaşır (pillo 9) və nüvə məsələlərindən keçərək yeni dövrəyə qoşulur (pillo 10), burada o, başqa bir TGF- β reseptor kompleksi ilə yenidən fəallaşma bilər. Aşağıda göstərilən plazminogen aktivatorun ingibitorunu (PAI-1) kodlaşdıran gen üçün fəallaşdırma kompleksidir və oxşar transkripsiya kompleksləri fibronektin kimi hüceyrəxarici matrisə zülallarını kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını fəallaşdırırlar. See A. Moustakas and C.-H. Heldin, 2009, *Development* 136:3699, və D. Clarke and X. Liu, 2008, *Trends Cell Biol.* 18:430. [(a) hissəsindəki verilənlər S. Daopin et al., 1992, *Science* 257:369, PDB ID 2tgi-dan.]

Eyni zamanda, hər bir Smad3-də RI reseptor kinaza ilə fosforlanmış iki serin qalığı Smad3 və Smad4-dəki MH2 domenlərin fosfoserin birləşmə mərkəzinə birləşir və iki molekuldan, Smad3 (və ya Smad2) və bir molekul ko-Smad-dan (Smad4) ibarət olan stabil kompleksini əmələ gətirir. Sonra birləşmiş importin heteromer R-Smad/ko-Smad kompleksinin nüvəyə translokasiyasına kömək edir. İmportin nüvə daxilində dissosiasiya etdikdən sonra Smad3/Smad4 (və ya Smad2/Smad3) kompleksi spesifik hədəf geninin transkripsiyasını fəallaşdırmaq üçün başqa bir transkripsiya faktoruna birləşir.

Nüvə daxilində, R-Smad-lər onlarda linker domenlərinin fosforlaşması ilə, MH1 domenlərinin asetilləşməsi ilə, MH2 domenlərinin ubikvitinləşməsi ilə və nüvə fosfatazaları vasitəsi ilə C-sonluqlarında serin qalıqlarının defosforlaşması ilə modifikasiya olunurlar. Ümumilikdə belə çoxsaylı modifikasiyalar transkripsiya fəallığının tənzimlənməsi ilə və

sonda R-Smad/ko-Smad kompleksinin dissosiasiya və Smad-ların eksportinlər vasitəsilə nüvədən daşınması (eksport olunması) ilə nəticələnirlər. Beləliklə, nüvə daxilində fəal Smad-ların qatılığı hüceyrə səthindəki fəallaşmış TGF- β reseptorun səviyyəsini yaxından əks etdirir və transkripsiyanın tənzimlənməsinin mühitdəki fəal TGF- β -nın səviyyəsi ilə sıx davam etməsinə imkan verir.

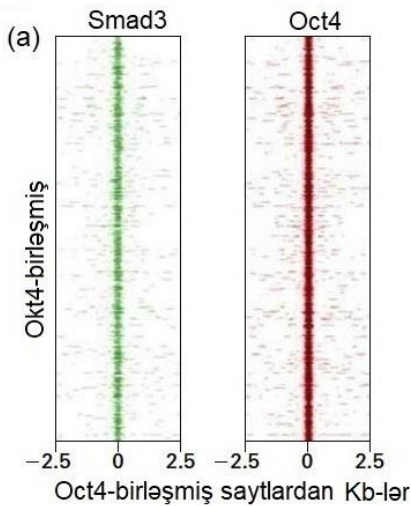
TGF- β ailəsinə daxil olan çox BMP zülalları TGF- β RI və RII zülallara oxşar olan, amma başqa Smad-ları fosforlaşdıran müxtəlif reseptorlar dəstinə birləşərək onları fəallaşdırırlar. Fosforlaşan bu Smad-lardan ikisi Smad4-lə trimer kompleksini əmələ gətirir və bu Smad kompleksi TGF- β reseptorların induksiya etdiyi cavabdan fərqli transkripsiya cavablarını fəallaşdırırlar.

Smad3/Smad4 Kompleksi Müxtəlif Hüceyrə Tiplərində Müxtəlif Genlərin Ekspressiyasını Fəallaşdırır

Virtual olaraq bütün məməli hüceyrələri ən azı bir TGF- β izoformunu ifraz edir və əksəriyyəti öz səthlərində TGF- β reseptoruna malik olur. Amma TGF- β ilə induksiya olunan hüceyrə cavabı hüceyrə tipləri arasında fərqlənir. Məsələn, epitel hüceyrələrində və fibroblastlarda TGF- β hüceyrəxarici-matrisa zülallarının (məsələn, fibronektin və kollagenlər, bax Fəsil 20) ekspressiyasını induksiya edir. O həmçinin zərərli proteazalarını ingibirləşdirən zülalların da ekspressiyasını induksiya edir, əks halda bu proteazalar hüceyrəxarici matrisa zülallarını parçalayardı. Bu ingibirləşmə matrisanı stabilləşdirir və hüceyrələrə stabil toxumanı əmələ gətirməyə imkan verir. İngibitor zülallara plazminogen aktivator inhibitoru 1 (PAI 1) daxildir. PAI 1 geninin transkripsiyası R-Smad/ko-Smad (Smad3/Smad4) kompleksi ilə TFE3 transkripsiya faktorunun kompleksinin əmələ gəlməsini və bütün bu zülalların PAI-1 genində tənzimləyici rayon daxilindəki xüsusi ardıcılığa birləşməsinə tələb edir (Şəkil 16-3, aşağıda). Fibroblastlarda ekspressiya olunan başqa transkripsiya faktorlarının iştirakı ilə R-Smad/ko-Smad kompleksi başqa zülalları, məsələn G₁ fazasında hüceyrə tsiklini arrest edən və beləliklə, hüceyrə

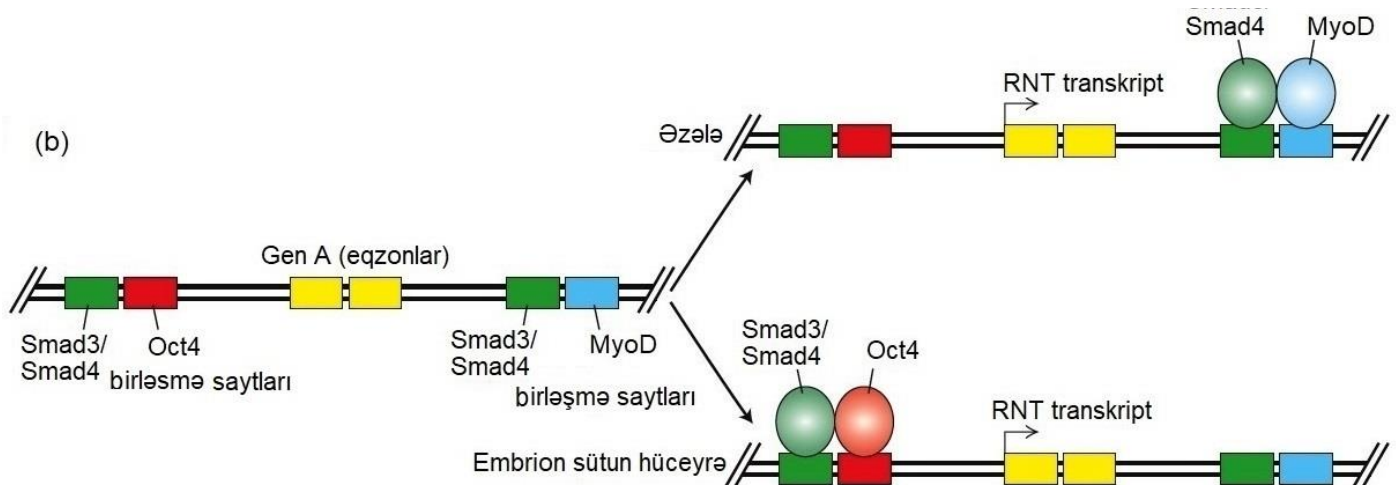
proliferasiyasını blok edən (bax Fəsil 19) p15^{INK4B} kimi zülalları kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını gücləndirir.

Ümumiyyətlə, Smad3/Smad4 kompleksin DNT tənzimləyici rayonuna birləşməsi və verilmiş geni fəallaşdırması üçün DNT-dəki birləşmə seqmenti fəal "açıq" xromatin konformasiyasında olmalıdır. Eyni dərəcədə əhəmiyyətlidir ki, Smad3/Smad4 kompleksinin birləşməsi üçün başqa transkripsiya faktorlarının da yaxın bitişik DNT saytına birləşməsi tələb olunur, çox zaman bu transkripsiya faktorları, hüceyrənin inkişafı zaman onun identifikliyini müəyyən edən master transkripsiya faktorları olur. Məsələn, Fəsil 21-də biz öyrənəcəyik ki, Oct4 transkripsiya faktoru iki başqa transkripsiya faktoru ilə, embrion sütun (ES) hüceyrələrinin differensiasiya olunmamış vəziyyətdə qalması üçün vacib olan Sox1 və Nanog faktorları ilə kompleks əmələ gətirir və bu üç master transkripsiya faktorunun bir və ya iki başqa transkripsiya faktoru ilə birlikdə ekspressiyası kifayətdir ki, differensiasiya etmiş hüceyrənin (məsələn, immun sistemi hüceyrəsinin) ES hüceyrəyə çevrilməsini yenidən proqramlaşdırın. Smad3/Smad4 kompleksinin TGF- β ilə fəallaşması da ES hüceyrələrin differensiasiya olunmamış vəziyyətdə saxlanması üçün tələb olunur.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 16-4 Smad3/Smad4 kompleksi DNT-yə hüceyrə-spesifik

master transkripsiya faktorlarının birləşdiyi saytlara yaxın saytda birləşir. (a) İnsanın embrional sütun (ES) hüceyrələrində Smad3/Smad4 kompleksi ES master transkripsiya faktoru Oct4-ün tutduğu sayt yaxınlığındakı sayta birləşir. Smad3 və ya Oct4-ə spesifik anticimədən istifadə edərək xromatin immunökdürmə tədqiqatları aparılaraq bu faktorların birləşdiyi DNT ardıcılığı təyin edilmişdir; bu proses çox zaman "Chip-Seq" kimi qısaltma ilə işarələnir. Qrafikin y oxu ən yuxarı Oct4-lə birləşmiş 1000 saytdır; qırmızı rəngin intensivliyi Oct4-ün birləşdiyi bu saytda 2500 əsas yuxarıya istiqamət (+) və aşağıya istiqamət (-) daxilində DNT-nin miqdarına mütənasibdir. Sol panel Smad3-ün 1000 Oct4 saytlarından 2500 əsas daxilində DNT ardıcılığına birləşməsinə göstərir, aydındır ki, Oct4 saytlarının əksəriyyətində onlara yaxın birləşmiş Smad3 vardır. Ən yuxarı 100 Smad3 saytları ətrafında toplanmış oxşar olan qrafiklər göstərir ki, Smad3 birləşmiş bu saytların 80 faizindən çoxunun birləşmiş Oct4-ü də vardır. (b) Smad3 müxtəlif hüceyrə-spesifik master transkripsiya faktorlarının tutduğu tənzimləyici DNT ardıcılığına birləşməklə eyni geni müxtəlif hüceyrə tiplərində tənzimləyə bilər. Bu fəzölunən senaridə, Smad3/Smad4 kompleksi (yaşıl) eyni geni ES hüceyrələrində və əzələ hüceyrələrində fəallaşdırır. ES hüceyrələrdə, o tənzimləyici saytları Oct4 (qırmızı, DNT-də birləşmə saytı qırmızı rənglə verilir) ilə birlikdə tutur, əzələlərdə isə müxtəlif tənzimləyici saytları əzələ master transkripsiya tənzimləyicisi MyoD (mavi) ilə birlikdə tutur. [(a) hissəsindəki verilənlər A. Mullen et al., 2011, *Cell* 147:565-dən.]



Şəkil 16-4-də ümumiləşdirilmiş şəkildə verilmiş xromatin immuncökdürmə-DNT ardıcılığının oxunması eksperimenti göstərir ki, ES hüceyrələrdə Smad3/Smad4 kompleksi DNT-də Oct4-ün zəbt etdiyi sayta yaxın saytda birləşir, oxşar eksperiment göstərdi ki, Sox2 və Nanog bu saytların əksəriyyətinə birləşir. Əksinə, MyoD və buna yaxın olan transkripsiya faktoru Myf5 eninəzolaqlı əzələ toxumalarının inkişafında master transkripsiya faktorlarıdır, Oct4, Sox2 və Nanog isə ekspresiya olunurlar, əzələ hüceyrələrində Smad3/Smad4 kompleksi genin ES hüceyrələrdə Smad3/Smad4 kompleksinin birləşdiyi DNT saytlarından çox fərqli olan, MyoD tərəfindən zəbt olunmuş saytlara yaxın (bitişik) olan tənzimləyici saytlara birləşir. Əzələlərdə tənzimləyici rayonu Smad3/Smad4 kompleksi tərəfindən birləşən genlərin təxminən 13 faizi ES hüceyrələrdə də Smad3/Smad4 kompleksi tərəfindən birləşir, amma bu birləşmə saytlarının ətraflı analizi göstərdi ki, Smad3/Smad4 kompleksi bu müxtəlif hüceyrə tiplərində eyni geni müxtəlif tənzimləyici DNT ardıcılıqlarına, daha böyük ehtimalla müxtəlif hüceyrə-spesifik master transkripsiya faktorları ilə tutulan enhanser rayonlarına birləşməklə tənzimləyir (Şəkil 16-4b). Bizim əvvəllər qeyd etdiyimiz kimi, başqa tip hüceyrə-səth reseptorları tərəfindən fəallaşan başqa tip transkripsiya faktorları da müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif genlər dəstini fəallaşdırır və ya repressiya edir. Biz bu fəsilə görəyik ki, həmin transkripsiya faktorları həmin genləri TGF-β reseptor tərəfindən fəallaşan Smad-lərdə olduğu kimi eyni şəkildə tənzimləyir.

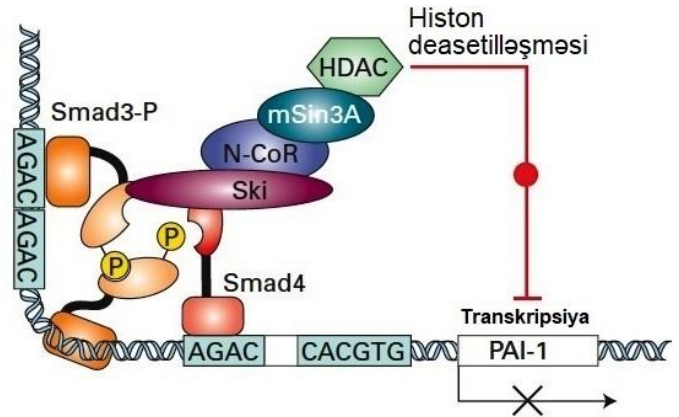


TGF-β siqnal yolunun itirilməsi bir-cox xərçəng xəstəliklərinin erkən inkişaf etməsində aparıcı rol oynayır. Çox sayda insan şişlərində ya TGF-β reseptorlarında, ya da Smad zülallarda fəalsızlaşdırıcı mutasiya baş verir, beləliklə böyümənin TGF-β ilə ingibirləşməsinə qarşı davamlı olurlar (bax Şəkil 24-24). Məsələn, insanın mədəaltı vəz xərçənginin çoxu Smad4 zülalını kodlaşdıran gendə silinmə baş verir, ona görə də TGF-β-ya cavab olaraq hüceyrə tsiklinin ingibitoru induksiya oluna bilmir. Faktiki olaraq, Smad4 əslində *DPC* (mədəaltı xərçəngdə silinmiş – *deleted in pancreatic cancer*) adlandırılırdı. Retinoblastomada, yoğun bağırsağ və mədə xərçənglərində, hepatomada və bəzi T- və B-hüceyrələrdə bəd xassəlilik inkişafın TGF-β ilə ingibirləşməsinə cavab vermir. Belə cavab verməmə I və ya II tip TGF-β reseptorlarının itməsi ilə korelyasiya edir; belə cavabverməmə “itmiş” zülalın rekombinant ekspresiyası ilə bərpa oluna bilər. Smad2-də mutasiyalar da insanın bir sıra şişlərində çox rast gəlinir. ■

Mənfi Geriyəəlaqə İlgəyi TGF-β/Smad Siqnal Verilməsini Tənzimləyir

Əksər siqnal yollarında, boy faktorlarına və ya başqa siqnal molekullarına cavab tədricən zəifləyir (bu fenomen desensibilizasiya adlanır). Bu cavab adaptivdir, həddən artıq reaksiyanın qarşısını alır, hüceyrə cavabına incə-nizamlanmış nəzarəti təmin edir. *SnoN* və *Ski* (*Ski* “Sloan-Kettering Cancer Institute” adından götürülüb) adlanan iki sitozol zülalı virtual olaraq orqanizmin bütün hüceyrə tiplərində TGF-β siqnal yolu ilə induksiya olunur TGF-β/Smad yolunun azalan-

tənzimlənməsini həyata keçirirlər. Bu zülallar ilk əvvəl xərçəng əmələ gətirən **onkozülallar** kimi identifikasiya olunmuşlar, çünki *Ski* və *SnoN* çox xərçənglərdə, o cümlədən melanomalarda və müəyyən süd vəzi xərçənglərində yüksək dərəcədə ekspresiya olunurlar, ona görə ki, normal halda TGF-β ilə induksiya olunan böyümə-ingibitoru zülalları istehsal olunurlar. Həqiqətən də, *Ski* və ya *SnoN* kultura olunan əsas fibroblast hüceyrələrində yüksək dərəcədə ekspresiya olunarkən, anormal hüceyrə proliferasiyasının baş verməsinə səbəb olurlar, mədəaltı vəzin xərçəngində *Ski*-nin azalan tənzimlənməsi isə şişin böyüməsinin qarşısını alır.



ŞƏKİL 16-5 Smad-in transkripsiya-fəallaşdırma funksiyasının Ski-vasitəsi ilə azalan-tənzimlənməsinin modeli. *Ski* birbaşa Smad4-ə birləşərək Smad funksiyasını repressiya edir. Smad4-ün *Ski*-birləşən domeni Smad3-ün fosforlaşmış quyruğuna birləşmək üçün tələb olunan Smad4 MH2 domenlə kifayət qədər bir-birini örtüyündən *Ski*-nin birləşməsi transkripsiyanın fəallaşması üçün tələb olunan Smad3-lə Smad4 arasındakı normal qarşılıqlı əlaqəni qırır. Bundan başqa, *Ski* *mSin3A*-ya birbaşa birləşən *N-CoR* zülalını səfərbər (cəlb) edir, *mSin3A* öz növbəsində, yaxınlıqdakı promotor zonasında histon deasetilləşməsinə aparan ferment histon-deasetilaza (*HDAC*) ilə əlaqəyə girərək gen ekspresiyasını repressiya edir (bax Fəsil 9). Hər iki prosesin nəticəsində, TGF-β ilə induksiya olunan və Smad komplekslə həyata keçirilən transkripsiyanın fəallaşması dayandırılır. Buna yaxın olan zülal *SnoN* TGF-β ilə verilən siqnalın repressiyasında *Ski* kimi fəaliyyət göstərir. Bax J. Deheuninck and K. Luo, 2009, *Cell Res.* 19:47.

SnoN və *Ski*-nin anormal hüceyrə proliferasiyasına necə səbəb olması son vaxtlara qədər tam aydın deyildir, lakin aşkar edildi ki, onlar TGF-β ilə stimullaşdıqdan sonra həm ko-Smad-lara (*Smad4*), həm də fosforlaşmış R-Smad-lara (*Smad3*) birləşirlər. *SnoN* və *Ski* R-Smad/ko-Smad kompleksinin yaranmasına mane olmur və ya Smad kompleksinin DNT-nin nəzarət rayonlarına birləşmək qabiliyyətinə təsir etmirlər. Əksinə, onlar birləşmiş Smad kompleksi ilə, xüsusən də, yaxındakı xromatin seqmentlərində histon deasetilləşməsinə induksiya etməklə transkripsiyanın fəallaşmasını blok edirlər. Bu da, hüceyrələri TGF-β-nin böyümənin-ingibitoru təsirinə qarşı dözümlü edir (Şəkil 16-5). Ehtimal olunur ki, bu zülalların (*Ski* və *SnoN*-in) səviyyəsinin TGF-β ilə stimullaşmaqla artması, TGF-β-nin uzun müddətli fasiləsiz təsirinə görə uzun-müddətli siqnal ötürülməsini zəiflədir, bu mənfi geriyə əlqənin başqa bir nümunəsidir ki, burada TGF siqnal yolu ilə, indiki halda *SnoN*

ilə induksiya olunan gen TGF- β ilə siqnalın daha da ötürülməsini ingibirləşdirir.

TGF- β -nın stimullaşmasından sonra induksiya olunan zülallar arasında başqalarına, I-Smad-ları, xüsusən də Smad7-ni göstərmək olar. Smad7 fəallaşmış I tip reseptorların (RI) R-Smad zülallarını fosforlaşdırma qabiliyyətini blok edir, o həmçinin TGF- β reseptorlarını parçalanmaya hədəf edə bilər. Bu yollarda, Ski və SnoN kimi Smad7 də geriye əlaqə ilgəyində iştirak edir: onun induksiya olunması stimullaşdırıcı hormonla uzun-müddətli təsir nəticəsində hüceyrədaxili siqnal ötürülməsini ingibirləşdirir.

16.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Smad-ləri Fəallaşdıran Serin Kinaza Reseptoru

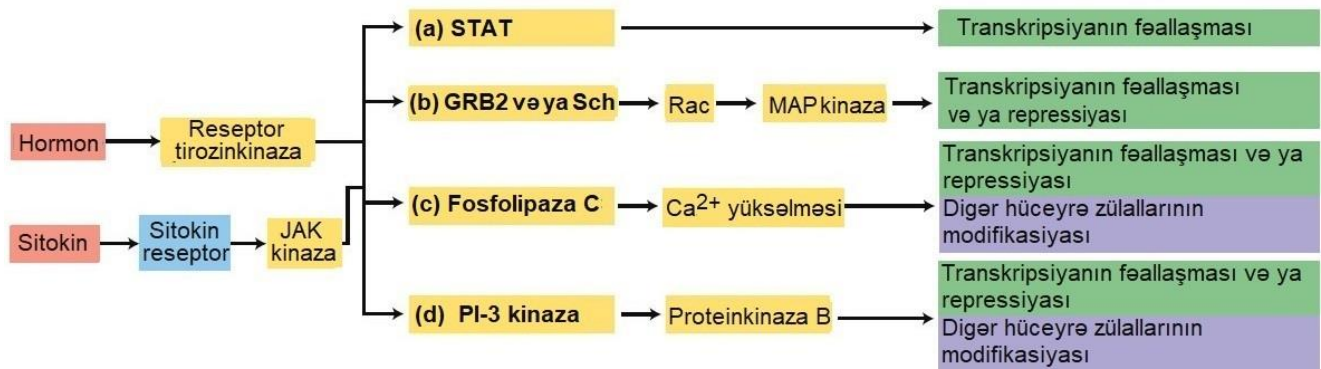
- Transformasiya edici boy faktoru β (TGF- β) superailəsinə inkişafın tənzimlənməsində hərtərəfli rol oynayan, çoxsaylı yaxın hüceyrəxarici siqnal molekulları daxildir.
- TGF- β dimerləri qeyri fəal formada hüceyrə səthində və ya hüceyrəxarici matrisada saxlanılır, fəal dimerlərin azad olması (məsələn, prodomenin mexaniki dartılması ilə və ya proteazalarla kəsilməklə) TGF- β siqnalını inisiyaya edir.
- TGF- β reseptorları üç tipdən (RI, RII, və RIII) ibarətdir. TGF- β superailəsi üzvlərinin RII reseptor kinazaya birləşməsi RII-ə imkan verir ki, RI reseptorun sitozol domenini fosforlaşdırsın və onun daxili serin/treonin kinaza fəallığını fəallaşdırsın. Sonra RI R-Smad-ı fosforlaşdırır və nüvə lokalizasiya siqnalını aşkara çıxarır (bax Şəkil 16-3).
- Fosforlaşmış R-Smad ko-Smad-a birləşdikdən sonra, əmələ gələn kompleks nüvəyə translokasiya olunur və orada müxtəlif transkripsiya faktorları ilə əlaqəyə girərək hədəf genlərin ekspressiyasını induksiya edir (bax Şəkil 16-3).
- Smad3/Smad4 kompleksi hüceyrə-spesifik master transkripsiya faktorlarının tutduğu saytlar yaxınlığında tənzimləyici DNT ardıcılığına birləşməklə müxtəlif hüceyrələrdə müxtəlif genləri induksiya edir (bax Şəkil 16-4).

- TGF- β 1 siqnal ötürülməsi əsasən hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirir. Siqnal yolunda müxtəlif komponentlərin itirilməsi anormal hüceyrə proliferasiyasına və bədxassəli şişlərin əmələ gəlməsinə səbəb olur.
- Onkozülallar (məsələn, Ski və SnoN) və I-Smad-lar (məsələn, Smad7) Smad2/3/Smad4 kompleksini ingibirləşdirməklə TGF- β siqnal ötürülməsinin mənfi tənzimləyiciləridirlər (Şəkil 16-5).

16.2 Sitokin reseptorları və JAK/STAT Siqnal Yolu

Bu bölmədə və növbəti bölmədə, biz reseptorların zülal tirozin kinazaları fəallaşdıran iki böyük sinifini müzakirə edirik. İnsan genomunda təxminən 90-a yaxın genə malik olan zülal tirozin kinazalar hədəf zülallarında, adətən tirozinin batdığı amin turşularının spesifik xətti ardıcılığı kontekstində spesifik tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır. Sonra, fosforlaşmış hədəf zülallar bir və ya daha artıq siqnal yolunu fəallaşdırır. Bu yollar, hüceyrə proliferasiyasının, differensiasiyasının, sağ qalmasının və metabolizminin çox aspektlərini tənzimlədiyindən diqqətəlayiqdir.

Tirozinkinazaları fəallaşdıran reseptorlar iki böyük kateqoriyaya ayrılırlar: (1) tirozinkinaza fermentinin reseptorun polipeptid zəncirinin daxili hissəsi olanlar (reseptorla eyni genlə kodlaşdırılırlar), bunlara **reseptor tirozinkinazalar deyilir (RTK-lar)**, biz onları 16.3 bölməsində müzakirə edirik; (2) **Sitokin reseptorlar**, burada reseptor və kinaza baxmayaraq ki, sıx şəkildə bir yerə birləşmişlər, onlar ayrı-ayrı genlərlə kodlaşdırılırlar. Sitokin reseptorlarda sıx şəkildə birləşmiş kinaza *JAK kinaza* kimi məlumdur. Hər iki sinif reseptor oxşar hüceyrədaxili siqnal ötürülməsi yolunu fəallaşdırır (Şəkil 16-6). Biz sitokin reseptorlardan başlayırıq, çünki onlar əsasən JAK/STAT yolu adlanan qısa siqnal ötürülməsi yollarında istifadə edirlər: STAT transkripsiya faktoru fəallaşmış reseptora birləşir, JAK kinaza ilə fosforlaşır, nüvəyə keçir və birbaşa transkripsiyanı fəallaşdırır.



ŞƏKİL 16-6 Zülal tirozin kinazaları fəallaşdıran reseptorlarla başlanan siqnal ötürülməsi yollarının ümumi icmalı. Həm RTKlar həm də sitokin reseptorlar, sonda genlərin transkripsiyasını tənzimləyən çoxsaylı siqnal ötürən yolları fəallaşdırırlar. (a) Əksər birbaşa yollarda, xüsusən də sitokin reseptorların istifadə olunduğu yollarda, STAT transkripsiya faktoru fəallaşan reseptora birləşir, fosforlaşır, nüvəyə keçir və birbaşa transkripsiyanı fəallaşdırır. (b) Bir tip adaptor zülalın (CRB2 və ya Sch) fəallaşmış reseptora birləşməsi Ras/MAP kinaza

yolunun fəallaşmasına səbəb olur (bax Bölmə 16.4). (c, d) İki fosfoinozidit yolu fosfolipaza C və PI-3 kinazanın membrana cəlb olunması ilə işə salınır (bax Bölmə 16.4). Ca^{2+} ionlarının səviyyəsinin artması və fəallaşmış proteinkinaza B transkripsiya faktorunun fəallığını və eləcə də hüceyrənin metabolik yollarında və ya hüceyrənin hərəkətində və ya formasında iştirak edən sitozol zülallarını modullaşdırır.

Sitokinlər Çox Hüceyrə Tiplərinin İnkişafına Təsir Edirlər

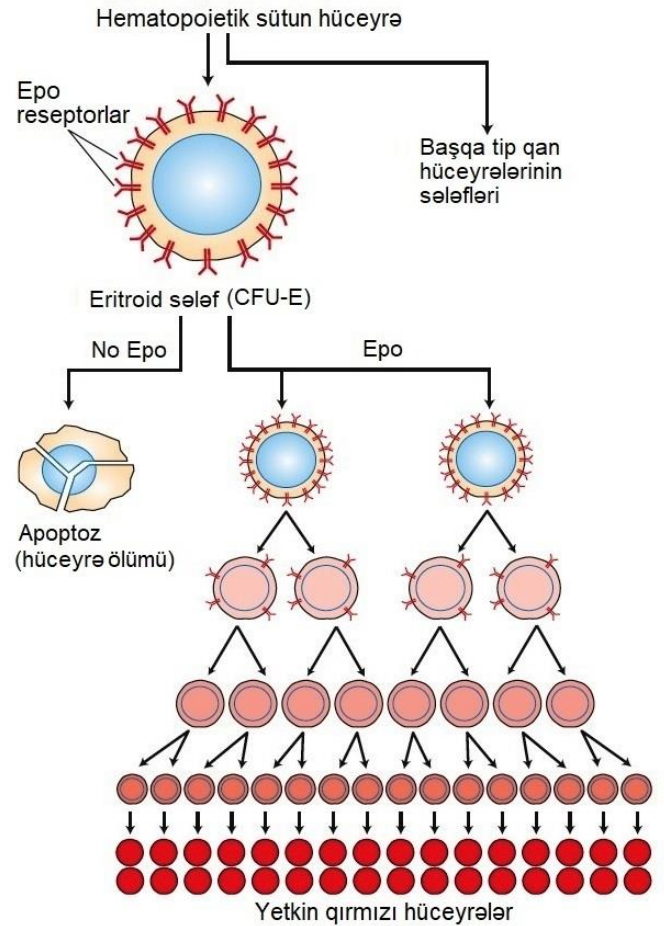
Sitokinlər, xüsusi hüceyrə tiplərinin inkişafına və differensiasiyasına nəzarət edən, ifraz olunan nisbətən kiçik siqnal molekulları (əsasən 160-200 amin turşusu qalığından ibarət olan) ailəsini təşkil edirlər. Sitokinlərin bir böyük ailəsi olan **interleykinlər** immun sistemində T hüceyrələrin və anticism istehsal edən B hüceyrələrin (bax Fəsil 23) proliferasiyası və funksiyası üçün vacibdir. Sitokinlərin başqa bir nümayəndəsi **interferonlar** virusla yoluxmanın ardınca müəyyən hüceyrə tipləri tərəfindən istehsal olunur və yaxınlıqda yerləşən hüceyrələrə təsir edərək bu hüceyrələri virusla yoluxmaya qarşı daha dözümlü edən fermentləri induksiya edirlər.

Boy hormonu (Growth hormone- GH), adından göründüyü kimi, 191-amin turşusu uzunluqda olan zülal orqanizmin çox hüceyrə tiplərinin proliferasiyasını stimullaşdırır, o başqa hormona, beyinin hipotalamuz hissəsində istehsal olunan boy hormonunu-buraxan hormona cavab olaraq ön hipofiz vəzində istehsal olunaraq ifraz olunur. GH rekombinant yolla ilk dəfə istehsal olunan zülal tərkibli dərmanlardandır, o uşaqlarda böyümənin pozulmasının müalicəsində və yaşlılarda GH çatışmazlığının müalicəsində klinik olaraq istifadə olunur. Bu hormonun qara mal versiyası sağılan inəklərdə süd məhsuldarlığının artırılması üçün istifadə olunur. Hamiləlik zamanı, əlaqədar hormon sitokin prolaktin süd vəzilərinin yetişməmiş kanallarını örtən epiteli hüceyrələrini süd zülalları istehsal edən və onları süd axarlarına ifraz edən asinar hüceyrələrə differensiasiya olunmaq üçün induksiya edir.

GH və prolaktin qan hüceyrələrinin əhəmiyyətli tiplərinin əmələ gəlməsini induksiya edən bir sıra sitokinlərin üç-ölçülü quruluşuna çox oxşar olan üç-ölçülü quruluşa malikdirlər. Bütün qan hüceyrələri hematopoetik sütun hüceyrədən törəmişlər və bu sütun hüceyrələr sonda yetkin qan hüceyrələrinə differensiasiya edən əcdad hüceyrələri əmələ gətirirlər (bax Şəkil 21-17). Məsələn, sitokin qranulosit koloniyasını-stimullaşdıran faktor (G-CSF) sümük iliyyində qranulosit əcdad hüceyrəsini induksiya edərək onun bir neçə dəfə bölünərək qranulositlərə - bakteriya və başqa patogenləri fəalsızlaşdıran ağ qan hüceyrəsi tipinə differensiasiya etməsinə səbəb olur. Buna yaxın olan sitokin **trombopoietin** başqa bir əcdad hüceyrəni bölünərək meqakaryositlərə – qanın laxtalanması üçün zəruri olan trombositlərə differensiasiya etmək üçün stimullaşdırır.

Quruluşuna görə yaxın olan başqa bir sitokin, **eritropoietin (Epo)** sümük iliyyində eritroid əcdad hüceyrənin proliferasiyasını və differensiasiyasını induksiya etməklə eritrositlərin (qırmızı qan hüceyrələrinin) istehsalını işə salır (Şəkil 16-7). Eritropoietin müəyyən böyrək hüceyrələri tərəfindən sintez olunur. Hər hansı bir səbəbdən, məsələn güclü yaralanma nəticəsində qan itirilməsi ilə qanda oksigenin azalması, hemoqlobinlə kompleksdə olan oksigenin daşınmasını həyata keçirən eritrositlərin optimal səviyyədə aşağı olduğunu bildirir. HIF-1 α transkripsiya faktoru ətraf mühitin oksigen səviyyəsində parçalanır. Oksigenə həssas transkripsiya faktoru HIF-1 α -nın parçalanmasına mane olmaqla böyrək hüceyrələri oksigenin aşağı səviyyəsinə cavab verir; HIF-1 α eritropoietin genini transkripsiya edir və hüceyrələr daha çox eritropoietini istehsal edərək qana ifraz edirlər. Eritropoietinin səviyyəsi qanda qalxanda, eritrositi yaratmaq üçün getdikcə daha çox

eritroid əcdad hüceyrələr induksiya olunaraq bölünüb differensiasiya edirlər, hər bir əcdad hüceyrə bir neçə günün ərzində 30-dan ~50-ə qədər eritrositi istehsal edir. Bu münvalla, orqanizm qan itirilməsinə eritrositlərin istehsalını artırmaqla cavab verir.



ŞƏKİL 16-7 Eritropoietin və qırmızı qan hüceyrələrinin (eritrositlərin) əmələ gəlməsi. Koloniya-əmələ gətirən vahid-eritroid (CFU-E) adlanan eritroid əcdad hüceyrələr başqa qan hüceyrələrinin də əcdadının yaranmasına başlanğıc verən hematopoietik sütun hüceyrələrdən törəmişlər (bax Şəkil 21-18). Eritropoietin (Epo) olmayanda, CFU-E hüceyrələr apoptoza uğrayırlar. Epo-nun CFU-E-də öz reseptorlarına birləşməsi bir sıra genlərin transkripsiyasını induksiya edir, bu genin kodlaşdırdığı zülallar proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə (apoptoza) mane olur və hüceyrənin sağ qalmasına imkan verir. Epo ilə induksiya olunan başqa zülallar üçdən beşə qədər son hüceyrə bölünmələrinin inkişaf proqramını işə salır. Əgər CFU-E hüceyrələr Epo ilə yarımbərk mühitdə (məsələn, metilsellüloza olan mühitdə) kulturada yetişdirilsə, o zaman qız hüceyrələr uzaqlaşma bilmirlər, beləliklə də, hər bir CFU-E 30-100 qədər hüceyrələrdən ibarət koloniyaları əmələ gətirirlər, onun adı da buradan götürülmüşdür. Bax M. Socolovsky et al., 2001, *Blood* **98**:3261.

GH, prolaktin, G-CSF, trombopoietin və Epo şübhəsiz ki, ümumi bir əcdad zülaldan törəmişlər, çünki bu sitokinlərin hamısı oxşar üçüncü quruluşa malikdirlər, bir yerə bükülmüş dörd uzun konservativ α spiraldan təşkil olunmuşlar.



Həm Epo, həm də G-CSF kultura olunan məməli hüceyrələrində rekombinant ekspresiya olunmaqla kammersiya məqsədi ilə istehsal olunurlar. Böyrək xəstəliyi olan xəstələr, xüsusən dializə gedənlər tez-tez hallarda anemiyaya (qırmızı qan hüceyrələrinin sayının azlığına) tutulurlar, ona görə də qırmızı qan hüceyrələrinin sayını artırmaq üçün rekombinant Epo ilə müalicə olunurlar. Epo və GCSF müəyyən xərçəng müalicələrində əlavələr kimi istifadə olunurlar, çünki xərçəngə qarşı çox müalicə vasitələri sümük iliyyə təsir edir və qırmızı qan hüceyrələrinin və qranulositlərin istehsalını azaldır. ■

Sitokinin Öz Reseptoruna Birləşməsi Bir və ya daha Artıq Sıx Birləşmiş JAK Zülal Tirozin Kinazanı Fəallaşdırır

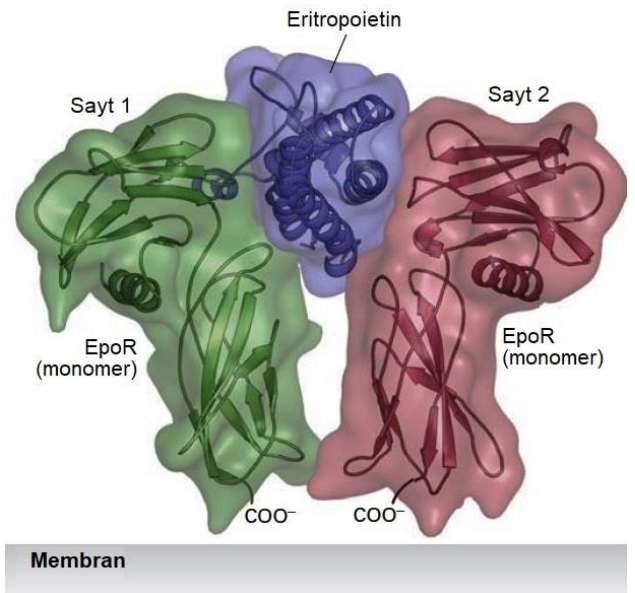
GH, prolaktin, G-CSF, trombopoietin və Epo hamısı oxşar quruluşa malikdirlər və onlar oxşar quruluşa malik olan reseptorları iki eyni sitokin reseptor zülalının dimer əmələ gətirməsi ilə fəallaşdırırlar, bu proses *reseptor dimerləşməsi* adlanır. Bu reseptor zülallarının hər biri sonra JAK2-ni, onun birləşdiyi JAK-kinazanı fəallaşdırır. Bu sitokin reseptorların hüceyrəxarici domeni iki subdomendən ibarətdir, bunların hər biri xarakterik formada bir yerə bükülmüş yeddi konservativ β zəncirlərdən təşkil olunmuşdur.

İmmun-sistemi hüceyrələrini fəallaşdıran interleykinlər və virus yoluxmasına qarşı davamlılıq yaradan zülalların ekspresiyasını induksiya edən interferonlar da daxil olmaqla bir çox başqa sitokinlər eyni zamanda iki və ya daha çox fərqli sitokin reseptoruna birləşirlər, bu proses *reseptor hetero-oligoqerləşməsi* adlanır. Ümumiyyətlə bütün bu sitokin reseptorları JAK kinaza ailəsinin iki nümayəndəsinə birləşərək onları fəallaşdırır. Bununla belə, bütün sitokin reseptorları tərəfindən fəallaşmış siqnal yolları geniş oxşarlığa malikdir (bax Şəkil 16-6) və hormon tərəfindən induksiya olunan reseptor dimerləşməsi tirozinkinazaları fəallaşdıran çoxsaylı başqa reseptor tipləri üçün ümumi haldır.



İnterleykin 2 (IL-2) immün sisteminin əhəmiyyətli komponenti funksional T hüceyrələrin əmələ gəlməsi üçün vacibdir (bax Fəsil 23). IL-2 reseptoru alfa, beta və qamma kimi adlandırılan üç müxtəlif subvahidin əmələ gətirdiyi oligomerdir. Qamma zəncir həmçinin bir sıra başqa interleykinlər, o cümlədən IL-4, IL-7, IL-9, IL-5 və IL-21, anticism istehsal edən B hüceyrələrin və başqa tip immün-sistemi hüceyrələrinin əmələ gəlməsi üçün vacib olan bütün sitokinlər üçün reseptorun vacib subvahididir. Ağır kombinasiya olunmuş immün çatışmazlığı (SCID) nə T hüceyrələrin, nə də B hüceyrələrin istehsal olunmadığı genetik xəstəlikdir. SCID xəstəliyi olan insanlar hər hansı bir bakteriya və ya virusla yoluxmaya qarşı mübarizə edə bilmir, ona görə də onlar steril mühitdə saxlanılmalıdırlar (məşhur “köpük oğlan” kimi). Bir çox SCID halları IL-2 reseptorun qamma zəncirinə görə olur. Bu uşaqlar indi gen terapiyası yolu ilə müalicə olunurlar: funksional qamma zəncirin genini bütün immün sistemi hüceyrələrini yaradan hematopoietik sütun hüceyrəyə daxil etmək üçün virus vektorundan (bax Şəkil 6-30) istifadə olunur. ■

Biz burada diqqətimizi reseptor homodimerləşməsinin ən sadə halına yönəldirik. Eritropoietin molekulinin iki eyni (identik) eritropoietin reseptor (EpoR) zülallarla qarşılıqlı əlaqəsi Şəkil 16-8-də göstərildiyi kimi, bu qrup sitokinlərin öz reseptorlarına birləşməsinin nümunəsini əks etdirir. GH-GH reseptor kompleksinin nümunəsi oxşardır və ətraflı mutageniz tədqiqatları göstərdi ki, boy hormonunda (yaşıl) yalnız səkkiz amin tuşusu sıx reseptor birləşməsinə cavab verən enerjinin 85 faizini verir, bu amin tuşuları zülalın ilkin quruluşunda bir-birindən uzaqda yerləşirlər, amma bükülmüş zülalda onlar bir-birinə yapışmış yaxın vəziyyətdə olurlar (Şəkil 16-9). Bu birləşmədə iştirak edən çoxsaylı zəif qeyri-kovalent qüvvələrə (məsələn, van der Waals və hidrofob qarşılıqlı əlaqələr) və eləcə də reseptorla liqandın qarşılıqlı təsirdə olan səthləri arasındakı molekulyar komplementarlığa əsasən, birləşmə həddən artıq sıx olur, onun dissosiasiya konstantı (K_d) təxminən 10^{-10} M əksər sitokin reseptorları üçün xarakterikdir. Beləliklə GH-ın və əksər başqa sitokinlərin çox aşağı qatılığı – təxminən 1 mikroqram/litr (təxminən millionda bir hissə) sitokin reseptorlarını fəallaşdırmaq üçün kifayətdir.

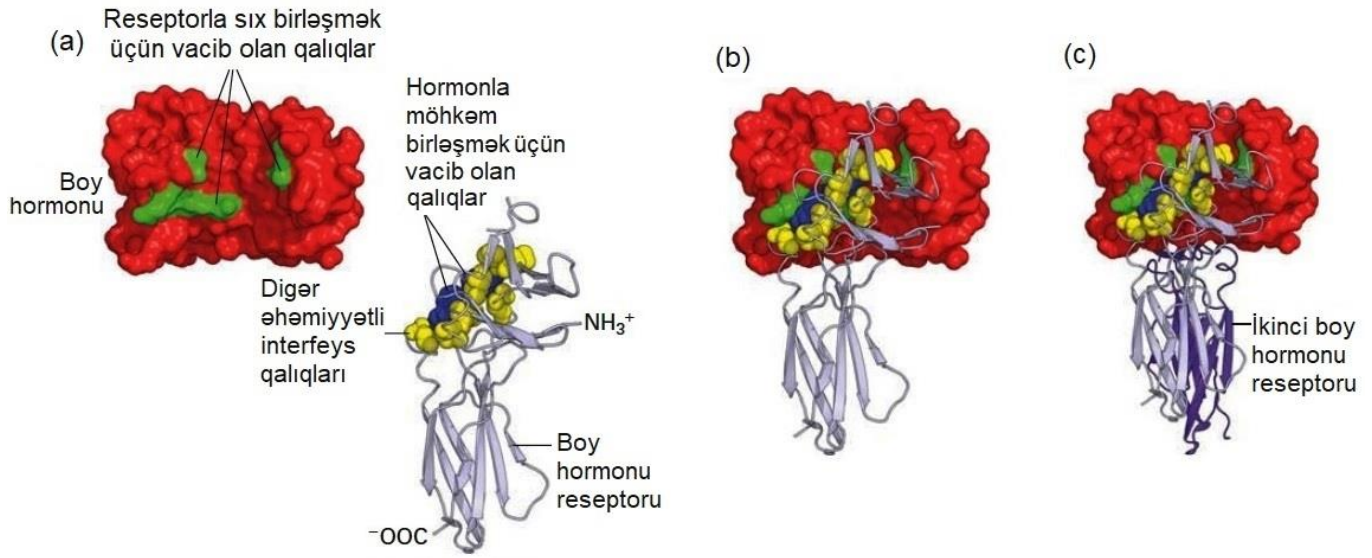


ŞƏKİL 16-8 Eritropoietin reseptora birləşmiş eritropoietinin quruluşu. Başqa sitokinlərdə olduğu kimi Eritropoietin (Epo) dörd uzun konservativ xüsusi bir düzülüşdə qatlanmış α spirallara malikdir. Fəallaşmış eritropoietin reseptoru (EpoR) eyni (identik) subvahidlərin dimeridir, hər bir monomerin hüceyrəxarici domeni iki subdomendən ibarətdir və bunların hər biri xarakterik formada bir yerə bükülmüş yeddi konservativ β zəncirlərdən təşkil olunmuşdur. Epo-da, iki α spiralın qalıqlarındakı **mərkəz 1** kimi adlandırılan yan zəncirlər bir EpoR monomerindəki ilgəklər ilə əlaqə yaradır, digər iki Epo α spiraldakı qalıqların **mərkəz 2** adlandırılan yan zəncirləri isə ikinci reseptor monomerinin eyni ilgək seqmenti ilə əlaqəyə girir, beləliklə də dimer reseptoru spesifik konformasiyada stabilizə edir. [Verilənlər R.S. Syed et al., 1998, *Nature* 395:511, PDB ID 1eer.]

Sitokin reseptorları daxili fermentativ fəallığa malik deyillər. Əksinə, **JAK kinaza** bütün sitokin reseptorlarının sitozol domeninə sıx şəkildə birləşmişdir (Şəkil 16-10). JAK ailəsi kinazaların dörd nümayəndəsinin hər biri N-sonluqlu

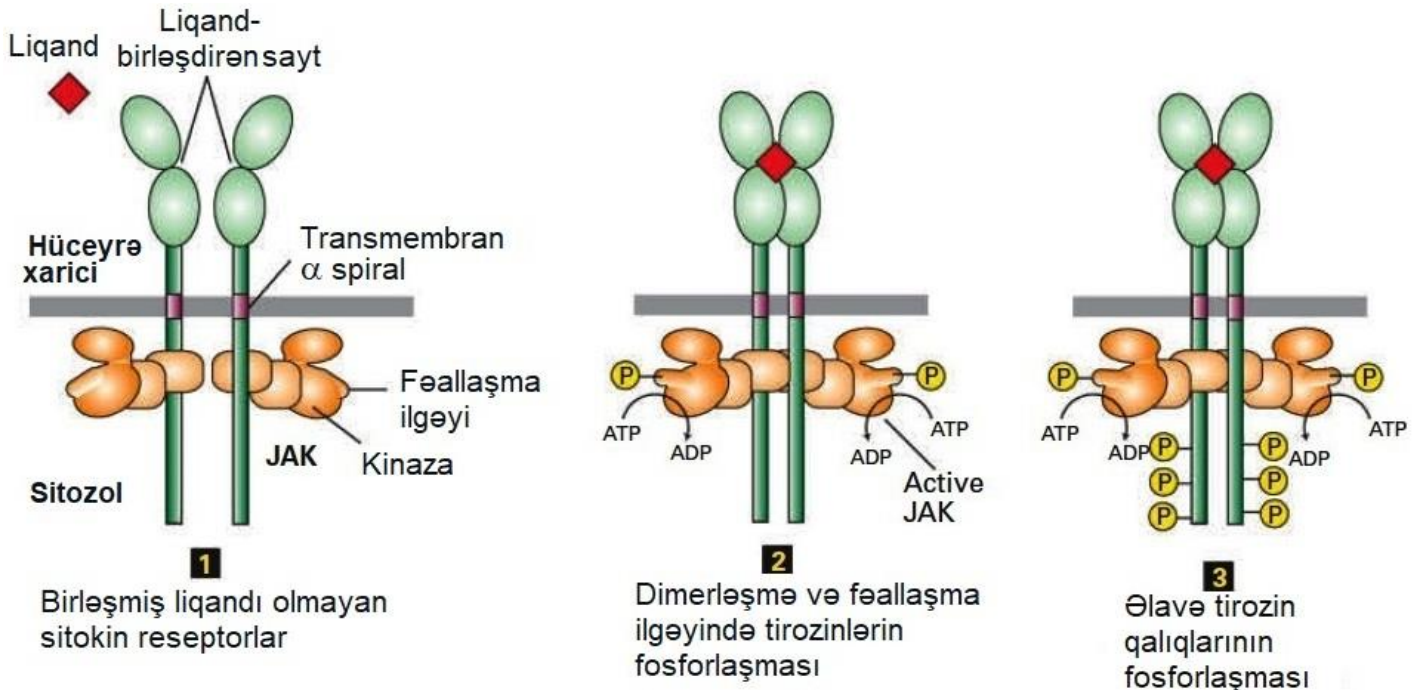
reseptor-birləşdirmə domeninə, normal halda katalitik cəhətdən zəif kinaza fəallığına malik olan C-sonluqlu kinaza domeninə və məlum olmayan mexanizmlə kinaza fəallığını tənzimləyən orta "psevdo kinaza" domenə malikdirlər. (JAK-lər ona görə belə

adlandırılıblar ki, klonlaşdırılarkən onların funksiyası məlum deyildir, onlar yalnız *başqa bir kinaza – just another kinase* adlandırıldılar.) Bu kinazalar liqand birləşdikdən və reseptor dimerləşdikdən sonra fəallaşirlar (Şəkil 16-10, pillə 1).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 16-9 Boy hormonu çoxsaylı zəif qeyri-kovalent qüvvələrlə öz reseptoruna birləşir. (a) 1 boy hormonun üç-ölçülü quruluşundan təyin edildiyi kimi: 2 boy hormonu reseptor kompleksi, hormonda 28 amin turşusu bir reseptor molekulu ilə birləşmə səthindədir. Liqand-reseptor birləşməsində hansı amin turşusunun əhəmiyyətli olmasını təyin etmək üçün tədqiqatçılar bu amin turşularının hər birini hər dəfə biri olmaqla alanin amin turşusuna mutasiya etdilər və reseptorun birləşməsinə onun təsirini ölçdülər. Bu tədqiqatlardan aşkar edildi ki, boy hormonunda (yaşıl) yalnız 8 amin turşusu reseptorun sıx birləşməsi üçün tələb olunan enerjinin 85 faizini təmin edir, bu amin turşuları ilkin ardıcılıqda bir-birindən uzaq məsafədə yerləşir, amma bükülmüş zülaldə onlar bir-birinə bitişik

yaxın məsafədə yerləşirlər. Oxşar tədqiqatlar göstərdi ki, reseptordakı iki triptofan qalığı (mavi) boy hormonunun sıx birləşməsi üçün tələb olunan enerjinin əsas hissəsini verir, hərçənd ki, hormonla birləşmə səthlərindəki başqa amin turşuları da (sarı) əhəmiyyətlidirlər. (b) Epo reseptorunda olduğu kimi, boy hormonunun bir reseptor molekulu birləşməsinin ardınca (c) ikinci reseptorun (bənövşəyi) hormonun əks tərəfinə birləşməsi baş verir, bu birləşməyə reseptordakı sarı və göy amin turşularının eyni dəsti, amma hormonda başqa qalıqlar daxildir. Bax B. Cunningham and J. Wells, 1993, *J. Mol. Biol.* **234**:554, və T. Clackson and J. Wells, 1995, *Science* **267**:383. [Verilənlər A. M. de Vos, M. Ultsch, and A. A. Kossiakoff, 1992, *Science* **255**:306, PDB ID 3hrh.]



ŞƏKİL 16-10 Sitokin reseptorların əsas quruluşu və fəallaşması.

Sitokin reseptorların sitozol domeni JAK zülalı tirozinkinazaya möhkəm və geridönməyən şəkildə birləşir. Liqand olmayanda (pillə 1), iki reseptor homodimeri əmələ gətirirlər, amma JAK kinaza çox zəif fəallığa malik olur. Liqandın birləşməsi konformasiya dəyişikliyinə səbəb olaraq birləşmiş JAK kinaza domenlərini bir-birinə çox yaxın

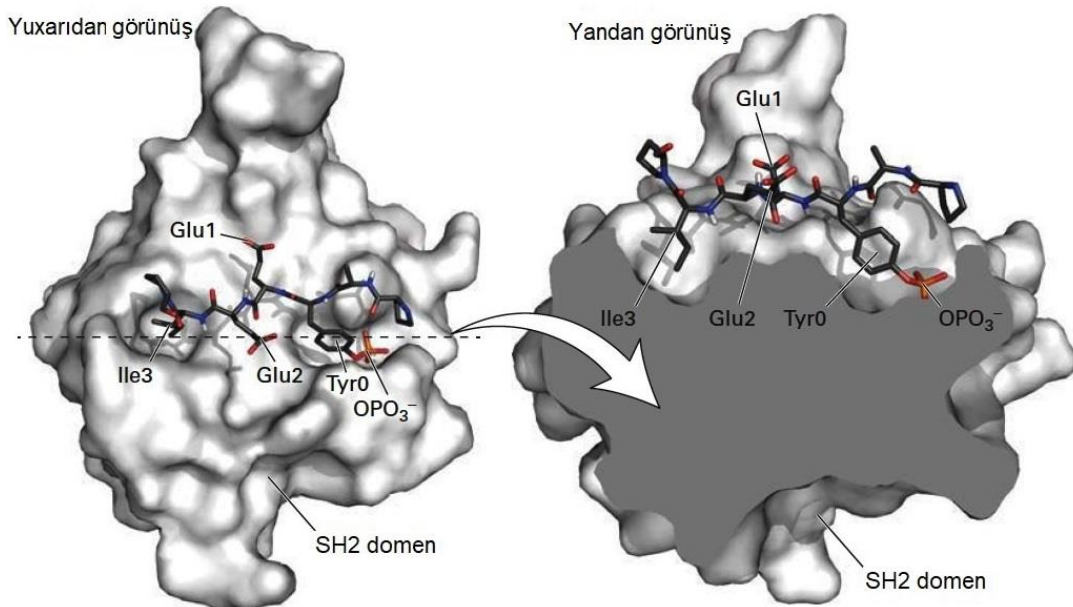
Epo reseptoruy kimi bəzi sitokin reseptorları liqand olmayanda homodimer vəziyyətdə olurlar, başqaları yalnız liqand mövcud olanda dimerləşirlər. Hər iki halda, liqandın birləşməsi JAK-larda elə konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur ki, onlar bir-birini digərini **fəallaşdırma ilqayində** olan kritik əhəmiyyətli tirozin qalıqında fosforlaşdırır (Şəkil 16-10, pillə 2). Çoxsaylı başqa kinazalarda olduğu kimi, fəallaşma ilqayinin fosforlaşması fermentin ATP-yə və ya fosforlaşan substrata affinliyini artıran konformasiya dəyişməsinə səbəb olur, beləliklə kinaza fəallığını artırır (Şəkil 16-10, pillə 3). Bu fəallaşma mexanizminin sübutunun bir hissəsi, kritik əhəmiyyətli tirozin qalıqının fenilalaninlə əvəz olunduğu mutant JAK2-nin tədqiqatlarından gəlir. Mutant JAK2 EpoR reseptora normal birləşir, amma fosforlaşa bilmir və katalitik qeyri fəal qalır. Eritroid əcdad hüceyrələrdə, bu mutant JAK2-nin normal miqdardan yüksək ekspressiyası EcoR siqnalı tamamilə blok edir, çünki mutant JAK2 sitokin reseptorların əksər hissəsinə birləşir və təbii formalı funksional JAK2 zülalının birləşməsinə mane olur. **Dominant-mənfi** mutasiya adlanan bu tip mutasiya, hətta hüceyrədə genin təbii formalı nüsxəsi olduğu halda belə funksiyanın itirilməsinə səbəb olur, çünki mutant zülal normal zülalın fəaliyyət göstərməsinə mane olur (bax Fəsil 6).

Fosfotirozin Qalıqları Konservativ Domenli Çoxsaylı Zülallar üçün Birləşmə Səthləridir

JAK kinazalar fəallaşdıqda birinci onlar sitokin reseptorunun sitozol domenindəki bir neçə tirozin qalıqını fosforlaşdırırlar (bax Şəkil 16-10). Bu fosfotirozin qalıqlarının bir neçəsi sonra konservativ fosfotirozin-birləşdirmə domeninə malik olan

gətirir və bu domenlər biri-digərini fəallaşma ilqayı adlandırılan rayondakı tirozin qalıqından fosforlaşdıraraq kinazaları fəallaşdırırlar (pillə 2). Fəal JAK kinazalar sonra sitozol domenindəki çoxsaylı tirozin qalıqlarını fosforlaşdırırlar (pillə 3). Nəticədə alınan fosfotirozinlər siqnal-ötürən zülallar üçün, o cümlədən STAT zülalları üçün doking (yanaşma) saytı kimi fəaliyyət göstərirlər.

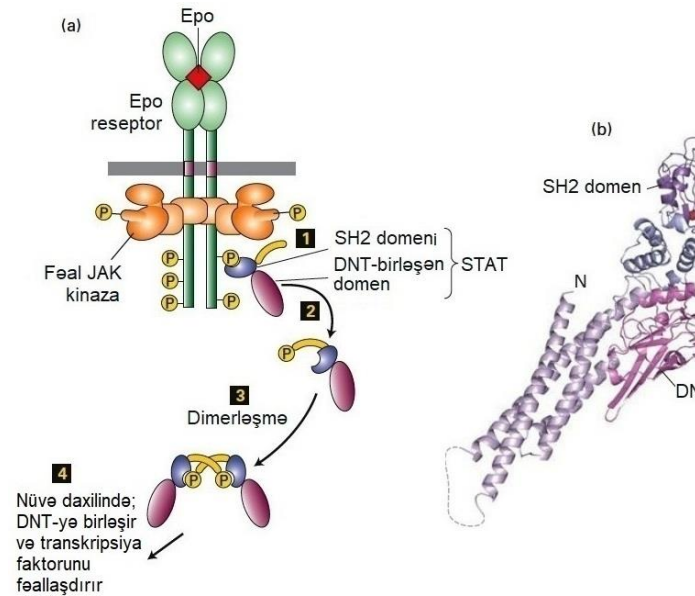
zülallar üçün birləşmə saytları kimi fəaliyyət göstərirlər. Belə fosfotirozin-birləşdirmə domenlərindən biri *SH2 domeni* adlanan domendir. SH2 domeni öz tam adını — *Src* homoloji 2 domenindən, prokariotlardakı *src* geni ilə kodlaşdırılan prototip sitozol *Src* tirozinkinazaya malik olan öz homoloqundan götürmüşdür. (*Src sarkomanın* qısaldılmış adıdır və Fəsil 24-də ətraflı verildiyi kimi hüceyrənin mutant formalı *src* geni sarkomalı toyuqlarda tapılmışdır.) Müxtəlif siqnal-ötürən zülallarda SH2 domenlərinin üç-ölçülü quruluşları çox oxşardır, amma hər biri fosfotirozin qalıqlarını əhatə edən fərqli aminturşu ardıcılığına birləşir. Hər bir SH2 domeninin unikal aminturşu ardıcılığı onun birləşdiyi spesifik fosfotirozin qalıqlarını müəyyən edir (Şəkil 16-11). Müxtəlif siqnal-ötürən zülalların SH2 domenlərindəki hidrofob yuvadakı dəyişkənliklər (variasiyası) onların müxtəlif ardıcılıqlara bitişik fosfotirozinlərlə birləşməsinə imkan verir, bu da onların birləşdiyi partnyorlardakı fərqləri izah edir. Məsələn, *Src* tirozinkinazanın SH2 domeni dörd kritik əhəmiyyətli qalıqda — fosfotirozin-qlutamin turşusu-qlutamin turşusu-izoleysin əsasi ardıcılığa (core sequence) malik olan istənilən peptidə möhkəm birləşir (Şəkil 16-11). Bu dörd amin turşusu *Src* SH2 domenində peptid-birləşdirmə saytı ilə yaxın (intim) əlaqə əmələ gətirir. Bu birləşmə iki-dişli “çəngəlin” (two-pronged “plug”) — peptidin fosfotirozin və izoleysin yan zəncirlərinin — SH2 domendəki iki-yuvalı razetykaya (two-pronged “socket”) keçməsinə xatırladır. İki qlutamin turşusu SH2 domenin səthində fosfotirozin yuvası ilə izoleysin qalıqını qəbul edən hidrofob yuva arasında rahatlıqla yerləşir. Bu spesifiklik hansı siqnal-ötürən zülalın hansı reseptora birləşməsinin və beləliklə hansı yolun fəallaşmasının təyin edilməsində çox əhəmiyyətli rol oynayır.



ŞƏKİL 16-11 Fosfotirozinə malik olan peptidə birləşmiş SH2 domenin səth modeli. Srs tirozin kinazının SH2 domeni ilə birləşmiş bu peptid (oksigen atomu ilə mavi özül) çubuq formasında göstərilmişdir. SH2 domeni möhkəm şəkildə dörd qalıqdan ibarət kritik özak ardıcılığa malik olan qısa hədəf peptidə birləşir: fosfotirozin (Tyr0 və OPO₃⁻)–qlütamin turşusu (Glu1)–qlütamin turşusu (Glu2)–

SH2 Domenlərin Fəaliyyəti: JAK Kinazalar STAT Transkripsiya Faktorlarını Fəallaşdırır

SH2 domenin spesifik fosfotirazin qalığına birləşməsinin spesifik siqnal yolunu necə fəallaşdırdığını təsvir etmək üçün biz burada bütün JAK kinazaların və bəzi RTK-ların STAT transkripsiya faktorları üzvlərini birbaşa fəallaşdırdığı sadə mexanizmi müzakirə edəcəyik. Bütün STAT zülalları N-sonluqlu DNT-birləşdirən domənə, sitokin reseptorlarının sitozol domənində bir və ya daha artıq fosfotirozin qalığına birləşən SH2 domənə və kritik tirozin qalığına malik olan C-sonluqlu domənə malikdirlər. Monomer STAT SH2 domeni vasitəsi ilə reseptordakı fosfotirozinə birləşdikdən sonra, C-sonluqlu tirozin assosiasiyada olan JAK kinaza vasitəsi ilə fosforlaşır (Şəkil 16-12a). Bu tənzimləmə, xüsusi bir hüceyrədə

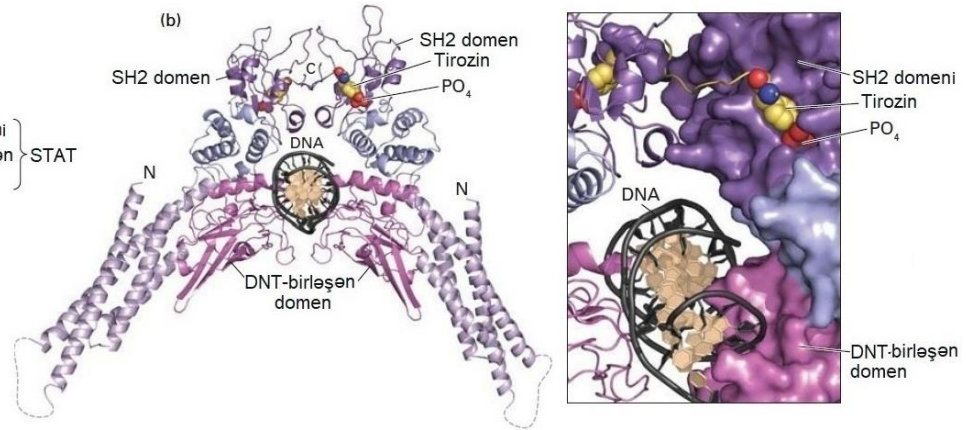


ŞƏKİL 16-12 STAT zülallarının quruluşu və fəallaşması. (a) STAT zülallarının fosforlaşması və dimerləşməsi. Pilla 1: Sitokin reseptorunun fəallaşmasının ardınca (bax Şəkil 15-19), qeyri fəal monomer STAT transkripsiya faktoru reseptorda fosfotirozinə birləşir, bu birləşmə STAT-ı reseptorla assosiasiyada olan fəal JAK-ə yaxın edir. Sonra JAK STAT-ın C-sonluqlu tirozin qalığını fosforlaşdırır. Pilla 2 və 3: Fosforlaşmış STAT-lar reseptordan spontan şəkildə dissosiasiya edir və spontan şəkildə dimerləşirlər. STAT homodimerin iki fosfotirozin-SH2 domeni qarşılıqlı əlaqəli olduğundan, amma reseptor STAT kompleksi belə qarşılıqlı əlaqənin yalnız biri ilə stabiləşdiyindən, fosforlaşmış STAT-lar reseptorla yenidən birləşməyə meyilli olurlar. Pilla 4: Dimer STAT nüvəyə keçir və orada, hədəf genin promotor ardıcılığına

Müxtəlif hüceyrə tipləri unikal transkripsiya faktorları dəstinə və öz xromatinlərində unikal epigenetik modifikasiyalara malik olduqlarından, istənilən STAT vasitəsi ilə fəallaşdırıla bilən genlər də müxtəlif hüceyrə tiplərində fərqli olurlar. Məsələn, eritroid əcdad hüceyrələrdə EpoR reseptorla fəallaşan STAT-la

izoleysin (Ile3). Birləşmə, iki dişli "çəngələn" — peptidin fosfotirozin və izoleysin yan zəncirlərinin — SH2 domenindəki iki yuvalı "razetkaya" keçirilməsinə bənzəyir. İki qlütamat qalığı SH2 domenin səthində iki "razetka" arasındakı saytlara birləşir. [Verilənlər G. Waksman et al., 1993, *Cell* 72:779, PDB ID 1sps.]

yalnız xüsusi bir reseptor zülalla birləşə bilən, SH2 domeni olan STAT zülallarının fəallaşmasını yalnız reseptor fəallaşan zaman təmin edir. Məsələn, eritropoietin reseptoru, eləcə də GH üçün reseptorlar, prolaktin, G-CSF və bir sıra daha başqa sitokinlər STAT5-i fəallaşdırırlar, amma STAT 1, 2, 3 və ya 4-ü fəallaşdırmırlar, bu STAT-lar başqa reseptorlarla fəallaşirlar. Fosforlaşmış STAT spontan şəkildə reseptordan dissosiasiya edir və iki fosforlaşmış STAT zülalı homodimeri əmələ gətirir və bu dimerin hər birindəki SH2 domeni digərinin fosfotirazin qalığına birləşir (Şəkil 16-12b). Dimerləşmə nüvə-lokalizasiya siqnalını (NLS) açıq vəziyyətə gətirən konformasiya dəyişikliyi etdiyindən, STAT dimerlər nüvəyə keçirlər və orada xüsusi **enhanserlərə** və ya **promotorlara** (DNT tənzimləyici ardıcılıqlara) birləşərək hədəf genlərə nəzarət etməklə (Şəkil 16-12a) genin ekspresiyasında dəyişiklik edirlər.



birləşərək onun transkripsiyasını fəallaşdırır. (b) DNT-yə (qara) birləşmiş STAT1 dimerin lent diaqramı. STAT1 dimeri DNT ətrafında C-formalı sıxacaq əmələ gətirir, bu da bir monomerin SH2 domeni (çəhrayı) ilə digərinin C-sonluqlu seqmentində fosforlaşmış tirozin qalığı (sarı, qırmızı oksigenlə) arasındakı qarşılıqlı və yüksək spesifik təsirlə stabiləşir. Hər bir monomerdə SH2 domenin fosfotirazin-birləşdirən mərkəzi (saytı) quruluşca DNT-birləşdirən domənə (tünd qırmızı anilin) cütləşir, bu DNT ilə əlaqə yaradan elementlərin stabiləşməsində SH2-fosfotirazin qarşılıqlı əlaqənin potensial rolunu göstərir. [(b) hissəsi X. Chen et al., 1998, *Cell* 93:827 görə, PDB ID 1bf5.]

eyni olan süd vəzisi hüceyrələrindəki STAT5 prolaktinin prolaktin reseptora birləşməsi ilə fəallaşmış vəziyyət alır və süd zülallarını kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını induksiya edir. Əksinə, eritroid əcdad hüceyrələrində Epo-nun EpoR-ə birləşməsinin ardınca STAT5 fəallaşanda, o Bcl-xL zülalın

ekspressiyasını induksiya edir. Bcl-xL bu əcdad hüceyrələrin proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə, **apoptozuna** mane olur (bax Fəsil 21), onların proliferasiya edərək (bölünərək) qırmızı qan hüceyrələrinə differensiasiya etməsinə imkan verir. Ümumiyyətlə güman olunur ki, hər bir hüceyrə tipində fəallaşmış STAT zülalları, əvvəllər müzakirə olunmuş Smad-lər kimi, yalnız açıq xromatində olan DNT saytları ilə birləşir və əsasən də, master transkripsiya faktorlarının və ya başqa hüceyrə-spesifik gen tənzimləyici zülalların birləşdiyi saytlara yaxın (bitişik) olan saytlara birləşirlər. Burada biz müxtəlif hüceyrələrdə müxtəlif sitokin reseptorların eyni aralıq siqnal molekulunu – müxtəlif genlərin fəallaşmasına səbəb olan STAT5-i fəallaşdırması vəziyyəti ilə rastlaşırıq. Belə kombinasiyalı müxtəliflik, nisbətən məhdud sayda reseptorlar dəstinin, JAK kinazaların və STAT zülallarının çox geniş müxtəliflikdə hüceyrə fəaliyyətinə nəzarət etmələrinə imkan verir.

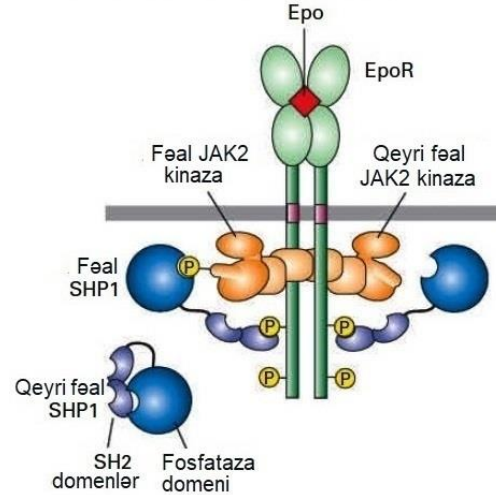
Çoxsaylı Mexanizmlər Sitokin Reseptorlardan Siqnalları Azalan-İstiqamətdə Tənzimləyir

Sonuncu fəsilə biz G zülallarla-cütləşən reseptorlardan gələn siqnalların sona çatdırılmasının bir neçə yolunu gördük. Məsələn, reseptorların və sonra gələn siqnal zülallarının fosforlaşması siqnalı dayandırır və bu supressiya etmə fosfatazaların nəzarət olunan fəaliyyəti ilə geriye dönə bilər. Biz burada, RTK və sitokin reseptorların verdiyi siqnalların tənzimləndiyi bir sıra mexanizmləri müzakirə edirik, zülal tirozinkinazalarla siqnalın azalan tənzimlənməsi əsasən RTK-larla tədqiq olunduğundan növbəti bölmədə ətraflı müzakirə olunur.

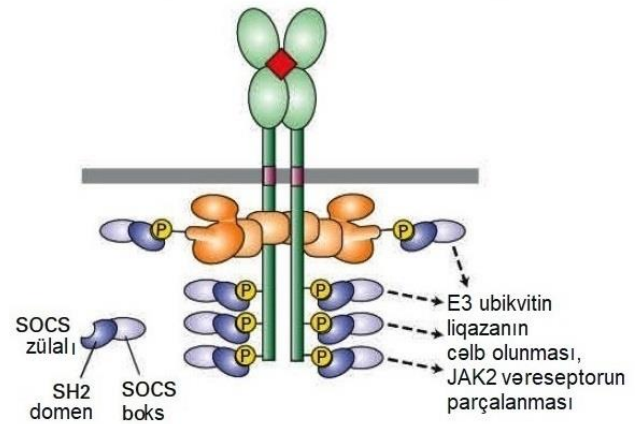
Fosfotirozin Fosfatazalar Fosfotirozin Fosfatazalar defosforlaşdırıcı fermentlər olub spesifik hədəf zülallarda xüsusi olaraq fosfotirozin əlaqələrini hidroliz edir. Zülal tirozinkinazanın fəallığını supressiya etmək üçün fosfotirozin fosfataza fermentlərinin necə fəaliyyət göstərməsinə aid çox gözəl nümunə, bir neçə tip sitokin reseptorlardan gələn siqnalları mənfi tənzimləyən SHP1 fosfatazalar ilə təmin edilmişdir. Onun rolu ilk dəfə, bu zülala malik olmayan siçanın analizlərindən təyin edilmişdir, onlar eritrositlər də daxil olmaqla bir neçə tip başqa qan hüceyrələrinin həddən artıq çox miqdarda istehsal olunmalarına görə ölmüşlər.

Şəkil 16-13-də göstərilirdiyi kimi, SHP1 sitokin reseptora birləşməklə və onunla assosiasiyada olan JAK zülalını fəalsızlaşdırmaqla sitokin siqnalını ləngidir. SHP1-in fosfataza katalitik domenindən başqa iki SH2 domeni vardır. Hüceyrələr sitokinlə stimullaşmamış sakitlik dövründə olanda SHP1-in SH2 domenlərindən biri fiziki olaraq fosfataza domeninə birləşərək fermentin katalitik mərkəzini qapayır (maskalayır). Amma, stimullaşmış vəziyyətdə, blok edən bu SH2 domen fəallaşmış reseptorda spesifik fosfotirozin qalığına birləşir. Bu birləşmə ilə əmələ gələn konformasiya dəyişilməsi SHP1-in katalitik mərkəzini üzə çıxarır və onu reseptorla assosiasiyada olan JAK-in fəallaşma ilgəyindəki fosfotirozin qalığının yaxınlığına gətirir. Bu fosfatı çıxarmaqla, SHP1 JAK-ı fəalsızlaşdırır, beləliklə o, başqa bir sitokin molekulunun hüceyrə-səth reseptoruna birləşərək yeni siqnal dövrəsini inisiasiya etməsinə qədər, reseptoru və ya başqa substratları (məsələn STAT-ları) fosforlaşdırma bilmir.

(a) Qısa-müddətli tənzimləmə: SHP1 fosfataza vasitəsilə JAK2 fəalsızlaşması



(b) Uzun-müddətli tənzimləmə: siqnalın blok olunması və zülalların SOCS zülallar vasitəsilə parçalanması



ŞƏKİL 16-13 Eritropoietin reseptordan (EpoR) siqnal

ötürülməsinin sona çatdırılmasının iki mexanizmi. (a) Qısa-müddətli tənzimləmə: Stimullaşmamış hüceyrələrdə fosfotirozin fosfataza SHP1 qeyri fəal formada olur. SHP1-də SH2 domenin fəallaşmış reseptorda xüsusi fosfotirozin qalığına birləşməsi onun fosfataza katalitik mərkəzinin üzə çıxmasına səbəb olur və onu JAK2-in fəallaşma ilgəyində fosfotirozin qalığına yaxın gətirir. Bu tirozində fosfatın çıxarılması JAK kinazını fəalsızlaşdırır. Bax S. Constantinescu et al., 1999, *Trends Endocrin. Metabol.* **10**:18 (b) Uzun-müddətli tənzimləmə: Eritropoietinlə-induksiya olunan eritroid hüceyrələrində ekspressiyası STAT zülalları induksiya olunan SOCS zülallar siqnalı uzun zaman müddətinə ya ingibirləşdirir ya da tamamilə dayandırır. SOCS-ın EpoR-də və ya JAK2-də fosfotirozin qalığına birləşməsi başqa siqnal zülallarının birləşməsinə blok edir (*solda*). SOCS boksu həmçinin JAK2 kimi zülalları ubikvitin-proteosom yolu ilə parçalamaq üçün də hədəf edə bilər (*sağda*). Oxsar mexanizmlər başqa sitokin reseptorlardan gələn siqnalları da tənzimləyir. Bax B.T. Kile and W.S. Alexander, 2001, *Cell Mol. Life Sci.* **58**:1627.

SOCS Zülallar Mənfi əks-əlaqənin klassik nümunəsində, transkripsiyası STAT zülalları induksiya olunan genlər arasında sitokin reseptorlardan gələn siqnallara son qoyan sitokin

siqnalının supressoru (SOCS) *zülalları* adlanan kiçik zülallar sinifini kodlaşdırən genlər durur. Bütün SOCS zülalları SH2 domenə və E3 ubikvitin liqazaların komponentlərini cəlb edən (bax Şəkil 3-31), SOCS-boks adlanan başqa domenə malikdirlər. SOCS SH2 domeni fəallaşmış reseptorda spesifik fosfotirozinlərə birləşir (Şəkil 16-13b), nəticədə reseptor özü və eləcə də onunla assosiasiyada olan JAK kinaza poliubikvitinləşir (ubikvitinin polimeri lizinin yan zəncirinə kovalent qoşulur) və sonra **proteasomlarda** parçalanır (bax Fəsil 3), beləliklə də JAK2 ilə vasitələnən siqnal yolu yeni JAK2 yaradılması mümkün olana qədər müddətdə tamamilə dayandırılır. Proteosom inhibitorunun JAK2 siqnal-ötürülməsini uzatması bu mexanizmi dəstəkləyir. SOCS-1 adlanan bir SOCS zülalı, fəallaşmış JAK2 kinazanın fəallaşma ilqəyindəki kritik fosfotirozin qalıqına da birləşir və onun katalitik fəallığını ingibirləşdirir.

Məməlilərin kultura olunan hüceyrələri ilə aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, sitokin reseptorları ailəsinə məxsus olan boy hormonların reseptorları başqa SOCS zülalla, SOC-2 ilə azalan istiqamətdə tənzimlənir. Son dərəcə maraqlıdır ki, SOCS-2 defisit olan siçanlar təbii formalı siçanlardan əhəmiyyətli dərəcədə çox böyüyürlər və daha uzun ayaq sümüklərinə malik olurlar, qalan əksər orqanlarında isə proporsional böyüməyə malik olurlar. Beləliklə, SOCS zülallar hüceyrədəxili siqnalların eritropoietin, boy hormonları reseptorlarından və başqa sitokinlərdən ötürülməsində çox əhəmiyyətli mənfi rol oynayırlar.

16.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Sitokin reseptorlar və JAK/STAT siqnal yolu

- Reseptorların iki geniş sinifi tirozinkinazaları fəallaşdırır: (1) tirozinkinaza reseptorları (RTK-lar), bunlarda kinaza reseptorun daxili hissəsidir; (2) sitokin reseptorlar, bunlarda kinazalar sıx şəkildə reseptorun sitozol domeninə birləşirlər. Tirozinkinaza reseptorlarından və sitokin reseptorlardan verilən siqnallar aşağıya istiqamətdə oxşar siqnal yolunu fəallaşdırırlar (bax Şəkil 16-6).
- Sitokinlər inkişaf prosesində çoxsaylı əhəmiyyətli rol oynayırlar. Böyrək hüceyrələri tərəfindən sintez olunan eritropoietin sitokini qanda yetkin qırmızı hüceyrələrin sayını artırmaq üçün sümük iliyində (Şəkil 16-7) eritroid sələf (əcdad) hüceyrələrin proliferasiyasını və differensiasiyasını gücləndirir.
- GH, prolaktin, Epo və G-CSF kimi sitokinlər onların reseptorlarında olduğu kimi, çox oxşar üçüncü quruluşa malikdirlər. Bunlar və bunlara yaxın olan sitokinlər hüceyrə səthində 1 sitokin:2 reseptor kompleksini əmələ gətirirlər (bax Şəkil 16-8 və 16-9).
- Sitokin reseptorların sitozol domenləri sitokinin birləşməsindən və reseptorun dimerləşməsindən sonra fəallaşan JAK zülalı tirozinkinazaya möhkəm şəkildə birləşir, və reseptorda tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır (bax Şəkil 16-10).
- Həm RTK-larda, həm də sitokin reseptorlarda, fosfotirozin qalıqlarına malik olan qısa aminturşu ardıcılıqları çoxsaylı siqnal ötürən zülallarda tapılmış konservativ SH2 domenləri

olan zülallarla birləşir. Fosforlaşmış tirozini əhatə edən aminturşularının ardıcılığı ona hansı SH2 domenin birləşəcəyini təyin edir (bax Şəkil 16-11). Belə zülal-zülal qarşılıqlı əlaqələri çox siqnal yolları üçün əhəmiyyətlidir (bax Şəkil 16-12).

- JAK/STAT yolu bütün sitokin reseptorlarda və bəzi RTK-larda siqnal yolunda aşağıya istiqamətdə fəaliyyət göstərir. Reseptorda fosfotirozinlərə birləşmiş STAT monomerlər reseptorla assosiasiyada olan JAK-larla fosforlaşırlar, sonra dimerləşərək nüvəyə keçirlər və orada hədəf genin transkripsiyasını fəallaşdırırlar (bax Şəkil 16-12).
- Sitokin reseptorlardan siqnalın verilməsi fosfotirozin fosfataza SHP1 və bir neçə SOCS zülallar vasitəsi ilə dayandırılır (bax Şəkil 16-13).

16.3 Tirozin Kinazalar Reseptoru

Reseptor tirozinkinazaları fəallaşdırən siqnal molekulları həllolan və ya membrana-birləşən peptidlər və ya zülal hormonları, o cümlədən əvvəlcədən spesifik hüceyrə tipləri üçün boy faktorları kimi identifikasiya olunmuş faktorlardır. Bu RTK liqandlarına, spesifik hüceyrə tiplərinin proliferasiyasını və differensiasiyasını stimullaşdırən sinir boy faktorları (NGF), trombosit-törədən boy faktorları (PDGF), fibroblast boy faktoru (FGF) və epidermal boy faktoru (EGF) daxildirlər. İnsulin kimi digərləri, qaraciyərdə, əzələlərdə və adipoz (piy) hüceyrələrində şəkərlərin və lipidlərin metabolizminə nəzarət edən genlərin ekspressiyasını tənzimləyirlər. Çoxsaylı RTK-lar və onların liqandları insanın boy-faktoru reseptorlarının mutant formaları ilə əlaqəli olan xərcəng hüceyrələrinin tədqiqatlarında identifikasiya olunmuşlar, bu mutant boy-faktoru reseptorları hətta boy faktoru olmadıqda belə proliferasiyanı stimullaşdırırlar. Mutasiya reseptoru “aldada” bilir və reseptor liqand olmadıqda belə özünü liqandın olduğu hal kimi aparır və konstant şəkildə fəal vəziyyətdə (*konstitutiv* fəal) olur. Başqa RTK-lar, *C. elegans*, *Drosophila* və siçanda müəyyən hüceyrə tiplərinin differensiasiyasının blok olunmasına səbəb olan inkişafba bağlı mutasiyaların analizi zamanı aşkar olunmuşlar.

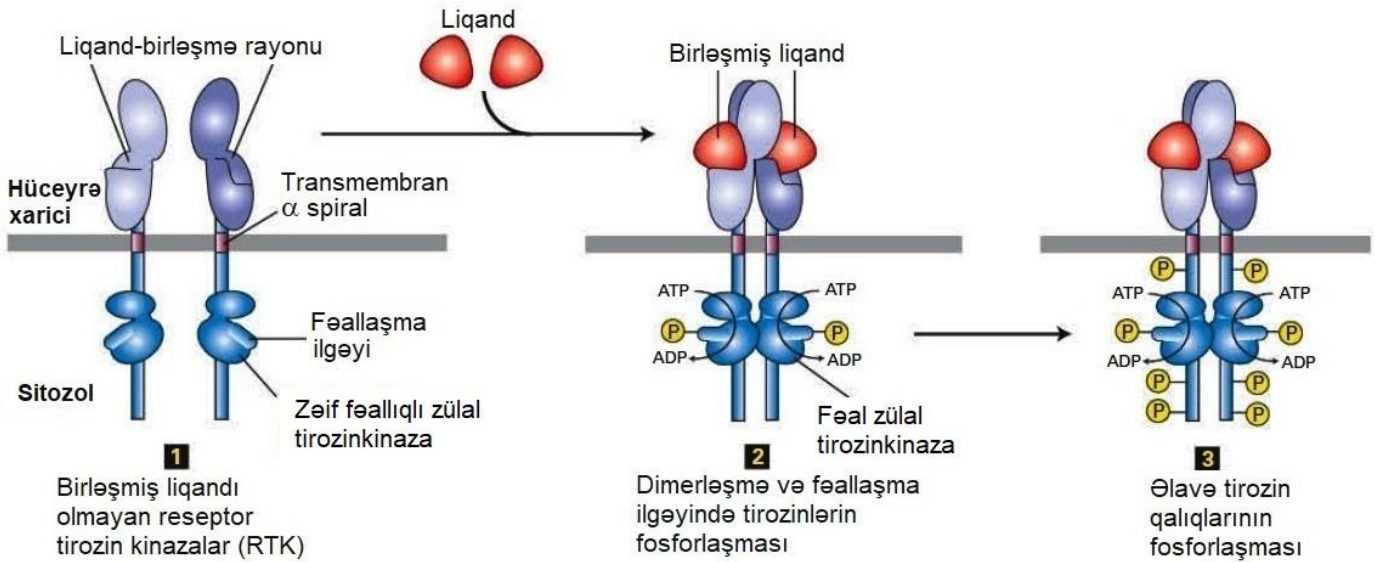
Liqandın Birləşməsi RTK-nın Dimerləşməsini Gücləndirir və Onun Daxili Kinaza Xassəsinin Fəallaşmasına Səbəb Olur.

Bütün RTK-lar üç əhəmiyyətli komponentə malikdirlər: liqand-birləşdirmə mərkəzinə malik olan hüceyrəxarici domenə, vahid hidrofob transmembran α spirala və zülal tirozin-kinaza fəallığına malik olan domenin daxil olduğu sitozol seqmentinə (Şəkil 16-14). RTK-ların əksəriyyəti monomerdir və liqandın hüceyrəxarici domenə birləşməsi reseptorun dimerlərinin yaranmasını induksiya edir. Sitokinlərdə olduğu kimi, funksional dimerlərin əmələ gəlməsi RTK-ların fəallaşması üçün vacib mərhələdir. İki (və ya daha artıq) reseptorun bir yerə birləşməsini biz “reseptor oliqomerləşməsi ilə fəallaşma” adlandırırıq. Biz görəəcəyik ki, hüceyrə-səth reseptorlarının belə oliqomerləşməsi çox tipdə reseptorların fəallaşması üçün ümumi mexanizmdir.

RTK fəallaşması aşağıdakı kimi ümumiləşdirilə bilər: Sakitlikdə olan stimullaşmamış (liqand birləşməmiş) vəziyyətdə,

RTK-nın daxili kinaza fəallığı çox aşağıdır (bax Şəkil 16-14, pillə 1). Başqa kinazaların əksəriyyətində olduğu kimi, RTK fəallaşma ilgəyi adlanan tez dəyişən domenə malikdir. Sakitlik vəziyyətində fəallaşma ilgəyi fosforlaşmamış vəziyyətdədir və kinaza fəallığını blok edən konformasiyanı alır. Bəzi reseptorlarda (məsələn, insulin reseptorunda), o ATP-nin birləşməsinə mane olur. Digərlərində (məsələn, EGF reseptorlarda) substratın birləşməsinə mane olur. Liqandın birləşməsi RTK-nın hüceyrəxarici domenlərinin dimerləşməsinə əmələ gətirən konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, bu da onların transmembran seqmentlərini və beləliklə də sitozol

domenlərini bir yerə gətirir. JAK kinazalarda olduğu kimi, bir subvahiddə olan kinaza başqa subvahiddəki fəallaşma ilgəyində xüsusi tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır (Şəkil 16-14, pillə 2). Bu fosforlaşma fəallaşma ilgəyində konformasiya dəyişikliyinə yaranmasına səbəb olur, nəticədə ATP-yə və ya fosforlaşmaq üçün olan substrata K_m -i reduksiya etməklə kinaza fəallığını (blok olunmadan) açır. Nəticədə, əmələ gələn yüksək kinaza fəallığı reseptorun sitozol domenində əlavə tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır (Şəkil 16-14, pillə 3), eləcə də başqa hədəf zülalları fosforlaşdıraraq hüceyrədaxili siqnalın ötürülməsinə səbəb olur.



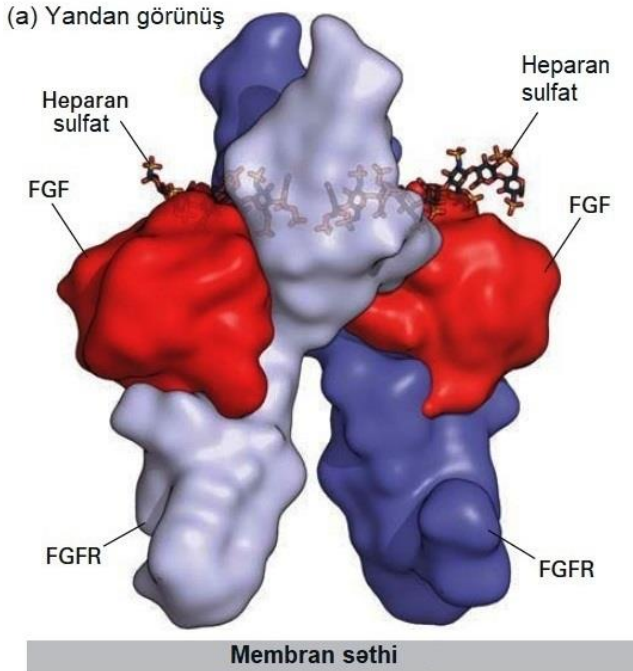
ŞƏKİL 16-14 Reseptor tirozinkinazaların (RTK) əsas quruluşu və fəallaşması. RTK-ların sitozol domeni daxili zülal tirozinkinaza katalitik mərkəzinə malikdir. Liqand olmayan hada (pillə 1), RTK-lar əsasən çox zəif kinaza fəallığına malik olan monomerlər kimi mövcud olurlar. Liqandın birləşməsi, fəal dimer reseptorun formalaşmasını əmələ gətirən konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, iki zəif fəallığa malik olan kinazaları bir yerə gətirir, onlar da fəallaşma ilgəyində bir-

birinin tirozin qalıqlarını fosforlaşdırırlar (pillə 2). Fosforlaşma ilgəyin katalitik mərkəzdən qabarıb çıxmasına səbəb olur, beləliklə ATP-nin və ya zülal substratının birləşmə imkanlarını artırır. Fəallaşmış kinaza sonra reseptorun sitozol domenində bir neçə tirozin qalığını fosforlaşdırır (pillə 3). Nəticədə əmələ gələn fosfotirozin siqnal ötürən müxtəlif zülalları üçün dokinq saytı kimi fəaliyyət göstərir.

Dimerləşmə bütün RTK-ların fəallaşması üçün vacib mərhələ olsa da, funksional dimerlər müxtəlif yollarla əmələ gələ bilər. Çox reseptorlar fibroblast boy faktoru (FGF) reseptoruna oxşar üslubda dimerləşir (Şəkil 16-15), bu zaman iki FGF molekulunun hər biri eyni zamanda iki reseptor subvahidinin hüceyrəxarici domenlərinə birləşir və dimeri stabilləşdirir. FGF həmçinin, bəzi hüceyrə-səth reseptor zülallarının və hüceyrəxarici matrisinin mənfi yüklənmiş polisaxarid komponenti (bax Fəsil 20) olan heparan sulfata sıx şəkildə birləşir, bu assosiasiya, liqand birləşməsinə və dimer reseptor-liqand kompleksinin əmələ gəlməsinə gücləndirir (Şəkil 16-15). Heparan sulfatın iştirak etməsi reseptorun səmərəli şəkildə fəallaşması üçün əhəmiyyətlidir.

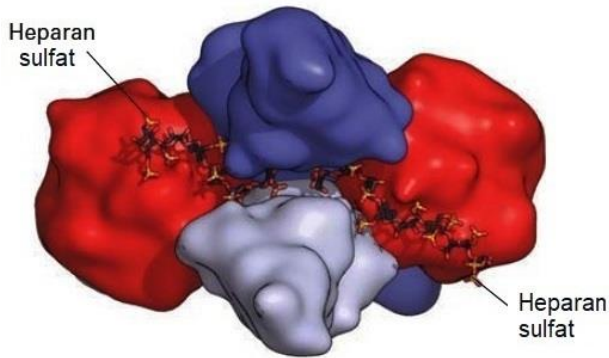
İnsulin reseptoru kimi bəzi RTK-lar hətta liqand olmadıqda belə disulfid-əlaqəli dimer əmələ gətirirlər, liqandın bu tip RTK-ya birləşməsi onda konformasiyanı elə dəyişir ki, reseptor kinaza fəallaşmış olur. Bu sonuncu nümunə göstərir ki, sadəcə olaraq çox yaxın əlaqədə olan iki reseptor monomərə malik olmaq hələ reseptorun səmərəli şəkildə fəallaşması üçün kifayət deyildir, tirozinkinazanın fəallaşmasına nail olmaq üçün

düzgün konformasiya dəyişməsi reseptor dimerləşməsi ilə müşayiət olunmalıdır. RTK funksional dimer vəziyyətə keçdikdən sonra onun assosiasiyada olan tirozin kinazası fəallaşmış olur.

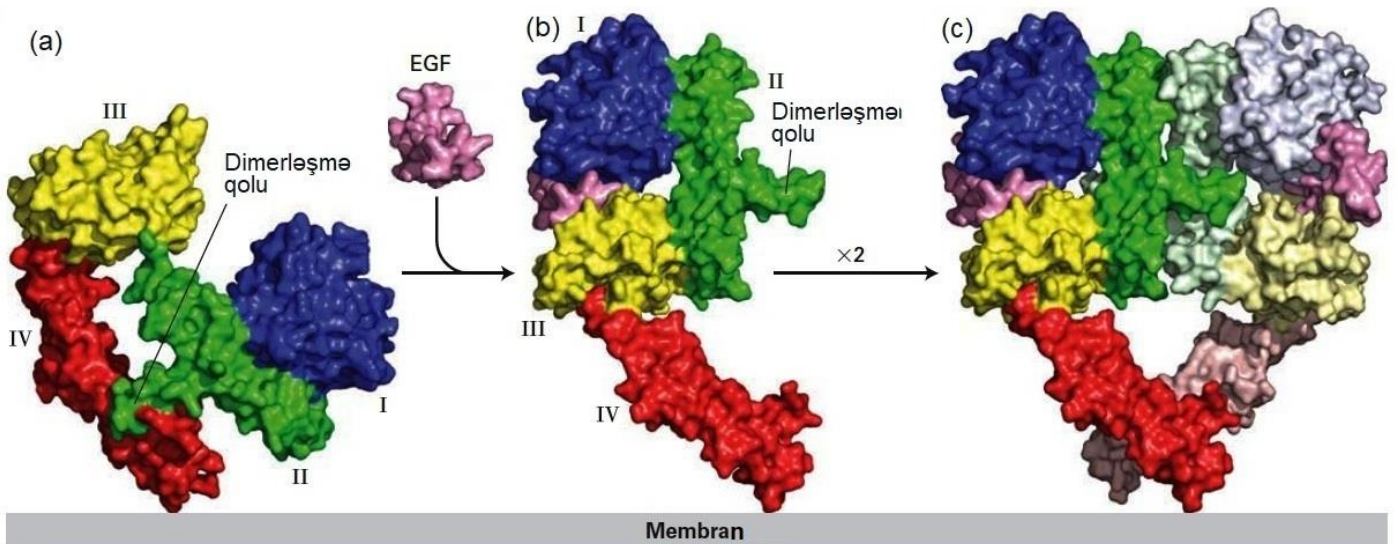


ŞƏKİL 16-15 İki liqandla və heparan sulfatla birləşərək stabil olmuş fəal dimer fibroblast boy faktoru (FGF) reseptorunun hüceyrəxarici domenlərinin quruluşu. Burada göstərilənlər iki FGF reseptor (FGFR) monomerlərinin hüceyrəxarici domenlərindən (çəhrayı və bənövşəyi), iki birləşmiş FGF molekullarından (qırmızı) və TGF- α sıx şəkildə birləşmiş iki qısa heparan sulfat zəncirindən təşkil olunmuş kompleksin yandan və yuxarıdan aşağıya görünüşüdür. (a) Yan görünüşdə bir reseptor monomerin yuxarı domeni (çəhrayı) digərinin yuxarı domeninin arxa tərəfində (bənövşəyi) yerləşmişdir, plazma membran müstəvisi dibdədir (altdadır). Hüceyrəxarici domen quruluşu hələ tam məlum olmayan kiçik seqmenti iki reseptorun hər bir membrana sarınan α -spiral seqmentinə (göstərilmir) birləşir və aşağıya doğru membran daxilinə uzanır. (b) Yuxarı görünüşdə, heparan sulfat zəncirləri göründüyü kimi hər iki reseptor monomerlərinin arasından düzülərək onların yuxarı domənləri ilə çoxsaylı kontaktlar əmələ gətirirlər. Bu əlaqələr liqandın reseptora birləşməsinə və reseptor dimerləşməsinə gücləndirir. [Verilənlər J. Shlessinger et al., 2000, *Mol. Cell* **6**:743, PDB ID 1fq9.]

(b) Yuxarıdan-aşağıya görünüş



ŞƏKİL 16-16 İnsanın epidermal boy faktoru (EGF) HER1-in liqandla-induksiya olunan dimerləşməsi. (a) Bütün EGF reseptorların hüceyrəxarici rayonu dörd domənə malikdir: I (mavi) və III (sarı) domənlər ardıcılıqlarına görə II (yaşıl) və IV (qırmızı) domənlər kimi çox yaxındırlar. EGF olmayanda, reseptorlar əsasən monomer olurlar və hüceyrədaxili kinaza qeyri fəal olur. Hüceyrəxarici rayon, eyni reseptor molekulunda "dimerləşmə qolunu" əmələ gətirən II doməndən β -baş sancağın IV domənə birləşdiyi konfuqurasiyanı alır. (b) EGF eyni zamanda I və III domənlərə birləşir və bu birləşmə hüceyrəxarici domendə əsas konformasiya dəyişikliyinə induksiya edir, belə ki, II domenin dimerləşmə qolu indi açıq vəziyyətdə qalır. (c) Reseptor birləşmiş iki identik monomerin membran müstəvisində dimerləşməsi iki reseptorun dimerləşmə qolları arasında qarşılıqlı təsir vasitəsi ilə baş verir. [Verilənlər H. Ogiso et al., 2002, *Cell* **110**:775, PDB ID 1ivo.]



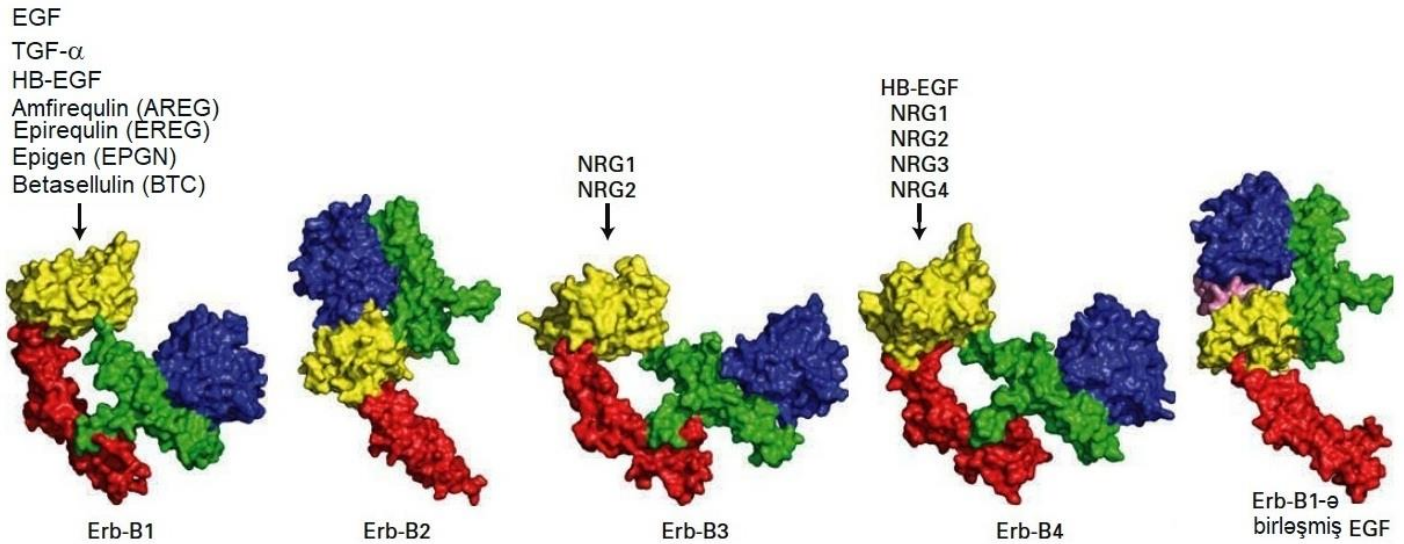
Epidermal Boy Faktoru Reseptorunun Homo- və Hetero-oligomerləri Epidermal Boy Faktoru Superailəsinin Nümayəndələrinə Birləşir

Dörd RTK siqnal molekulu epidermal boy faktoru (EGF) ailəsinin çoxsaylı nümayəndələrinin verdikləri siqnalların ötürülməsində iştirak edir, bu reseptorlar **ailəsinin** dörd nümayəndəsi Erb-B1, 2, 3 və 4 kimi işarələnir. İnsanlarda bu reseptorlar müvafiq olaraq **HER** (*human epidermal growth factor receptor*) 1, 2, 3 və 4 kimi adlandırılır. Epidermal boy faktorları və onların reseptorları insan xəstəliklərində iştirak etdiklərindən intensiv şəkildə öyrənilmişdilər, şiş xəstəliklərində həddən artıq istehsal olunan reseptorları hədəf edən dərmanlar, Fəsil 24-də öyrənəcəyimiz kimi, çox şişlərin müalicəsində istifadə olunur.

Sakitlik dövründə EGF reseptor molekullarının çoxu monomer olur. HER1 (Erb-B1) EGF-ə və EGF ailəsinin altı başqa nümayəndəsinə — heparin birləşdirən EGF (HB-EGF), transformasiya edən boy faktoru α (TGF- α), amfirequlin (AREG), epirequlin (EREG), epigen (EPGN) və betasellülünə (BTC) birbaşa birləşir. Bu liqandların istənilən birinin birləşməsi HER1 hüceyrəxarici domeninin homodimerləşməsinə səbəb olur (Şəkil 16-6). Sakitlikdə olan monomer vəziyyətində, reseptorun II domeninin seqmentində *dimerləşmə qolu* (*dimerization arm*) kimi adlandırılan, β -heparin IV domenlə sıx molekul daxili qarşılıqlı əlaqəni yaradır. EGF-in birləşməsi HER1-in hüceyrəxarici domenində güclü konformasiya dəyişilməsinə

səbəb olur, reseptor hormonu elə “sıxır” ki, dimerləşmə çiyini açılmış vəziyyətdə qalır. Sonra iki fəallaşmış reseptorun dimerləşmə çiyinləri möhkəm şəkildə bir yerə bağlanır və stabil reseptor homodimerini əmələ gətirirlər. FGF reseptorundan fərqli olaraq (bax Şəkil 16-15) liqand fəal dimeri birbaşa stabilləşdirmir.

HER3 və HER4 də həmçinin EGF ailəsinin nümayəndələrinə birləşirlər. Neyroqulin 1 və 2 (NRG1 və NRG2) həm HER3, həm də HER4-ə birləşir; HB-EGF, NRG3 və NRG4 yalnız HER4-ə birləşir. HER1 kimi HER4 də boy faktoru ilə birləşdikdən sonra stabil homodimerləri əmələ gətirə bilər, amma HER3 əmələ gətirə bilmir. Bəs HER3 siqnal necə baş verir? Cavab HER2-dir, o liqanda birbaşa birləşmir. Əksinə, HER2 EGF ilə birləşmiş HER1-ə çox oxşar olan fəallaşmış konformasiyada membranda mövcud olur; HER2 dimerləşmə qolu qabarıq xaricə tərəf çıxır və liqand birləşmiş HER3-lə və eləcə də liqand birləşmiş HER1 və HER4-ə birləşərək heterotrimeri əmələ gətirə bilər (Şəkil 16-17). HER2 yalnız liqand birləşmiş HER1, HER3 və ya HER4-lə heterokompleksi əmələ gətirərək siqnalı verə bilər, beləliklə o, bütün EGF ailəsi nümayəndələrinin siqnal veriməsinə imkan yaradır (Şəkil 16-17). Baxmayaraq ki, HER3-ün funksional kinaza domeni yoxdur, yenə də o siqnal verilməsində iştirak edə bilər, o liqandla birləşdikdən sonra HER2 ilə heterodimerləşir və HER2 kinaza vasitəsi ilə fosforlaşır və siqnal yolunda aşağıya istiqamətdə siqnal ötürülməsini fəallaşdırır.



ŞƏKİL 16-17 HER ailəsi reseptorları və onların liqandları. İnsanlar və sıçanlar insanlarda HER1, 2, 3 və 4 kimi sıçanlarda və başqa heyvanlarda isə Erb-B1, 2, 3 və 4 kimi adlandırılan dörd tirozinkinaza reseptorlarını ekspressiya edirlər. Bu reseptorların burada yalnız hüceyrəxarici domenləri göstərilmişdir. Bu reseptorlar epidermal boy faktoruna (EGF) və başqa EGF ailəsi nümayəndələrinə: heparin-birləşdirən EGF (HB-EGF), transformasiya edən boy faktoru alfa (TGF- α), amfirequlin (AREG), epirequlin (EREG), epigen (EPGN), betasellülünə (BTC) və dörd neyroqulinlərlə birləşirlər. Qeyd edək ki, liqanda birbaşa birləşməyən Erb-B2 (HER2) EGF ilə birləşən fəallaşmış Erb-B1-in konformasiyasına çox oxşar konformasiyada

mövcud olur. Erb-B2 liqandla fəallaşan Erb-B1, 3 və 4 ilə heterodimeri əmələ gətirə bilər, beləliklə Erb-B2 EGF ailəsi üzvlərinin siqnal ötürməsinə asanlaşdırır. Erb-B3 (HER3) çox zəif kinaza fəallıqlı domənə malikdir və yalnız Erb-B2 ilə kompleksdə olarkən siqnal ötürə bilər. [Erb-B1 verilənlər K. M. Ferguson et al., 2003, *Mol. Cell* **11**:507, PDB ID 1nql-dən. Erb-B2 verilənlər H.-S. Cho et al., 2003, *Nature* **421**:756, PDB ID 1n8z-dən. Erb-B3 verilənlər H. S. Cho and D. J. Leahy, 2002, *Science* **297**:1330, PDB ID 1m6b-dən. Erb-B4 verilənlər S. Bouyain et al., 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**:15024, PDB ID 1ahx-dən. EGF and Erb-B1 verilənlər H. Ogiso et al., 2002, *Cell* **110**:775, PDB ID 1ivo-dən.]

Beləliklə, HER2-nin hüceyrə səthində artması hüceyrəni çoxsaylı EGF ailəsi nümayəndələri ilə siqnal verilməsinə həssas edir, ona görə ki, ligand birləşməsindən sonra siqnal heterodimerlərinin əmələ gəlməsi sürəti artır. Necə ki, biz Fəsil 24-də öyrənəcəyik, HER-lərin öyrənilməsi, HER2 genlərinin amplifikasiya olunduğu və HER2-nin həddən artıq ekspressiya olunduğu süd vəzi xərçənginin çox yayılmış ümumi formasının nəyə görə belə təhlükəli olduğunu izah etməyə kömək etdi və əhəmiyyətli bir müalicə dərmanının alınmasına səbəb oldu. HER2-nin superekspressiyası şiş hüceyrələrini EGF ailəsi üzvləri boy faktorlarının istənilən nümayəndəsinin aşağı səviyyəsi ilə böyümənin stimullaşmasına həssas edir və bu səviyyədə HER2-nin normal səviyyəsi proliferasiyanı stimullaşdırma bilmir.

EGF Reseptorunun Fəallaşması Asimmetrik Fəal Kinaza Dimerinin Yaranmasına Səbəb Olur

Reseptor tirozinkinazaların çoxunda olduğu kimi, FGF reseptoru fəallaşma ilgəyindəki tirozin qalıqlarının fosforlaşması ilə fəallaşır. Əksinə, EGF reseptoru kinazanın fəallaşması fosforlaşma ilgəyinə malik deyil, onların fəallaşma mexanizmi yalnız son zamanlar reseptorun sitozol domeninin fəal və qeyri fəal vəziyyətlərində quruluş tədqiqatları zamanı aşkar edilmişdir. Kinaza domenləri transmembran seqmentdən, Şəkil 16-18-də mavi rəngli göstərilmiş membranayaxın (juxtamembrane) seqment adlanan seqmentlə ayrılır. Qeyri fəal monomer vəziyyətdə fəallaşdırma ilgəyi kinazanın fəal saytında yerləşir və onun fəallığını blok edir, bu yolla kinaza “söndürülmüş” (“off”) vəziyyəti saxlayır (Şəkil 16-18, *solda*). Reseptorun dimerləşməsi asimmetrik kinaza dimerini yaradır (Şəkil 16-18, *sağda*), bu zaman donor adlanan bir kinaza domeni ikinci kinaza domeninə — akseptora birləşir. Bu birləşmə akseptorun yuxarı payının konformasiyasını dəyişir, fəallaşdırma ilgəyinin kinazanın fəal saytından kənara çıxmasına və kinazanın fəallaşmasına səbəb olur.

Beləliklə, təkamül bu sadə liqand-RTK mexanizmində çox variasiyaları yaratmışdır: RTK-lar dimerləşməklə fəallaşırlar, amma müxtəlif reseptorlar bunu həyata keçirmək üçün fərqli mexanizmlərdən istifadə edirlər. Buna oxşar olaraq, kinazalar fəallaşma ilgəyinin kinaza katalitik mərkəzdən uzaqlaşdırılması ilə fəallaşmış olurlar, amma bu vəzifəni yerinə yetirmək üçün müxtəlif reseptorlar fərqli mexanizmlərdən istifadə edirlər. RTK-ların siqnal verməsinin azalan-tənziplənməsi də geniş yayılmışdır və bu vəzifəni həyata keçirmək üçün müxtəlif mexanizmlər yaranaraq inkişaf etmişdir.

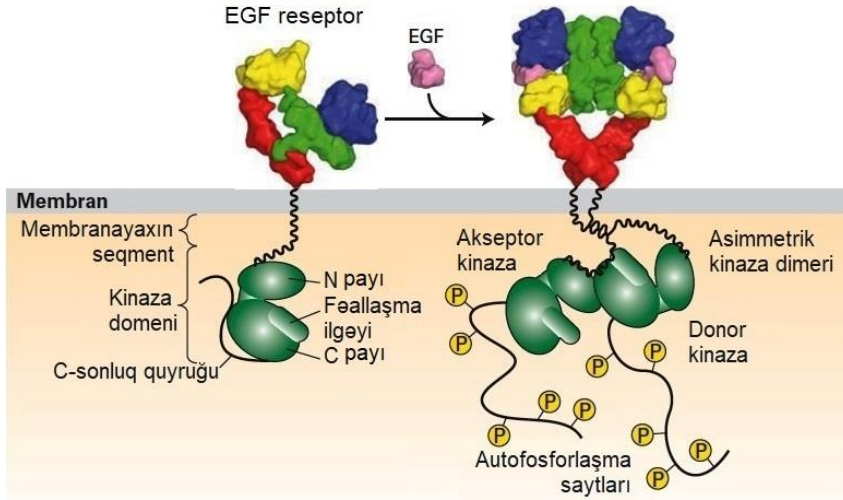
Çoxsaylı Mexanizmlər Sitokin Reseptorlardan Siqnalı Azalan İtiqamətdə Tənzimləyir

Bu fəsilin əvvəlində biz sitokin reseptorlardan siqnalın azalan modulyasiyasının iki mexanizmini müzakirə etdik, bunlara

fosfotirozin fosfatazalar və SOCS zülallar daxildirlər (bax Şəkil 16-13). Bu zülallar bəzi RTK-larla siqnal ötürülməsinin depressiyasında da istifadə edilir, amma iki başqa mexanizm – reseptorla vasitələnen endositoz və lizosomlarda parçalanma da geniş yayılmışdır.

Reseptor-Vasitəsilə Endositoz Hüceyrəyə liqandla uzunmüddətli təsir etdikdə bu çox zaman mövcud olan hüceyrə-səth reseptorlarının sayının azalmasına səbəb olur, belə ki, hüceyrələrin liqandın verilmiş qatılığı ilə olan təsirinə cavabı onun liqandla təsiredilməyə qədərki güclü cavabından çox zəif olacaq. Belə desensibilizasiya olunmuş cavab lazım olmayan uzunmüddətli reseptor fəallığına mane olmaq üçün kömək edir. Məsələn, epidermal boy faktoru (EGF) olmadıqda, bu liqandın HER1 adlı hüceyrə-səth reseptoru nisbətən uzunmüddət mövcud olur, onun yarım-yaşama dövrü orta hesabla 10 saatdan 15 saata qədər olur. Birləşməmiş sərbəst reseptorlar klattrinlə-örtülü boşluqlar vasitəsilə nisbətən kiçik sürətlə, orta hesabla hər 30 dəqiqədən bir endosomlar daxilinə mənimsənilir və tez-tez hallarda sürətlə plazma membranına qayıdırlar, beləliklə, səth reseptorlarının ümumi sayında çox kiçik azalma baş verir. EGF liqandın birləşməsinin ardınca, HER1-in endositozunun sürəti ~10 dəfə artır və daxilə mənimsənilmiş reseptorların yalnız kiçik bir fraksiyası plazma membranına qayıdır, qalanları isə lizosomlarda parçalanır. Hər dəfə HER1-EGF kompleksi reseptorla-vasitələnen endositoz adlanan proseslə (bax Şəkil 14-29) daxilə mənimsəniləndə, hüceyrə tipindən asılı olaraq reseptor 20 faizdən 80 faizə qədər ehtimalla daxilə parçalana bilər. Fibroblast hüceyrələrinin bir neçə saat müddətində EGF-in yüksək miqdarına məruz qoyulması əksər hüceyrə-səth reseptor molekullarının bir neçə dövrə parçalanmasına, beləliklə də hüceyrənin EGF-ə həssaslığının azalmasına səbəb olur. Bu müvəllə, EGF-in verilmiş qatılığı ilə uzunmüddətli təsiretmə hormonun bu səviyyəsinə hüceyrənin həssaslığını azaldır (desensibilizasiya edir), beləliklə hüceyrə yalnız EGF artırılan zaman cavab verə bilər.

Kinaza fəallığını itirən HER1 mutantlar liqandın iştirakı ilə sürətli endositoza məruz qalmırlar. Çox ehtimal ki, normal HER1-də kinaza fəallığının liqandla-induksiya olunan fəallaşması sitozol quyruğunda konformasiya dəyişikliyi induksiya edir, reseptorun klaritinlə-örtülü boşluqlara cəlb olunmasına imkan yaradan çeşidlənmə motifinə və ardınca da reseptor-liqand kompleksinin daxilə mənimsənilməsinə təsir edir. Mutant HER1-in sitozol domenlərinin geniş tədqiq olunmasına baxmayaraq bu “çeşidlənmə motiflərinin” identikliyi mübahisəlidir və çox ehtimal ki, endositoza gücləndirmək üçün çoxsaylı motiflər fəaliyyət göstərirlər. Maraqlıdır ki, daxilə mənimsənilmiş reseptorlar parçalanmadan öncə endosomlardan və ya başqa hüceyrə subkompartmentlərindən də siqnal verməkdə davam edə bilirlər, onların növbəti bölmədə müzakirə olunan ERB2 və Sos kimi siqnal zülallarına birləşməsi buna sübutdur.



ŞƏKİL 16-18 EGF reseptorunun EGF-lə fəallaşması asimmetrik kinaza domeni dimerinin yaranmasına səbəb olur. Fəallaşma ilgəyi qeyri fəal, monomer vəziyyətində kinazanın katalitik fəal mərkəzində yerləşir, beləliklə kinazanın fəallığını ingibirləşdirir. Reseptorun dimerləşməsi asimmetrik kinaza dimerini əmələ gətirir ki, nəticədə donör kinazanın C-sonluğunun C-payı qarşıdakı əks reseptorda akseptor kinazanın N-sonluğunun N-payına birləşir; dimer iki reseptorun membrana yaxın seqmentləri arasındakı qarşılıqlı təsirlə stabilləşir. Bu qarşılıqlı təsirlər, fəallaşma ilgəyini akseptor kinazanın kinaza katalitik mərkəzdən çıxaran konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, nəticədə onun kinaza xassəsi fəallaşır. Sonra fəal kinaza reseptorun sitozol domenində C-terminal seqmentlərdə tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır. [EGF reseptor verilənlər H. Ogiso et al., 2002, *Cell* **110**:775, PDB ID Iivo-dan. Asimmetrik kinaza dimeri verilənlər K. M. Ferguson et al., 2003, *Mol. Cell.* **11**:507, PDB ID Inql-dən.]

Lizosomal Parçalanma Səth reseptorlarının lizosomal parçalanmasına qarşı onların yenidən plazma membranında istifadə (recycling) olunmasına təsir edən bir neçə potensial proses vardır, bunlardan biri kiçik zülal ubikvitinlə kovalent modifikasiyadır (bax Fəsil 3). HER1-in sitozol domeninin monoubikvitinləşməsi (zülalın verilmiş lizin qalığına bir ubikvitinin birləşməsi) ilə HER1-in parçalanması arasında çox güclü korrelyasiya vardır. Başqa liqandla-fəallaşmış RTK-larda baş verən monoubikvitinləşmə c-Cbl fermenti vasitəsilə həyata keçir. E3 ubikvitin liqaza olan bu ferment (bax Şəkil 3-31), birbaşa fosforlaşmış EGF reseptora birləşən EGFR-birləşdirən domənə və ubikvitin-konyuqasiyalı fermentləri cəlb edən və ubikvitinin reseptora keçirilməsini həyata keçirən RING barmaq domeninə malikdir. Ubikvitin reseptorun üzərində “yarlık” kimi fəaliyyət göstərərək onun endosomlardan çoxborulu cismlərə inkorporasiyasını stimullaşdırır (bax Şəkil 14-33), o isə sonda lizosomlar daxilində parçalanır. EGF reseptorun aparılmasında c-Cbl-in rolu *C.elegance*-in genetik tədqiqatlarından aşkar edilmişdir, göstərilmişdir ki, c-Cbl nematodda EGF reseptorun (Let-23) fəaliyyətini, yəqin ki, parçalanmasını induksiya etməklə mənfi tənzimləyir. Buna oxşar olaraq, c-Cbl-i olmayan nokaut siçan süd vəzi epitelisinin hiperproliferasiyasını göstərir, bu c-Cbl-in EGF-lə verilən siqnalın mənfi tənzimləyici roluna tam uyğun gəlir.

Mutant hüceyrə xətləri ilə aparılan eksperimentlər nümayiş etdirdi ki, RTK-ların daxilə mənimsənilməsi hüceyrənin EGF və boy faktorlarına cavab reaksiyasının tənzimlənməsində əhəmiyyətli rol oynayır. Məsələn, EGF reseptorunda onun örtüklü boşluğa inkorporasiya etməsinə mane olan mutasiya (HER1) onu reseptor-vasitəsilə gedən (liqandla induksiya olunan) endositoza qarşı davamlı edir. Nəticədə, bu mutasiya hüceyrələrdə normal saydan əhəmiyyətli dərəcədə yuxarı sayda EGF reseptorlarının yaranmasına səbəb olur, beləliklə hüceyrənin EGF-ə qarşı mitogen siqnal kimi həssaslığı artır. Belə mutant hüceyrələr şiş hüceyrələrə EGF-lə induksiya olunan transformasiya olunmağa meyilli olurlar (bax Fəsil 24). Maraqlıdır ki, başqa EGF ailəsi reseptorları – HER2, HER3 və HER4 – liqandla-induksiya olunaraq daxilə mənimsənilmirlər, bu müşahidələr hər bir reseptorun öz müvafiq tənzimlənmə qaydası ilə necə yarandığını göstərir.

16.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYASI

Zülal TirozinKinazaları Fəallaşdıran Reseptorlar

- Boy faktorları və insulin kimi peptidlərə və siqnal yollarına birləşən tirozinkinaza reseptorları əvvəlcədən dimer formalarda ola bilirlər və ya liqandlar birləşərkən dimerləşirlər. Liqandın birləşməsi, reseptorla-assosiasiyalı kinazaların fəallaşmasının vacib mərhələsini, funksional dimer reseptorların yaranmasına səbəb olur və müxtəlif yollarla bu funksiyayı həyata keçirir (bax Şəkillər 16-14, 16-15 və 16-16).
- RTK-nın fəallaşması zülal tirozinkinazanın sitoplazmatik domeninin daxili hissəsi olan fəallaşma ilgəyinin fosforlaşmasına səbəb olur, onun katalitik fəallığını yüksəldir (bax Şəkil 16-14). Fəallaşmış kinaza sonra reseptorun sitozol domenində və digər zülal substratlarında tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır.
- İnsanlar çoxsaylı RTK-ları ekspressiya edirlər, onlardan dördü (HER1 – 4) epidermal boy faktoru reseptorları ailəsinə təşkil edirlər və bunlar siqnal molekullarının epidermal boy faktoru ailəsinin başqa nümayəndələrindən gələn siqnalın ötürülməsində iştirak edirlər (bax Şəkil 16-17). Bu reseptorlardan biri, HER2 liqanda birləşmir, o başqa HER zülalların liqand birləşmiş monomerləri ilə fəal heterodimerləri əmələ gətirir. HER2-nin superekspressiyası çox süd vəzi xərçənglərinin yaranmasında iştirak edir.
- Reseptor-hormon komplekslərinin endositozu və onların lizosomlarda parçalanması reseptor tirozinkinazaların və sitokin reseptorların sayını azaltmaq üçün əsas yoldur və bu yol çoxsaylı peptid hormonlara qarşı hüceyrənin həssaslığının azaldır.

16.4 Ras/MAP Kinaza Yolu

Demək olar ki, bütün tirozinkinaza reseptorları və sitokin reseptorlar *Ras/MAP Kinaza yolunu* fəallaşdırırlar (bax Şəkil 16-6b). Monomer *Ras zülalı* G zülalı olub hüceyrədaxili keçirici

zülalların *GTP-aza superailəsinə* aiddir (bax Şəkil 15-5). Fəallaşmış Ras zülalı membranda üç ardıcıl fəaliyyət göstərən proteinkinazaların təşkil etdiyi siqnal ötürən komplekslərin membranda formalaşmasını həyata keçirir. Bu *kinaza kaskadı* öz fəaliyyətinin ən yüksək zirvəsinə **MAP kinaza** ailəsinin bəzi nümayəndələrinin fəallaşması ilə çatır, MAP kinaza isə nüvəyə translokasiya edərək çoxsaylı müxtəlif zülalları fosforlaşdırır. MAP kinazanın hədəf zülalları arasında hüceyrə tsiklinə və differensiasiyasında əhəmiyyətli rol oynayan zülalların ekspressiyasını tənzimləyən transkripsiya faktorları vardır. Əhəmiyyətlidir ki, müxtəlif tipli hüceyrə-səth reseptorları müxtəlif siqnal yollarını fəallaşdırma bilirlər, nəticədə də MAP kinaza ailəsinin müxtəlif üzvlərinin fəallaşması baş verir.

RTK, Ras və ya MAP kinaza kaskadındakı zülaldə fəallaşdırıcı mutasiya demək olar ki bütün tip insan şişlərində tapıldığına görə, RTK/Ras/MP kinaza yolu geniş tədqiqatların mövzusu olmuşdur və bu yolun komponentləri barədə çox şey məlumdur. Biz öz müzakirəmizə Ras-ın fəal və qeyri fəal vəziyyətlər arasında necə dövrə etməsini nəzərdən keçirməklə başlayırıq. Sonra biz Ras-ın necə fəallaşdığını və siqnalı MAP kinaza yoluna necə ötürdüyünü təsvir edirik. Nəhayət sonda biz həm maya, həm də ali eukariotların hüceyrələrinin çoxsaylı MAP kinaza yoluna malik olmalarını göstərən son zamanların tədqiqatlarını nəzərdən keçiririk və hüceyrələrin skafolt zülallardan istifadə etməklə müxtəlif MAP kinaza yollarını bir-birindən necə ayırı saxlaması yoluna baxırıq.

Ras GTP-aza Keçirici Zülal Əksər RTK və Sitokin Reseptorların Ardınca Fəaliyyət Göstərir

Fəsil 15-də müzakirə olunan trimer G zülalların G_{α} subvahidində olduğu kimi, monomer Ras kimi zülallar da GTP birləşmiş fəal “işəsalan” və GDP birləşmiş qeyri fəal “dayandıran” vəziyyətləri arasında növbələşən keçirici zülallardır (bu konsepsiyaya nəzər yetirmək üçün bax Şəkil 15-4 və 15-5). Trimer G zülallardan fərqli olaraq Ras hüceyrənin səth reseptorları ilə birbaşa əlaqədə olmur. Trimer G zülallar kimi Ras-ın fəaliyyəti bir sıra başqa zülallarla tənzimlənir. Ras-ın fəallaşması, Ras•GDP kompleksinə birləşərək ondan GDP-nin dissosiasiyasına səbəb olan *quanin nukleotidi mübadiləsi faktoru (GEF)* ilə sürətlənir (bax Şəkil 15-4). Başqa G zülallarda olduğu kimi, GTP spontan şəkildə “boş” Ras molekullarına birləşir, fəal Ras•GTP-ni əmələ gətirir.

Ras (~170 amin turşu qalığı) G_{α} zülallardan (~300 amin turşu qalığı) kiçikdir, amma hər iki zülalın GTP birləşdirən domeni oxşar quruluşa malikdir (Ras-ın quruluşunu nəzərdən keçirmək üçün Şəkil 15-5-ə bax). Birləşmiş GTP-nin GDP-yə hidrolizi Ras-ı fəalsızlaşdırır. Quruluş və biokimyəvi tədqiqatlar göstərdi ki, G_{α} zülallarda daxili GTP hidrolizini sürətləndirən GTP-aza fəallaşdırıcı zülal (GAP) domeni vardır. Bu domen Rast zülaldə olmadığından, o çox zəif daxili GTP hidrolizinə malikdir. Beləliklə də GTP birləşmiş Ras-ın orta yaşama dövrü 1 dəqiqəyə yaxındır, bu isə G_{α} •GTP kompleksinin yaşama dövründən çox uzundur. Ras•GTP-nin daxili GTP-aza fəallığı

G_{α} •GTP-ninki ilə müqayisədə aşağı olduğundan Ras•GTP öz fəallığının söndürülməsi üçün başqa bir zülalın, GTP-aza fəallaşdırıcı zülalın (GAP) köməyini tələb edir. GAP-ın Ras•GTP-yə birləşməsi Ras-ın daxili GTP-aza fəallığını yüz dəfədən də artıq gücləndirir, GTP-nin faktiki hidrolizi həm Ras-ın, həm də GAP-ın amin turşuları ilə kataliz olunur. Xüsusilə, GAP-ın arginin yan zəncirlərindən birinin Ras-ın fəal mərkəzinə daxil edilməsi hidroliz reaksiyasında aralıq məhsulu stabilləşdirir.

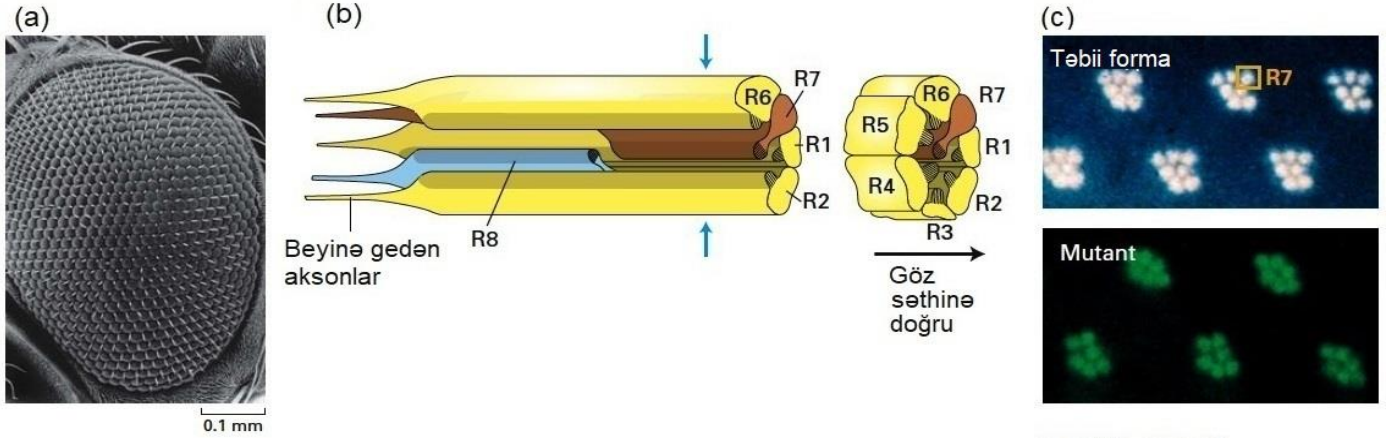


Məməlilərin Ras zülalları çox dərin detallarına qədər öyrənilmişdir, çünki Ras zülalları insanın xərçəng xəstəliklərinin çox tipləri ilə əlaqəlidir. Bu mutant zülallar GTP-yə birləşə bilir amma onları hidroliz edə bilmir, ona görə daimi “işəsalan” vəziyyətdə olur və onkogen transformasiyaya səbəb olur (bax Fəsil 24). Ras-Gap kompleksinin üçölçülü quruluşunun təyini və Ras-ın mutant formalarının sınaqdan keçirilməsi, əksər onkogen konstitutiv fəal Ras zülallarının (Ras^D) 12-ci mövqeyində mutasiya olduğu başsındıran müşahidələri izah etdi. Normal qlisin-12-nin istənilən başqa amin turşusu ilə (prolinədən başqa) əvəz edilməsi GAP-in funksional birləşməsini blok edir və mahiyyətcə Ras-ı GTP birləşmiş fəal vəziyyətdə “kilidləyir”. ■

Ümumi siqnal yolunda Ras-ın RTK-lardan aşağıya istiqamətdə fəaliyyət göstərməsinin ilk göstəricisi kultura olunan fibroblast hüceyrələrinin proliferasiya etmək üçün iki hormonun - PDGF və EGF qatılığı ilə təsir etməklə induksiya olduğu eksperimentlərdən alınmışdır. Anti Ras anticismlərin bu hüceyrələrə mikroinyeksiyası hüceyrə proliferasiyasını blok etdi. Əksinə, Ras zülalının GTP-ni hidroliz edə bilməyən və beləliklə də daimi fəal vəziyyətdə qalan konstitutiv fəal mutantı Ras^D-nin inyeksiya olunması boy faktorunun iştirakı olmadan belə hüceyrənin dayanmadan bölünməsi ilə nəticələndi. Bu kəşf detalları ilə Şəkil 15-14-də göstərilən aşağıya-dartma (pull-down) sınaqları vasitəsilə aparılan tədqiqatların nəticələri ilə, EGF-in fibroblastlara əlavə olunmasının GTP birləşmiş fəal Ras-ın miqdarının kəskin artmasına səbəb olması ilə tam uzlaşır. Amma, bizim görəcəyimiz kimi, fəallaşan RTK (və ya sitokin reseptoru) Ras-ı birbaşa fəallaşdırma bilmir. Əksinə, əvvəlcə başqa zülallar fəallaşmış reseptora cəlb olunmalıdır və sonra adaptor kimi fəaliyyət göstərməlidirlər.

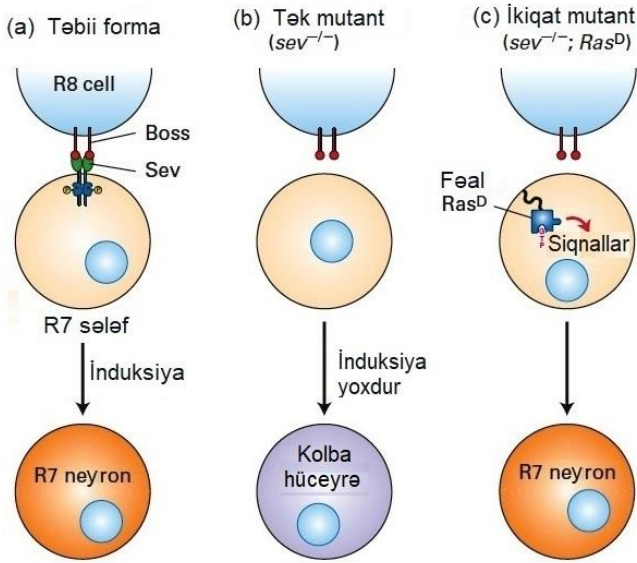
Drosophila-da Aparılan Genetik Tədqiqatlar Ras/MAP Kinaza Yolunda Əsas Siqnal Ötürən Zülalları İdentifikasiya Etdi

Ras/MAP kinaza yoluna daxil olan zülallar barədə bizim biliklərimiz əsasən, differensiasiyanın müəyyən bir mərhələsində blok olunmuş mutant meyvə milçəyi (*Drosophila*) və həlqəvi qurdların (*C.elegans*) genetik analizlərindən alınmışdır. Bu eksperimental yanaşmanın imkanlarını təsvir etmək üçün biz *Drosophila*-nın mürəkkəb gözündə inkişafa baxaq.



ŞƏKİL 16-19 *Drosophila melanogaster*-in mürəkkəb gözü. (a) Skanerli elektron mikrofotosu meyvə milçəyi gözünü təşkil edən fərdi ommatidiumları göstərir. (b) Tək bir ommatidiumun uzunluğunun və kəsiyinin görünüşü. Bu borulu quruluşların hər biri R1-R8 kimi işarələnən səkkiz fotoreseptora malik, uzun və silindirik formada olan işığa-həssas hüceyrələrdir. R1-R6 (sarı) gözün torlu qişasına keçərək dərinliyə qədər uzanır, R7 (qonur) göz səthinə tərəf yerləşmişdir, R8 isə (mavi) gözün aksionlar çıxan arxa tərəfində yerləşir. (c) Təbii formalı və sevenless mutant milçəklərin müqayisəsi, ommatidiumda

fotoreseptorları fərqləndirə bilən xüsusi metodla aparılmışdır. Eninə kəsik müstəvisi (b)-də mavi oxlarla işarələnmişdir, R8 hüceyrələri bu müstəvidən kənardadır. Bu müstəvidəki yeddi fotoreseptor təbii formalı ommatidiumlarda asanlıqla görüldüyü halda (*yuxarıda*), ommatidium mutantında yalnız altısı görünür (*aşağıda*). Sevenless mutasiyalı milçəklərin gözündə R7 hüceyrələr yoxdur. [(a) hissəsi Cheryl Power/Science Source; (c) hissəsi courtesy of Utpal Banerjee, UCLA.]

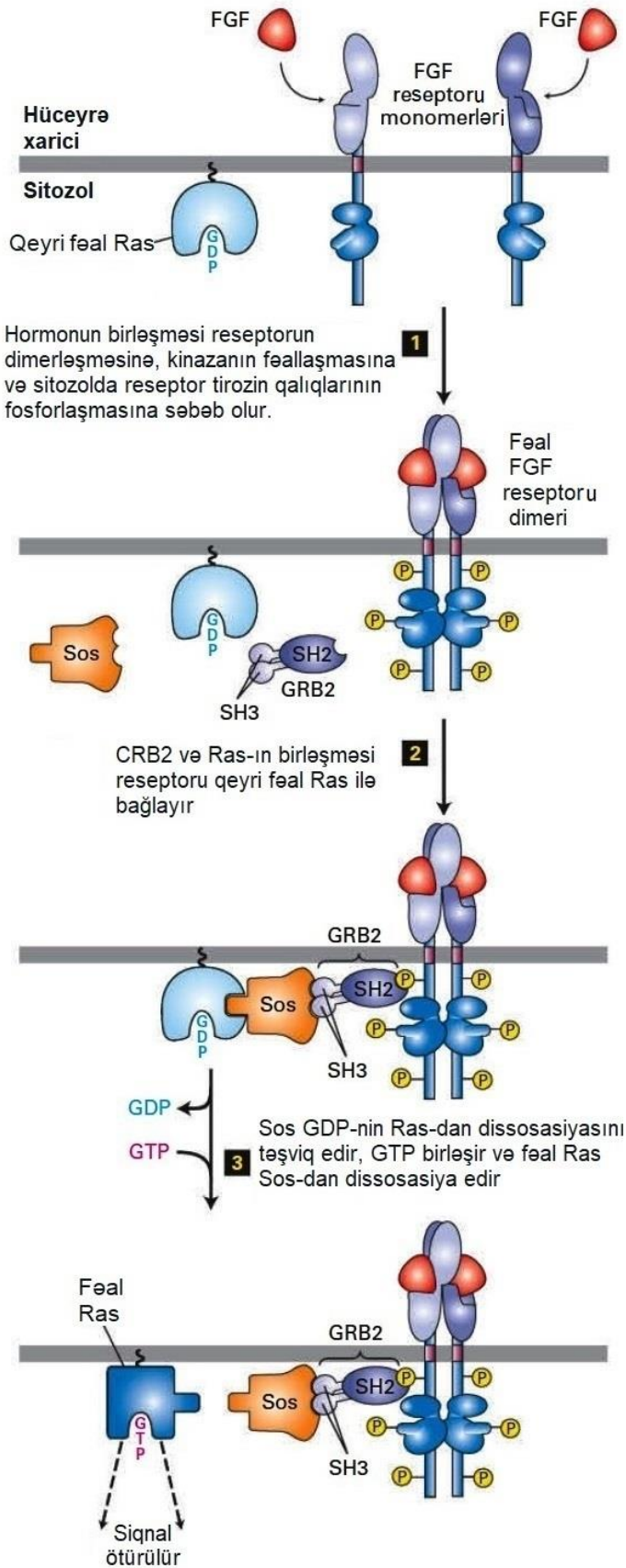


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 16-20 Genetik tədqiqatlar aşkar etdi ki, *Drosophila* gözündə Ras-ın fəallaşması R7 fotoreseptorların inkişafını induksiya edir. (a) Təbii formalı milçəklərdə rüseymin inkişafı zamanı, hər bir inkişaf edən ommatidiumda R8 hüceyrələr Boss adlanan hüceyrə-səth zülalını ekspressiya edirlər, bu zülal qonşu R7 sələf hüceyrənin səthindəki Sev RTK-ya birləşir. Bu qarşılıqlı əlaqə qen ekspressiyasında sələf hüceyrənin differensasiya edərək funksional R7 neyrona çevrilməsinə səbəb olan dəyişilməni induksiya edir. (b) *Sevenless (sev)* genində mutasiya olan milçəyin rüseymində R7 sələf hüceyrələr Boss-la birləşə bilmir, ona görə də R7 hüceyrəyə normal differensasiya edə bilmir. Əksinə, sələf hüceyrə alternativ inkişaf yoluna keçir və sonda kolba (cone) hüceyrələrinə keçir. (c) İkiqat-mutant süfrə ($sev^{-/-}; Ras^D$) R7 sələf hüceyrələrdə konstitutiv fəal Ras-ı (Ras^D) ekspressiya edir, bu isə Boss-vasitəsi ilə siqnal olmadan R7 sələf hüceyrələrdə differensasiyanı induksiya edir. Bu kəşf göstərir ki, fəallaşmış Ras zülalı R7 hüceyrələrin induksiya olunması üçün kifayət edir. Bax M.A. Simon et al., 1991, *Cell* **67**:701 və M.E. Fontini et al., 1992, *Nature* **355**:559.

Meyvə milçəyinin mürəkkəb gözü 800 qədər *ommatidium* adlanan fərdi gözlərdən təşkil olunmuşdur (Şəkil 16-19a). Hər bir ommatidium 22 hüceyrədən təşkil olunmuşdur, onlardan səkkizi *retinula* və ya R hüceyrələr adlanan işığa həssas neyronlardır və R1-R8 kimi işarə olunurlar (Şəkil 16-19b). *Sevenless (Sev)* adlanan RTK xüsusi olaraq R7 hüceyrələrin inkişafını tənzimləyir və məlum olan hər-hansı bir başqa funksiya üçün əhəmiyyətli deyildir. *Sevenless (sev)* mutant gənə malik olan milçəkdə hər bir ommatidiumda R7 hüceyrələr əmələ gəlmir (Şəkil 16-19c, *aşağıda*). R7 fotoreseptor yalnız milçəklərə ultrabənövşəyi işığı görmək üçün lazım olduğundan, funksional R7 hüceyrələrə malik olmayan, amma qalanları normal olan mutantlar asanlıqla ayrılırlar. Ona görə də, RTK-lardan gələn siqnalın öyrənilməsi üçün R7 milçək hüceyrələri ideal genetik sistemdir

Hər bir ommatidiumun inkişafı zamanı *Boss (Bride of Sevenless)* adlanan zülal R8 hüceyrələrin səthində ekspressiya olunur. Membrana-bağlanan bu zülalın hüceyrəxarici domeni qonşuluqda olan R7 sələf hüceyrənin səthindəki Sev RTK üçün liqandır, onun inkişaf edib fətohəssas neyrona çevrilməsi üçün siqnalı verir (Şəkil 16-20a). Funksional Boss zülalını və ya Sev RTK-nı ekspressiya edə bilməyən mutant milçəklərdə, Bos və Sev zülalları arasında qarşılıqlı əlaqə baş verə bilmir və R7 hüceyrə inkişaf etmir (Şəkil 16-20b), bu nəticə R7 hüceyrələrdə RTK-lar üçün “sevenless” adının mənşəyidir.

Sev RTK yolunda hüceyrədaxili siqnal-ötürən zülalları təyin etmək üçün tədqiqatçılar temperatura-həssas Sev zülalını ekspressiya edən mutant milçəkləri yaratdılar. Bu milçəklər yolverilən temperaturda yetişdiriləndə onların bütün ommatidiumları R7 hüceyrələrə malik olmuşdur, amma yolverilməyən temperaturda yetişdiriləndə R7 hüceyrələr inkişaf etməmişdilər. Amma, xüsusi aralıq temperaturda normal R7 inkişafını həyata keçirmək üçün məhz kifayət qədər Sev RTK funksional olmuşdur. Tədqiqatçılar belə hesab etdilər ki, bu aralıq temperaturda, əgər bu yola daxil olan başqa zülalın



ŞƏKİL 16-21 Liqandın tirozinkinaza reseptorlarına (RTK) və ya sitokin reseptorlara birləşməsinin ardınca Ras-ın fəallaşması.

Fibroblast boy faktorlarının (EGF) və çoxsaylı başqa boy faktorlarının reseptorları RTK-lərdir. Sitozol adaptor zülalı GRB2-nin SH2 domeni liqanda birləşmiş fəal reseptorda spesifik fosfotirozinə və sitozol Sos zülalına birləşir, onu plazma membranına və öz substratına, qeyri fəal Ras•GDP-yə yaxın gətirir. Sos-un qvanin nukleotidi mübadiləsi faktoru (GEF) fəallığı sonra Ras•GTP-nin əmələ gəlməsini sürətləndirir. Qeyd edək ki, Ras hidrofob farnezil lövbəri ilə plazma membranın sitozol səthinə bağlanır (bax Şəkil 10-19). Bax J.Schlessinger, 2000, *Cell* **103**:211 və M.A. Simon, 2000, *Cell* **103**:13.

səviyyəsi azalarsa və buna görə də bütün yolun fəallığı R7 hüceyrələri əmələ gətirmək üçün tələb olduğundan aşağı olarsa siqnal yolu qüsurlu olacaqdır (bəzəklə də R7 hüceyrələr inkişaf etməyəcəkdir). Belə bir zülalə təsir edən resesiv mutasiya bu təsərə malik olacaqdır, çünki *Drosophila* kimi diploid orqanizmlərdə, genin bir təbii və bir mutant allelinə malik olan heteroziqotların yarısı normal olan gen məhsulunu istehsal edəcək, ona görə də, hətta əhəmiyyətli bir genində belə resesiv mutasiyaya malik olan orqanizm adətən yaşaya bilmək qabiliyyətində olacaq. Amma, *sev* genində temperatura həssas mutasiyanı və siqnal yolunda olan başqa bir zülalə təsir edən mutasiyanı daşıyan milçək, güman olunur ki, aralıq temperaturda R7 hüceyrələrə malik olmayacaq.

Bu ekranlaşdırmadan istifadə edərək, tədqiqatçılar *Sev* yolunda əhəmiyyətli zülalları kodlaşdıran üç geni identifikasiya etdilər: insanın GRB2 (boy faktoru reseptoruna birləşmiş zülal 2 – growth factor receptor bound protein 2) zülalının amin turşusu ardıcılığı ilə 64 faiz oxşarlıq nümayiş etdirən SH2-ə malik olan adaptor zülalı, siçanın eyni adlı zülalı ilə 45 faiz oxşarlıq nümayiş etdirən Sos (Son of Sevenless) adlanan qvanin nukleotidi mübadiləsi faktorunu və məməlilərin eyni adlı zülalı ilə 80 faiz oxşarlıq nümayiş etdirən Ras zülalını. Sonralar aşkar olundu ki, bu üç zülal müxtəlif RTK-lərə liqandın birləşməsi ilə inisiyasiya olunan başqa siqnal yollarında da fəaliyyət göstərir və inkişaf edən milçəkdə müxtəlif zamanda və nahiyələrdə istifadə olunur.

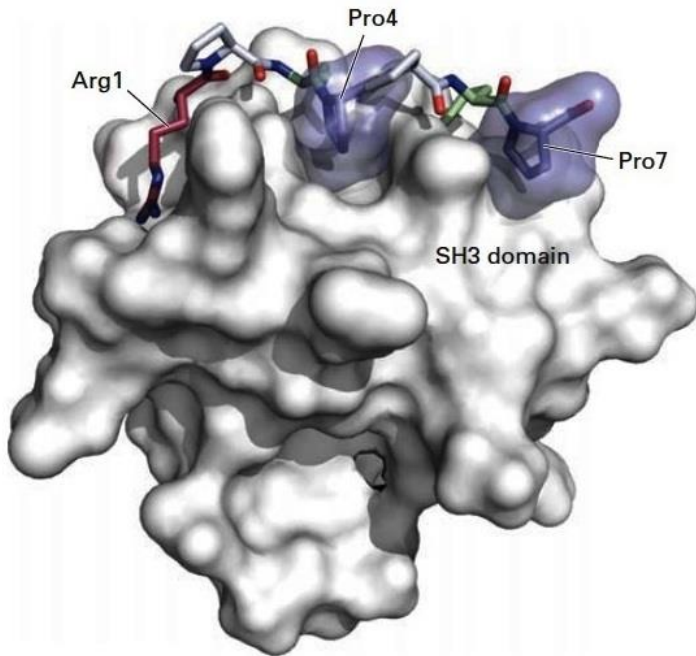
Tədqiqatçılar sonrakı tədqiqatlarda, mutant *ras^D* genini *sevenless* genində mutasiyanı daşıyan milçək embrionuna keçirdilər. Əvvəllər qeyd olunduğu kimi, *ras^D* geni konstitutiv fəal Ras zülalını kodlaşdırır, hansı ki bu zülal, hətta hormonal siqnal olmadıqda belə GTP-birləşmiş fəal formada mövcud olur. Baxmayaraq ki, bu ikiqat mutantlarda (*sev⁻; ras^D*) qeyri funksional *Sev* RTK ekspressiya olunur, amma R7 hüceyrələr normal əmələ gəlir və bu göstərir ki, fəallaşmış Ras zülalının olması R7 hüceyrələrin inkişaf etməsinə kifayət edir (Şəkil 16-20c). Əvvəldə təsvir olunmuş kultura olunan fibroblast hüceyrələrdən alınan nəticələrlə tam uzlaşan bu kəşf, əksər RTK-lar və sitokin reseptorlarla verilən hüceyrədaxili siqnal yollarında Ras-ın fəallaşmasının əsas mərhələ olması nəticəni dəstəkləyir.

Tirazinkinaza Reseptorları Adapter Zülallar Vasitəsilə Ras-la Əlaqələnilir

Fəallaşmış RTK və sitokin reseptorlarının Ras-ı fəallaşdırması üçün iki sitozol zülalı – GRB2 və Sos zülalları reseptorla Ras

arasında əlaqə yaradılmasına cəlb olunurlar (Şəkil 16-21). GRB2 *adapter zülaldır*, yəni onun *fermentativ fəallığı* yoxdur və iki başqa zülal arasında, indiki halda fəallaşmış reseptorla Sos arasında əlaqə və ya skafolt kimi xidmət edir. Sos, qeyri fəal GDP-birləşmiş Ras-ın GTP-birləşmiş fəal formaya çevrilməsini kataliz edən qüanin nukleotidi mübadiləsi zülalidir (GEF).

GRB2 onda olan SH2 domeninə görə adaptor zülalı kimi fəaliyyət göstərir, bu domen fəallaşmış RTK-da (və ya sitokin reseptorda) spesifik fosfotirazin qalıqına birləşir. GRB2 adaptor zülal ondakı SH2 domenindən başqa iki *SH3 domenlərə* də malikdir və bu domenlər Ras qüanin nukleotid mübadiləsi faktoru Sos-a birləşir (Şəkil 16-21). Fosfotirozin birləşmiş SH2 və PTB domenlər kimi SH3 domenlər, hüceyrədaxili siqnallarda iştirak edən böyük miqdarda zülallarda mövcuddurlar. Baxmayaraq ki, müxtəlif SH3 domenlərinin üç-ölçülü quruluşu oxşardır, amma spesifik amin turşu ardıcılıqları fərqlənir. GRB2-də SH3 domenləri Sos-da prolinlə zəngin ardıcılığa selektiv birləşir, başqa zülallarda SH3 domenlər Sos-da olanlardan fərqli prolinlə zəngin ardıcılığa birləşirlər.



ŞƏKİL 16-22 Hədəf peptidə birləşmiş SH3 domeninin səth modeli. Prolinlə zəngin qısa hədəf peptid fəza-dolduran model kimi göstərilir. Bu hədəf peptiddə, iki prolin (Pro4 və Pro7, tünd mavi) SH3 domeni səthində birləşmə cibinə uyğun gəlir. Argininin (Arg1, qırmızı) iki başqa prolinin (boz) və digər qalıqların (yaşıl) daxil olduğu qarşılıqlı əlaqə birləşmə spesifikliyini təyin edir. [Verilənlər S. Feng et al., 1995, *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 92:12408, PDB ID 1qwf.]

Prolin qalıqları adaptor zülalında (məsələn, GRB2) SH3 domeni ilə başqa zülaldakı (məsələn, Sos) prolinlə zəngin ardıcılıq arasında qarşılıqlı əlaqədə iki rol oynayır. Birinci, prolinlə zəngin ardıcılıq dartılmış gərgin konformasiyanı alır, bu da SH3 domenlə daha geniş əlaqələri (kontakları) qəbul edə bilir və qarşılıqlı əlaqəyə imkan yaradır. İkinci, bu prolinlərin bir hissəsi SH3 domeni üzərindəki birləşmə “cibinə” uyğun gəlir

(Şəkil 16-22). Bir sıra qeyri prolin qalıqları da SH3 domenləri ilə əlaqəyə girir və birləşmə spesifikliyinin təyin olunmasına cavab verir. Bu səbəbdən, zülalların SH3 və SH2 domenlərə birləşməsi eyni strategiya ilə baş verir: müəyyən qalıqlar birləşmə üçün lazım olan əsas quruluş motifini təmin edir, qonşu qalıqlar isə birləşməyə spesifiklik verir.

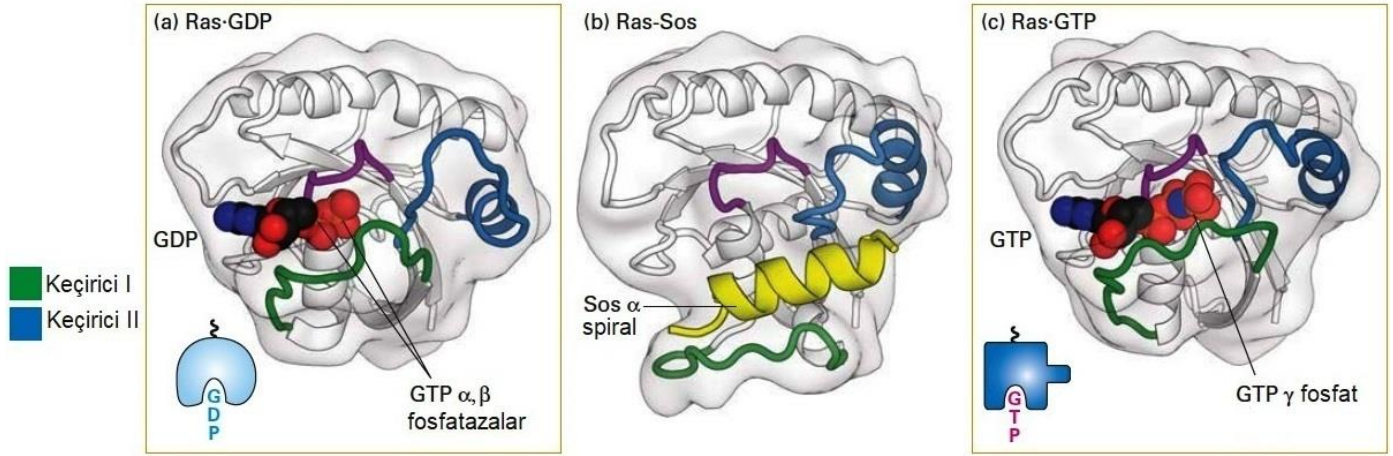
Sos-un Qeyrifəal Ras-a Birləşməsi GTP-nin GDP ilə Əvəz olunmasına Səbəb Olan Konformasiya Dəyişikliyinə Əmələ Gətirir

RTK-nın (məsələn, EGF reseptorunun) fəallaşmasının ardınca, plazma membranının sitozol üzündə fəallaşmış reseptora, GRB2 və Sos-a malik olan kompleks əmələ gəlir (bax Şəkil 16-21). Kompleksin əmələ gəlməsi GRB2-in *eyni zamanda* reseptora və Sos-a birləşmə qabiliyyətindən asılıdır. Beləliklə, reseptorun fəallaşması Sos-un sitozoldan membrana yerdəyişməsinə səbəb olur, Sos-u onun substratı yanına, məhz, artıq kovalent birləşdiyi lipidlərlə plazma membranına bağlanmış Ras•GDP yanına gətirir. Sos-un Ras•GDP-yə birləşməsi Ras-ın Keçirici I və Keçirici II seqmentlərində konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir, bununla da GDP-nin birləşmə cibini açır, beləliklə, o diffuziya edərək çıxıb bilər (Şəkil 16-23). Başqa sözlə, Sos Ras üçün GEF kimi fəaliyyət göstərir. Sonra GTP birləşərək Ras-ı fəallaşdırır. GTP-nin Ras-a birləşməsi öz növbəsində, Keçirici I və Keçirici II-də spesifik konformasiyanı induksiya edir, Ras/MAP kinaza yolunda Ras•GTP-nin növbəti zülalı fəallaşdırmasına imkan yaradır.

Siqnal Fəallaşmış Ras-dan Proteinkinazalar Kaskadına Keçir, MAP Kinaza ilə Sona Çatır

Maya, *C. elegans*, *Drosophila* və məməlilərdə aparılan biokimyəvi və genetik tədqiqatlar aşkar etdi ki, siqnal yolunda Ras-dan sonra, MAP kinaza ilə ən yüksək səviyyəsinə çatan üç proteinkinazanın yüksək konservativ kaskadı gəlir. Hərçənd ki, bu kinaza kaskadının fəallaşması bütün hüceyrələrdə eyni bioloji nəticəni vermir, ardıcıl fəaliyyət göstərən kinazaların ümumi dəsti, Şəkil 16-20-də təsvir edildiyi kimi, Ras/MAP kinaza yolunu müəyyən edir: Ras → Raf → MEK → MAP kinaza.

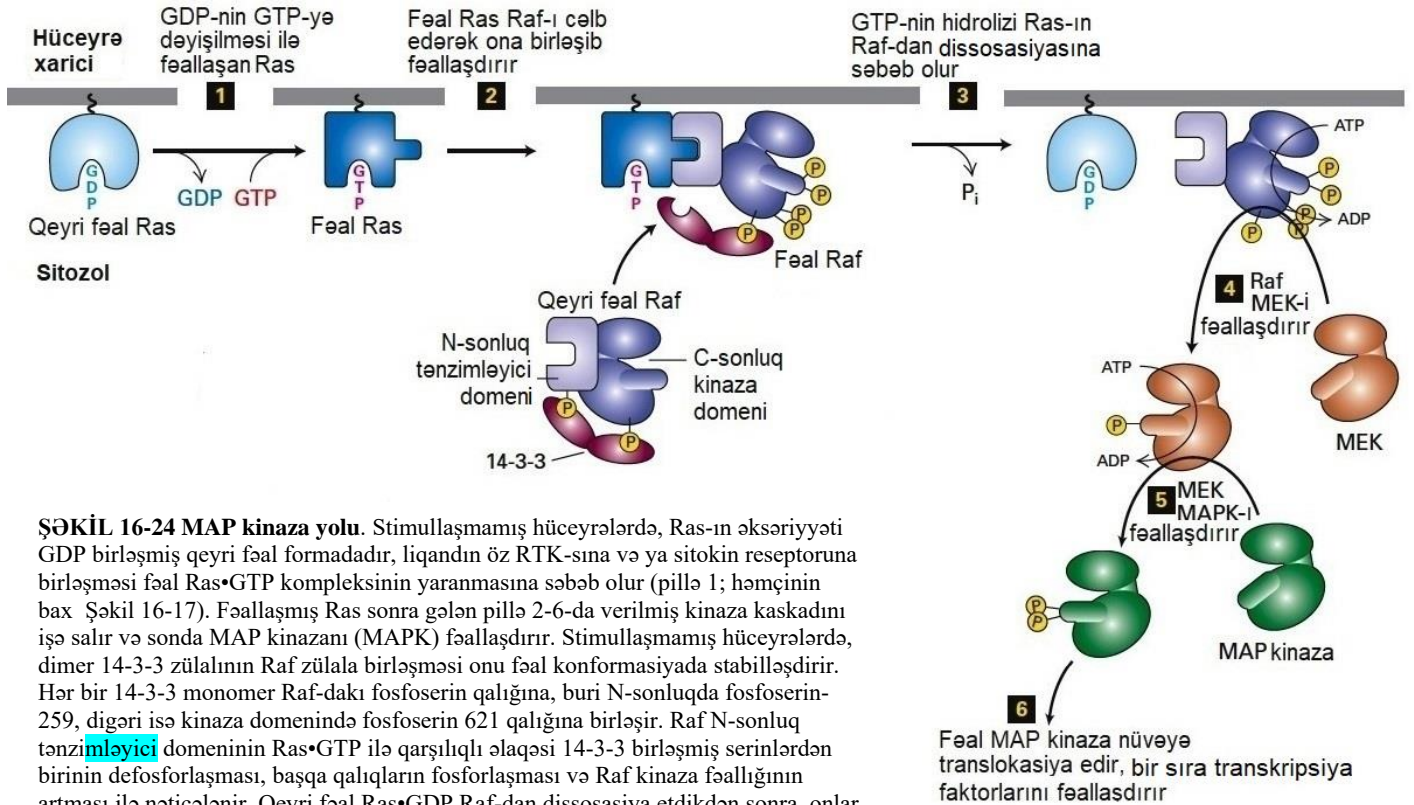
Ras GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasıyla fəallaşır (pillə 1). Fəal Ras•GTP *Raf* serin/treonin (tirozin deyil) kinazanın N-sonluqlu tənzimləyici domeninə birləşir, onu fəallaşdırır (pillə 2). Raf stimullaşmamış hüceyrələrdə fosforlaşır və qeyri fəal vəziyyətdə fosfoserin birləşdirən zülal 14-3-3 birləşir. Ras•GTP-nin Ras•GDP-yə hidrolizi fəal Raf-ı onun 14-3-3 ilə kompleksindən ayırır (pillə 3), sonra isə Raf MEK-i fosforlaşdıraraq onu fəallaşdırır (pillə 4). İkili-spesifikliyi olan proteinkinaza MEK özünün hədəf zülallarını həm tirozin, həm də serin/treonin qalıqlarında fosforlaşdırır. Fəal MEK sonra MAP kinazanı və ERK kimi məlum olan başqa bir serin/treonin kinazanı fosforlaşdıraraq fəallaşdırır (pillə 5). Müxtəlif hüceyrələrdə MAP kinaza çox sayda müxtəlif zülalları, o cümlədən hüceyrə cavabında iştirak edən nüvə transkripsiya faktorlarını fosforlaşdırır (pillə 6).



ŞƏKİL 16-23 GDP, Sos zülal və GTP ilə birləşmiş Ras-ın quruluşu.

(a) GDP-birləşmiş başqa G zülallarda olduğu kimi, Ras•GDP-də keçirici I (yaşıl) və keçirici II (mavi) seqmentlər GDP ilə birləşə əlaqədə olurlar. (b) Sos-da bir α spiral (qonur) Ras•GDP-nin hər iki keçirici rayonuna birləşir və Ras-da kütləvi konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur. Nəticədə, Sos keçirici I rayonunun yerini dəyişməklə Ras-ı açıq vəziyyətə gətirir və GDP-nin oradan diffuzuya edib çıxmasına imkan verir. (c) Güman olunur ki, GTP Ras-Sos kompleksə əvvəlcə onun əsası (qvanin) vasitəsi ilə birləşir, sonra GTP fosfatların birləşməsi qarşılıqlı əlaqəni tamamlayır. Nəticədə, Ras-ın keçirici I və keçirici II seqmentlərində alınan konformasiya dəyişilmələri onların

hər ikisinin GTP γ fosfata birləşməsinə, Sos-un yerini dəyişməsinə imkan verir və Ras•GTP-nin öz effektoru ilə əlaqəsini gücləndirir (sonra müzakirə olunur). Bənövşəyi rənglənmiş ATP və GTP birləşdirən zülallarda tapılmış motif ardıcılığı olan P ilgəkdir və nukleotidin β fosfatına birləşir. Ras•GDP və Ras•GTP-nin başqa təsvirinə görə Şəkil 15-15-ə bax. [(a) hissəsində verilənlər M. V. Milburn et al., 1990, *Science* 247:939, PDB ID 4q21-dən. (b) hissəsində verilənlər J. Sejbal et al., 1996, *J. Med. Chem.* 39:1281, PDB ID 1bdk-dən. (c) hissəsində verilənlər M. E. Pacold et al., 2000, *Cell* 103:931, PDB ID 1he8-dən.]



ŞƏKİL 16-24 MAP kinaza yolu. Stimullaşmamış hüceyrələrdə, Ras-ın əksəriyyəti GDP birləşmiş qeyri fəal formadadır, liqandın öz RTK-sına və ya sitokin reseptoruna birləşməsi fəal Ras•GTP kompleksinin yaranmasına səbəb olur (pillə 1; həmçinin bax Şəkil 16-17). Fəallaşmış Ras sonra gələn pillə 2-6-da verilmiş kinaza kaskadını işə salır və sonda MAP kinazanı (MAPK) fəallaşdırır. Stimullaşmamış hüceyrələrdə, dimer 14-3-3 zülalının Raf zülalına birləşməsi onu fəal konformasiyada stabilizə edir. Hər bir 14-3-3 monomer Raf-dakı fosfoferin qalığına, buri N-sonluqda fosfoferin-259, digəri isə kinaza domenində fosfoferin 621 qalığına birləşir. Raf N-sonluq tənzimləyici domeninin Ras•GTP ilə qarşılıqlı əlaqəsi 14-3-3 birləşmiş serinlərdən birinin defosforlaşması, başqa qalıqların fosforlaşması və Raf kinaza fəallığının artması ilə nəticələnir. Qeyri fəal Ras•GDP Raf-dan dissosiasiya etdikdən sonra, onlar yəqin ki, fəallaşan reseptorlardan gələn siqnallar vasitəsi ilə yenidən fəallaşma bilirlər, bununla da əlavə Raf molekullarını membrana cəlb edə bilirlər. Bax E. Kerkhoff and U. Rapp, 2001, *Adv. Enz. Regul.* 41:261; J. Avruch et al., *Recent Prog. Hormone Res.* 56:127 və D. Matallanas et al., 2011, *Genes Cancer* 2:232.

Bir sıra eksperimentlər nümayiş etdirdi ki, Raf, MEK və MAP kinazalar siqnal yolunda Ras-dan sonra yerləşirlər və bu yolda onların tənzimlənmə ardıcılığı aşkar olundu. Məsələn, məməlilərin N-sonluqlu tənzimləyici domenini itirmiş mutant Raf zülalını ekspressiya edən kultura olunan məməli hüceyrələri proliferasiya etmək üçün konstitutiv fəal Ras^D zülalı vasitəsilə nəzarət olunmayan şəkildə stimullaşdırıla bilmirlər. Bu kəşf Raf və Ras zülalları arasında əlaqənin olmasını aşkar etdi və göstərdi ki, Raf siqnal yolunda Ras-dan sonra yerləşir. İn vitro birləşmə tədqiqatları daha sonra göstərdi ki, təmizlənmiş Ras•GTP zülalı birbaşa Raf-ın N-sonluqlu tənzimləyici domeninə birləşir və onun katalitik fəallığını artırır.

Ras fəallaşmasına cavab olaraq MAP kinazanın fəallaşması, konstitutiv fəal Ras^D zülalını ekspressiya edən kultura olunan sakitlikdə olan hüceyrələrdə nümayiş etdirildi. Bu hüceyrələrdə, fəallaşmış MAP kinaza inkişafı-gücləndirən hormonların iştirakı olmadığı halda yaranır. Daha əhəmiyyətli odur ki, R7 fotorseptorlar inkişafda olan funksional Ras və Raf zülallarına malik olmayan, amma konstitutiv MAP kinazanı ekspressiya edən *Drosophila* mutantlarının gözündə normal inkişaf edirlər. Bu nəticələr göstərdi ki, MAP kinazanın fəallaşması kifayətdir ki, normal halda liqandın Sevenless kimi tirozinkinaza reseptoruna birləşməsi ilə inisiasiya olunan proliferasiya və ya differensiasiya siqnalını ötürsün (bax Şəkil 16-20). Amma biokimyəvi tədqiqatlar göstərdi ki, Raf birbaşa MAP kinazanı fosforlaşdırma bilmir və ya başqa yolla onu fəallaşdırma bilmir.

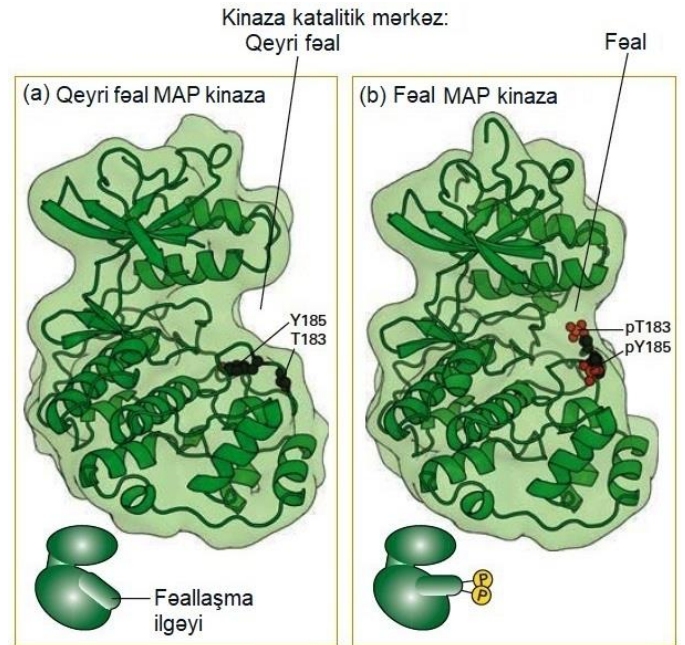
Ras•GTP vasitəsi ilə fəallaşan kinaza kaskadındakı sonuncu əlaqə tədqiqatçıların MAP kinazanı fosforlaşdırma bilən və stimullaşmayan hüceyrələrdə deyil yalnız boy faktoru ilə stimullaşan hüceyrələrdə olan kinaza fəallığını axtararkən kultura olunan hüceyrələrin ekstraktını fraksiyalara ayıran zaman apardıqları tədqiqatlardan ortaya çıxdı. Bu iş MAP kinazanın fəallaşması zamanı, spesifik olaraq onun bir treonin və bir tirozin qalığını fosforlaşdırma və beləliklə də onun katalitik fəallığını artıran kinaza MEK-in aşkar olunmasına səbəb oldu. (MEK qısaltması MAP və ERK kinazalardan gəlir.) Sonrakı tədqiqatlar göstərdi ki, MEK Raf-ın C-sonluğundakı katalitik domeninə birləşir və serin/treonin kinaza vasitəsi ilə fosforlaşır, bu fosforlaşma MEK-in katalitik fəallığını gücləndirir.

Buradan, Ras-ın fəallaşması, Raf, MEK və MAP kinazaların daxil olduğu kinaza kaskadını induksiya edir: fəallaşan RTK → Ras → Raf → MEK → MAP kinaza. Baxmayaraq ki, biz bunu burada vurğulamayacağıq, bu yolun mürəkkəbliyi onun hər bir komponentinin çoxsaylı izoformaları ilə artır. İnsanlarda üç Ras, üç Raf, iki MEK və iki ERK zülalları vardır və bunların hər birinin üst-üstə düşən, amma eyni zamanda gərəksiz olmayan funksiyaları vardır.



Raf genində fəallaşma mutasiyası, melanomaların, günəş işığında ultrabənövşəyi şüalara məruz qalmaqla yaranan dəri xərçənginin 50 faizindən çoxunda baş verir. Bu melanomalar arasında xüsusi bir mutasiya, 600-cü vəziyyətdə qlütamin turşusunun valinlə əvəz olunması 90 faizdən çox halda baş verir. Boy faktoru olmadan Raf mutantı hüceyrələrdə MEK-ERK siqnal ötürülməsini stimullaşdırır və mutant Raf transgenlər siçanda melanomayı induksiya edir. Raf kinazanın çox güclü və

selektiv inhibitorları artıq son zamanlar təbabətə daxil edilib və mutant Raf xəstələrdə çox gözəl nəticələr də alınıb. ■



ŞƏKİL 16-25 Qeyri fəal fosforlaşmamış və fəal fosforlaşmış MAP kinaza formalarının quruluşu. (a) Qeyri fəal MAP kinazada fəallaşma ilgəyi kinaza fəal mərkəzini blok edən konformasiyadadır. (b) MEK-in tirozin-185 (T185) və treonin-183-də (T183) fosforlaşması fəallaşma ilgəyində qeyd olunan konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur. Bu fəallaşma dəyişilməsi həm onun substratlarının—ATP və onun hədəf zülallarının kinazaya birləşməsini, həm də MAP kinaza dimerləşməsini gücləndirir. Buna bənzər fosforlaşmadan-asılı olan mexanizm RTK-ların daxili kinaza fəallığını və JAK kinazanı fəallaşdırır. [Verilənlər B.J. Canagarajah et al., 1997, Cell 90:859, PDB ID 2erk-dən.]

MAP Kinazanın Fosforlaşması Onun Katalitik Fəallığını Artıran və Kinazanın Dimerləşməsini Gücləndirən Konformasiya Dəyişikliyinə Səbəb Olur

Biokimyəvi və rentgen-quruluş analizləri fosforlaşmanın MAP kinazanı necə fəallaşdırdığının dəqiq təsvirini göstərdilər. JAK kinazalarda və reseptor tirozin-kinazalarda olduğu kimi, MAP kinazanın fosforlaşmamış qeyri fəal formasının katalitik mərkəzindəki müəyyən uzunluqda aminturşu qalıqları fəallaşma ilgəyi ilə blok olunur (Şəkil 16-25a). MEK-in MAP kinazaya birləşməsi ilgəyin quruluş stabilliyini pozur, nəticədə qeyri fəal konformasiyada batmış vəziyyətdə olan 185-ci tirozin açıq vəziyyətə gəlir. Bu kritik tirozinin fosforlaşmasının ardınca, MEK qonşuluqda olan treonin-183-ü fosforlaşdırır (Şəkil 16-25b). Həm fosforlaşmış tirozin, həm də fosforlaşmış treonin qalıqları MAP kinazada əlavə amin turşuları ilə əlaqəyə girir, beləliklə ilgək rayonuna dəyişilmiş konformasiyanı verir, hansı ki o da öz növbəsində ATP-nin bütün kinazalarda olduğu kimi, yuxarı və aşağı kinaza domenləri arasındakı şırımda olan katalitik mərkəzə birləşməsinə imkan yaradır. Fosfotirozin qalığı (pY185) həm də spesifik substrat zülallarının MAP kinazanın səthinə birləşməsində həlledici rol oynayır.

Fosforlaşma yalnız MAP kinazanın katalitik fəallığının güclənməsinə səbəb olmur, həmçinin onun dimerləşməsinə səbəb olur. MAP kinazanın dimer forması nüvəyə translokasiya olunur və orada çoxsaylı nüvə transkripsiya faktorlarının fəallığını tənzimləyir.

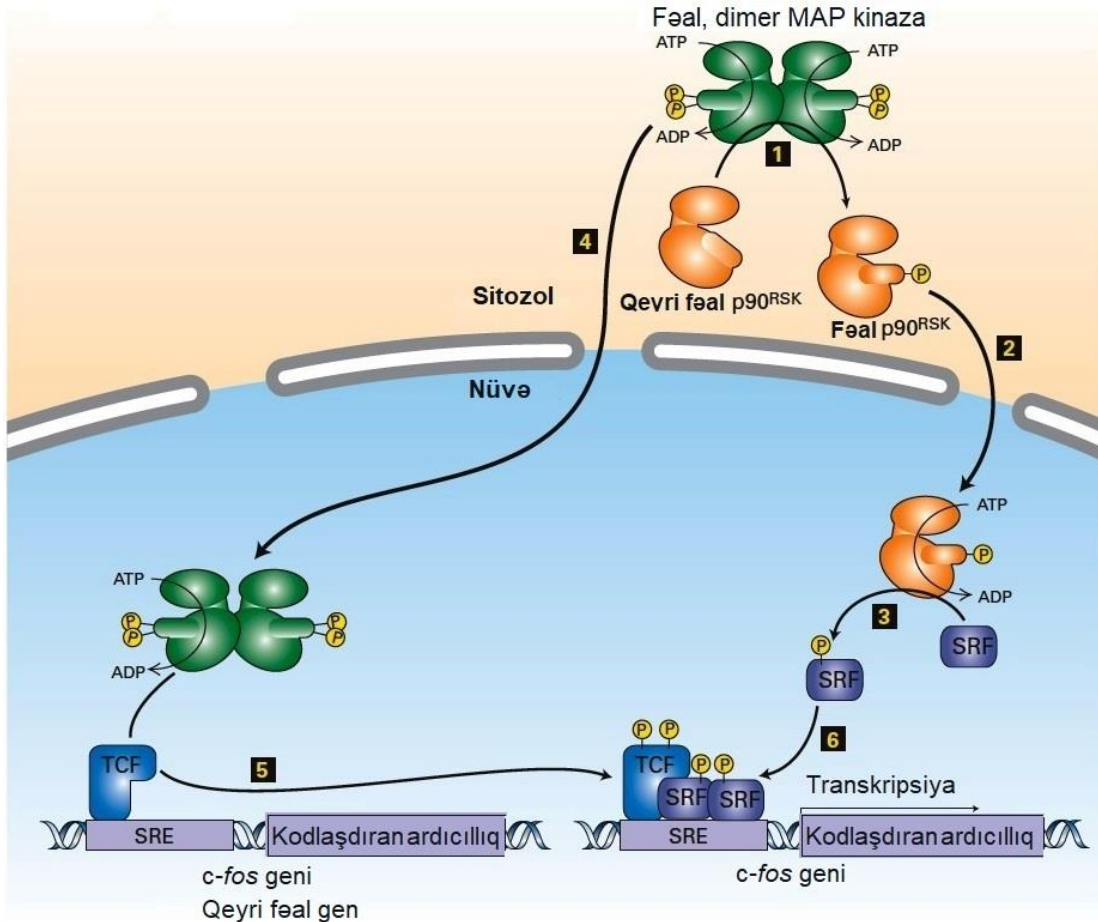
MAP Kinaza Erkən Cavab Genlərini Nizamlayan Çoxsaylı Transkripsiya Faktorlarının Fəallığını Tənzimləyir

Boy faktorlarının (məsələn, EGF və ya PDGF) məməlilərin sakitlikdə olan kultura olunan hüceyrələrinə əlavə olunması 100-ə qədər çoxsayda müxtəlif genlərin ekspressiyasını kəskin şəkildə gücləndirdi. Bunlara ona görə *erkən cavab genləri* deyilir ki, onlar hüceyrə tsiklinin S fazasına keçməzdən və DNT-nin replikasiyasından öncə induksiya olunurlar (bax Fəsil 19). Erkən cavab genlərindən biri c-Fos transkripsiya faktorunu kodlaşdırır. c-Jun kimi digər transkripsiya faktorları ilə birlikdə c-Fos hüceyrə tsiklinin gedişində hüceyrə üçün lazım olan zülalları kodlaşdıran çoxsaylı genlərin ekspressiyasını induksiya edir. Boy faktorları ilə birləşən RTK-ların çoxu MAP kinaza yolundan istifadə edərək c-Fos kimi zülalları kodlaşdıran genləri induksiya edirlər, onlar isə öz növbəsində hüceyrəni bütün hüceyrə tsikli boyu dövrə etdirirlər.

c-fos genini tənzimləyən enhanser *zərdab cavab elementinə* (*serum response element – SRE*) malikdir, ona görə belə adlandırılır ki, o qan zərdabında çoxsaylı boy faktorları ilə

fəallaşır. Bu mürəkkəb enhanser çoxsaylı transkripsiya faktorlarının birləşdiyi DNT ardıcılığına malikdir. Şəkil 16-22-də verildiyi kimi, fəallaşmış (fosforlaşmış) dimer MAP kinaza transkripsiya faktorlarından birini, *üçlü kompleks faktor* (*ternary complex factor – TCF*) birbaşa, digərini *zərdab cavab faktorunu* (*serum response factor – SRF*) isə dolayı yolla fəallaşdırmaqla *c-fos* geninin transkripsiyasını induksiya edir. Sitozolda, MAP kinaza p90^{RSK} adlanan kinazanı fəallaşdırır, o isə nüvəyə translokasiya olunaraq SRF-də spesifik serini fosforlaşdırır. Nüvəyə translokasiya olunduqdan sonra, MAP kinaza birbaşa TCF-də spesifik serin qalıqlarını fosforlaşdırır. Fosforlaşmış TCF-in iki molekul fosforlaşmış SRF-lə assosiasiyası genin transkripsiyasını fəallaşdıran fəal trimer faktorunu əmələ gətirir.

MAP kinaza kaskadında yalnız bir neçə hədəf kinazanı fosforlaşdıran Raf və MEK kinazalardan fərqli olaraq, MAP kinazalar məlumdur ki, sitozolda və nüvədə 175-dən artıq zülalı fosforlaşdırır. Çox MAP kinazaların hədəfləri gen ekspressiyasının tənzimləyiciləridirlər və müxtəlif MAP kinaza hədəfləri müxtəlif məməli hüceyrə tiplərində ekspressiya olunurlar. Stat-larla olduğu kimi, Smad-lar və birbaşa və ya dolayı yolla hüceyrə-səth reseptorları ilə fəallaşan digər transkripsiya faktorları, MAP kinaza ilə induksiya olunan müəyyən zülallar hüceyrədə ekspressiya olunan xüsusi hədəf zülallardan, DNT-dəki epigenetik markerlərdən və xromatin zülallarından, həmçinin başqa transkripsiya faktorlarının mövcud olmasından asılıdırlar (bax Şəkil 16-2).



ŞƏKİL 16-26 Genin transkripsiyasının MAP kinaza ilə induksiyası. Pilla 1-3: Sitozolda, MAP kinaza p90^{RSK} adlanan kinazı fosforlaşdıraraq fəallaşdırır, o isə sonra nüvəyə keçərək SRF transkripsiya faktorunu fosforlaşdırır. Pilla 4 və 5: MAP kinaza nüvəyə translokasiya etdikdən sonra, *c-fos* geninin promotor zonasına artıq birləşmiş vəziyyətdə olan TCF transkripsiya faktorunu birbaşa

G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Mayanın Cütləşmə Yolunda Sıqnalları MAP Kinazaya Ötürürlər

Baxmayaraq ki, çoxhüceyrəli heyvanlarda MAP kinaza tez-tez hallarda RTK-lar və sitokin reseptorlarla fəallaşır başqa reseptorlardan olan sıqnallar da bəzi eukariotik hüceyrələrdə MAP kinazı fəallaşdırır (bax Şəkil 15-32). Bunu təsvir etmək üçün, biz *S. cerevisiae*-də cütləşmə (cinsi çoxalma) yolunu, G zülallarla-cütləşən reseptorlarla, indiki halda ifraz olunan iki peptid hormonla **a** və **α** faktorlarla əlaqəli olan MAP kinaza kaskadının çox yaxşı öyrənilmiş nümunəsini nəzərdən keçirəcəyik.

Haploid maya hüceyrələri ya **a**, ya da **α** cütləşmə tipində olur. Onlar əks cütləşmə tipləri **a** və **α** haploid maya hüceyrələri arasında cütləşməni induksiya edən feromen kimi məlum olan zülal sıqnallarını ifraz edirlər. **a** haploid hüceyrəsi **a** cütləşmə faktorunu ifraz edir və **α** faktoru üçün hüceyrə səth reseptoruna malik olur; **α** hüceyrə isə **α** faktorunu ifraz edir və **a** faktoru üçün hüceyrə səth reseptoruna malik olur (bax Şəkil 1-23). Beləliklə, hər bir hüceyrə tipi əks tip tərəfindən yaradılan cütləşmə faktorunu tanıyır. MAP kinaza yolunun istər **a** və istərsə də **α** reseptorlar tərəfindən fəallaşması hüceyrə tsiklinin gedişini ingibirləşdirən genlərin və əks hüceyrə tiplərinin bir yerə qovuşmasını və sonda diploid hüceyrələrin əmələ gəlməsini mümkün edən başqa genlərin transkripsiyasını induksiya edir.

Liqandın iki maya feromen GPCR-lərdən istənilən birinə birləşməsi G_{α} subvahidində GDP-nin GTP ilə əvəz olunmasını və əmələ gəlmiş G_{α} •GTP-nin $G_{\beta\gamma}$ kompleksindən dissosiasiyasını həyata keçirir. Bu fəallaşma prosesi əvvəlki fəsilə müzakirə olunmuş GPCR-lərlə olan proseslə identikdir (bax Şəkil 15-14). Məməlilərin çoxsaylı GPCR-lə-nisiasiya olunan yollarında fəal G_{α} sıqnal yaradır. Əksinə, mutantlar və biokimyəvi tədqiqatlar göstərdilər ki, dissosiasiya etmiş $G_{\beta\gamma}$ kompleksi maya feromen reseptorlarının fəallaşması tərəfindən induksiya olunan bütün fizioloji cavab reaksiyalarını həyata keçirilməsində iştirak edirlər (Şəkil 16-27a). Məsələn sübut kimi, G_{α} olmayan maya hüceyrələrində $G_{\beta\gamma}$ həmişə sərbəst olur. Belə hüceyrələr cütləşmə faktorları olmadan da cütləşirlər, bu halda cütləşmə cavab reaksiyası konstitutiv olaraq həmişə işəsalan vəziyyətində olur. Amma G_{α} və G_{β} subvahidlərində qüsurlu olan hüceyrələrdə cütləşmə yolu heç zaman induksiya oluna bilməz. Əgər dissosiasiya olunmuş G_{α} transduser (ötürücü) olur, gözlənilə bilər ki, bu mutant hüceyrələrdə yol konstitutiv fəal olsun.

Maya cütləşmə yolunda, $G_{\beta\gamma}$, Ras-dan sonra gələn kinaza kaskadına analoji olan kinaza kaskadını işə salmaq fəaliyyət göstərir, kaskadda hər bir zülal mayaya-spesifik adlandırılmaya malikdir, amma ardıcılıqlarına görə, quruluşuna və funksiyasına görə analoji olan, məməlilərin Şəkil 16-24-də göstərilmiş müvafiq zülalları ilə oxşardır. Bu kaskadın komponentləri **a** və **α** reseptorlarına və G zülallara malik olan, amma steril (*Ste*) və ya qüsurlu cütləşmə cavabına malik olan mutantların analizləri ilə aşkar edilmişdir. Komponentlər arasındakı fiziki əlaqələr

fosforlaşdırır. Pilla 6: Öz promotor zonasında SRE ardıcılığına malik olan genlərin (məsələn, *c-fos*) transkripsiyasını stimullaşdırmaq üçün fosforlaşmış TCF və SRF birləşmə fəaliyyət göstərir. Detallarına görə tekstə bax. Bax R. Marias et al., 1993, *Cell* **73**:381 və V.M. Rivera et al., 1993, *Mol. Cell Biol.* **13**:6260.

maya hüceyrələri ekstraktının immunçökdürmə eksperimentləri vasitəsi ilə və başqa tədqiqatlarla qiymətləndirildi. Bu tədqiqatlara əsaslanaraq alimlər Şəkil 16-27a-da göstərilmiş kinaza kaskadını təklif etdilər. γ -subvahidinə birləşmiş lipid vasitəsi ilə membrana bağlanmış sərbəst $G_{\beta\gamma}$ Ste5 zülalına birləşir, beləliklə onu və onun birləşdiyi kinazaları plazma membranına sərbəst edir. Ste5-in aydın katalitik funksiyası yoxdur və başqa komponentlərin (Ste11, Ste7 və Fus3) kaskadda yığılmasında skafolt kimi fəaliyyət göstərir. $G_{\beta\gamma}$ həmçinin, Ras-a bənzər olan cdc 42 üçün GEF olan cdc24-ü fəallaşdırır, GTP•cdc42 öz növbəsində ste20 proteinkinazı fəallaşdırır. Ste20 isə Raf-ın analoqu olan serin/treoninkinaza Ste11-i və məməlilərin başqa MEKK zülallarını fosforlaşdıraraq fəallaşdırır. Fəallaşmış Ste11 sonra ikiqat spəfikli MEK Ste7-ni fosforlaşdırır, hansı ki sonra MAP kinazaya ekvivalent olan serin/treonin kinaza Fus3-ü fosforlaşdıraraq fəallaşdırır. Fəallaşmış Fus3 nüvəyə translokasiya etdikdən sonra iki zülalı, Dig1 və Dig2-ni fosforlaşdırır, onların Ste12 transkripsiya faktorunu ingibirləşdirməsini buraxır. Fəallaşmış Ste12 öz növbəsində cütləşmə-spesifik hüceyrə cavablarında iştirak edən zülalların ekspressiyasını induksiya edir. Fus 3 həmçinin gen ekspressiyasına başqa zülalları fosforlaşdırmaqla da cavab verir.

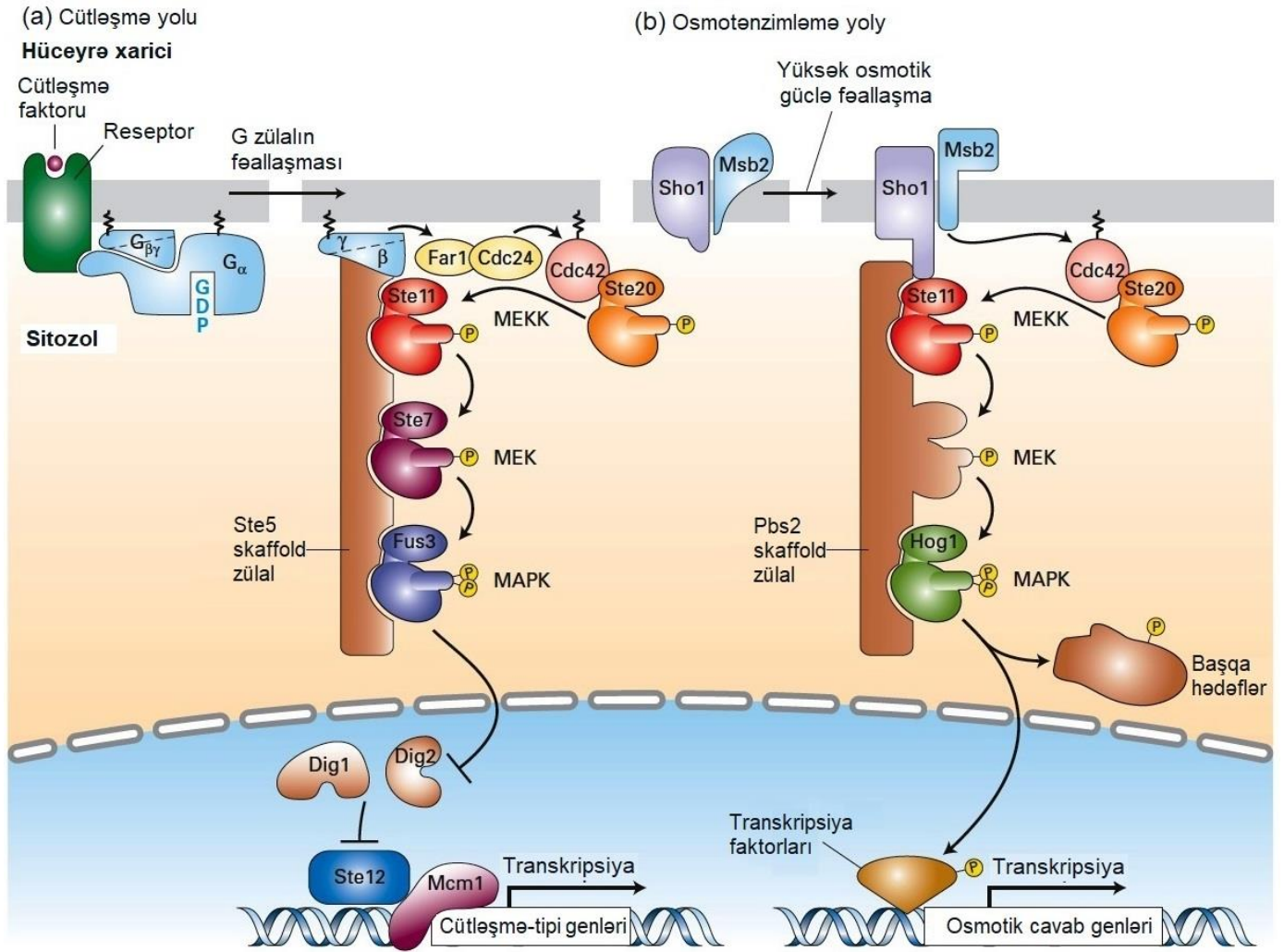
Eukariotik Hüceyrələrdə Skafold Zülallar Çoxsaylı MAP Kinaza Yollarını Ayırır

Biz indicə gördük ki, həm mayada, həm də ali eukariotlarda hüceyrələr Ras/MAP kinaza sıqnal yoluna malikdirlər, və bu sıqnal yolu hüceyrəxarici sıqnal zülalları vasitəsi ilə fəallaşır və birlikdə hüceyrə davranışındakı xüsusi dəyişiklikləri işə salan transkripsiya faktorlarının və başqa sıqnal zülallarının MAP kinaza vasitəsi ilə fosforlaşmasında ən yüksək zirvəsinə çatır. Qeyd etmək vacibdir ki, bütün eukariotlar çoxsaylı yüksək konservativliyə malik olan MAP kinaza yoluna malikdirlər, bunlar da müxtəlif hüceyrəxarici sıqnallarla fəallaşır və müxtəlif transkripsiya faktorlarını fosforlaşdıraraq müxtəlif MAP kinaza zülallarını fəallaşdırırlar, bunlar isə öz növbəsində hüceyrə bölünməsində, differensiasiyasında və ya fəaliyyətində müxtəlif dəyişilmələrin əmələ gəlməsinə səbəb olurlar. Məməlilərin MAP kinazalarına *Jun N-sonluq kinazalar (JUNK)* və *p38 kinazalar* daxildirlər və bunlar müxtəlif stresslərə cavab olan sıqnal yolları ilə fəallaşır və müxtəlif transkripsiya faktorlarını və hüceyrə bölünməsinə təsir edən başqa tip sıqnal zülallarını fosforlaşdırırlar.

Şiçanda və *Drosophila*-da indiki genetik və biokimyəvi tədqiqatlar ali eukariotlarda hansı MAP kinazanın hansı sıqnala qarşı hansı cavab reaksiyasını yerinə yetirməsinin təyin edilməsinə yönəldilmişdir. Bunun əsas hissəsi artıq ən sadə orqanizm olan *S. cerevisiae* üçün yerinə yetirilmişdir. *S. cerevisiae* genomunda kodlaşdırılan altı MAP kinazaların hər biri genetik analiz ilə spəfik sıqnal yollarında – feromonlar,

yüksək osmolyarlıq, aclıq, hipotonik şok və karbon və ya azot çatışmazlığı kimi müxtəlif hüceyrəxarici siqnallarla işə salınan spesifik siqnal yollarında təyin edilmişdir. Osmotənizmləyici kimi məlum olan ikinci maya MAP kinaza kaskadı Şəkil 16-27b-də göstərilmişdir, bu yol MAP kinaza Hog1-in fəallaşması ilə

nəticələnir, o isə öz növbəsində mayanın yüksək osmotik gücə malik olan mühitdə sağ qalması üçün tələb olunan genlərin ekspressiyasını induksiya edən zülalları fosforlaşdıraraq fəallaşdırır.



ŞƏKİL 16-27 Scaffolt zülalları cütləşmə və osmotənizmləyici yollarda maya MAP kinaza kaskadlarını ayırır. Mayada müxtəlif reseptorlar müxtəlif MAP kinaza yollarını fəallaşdırır, onlardan ikisi burada şərh olunmuşdur. Burada verilmiş iki MEK kaskadı bütün başqa MEK-lər kimi ikili xüsusiyyətə treonin/tirozin spesifikliyinə malikdir, bütün başqaları isə serin/treonin kinazalardır. (a) *Cütləşmə yolu*: Maya α və β cütləşmə faktorlarının reseptoru eyni trimer G zülalla birləşir. Liqandın birləşməsinin və G zülalı subvahidlərinin dissosiasiyasının ardınca membrana birləşmiş olan $G_{\beta\gamma}$ subvahidi Ste5 skafoltu plazma membranına birləşdirir. $G_{\beta\gamma}$ həm də Ras-a bənzər zülal Cdc42-nin GEF-ə malik olan Cdc24-nü fəallaşdırır, GTP ilə birləşmiş fəal Cdc42 öz növbəsində rezident Ste20 kinazaya birləşərək onu fəallaşdırır. Ste20 sonra Raf və məməlilərin başqa MEK kinaza (MEKK) zülallarına analogi olan Ste11-i fosforlaşdıraraq fəallaşdırır. Beləliklə, Ste20 MAPKKK kinaza rolunu oynayır. Ste11 kinaza kaskadını inisiyasiya edir və bunun son komponenti Fus3, fəaliyyətinə görə ali eukariotlardakı MAP kinazaya (MAPK) ekvivalentdir. Başqa MAP kinazalar kimi, fəallaşmış Fus3 sonra nüvəyə translokasiya edir. Orada o, iki zülalı Dig1 və Dig2-ni fosforlaşdırır, Ste12 transkripsiya faktorunun bu zülallarla ingibirləşdirməsini buraxır və onun DNT-yə

birləşməsinə və hüceyrə tsiklinin gedişini və əks cütləşmə tipi hüceyrələrinin bir yerə qovuşmasını və sonda diploid hüceyrə yaratmasını mümkün edən başqa hüceyrə proseslərini ingibirləşdirən genlərin transkripsiyasını inisiyasiya etməsinə imkan yaradır. (b) *Osmotənizmləyici yol*: İki plazma membranı zülalları Sho1 və Msb1 maya hüceyrələrini yüksək osmotik gücə malik olan mühitə məruz qoyduqda naməlum şəkildə fəallaşır. Fəallaşmış Sho1 MEK domeninə malik olan Pbs2 skafold zülalını plazma membranına səfərbər edir. Cütləşmə yoluna oxşar olaraq, plazma membranında Sho1Msb1 kompleksi Cdc42-ni də fəallaşdırır, o isə öz növbəsində rezident Ste20 kinazanı fəallaşdırır. Ste20 isə öz növbəsində Ste11-i fosforlaşdıraraq fəallaşdırır və Hog1 MAP kinazanı fəallaşdıran kinaza kaskadını inisiyasiya edir. Sitozolda Hog1 ion kanalları da daxil olmaqla xüsusi zülal hədəflərini fosforlaşdırır; nüvəyə translokasiya etdikdən sonra, Hog1 bir sıra transkripsiya faktorlarını və xromatin-modifikasiya edən fermentləri fosforlaşdırır. Hog1, transkripsiyanın elonqasiyasını da gücləndirir. Yeni sintez olunmuş və modifikasiya olunmuş zülallar birlikdə yüksək osmotik gücə malik olan mühitdə sağ qalmağı təmin edir. Bax, N. Dard and M. Peter 2006, *Bioassays* **28**:146 və R. Chen and J. Thomer 2007, *BiochemBiophys.Acta* **1773**:1311.

Çətinlik ona görə əmələ gəlir ki, həm maya hüceyrələrində, həm də ali eukariot hüceyrələrində müxtəlif MAP kinaza kaskadları bəzi ümumi komponentləri bölüşürlər. Məsələn, MEKK Ste11 mayanın üç siqnal yolunda iştirak edir: cütləşmə yolu, osmotənzmiləyici yol və qida çatışmazlığı nəticəsində induksiya olunan filament şəkilli inkişaf yolu. Yəni də, hər bir yol fərqli MAP kinazını fəallaşdırır. Buna oxşar olaraq, məməlilərin hüceyrələrində, yuxarıya istiqamətdə ümumi siqnal ötürən zülallar çoxsaylı JNK kinazaların fəallaşmasında iştirak edirlər.

Müxtəlif MAP kinaza yolları arasında komponentlərin oxşarlığı tanındıqdan sonra, tədqiqatçılar maraqlandılar ki, xüsusi bir siqnala qarşı hüceyrə cavabının spesifikliyi necə əldə olunur. Maya ilə aparılan tədqiqatlar ilkin sübutları verdi, belə ki, yol-spesifik *skafold zülallar* siqnal ötürən kinazaların xüsusi bir yolda bir-biri ilə əlaqə yaratmalarını mümkün edir, amma başqa yolun kinazaları ilə əlaqəni mümkün etmir. Məsələn, Ste5 skafold zülalı, cütləşmə yolunun kinazalarının daxil olduğu böyük kompleksi stabilləşdirir, necəki Pbs2 skafold osmotənzmiləyici yolda kinaza kaskadı üçün istifadə olunur (bax Şəkil 16-27). Ste11-in iştirak etdiyi hər bir yol, xüsusi bir hüceyrəxarici siqnala cavab olaraq əmələ gələn böyük kompleks daxilində məhdudlaşır və siqnalın Ste11-dən aşağıya istiqamətdə ötürülməsi onun yerləşdiyi komplekslə məhdudlaşır. Nəticədə, maya hüceyrələrinin cütləşmə faktoru təsirinə məruz qoyulması tək bir MAP kinazanın, Fus3-ün fəallaşmasını induksiya edir, halbuki yüksək osmosa məruz qoymaq başqa bir MAP kinazanın, Hog1-in fəallaşmasını induksiya edir.

MAP kinaza yolu üçün skafold mayada, milçəklərdə və qurdlarda çox yaxşı sübut olunmuşdur, amma onların məməlilərin hüceyrələrində mövcud olmasını nümayiş etdirmək çətin olmuşdur. Yəqin ki, metazoanlarda (çoxhüceyrəli heyvanlarda) çox yaxşı təyin edilmiş skafold zülalı *Ksr*-dir (*K*inase *s*uppressor of *R*as). *Ksr* MAP kinaza kaskadının bir sıra siqnal komponentləri ilə, o cümlədən MEK və MAP kinazaya birləşməklə molekulyar skafold kimi fəaliyyət göstərir, beləliklə də bu qarşılıqlı təsirlərin effektivliyini tənzimləməklə MAP kinaza fəallaşmasını gücləndirə bilər. *Drosophila*-da *Ksr* homoloqun itirilməsi konstitutiv fəal Ras zülalla siqnal ötürülməsini blok edir, bu milçək hüceyrələrində *Ksr*-in ras/MAP kinaza yolundakı müsbət rolunu göstərir. Nematodlarda *Ksr* bir sıra inkişaf yollarında Ras vasitəsilə siqnal ötürülməsində tələb olunur. Baxmayaraq ki, *Ksr*-in itirildiyi nokaut siçan fenotipik cəhətdən normaldır, amma bu heyvanlarda bir sıra hüceyrə tiplərində normal müqayisədə MAP kinazanın boy-faktorları və ya sitokinlərlə fəallaşması zəifdir. Bu nəticələr göstərir ki, *Ksr* məməlilərin hüceyrələrində Ras/MAP kinaza siqnal ötürülməsini yüksəldən amma vacib olmayan skafold kimi fəaliyyət göstərir. Beləliklə məməlilərin hüceyrələrində, müxtəlif MAP kinazaların siqnal spesifikliyi ola bilsin ki, onların *Ksr* zülalları və ya başqa skafolda-bənzər zülallarla assosiasiyasından yaransın, amma bunun mümkün olmasını dəqiqləşdirmək üçün əlavə çox tədqiqatlar tələb olunur.

16.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Ras/MAP Kinaza Yolu

- Ras RTK və sitokin reseptorlardan sonra fəaliyyət göstərən hüceyrədaxili GTP-aza keçirici zülaldır. G_{α} -da olduğu kimi, GDP-birləşmiş qeyri fəal forma ilə GTP birləşmiş fəal forma arasında dövrə edir. Ras dövrəsi iki köməkçi zülalın: *quanin nukleotidi mübadiləsi faktorunun* (GEF) və GTP-aza fəallaşdırıcı zülalın (GAP) iştirakını tələb edir.
- RTK-lar iki zülal vasitəsi ilə: adaptor zülalı GRB2 və GEF fəallığına malik olan Sos zülalları ilə dolayı yolla Ras-la əlaqələndirirlər (bax Şəkil 16-21).
- GRB2-nin SH2 domeni fəallaşmış RTK-larda fosfotirozin qalıqlarına birləşir, amma onun iki SH3 domeni Sos-a birləşir və bununla da Sos-u membrana birləşmiş Ras•GDP-yə yaxın gətirir və onun nukleotid-mübadiləsi (GEF) fəaliyyətini fəallaşdırır.
- Sos-un qeyri fəal Ras-a birləşməsi, GDP-nin buraxılmasına və GTP-nin birləşməsinə şərait yaradan və Ras-ı fəallaşdırıcı böyük konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur (bax Şəkil 16-23).
- Fəallaşmış Ras kinaza kaskadını işə salır, hansıki Raf, MEK və MAP kinazalar ardıcıl olaraq fosforlaşır və beləliklə fəallaşır. Fəallaşmış MAP kinaza sonra nüvəyə translokasiya edir (bax Şəkil 16-24).
- Boy-faktoru reseptorunun stimullaşmasının ardınca MAP kinazanın fəallaşması, müxtəlif erkən cavab genlərinin transkripsiyasını gücləndirən trimer kompleksdə birləşən iki transkripsiya faktorunun fosforlaşmasına və fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 16-26).
- Müxtəlif hüceyrəxarici siqnallar, transkripsiya faktorlarının müxtəlif dəstlərini fosforlaşdıraraq geniş hüceyrə proseslərini tənzimləyən müxtəlif MAP kinaza yollarının fəallaşmasını induksiya edirlər.
- Hər bir MAP kinaza kaskadının kinaza komponentləri, skafold zülalları ilə stabilləşən yol-spesifik kompleksdə toplanırlar (bax Şəkil 16-27). Bu əmin edir ki, xüsusi bir hüceyrəxarici siqnalla bir MAP kinaza yolunun fəallaşması, oxşar komponentlərə malik olan başqa yolların da fəallaşmasına səbəb olur.

16.5 Fosfoinozid Siqnal Ötürülməsi Yolu

Əvvəlki bölmələrdə, biz siqnalın tirozinkinazalar reseptorundan (RTK) və sitokin reseptorlarından plazma membranı ilə assosiasiyada olan multizülal komplekslərinin əmələ gəlməsi ilə necə ötürüldüyünü (bax Şəkil 16-10 və 16-14) və bu komplekslərin Ras/MAP kinaza yolunu necə inisiyasiya etdiyini gördük. Biz burada eyni reseptorların, fosfatidil inozitoldan törənmiş xüsusi fosforlaşmış fosfolipidlərin intermedialar kimi daxil olduğu siqnal yolunu necə inisiyasiya etdiyini müzakirə edirik. Fəsil 15-də müzakirə olunduğu kimi, bu membrana birləşmiş lipidlər ümumilikdə **fosfoinozitidlər** adlandırılır. Bu fosfoinozid siqnal yollarına plazma membranının sitozol üzündə müxtəlif fosfoinozitidləri sintez edən bir sıra fermentlər və bu molekullara birləşə bilən domenlərə malik olan və plazma membranının sitozol səthinə səfərbər olunan zülallar daxildirlər. Bizim Fəsil 15-də rastlaşdığımız hüceyrə metabolizmində olan qısa-müddətli təsirdən başqa, fosfoinozid yollarının gen ekspressiyasının gedişinə uzun-müddətli təsiri də vardır. Biz görərik ki, fosfoinozid yolları müxtəlif kinazalarla, o cümlədən hüceyrənin inkişafında və metabolizmində aparıcı rol

oyunayan proteinkinaza C (PKC) və proteinkinaza B (PKB) ilə sona çatır. Bir nümunə kimi, biz bu fəsilə sonra, insulinlə PKB-nin fəallaşmasının qlükozanın əzələlərin daxilinə daşınmasının stimullaşmasında əsas rol oynadığını görəcəyik.

Fosfolipaza C_γ Bəzi RTK-lar və Sitokin Reseptorlarla Fəallaşır

Fəsil 15-də müzakirə olunduğu kimi, bəzi G zülallarla-cütləşən reseptorların hormonal stimullaşması fosfolipaza C-nin (PLC) fəallaşmasına səbəb olur. Membrana birləşmiş bu ferment sonra fosfatidilinozitol 4,5-difosfatı [PI(4,5)P₂] kəsb iki əhəmiyyətli ikinci mesenceri: 1,2-diasilqliserolu (DAG) və inozitol 1,4,5-trifosfatı (IP₃) əmələ gətirir. IP₃/DAG yolu ilə siqnal ötürülməsi sitozolda Ca²⁺ səviyyəsinin artmasına və proteinkinaza C-nin fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-34).

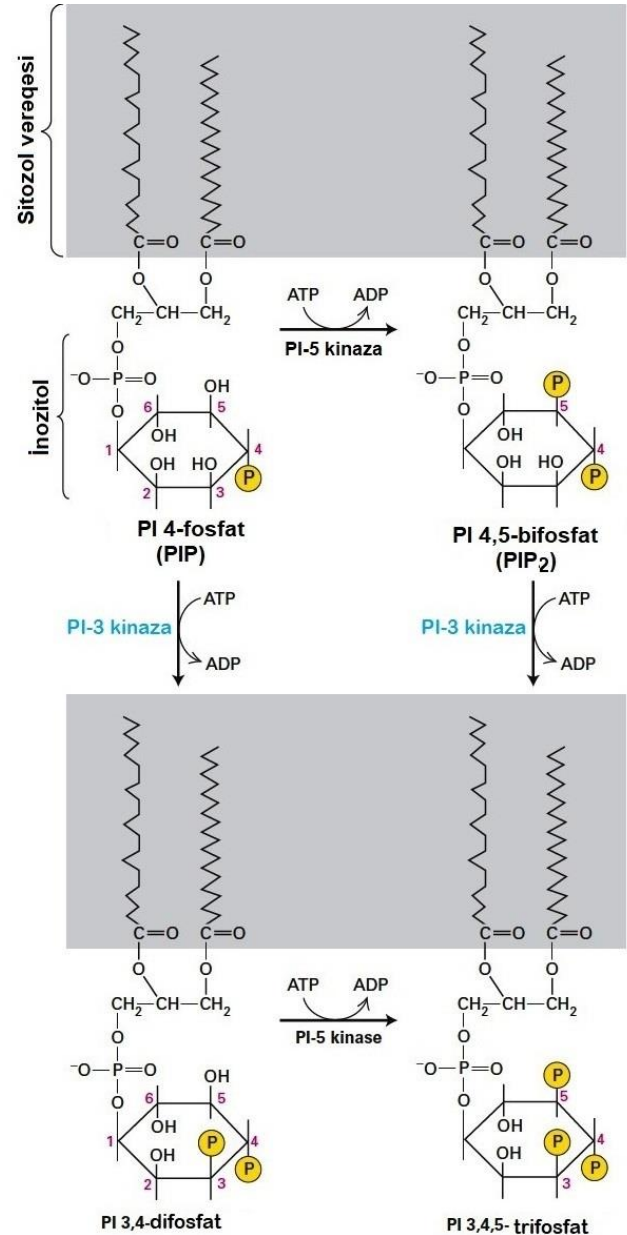
Hərçənd ki, biz Fəsil 15-də fosfolipazanı müzakirə edərkən bunu qeyd etmədik, bu fermentin xüsusən β izoformasını (PLC_β) GPCR-larla fəallaşır. Çox RTK-lar və sitokin reseptorlar fosfolipaza C-nin başqa izoformasını, SH2 domenlərin malik olduqları γ izoformasını (PLC_γ) fəallaşdırmaqla IP₃/DAG yolunu da fəallaşdırırlar. PLC-nin SH2 domenləri fəallaşmış reseptorda spesifik fosfotirozinlərə birləşir, beləliklə fermenti onun membrana-birləşmiş substratına, fosfatidilinozitol 4,5-difosfata (PI(4,5)P₂) yaxın yerləşdirir. Bundan başqa, reseptorun fəallaşması ilə bağlı olan kinaza fəallığı birləşdiyi PLC_γ-da tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır və onun hidrolaza fəallığını qaldırır. Beləliklə, fəallaşmış RTK-lar və sitokin reseptorları PLC_γ fəallığını iki yolla yüksəldir: fermenti membrana yerləşdirməklə və onu fosforlaşdırmaqla. Fəsil 15-dən gördüyü kimi, PLC ilə inisiasiya olunan IP₃/DAG yolu çoxsaylı fizioloji funksiyalara malikdir.

PI-3 Kinazanın Fəallaşmış Reseptora Səfərbər Olunması Üç Fosforlaşmış Fosfatidilinozitolun Sintezinə Səbəb Olur

IP₃/DAG yolundan başqa, çoxsaylı fəallaşmış RTK-lar və sitokin reseptorları *fosfatidilinozitol-3 kinaza (IP-3)* fermentini membrana cəlb etməklə başqa bir fosfoinozidid yolunu da inisiasiya edirlər. PI-3 kinaza öz SH2 domenini çoxsaylı fəallaşmış RTK və sitokoin reseptorların sitozol domenindəki fosfotirozinlərə birləşdirməklə plazma membranının sitozol səthinə səfərbər olunur. Bu səfərbər olunma PI-3 kinazanın katalitik domenini plazma membranının sitozol üzündəki fosfoinozidid substratlar yaxınlığında yerləşdirir. Əvvəllər bizim rastlaşdığımız zülalları fosforlaşdıran kinazalardan fərqli olaraq, PI-3 kinaza fosfatı lipid fosfatidilinozitol 3' karbona əlavə edir, iki ayrıca fosfatidil inozitol 3-fosfatın – PI 3,4-difosfat və ya PI 3,4,5-trifosfatın əmələ gəlməsinə səbəb olur (Şəkil 16-28). Müxtəlif siqnal ötürən zülallar üçün doking mərkəz kimi fəaliyyət göstərərək PI-3 kinaza reaksiyasının membrana-birləşmiş bu PI-3 fosfat məhsulları öz növbəsində bir neçə əhəmiyyətli yolda siqnalı özündən aşağıya istiqamətdə ötürür.

Bəzi hüceyrələrdə, *PI-3 kinaza yolu* hüceyrə bölünməsinə işə sala və apoptoza mane ola bilər, beləliklə də hüceyrənin sağ qalmasını təmin edir. Başqa hüceyrələrdə bu yol hüceyrə metabolizmində spesifik dəyişiklikləri induksiya edir. PI-3

kinaza ilk dəfə, məməlilərin müəyyən hüceyrələrini nəzarət olunmayan vəziyyətə transformasiya edən DNT virusu polioma viruslarla aparılan tədqiqatlarda identifikasiya olunmuşdur. Transformasiya bir sıra virusla-kodlaşdırılan onkozülalları, o cümlədən “orta T” (“middle T”) adlanan zülalı tələb edir. Orta T-nin necə fəaliyyət göstərməsini aşkar etmək üçün edilən cəhdlərdə tədqiqatçılar qismən təmizlənmiş orta T preparatında PI-3 kinaza zülalını aşkar etdilər və bu iki zülal arasında spesifik əlaqənin olduğunu düşündülər. Sonra onlar PI-3-ün hüceyrə davranışına necə təsir edəcəyini təyin etməyi planlaşdırdılar.



ŞƏKİL 16-28 Fosfatidilinozitol 3-fosfatların əmələ gəlməsi.

Fosfatidilinozitol 3-fosfat kinaza (PI-3 kinaza) fermenti çoxsaylı tirozinkinaza reseptorları və sitokin reseptorları ilə membrana cəlb olunurlar. PI 3,4-difosfat və ya PI 3,4,5-trifosfatı almaq üçün ferment tərəfindən əlavə edilmiş 3-fosfat, proteinkinaza B-nin PH domeni kimi müxtəlif siqnal-ötürən zülallar üçün birləşmə mərkəzidir. PI 4,5-difosfat həmçinin fosfolipaza C üçün substratdır (bax Şəkil 15-33). Bax L. Rameh and L.C. Cantley, 1999, *J. Biol.Chem.* 274:8347.

PI-3 kinazanın qeyri fəal dominant-mənfi versiyası polyoma virusu ilə transformasiya olunan hüceyrələrdə ekspressiya olunduqda o virusla-transformasiya olunan hüceyrəyə xarakterik olan nəzarət olunmayan hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirdi. Bu nəticə göstərdi ki, normal kinaza hüceyrə proliferasiyasında vacib olan və ya apoptozun qarşısını alan müəyyən siqnal yolları üçün əhəmiyyətlidir (bax Fəsil 21). Sonra aparılan işlər göstərdi ki, PI-3 kinazalar hüceyrənin inkişafı və apoptozla bağlı olan çoxsaylı siqnal yollarında iştirak edirlər. İnsan genomunda kodlaşdırılan doqquz PI-3 kinaza homoloqlarından ən yaxşı öyrəniləni katalitik fəallığı olan p110 subvahidinə və SH2 fosfotirozin-birləşmə domeni olan p85 subvahidinə malikdir.

PI-3 Fosfatların Plazma Membranında Toplanması Bir Neçə Kinazanın Fəallaşmasına Səbəb Olur

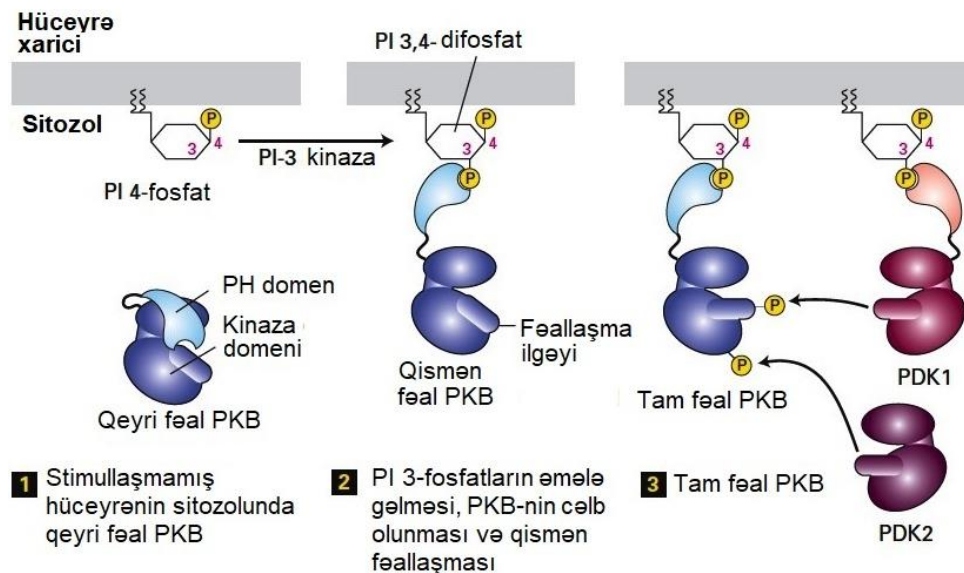
Çox proteinkinazalar plazma membranında fosfatidil inozitol 3-fosfatlarla birləşməklə fəallaşır. Bu kinazalar öz növbəsində hüceyrənin çox zülallarının fəallığına təsir edirlər. PI-3 fosfatlazaya birləşən çox əhəmiyyətli bir kinaza olan serin/treonin kinaza, həmçinin **Akt** adlanan **proteinkinaza B**-dir (**PKB**). Proteinkinaza B kinaza domenindən başqa **PH domeninə** da malikdir, bu konservativ zülal domeni, həm PI 3,4-bifosfatda, həm də PI 3,4,5-trifosfatda 3-fosfatlara yüksək affinliklə birləşən geniş müxtəliflikdə siqnal ötürən zülallarda mövcuddur. Bu inozitol fosfatlar plazma membranının sitozol üzündə mövcud olduğundan birləşmə tam zülalı hüceyrə membranına səfərbər edir. Stimullaşmamış, sakitlikdə olan hüceyrələrdə bu fosfoinozitolərin (ümumilikdə PI-3 fosfatlar adlandırılır) səviyyəsi aşağıdır və proteinkinaza B sitozolda qeyri fəal vəziyyətdə olur (Şəkil 16-29). Hormonla stimullaşmanın və nəticədə PI-3 fosfatların səviyyəsinin qalxmasının ardınca, proteinkinaza B özünün PH domeni vasitəsi ilə bu membrana-birləşmiş molekullarla birləşir və plazma membranında yerləşmiş olur. Proteinkinaza B-nin PI-3 fosfatlara birləşməsi yalnız fermenti plazma membranına səfərbər etmir, həmçinin PH domeni vasitəsi ilə katalitik mərkəzin ingibirləşməsini buraxır.

Amma, proteinkinaza B-nin maksimal fəallaşması PDK1 və PDK2 adlanan iki başqa kinazanın səfərbər olunmasından asılıdır.

PDK1 plazma membranına onun PH domeninin PI-3 fosfatlarla birləşməsi ilə səfərbər olunur. Həm membrana birləşmiş proteinkinaza B, həm də PDK1 təsadüfi şəkildə membran müstəvisinə diffuziya edir, və tədricən sonda onları bir-birinə kifayət qədər yaxın gətirir və PDK1 proteinkinaza B-ni onun fəallaşma ilgəyində kritik treonin qalıqlarından fosforlaşdırır – bu, kinazanın fosforlaşma ilə fəallaşmasına aid olan başqa bir nümunədir. İkinci serinin qeyri ilgək seqmentində PDK2 ilə fosforlaşması maksimal PKB fəallığı üçün lazımdır (Şəkil 16-26). Raf fəallığının tənzimlənməsinə oxşar olaraq (bax Şəkil 16-24), ingibitor domeninin buraxılması və başqa kinazalarla fosforlaşma proteinkinaza B-nin fəallığını tənzimləyir.

Fəallaşmış Proteinkinaza B Çoxsaylı Hüceyrə Cavablarını Induksiya Edir

Tam fəallaşmış proteinkinaza B plazma membranından dissosiasiya edə bilər və bütün hüceyrədə hüceyrə davranışına geniş müxtəliflikdə təsiri olan, çoxsaylı hədəf zülallarını fosforlaşdırır. Çox hüceyrələrdə fəallaşmış PKB birbaşa Bad kimi pro-apoptoz zülallarını fosforlaşdıraraq fəalsızlaşdırır, bu qısa müddətli təsir hüceyrə ölümünə səbəb olan apoptoz yolunun fəallaşmasına mane olur (bax Şəkil 21-40). Fəallaşmış PKB həmçinin Forkhead transkripsiya faktoru FOXO3a-nı onun çoxsaylı serin/treonin qalıqlarından fosforlaşdırmaqla və beləliklə onun bir sıra pro-apoptoz genlərinin ekspressiyasını induksiya etmə qabiliyyətini azaltmaqla kultura olunan çox hüceyrələrin sağ qalmasını təşviq edir. Boy faktoru olmayanda, FOXO3a fosforlaşmamış olur və əsasən nüvədə yerləşir və pro-apoptik zülalları kodlaşdıran bir sıra genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır. Hüceyrələrə boy faktoru əlavə edildikdə proteinkinaza B fəallaşır FOXO3a-nı fosforlaşdırır. Bu sitozol



ŞƏKİL 16-29 Proteinkinaza B-nin (PKB) PI-3 kinaza yoluna səfərbər olunması və fəallaşması.

Stimullaşmamış hüceyrələrdə (pillə 1), PKB PH domeni katalitik kinaza domeninə birləşmiş və onun fəallığını ingibirləşdirən vəziyyətdə sitozolda olur. Hormonla stimullaşma PI-3 kinazanın fəallaşmasına və ardınca da fosfatidilinozitol (PI) 3-fosfatların yaranmasına səbəb olur (bax Şəkil 16-25). 3-fosfat qrupu plazma membranında, PKB-nin PH domeni üçün (pillə 2) və başqa bir kinaza PDK1 üçün dokiinq mərkəz kimi fəaliyyət göstərir. PKB-nin tam fəallaşması həm PDK1-lə fəallaşma ilgəyinin, həm də ikinci kinaza PDK2 ilə C-sonluğun fosforlaşmasını (pillə 3) tələb edir. Bax, A. Toker and Newtyon, 2000, *Cell* **103**:185, və S. Sarbassov et al., 2005, *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**:96.

fosfoserin-birləşdirən 14-3-3 zülalın FOXO3a-ya birləşməsinə və onu sitozola aparmasına imkan verir. (Xatırladaq ki, 14-3-3 həm də fosforlaşmış Raf zülalı qeyri fəal vəziyyətdə sitozolda saxlayır, bax Şəkil 16-24.) Proteinkinaza B-nin üç hədəf serin qalıqlarının alaninə mutasiya olunduğu FOXO3a mutant konstitutiv fəal olur və fəallaşmış proteinkinaza B mövcud olduqda belə, apoptozu inisiyasiya edir. Bu nəticələr kultura olunan hüceyrələrdə FOXO3a-nın və proteinkinaza B-nin əhəmiyyətini nümayiş etdirir. PKB-nin tənzimlənməsi həm xərcəngin, həm də diabetin patogenezinə tətbiq edilir və biz 16.8 bölməsində görərik ki, insulin RTK-dan aşağıya istiqamətdə fəallaşan proteinkinaza B qlükozanın udulmasını, əzələlərdə və qaraciyərdə ehtiyat toplanmasını necə təşviq edir. Bu, bir siqnal yolunun müxtəlif hüceyrələrdə fərqli hüceyrə funksiyalarını tənzimləməsinə aid başqa bir nümunədir.

PI-3 kinaza Yolu PTEN Fosfataza ilə Mənfi Tənzimlənilir

Bütün virtual hüceyrədaxili siqnalarda olduğu kimi, PI-3 kinazanın fosforlaşması geriye dönəndir. *PTEN fosfataza* adlanan müvafiq fosfataza qeyri dərəcədə geniş spesifikliyə malikdir. Baxmayaraq ki, PTEN zülalların serin, treonin və tirozin qalıqlarına birləşmiş fosfat qrupunu ayıra bilir, amma onun PI 3,4,5-trifosfatdan 3-fosfatı ayırmaq qabiliyyəti onun hüceyrədə əsas funksiyalarından biridir. Məməlilərin kultura olunan hüceyrələrində PTEN-in superekspressiyası PI 3,4,5-trifosfatın səviyyəsini azaltmaqla və bununla da PKB-nin fəallaşmasını və anti-apoptoz təsirini azaltmaqla apoptozu gücləndirir.



İnsanın xərcəng xəstəliklərinin çoxsaylı tiplərində *PTEN* geni silinir. Nəticədə PTEN zülalının itirilməsi hüceyrənin nəzarət oluna bilməyən artmasına gətirib çıxarır. Həqiqətən də, PTEN-i itirilmiş hüceyrələr PI 3,4,5-trifosfatın yüksək səviyyəsinə və PKB fəallığına malik olur. Proteinkinaza B antiapoptoz təsirinə malik olduğundan PTEN-in itirilməsi dolayı yolla proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünü zəiflədir və bu çox hüceyrələrin normal müqəddəratıdır. Bəzi hüceyrələrdə, məsələn neyron sütun hüceyrələrində PTEN-in olmaması tək apoptozu mane olmur, eyni zamanda hüceyrə tsikli gedisinin stimullaşmasına və proliferasiya sürətinin artmasına səbəb olur. PTEN-i itirilmiş nokaut siçan həddən artıq sayda neyronları olan böyük beyinə malikdirlər, bu da normal inkişafa nəzarətdə PTEN-in əhəmiyyətini təsdiqləyir. ■

16.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Fosfoinozid Siqnal Ötürülməsi Yolu

- Çox RTK-lar və sitokin reseptorları, G zülallarla-cütləşən reseptorlarla fəallaşanlardan PLC-dən fərqli olan izoformanı, fosfolipaza C_{γ} -ni (PLC_{γ}) fəallaşdırmaqla IP3/DAG siqnal yolunu inisiyasiya edə bilirlər.
- Fəallaşmış RTK-lar və sitokin reseptorları PI-3 kinazaya birləşməklə və fermentin onun membrana-birləşmiş fosfoinozid substratına çatmasına və onu 3 mövqedə fosforlaşdırmasına (PI-3 fosfatlar; bax Şəkil 16-28) imkan

verməklə, başqa bir fosfoinozid yolunu inisiyasiya edə bilirlər.

- Müxtəlif zülallarda, PH domeni PI 3-fosfata birləşir, plazma membranının sitozol üzü ilə birləşən siqnal kompleksini əmələ gətirir.
- Proteinkinaza B (PKB) öz PH domeni vasitəsi ilə PI 3-fosfatlara birləşməklə qismən fəallaşmış olurlar. PKB-nin tam fəallaşması, PI 3-fosfatlarla birləşərək membrana səfərbər olunan PDK1 kinaza ilə və ikinci kinaza PDK2 ilə fosforlaşmanı tələb edir (bax Şəkil 16-29).
- Fəallaşmış PKB, bir sıra pro-apoptoz zülallarını birbaşa fosforlaşdıraraq fəalsızlaşdırmaqla və pro-apoptoz zülallarının sintezini induksiya edən FOXO3a transkripsiya faktorunu fosforlaşdıraraq fəalsızlaşdırmaqla çox hüceyrələrin sağ qalmasına kömək edir.
- PI-3 kinaza yolu ilə siqnal, PI 3-fosfatlarda 3-fosfatı hidroliz edən PTEN fosfataza ilə sona çatır. İnsanın şiş xəstəliklərində çox rast gəlinən PTEN-in itirilməsi hüceyrənin sağ qalmasını və proliferasiyasını gücləndirir.

16.6 Ubikvitinləşmə ilə Nəzarət Olunan Siqnal Yolu: Wnt, Hedgehog və NF-kB

Bu vaxta qədər müzakirə olunan bütün siqnal yolları geriye dönəndirlər, beləliklə də xarici siqnal uzaqlaşdırılan kimi onlar sürətlə geriye dönürlər. Biz bu bölmədə, kritik komponentləri – istər transkripsiya faktorları istərsə də transkripsiya faktorlarının ingibitoru – ubikvitinləşərək proteolitik yolla kəsilən bir neçə geriye dönməyən və ya çox zəif geriye dönməyən yolları müzakirə edirik. Biz əvvəlcə, siqnal zülallarının təkamülcə qorunub saxlanılmış iki konservativ ailəsini **Wnt**-ləri və **Hedgehog**-ları müzakirə edirik, bunlar çoxsaylı inkişaf yollarında aparıcı rol oynayrlar və tez-tez hallarda, hüceyrənin yeni formanı və ya müqəddəratı alması üçün tələb olunan genlərin ekspressiyasını induksiya edirlər. Hərçənd ki, Wnt və Hedgehog siqnal yolları müxtəlif reseptor və siqnal zülallarının dəstlərindən istifadə edirlər, onlar bir sıra oxşarlığa malikdirlər, ona görə onları bir qrupda birləşdiririk:

- Sakitlik vəziyyətində, əsas transkripsiya faktorları hər iki yolda ubikvitinləşir və onları qeyri fəal vəziyyətdə saxlayan proteolitik kəsilməyə hədəf olunur.
- Hər bir yolun fəallaşmasında böyük sitozol zülal kompleksinin dağılması, ubikvitinləşmənin ingibirləşməsi və fəal transkripsiya faktorunun azad olması baş verir.
- Qlikogen sintaza kinaza 3 (GSK3) daxil olmaqla kinazalar hər iki siqnal yolunda aparıcı rol oynayır.

Sonra biz, ubikvitinləşmə ilə nəzarət olunan üçüncü yolu, *NF-kB yolunu* öyrənirik. Bu halda, transkripsiya faktorunun özü deyil, transkripsiya faktorunun ingibitoru ubikvitinləşmə ilə fəalsızlaşır (deaktivasiya olunur). Sakitlik vəziyyətində *NF-kB* adlanan əsas transkripsiya faktoru sitozolda ingibitora birləşmiş vəziyyətdə ayrılır. Bir sıra stresslə-induksiya olunan şərait ingibitorun ubikvitinləşməsinə və dərhal parçalanmasına səbəb olur, gen transkripsiyasını fəallaşdırmaqla hüceyrələrin dərhal və qəti cavab verməsinə imkan yaradır. NF-kB yolunun bir sinif səth reseptorları ilə necə fəallaşdığını öyrənməklə biz həm də

ubikvitinləşmənin çox fərqli funksiyasını – aparıcı siqnal ötürən kompleksin yığılması üçün skafoldu yaratmasını görürük.

Wnt Sıqnalizasiya Transkripsiya Faktorunun Sitol Zülal Kompleksindən Azad Olunmasını İşə Ssalır

Wnt və eləcə də Hedgehog siqnal yollarının komponentləri metazoan orqanizmlərinin təkamülü boyunca qorunub saxlanılmış (konservativdir) və əsasən *Drosophila*-nın inkişaf mutantlarının genetik analizlərini aparmaqla öyrənilmişdir. Onurğalılarda bu yollardakı mutasiyalar, güman olunur ki, bir neçə tip xərçəngin yaranmasına səbəb olur. Əslində ilk aşkar edilən onurğalı *Wnt* geni olan siçanın *Wnt-1* geni diqqəti cəlb etmişdi, çünki siçanın retrovirus DNT-si olan siçan mammari şif virusu genomu (MMTV) *Wnt-1* geni yaxınlığına keçirildiyinə görə o bir sıra mammari (süd vəzi) xərçənglərində yüksək dərəcədə ekspressiya olunmuşdur; retrovirus LTR promotoru (bax Şəkil 8-13) *Wnt-1* genin münasib olmayan ekspressiyasını fəallaşdırmışdır.

Wnt sözü müvafiq milçək genində *qanadsız* (*wingless*) siçanda retrovirusun inteqrasiya saytına müvafiq *int* ilə birləşməsi kimi götürülmüşdür. İnsan genomu 19 müxtəlif *Wnt* zülalları kodlaşdırır və *Wnt* zülallar beyinin inkişafı, əzələlərin formalaşması, və orqanogenez kimi bir sıra kritik əhəmiyyətli inkişaf proseslərinin gedişi üçün vacibdir. Sümüyün formalaşmasında *Wnt* siqnalın əsas rolu *Wnt* yolunun komponentlərinin fəalsızlaşdırıcı mutantlarının insanlarda sümüyün sıxlığına təsir etməsinin öyrənilməsi ilə aşkar edildi. İndi məlumdur ki, *Wnt* siqnalı osteoblastların (sümük əmələ gətirən hüceyrələrin) formalaşmasına nəzarət edir. Bundan əlavə, *Wnt* siqnalı sütun hüceyrələrə nəzarət olunmasında (bax Fəsil 21) və inkişafın çoxsaylı başqa aspektlərində də əhəmiyyətli rol oynayır.

Wnt zülalları ifraz olunan siqnal zülallarıdır, monodoymamış yağ turşusu palmitolun zülalın ortasındakı serinə bağlanması ilə modifikasiya olunmuşlar. Başqa boy faktorları kimi, *Wnt* zülalları da bir sıra hüceyrə səth reseptorları ilə əlaqəyə girir və çoxsaylı siqnal ötürülməsi yollarını fəallaşdırır. *Wnt* zülallar üçün əsas siqnal reseptoru *Frizzled* (*Fz*) yeddi transmembran α spirala malikdir. *Fz* qlükaqon reseptoru kimi (bax Şəkil 15-13c) birinci transmembran α spirala birləşmiş böyük hüceyrəxarici domenə malikdir və əsas liqand birləşdirən saytı təşkil edir, amma *Fz G* zülalı fəallaşdırır. *Wnt* zülalına bərkidilmiş palmitol *FZ* hüceyrəxarici domenində spesifik sayta birləşir və *Wnt-Fz* kompleksini stabilləşdirir. Bu lipid reseptorun zülallarla əlaqəsi üçün əsasdır və liqand-reseptor qarşılıqlı əlaqəsini həyata keçirən lipidlə post-translyasiya modifikasiyasının yeganə məlum olan nümunəsidir.

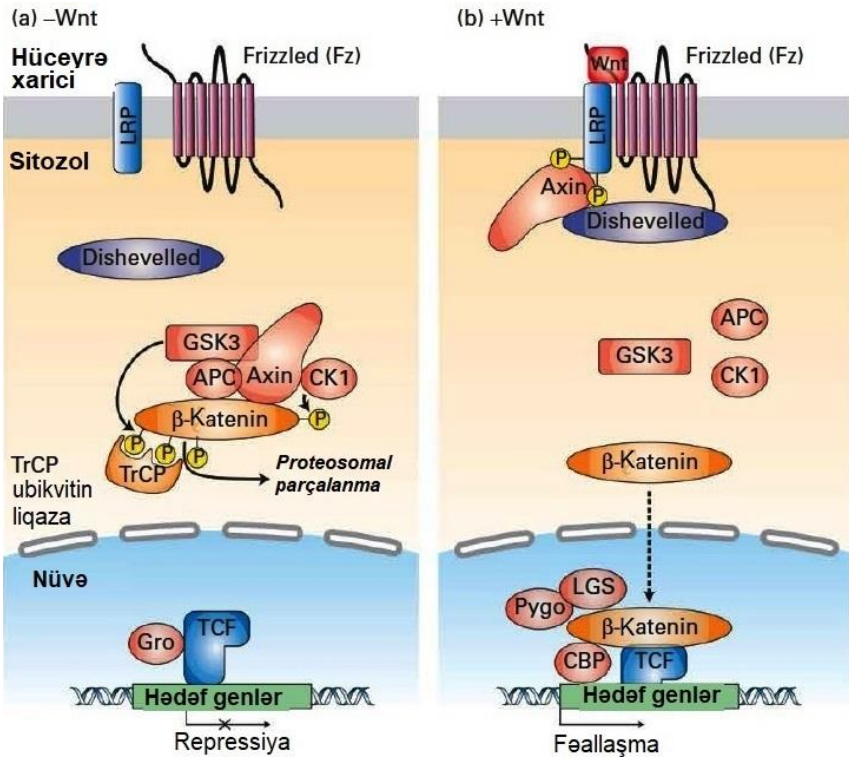
Ən azı üç müxtəlif siqnal yolu müxtəlif *Wnt* zülallarının *Fz* zülalına birləşməsi ilə fəallaşır. Ən geniş yayılmış “kanonik” *Wnt* siqnal yolu ikinci transmembran zülalı, *Wnt* siqnalından-asılı olan üslubda *Frizzled* ilə assosiasiya edən LRP (*Drosophila*-da oxlar adlanan) zülalı istifadə edir (Şəkil 16-30). *Wnt*, *Frizzled* və LRP zülallarını kodlaşdıran genlərdə fəalsızlaşdırıcı mutasiyalar embrionun inkişafına eyni təsiri göstərdilər, bu da göstərir ki, hər üç zülal *Wnt* siqnal ötürülməsi üçün çox vacibdir.

“Kanonik” *Wnt* hüceyrədaxili siqnal ötürülməsi yolunun mərkəzi iştirakçısı onurğalılarda β -*katenin*, *Drosophila*-da isə *Armadillo* adlanır. Bu çox-funksiyalı zülal həm transkripsiyanın aktivatoru kimi, həm də membran-sitoskelet linker zülalı kimi (bax Şəkil 20-14) fəaliyyət göstərir. *Wnt* siqnalı olmayan halda, membranda və ya sitoskeletdə hüceyrə-adgeziya molekullarına birləşməyən β katenin molekulları Aksin skafold zülallarına əsaslanan sitozol kompleksinə birləşmiş olur. Bu kompleks adenomatoz polpozis kolu (APC) zülalına malikdir, bu zülal ona görə APC adlanır ki, onun itməsi kolorektal (yoğun bağırsağ) xərçəngi ilə nəticələnir. Sakitlik dövründə, kompleksdəki iki kinaza, kazeinkinaza 1 (CK1) və GSK3 ardıcıl şəkildə β -katenini çoxsaylı serin və treonin qalıqlarından fosforlaşdırırlar. Bu fosforlaşmış qalıqların bəziləri TrCP adlanan ubikvitinliqaza zülalı üçün birləşmə mərkəzi kimi fəaliyyət göstərir. β -katenin sonra ubikvitinləşir və sürətlə 26S proteosomda parçalanır (Şəkil 16-30a; ubikvitinləşməyə görə, daha da Şəkil 3-31 və 3-36-ya bax).

β -kateninin parçalanmasını blok edən tam *Wnt* siqnal yolu hələ identifikasiya olunmayıb. Biz bilir ki, *Wnt*-nin həm *Fz*-ə, həm də LRP-yə birləşməsi LRP-nin sitozol domeninin yaqın ki, sərbəst GSK3 və ya CK1 vasitəsi ilə fosforlaşmasına səbəb olur. Bu LRP ko-reseptorun sitozol domeninə Aksin-in birləşməsini mümkün edir. Aksin-in lokalizasiyasındakı bu dəyişilmə (sürüşmə) Aksin, GSK3, CK1 və β -katenindən ibarət olan kompleksdə qarşılıqlı əlaqəni qırır, beləliklə β -kateninin CK1 və GSK3 vasitəsi ilə fosforlaşmasına mane olur. Bu dəyişiklik öz növbəsində, β -kateninin ubikvitinləşməsinə və sonra da parçalanmasına mane olur və onu sitozolda stabilləşdirir (Şəkil 16-30b). Bu proses Frizzled reseptorun sitozol domeninə birləşmiş Dişevellid (*Dsh*) zülalının iştirakını və onun Aksin-in LRP ilə birləşməsini stabilləşdirməsini tələb edir. Azad olmuş β -katenin nüvəyə translokasiya edir, orada transkripsiya faktoru TCF ilə assosiasiya girir və xüsusi hədəf genin, çox hallarda hüceyrə proliferasiyasını gücləndirən genlərin ekspressiyasında ko-aktivator kimi fəaliyyət göstərir. (Təəssüf ki, bu adlandırma çəşdiricidir; bu TCF MAP kinaz yolunda fəaliyyət göstərən TCF zülalından fərqlənir; bax Şəkil 16-26).



Aberrant hiperfəal *Wnt* siqnalizasiyası bir sıra xərçəngin inkişafında iştirak edir, insanın yoğun bağırsağ xərçənginin 90 faizindən çoxu *Wnt* siqnal yolunun hiperfəallaşmasını nümayiş etdirir, belə ki, β -kateninin səviyyəsi anormal dərəcədə yüksək olur (bax Fəsil 24). Bu müşahidələr ilkin dəlillərdən birini – böyüməni-gücləndirən çoxsaylı genlərin β -katenin tərəfindən fəallaşdırılması dəlilini təmin etdi. APC və Aksini kodlaşdıran genlərin fəallığını aradan qaldıran mutasiyalar GSK3 və ya CK1 üçün β -kateninin fosforlaşma saytlarında olan mutasiyalar kimi çoxsaylı müxtəlif tipli insan xərçənglərində tapılmışdır, bu mutasiyalar β -katenini fəalsızlaşdıran sitozol kompleksinin yaranmasını zəiflədir (Şəkil 16-30a), β -kateninin parçalanmasını azaldır və *Wnt* siqnalı olmadıqda belə normal gen ekspressiyasını fəallaşdırmaq üçün β -kateninə imkan verir.



ŞƏKİL 16-30 “Kanonik” Wnt signal yolu. (a) Wnt olmadıqda TCF transkripsiya faktoru hədəf genlərin promotorlarına və ya enhanserlərinə birləşmiş olur, amma onun Qrouço (Groucho - Gro) kimi transkripsiya repressorları ilə assosiasiyada olması gen fəallaşmasını ingibirləşdirir. β-katenin skafold zülalı Aksin, APC və çoxsaylı serin və treonin qalıqlarında β-katenini ardıcıl olaraq fosforlaşdırən CK1 və GSK3 kinazalarla bir kompleksdə birləşmişdir. Xüsusilə də, Aksin-vasitəsi ilə bu kompleksin yaranması GSK3 ilə β-kateninin fosforlaşmasını təxminən 20000 dəfə asanlaşdırır. E3 TrCP ubikvitin liqaza sonra β-kateninin fosforlaşmış iki qalıqına birləşir, β-kateninin ubikvitinləşməsinə və proteosomlarda parçalanmasına səbəb olur. (b) Wnt-nin özünün Frizzled (Fz) reseptoru ilə və LRP ko-reseptoru ilə birləşməsi LRP-nin GSK3-lə və CK1 ilə fosforlaşmasına səbəb olur və sonra Dişevelled skafold zülalına birləşməsinə imkan yaradır. Aksinin fosforlaşmış LRP zülalına və Dişevelledə birləşməsi Aksin-APC-CK1-GSK3-β-katenin kompleksini dağıdır, β-kateninin CK1 və GSK3 ilə fosforlaşmasına mane olur və hüceyrədə β-kateninin toplanmasına səbəb olur. Nüvəyə translokasiya olunduqdan sonra, β-katenin gen ekspressiyasını fəallaşdırmaq üçün TCF-ə birləşərək Gro repressorun yerini dəyişir, Pygo, LGS kimi ko-aktivator zülalları və başqalarını səfərbər edir. Bax R. Van Amerongen and R. Nusse, 2009, *Dedvelopment* 136:3205 görə; F. Staal and J. Sen, 2008, *Eur. J. Immunol.* 38:1788 və E. Verheyen and C. Gottardi, 2010, *Dev. Dyn.* 239:34. Həmçinin bax Wnt Homepage, www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/.

Wnt-nin hədəf genləri arasında Wnt signal yoluna nəzarət edən çoxsaylı genlər də vardır, bu da yüksək dərəcədə geri-yə-əlaqə tənzimlənməsinin olduğunu göstərir. β-kateninin stabilliyinin və yerləşməsinin əhəmiyyəti göstərir ki, Wnt siqnalları hüceyrədə β-kateninin üç toplusu arasında – membran-sitoskelet araüzündə, sitozolda və nüvədə kritik tarazlığın yaranmasına da təsir edir.

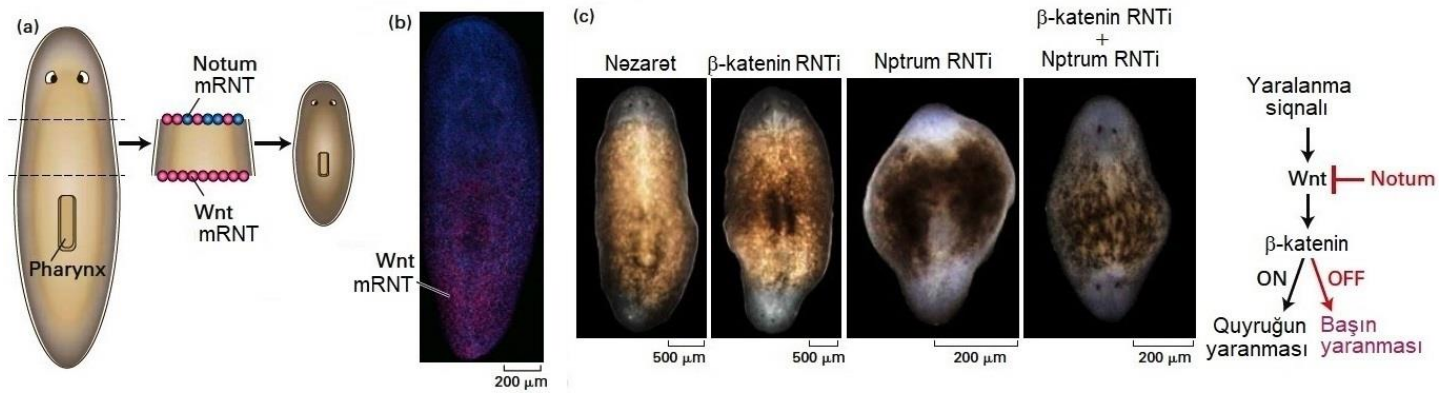
Siqnalı vermək üçün Wnt həmçinin hüceyrə-səth proteoqlikanlarına birləşməlidir. Proteoqlikanların Wnt siqnalında iştirak etməsinin ilk sübutu *Drosophila*-nın qlükozaminqlikan (GAG) heparinlərin və xondrotin sulfatın sintezi üçün lazım olan əsas fermentin itirildiyi *Sugarless* (*sgl*) mutantlardan alınmışdır. Bu mutantlar Wngless-in (milçəyin Wnt zülalı) səviyyəsini güclü şəkildə depressiya etmiş və Wnt siqnalının qüsurlu olması ilə əlaqəli olan başqa fenotipləri də nümayiş etdirmişlər. Proteoqlikanların Wnt siqnala necə şərait yaratması hələ məlum deyil, amma yaqın ki, Wnt-nin spesifik qlikozaminqlikan zəncir birləşməsi onun öz reseptoru Fz və ya ko-reseptor LRP-ə birləşməsi üçün tələb olunur. Bu mexanizm fibroblast boy faktorunun (FGF) öz reseptor tirozinkinazasına birləşməsinə gücləndirmək üçün heparin sulfata birləşməsinə (bax Şəkil 16-15) analojiqdir.

Wnt Zülalların Qatılıq Qradienti İnkişafın Çox Mərhələləri üçün Vacibdir

Wnt-lər ifraz olunan zülallardır, amma qismən bu zülallarla kovalent əlaqəli olan hidrofob lipidə görə onlar siqnal

hüceyrələrindən yalnız qısa məsafədən diffuziya edirlər və əsasən lokal təsirə malik olurlar. Wnt onu ifraz edən hüceyrədən daha uzağa diffuziya etdikcə onun qatılığı azalır. Müxtəlif Wnt qatılıqları hədəf hüceyrədə fərqli müqəddəratı induksiya edir: böyük miqdarda Wnt alan hüceyrələr müəyyən genləri işə salır və müəyyən quruluşların yaranmasına səbəb olur, daha az miqdarda Wnt alan hüceyrələr isə digər genləri işə salır və başqa formanın yaranmasına səbəb olur. Öz hədəf hüceyrələrindəki qatılıqlarından asılı olaraq müxtəlif hüceyrə müqəddəratını induksiya edən siqnallar **morfoqenlər** adlanırlar.

Bəlkə də Wnt-nin morfoqen kimi ən təccübləndirici nümunəsi *Schmidtea mediterranea* planarisindədir (bax Şəkil 1-22e). Əgər planarinin başı kəsilərsə yenisi 14 günün müddətində regenerasiya edəcək, hərçənd ki, kiçik, amma normal qurd bərpa olunacaq. Buna oxşar olaraq, quyruq da kəsilib atıldıqdan sonra yenisi regenerasiya olunur. Ən təccüblisi də odur ki, bu heyvanın bədənindən kəsilib ayrılmış kiçik bir hissə ön, başa baxan tərəfdən (anterior) normal başı, quyruğa baxan arxa tərəfdən (posterior) normal quyruğu əmələ gətirir (Şəkil 16-31a). Wnt-nin qradienti bu polyarlığa nəzarət edir. Wnt zülalları normal yaşlı planaridə “posterior”dan-“anterior”a qradientlə ekspressiya olunurlar (Şəkil 16-31b) və daha böyük üstünlüklə kəsilmiş bədənin arxa (posterior) ucunda ekspressiya olunurlar (bax Şəkil 16-31a). Əksinə, ifraz olunan hüceyrəxarici ferment *Notum* yalnız ön (anterior) yarıda istehsal olunur. Notum Wnt-yə kovalent birləşmiş və bizim yuxarıda öyrəndiyimiz kimi Wnt siqnal yolu üçün vacib olan palmitoleyin yağ turşusunu kəsilib atmaqla Wnt siqnal ötürülməsini ingibirləşdirir.



ŞƏKİL 16-31 Wnt qradienti planarianın normal baş və quyruğu regenerasiya etməsi üçün vacibdir. (a) Diaqramda göstərilirdiyi kimi, *Schmidtea mediterranea* planarinin ortasından kəsilib ayrılmış parça kulturaya yerləşdirilmişdir. 4 gündən sonra aparılmış in situ hibridləşmə göstərdi ki, Wnt mRNT (bənövşəyi nöqtələr) həm ön (anterior), həm də arxa (posterior) yaralarda olan hüceyrələrdə ekspressiya olunur, amma Wnt inhibitoru Notum (mavi nöqtələr) ön (anterior) yarıdakı hüceyrələrdə ekspressiya olunur. Beləliklə, Wnt-nin posteriordan-anteriora qradienti əmələ gəlir. (b) in situ hibridləşmədə göstərilirdiyi kimi, *WntP-2* geni (bənövşəyi nöqtələr) yaşlı planaridə posteriordan-anteriora qradientlə ekspressiya olunur. Bax See J. Witchley et al., 2013, *Cell Rep.* 4:633. (c) 14 gündən sonra, normal, amma kiçik qurd, ön (anterior) yara sahəsində iki gözəl asanlıqla görünən bilən başı və arxa (posterior) yarıda quyruğu regenerasiya edir. Kəsilmiş bədən hissəsinin β-kateninə spesifik inhibitor RNT ilə işlənilməsi iki başlı planarianın əmələ gəlməsi ilə

nəticələnir, amma Notuma spesifik inhibitor RNT ilə işlənilməsi iki quyruqlu planarinin yaranmasına səbəb olur. Kəsilmiş bədən hissəsinin biri β-kateninə spesifik olan digəri isə Notuma spesifik olan iki inhibitor RNT ilə işlənilməsi təkliddə β-katenin itirilməsi ilə əmələ gələn fenotipə oxşar fenotiplə nəticələnir, ikibaşlı planariyə regenerasiya olunur. Bu eksperimentlər (c) hissəsində olan modelin yaranmasına səbəb olur, bu zaman β-katenin hüceyrəyə Wnt əlavə edilməklə stabilləşir quyruğun əmələ gəlməsini həyata keçirən genlərin ekspressiyasına səbəb olur; Notumla Wnt/β-katenin signalın verilməsi başın formalaşmasına səbəb olur. [(b) hissəsində foto: Jessica Witchley və Peter Reddien-dən. (c) hissəsində *solda*: AAAS razılığı ilə C. Petersen et al., “Smed-β-catenin-1 Is Required for Anteroposterior Blastema Polarity in Planarian Regeneration,” *Science* (2008) 319:5861, pp. 327-330-dan yenidən çap olunur; fotolar nəzakətlə J. Witchley və Peter Reddien-dən.]

Şəkil 16-31-də, arxa (posterior) yarıda Wnt tərəfindən verilən signalın quyruğun əmələ gəlməsini induksiya etdiyi və öndə başın əmələ gəlməsini induksiya edən Notum-un mövcud olması ilə deyil Wnt signalın ön (anterior) yarıda olmaması ilə müəyyən edən bir sıra zərif eksperimentləri göstərilir:

1. Kəsilmiş bədən fraqmentinin β-kateninə spesifik olan inhibitor RNT ilə işlənilməsi nəticəsində baş verən bütün Wnt signalı olmayan halda iki-başlı planari regenerasiya olunur; bu halda Wnt signalı həm ön anterior, həm də arxa posterior yaralarda olmur, beləliklə, hər iki yara nahiyəsində baş regenerasiya olunur.
2. Əksinə, Notuma spesifik olan inhibitor RNT ilə təsiretmənin nəticəsində Notum signalı olmadıqda iki-quyruqlu planari regenerasiya olunur; bu zaman, Wnt həm ön (anterior), həm də arxa (posterior) yaralarda mövcud və fəal olur, beləliklə, iki quyruq əmələ gəlir.
3. β-katenin və Notum spesifik inhibitor RNT-lər ilə işlənmənin nəticəsi olaraq həm Wnt, həm də Notum signalı olmadıqda, yalnız Wnt olmayan haldakı fenotipə oxşar olan fenotip meydana gəlir: iki-başlı planari regenerasiya olunur. Wnt signalı həm anterior, həm də posterior yaralarda mövcud olmur, və hər iki tərəfdə başın əmələ gəlməsi induksiya olunur, Notumun olmaması isə Wnt olmadıqda əhəmiyyətsizdir. Beləliklə, Notumun ekspressiyası deyil Wnt/β-katenin signalının olmaması quyruğun formalaşmasına səbəb olur.

Bu eksperimentlər planarinin regenerasiyasında Wnt qatılıq qradientinin rolunu dəstəkləyir. Fəsil 21-də biz öyrənəcəyik ki, yetkin planari neoblastlar kimi adlandırılan,

bədənin istənilən hüceyrəsinə differensasiya edə bilən multipotent sütun hüceyrələrə malikdir; aydındır ki, Wnt zülalları neoblastların planarinin başını və quyruğunu təşkil edən çoxsaylı müxtəlif hüceyrə tiplərinə differensasiya olunmasının proqramlaşdırılmasında əsas rol oynayır.

Hedgehog Sinyalının Verilməsi Hədəf Genin Repressiyasını Buraxır

Hedgehog (*Hh*) signal yolu Wnt signal yolu ilə ona görə çox oxşardır ki, o signalı qəbul etmək və ötürmək üçün yeddi membrana-sarıyan seqmentlərə malik olan iki membran zülalını tələb edir. *Hh* yolu həmçinin, Wnt yolunda olduğu kimi, daxilində transkripsiya faktoruna malik olan hüceyrədaxili kompleksin dağılmasını da əhatə edir. Wnt-dən fərqli olaraq, *Hh* zülalında aşağıda müzakirə olunduğu kimi, fərqli posttranslyasiya prosesinqi baş verir. *Hh* signal yolu Wnt signal yolundan həmçinin onunla fərqlənir ki, onun iki membran reseptoru plazma membranı ilə hüceyrədaxili qovucuqlar arasında hərəkət edir (yerini dəyişir) və məməlilərdə *Hh* signal verilməsi hüceyrə səthində dik qalxıb çıxan əsas **kipriciklə** məhdudlaşır. Amma, Wnt-lər kimi *Hh* zülalları morfogenlər kimi fəaliyyət göstərə və yaxınlıqdakı hüceyrələrə signal ötürə bilirlər. *Hh* signalının ötürülməsi demək olar ki, onurğalılarda əsəb sistemində müxtəlif seqmentlərin müqəddaratının tənzimlənməsindən ağ ciyərin morfogenezi və saç follikullarının formalaşmasına qədər hər bir orqan sisteminin inkişafında əhəmiyyətli rol oynayır. Məməlilərin üç *Hh* zülallarından biri Sonic Hedgehog (*Shh*) əzələlərin normal formalaşması üçün

vacibdir, inkişafda olan üzvlərin anterior rayonunda Shh-in qeyri normal ekspressiyası və əlavə olaraq onun posterior domenində normal ekspressiyası polidaktiliya (əlavə barmaqların yaranmasına) səbəb olur.

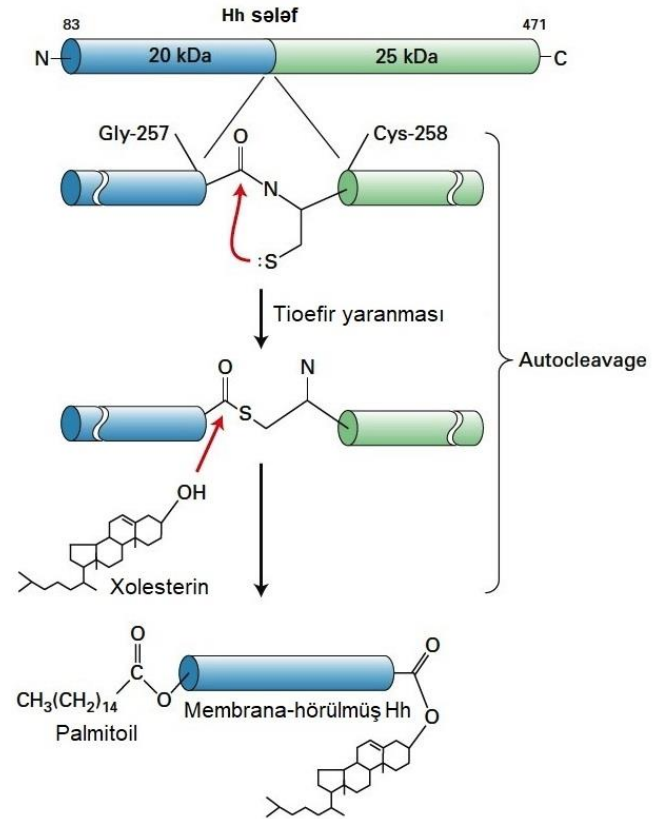
Hh Sələf Zülalının Prosesinqi Hedgehog, zülalı endoplazmatik şəbəkədə olduğu müddətdə özü-özünü yarıya kəsməsinə imkan verən avtoproteolitik fəallıqla sələf zülaldan yaranır. Kəsilmə, ifraz olunaraq signalı başqa hüceyrələrə ötürən N-sonluq fraqmentini və parçalanıb yox olan C-sonluq fraqmentini əmələ gətirir. Şəkil 16-32-də göstərilirdiyi kimi, sələfin kəsilməsi N-sonluq fraqmentində yeni yaranmış karboksil sonluğa lipid xolesterinin kovalent əlavə olunması ilə müşayiət olunur. Hedgehog-un ikinci modifikasiyası, palmitoil qrupunun N-sonluğa əlavə olunması, zülalı daha da çox hidrofob edir.

Hh zülalları nisbətən uzaq məsafəyə, onurğalılarda inkişafda olan üzvlərində 300 µm qədər məsafəyə hərəkət edə bilirlər, amma iki lipidin birləşdiyi Hh zülalların hüceyrəxarici boşluğun hidrofob mühitdə necə yayıldığı hələ tam anlaşılmır. Həm Hh, həm də Wnt birləşdikləri lipid və ya xolesterin qrupları ilə hüceyrəxarici lipozülal zərrəciklərin fosfolipid birqatlısına lövbər etmiş şəkildə tapılmışdır (tipik lipozülalların quruluşuna görə Şəkil 14-27 bax). Çox hallarda, hüceyrənin istehsal etdiyi Hh zülalların əksəriyyəti onun plazma membranına birləşmiş vəziyyətində qalır, belə hallarda, Hh signalları hüceyrə-hüceyrə kontaktları ilə baş verir. Hh zülallarının lipid qruplarındakı hidrofob əlaqələri ilə stabilləşən hüceyrəxarici aqreqatları da eksperimental yolla müşahidə edilmişdir. Dəqiq mexanizmindən əvvəlki olaraq, iki birləşmiş hidrofob qrup Hh-in diffuziya etməsinə və beləliklə onun toxumadakı fəaliyyətini məhdudlaşdırır. Wnt zülallarda olduğu kimi, məkan məhdudluğu Hh zülallarının təsirlərinin məhdudlaşdırılmasında kritik rol oynayır.

Drosophila-da Hh signal yolu Drosophila-da genetik tədqiqatlar göstərir ki, iki membran zülalı, *Smoothed (Smo)* və *Patched (Ptc)* Hedgehog signalın qəbul olunması və hüceyrə daxilində ötürülməsi üçün tələb olunur. Smoothed (Smo) yeddi membrana-sarınan α spirala malikdir və ardıcılığına görə Wnt Fz reseptoruna yaxındır. Güman edilir ki, Patched (Ptc) 12 transmembran α spirala malikdir və quruluşuna görə, membran zülallarının **ABC superailəsinin** nümayəndəsi Nieman-Pick C1 (NPC1) zülalına (bax Cədvəl 11-3) çox oxşardır.

Şəkil 16-33 Drosophila-da Hedgehog (Hh) yolunun müasir modelini təsvir edir. Bu modeli dəstəkləyən sübutlar, *hedgehog (hh)* və ya *smoothed (smo)* genlərində funksiyasının itirilməsi mutasiyası ilə milçəyin rüşeymində aparılan tədqiqatlardan gəlmişdir. Mutant rüşeymlərin hər iki tipi oxşar inkişaf fenotipinə malikdir; *hedgehog* adlandırma Hh mutant embrionun, kirpi iynələrinə bənzər, qeyri müntəzəm saçşəkilli tüklərlə örtülü olan görünüşündən meydana gəlmişdir. Bundan başqa həm *Hh*, həm də *Smo* genləri rüşeymin inkişafı dövründə eyni hədəf genin (məsələn, *patched* və *wingless*) transkripsiyasının fəallaşması üçün tələb olunurlar. Bunun əksinə, *patched (ptc)* genində funksiyasının-itirilməsi mutasiyaları, embrionun Hedgehog zülalı ilə tutulmasının təsirinə alınmayan fenotipə oxşar olan, tamamilə fərqli fenotip əmələ gətirir. Bu nəticələr göstərir ki, Hh olmayanda, Ptc genin

fəallaşması üçün tələb olunan signal yolunu ingibirləşdirməklə hədəf genlərini repressiya edir. *Patched* fəaliyyət göstərməyən mutantlarda Hh hədəf genlərinin transkripsiyası üçün Smo-nun tələb olunmasını göstərən əlavə müşahidələr Smo-nu Hh signal yolunda Ptc-dən sonra yerləşdirir. Hh-in birbaşa Ptc ilə birləşməsinə göstərən başqa eksperimentlərlə birlikdə sübutlar göstərir ki, Hh-in Ptc-yə birləşməsi Smo fəaliyyətinin Ptc tərəfindən blok edilməsinə mane olur, beləliklə, hədəf genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır.



ŞƏKİL 16-32 Hedgehog (Hh) sələf zülalının prosesinqi. Hüceyrə 45-kDa Hh sələf zülalı sintez edir və o, sistein 258-in (Cys-258) tiol yan zənciri vasitəsi ilə ona bitişik yerləşən qlisin 257-nin (Gly-257) karbonil karbonunda nukleofil hücumu məruz qalır və yüksək enerjili tiotier aralıq məhsulunu əmələ gətirir. Sonra, C-sonluq domeninin fermentativ fəallığı, xolesterinin hidroksil qrupu ilə qlisin 257 arasında efir əlaqəsinin əmələ gəlməsini kataliz edir, sələf zülalı kəsərək iki fraqmentə ayırır. N-sonluq signal fraqmenti (mavi) xolesterin hissəsini özündə saxlayır və N-sonluğa palmitoil qrupunun əlavə olunması ilə modifikasiya olunur. İki hidrofob lövbər ifraz olunan, prosesinq olmuş Hh zülalı plazma membranına bağlayır. Bax P. Therond, 2012, *Curr. Opin. Cell Biol.* **24**:173.

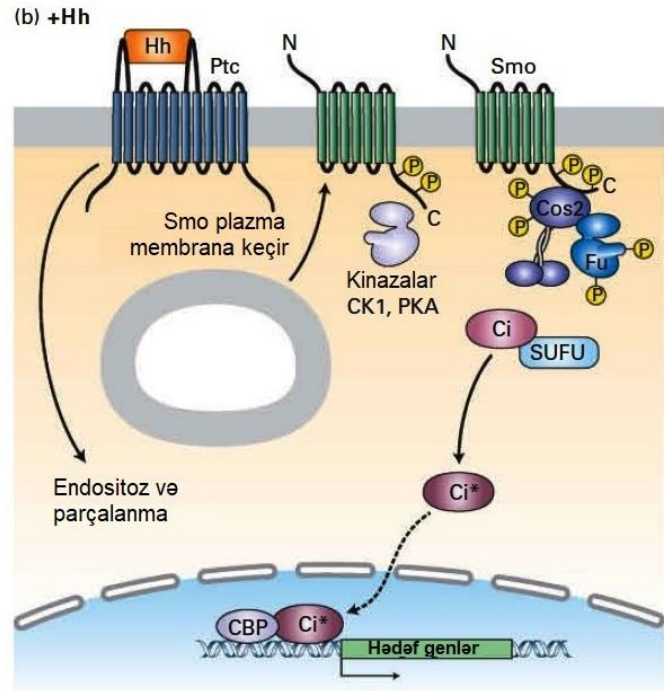
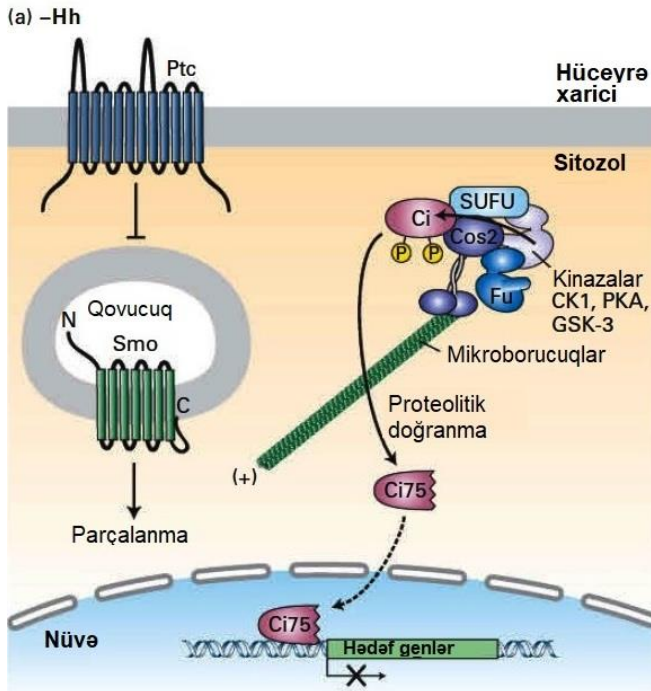
Sonrakı biokimyəvi və hüceyrə bioloji tədqiqatlar göstərdi ki, Hh olmadıqda Ptc plazma membranında zənginləşir, amma Smo daxili qovucuqlardakı membranlarda tapılmışdır. Daha sonra Smo-nun uzun sitozol C-sonluq seqmenti elə bükülür ki, o sonra gələn signal zülallarına birləşə bilmir (Şəkil 16-33a). Ptc-nin Smo funksiyasını necə gücləndirməsi hələ aydın deyil, bir nəzəriyyəyə ondan ibarətdir ki, Smo funksiyasını ingibirləşdirən kiçik molekulu hüceyrə daxilində Ptc daşıyır.

Hh yolunda böyük sitoplazmatik zülal kompleksi bir neçə zülaldan (Şəkil 16-32a), o cümlədən serin-treonin kinaza Fused (Fu) və başqa siqnal yollarında, bizim əvəllər rast gəldiyimiz proteinkinazalar (PKA), GSK3β və CK1, mikroborucuqlarla-assosiasiyada olan kinezinə-bənzər zülal Costal-2 (Cos2) və sink-barmaq saxlayan transkripsiya faktoru “Cubitus interruptus”dan (Ci) təşkil olunmuşdur. Bu kompleks sitozolda mikroborucuqlara birləşir və onların boyunca hərəkət edir. Qeyd etmək lazımdır ki, Ci-nin kompleksdəki ən azı üç kinaza ilə fosforlaşması ubikvitin komponentinin liqaza kompleksi ilə birləşməsinə səbəb olur, o isə öz növbəsində, Ci-nin ubikvitinləşməsinə və onun proteosomlarda hədəf olunmasını istiqamətləndirir. Ci orada proteolitik doğranmaya məruz qalır, nəticədə əmələ gələn Ci75 kimi adlandırılan Ci fraqmenti nüvəyə translokasiya olunur və Hh hədəf genlərinin ekspressiyasını *repressiya* edir.

Hh-ın Ptc reseptora birləşməsinin ardınca Hh-Ptc kompleksi başqa reseptor-hormon kompleksləri kimi, hüceyrə səthindən daxili qovucuqlara endositoz olunur və tədricən sonda parçalanır, Hh-un Ptc-yə birləşməsi onun Smo-nu ingibirləşdirmə qabiliyyətini ingibirləşdirir (Şəkil 16-33a). Eyni zamanda Smo daxili qovucuqlardan plazma membranına keçir, Smo-nun C-sonluq seqmenti fosforlaşır və “açıq”

konformasiyanı alır. Bu dəyişiklik Fu və Cos2-nin fosforlaşmasının güclənməsi kimi bir sıra hüceyrə cavablarını işə salır. Qeyd etmək vacibdir ki, Fu, Cos2 və Ci kompleksi mikroborucuqlardan dissosiasiya edir və Cos2 Smo-nun fosforlaşmış C-sonluq quyruğuna assosiasiya edir. Nəticədə əmələ gələn Fu/Cos2/Ci kompleksinin dağılması Ci-nin həm fosforlaşmasının, həm də doğranmasının reduksiya olunmasına səbəb olur. Bunun nəticəsində, tam-uzunluqlu Ci yaranır və nüvəyə translokasiya edərək orada transkripsiyanın ko-aktivatoru CREB-birləşdirən zülalla (CBP) birləşərək Hh hədəf genlərinin ekspressiyasını gücləndirir.

Hh Siqnalının Tənzimlənməsi Hh yolun geriyyə əlaqə nəzarəti ona görə çox əhəmiyyətlidir ki, qarşısını almaz Hh siqnal verilməsi xərcəngin inkişaf etməsinə və ya yanılış hüceyrə tipinin yaranmasına səbəb ola bilər. *Drosophila*-da Hh siqnalı ilə induksiya olunan bu genlərdən biri *patched*-dir. Patched-in ekspressiyasının sonrakı yüksəlməsi fəal Smoothened zülalının miqdarını kəskin şəkildə azaldaraq Hh siqnalına qarşı autoqonist kimi fəaliyyət göstərir. Beləliklə sistem tarazlanır: əgər inkişaf prosesində həddən artıq Hh siqnalı yaranırsa Patched-in sonrakı artması onu kompensasiya edəcək, əgər çox az Hh siqnalı yaranırsa, o zaman Patched-in miqdarı azalır.



ŞƏKİL 16-33 Drosophila-da Hedgehoq siqnalı. (a) Hedgehoq (Hh) olmayanda, Patched (Ptc) zülalı, əsasən daxili qovucuqların membranlarında mövcud olan və onun parçalanmasını gücləndirən Smoothened-i (Smo) ingibirləşdirir. Fused (Fu) kinazaya, proteinkinaza A (PKA), qlikogen-sintaza kinaza 3β (GSK3β) və kazein kinaza 1 (CK1) kimi başqa kinazalara, kinezinə-oxşar motor zülalı Costal-2 (Cos2), və sink-barmaq saxlayan transkripsiya faktoru Cubitus interruptus-a (Ci) malik olan kompleks mikroborucuqlara birləşir. Bu kompleksdə Ci pillələrlə PKA, GSK3β və CK1 kimi müxtəlif proteinkinazalarla forlaşır. Fosforlaşmış Ci sonra ubikvitin-proteosom yolu ilə proteolitik kəsilir Ci75-in N-sonluq fraqmentini əmələ gətirir, o isə nüvəyə daşınaraq Hh hədəf genlərinin transkripsiya repressoru kimi fəaliyyət göstərir. (b) Hh Ptc-yə birləşir, və Ptc-lərin daxili

komponentlərə keçməsinə, endositoz olunmasına və parçalanmasına səbəb olur və Smo-nun ingibirləşməsinə yox edir. Sonra Smo plazma membranına keçir, PKA, CK1 və başqa kinazalarla fosforlaşır, Cos2 ilə birləşir və parçalanmaya qarşı stabilləşir. Həm Fu, həm də Cos2 geniş şəkildə fosforlaşır və ən əhəmiyyətlisi odur ki, Fu-Cos2-Ci kompleksi dissosiasiya edir. Bu, tam-uzunluqlu, alternativ modifikasiya olunmuş Ci-nin stabilləşməsinə səbəb olur, o sonra nüvəyə keçərək hədəf genlərinin promotordan repressor Ci75-i sıxışdırıb çıxarır, CREB-birləşdirən aktivator zülalı (CBP) sərbəhbər edir və hədəf genlərinin ekspressiyasını induksiya edir. Ptc və Smo-nun Hh-a cavab verdiyi və fəaliyyət göstərdiyi dəqiq membran kompartimenti hələ məlum deyil. Bax S.Goetz and K. Anderson, 2010, *Nature Rev. Genet.* 11:331.

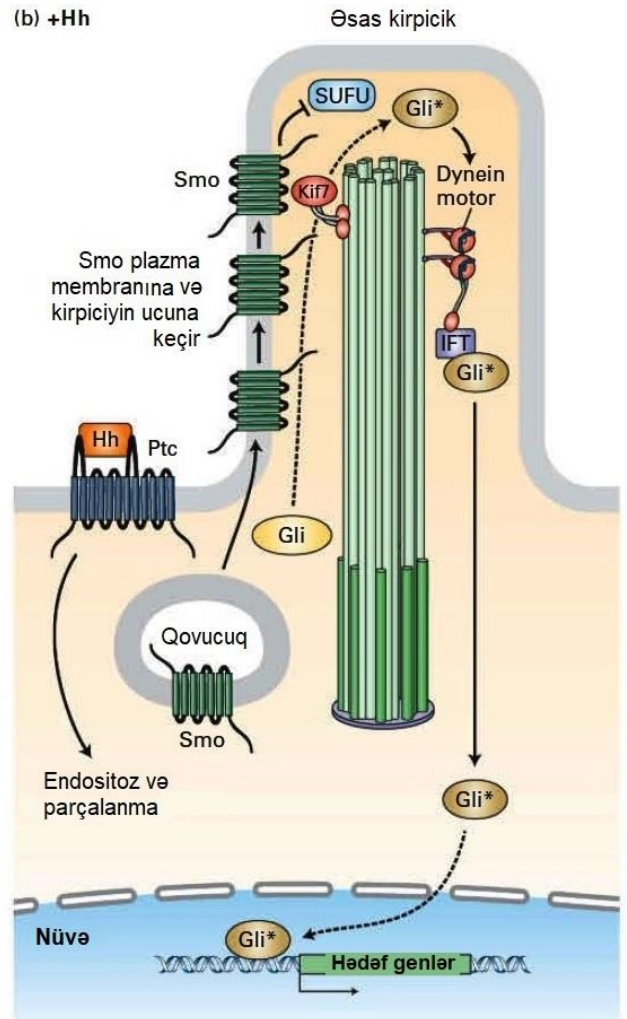
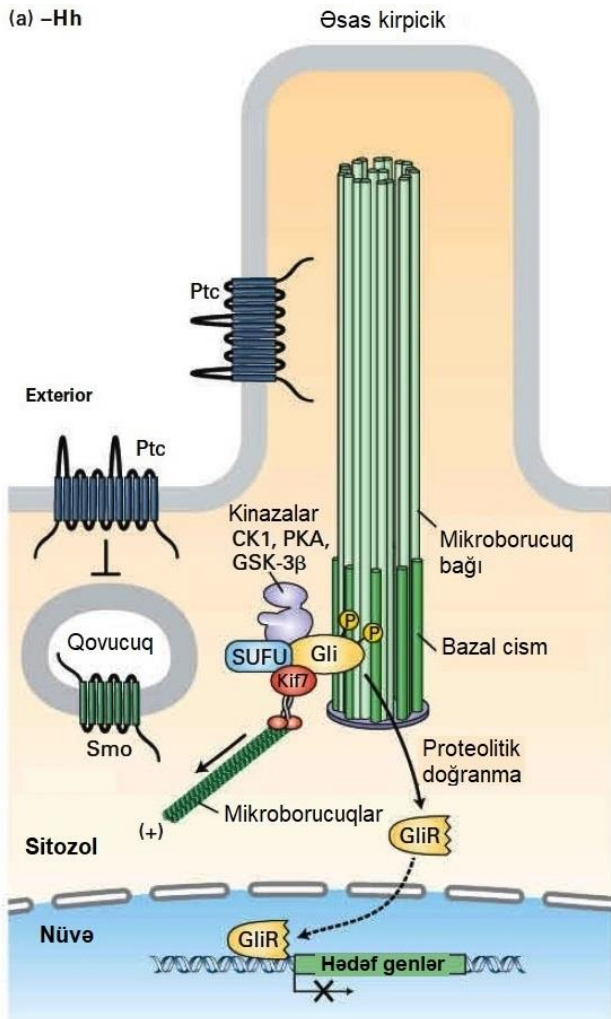
Onurğalılarda Hedgehoq Sıqnalı İlkin Kirpicikləri Tələb Edir

Onurğalılarda Hh sıqnal verilməsi yolu çox xüsusiyyətləri ilə *Drosophila*-dakı konservativ yolla oxşardır, amma bir sıra cəlbədicə fərqləri də vardır. Birincisi, məməlilərin genomu müxtəlif toxumalarda fərqli ekspressiya olunan üç *Hh* geninə və iki *Ptc* geninə malikdir. İkincisi, məməlilər üç Gli transkripsiya faktorunu ekspressiya edirlər, bunlar da birlikdə *Drosophila*-dakı tək bir Ci transkripsiya faktorunun funksiyalarını yerinə yetirirlər. Hh yolun *Drosophila*-dakı bütün başqa komponentləri onurğalılarda da qorunub saxlanılmışdır.

Məməlilərin Hh yolunun ən çox cəlbədicə aspekti ilkin kirpiciklərin vacib olmasıdır. Kirpiciklər uzun plazma membranıdır - burulmuş quruluşda olub hüceyrə səthindən dik çıxır. Kirpiciklərin və flagellaların xüsusi hüceyrə tiplərində rolu, külli miqdarda kirpiciklərin traxeyada materialların traxeya səthi boyunca hərəkətində və flagellaların spermanın hərəkətverici aparatında rolu çox yaxşı məlumdur (bax Şəkil 1-14). Onurğalılarda əksər hüceyrələr *ilkin (əsas) kirpicik* adlanan tək bir kirpiciyə, təxminən bütün onurğalı hüceyrələrinin səthindən çıxan, amma tədqiq olunan bütün onurğasız hüceyrələrində tapılmayan, hərəkətsiz quruluşda olan kirpiciyə malik olurlar (bax Şəkil 16-34).

Bizim Fəsil 18-də öyrənəcəyimiz kimi, kirpicik onun ortasında zülalları və zərrəciklərin mikrorucuqlar dəsti boyunca daşınması ilə uzanır və saxlanılır, fərqli flagelladaxili nəqliyyat (IFT) motor zülalları, zülalları və zərrəcikləri kirpiciyin kökündən onun ucuna doğru və əks istiqamətdə hərəkət etdirir. Hh sıqnalında kirpiciklərin rolu barədə ilkin dəlillərin bəziləri, siçanın erkən inkişafını rüseyimdə Hh sıqnalın dəyişilməsi ilə müşahidə olunan şəkildə dəyişdirən mutasiyaların ekranlaşdırılmasından gəlmişdir: mutant fenotiplər, inkişaf üçün tək Hh zülalın yüksək qatılığını tələb edən sinir borucuqlarında müəyyən tip hüceyrələrin itirilməsini əhatə edir. Bu mutasiyaların çoxu IFT zülallarını kodlaşdıran genlərdə tapılmışdır ki, o da Hh sıqnal verilməsində kirpiciklərin (və ya flagellanın) rolunu göstərir.

Sonrakı analizlər göstərdi ki, Hh sıqnal verilməsi olmadıqda *Ptc* əsas kirpiciyin membranında, *Smo* isə kirpiciyin kökünə yaxın daxili qovucuqlarda yerləşir (Şəkil 16-34a). *Drosophila*-da olduğu kimi, Gli, SUFU və bir sıra başqa kinazların sitozol kompleksləri Gli-nin fosforlaşmasına, onun proteolitik kəsilməsinə və GliR kimi adlandırılan Gli fraqmentinin nüvəyə translokasiyasına səbəb olur və bu fraqment orada Gli-cavab genlərinin tənzimləyici rayonlarına birləşir və onların induksiyasını *blok* edir.



ŞƏKİL 16-34 Onurğahlarda Hedgehoq signal ötürülməsi.

Hedgehoq (Hh) signalı əsas kirpiciklərdə baş verir, amma posesin ümumi gedişi milçəklərdə olduğu kimidir. (a) Hh olmayanda Ptc kirpicik membranlarında yerləşir və məlum olmayan yolla Smoothened-in kirpiciyə daxil olmasına mane olur; Smo əsasən daxil qovucuların membranında olur. Kinezin Kif7 (Cos2-nin homoloqu) kirpiciyin əsasında (kökündə) mikroborucuqlara birləşir, orada Gli transkripsiya faktorunun (Ci-in onurğalılarıdakı homoloqu) kirpiciklərə daxil olmasına mane olur. Kif7 və Gli SUFU-nun və Gli-ni fosforlaşdıran və onun GliR əmələ gətirən proteolitik parçalanmasını mümkün edən CK1, PKA və GSK3β kimi başqa kinazların daxil

Hh əlavə olunduqdan sonra, Smo kirpicik membranına keçir, sonra isə əsas kirpiciyin ucuna hərəkət edir, halbuki bu zaman Hh/Ptc kompleksi daxilə keçirilir və orada parçalanır (Şəkil 16-34b). Smo-nun belə yerdəyişməsində reseptorun C-sonluq sitozol domeninin G zülallarla-cütləşən reseptorları modifikasiya edən (bax Şəkil 15-32) eyni ferment olan *β-adrenergik reseptor kinaza (BARK)* ilə fosforlaşması iştirak edir. Sonra *β-arrestin* Smo-ya birləşir. *β-arrestin* öz növbəsində mikroborucuqların motor zülalı Kif7-ni səfərbər edir, o isə kirpiciyin kökündə (əsasında) mikroborucuqlara birləşərək Smo-nu kirpicik membranına aparır. Eyni zamanda, Gli-yə malik olan sitozol kompleksi pozulur, Gli-nin repressor fraqmentə parçalanmasına mane olur. Gli sonra kirpiciyin yuxarı ucunda toplanır, bu proses də həmçinin Kif7 motor zülalını tələb edir. Smo orada onu, hələ də məlum olmayan mexanizmlə fəallaşdırır, sonra isə başqa bir motor zülalı, dinein Gli* kimi işarələnən fəallaşmış Gli-ni kirpiciyin əsasına (kökünə) aparır (Şəkil 16-34b). *Drosophila*-da olduğu kimi, bu fəal transkripsiya faktoru sonra nüvəyə keçir və orada çoxsaylı hədəf genlərin ekspressiyasını fəallaşdırır.



Hh signal verilməsinin qeyri müvafiq fəallaşması bir sıra insan şişlərinin, o cümlədən medulloblastomların (beyincik şişi) və rabdomyosarkomaların (əzələ şişləri) yaranmasına səbəb olur. Əsas kirpiciklər, belə anormal Hh signalının verilməsində zəruridir və əsas kirpiciklərin fəaliyyətini ingibirləşdirən dərmanlar bu xərçəng nümunələrinin heyvan modellərində sınaqdan keçirilir. Məsələn, postnatal siçan beyinində smoothened-in mutant fəallaşmış formasının ekspressiya olunması medulloblastomaların yaranmasına səbəb olur, lakin eyni zamanda, mühüm kirpicik zülalını kodlaşdıran gen təsirsiz hala gələrsə, bu şişlər yaranmayacaq. ■

İngibitor Zülalın Parçalanması NF-κB Transkripsiya Faktorunu Fəallaşdırır

Həm Wnt, həm də Hedgehog yollarının sakitlik vəziyyətində əsas transkripsiya faktorları ubikvitinləşir və proteolitik parçalanmaya məruz qalır, transkripsiyanın repressoru kimi fəaliyyət göstərən zülal fraqmentini əmələ gətirir, signal yolunun fəallaşması ubikvitinləşmənin blok olunmasına və transkripsiya faktorunun fəal vəziyyətdə azad olmasına səbəb olur. *NF-κB yolu* əks tərzdə fəaliyyət göstərir: sakitlik dövründə NF-κB transkripsiya faktoru sitozolda ingibitora birləşmiş vəziyyətdə qalır, signal yolunun fəallaşmasında ubikvitinləşmənin ardınca ingibitorun parçalanması və fəal

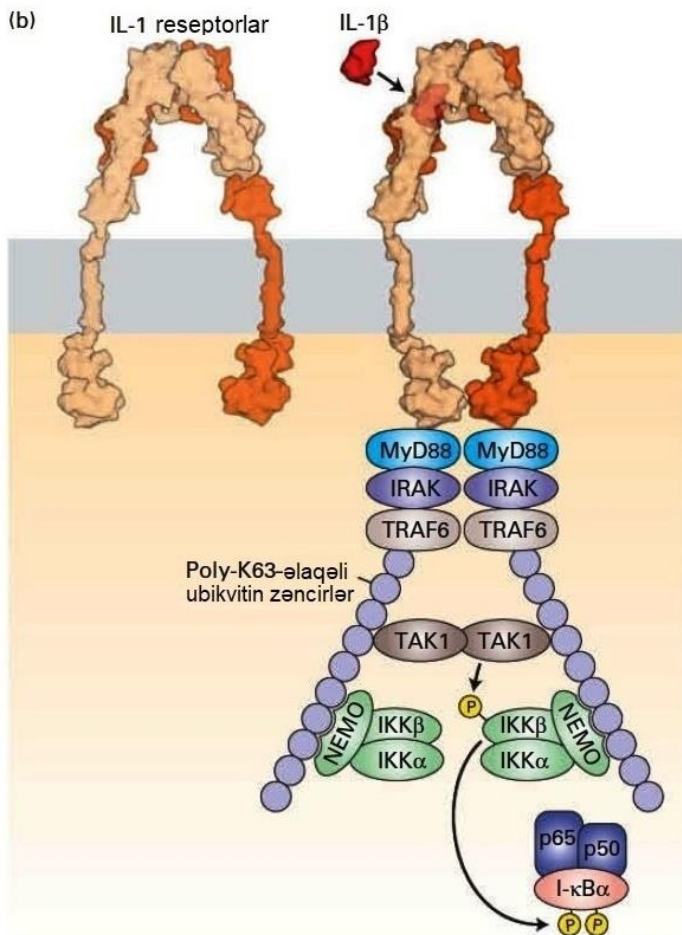
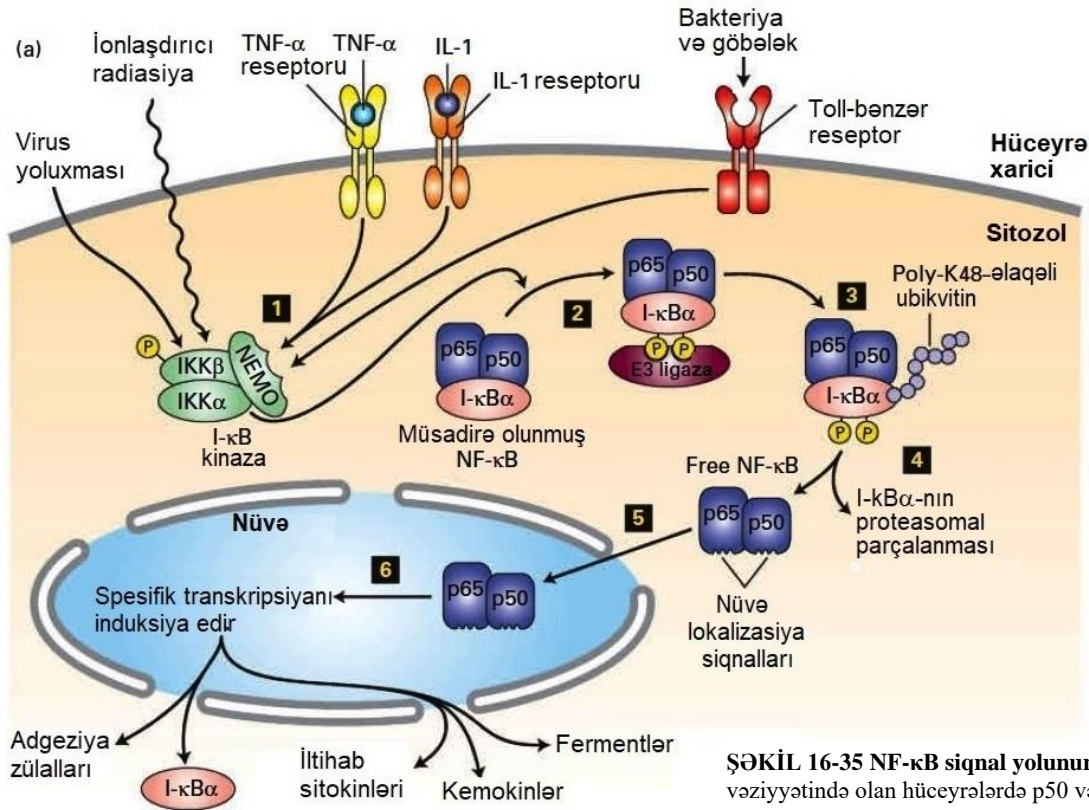
olduğu kompleksin tərkib hissələridirlər. (b) Hh-in birləşməsi Hh/Ptc kompleksinin dağılmasına, Smo-nun plazma membranına keçməsinə və sonra ona birləşən bir sıra zülallarla kirpiciyin yuxarı ucuna hərəkət etməsinə səbəb olur. Smo SUFU-Gli kompleksinin dissosiasiya etməsini işə salır. Gli parçalanmaqdan sonra toplanır, bir sıra fosfat və asetil qruplarının əlavə edilməsi ilə modifikasiya olunur, fəal Gli* əmələ gətirir, sonra isə dinein motor zülalı vasitəsilə kirpiciyin aşağısına (əsasına) daşır. Bunun ardınca, Gli* sitozola buraxılır, nüvəyə translokasiya edir və gen ekspressiyasını fəallaşdırır. Bax J.Briscoe and P. Therond, 2013, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 14:416.

transkripsiya faktorunun ayrılması baş verir. Bu mexanizm hüceyrələrə imkan verir ki, gen transkripsiyasını dərhal və güclü şəkildə fəallaşdırmaqla müxtəlif stress siqnallarına cavab versin. NF-κB yolundakı mərhələlər həm məməlilərin, həm də *Drosophila*-nın hüceyrələrində aparılan tədqiqatlarda aşkar edilmişdir.

NF-κB ("Fəallaşmış B hüceyrələrin nüvə-faktoru kappa-yüngül-zəncir enhanseri" kimi müəyyən qədər yöndəmsiz deskriptorun qısaldılmış adı) məməlilərin immun-sistemi hüceyrələrində bakterial və virusla yoluxmalara, iltihab və ionlaşdırıcı radiasiya kimi çoxsaylı başqa vəziyyətlərə qarşı cavab kimi kəskin şəkildə fəallaşır. Bakterial və ya göbələk hüceyrə divarlarının komponentləri hüceyrə səthinin müəyyən *Toll-bənzər reseptorlarına* birləşəndə NF-κB yolu immun sisteminin bəzi hüceyrələrində fəallaşır (bax Şəkil 23-35). Bu yol həmçinin, yoluxmaya qarşı cavab olaraq yaxınlıqdakı hüceyrələr tərəfindən ifraz olunan iltihab-sitokinləri kimi adlandırılan *şiş nekrozis faktoru alfa (tumor-necrosis factor alpha – TNFα)* və *interlekin 1 (IL-1)* ilə də fəallaşır. Bütün hallarda, liqandın öz reseptoruna birləşməsi, sitozolda plazma membranı yaxınlığında çoxzülallı kompleksin toplanmasını induksiya edir, bu da NF-κB transkripsiya faktorunun fəallaşması ilə nəticələnən signal yolunun başlanmasına səbəb olur.

NF-κB ilkin olaraq, B hüceyrələrdə anticislərin yüngül zəncirini (immunoqlobulinləri) kodlaşdıran genin transkripsiyasının fəallaşması əsasında aşkar edilmişdir. İndi belə güman olunur ki, bu məməlilərdə immun sisteminin əsas (master) transkripsiya tənzimləyicisidir. Baxmayaraq ki, milçəklər anticisləri istehsal etmirlər, NF-κB -nin *Drosophila*-dakı homoloqları, bakterial və ya virus yoluxmasına qarşı ifraz olunan böyük sayda antimikrob peptidlərin sintezin induksiya edirlər. Bu fenomen göstərir ki, NF-κB tənzimləyici sistem təkamülün gedişində qorunub saxlanmışdır və yarım milyard ildən artıq yaşı vardır.

Məməlilərin hüceyrələrində biokimyəvi tədqiqatlar və milçəklərdə genetik tədqiqatları NF-κB yolunun fəaliyyətində çox əhəmiyyətli yeni anlayışları təmin etdi. Heterodimer NF-κB transkripsiya faktorunun iki subvahidi (p65 və p50) N-sonluqlarında onların dimerləşməsi və DNT-yə birləşməsi üçün tələb olunan homoloji rayonu bölüşürlər. Stresə məruz qalmayan və ya yoluxma əlamətinə cavab verməyən hüceyrələrdə I-κBα adlanan ingibitora birbaşa birləşmə NF-κB-ni sitozolda qeyri fəal vəziyyətdə müsadirə edir. Tək bir I-κBα molekulu cütləşmiş p50-p65 subvahidlərinin N-sonluq domenlərinə birləşərək onların nüvə lokalizasiya signal ardıcılığını maskalayır (Şəkil 16-35a).



ŞƏKİL 16-35 NF- κ B siqnal yolunun fəallaşması. (a) Sakitlik vəziyyətində olan hüceyrələrdə p50 və p65 subvahidlərdən təşkil olunmuş dimer transkripsiya faktoru NF- κ B, inhibitor I- κ B ilə birləşmiş şəkildə sitozolda tutulmuş vəziyyətdə qalır. Pilla 1: Trimer I- κ B kinazının fəallaşması çoxsaylı agentlərlə, o cümlədən virus yoluxması, ionlaşdırıcı radiasiya, pro-iltihab sitokinləri TNF α və ya IL-1-in öz müvafiq reseptorlarına birləşməsi ilə, və ya bir sıra Toll-benzər reseptorlardan istənilən birinin hücum etmiş bakteriya və ya göbələyin komponentləri ilə fəallaşması ilə stimullaşır. Pilla 2: I- κ B kinazının β subvahidi sonra ingibitor I- κ B α -nı fosforlaşdırır, o isə sonra E3 ubikvitin liqaza ilə birləşir. Pilla 3 və 4: I- κ B α -nın lizin 48-lə əlaqəli poliubikvitinləşməsi onu proteosomlarda parçalanmaya hədəf edir. Pilla 5: I- κ B α -nın atılması NF- κ B-nin hər iki subvahidində nüvə lokalizasiya siqnalını aşkara çıxarır və onların nüvəyə translokasiyasına imkan verir. Pilla 6: Nüvədə NF- κ B çox sayda hədəf genlərin, o cümlədən siqnal verilməsini dayandıran I- κ B α -nı kodlaşdıran genin transkripsiyasını və müxtəlif iltihab sitokinlərini kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır. Bax R. Khush et al., 2001, *Trends Immunol.* **22**:260, və J-L Luo et al., 2005, *J. Clin. Invest.* **115**:2625. (b) İnterleykin-1 β -nin (IL-1 β) heterodimer IL-1 reseptoru ilə (IL-1R) birləşməsi reseptorun oliqomerləşməsinə və bir sıra zülalların, o cümlədən TRAF6-nın, TRAF6, NEMO və kompleksdə olan başqa zülallarla əlaqədə olan uzun lizin-63-əlaqəli poliubikvitin zəncirinin sintezini kataliz edən E3 ubikvitin liqazanın reseptorun sitozol domeninə səfərbər olunmasına səbəb olur. Poliubikvitin zəncirlər TAK1 kinaza və trimer I- κ B kinaza kompleksinin NEMO subvahidini səfərbər etmək üçün skafold kimi fəaliyyət göstərir. TAK1, sonra özü-özünü və I- κ B kinazının β subvahidini fosforlaşdırır, onun kinaza fəallığını fəallaşdırır və onun I- κ B α -nı fosforlaşdırmasını mümkün edir. Bax B. Skaug et al., 2009, *Annu. Rev. Biochem.* **78**:769, və J. Napetschnig and H. Wu, 2013 *Annu. Rev. Biophys.* **42**:443. [IL-1 reseptor verilənlər B.J. Smith et al., 2010, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**:6771, PDB ID 3loh-dan; Q. Li, Y. L. Wong, and C. Kang., 2014, *Biochim. Biophys. Acta.* **1838**:1313, PDB ID 2mfr; və S. R. Hubbard, 1994, *Nature* **372**:746, PDB ID 1irk.]

I-κB kinaza adlanan üç zülal kompleksi dərhal NF-κB-dən öndə (yuxarıya istiqamətdə) fəaliyyət göstərir və onun müsadirədən azad olmasını həyata keçirir. I-κB kinazanın β kinaza subvahidi, yuxarıda qeyd edilmiş NF-κB-ni fəallaşdıran bütün hüceyrəxarici siqnallar üçün kəsişmə nöqtəsidir. Hüceyrənin yoluxma agentləri ilə və ya iltihab sitokini ilə stimullaşmasından sonrakı bir dəqiqə müddətində I-κB kinazanın β subvahidi fosforlaşmaqla fəallaşır və sonra I-κBα-da iki N-sonluq serin qalıqlarını fosforlaşdırır (Şəkil 16-35a, pillə 1 və 2). Sonra E3 ubikvitin liqaza bu fosforinlərə birləşərək I-κBα-nı ubikvitinləşdirir və onun dərhal proteosomla parçalanmasına səbəb olur (pillə 3 və 4). Bu, serinlərin alaninlə əvəz olunduğu I-κBα-nın mutant formalarını ekspressiya edən hüceyrələrdə fosforlaşa bilmir və NF-κB həmişəlik qeyri fəal qalır, bu göstərir ki, I-κBα-nın fosforlaşması yolun fəallaşması üçün vacibdir.

I-κB-nin parçalanması NF-κB-də nüvə lokalizasiya siqnalı ardıcılığını aşkara çıxarır və sonra o nüvəyə translokasiya edir və çoxsaylı hədəf genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır (Şəkil 16-35a, pillə 5 və 6). Proteolizlə fəallaşmasına baxmayaraq, NF-κB siqnal verilməsi sonda mənfi geriye əlaqə ilgəyi ilə dayandırılır, çünki transkripsiyası birbaşa NF-κB ilə induksiya olunan genlərdən biri I-κBα-nı kodlaşdırır. Nəticədə I-κBα zülalının miqdarının artması ilə o nüvədə fəal NF-κB ilə birləşir və onu sitozola qaytarır.

İmmun sistemi hüceyrələrinin çoxunda NF-κB 150-dən artıq genin, o cümlədən sitokinləri və kemositokinləri kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır; kemositokinlər başqa immün-sistemi hüceyrələrini və fibroblastları yoluxma nahiyəsinə cəlb edir. NF-κB həmçinin, neytrofillərin (ağ qan hüceyrəsi tipləri) qandan əsas toxuma daxilinə miqrasiya etməsinə (bax Şəkil 20-40) imkan verən reseptor zülalların da ekspressiyasını gücləndirir. Bundan başqa, NF-κB, bakteriyal hüceyrələr üçün zərərli (toksik) olan azot oksidini istehsal edən fermentin induksiya oluna bilən izoforması iNOS-un ekspressiyasını və eləcə də hüceyrə ölümünə mane olan bir sıra anti-apoptoz zülalların ekspressiyasını da stimullaşdırır. Beləliklə, bu vahid transkripsiya faktorunu bədənin müdafiəsini, istər patogenlərə və stressə qarşı cavab olaraq birbaşa, istərsə də yoluxmuş və ya yaralanmış toxuma və hüceyrələr tərəfindən buraxılan siqnal molekullarına cavab olaraq dolayı yolla koordinasiya edir (əlaqələndirir) və fəallaşdırır.

Poliubikvitin Zənciri Reseptorları NF-κB Yolunda Sonra Gələn Zülallarla Əlaqələndirən Skafold kimi Fəaliyyət Göstərir

Biz yuxarıda gördük ki, I-κB-nin β kinaza subvahidi, Toll-bənzər və IL-1 reseptorları da daxil olmaqla çoxsaylı reseptorlar tərəfindən ötürülən hüceyrəxarici siqnallar üçün yaxınlaşma nöqtəsidir. Toll və IL-1 reseptorların sitozol domeni fermentativ fəallığa malik olmadığından, bu reseptorların fəallaşmasının I-κB-nin β kinaza subvahidini necə fosforlaşdırması və fəallaşdırması uzun illər boyu bir sır olaraq qalmışdır. Əvvəllər aparılmış tədqiqatlar göstərdi ki, IL-1-in mövcud olması iki IL-1 reseptor zülallarının oliqomerləşməsinə və poliubikvitinləşmə zəncirini sintez edən E3 ubikvitin liqaza TRAF6 da daxil

olmaqla bir sıra zülalların onun sitozol domeninə birləşməsinə səbəb olur. Bütün ubikvitinləşmənin proteosomlarla parçalanmaya siqnal verdiyi güman olunduğundan, tədqiqatçılar çox tez parçalanan ubikvitinləşmiş hədəf zülalları axtardılar. Bunu tapmadıqda, alimlər poliubikvitinləşmənin başqa mümkün olan rolunu axtardılar və tezliklə onlar aşkar etdilər ki, spesifik E3 ubikvitin liqazadan asılı olaraq ubikvitin, fərqli quruluşa və bioloji funksiyalara malik olan çoxsaylı müxtəlif tipli polimerləri əmələ gətirir.

I-κBα-nı ubikvitinləşdirən E3 ubikvitin liqaza bir ubikvitinin karboksil sonluğunu başqasının lizin 48-ilə (K48) əlaqələndirir, bu poli-K48-əlaqəli ubikvitin birləşdiyi zülalı proteosoma hədəf edir (bax Şəkil 16-35a). Əksinə, E3 liqaza TRAF6 bir ubikvitinin karboksil sonluğunu başqasının lizin 63 (K63) qalıqları ilə əlaqələndirir (bax Şəkil 3-36). Nəticədə əmələ gələn poli-K63 ubikvitin zəncir zülalları parçalanmaq üçün hədəf etmir, əksinə bu ubikvitin zəncirləri zülalları *poli-K63 ubikvitin-birləşmə domeni* ilə birləşdirən skafold kimi fəaliyyət göstərir. Bunlardan biri, poliubikvitin zəncirinə birləşməklə fəallaşan proteinkinaza TAK1-dir, digəri I-κB kinazanın NEMO subvahididir. Beləliklə, poli-K63 ubikvitinə birləşmək üçün kinazanı və onun hədəfini – I-κB kinazanın β subvahidini elə yaxınlığa gətirir ki, TAK1 sonra gələn kinazları fosforlaşdıraraq fəallaşdırmaqla bilir (Şəkil 16-35b). Yuxarıda qeyd olunduğu kimi, sonra bu kinaza I-κBα-nı fosforlaşdırır. Beləliklə müxtəlif tipli poliubikvitinləşmə zəncirləri NF-κB transkripsiya faktorlarını fəallaşdırmaq üçün IL-1 siqnal ötürülməsinin çox fərqli yollarında iştirak edirlər.

16.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Ubikvitinləşmə ilə Nəzarət Olunan Siqnal Yolu: Wnt, Hedgehog və NF-κB

- Hədəf zülalların ubikvitinləşməsi və proteolizi bir çox siqnal yollarına daxildir, ona görə də onlar geriye dönməyəndir və ya çox zəif döndürür. Bu hədəf zülalları ya transkripsiya faktorlarıdır, ya da transkripsiya faktorlarının inhibitorlarıdır.
- Wnt beyinin inkişafı, əzələlərin formalaşması və orqanogenez kimi çox sayda kritik inkişaf proseslərinə nəzarət edir. Hedgehog inkişafın gedişi zamanı morfogen kimi fəaliyyət göstərir. Hər iki yolda fəallaşdırıcı mutasiyalar xərçənglə nəticələnir.
- Həm Hedgehog, həm də Wnt onların siqnal ötürməsinə zəiflədən lipid lövbərə malik olan, ifraz olunan zülallardır. Wnt ilə kovalent birləşmiş yağ turşusu onun reseptora bağlanması üçün vacibdir.
- Wnt siqnalları reseptor Frizzled və ko-reseptor LRP kimi iki hüceyrə səth zülalları ilə və β-kateninə malik olan hüceyrədaxili kompleks vasitəsi ilə fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 16-30). Wnt-nin birləşməsi β-kateninin stabilliyini və nüvədə yerləşməsinə gücləndirir, o isə birbaşa və ya dolayı yolla TCF transkripsiya faktorunun fəallaşmasını gücləndirir.
- Wnt zülalın qatılığının qradienti planarının regenerasiyası zamanı inkişafın çox mərhələləri üçün, məsələn başın və quyruğun regenerasiyası üçün vacibdir (bax Şəkil 16-31).
- Hedgehog siqnal iki hüceyrə-səth zülalları, Smoothened və Patched zülalları ilə və Cubitus interruptus (Ci) transkripsiya

faktoruna malik olan hüceyrədaxili komplekslə fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 16-33). Ci-nin fəallaşmış forması Hedgehog-un iştirakı ilə əmələ gəlir, repressiya edici Ci fraqmenti Hedgehog olmayanda yaranır. Həm Patched, həm də Smoothened Hedgehoqun Patched-ə birləşməsinə cavab olaraq subhüceyrə lokalizasiyasını dəyişir.

- Onurğalılarda Hh signalının ötürülməsi əsas kirpicikləri və flagelladaxili nəqliyyat zülallarını tələb edir. Hh olmadıqda Patched kipricikli membrana yerləşir, Hh mövcud olduqda isə, Smo kipricigə keçir (bax Şəkil 16-34).
- NF-κB transkripsiya faktoru hüceyrələrin yoluxmaya və iltihaba cavab verməsinə imkan yaradan çox genləri tənzimləyir.
- Stimullaşmamış hüceyrədə NF-κB sitozolda I-κBα inhibitor zülalına birləşmiş vəziyyətdə yerləşir. Çoxsaylı müxtəlif tipli hüceyrəxarici siqnallara cavab olaraq, proteosomlarda I-κBα-nın fosforlaşmadan-asılı olan ubikvitinləşməsi və parçalanması fəal NF-κB-ni azad edir, o isə nüvəyə translokasiya edir (bax Şəkil 16-35a).
- Fəallaşmış IL-1 reseptorla əlaqəli olan poliubikvitinləşmə zənciri TAK1 kinazını onun substratı, I-κB kinazının β subvahidi yaxınlığına gətirən skafoldu əmələ gətirir və bu siqnalın reseptordan NF-κB yolunun sonra gələn komponentlərinə ötürülməsinə imkan yaradır (bax Şəkil 16-35b).

16.7 Zülal Doğranması ilə Nəzarət Olunan Siqnal Yolu: Noç/Delta, SREBP və Alzheimer Xəstəlikləri

Bu bölmədə biz hüceyrəxarici sahədə – çox zaman hüceyrə səthində – zülalın, əsasən *matrisa metalloproteazalar (MMP) ailəsinin* nümayəndələri tərəfindən, daha spesifik olaraq transmembran ADAM (*a-disinteqrin-və-metallotransferaza; disinteqrin* konservativ zülal domenidir, inteqrinlərə birləşərək hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqələrini qırır – bax Fəsil 20) yarımşinifinin nümayəndələri tərəfindən zülal doğranması ilə baş verən siqnal yoluna baxacağıq. Məsələn, *Noç-Delta yolunda*, Noç reseptorun hüceyrəxarici hissəsinin ADAM zülalları ilə kəsilməsinin ardınca Noç-un plazma membranı daxilində fərqli proteaza ilə kəsilməsi və transkripsiya faktoru kimi fəaliyyət göstərən sitoplazmatik domeninin buraxılması baş verir. Bu yol inkişafın gedışı zamanı çox hüceyrə tiplərinin müqəddəratını təyin edir.

Bu fəsilin əvvəlində, biz gördük ki, çoxsaylı boy faktorları tirozinkinaza reseptorları vasitəsi ilə siqnalı verirlər. Çox sayda belə boy faktorları, o cümlədən epidermal boy faktorları (EGF) ailəsinin nümayəndələri membrana-sarınan sələf kimi istehsal olunurlar və yaxındakı (bitişik) hüceyrənin səthindəki EGF reseptora birləşməklə siqnalı verə bilirlər. Bu zülalların metalloproteazalarla kəsilməsi fəal boy faktorlarını hüceyrəxarici mühitə buraxır, onlara imkan verir ki, siqnalı daha uzaqdakı hüceyrələrə (endokrin siqnal) və hətta özlərinin azad olduqları hüceyrəyə də (avtokrin siqnal) verə bilsinlər. Bu prosesə, Noç/Delta siqnal yolundakı proteolitik kəsilmə kimi baş

verən proteolitik doğranma forması daxil olduğundan, biz burda ona da baxacağıq. Sınırlı hüceyrələrinde ekspressiya olunan başqa bir membrana-sarınan zülalın MMP ilə qeyri müvafiq doğranması Alzheimer xəstəliyinin patologiyasında baş verir.

Tənzimlənən zülal doğranması bəzi *hüceyrədaxili* siqnal ötürülməsi yollarında da istifadə olunur. Beləliklə biz müzakirəmizi belə yollardan birinin, xolesterinin aşağı səviyyəsinə cavab olaraq Qolci membranı daxilində transkripsiya faktoru sələfinin membrandaxili kəsilməsinin təsvir olunması ilə yekunlaşdırırıq. Bu yol, hüceyrə membranlarını qurub yaratmaq üçün xolesterin və fosfolipidlərin düzgün tarazlığının saxlanması üçün çox vacibdir (bax Fəsil 7).

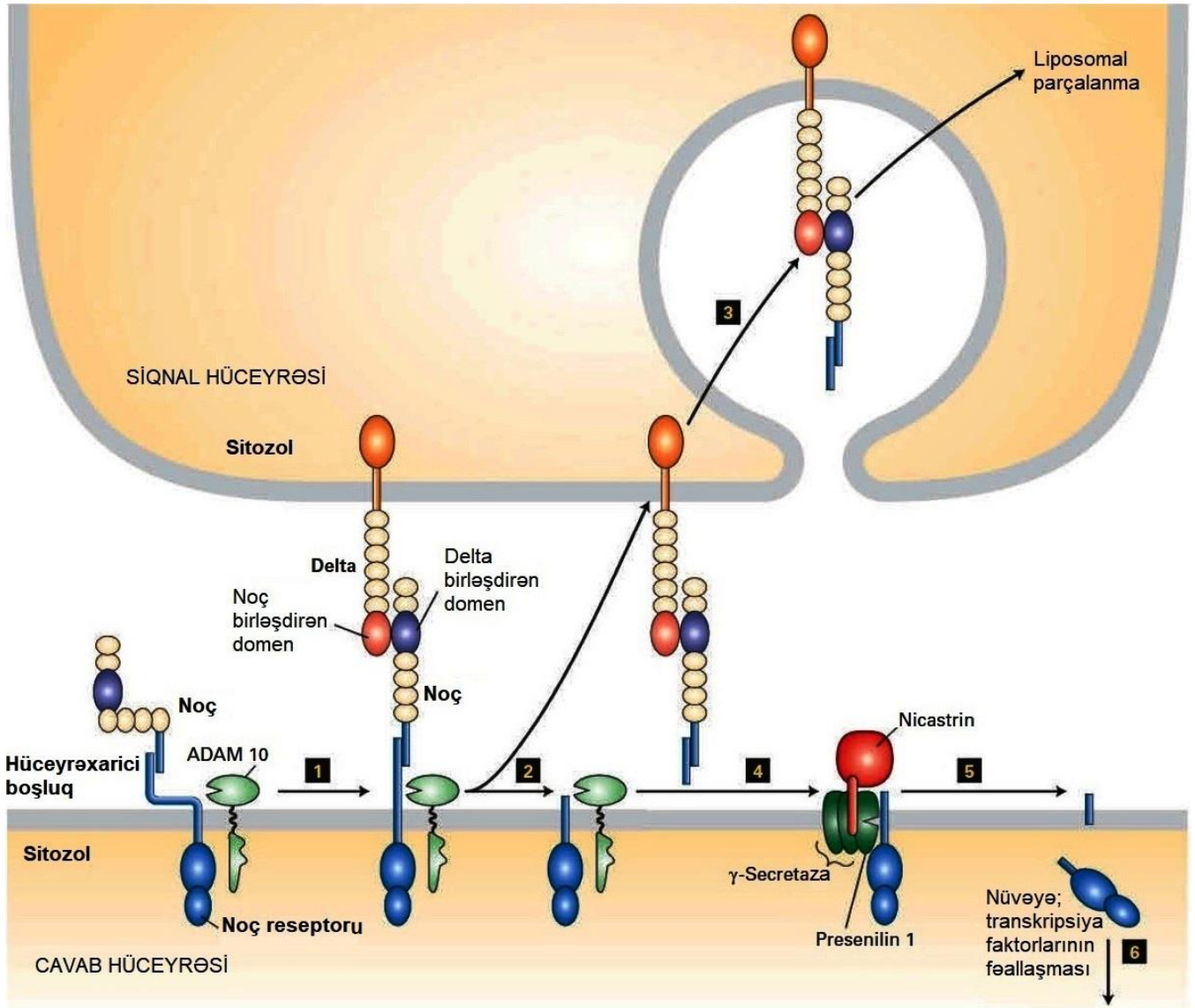
Deltanın Birləşməsi ilə Noç Reseptoru Doğranaraq Transkripsiya Faktoru Komponentini Azad Edir

Həm Noç adlanan reseptor, həm də onun liqandı Delta hüceyrə səthində tapılmış, membranı bir dəfə kəsib keçən transmembran zülallardır. Noç-un başqa liqand ailələri də vardır, amma fəallaşmanın molekulyar mexanizmləri hər bir liqand üçün eynidir. Bir hüceyrədəki Delta (eyni hüceyrədə olmayan) yaxındakı cavab hüceyrədə olan Noç-a birləşir və Noç-u elə fəallaşdırır ki, o iki kəsilmə prosesinə məruz qalır; bu kəsilmələr Noç-un transkripsiya faktoru kimi fəaliyyət göstərən sitozol domeninin buraxılmasına səbəb olur. Noç zülalı endoplazmatik şəbəkədə monomer membran zülalı kimi sintez olunur. Qolci kompleksində proteolitik kəsilməyə məruz qalaraq hüceyrəxarici subvahidi və transmembran-sitozol subvahidini əmələ gətirir, bu iki subvahid bir-biri ilə qeyri kovalent birləşmiş vəziyyətdə olurlar.

ADAM 10, metal-saxlayan fermentlər sinifinin nümayəndəsi olan matrisa metalloproteazadır (MMP), hədəf zülalların hüceyrəxarici seqmentlərini plazma membranı hüceyrəxarici səthi yaxınlığından kəsir. ADAM 10 Noç-un hüceyrəxarici domeninin ilkin doğranmasını yerinə yetirir, amma qonşu bitişik hüceyrədə Delta olmayanda Noç hüceyrəxarici domenə elə bükülür ki, ADAM 10 proteaza kəsilmə saytına çata bilmir (Şəkil 16-36).

Deltanın cavab hüceyrəsindəki Noç zülalına birləşməsinin ardınca siqnal hüceyrəsində Delta endositoza uğrayır. Deltanın siqnal hüceyrəsi daxilində keçməsinə yerinə yetirən qüvvə Noç zülalını dartıb uzadaraq onun konformasiyasını dəyişir və onu Noç hüceyrəxarici domeni kəsib ayıran ADAM 10 proteazası üçün əlçatan edir. Noç-un hüceyrəxarici domeni Deltaya birləşmiş vəziyyətdə qalır, siqnal hüceyrəsi tərəfindən daxilə mənimsənilir və yaqın ki, lizosomlarda parçalanır.

Noç-un ikinci kəsilməsi Noç-un membrana-sarınan hidrofob rayonunda baş verir və *γ-sekretaza* adlanan dörd-zülallı transmembran komplekslə kataliz olunur. Bu kəsilmə Noç-un sitozol domenini azad edir, o isə dərhal nüvəyə translokasiya edir və orada hədəf genin transkripsiyasına təsir edir. Onun təsiri, başqa siqnal yolları ilə fəallaşan başqa transkripsiya faktorlarının təsirində olduğu kimi, xromatin nişanlarının epigenetik vəziyyətindən və hüceyrə-spesifik transkripsiya faktorlarının mövcud olmasından asılıdır.



ŞƏKİL 16-36 Noç/Delta siqnal yolu. Delta olmayanda, cavab verən hüceyrədə Noç-un hüceyrəxarici subvahidi onun transmembran sitozol subvahidi ilə qeyri kovalent birləşir; hüceyrəxarici domen elə bükülür ki, onu ADAM 10 hüceyrə-səthi proteazası kəsə bilmir. Noç yaxında olan bitişik siqnal hüceyrəsindəki öz liqandı Delta ilə birləşəndə (pillə 1), siqnal hüceyrəsi tərəfindən Delta-nın endositozu baş verir, Noç-un hüceyrəxarici domeni Delta ilə elə dartılır ki, membrana birləşmiş vəziyyətdə olan matrisa metalloproteaza ADAM 10 onu kəsə bilir və hüceyrəxarici Noç seqmenti buraxılır (pillə 2). Buraxılmış Noç hüceyrəxarici domen Delta-ya birləşmiş vəziyyətdə qalır və siqnal

Dörd-zülallı γ -sekretaza kompleksi *presenilin 1* (PS1) adlanan əsil proteaza zülalına və üç başqa zəruri subvahidlərə *aph-1*, *pen-2* və *nikastrin*ə malikdir. Hidrofob membrandaxili mühitdə peptid əlqəsinin hidroliz olunmasının necə baş verməsi tam aydın deyil, çünki *presenilin*in molekulyar quruluşu kifayət qədər rezolyusiyada məlum deyil (bax Şəkil 16-37b). Amma buna yaxın olan, doqquz transmembran seqmentlərə malik olan arxeal zülalın molekulyar quruluşu göstərir ki, iki transmembran spiralın sitozol tərəfində bir-birinə çox yaxın yerləşən iki asparat qalığı kataliz üçün çox əhəmiyyətlidir və su ilə əhatə

hüceyrəsi tərəfindən endositoz olunur (pillə 3). Sonra, dörd zülallı γ -sekretaza kompleksinin *nikastrin* subvahidi (qırmızı rənglənmiş) ADAM 10 tərəfindən yaradılmış qalığa birləşir (pillə 4) və sonra proteaza *presenilin 1*, Noç-un sitozol seqmentinin membrandaxili kəsilməsini kataliz edir (pillə 5). Bunun ardınca Noç seqmenti nüvəyə translokasiya edərək genlərin ekspressiyasına təsir etmək üçün bir neçə transkripsiya faktoru ilə əlaqəyə girir, o genlər isə öz növbəsində inkişafın gedişində hüceyrənin müqəddaratının təyin edilməsinə təsir edirlər (pillə 6). Bax D. Seals and S. Courtneidge, 2003, *Gene Dev.* 17:7, və L. Meloty-Kapella et al., 2012, *Dev. Cell* 22:1299.

olunmuşlar, beləliklə bu proteolitik kəsilmə yəqin ki, qismən su mühitində baş verir.

Hüceyrələr üzərində və *nikastrin*dən məhrum olmuş siçan üzərində aparılmış tədqiqatlar aşkar etdi ki, nəyə görə γ -sekretaza yalnız əvvəlcə ADAM tərəfindən və ya matrisa metalloproteazalar tərəfindən kəsilmiş zülalları kəsə bilir. *Nikastrin* membran zülalının birinci proteaza(lar) tərəfindən yaradılmış hüceyrəxarici kəsiyinə birləşir (Şəkil 16-36, pillə 4). Bu kəsik olmadan *nikastrin* və bütün γ -sekretaza kompleksi öz hədəf zülalı ilə əlaqə yarada bilmir. Biz ADAM zülallarının və γ -sekretazanın Alzheimer xəstəliyindəki rolunu aşağıda öyrənirik.

Matrisa Metalloproteazalar Çox Sıqnal Zülallarının Hüceyrə Səthindən Kəsilməsini Kataliz Edir

Çox sıqnal molekulları, sıqnal domeni hüceyrədaxili boşluğa uzanan transmembran zülallar kimi sintez olunurlar. Belə sıqnal zülalları, yuxarıda təsvir olunan Delta kimi, çox zaman bioloji fəal olurlar, amma yalnız qonşu hüceyrənin reseptoruna birləşdikdə sıqnal verə bilirlər. Amma, çox boy faktorları və başqa zülal sıqnalları transmembran sələf zülal kimi sintez olunurlar və onların kəsilməsi (doğranması) həllolan, fəal sıqnal molekulunu hüceyrəxarici boşluğa buraxır. Bu kəsilmə çox zaman, ADAM-la həyata keçirilir. İnsanın genomu ADAM ailəsinə daxil olan 21 metalloproteazanı kodlaşdırır, amma bunlardan yalnız 12-nin katalitik fəallığa malik olması məlumdur, qalanları isə disinteqrinlər kimi fəaliyyət göstərirlər. Çox ADAM-lar sıqnal zülallarının sələfinin məhz transmembran seqmentlərinin xarici membran səthində kəsilməsində iştirak edirlər.



Sıqnal zülalları sələflərinin tənzimlənən kəsilməsinə aid, tibbi cəhətdən çox əhəmiyyətli nümunələr EGF ailəsinin nümayəndələridir – EGF, HB-EGF, TGF- α , NRG1 və NRG2 (bax Şəkil 16-17). Çox xərçənglərdə görüldüyü kimi, bir və ya daha artıq ADAM-ın fəallaşması xərçəng xəstəliyinin inkişafını iki yolla gücləndirir. Birincisi, yüksəlmiş ADAM fəallığı hüceyrəxarici EGF ailəsi boy faktorlarının yüksək səviyyəsinə səbəb olur, bu ifrazat hüceyrələrin özlərinin (avtokrin sıqnal) və ya qonşu hüceyrənin (parakrin sıqnal) arzu olunmayan proliferasiya etməsini stimulaşdırır. İkincisi, hüceyrəxarici matrisanın komponentlərini dağıtmaqla yüksəlmiş ADAM fəallığı güman olunur ki, metastaza – şiş hüceyrəsinin bədənin başqa nahiyəsinə keçməsinə şərait yaradır (bax Fəsil 24). Üçüncüsü, hüceyrəxarici domenin metalloproteazalarla kəsilməsinin ardınca bu sələf zülalların sitozol fraqmentlərinin γ -sekretaza ilə kəsilməsi, Noç hüceyrədaxili domenlərdə olduğu kimi onu azad edir. Bu zülal fraqmentlərinin bir sırası nüvəyə miqrasiya edir və orada, Noç hüceyrədaxili domendəki kimi, çoxalmanı-təşviq edən genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır.

ADAM proteazaları ürək xəstəliklərində də çox əhəmiyyətli faktordur. Keçən fəsildə öyrəndiyimiz kimi, β -adrenergik reseptorların epinefrinlə (adrenalin) stimullaşması ürək əzələsində qlikogenolizə və əzələ yığılmalarının sürətlənin artmasına səbəb olur. Amma, ürək əzələsi hüceyrələrinin epinefrinlə uzunmüddətli işlənilməsi məlum olmayan mexanizmlə ADAM 9-un fəallaşmasına səbəb olur. Bu matrisa metalloproteaza HB-EGF-in transmembran sələfini kəsir. Azad olmuş HB-EGF sonra sıqnal verən ürək əzələsi hüceyrəsində EGF reseptora birləşir və onun qeyri-müvafiq inkişafını (böyüməsini) stimullaşdırır. Belə həddən güclü proliferasiya həddən artıq böyümüş amma zəifləmiş ürəyi əmələ gətirir – bu şərait ürəyin hipertrofiyası kimi məlumdur və erkən ölümə nəticələnə bilər. ■

Amiloid Sələf Zülalın Münasib Olmayan Doğranması Alzheimer Xəstəliyinə Səbəb Olur



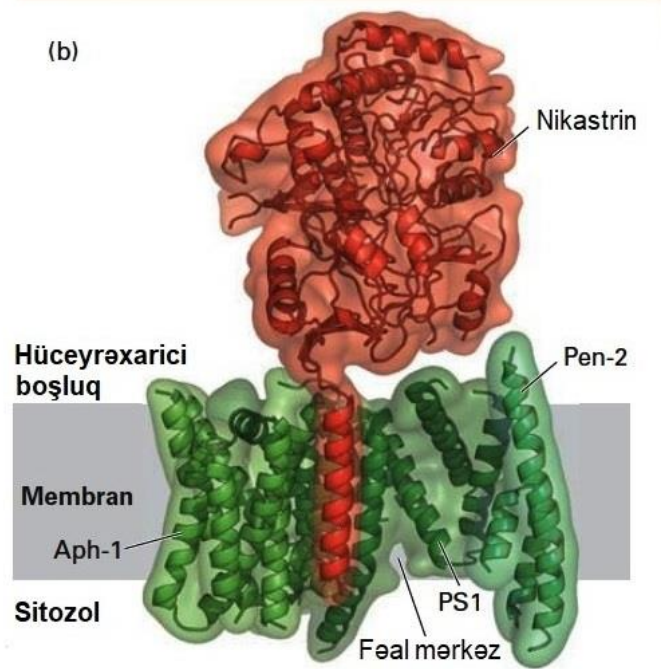
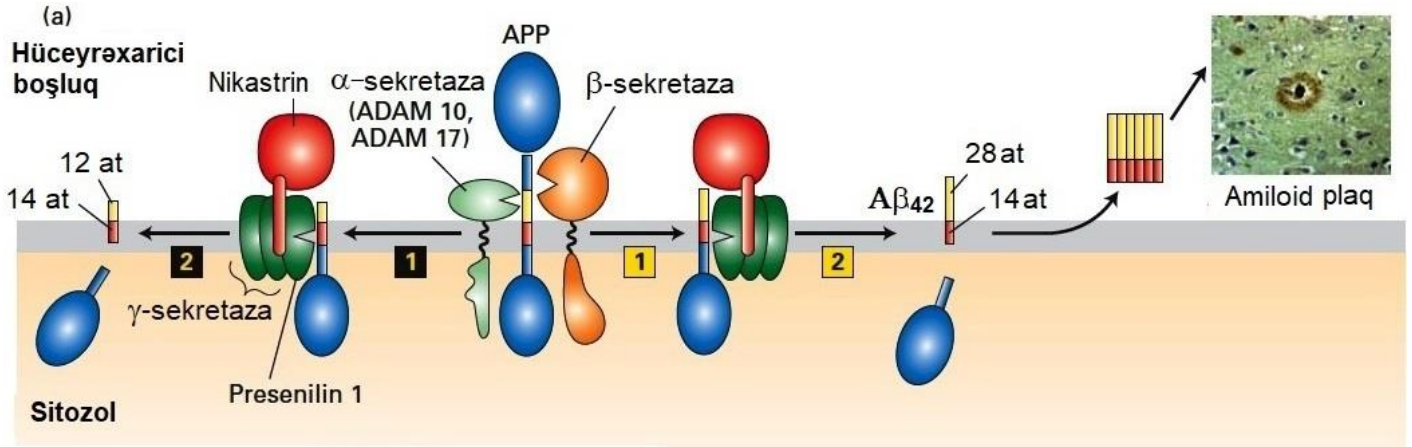
Alzheimer xəstəliyi matrisa metalloproteazaların münasib olmayan fəallığı ilə yaranan başqa bir pozuntudur. Alzheimer xəstəliyi ilə əlaqəli olan əsas patoloji dəyişiklik beyində, $A\beta_{42}$ adlanan 42 qalığa malik olan peptiddən təşkil olunmuş *amiloid lövhələrin* toplanmasıdır. Bu peptid, neyronlar tərəfindən ekspressiya olunur, funksiyası hələ də sırr olaraq qalan transmembran hüceyrə səthi zülalı *amiloid sələf zülalın* (APP) proteolitik doğranması yolu ilə alınır.

Noç zülal kimi, APP bir hüceyrəxarici kəsilməyə və bir membrandaxili kəsilməyə məruz qalır (Şəkil 16-37a), amma bu iki yolla baş verə bilər. Birinci, APP-nin hüceyrəxarici domendəki saytdan ADAM 10 (çox zaman α -sekretaza adlandırılır) kəsir və sonra da γ -sekretaza tək bir membrandaxili saytdan kəsərək APP sitozol domenini azad edir və qismən membrana-batmış vəziyyətdə olan, 26 amin turşusu-uzunluqda peptidi yaradır, bu peptid ziyanlı deyildir. Əksinə, əgər hüceyrəxarici domen əvvəlcə başqa bir saytdan başqa bir fermentlə, β -sekretaza ilə kəsilsə və sonra da eyni membrandaxili saytdan γ -sekretaza ilə kəsilsə o zaman 42 amin turşusu-uzunluqda $A\beta_{42}$ peptidi kimi adlandırılan peptidlər əmələ gəlir. $A\beta_{42}$ spontan şəkildə oliqomerləri əmələ gətirir, sonra da, Alzheimer xəstəliyinə tutulmuş xəstələrin beyində tapılmış, çox böyük amiloid lövhələr (aqreqatları) əmələ gətirir.

Ailə xəstəlik tarixi olan bu xəstələrin kiçik faizinin genetik analizləri göstərdi ki, APP Alzheimer xəstəliyinin əsas əmələ gətiricisidir. Onların çoxunda APP zülalında mutasiya baş vermişdir və qəribədir ki, bu mutasiyalar, Şəkil 16-37a-da göstəriləndiyi kimi α -, β - və γ -sekretazalarla kəsilmə saytları ətrafında toplanmışdır. Alzheimer xəstəliyinin başqa bir ailə nümunəsində, amiloid lövhələrin əmələ gəlməsinə və sonda neyronların ölümünə səbəb olan $A\beta_{42}$ peptidin yaranmasını gücləndirən γ -sekretazanın subvahidi presenillin 1-də missens mutasiya aşkar edilmişdir. ■

SREBP-lərin Tənzimlənən Membrandaxili Proteolizi Fosfolipid və Xolesterinin Səviyyəsinin Saxlanmasına Təsir edən Transkripsiya Faktorunu Buraxır

Hərçəndki bu fəsildə diqqət hüceyrəxarici molekullar (məsələn, boy faktorları) tərəfindən inisiyasiya olunan sıqnal yoluna yönəldilmişdir, daxili molekulların səviyyəsini hiss edən və buna uyğun olaraq cavab verən hüceyrədaxili sıqnal yollarının hamısı, bəzi hallarda molekulyar tənzimlənmənin prinsiplərini və hətta yolun hüceyrə xaricindən ingibirləşməsi mexanizmini bölüşürlər. Belə hallardan biri hüceyrə membran lipidlərinin nəzarətidir. Əgər hüceyrə adekvat miqdarda membran yaratmaq üçün kifayət qədər fosfolipidə malik olmazsa və ya kristallaşaraq hüceyrəni zədələyə bilən həddən artıq miqdarda xolesterinə malik olarsa (bax Fəsil 7) o zaman hüceyrə tezliklə böhranda olacaq. Hüceyrələr öz membranlarında xolesterin və fosfolipidlərin nisbi miqdarını hiss edirlər, onlar xolesterin biosintezinin və importunun dərəcəsini nizamlamaqla buna cavab verirlər, beləliklə xolesterin:fosfolipid nisbəti arzu olunan həddə saxlanılır. *Tənzimlənən membrandaxili proteoliz* xolesterinin dəyişən səviyyəsinə qarşı belə hüceyrə cavablarında əhəmiyyətli rol oynayır.



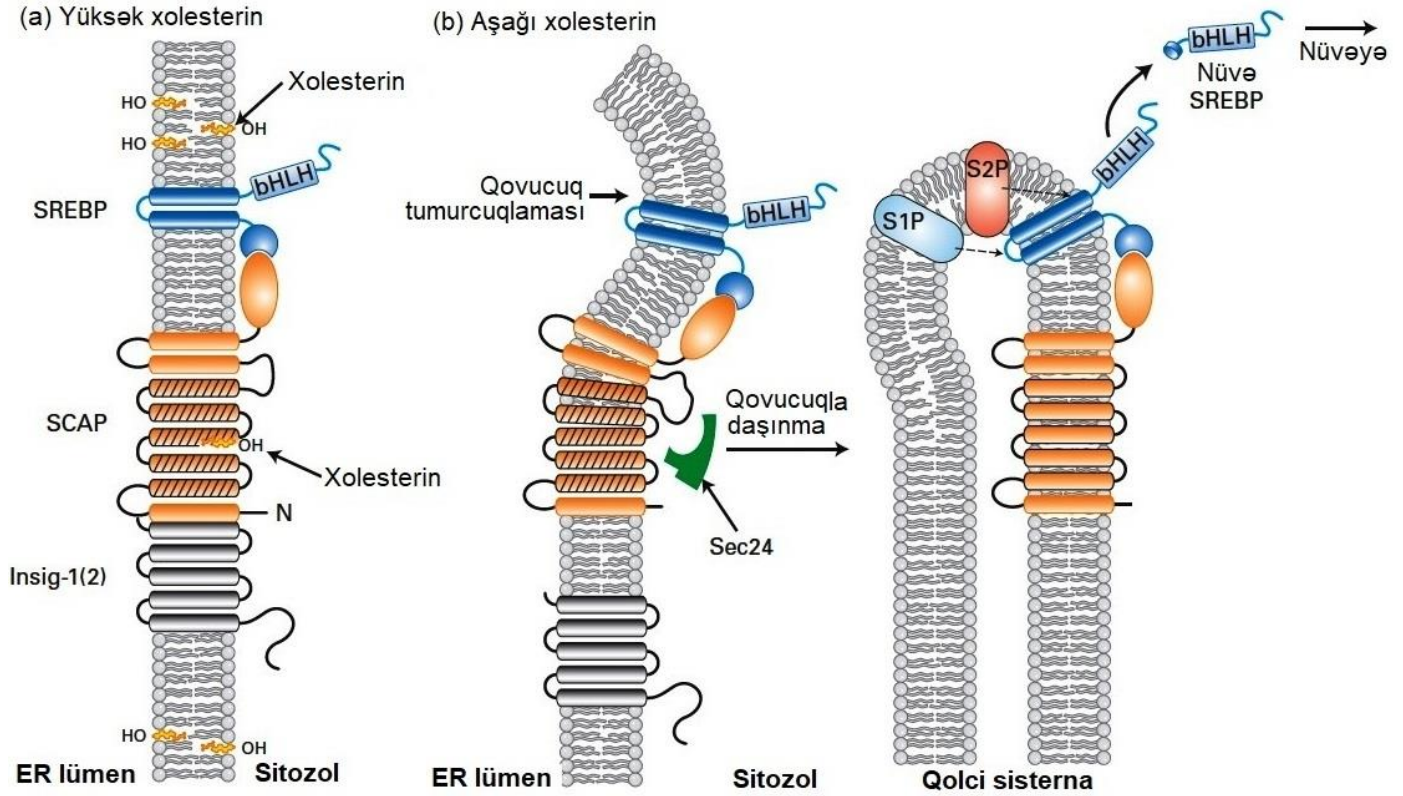
ŞƏKİL 16-37 APP-nin proteolitik kəsilməsi və Alzheimer xəstəliyi. (a, solda) α -sekretaza (ADAM 10 və ya ADAM 17) ilə (1) və γ -sekretaza ilə (2) ardıcıl proteolitik kəsilmə 26 amin turşusundan ibarət olan zişansız membrana-batmış peptidi istehsal edir. (Sağda) β -sekretazanın hüceyrəxarici domeninin kəsilməsinin (1) ardınca γ -sekretaza ilə membran daxilində kəsilmənin (2) baş verməsi 42 qalıqdan ibarət olan $A\beta_{42}$ peptidi əmələ gətirir, o isə spontan şəkildə oliqomerləri və sonra da Alzheimerə tutulmuş xəstələrin beynində tapılmış böyük amiloid lövhələri əmələ gətirir. Hər iki yolda, APP-nin sitozol seqmenti sitozol daxilində buraxılır, amma onun funksiyası hələ məlum deyil. Bax S. Lichthenthaler and C. Hass, 2004, *J.Clin.Invest.* **113**:1384 və V. Wilquet and B. De Strooper, 2004, *Cur. Opin. Neurobiol.* **14**:582. İnsət ISM/Phototake. (b) İnsanın γ -sekretazasının üç-ölçülü quruluşu 0.45 nm rezolyusiyaya ilə. O ümumilikdə 19 transmembran seqmentə və böyük hüceyrəxarici domənə, nikastrinə malikdir. PS1-də proteaza katalitik mərkəzi sitozol səthinə yaxın yerləşir. Bax, P. Lu et al., 2014, *Nature* **512**:166. [(a) hissə müəllif hüququ © Pr. J. J. Hauw/ISM/Phototake. (b) hissə verilənlər L. Sun et al., 2015, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**:6003-dan, PDB ID 4uis.]

Bizim Fəsil 14-də öyrəndiyimiz kimi, aşağı-sıxlıqlıq lipozülalları (LDL) xolesterinlə zəngindirler və bu lipidin su tərkibli dövşədici sistemlə daşınmasında fəaliyyət göstərirlər (bax Şəkil 14-27). Həm xolesterinin biosintez yolu (bax Şəkil 7-26), həm də hüceyrənin LDL udmasını həyata keçirən, LDL reseptorlarının hüceyrədə səviyyəsi, hüceyrədə xolesterinin səviyyəsi adekvat olanda azalan istiqamətdə tənzimlənir. LDL reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə hüceyrə daxilinə import olduğundan (bax Şəkil 14-29) LDL reseptorların sayının azalması xolesterinin hüceyrəyə importunun azalması ilə nəticələnir.

Həm xolesterinin sintezi, həm də xolesterinin importu gen transkripsiyası səviyyəsində tənzimlənir. Məsələn, kultura olunan hüceyrələr çoxalarkən hüceyrənin davamlı bölünməsi üçün yeni membrana ehtiyacı olanda kənardan verilən xolesterin mənbəyi ilə, məsələn kultura olunan mühitə LDL əlavə olunması ilə inkubasiya olunur, xolesterinin biosintezində reaksiya-sürətinə nəzarət edən ferment HMG-CoA reduktazının səviyyəsi və fəallığı supresiya olunur. Əksinə, xolesterini

əfirləşmiş ehtiyat formasına çevirən asil:xolesterin asil transferazının (ACAT) fəallığı artır. Beləliklə enerji lazımsız əlavə xolesterini düzəltməklə boş yerə sərf olunmur və xolesterinin homeostazı əldə olunur.

Ekspressiyası xolesterin kimi sterolların səviyyəsi ilə tənzimlənən genlər çox hallarda promotorlarında bir və ya daha artıq 10-əsas-cütlü *sterol-tənzimləyici elementlərə* (SRE) və ya SRE yarım-saytlara malik olurlar. (Bu SRE-lər, 16.4 bölməsində müzakirə olunan erkən cavab genlərini nizmləyən serum-cavab-elementlərindən (SRE) fərqlənirlər). **SRE-birləşdirən zülalları (SREBP)** adlanan, xolesterindən asılı olan transkripsiya faktorlarının bu cavab elementləri ilə qarşılıqlı əlaqəsi hədəf genlərin ekspressiyasını modulyasiya edir. Hüceyrələr nə qədər xolesterinə malik olduqlarını necə hiss edirlər və bu siqnaillər nüvədə SREBP-lərin səviyyəsinə və beləliklə də gen ekspressiyasına nəzarət olunmasında necə istifadə olunurlar? SREBP vasitəsilə gedən siqnal yolu endoplazmatik şəbəkənin (ER) membranlarından başlayır və SREBP-dən başqa ən azı iki digər zülal da burada iştirak edir.



ŞƏKİL 16-38 SREBP-in fəallaşmasına xolesterindən asılı olan nəzarət. Hüceyrənin xolesterin ehtiyatına insig-1(2) və SCAP-ın birgə (kombinasiyalı) fəaliyyəti ilə nəzarət olunur, hər iki transmembran zülal ER membranında yerləşir. SCAP-ın 2-6-cı membrana sarınan spiralları (qara xətlərlə narıncı) sterol-birləşən domenə əmələ gətirir və C-sonluq seqmenti SREBP-ə birləşir. (a) Xolesterinin səviyyəsi yüksək olanda, yəni ER xolesterini ümumi ER lipidlərinin 5 faizindən artığını təşkil edəndə xolesterin SCAP-da sterola-həssas domenə birləşir. N-sonluq SCAP domeninin insig-1(2) ilə birləşməsinə mümkün edən konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, SCAP-SREBP kompleksini ER membranına lövbər edir. (b) xolesterinin aşağı səviyyəsində xolesterin sterola-həssas SCAP domendən dissosiasiya edir, geriye konformasiya

dəyişikliyinə səbəb olur, bu zaman, SCAP-ı insig-1(2)-dən dissosiasiya edir və SCAP-ın COPII kompleksinin subvahidi Sec24 ilə birləşməsinə imkan yaradır (bax Şəkil 14-28). Bu birləşmə, SCAP-SREBP kompleksinin qovucuqlarla daşınma yolu ilə Qolci kompleksinə keçməsinə inisiyasiya edir. Qolcidə SREBP-in 1 və 2-ci saytlardan proteazalarla (S1P, S2P) ardıcıl kəsilməsi ilə SREBP-in N-sonluq bHLH domeni buraxılır. Bundan sonra, nüvə SREBP-i adlanan (nSREBP) buraxılan domen nüvəyə translokasiya olunur, promotorida sterol tənzimləyici elementə (SRE) malik olan genlərin transkripsiyasına nəzarət edir. Bax A. Radhakrishnan, 2008, *Cell Metab.* 8:451 və M. Brown and J. Goldstein, 2009, *J. Lipid Res.* 50:515.

Hüceyrələr adekvat qatılıqda xolesterinə malik olanda, SREBP SCAP-la (SREBP kəsilməni-fəallaşdırıcı zülal), insig-1 ilə (və ya onun yaxın homoloqu insig-2 ilə) və yəqinki başqa zülallarla olan kompleksdə ER membranında tapılmışdır (Şəkil 16-38a). SREBP üç fərqli domenə malikdir: N-sonluq sitozol domeni əsas spiral-İlgək-spiral (basic helix-loop-helix - bHLH) DNT birləşdirən motifə (bax Şəkil 9-30d) malik olub SREBP-in qalan hissəsindən kəsilib ayrıldıqdan sonra transkripsiya faktoru kimi fəaliyyət göstərir; iki transmembran α spirala malik olan membrana lövbər edən mərkəzi domen; C-sonluq sitozol tənzimləyici domen. SCAP səkkiz transmembran α spirala və SREBP-in tənzimləyici domeni ilə əlaqəyə girən çox böyük C-sonluq sitozol domeninə malikdir. SCAP-da transmembran α spiralların beşi HMG-CoA reduktazadakına oxşar olan *sterola-həssas domen* əmələ gətirir (Şəkil 16-38a; bax Bölmə 7.3). SCAP-da sterola-həssas domen xolesterinə birləşəndə zülal həm də insig-1(2)-yə birləşir. Insig-1(2) möhkəm şəkildə SCAP-

xolesterin kompleksinə birləşəndə, o SCAP-ın COPII qovucuğun Sec24 qabıq zülal subvahidinə birləşməsinə blok edir, bununla da SCAP-SREBP kompleksini ER-dən-Qolciyə daşınan qovucuğa birləşməsinə (inkorporasiyasına) mane olur (bax Fəsil 14). Bu, ER membranında xolesterinin qatılığı ümumi ER membran lipidlərinin miqdarının 5 faizindən artığını təşkil etdikdə baş verir. Beləliklə, insig-in SCAP-xolesterin-SREBP kompleksinə xolesterindən-asılı olan birləşməsi bu kompleksi ER-də tələyə salır.

Hüceyrədə xolesterinin səviyyəsi ümumi ER lipidlərinin 5 faizindən aşağı endikdə xolesterinə birləşmiş SCAP buraxılır, bu qiymət ümumi hüceyrə xolesterinin səviyyəsinin əks etdirir. Bu səbəbdən, insig-1(2) artıq xolesterindən-azad SCAP-a birləşmir və SCAP-SREBP kompleksi COPII qovucuqlar vasitəsi ilə ER-dən Qolci aparatına keçir (Şəkil 16-38b). Qolcidə SREBP iki saytdan membrana birləşmiş iki proteaza S1P və S2P vasitəsi ilə ardıcıl olaraq kəsilir; S2P ilə kəsilmə tənzimlənən

membrandaxili proteolizin əlavə bir nümunəsidir. Sayt 2-də ikinci kəsilmə N-sonluq bHLH-a malik olan domeni sitozola buraxır. *nSREBP* (nüvə *SREBP*-i) adlanan bu fraqment dərhal nüvəyə translokasiya edir. Orada o, LDL reseptorları və HMG-CoA reduktazını kodlaşdıran genlər kimi promotorunda *sterol-tənzimləyici elementlərə (SRE)* malik olan genlərin transkripsiyasını tənzimləyir. Beləliklə, *insig-1(2)/SCAP/SREBP* yolu vasitəsi ilə hüceyrə xolesterində azalma (reduksiya) xolesterini hüceyrə daxilinə import edən zülalları (LDL reseptor) və kiçik sələf molekulardan xolesterini sintez edən zülalı (HMG-CoA reduktaza) kodlaşdıran genlərin ekspressiyasına səbəb olur.

Qolcida SREBP kəsildikdən sonra, göründüyü kimi SCAP geriyə ER-ə təkarar istifadəyə dönür və orada yenidən *insig-1(2)* və digər intact SREBP molekulaları ilə əlaqəyə girir. SRE-nəzarət olunan genlərin yüksək səviyyədə transkripsiyası yeni nSREBP-in yaradılmasını tələb edir, çünki o ubikvitinləşmiş proteosomal yolla kifayət qədər sürətlə parçalanır (bax Fəsil 3). SREBP-in sürətli yaranması və parçalanması hüceyrələrə hüceyrədaxili xolesterinin səviyyəsinin sürətli dəyişməyə kömək edir.

Bəzi şəraitlərdə (məsələn, hüceyrənin böyüməsi zamanı) hüceyrələr bütün vacib membran lipidlərinin və onların yağ turşusu sələflərinin təmin olunmasını tələb edir (koordinasiya olunan tənzimlənmə). Amma, bəzən hüceyrələrə, steroid hormonları istehsal etmək üçün xolesterin kimi bəzi lipidlərdən başqaları, məsələn fosfolipidlər nisbətən daha böyük miqdarda lazım olur (differensial tənzimlənməni tələb edir). Belə differensial istehsal necə əldə olunur? Məməlilər SREB-in üç izoformasını ekspressiya edir: eyni gendən alternativ RNT splyasinqi yolu ilə sintez olunan SREB-1a və SREB-1c, başqa genlə kodlaşdırılan SREB-2. Bu membrandaxili-kəsilmə ilə fəallaşan transkripsiya faktorları birlikdə tək xolesterinin deyil həmçinin yağ turşuları və triqliseridlərin və yağ turşularından əmələ gələn fosfolipidlərin mümkün olmasını tənzimləyən zülalların ekspressiyasına nəzarət edirlər. Məməlilərin hüceyrələrində SREBP-1a və SREBP-1c xolesterin metabolizminə nisbətən yağ turşusu metabolizminə daha güclü təsir göstərdikləri halda, SREBP-2 üçün bunun əksi olur.

16.7 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Zülal Doğranması ilə Nəzarət Olunan Sıqnal Yolu: Noç/Delta, SREBP və Alzheimer Xəstəlikləri

- Bir çox əhəmiyyətli boy faktor və EGF kimi başqa sıqnal zülalları transmembran zülallar kimi sintez olunurlar, sıqnal uzaqdakı hüceyrələrə vermək üçün bu sələf zülalların membran yaxınlığında matrisa metalloproteazalar (MMP) ailəsi vasitəsi ilə tənzimlənən şəkildə kəsilməsi fəal molekulu hüceyrəxarici mühitə buraxır.
- Yaxındakı hüceyrə səthində olan öz liqandı Deltaya birləşməklə Noç reseptor zülalı iki proteolitik kəsilməyə məruz qalır (bax Şəkil 16-36). Noç-un azad olan sitozol seqmenti sonra nüvəyə translokasiya edir və inkişafın gedində hüceyrə müqəddaratının təyin edilməsində hədəf genlərin transkripsiyasını modulyasiya edir.
- EGF ailəsi sıqnal molekulalarının membrana birləşmiş sələflərinin kəsilməsi ADAM metalloproteazalarla kataliz

olunur. Bu sələflərin münasib olmayan kəsilməsi qeyri normal hüceyrə proliferasiyasına səbəb olur və potensial xərcəng, ürək hipertrofiyası və başqa ağır xəstəliklərlə nəticələnir.

- Noç-un tənzimlənən membrandaxili proteolizini kataliz edən γ -Sekretaza həmçinin amiloid sələf zülallarının (APP), Alzheimer xəstəliyi üçün xarakterik olan amiloid lövhələrini əmələ gətirən kiçik peptidlərə kəsilməsində iştirak edirlər (bax Şəkil 16-37).
- Hüceyrədə xolesterinin miqdarı aşağı olanda *insig-1(2)/SCAP/SREBP* yolunda fəal nSREBP transkripsiya faktoru membrandaxili proteoliz vasitəsi ilə Qolci membranından azad olur (bax Şəkil 16-38). O sonra, xolesterinin biosintezində iştirak edən (məsələn, HMG-CoA reduktaza) və xolesterini hüceyrədən import edən (məsələn, LDL reseptor) zülalları kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını stimullaşdırır. Xolesterin yüksək olanda, SREBP ER membranında *insig-1(2)* və SCAP ilə bir kompleksdə qalır (bax Şəkil 16-38).

16.8 Hüceyrə Cavablarının Müxtəlif Sıqnal Yollarında İnteqrasiyası: İnsulinin Təsiri

Biz Fəsil 15-ə girişdə qeyd etdik ki, eyni hormon çox hallarda spesifik fizioloji cavabları koordinasiya etmək üçün bədənin bir sıra müxtəlif hüceyrə tiplərində fəaliyyət göstərirlər. Həmçinin, orqanizmdə hər bir hüceyrə öz səthində və sitozolunda çox hormon tiplərinin reseptorlarına malik olur, müxtəlif hormonlar bu reseptorlara birləşməklə oxşar və ya fərqli hüceyrə cavablarını induksiya edə bilirlər. Bu bölmədə biz çoxsaylı hormonların və sıqnal ötürən yolların bir-biri ilə necə əlaqədə olmasına baxacağıq, diqqətimizi çoxsaylı əhəmiyyətli fizioloji nəzarət sistemlərindən birinin tənzimlənməsinə: – bədənin qlükoza və yağ turşuları metabolitlərinə olan ehtiyacını ödəmək üçün tənzimləməyə yönəldəcəyik. Bu yollardakı qüsurlar əsas xəstəliklərin, o cümlədən diabetin, ürək-damar xəstəliklərinin yaranmasına aparır, şişmanlıq (piylənmə) özlüyündə fərd üçün və getdikcə bütün insanların sağlamlığı üçün ağır nəticələr verə bilən bu və başqa xəstəliklərin yaranmasına səbəb olur.

Başqa qidalandırıcıların və oksigenin dəyişilməsinə gen ekspressiyasındakı dəyişikliklərlə əks olunan hüceyrə cavabı Fəsil 9-də verilmişdir.

Qanda Şəkərin Miqdarını Stabil Saxlamaq Üçün İnsulin və Qlükoqon Birgə İşləyir

Gündəlik normal yaşayış zamanı qanda qlükozanın normal qatılığının saxlanması, mədəalti vəzin ayrı-ayrı adacıq hüceyrələrində sintez olunan və fərqli hüceyrə cavablarında meydana gələn iki peptid hormonu - insulin və qlükoqon arasındakı tarazlıqdan asılıdır. Qanda qlükozanın səviyyəsini aşağı salan insulin disulfid rabitələri ilə bir-biri ilə əlaqəli olan iki polipeptid zəncirdən təşkil olunmuşdur və adacıqdakı β hüceyrələr tərəfindən sintez olunur (bax Şəkil 14-23 və 14-24). Monomer peptid olan qlükoqon isə α adacıq hüceyrələrdə sintez olunur və qanda qlükozanın miqdarının *qaldırır*. Qanda qlükozanın əldə oluna bilməsi onun zənginliyi (qidalanmadan

sonra və qıtlığı (ac qalmaqdan sonra) dövründə qanda insulinin və qlükaqonun qatılığının nizamlanması ilə tənzimlənir.

Burada bizim diqqətimiz, qanda qlükozanın səviyyəsini bir neçə yolla aşağı salan əsas hormon insulinə yönələcək:

- İnsulin bir neçə saniyə ərzində qlükozanın qandan əzələlərə və piy hüceyrələrinə sorulmasını yüksəltməsinə induksiya edir, əsasən də plazma membranında GLUT4 qlükoza daşıyıcılarının sayını artırmaqla (bax Şəkil 16-40 aşağıda).
- Saniyələrdən dəqiqəyə qədər müddətdə insulin qaraciyərdə qlükozadan qlükogenin sintezini induksiya edir.
- Uzun zaman müddətində insulin qaraciyərdə qlükozanın kiçik metabolitlərdən sintezini, qlükoneogenez adlanan prosesi kataliz edən fermentlərin sintezini ingibirləşdirərək fəaliyyət göstərir.
- İnsulin adipositlərin törədici əcdad hüceyrələrdən əmələ gəlməsini gücləndirir, bədənin triqliseridlər şəkilində ehtiyat saxlanan yağ turşularının miqdarını artırır.
- İnsulin mədəaltı adacıqlarda qlükogen sintezini ingibirləşdirmək üçün yaxınlıqdakı α hüceyrələrə təsir edir.

Qanda qlükozanın aşağı düşməsi mədəaltı α hüceyrələrdən qlükogenin azad olmasına stimullaşdırır. Epinefrin reseptor kimi, ilkin olaraq qaraciyər hüceyrələrində tapılmış qlükaqon reseptor, effektor zülalı adenilil tsiklaza olan G_{as} zülalla cütləşir. Qlükaqonun bu reseptora birləşməsi cAMP-nin səviyyəsini qalxmasını induksiya edir, proteinkinaza A-nın fəallaşmasına səbəb olur, o isə qlükogen sintezini ingibirləşdirir və qlükogenolizi gücləndirir, qlükoza 1-fosfatı əmələ gətirir (bax Şəkillər 15-28a və 15-35b). Qaraciyər hüceyrələri qlükoza 1-fosfatı qlükozaya çevirir və qana buraxır, beləliklə qanda qlükozanın səviyyəsini qaldıraraq onu normal pəhriz səviyyəsinə çatdırır.

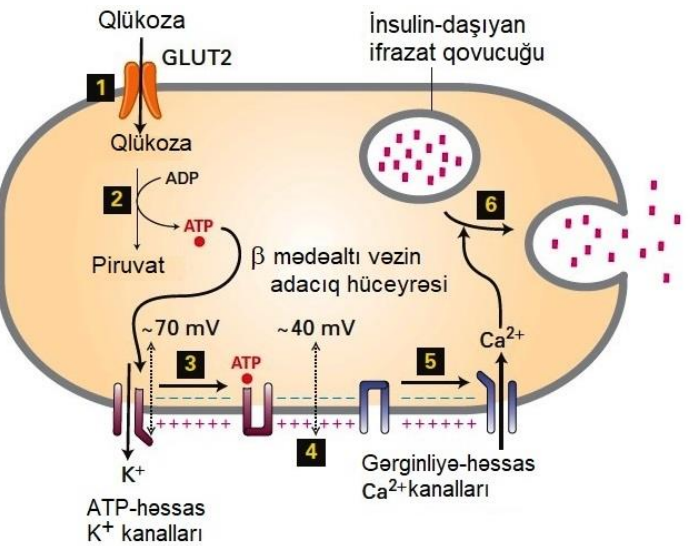
qlükozanın (və bununla yanaşı amin turşularının) səviyyəsini qalxmasına cavab verirlər (Şəkil 16-39). Biz Fəsil 14-də gördük ki, bu hüceyrələr insulinin dehidrasiya olunmuş şəkildə, təxminən kristali şəkildə ifrazat qovucularında saxlayırlar, bütün tənzimlənən ifrazat yollarında olduğu kimi, ifraz olunma sitozolda Ca^{2+} səviyyəsini qalxması ilə işə düşür. İnsulinin ifraz olunması hüceyrəxarici qlükozanın yüksəlməsi ilə başlayır, o isə qlükozanın hüceyrəyə daxil olması sürətinin və müvafiq olaraq qlükolizin sürətinin mütənasib artmasına səbəb olur. Nəticədə sitozolda ATP qatılığının artması β hüceyrələr üçün unikal olan ion kanallarının – ATP ilə nizamlanan K^+ kanallarının – bağlanması səbəb olur, K^+ ionlarının hüceyrədən kənara axmasının qarşısı alınır. Nəticədə plazma membranında baş verən depolyarlaşma gərginliyə-həssas Ca^{2+} kanallarının açılmasına, sitozolda Ca^{2+} artmasına və insulinin ifraz olunmasına səbəb olur.

Piy və Əzələ Hüceyrələrində İnsulin GLUT4 Qlükoza Daşıyıcısı Olan Hüceyrədaxili Qovucuqları Plazma Membranına Qovuşdurur

Buraxılan insulin qanla bədəndə dövrə edir və çoxsaylı müxtəlif tipli hüceyrələrdə, o cümlədən əzələ və piy hüceyrələrində olan insulin reseptoru ilə birləşir. Tirozinkinaza reseptoru olan insulin reseptoru bir neçə siqnal ötürülməsi yollarını, o cümlədən proteinkinaza B-nin (PKB, bax Şəkil 16-29) fəallaşmasına səbəb olan siqnal yolunu fəallaşdırır. Bu halda, PKB siqnal yolunun əsas fəaliyyəti – qandan qlükozanın sorulmasının artması dəqiqələr müddətində baş verir. Qlükozanın sorulması qlükozanın istifadəsində sürətməhdudlaşdırıcı mərhələ olduğundan bu fəaliyyət qanda qlükozanın səviyyəsini kəskin azalması ilə nəticələnir.

ŞƏKİL 16-39 Qanda qlükozanın artmasına cavab olaraq insulinin ifraz olunması. Qlükozanın mədəaltı vəzin β hüceyrələrinə daxil olması GLUT2 qlükoza daşıyıcısı vasitəsi ilə həyata keçirilir (pillə 1). GLUT2-nin qlükoza üçün K_m qiyməti 20 mM olduğundan, hüceyrəxarici qlükozanın pəhriz dövrünə xarakterik olan 5 mM-dan yuxarı qalxması, qlükozanın daxil olması sürətində mütənasib artmaya səbəb olur (bax Şəkil 11-4). Beləliklə, qlükozanın piruvata çevrilməsi sürətlənir, ATP-nin sitozolda qatılığının artması ilə nəticələnir (pillə 2). ATP-nin β hüceyrələrdə ATP-yə həssas K^+ kanallarına birləşməsi bu kanalları bağlayır (pillə 3), beləliklə hüceyrədən K^+ ionlarının çıxmasına mane olur. Nəticədə plazma membranının əmələ gələn kiçik depolyarlaşması (pillə 4) gərginliyə-həssas Ca^{2+} kanallarının açılmasına səbəb olur (pillə 5). Ca^{2+} ionlarının daxilə axması sitozol Ca^{2+} qatılığını artırır, insulinə-malik olan qovucuqların hüceyrələrin plazma membranı ilə qovuşmasına və insulinin ifraz etməsinə səbəb olur (pillə 6). Bax J.Q. Henquin, 2000, *Diabetes* 49:1751.

Bədənin əksər hüceyrələrində olduğu kimi, piy və əzələ hüceyrələrinin plazma membranları, hüceyrəyə onun əsas metabolik tələbatı üçün lazım olan kifayət qədər qlükozanı import etməsinə imkan verən GLUT1 qlükoza daşıyıcısına malikdirlər. Piy və əzələ hüceyrələri həmçinin insulinə reaksiya verən böyük miqdarda qlükoza daşıyıcısı GLUT4 ekspressiya edir, sakitlikdə olan (stimullaşmamış) hüceyrələrdə GLUT4-ün hamısı sitozolda kiçik qovucuqlarda yerləşirlər (Şəkil 16-40).



Qanda Qlükozanın Artması İnsulinin β Adacıq Hüceyrələrdən İfraz Olunmasını İşə Salır

Yeməkdən sonra, qanda qlükoza 5 mM normal səviyyəsindən yuxarı qalxanda mədəaltı β hüceyrələr insulinin qana buraxmaqla

Bəzi GLUT4-lər endosomlarda olduğu halda, əksəriyyəti GLUT4 saxlama qovucuqları (GSV) adlanan kiçik unikal orqanoidlərdə yerləşir. Bu qovucuqlarda GLUT4-ün çoxu, TUG adlanan zülallər vasitəsilə Qolci kompleksini əhatə edən spirallaşmış-spiral zülallarının şəbəkəsi olan Qolci matrisasına bağlanmışdır.

İnsulin reseptor PI-3 kinaza/PKB yolunu fəallaşdırmaqdan başqa, bir sıra digər hədəf zülalları da fosforlaşdırır. Bu siqnal birlihdə GLUT4 saxlayan qovucuqların plazma membranına doğru hərəkətinə və sonra da bu qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasına səbəb olur. Nəticədə, hüceyrə səthində GLUT4 molekullarının sayının dərhal 10 dəfə artması qlükozanın hüceyrəyə daxil olmasını mütənəşib olaraq artırır və qanda qlükozanın miqdarını azaldır (Şəkil 16-40b).

- Yalnız indi tam aydınlaşdırılmışdır ki, insulinin siqnal ötürülməsi yolu ilə işə düşməsi TUG-un sayt-spesifik endoplazmatik dođranmasını kataliz edən proteazaların fəallaşması, N-sonluq GLUT4-birləşdirən seqmentin zülalın Qolci matrisasına qoşulmuş qalan hissələrindən ayrılmasıdır. Bu dođranma GLUT4 qovucuqlarının plazma membranına girməsinə imkan verir.

- Xatırladaq ki, müəyyən monomer GTP-birləşdirən zülallar hüceyrədaxili nəqliyyat qovucuqlarının tumurcuqlaması üçün vacibdirlər (məsələn, Sar zülallar, bax Şəkil 14-6 və 14-8), Rab-lar kimi başqaları qovucuqların qovuşması üçün vacibdir (bax Şəkil 14-10). PKB iki GAP zülalı, AS160 və RGC-i fosforlaşdırır və bununla da onları *fəalsızlaşdırır*. Bu GAP-lar stimullaşmamış bazal vəziyyətdə Rab zülalının funksiyasını onların GTP hidrolizi sürətini artırmaqla ingibirləşdirir və beləliklə, GLUT4 saxlanılan qovucuqların plazma membranına tərəf hərəkət etməsinə və ona qovuşmasına mane olur. Bu GAP-ların ingibirləşməsi piy və əzələ hüceyrələrində bu monomer GTP-birləşdirən zülalların fəal GTP-birləşən vəziyyətdə toplanmasına imkan yaradır. Bu zülallar GLUT4 yolunu bir neçə mərhələdə, o cümlədən GLUT4 saxlanılan qovucuqların mikroborucuqlar boyu hüceyrə səthinə daşınmasını və eqzosistlə birlihdə (bax Fəsil 14) bu qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasını kataliz edir (bax Şəkil 16-40).

Qanda qlükozanın səviyyəsi düşən kimi, insulinin ifraz olunması və onun qanda səviyyəsi azalır, insulin reseptoru işə

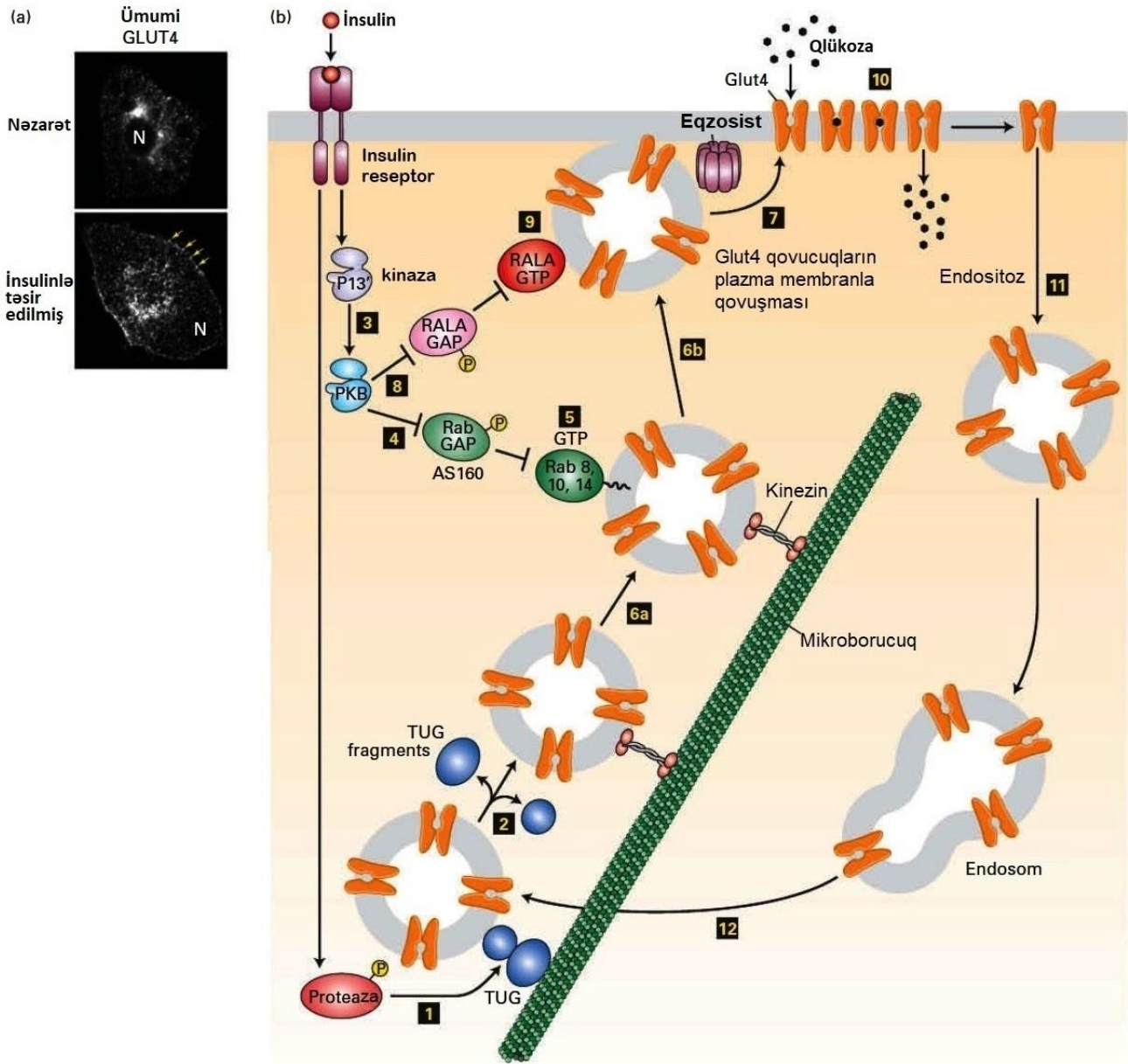
artıq əvvəlki kimi güclü fəallaşmır. Piy və əzələ hüceyrələrində plazma-membranında GLUT4 endositoz yolu ilə daxilə mənimsənilir və hüceyrədaxili membranda saxlanılır, hüceyrə-səthi GLUT4 səviyyəsi aşağı enir və beləliklə, qlükozanın importu azalır.

İnsulin Qlükoza Sintezini İngibirləşdirir və Qlükozanın Qlikogen kimi Saxlanılmasını Gücləndirir

Əzələ hüceyrələrinin insulinlə stimullaşması dəqiqələr ərzində qlükozanın qlikogenə çevrilməsini gücləndirir və siqnal yolunda insulin reseptoru ilə fəallaşan PKB yenidən son dərəcə əhəmiyyətli rol oynayır. Fəal PKB GSK3-ü (Wnt və Hedgehog yolunda iştirak edən eyni ferment) fosforlaşdırır. İnsulinlə-stimullaşmayan (sakitlihdə olan) hüceyrələrdə GSK3 qlikogen sintezini fosforlaşdırır və beləliklə onun fəallığını ingibirləşdirir. Əksinə, insulinlə-təsir edilən əzələlərdə GSK3 PKB ilə fosforlaşır və qlikogen sintezini fosforlaşdırma bilmir, beləliklə PKB-nin insulinlə-stimullaşan fəallaşması qlikogen sintezinin xalis qısa müddətli fəallaşması və qlikogenin sintezi ilə nəticələnir.

İnsulin eyni zamanda hepatositlərdə (qaraciyər hüceyrələrində), laktat, piruvat və asetat kimi kiçik molekullardan (bax Fəsil 12) qlükozanın sintezini (qliükoneogenez) ingibirləşdirməklə və qlükozadan qlikogenin sintezini gücləndirməklə fəaliyyət göstərə bilər. Bu təsirlərin çoxu gen transkripsiyası səviyyəsində baş verir, çünki insulinin siqnal verməsi, piruvat tuşusu kimi kiçik molekullardan qlükozanın sintezini stimullaşdıran fermentləri kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını azaldır. Bütün bu fəaliyyətlərin xalis təsiri qanda qlükozanın qatılığını geriyə, təxminən 5 mM pəhriz zamanıdakı qatılığınə endirmək, qlükozanın artığını hüceyrə daxilində gələcək istifadə üçün qlikogen kimi saxlamaqdır.

Qanda qlükozanın səviyyəsi 5 mM normal səviyyədən aşağı enən kimi (məsələn, qəfil əzələ fəaliyyəti zamanı) mədəaltı vəzin β hüceyrələrindən insulinin ifraz olunmasının azalması mədəaltı vəzin α hüceyrələrini induksiya edir, qlükozanın qana ifraz olunmasını artırır və qanda qlükozanın səviyyəsinin yüksəlməsini işə salır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 16-40 Piy hüceyrələrinin insulinlə stimullaşması GLUT4-ün hüceyrədaxili qovucuqlardan plazma membranına translokasiyasını induksiya edir. (a) GLUT4 və onun C-sonluğuna qovşaq olunmuş yaşıl fluoressent zülaldan (GFP) ibarət olan ximer zülalı ekspresiya etmək üçün yaradılmış kultura olunan piy hüceyrələri konfokal-fluoressensiya mikroskopu ilə vizuallaşdırılmışdır. İnsulin olmadıqda virtual olaraq bütün GLUT4 hüceyrədaxili membranda yerləşir. İnsulinlə təsir etmək GLUT4 saxlayan qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasına səbəb olur. Rəngli oxlar plazma membranında olan GLUT4-ü göstərir; N nüvənin yerləşdiyi mövqeyi göstərir. (b) Piy və əzələ hüceyrələrində plazma membranında GLUT4-ün səviyyəsini yüksəltmək üçün insulin siqnalı bir neçə mərhələdə təsir edir. Sakitlikdə olan hüceyrələrdə GLUT4-ün əsas hissəsi TUG zülalı vasitəsilə Qolci matrisa zülallarına bağlanmış GLUT4-saxlayan qovucuqlarda yerləşir. İnsulinin insulin reseptoruna birləşməsi proteazanın fəallaşmasına səbəb olur (pillə 1), o isə TUG zülalını kəsir, GLUT4-saxlayan qovucuq azad olur (pillə 2) və kinezin motor zülalları vasitəsilə fəaliyyət göstərən mikroborucuqlar (bax Fəsil 18) boyu hüceyrə səthinə doğru hərəkət edir. İnsulin həmçinin, PKB-ni fəallaşdırır (pillə 3; bax Şəkil 16-29). PKB sonra Rab GAP zülalı AS160-ı fosforlaşdırır (pillə 4), onun Rab8, Rab10 və Rab14 vasitəsilə

GTP hidrolizini sürətləndirmək qabiliyyətini *ingibirləşdirir*. Bu Rab zülallar fəal-GTP-birləşmiş vəziyyətində toplanırlar (pillə 5) və GLUT4 saxlanılan qovucuqların mikroborucuqlar boyu hüceyrə səthinə hərəkət etməsinə (pillə 6a və 6b) imkan yaradırlar. Sonda bu GSV-lər plazma membranla qovuşur (pillə 7). Bu mərhələ eqzosistlə və həmçinin başqa monomer GTP-birləşdirən zülal RALA ilə kataliz olunur. PKB bu membran qovuşmasını hətta RALA GAP zülal RGC-i fosforlaşdıraraq fəallaşdırmaqla da stimullaşdırır (pillə 8). RALA-nın öz GTP-birləşmiş fəal vəziyyətində toplanmasına (pillə 9) imkan verir. Nəticədə plazma membranda GLUT4-ün artması hüceyrəyə stimullaşmamış hüceyrələrlə müqayisədə hüceyrəxarici mühitdəki qlükozanın on dəfə yüksək sürətlə daxil olmasına imkan verir (pillə 10). Sonra insulinin uzaqlaşdırılması ilə plazma membranındakı GLUT4 endositoz yolu ilə daxilə mənimsənilir (pillə 11) və sonda GSV-lərə daşınır (pillə 12). Burada göstərilməyən digər çox zülallar bu siqnal prosesində və qovucuq tumurcuqlanması və qovuşması hadisələrində iştirak edirlər. Bax J. Bogan, 2012, *Annu. Rev. Biochem.* **81**:507; D. Leto and A. Saltiel, 2012, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:383, and J. Belman et al., 2014, *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **15**:55. [(a) hissəsi C. Yu et al., 2007, *J. Biol. Chem* 282:7710; ©2007 American Society for Biochemistry and Molecular Biology.]



Təəssüf ki, bu mürəkkəb və güclü nəzarət sistem bəzən uğursuz olur, ciddi və həyat üçün təhlükəli xəstəliklərin, xüsusən də *Diabetes mellitus*-un yaranmasına səbəb olur. Diabet zamanı qanda qlükozanın tənzimlənməsi zədələnir və qanda qlükozanın daimi yüksək qatılığının əmələ gəlməsi (hiperqlükomiya) müalicə olunmazsa başqa ağırlaşmalara səbəb olur. I tip diabet avtoimmün prosesi nəticəsində yaranır, o mədəaltı vəzdə insulini istehsal edən β hüceyrələri dağıdır. I tip diabetes melitus xəstəliyi uşaqlar və yeniyetmələr arasında geniş yayılıb. Bəzən buna insulindən-əsili olan diabet də deyilir, xəstəliyin bu forması əsasən insanın həyatı boyu insulini inyeksiya olunması və daima qanda qlükozanın miqdarının monitorinqi ilə müalicə olunur.

İnkişaf etmiş ölkələrdə diabetes melitus xəstələrin əksəriyyəti II tipə, çox zaman insulindən-əsili olmayan adlandırılan diabetə malik olurlar; bu şərait əzələ, piy və qaraciyər hüceyrələrinin insulina cavab vermə bilmə qabiliyyətinin azalmasından, və orqanizm yüksəlmiş qlükoza səviyyəsinə qarşı insulini güclü istehsalına çalışarkən orqanizmdə insulini istehsal edən hüceyrələrin itməsindən meydana gəlir. Bu formaya nəyin səbəb olmasının hələ də tam aydın olmadığı halda, çox köklülük (şişmanlıq) diabetin güclü surətdə artması ilə korelyasiya edir. Növbəti bölmədə gördüyümüz kimi, şişmanlıq yağ turşularını triqliseridlər kimi saxlayan adipositlərin funksiyasının pozulmasına da kömək edir. Nəticədə əzələ və qaraciyərdə toplanan lipidlərin (xüsusilə diasilqliserol və sfinqolipidlərin) yığılması bu toxumalarda insulini təsirini azaldır. Güman edilir ki, enerji metabolizminə nəzarət edən siqnal yollarının sonra daha da öyrənilməsi diabetin patofiziologiyasına yeni bilikləri gətirəcək, ümid etmək olar ki, xəstəliyin qarşısının alınması və müalicəsində yeni metodların tətbiqinə səbəb olacaq. ■

Çoxsaylı Siqnal Ötürən Yollar Adiposit Differensasiyasını Tənzimləmək Üçün Əsas Transkripsiya Tənzimləyicisi PPAR γ vasitəsi ilə Əlaqədar Olurlar

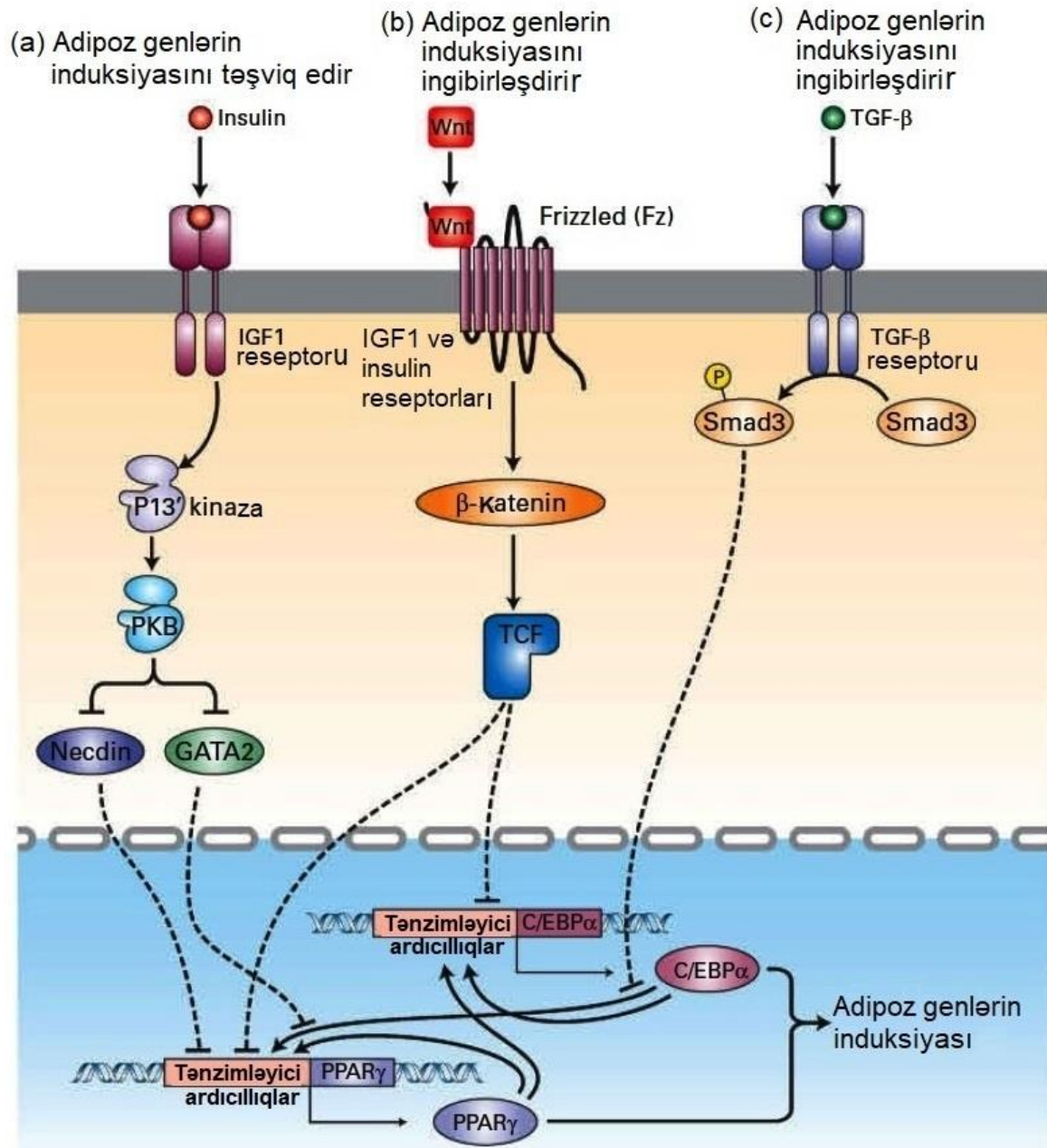
İnsulin həmçinin ümumilikdə “piy hüceyrələri” adlandırılan ağ adipositlərin əsas induksiyaediciyəsidir. Adipositlər orqanizmin piylərin saxlanması üçün əsas deposudur, yetkin adipositlər, hüceyrələrin əsas kütləsini zəbt edən bir neçə triqliserid damcılara malikdirlər. Adipositlər həm də endokrin hüceyrələrdirlər və əzələlərin, qaraciyərin və başqa orqanların metabolik funksiyasına təsir göstərən bir sıra siqnal zülallarını ifraz edirlər. Adipositlər orqanizmdə bir tip hüceyrələr olub həm sayına, həm də ölçüsünə görə qeyri məhdud dərəcədə arta bilərlər. Hər bir ölkədə oxuculara xəbərdar etməyə ehtiyac yoxdur ki, şişmanlıq əhəlinin getdikcə artmaqda olan sağlamlıq problemlərindən biridir və şişmanlıq yalnız diabetlər üçün deyil, həm də ürək-damar xəstəlikləri, o cümlədən infarkt və ürək insultu, eləcə də xərçəng xəstəlikləri üçün əsas təhlükəli risk faktorudur.

Bizim 21-ci Fəsildə müzakirə edəcəyimiz kimi, onurğalılarda spesifik tip differensasiya etmiş hüceyrələrin yaranması üçün bir neçə tip sütun hüceyrələri mövcuddur. Sümük iliyyində və başqa orqanlarda yayılmış **mezenxima sütun hüceyrələri** əcdad hüceyrələrin yaranmasına başlanğıc verir, onlar isə öz növbəsində adipositləri, qığırdaq-yaradan hüceyrələri və ya sümük-yaradan osteoblastları əmələ gətirirlər. Preadiposit adlanan adiposit əcdad başqa hüceyrə tiplərinə differensasiya etmək potensialını itirmişdir. İnsulinlə və başqa hormonlarla təsir etdikdə, preadipositlər terminal differensasiyaya məruz qalır, onlar lipid daşınması və sintezi üçün, insulina cavab üçün və adiposit-spesifik zülalların ifraz olunması üçün lazım olan zülalları əldə edirlər. Preadipositlərin kultura olunan bir neçə xətti adipositlərə differensasiya edə bilər və triqliseridlərin sintezi üçün lazım olan fermentlər kimi adiposit-spesifik mRNT-ləri və zülalları ekspressiya edirlər.

Transkripsiya faktoru PPAR γ , nüvə reseptoru superailəsinin nümayəndəsi adiposit differensasiyasının əsas transkripsiya tənzimləyicisidir. Dəlil kimi, PPAR γ -ın rekombinant ekspressiyası çox fibroblast hüceyrə xətlərində onların adipositlərə differensasiya etməsinə səbəb olmaq üçün kifayət edir. Əksinə, preadipositlərdə PPAR γ geninin nokdaunu onların adipositlərə differensasiya olunmasına tam mane olur. Adipogenezisi gücləndirən insulini kimi hormonların əksəriyyəti PPAR γ geninin ekspressiyasını ən azı qismən fəallaşdırmaqla belə edirlər. Öz növbəsində PPAR γ əksər adiposit-spesifik genlərin, o cümlədən insulini reseptoru və GLUT4 kimi insulini-siqnal yolunda lazım olan zülalların promotörünə birləşir və onların ekspressiyasını induksiya edir. Nüvə reseptoru superailəsinin başqa nümayəndələri kimi, məsələn, öz liqandlarına birləşəndə fəallaşan steroid hormon reseptorları (bax Fəsil 9) kimi, PPAR γ da güman olunur ki, öz liqandına, yəqin ki yağ turşusunun oksidləşmiş törəməsinə birləşir.

Başqa bir transkripsiya faktoru, C/EBP α adiposit differensasiyası zamanı induksiya olunur və çox sayda adiposit genlərini birbaşa induksiya edir. Əsas məsələ odur ki, C/EBP α PPAR γ genin ekspressiyasını induksiya edir, PPAR γ isə C/EBP α -nın ekspressiyasını induksiya edir və differensasiyanın birinci iki günündə hər iki zülalın miqdarının sürətlə artmasına səbəb olur. PPAR γ və C/EBP α birlikdə preadipositlərin yetkin piy hüceyrələrinə differensasiya etməsi üçün tələb olunan bütün genlərin ekspressiyasını induksiya edir.

Wnt və TGF- β kimi çox siqnal zülalları insulini fəaliyyətinə qarşı durur və preadipositlərin adipositlərə differensasiya etməsinə mane olurlar. Şəkil 16-41-də göstəriləyi kimi, bu hormonların reseptorları ilə fəallaşan transkripsiya faktorları, C/EBP α -nın PPAR γ genin ekspressiyasını induksiya etmə qabiliyyətini qismən blok etməklə PPAR γ genin ekspressiyasına mane olurlar. Beləliklə çoxsaylı hüceyrəxarici siqnallar adipogenezini tənzimləmək üçün birgə fəaliyyət göstərirlər və onlar vasitəsi ilə fəallaşdırılan siqnal ötürülməsi yolları bir əsas “master” genin, PPAR γ -ni kodlaşdıran genin ekspressiyasının tənzimlənməsində kəşifirlər.



ŞƏKİL 16-41 Çoxsaylı siqnal ötürən yollar adiposit differensiasiyasını tənzimləmək üçün əlaqədə olurlar. PPAR γ transkripsiya faktoru (tünd qırmızı) adiposit differensiasiyasının əsas tənzimləyicisidir; C/EBP α ilə birlikdə o preadipositlərin yetkin piy hüceyrələrinə differensiasiya üçün tələb olunan bütün genlərin ekspressiyasını induksiya edir. Həm PPAR γ , həm də C/EBP α adipogenezin erkən dövründə induksiya olunurlar, onların hər biri digərinin geninin transkripsiyasını gücləndirir (xəttin ucundakı ox hədəf genlərin ekspressiyasının gücləndirilməsini göstərir), differensiasiyanın birinci iki günü ərzində hər iki zülalın ekspressiyasının kəskin yüksəlməsinə səbəb olur. İnsulin kimi hormonlardan və Wnt və TGF- β kimi boy faktorlarından alınan, adipositozu fəallaşdıran və ya repressiya edən siqnallar, PPAR γ və C/EBP α genlərinin ekspressiyasını birbaşa və ya dolaylı yolla tənzimləyən transkripsiya faktolları vasitəsi ilə nüvəyə inteqrasiya edirlər. Xəttin sonundakı T hədəf genin ekspressiyasının ingibirləşməsinə göstərir. (a) İnsulin PPAR γ ekspressiyasının fəallaşmasına səbəb olan bir neçə yolla adipogenezini fəallaşdırır,

bunlardan ikisi burada göstərilmişdir. IGF1 reseptor tirozinkinazadan və IRS1-dən sonra gələn proteinkinaza B-nin (PKB) fəallaşması Necdin-in ekspressiyasının repressiyasına səbəb olur, əks halda Necdin başqa transkripsiya faktorlarını modullaşdırmaqla PPAR γ genin ekspressiyasını repressiya etməli idi. PKB həmçinin GATA2 transkripsiya faktorunu fosforlaşdırır və onu fəalsızlaşdırır, hansıki, fosforlaşmamış vəziyyətdə C/EBP α zülalına birləşərək onun PPAR γ genini fəallaşdırmasına mane olur. PPAR γ genin iki repressorunu ingibirləşdirməklə insulin PPAR γ genin ekspressiyasını stimullaşdırır. (b) PPAR γ genin ekspressiyasını reduksiya etməklə Wnt və TGF- β adipogenezini ingibirləşdirir. Wnt siqnal verilməsi β -kateninin sitoplazmatik kompleksdən buraxılmasına səbəb olur və sərbəst β -katenin TCF transkripsiya faktoruna birləşir (bax Şəkil 16-30). Fəal TCF, ehtimal ki, PPAR γ və C/EBP α genlərinin tənzimləyici ardıcılıqlarına birləşməklə onların ekspressiyasını blok edir. (c) TGF- β -nın I və II tip TGF- β reseptorlarla birləşməsinin ardınca fosforlaşan və fəallaşan Smad3 C/EBP α zülalına birləşir və onun PPAR γ genini fəallaşdırmasına mane olur. Bax E. Rosen and O. MacDougald, 2006, *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* 7:885.

İltihab Hormonları Şişmanlıqda Adipoz Hüceyrə Funksiyasını Pozur

Şişmanlığın problemi yalnız əmələ gəlmiş adipoz hüceyrələrin çəkisi deyil, bu hüceyrələrin metabolizmi də anormal olur və insulin siqnailləri da azalır. Çox fərdlərdə, bu II tip diabetin inkişaf etməsinə səbəb olur. Problemlərin böyük bir hissəsi adipoz toxumalarını zəbt edərək yayılan, çox güman ki, getdikcə toplanan nekrotik adipoz hüceyrələr tərəfindən və onların buraxdığı qatı yağ damcıları tərəfindən cəlb olunan makrofaqlardan və başqa immun-sistemi hüceyrələrindən meydana gəlir. Bu makrofaqlar ətrafdakı adipoz hüceyrələrin metabolizminə dərinə təsir edən bir neçə iltihab hormonunu ifraz edirlər. Bu hormonlardan ikisi, TNF α və IL-1 öz müvafiq reseptoruna birləşirlər və NF- κ B transkripsiya faktorunun fəallaşmasını induksiya edirlər (bax Şəkil 16-35a). Öz növbəsində, NF- κ B insulin siqnaillərinin qarışsın alan bir sıra zülalların, o cümlədən SOCS zülalların ekspressiyasını induksiya edir, sitokin reseptorlarda olduğu kimi (bax Şəkil 16-14b), SOCS zülallar insulin reseptorun sitozol domenində fosforlaşmış tirozinə birləşir, onun kinaza fəallığını ingibirləşdirir və insulin reseptorunun və onunla bağlı olan başqa siqnal zülallarının parçalanmasına səbəb olurlar.

Bundan başqa, NF- κ B, insulin-siqnal yolunda GLUT4 və PKB daxil olmaqla bir sıra vacib komponentlərin ekspressiyasını repressiya edir. NF- κ B həmçinin TNF α kimi iltihab sitokinlərinin ekspressiyasını da induksiya edir, TNF α öz növbəsində avtokrin və ya parakrin üslubda adipositlərə təsir edərək insulinə müqavimətin inkişafını daha da gücləndirir. Adiposit metabolizmində “iltihab” hormonları tərəfindən induksiya olunan biokimyəvi dəyişikliklər arasında triasilqliseridlərin sərbəst yağ turşularına və qliserinə hidrolizi də vardır, bu zaman külli miqdarda sərbəst yağ turşusu qana buraxılır, onlar burada külli miqdarda toplanaraq qaraciyərdə və əzələdə insulinə qarşı müqaviməti gücləndirir. Bu isə öz növbəsində qanda qlükozanın miqdarının artmasına səbəb olur və piy, əzələ və qaraciyər hüceyrələrində insulinə qarşı qeyri həssaslığın qarşısının alınması üçün mədəaltı β adacıq

Açar Sözlər

adaptor zülalı
diabetes mellitus
eritropoietin (Epo)
əsas kipriciklər
fəallaşma ilgəyi
fosfoinozididlər
fosfotirozin birləşdirən domen (PTB)
Hedgehog (Hh) yolu
HER ailəsi
insig-1(2)/SCAP/SREBP yolu
insulin
JAK/STAT yolu
kinaza kaskadı
konstitutiv
MAP kinaza
matrisa metalloproteazalar (MMP) ailəsi
NF- κ B yolu

hüceyrələr tərəfindən insulin həddən artıq miqdarda istehsal olunur – bütün bunlar inkişaf etmiş ölkələrdə insanların əsas sağlamlıq problemlərinə çevrilir diabet 2-nin epidemiya vəziyyəti almasına səbəb olur.

16.8 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Cavablarının Müxtəlif Siqnal Yollarına İnteqrasiyası

- Qanda qlükozanın artması mədəaltı β hüceyrələrdən insulinin ifraz olunmasını stimullaşdırır (bax Şəkil 16-39).
- Sonra insulinin əzələ hüceyrələrində və adipositlərdə öz reseptoruna birləşməsi, siqnal ötürülən bir sıra yolları fəallaşdıraraq proteinkinaza B-nin fəallaşmasına səbəb olur. Bu yollar PKB-dən asılı olmayan yollarla birlikdə GLUT4 qlükoza daşıyıcısının hüceyrədaxili qovucuqlardan plazma membranına translokasiya olunmasına səbəb olur və beləliklə qlükozanın sorulmasını və (əzələlərdə) qlükogenin sintezini gücləndirir, nəticədə qanda qlükozanın azalmasına səbəb olur (bax Şəkil 16-40).
- Qanda qlükozanın azalması mədəaltı α hüceyrələrdən qlükaqonun buraxılmasını stimullaşdırır. Qlükaqonun qaraciyər hüceyrələrində öz G zülallarla-cütləşən reseptoruna birləşməsi cAMP ilə işə salınan kinaza kaskadı vasitəsi ilə (stress şəraitində epinefrinlə stimullaşmaya oxşar olaraq) qlükogenolizi gücləndirir və qanda qlükozanın artmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-28a) və 15-35b).
- Nüvə reseptorları superailəsinin nümayəndəsi PPAR γ adiposit differensiasiyasının əsas transkripsiya tənzimləyicisidir.
- Adiposit differensiasiyasını gücləndirən insulin kimi hüceyrəxarici hormonlar, PPAR γ -nın yüksək istehsalına səbəb olan siqnal ötürülməsi yollarını induksiya edir. Əksinə preadiposit differensiasiyasına mane olan Wnt və TGF- β kimi siqnal zülalları PPAR γ genin ekspressiyasına mane olan siqnal yolunu fəallaşdırırlar (Bax Şəkil 16-41).

Noç/Delta yolu
nüvə lokalizasiya siqnalı (NLS)
PI3 kinaza yolu
PPAR γ
presenilin
proteinkinaza B (PKB)
PTEN fosfataza
Ras zülallar
SH2 domenlər
sitokinlər
skafolt zülallar
Smadlər
SRE-birləşdirən zülal
tənzimlənən transmembran zülallar (RIP)
tirozinkinaza resptoru (RTK)
transformasiya edən boy faktoru β (TGF- β)
Wnt yolu

Konsepsiyalara baxış

1. Sitokin reseptorlarının və tirozinkinaza reseptorlarının fəallaşması üçün ümumi olan üç xüsusiyyəti adlandır. Bu reseptorların fermentativ fəallıqlarına aid olan bir xüsusiyyəti adlandır.
2. Eritropoietin (Epo) O_2 -in qanda aşağı səviyyəsinə cavab olaraq bədəndə təbii yolla istehsal olunan hormondur. Hüceyrə səth reseptorlarına Epo-nun birləşməsinə cavab olaraq baş verən hüceyrədaxili proseslər yaxşı xarakterizə olunmuşdur. Hansı molekul: (a) JAK2 STAT5-i fəallaşdırdıqdan sonra və (b) GRB2 Epo reseptora birləşəndən sonra sitoplazmadan nüvəyə translokasiya edir? Nəyə görə, əksər idman növləri tərəfindən qadağan olunana qədər yaxşı işləmək üçün idmançıların dözümlülüyündə ("qan dopinqi") Epo istifadə edirdilər?
3. JAK-in dominant-mənfi mutantının ekspressiyasının eritropoietin (Epo)-sitokin siqnal ötürülməsi yolunu necə blok etdiyini izah edin.
4. Baxmayaraq ki, GRB2 daxili fermentativ fəallığa malik deyil, o MAP kinazanı fəallaşdıran epidermal boy faktoru (EGF) siqnal yolunun vacib komponentidir. CRB2-nin fəaliyyəti nədən ibarətdir? SH2 və SH3 domenləri CRB2-nin fəaliyyətində hansı rolu oynayırlar? Çox sayda başqa siqnal zülalları da SH2 domenə malikdirlər. Başqa molekullarla SH2-nin qarşılıqlı təsirinin spesifikliyi nəyi təyin edir?
5. Fəallaşmış siqnal yolu hədəf genin ekspressiyasında müvafiq dəyişiklik etdikdən sonra, yol inaktivasiya olunmalıdır. Əks halda, patoloji nəticələrə gətirib çıxarar, necə ki çox xərçənglərdəki davamlı boy faktoru ilə-inisiasiya olunan siqnal yolu kimi. Çox siqnal yolları daxili mənfi geriyyə-əlaqəyə malikdir, bu zaman siqnal yolundakı aşağıya istiqamətdə olan proses yuxarıya istiqamətdə olan prosesə çevrilir. (a) eritropoietin və (b) TGF- β ilə induksiya olunan siqnalları enən-tənzimləyən mənfi geriyyə-əlaqəni təsvir et.
6. Ras zülalında mutasiya Ras-a konstitutiv fəallıq (Ras^D) verir. Konstitutiv fəallaşma nə deməkdir? Konstitutiv fəal Ras xərçəngin yaranmasını necə təşviq edir? Hansı tip mutasiya aşağıdakı zülalları konstitutiv fəal edir: (a) Smad, (b) MAP kinaza, (c) NF- κ B?
7. Ste11 fermenti tumurcuqlayan maya *S. cerevisiae* hüceyrələrində bir sıra fərqli MAP kinaza siqnal yollarında iştirak edir. Cütləşmə faktoru siqnal yolunda Ste11-in substratı nədir? Ste11 həmçinin yüksək osmolyarlıq tərəfindən induksiya olunan MAP kinaza yolunda iştirak etdiyindən, maya hüceyrəsi cütləşmə faktoru ilə stimullaşanda, yüksək-osmotik-qüvvəyə malik olan mühitdə sağ qalmaq üçün tələb olunan osmolitlərin induksiyasına nə mane olur?
8. Proteinkinaza B-nin tam fəallaşması üçün tələb olunan hadisələri təsvir edin. Əzələ hüceyrələrində insulinin proteinkinaza B-*ilə* vasitələnən iki təsirini adlandırın.
9. PTEN fosfatazanın PI-3 kinaza siqnal yolunda funksiyasını təsvir edin. Nəyə görə PTEN-də funksiyanın-itirilməsi mutasiyası xərçəngi əmələ gətirir? Hüceyrənin artmasında və sağ qalmasında konstitutiv fəal PTEN-in tapın.
10. TGF- β -nın öz reseptoruna birləşməsi müxtəlif hüceyrə tiplərində müxtəlif reaksiyaları yarada bilər. Məsələn, TGF- β epitel hüceyrələrində plazminogen aktivatorun inhibitorunu və spesifik immunoqlobulinləri B hüceyrələrdə induksiya edir. Hər iki hüceyrə tipində, Smad3 fəallaşır. Siqnal yolunun

konservativliyini nəzərə alaraq, müxtəlif hüceyrə tiplərində TGF- β -ya cavabın müxtəlifliyini nə izah edir?

11. TGF- β -nın hüceyrə-səth reseptoruna birləşməsi ilə yaranan siqnal, hədəf genin ekspressiyasında dəyişikliyin baş verdiyi nüvəyə necə ötürülür? Nüvədəki hansı fəallıq, fəal Smad-ların qatılığının hüceyrə səthində fəallaşmış TGF- β reseptorların səviyyəsini yaxından əks etdirməsini təmin edir?
12. Hüceyrəxarici siqnal zülalı Hedgehog hüceyrə membranlarına lövbər etmiş şəkildə qala bilər. Hedgehog-da hansı modifikasiyalar onun membrana birləşmiş vəziyyətdə olmasını mümkün edir? Nəyə görə bu xassə əhəmiyyətlidir?
13. İzah edin, nəyə görə milçəklərdə *hedgehog* və *smoothened* funksiyanın-itirilməsi mutantları eyni fenotipi verirlər, amma patched-in funksiyanın-itirilməsi mutantı əks fenotipi verir.
14. Əksər məməli hüceyrələri əsas kipricik adlanan vahid hərəkətsiz kipriciyə malikdir, bunların daxilində flagella-daxili nəqliyyat (IFT) motor zülalları (Fəsil 18-də detalları müzakirə olunur) Hedgehog (Hh) siqnal yolunun elementlərini mikroborucuqlar boyu hərəkət etdirir. Hh siqnal yolunun hansı hissəsindəki mutasiyalar IFT motor zülalları Kif3A, Kif7 və dinein-in qırılmasına səbəb olacaq?
15. Nəyə görə NF- κ B-ni fəallaşdıran siqnal yolu sitokin və RTK siqnal yolu ilə müqayisədə nisbətən geriyyə dönməyən hesab edilir? Buna baxmayaraq, NF- κ B siqnal verilməsi sonda azalan tənzimlənmədir. NF- κ B siqnal yolu necə dayandırılır?
16. NF- κ B siqnal yolunda poliubikvitinləşmənin iki rolunu təsvir edin.
17. Deltanın hansı xüsusiyyəti yalnız qonşu hüceyrəyə siqnal verdiyini əmin edir?
18. γ -sekretaza ilə hansı biokimyəvi reaksiyalar kataliz olunur? Nəyə görə belə hesab edilir ki, bu fəallığın kimyəvi inhibitoru Alzheimer xəstəliyinin müalicəsi üçün səmərəli dərman ola bilər? Belə dərmanların hansı mümkün olan əlavə təsirləri bunun istifadəsini çətinləşdirir?.

İstinadlar

Smad-ları Fəallaşdıran Serinkinaza Reseptoru

Deheuninck, J., and K. Luo. 2009. Ski and SnoN, potent negative regulators of TGF- β signalling. *Cell Res.* **19**:47–57.

Massagué, J. 2012. TGF β signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:617–630.

Xu, P., J. Liu, and R. Derynck. 2012. Post-translational regulation of TGF- β receptor and Smad signaling. *FEBS Lett.* **586**:1871–1884.

Cytokine Receptors and the JAK/STAT Signaling Pathway Hattangadi, S., et al. 2011. From stem cell to red cell: regulation of erythropoiesis at multiple levels by multiple proteins, RNAs and chromatin modifications. *Blood* **118**:6258–6268.

Pfeifer, A. C., J. Timmer, and U. Klingmuller. 2008. Systems biology of JAK/STAT signalling. *Essays Biochem.* **45**:109–120.

Schindler, C., D. E. Levy, and T. Decker. 2007. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J. Biol. Chem.* **282**:20059–20063.

Tirozinkinaza Reseptoru

Lemmon, M. A., and J. Schlessinger. 2010. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* **141**:1117–1134.

Lemmon, M., J. Schlessinger, and K. Fergusson, eds. 2014. The EGFR family: not so prototypical receptor tyrosine kinases. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a020768.

Levitzi, A. 2013. Tyrosine kinase inhibitors: views of selectivity, sensitivity, and clinical performance. *Annu. Rev. Pharmacol.* **53**:161–85.

Tomas, A., C. Futter, and E. Eden. 2014. EGF receptor trafficking: consequences for signaling and cancer. *Trends Cell Biol.* **24**:26–34.

Ras/MAP Kinaza Yolu

Chen, R., and J. Thorner. 2007. Function and regulation in MAPK signaling pathways: lessons learned from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta* **1773**:1311–1340.

Gastel, M. 2006. MAPKAP kinases—MKs—two's company, three's a crowd. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:211–224.

Matallanas, D., et al. 2011. Raf family kinases: old dogs have learned new tricks. *Genes Cancer* **3**:232–260.

Fosfoinozid Sıgnal Yolu

Fayard, E., et al. 2010. Protein kinase B PKB/Akt, a key mediator of the PI3K signaling pathway. *Curr. Top. Microbiol.* **346**:31–56.

Michell, R. H., et al. 2006. Phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate: metabolism and cellular functions. *Trends Biochem. Sci.* **31**:52–63.

Vogt, P. K., et al. 2010. Phosphatidylinositol 3-kinase: the oncoprotein. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **347**:79–104.

Ubikvitinləşmə və Zülalın Dağıdılması ilə Nəzarət Olunan Sıgnal Yolları: Wnt, Hedgehog və NF-κB

Briscoe, J., and P. Thérond. 2013. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:416–429.

Goetz, S., and K. Anderson. 2010. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat. Rev. Genet.* **11**:331–344.

Iwai, K., et al. 2014. Linear ubiquitin chains: NF-κB signalling, cell death and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:503–508.

Nehers, C. 2012. The complex world of WNT receptor signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:767–779.

Wan, F., and M. Lenardo. 2010. The nuclear signaling of NF-κB: current knowledge, new insights, and future perspectives. *Cell Res.* **20**:24–33.

Zülal Doğranması ilə Nəzarət Olunan Sıgnal Yolu : Noç/Delta, SREBP və Alzheimer Xəstəliyi

Anderson, P., et al. 2012. Non-canonical Noç signaling: emerging role and mechanism. *Trends Cell Biol.* **22**:257–265.

Brown, M. S., and J. L. Goldstein. 2009. Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J. Lipid Res.* **50**:S15–S27.

Musse, A., et al. 2012. Noç ligand endocytosis: mechanistic basis of signaling activity. *Semin. Cell Dev. Biol.* **23**:429–436.

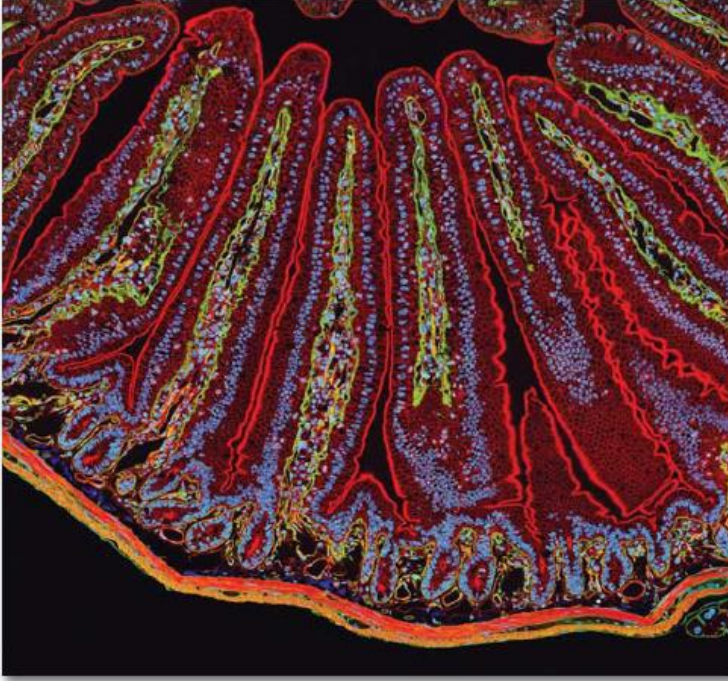
Çoxsaylı Sıgnal Yollarında Hüceyrə Cavabının İntegrasiyası: İnsulinin Fəaliyyəti

Bogan, J. 2012. Regulation of glucose transporter translocation in health and diabetes. *Annu. Rev. Biochem.* **81**:507–532.

Leto, D., and A. Saltiel. 2012. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:383–396.

Rosen, E., and O. MacDougald. 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:885–896.

FƏSİL 17



Hüceyrənin Təşkili, Hərəkəti I: Mikrofilamentlər

Siçan bağırsağının kəsiyi aktinə görə (qırmızı), hüceyrəxarici matrisa zülalı lamininə görə (yaşıl) və DNT-yə görə (mavi) rənglənmişdir. DNT-nin hər bir mavi nöqtəsi hüceyrənin mövcud olduğunu bildirir. Epiteli hüceyrələrinin apikal ucunda mikrovillidə aktin lümenə baxan (*yuxarıda*) vəziyyətdə səthdə düzülmüş şəkildə görünür. Aktin həmçinin qabarıq çıxıntı şəkilində bağırsağı əhatə edən saya əzələ toxumasında (*aşağıda*) görünür. [Nəzakətlə Deereinck and Mark Ellisman.]

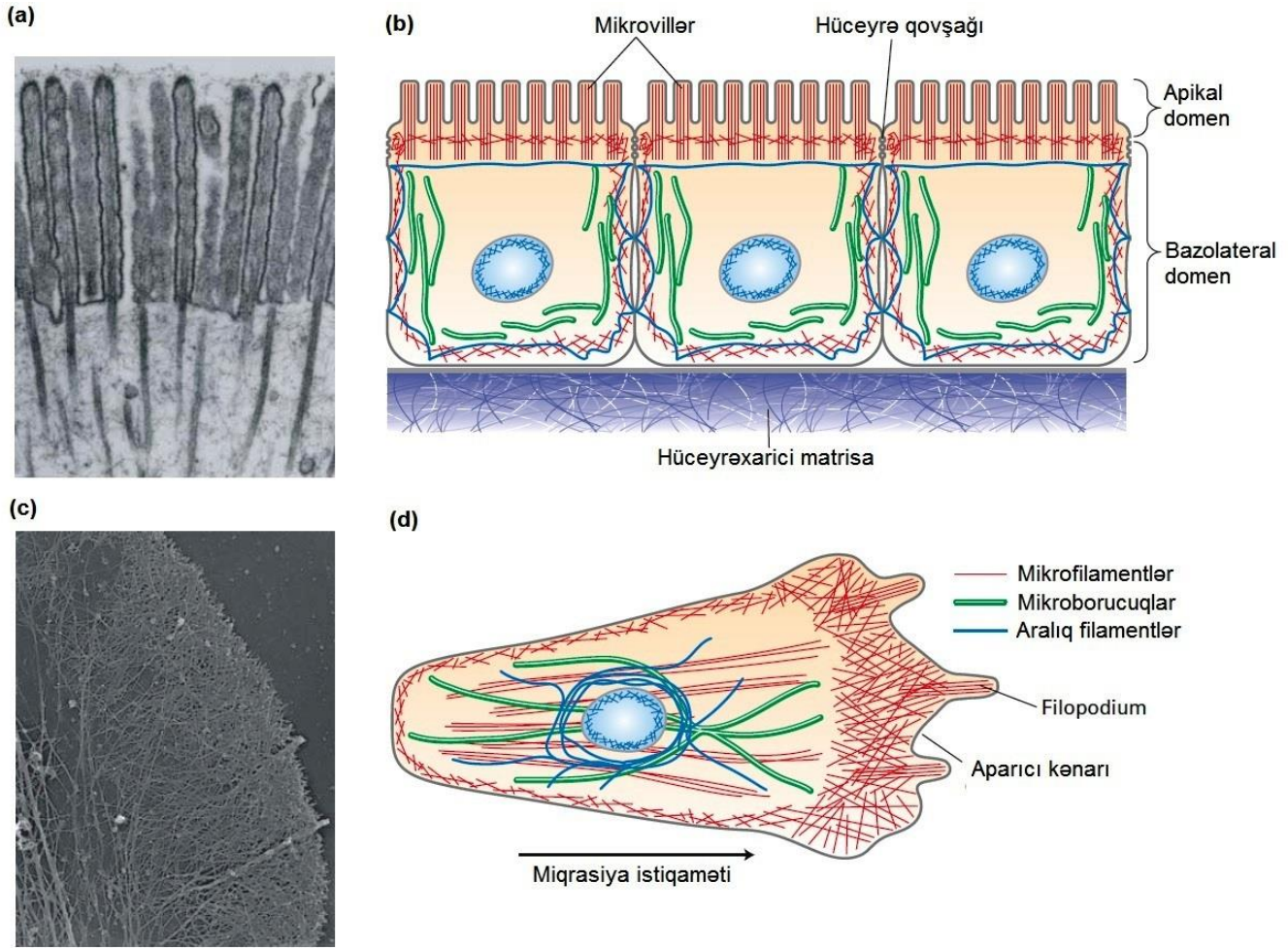
Biz təbiətdəki hüceyrələrin heyranedicə müxtəlifliyinə mikroskopla baxdıqda bizim fərqləndirə biləcəyimiz müxtəlif hüceyrələrin forma və hərəkəti heyratəmiz olacaqdır. Birinci biz görəcəyik ki, onurğalılarda spermata kimi bəzi hüceyrələr, *Tetrahymena* kimi kəpikçiliklər və ya *Chlamydomonas* kimi qamçılılar kəpikçiliklərini və ya qamçılarını fırlatmaqla sürətlə üzürlər. Ameoba və insanın makrofaqları kimi başqa hüceyrələr, xarici çıxıntılarını pər kimi fırlatmaqla deyil, hüceyrənin özünün koordinasiya olunmuş hərəkəti ilə daha sakit, təmkinli hərəkət edirlər. Biz həmçinin, toxumalarda bəzi hüceyrələrin biri digərinə yapışmış və yol örtüyünə (sıkiyə) bənzər enli zolaqları əmələ gətirdiyini görə bilərik, halbuki başqa hüceyrələr, məsələn neyronlar 3 fut (1 metrə) qədər uzunluqda uzun çıxıntılara malik olurlar və hüceyrələr arasında selektiv əlaqələri yaradırlar. Hüceyrələrin daxili təşkilinə daha yaxından baxdıqda biz görürük ki, orqanoidlərin xarakterik yerləşməsi var, məsələn, Qolci kompleksi əsasən mərkəzdə, nüvə yaxınlığında yerləşir. Hüceyrələrin formalarının belə müxtəlifliyi, hüceyrə təşkili və hərəkətiliyi necə əldə olunur? Hüceyrənin belə fərqli formalara və təmiz daxili təşkilliyə malik olması nəyə görə əhəmiyyətlidir?

Bağırsağı örtən epitel hüceyrələri kəpikçibənzər hüceyrələr kimi məlum olan hüceyrələrin sıx örtüyə-bənzər qatını əmələ gətirir (Şəkil 17-1a, b). Onların funksiyası qida maddələrinin (qlükoza kimi) bağırsağ boşluqlarından apikal (*yuxarı*) plazma membranı vasitəsi ilə import etmək və bazolateral (*aşağı tərəf*) plazma membranından qan dövrəni istiqamətində eksport etməkdir. Belə istiqamətlənmiş nəqliyyatı həyata keçirmək üçün epitel hüceyrələrinin bu cür apikal və bazolateral plazma membranları fərqli zülal komponentlərinə malik olmalıdırlar. Epitel hüceyrələri membranın apikal və bazolateral domenləri arasında fiziki baryeri təşkil edən hüceyrə qovşaqları ilə bir-birinə yapışdırılaraq bərkidilmişlər (Fəsil 20-də müzakirə olunur). Belə ayrılma hüceyrəyə imkan verir ki, nəqliyyat zülallarını iki səthin plazma membranında düzgün yerləşdirsin. Bundan başqa apikal membran, qida maddələrinin sorulması üçün plazma membranı səthinə artıran, mikrovillər adlanan çoxsaylı barmağabənzər çıxıntıları ilə unikal morfolojiyaya malikdir. Bu təşkilliyi əldə etmək üçün epitel hüceyrələri onlara forma verən və müvafiq zülalları düzgün membran səthinə çatdıran daxili quruluşa malik olmalıdırlar.

İ C M A L

- 17.1 Mikrofilamentlər və Aktin Quruluşlar
- 17.2 Aktin Filamntlərin Dinamikası
- 17.3 Aktin Filamentin Yığılmasının Mexanizmləri
- 17.4 Aktin-Əsaslı Hüceyrə Quruluşlarının Təşkili

- 17.5 Myozinlər: Aktin-Əsaslı Motor Zülallar
- 17.6 Myozinlə-Gücləndirilən Hərəkət
- 17.7 Hüceyrə Miqrasiyası: Mexanizmlər, Siqnal Verilməsi və Kemotaksis

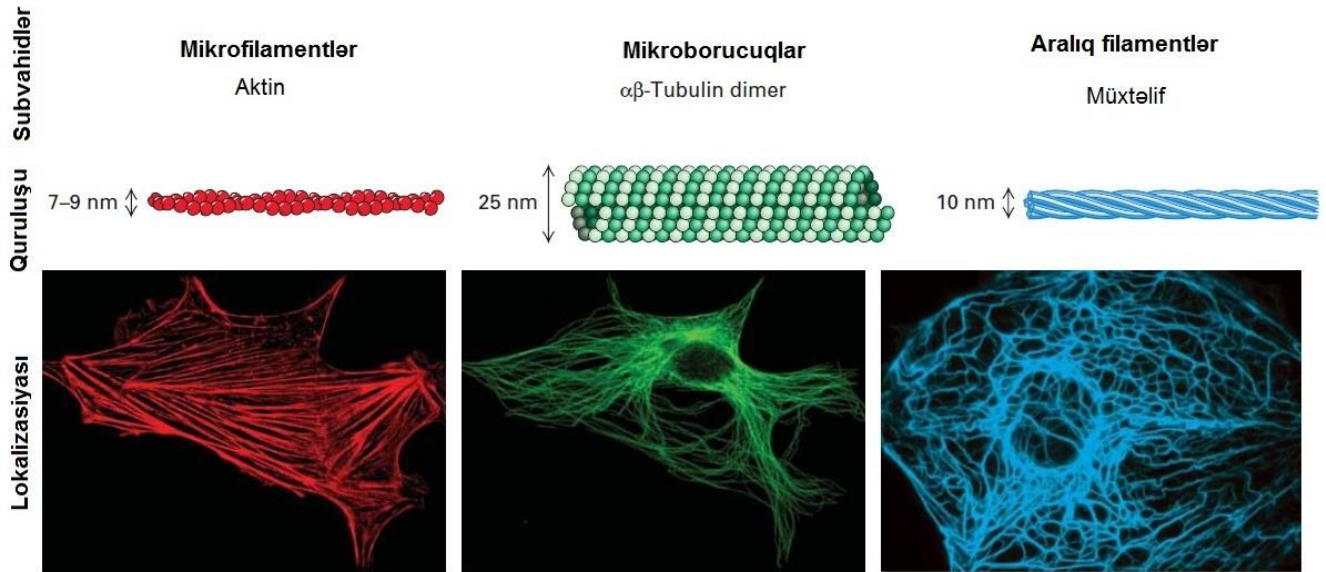


ŞƏKİL 17-1 Epitel hüceyrəsində və miqrasiya edən hüceyrədə sitoskeletin ümumi görünüşü. (a) Kiçik bağırsaqda epitel hüceyrələrinin nazik kəsiyinin transmissiyalı elektron mikrofotusu mikrofilamentlərin mikrovillərə kömək edən özək bağlarını göstərir. (b) Epitel hüceyrələri fərqli apikal və bazolateral domenlərlə yüksək dərəcədə polyarlaşmışlar. Bağırsaq epiteli hüceyrəsi qida maddələrini apikal domendən keçərək hüceyrə daxilinə, bazolateral domendən isə keçərək hüceyrə xaricinə daşıyırlar. (c) Miqrasiya edən hüceyrələrin aparıcı hüdd hissəsinin transmissiyalı elektron mikrofotusu. Membranı həll etmək üçün hüceyrə yumuşaq (zəif) detergentlə işlənmişdir, bu sitoplazmatik komponentlərin də həll olmasına imkan yaradır. Qalan

sitoskelet platinlə kölgələndirilmiş və elektron mikroskopunda vizuallaşdırılmışdır. Qeyd edək ki, aktin filamentlərin şəbəkəsi bu mikrofotoda görünür. (d) Fibroblast və makrofaq kimi miqrasiya edən hüceyrələr aparıcı hüddü qabaqda olan morfoloji cəhətdən fərqli domenlərə malikdir. Mikrofilamentlər qırmızı, mikroborucuqlar yaşıl, aralıq filamentlər isə tünd mavi rənglərlə göstərilmişdir. Nüvənin yerləşmə vəziyyəti (açıq mavi, oval) də göstərilmişdir. [(a) hissəsi ©1975 Mamark Moosler + R. Luey, *The Journal of Cell Biology*67:725-743. doi:10.1083/jcb.67.3.725. (c) hissəsi ©1999 Tatyana Svitkina, Gary Borisy et al., *The Journal of Cell Biology*145:1009-1026. doi: 10.1083.jcb.145.5.1009]

İndi mikrofaqa nəzər salaq, ağ qan hüceyrəsinin bir tipi olan bu hüceyrə yoluxucu agentləri axtarıb tapır və onları *faqositoz* adlanan proseslə udaraq məhv edir. Bakteriya makrofaqları cəlb edən kimyəvi maddələri ifraz edir və bu onu yoluxdurucuya istiqamətləndirir. Makrofaq kimyəvi qradienti izləyərkən, bakteriyalara çatmaq və onları faqositləşdirmək üçün burularaq və dönərək, hüceyrənin hərəkət mexanizmlərini daim yenidən təşkil etməlidir. Bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, makrofaqların və digər sürünən hüceyrələrin daxili hərəkətverici aparatı həmişə süründükləri istiqamətə yönəlir (Şəkil 17-1c,d).

Bu hüceyrə polyarlığının iki nümunəsi - hüceyrələrin funksiyasına görə iki fərqli rayonu yaratmaq qabiliyyətinin nümunəsidir. Faktiki olaraq, bütün hüceyrə tipləri barədə düşündükdə, onların əksəriyyətinin hüceyrə polyarlığının müəyyən formalarına malik olduqlarını anlayacaqsınız. Hüceyrə polyarlığının əlavə və fundamental nümunəsi hüceyrələrin bölünmə qabiliyyətidir: onlar birinci hüceyrənin bölünməsi üçün aksis oxunu seçməlidirlər və sonra ox ətrafı boyunca öz orqanoidlərinin bölünməsini həyata keçirən mexanizmi işə samalıdırlar.



ŞƏKİL 17-2 Sitoskeletin komponentləri. Hər bir filament tipi geriye dönan proseslə spesifik subvahidlərdən elə təşkil olunublar ki, hüceyrələr filamentləri istədikləri kimi yığa və dağıda bilsinlər. Aşağı panellər, aktin, tubulin və aralıq filament zülallarının immunoflouressensiya mikroskopiyası yolu ilə kultura olunan

hüceyrələrdə müvafiq olaraq üç filament sisteminin lokalizasiyasını göstərir. [Aktin və tubulin nəzakətlə Damien Garbet və Anthony Bretcher tərəfindən; aralıq filamentlərin fotosu nəzakətlə Molekulyar Ekspressiya Nikon- & FSU-dan.]

Hüceyrənin forması, daxili təşkili və funksional qütblüyü **sitoskelet** adlanan üçölçülü filament zülallar şəbəkəsi ilə təmin edilir. Plazma membranı və daxili orqanoidləri həll edən mülayim detergentlə hüceyrələrə təsir etməklə və sitoplazmanın əksər hissəsini azad etməklə sitoskeleti ayırmaq və vizuallaşdırmaq olur (bax Şəkil 17-1c). Sitoskelet bütün hüceyrəni keçərək uzanır və plazma membranına və daxili orqanoidlərə yapışır, beləliklə hüceyrənin təşkili üçün şəbəkə quruluşu əmələ gətirir. *Sitoskelet* sözü sümük skeleti kimi müəyyən quruluşu ifadə edə bilər. Faktiki olaraq sitoskelet, bir dəqiqədən az müddətə yenidən təşkil olunmaq qabiliyyətində olan komponentləri ilə çox dinamik ola bilər, ya da o birdəfəyə saatlar müddətində stabil qala bilər. Nəticədə, sitoskelet filamentlərinin dinamikası və uzunluğu güclü şəkildə dəyişə bilər, onlar geniş müxtəliflikdə olan quruluş tipində yığıla həm də hüceyrədə lokal tənzimləyə bilərlər.

Sitoskelet, Şəkil 17-1b və 17-1d-də, eləcə də Şəkil 17-2-də göstərilirdi kimi, üç əsas filament sistemindən təşkil olunmuşdur. Hər bir filament sistemi, zamana və məkana görə təşkil olunan və tənzimlənən subvahidlərin yığılmış polimeridir. Filamentləri əmələ gətirən subvahidlər tənzimlənən şəkildə yığılır və dağılır, hüceyrələrə lazım olan müxtəlif quruluş tiplərinin yığılması və dağılmasında dəyişkənliyi verir.

●**Mikrofilamentlər**, *aktin* zülalının aktin-birləşdirən zülalların funksional dəsti və şəbəkəsi kimi təşkil olunan polimerləridir. Mikrofilamentlər plazma membranının təşkilində xüsusən əhəmiyyət kəsb edir, onlara mikrovillərdə olduğu kimi forma və səth quruluşu verirlər. Mikrofilamentlər özləri ayrılıqda da fəaliyyət göstərə bilər və ya dartılma funksiyasını (məsələn əzələlərdə) və ya mikrofilamentlər boyunca yük daşınmasını həyata keçirən ATP-ilə işləyən myozin **motor zülalları** üçün yol rolunu oynayırlar.

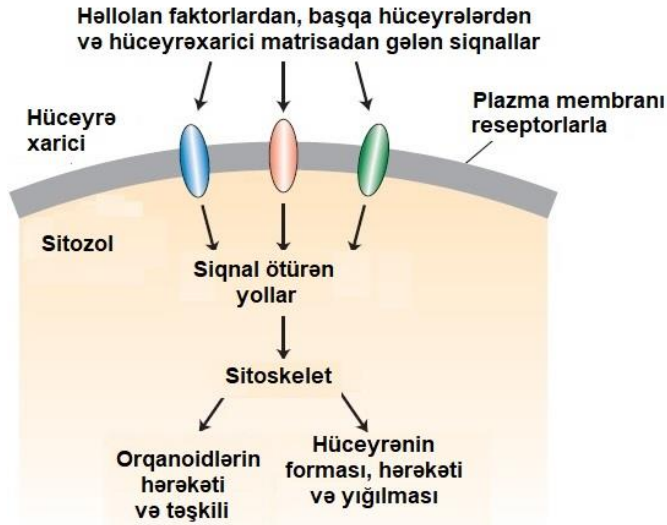
●**Mikroborucuqlar** *tubulin* zülallarından yaranan və mikroborucuq-assosiasiyalı zülallar tərəfindən təşkil olunan uzun borucuqlardır. Çox hallarda onlar bütün hüceyrə boyu uzanır və orqanoidlərdə bunlarla bağlı olan təşkil olunma çərçivəsini təmin edir və kipricik və flaqellada quruluşun saxlanılmasına kömək edir. Onlar həmçinin mitoz zamanı ikiləşmiş xromosomları ayıran mexanizmin, mitoz iyninin əsas quruluşunu təşkil edir. Kinezinlər və dineinlər adlanan motor zülalları yükü mikroborucuqlar boyu daşıyırlar, onlar da myozinlər kimi ATP hidrolizindən alınan enerji ilə təmin olunurlar.

●**Aralıq filamentlər** toxuma-spesifik filament quruluşlardır, müxtəlif funksiyaları yerinə yetirirlər, o cümlədən nüvə membranının quruluşunun saxlanılmasına kömək edirlər, hüceyrələrin toxumalarda tamlığını təmin edirlər və dəridə, tukdə və dırnaqlarda quruluş və baryer funksiyalarını həyata keçirirlər. Mikrofilamentlərdən və mikroborucuqlardan fərqli olaraq, aralıq filamentlər motor zülalları tərəfindən iz (yol) kimi istifadə olunurlar.

Şəkil 17-1-dən göründüyü kimi, müxtəlif hüceyrələr öz sitoskeletlərinin çox fərqli düzülüşünü yarada bilərlər. Bu tənzimləmələri qurmaq üçün hüceyrələr siqnalları – hüceyrəni yuya bilən həlledici anillərdən, qonşu hüceyrələrdən və ya hüceyrəxarici matrisadan gələn siqnalları hiss etməli (Şəkil 17-3) və onları aydınlaşdırırlar. Bu siqnallar, sonda sitoskelet quruluşu tənzimləyən faktorlar üzərində birləşən siqnal yollarını fəallaşdıran hüceyrə səthi reseptorları tərəfindən aşkar edilir.

Normal hüceyrə fəaliyyəti və hərəkətliyi üçün bu sitoskeletin əhəmiyyəti sitoskeletin komponentlərində və ya onun sitoskelet tənzimlənməsində hər hansı qüsurunun meydana gəldiyi zaman baş verən xəstəliklər şəkildə görünür. Məsələn, hər 500 nəfər insandan birində, ürəyin yığılma aparatına

təsiredən bir qüsür sərtliyinə və dərəcəsinə görə fərqlənən kardiomiopatiya ilə nəticələnir. Qırmızı qan hüceyrələrinin çox xəstəlikləri bu hüceyrələrin plazma membranını saxlayan sitoskelet komponentlərinə təsir edir. Metastaz verən xərçəng hüceyrələri, sitoskeletin səhv tənzimlənməsinə görə idarə olunmayan hərəkətliyə malik olur, öz yarandıqları mənbədən ayrılıb yeni bir yerə miqrasiya edərək orada nizamlanmayan inkişafı yeni koloniyaları yaradırlar.



ŞƏKİL 17-3 Sitoskelet fəaliyyətinin hüceyrə siqnalları ilə tənzimlənməsi. Hüceyrələr hüceyrəxarici matrisadan, başqa hüceyrələrdən və ya həllolan faktorlardan gələn xarici siqnalları hiss etmək üçün hüceyrə-səth reseptorlarından istifadə edirlər. Bu siqnallar plazma membranından keçərək ötürülür və spesifik sitozol siqnal yollarını fəallaşdırırlar. Siqnallar, hansıki çox zaman birdən artıq reseptordan integrasiya edirlər, sitoskeletin təşkilinə səbəb olaraq hüceyrənin formasını, eləcə də orqanoidlərin paylanmasını və hərəkətlərini təmin edirlər. Xarici siqnallar olmayan halda, hüceyrə yenə də öz daxili quruluşunun təşkilliyini saxlaya bilər, amma qütbləşmiş şəkildə deyil.

Bu və növbəti fəsildə biz sitoskeletin quruluşunu, funksiyasını və tənzimlənməsini müzakirə edirik. Biz görəyək ki, hüceyrələr öz formalarını və qütbliliyini müəyyən etmək üçün, orqanoidlərin təşkil olunmasını, hərəkətliyi təmin etmək və hüceyrənin üzməsi, sürünməsi kimi proseslərdə quruluş çərçivəsini təmin etmək üçün öz sitoskeletlərini necə təşkil edirlər. Biz, hüceyrələrin üç müxtəlif filament sistemlərini necə yığdıqlarını və siqnal ötürülməsi yollarının bu quruluşları həm lokal həm də qlobal şəkildə necə tənzimlədiklərini müzakirə edirik. Hüceyrə tsikli zamanı sitoskeletin necə tənzimləndiyi Fəsil 19-da müzakirə olunur və onun toxumaların təşkilində necə iştirak etməsi Fəsil 20-də əhatə olunur. Bu fəsildə bizim diqqətimiz mikrofilamentlərə və aktin-əsaslı quruluşlara yönəlir. Belə ki, biz ilkin olaraq sitoskelet sistemini ayrılıqda yoxlayırıq, növbəti fəsildə biz görəyək ki, hüceyrənin normal fəaliyyəti zamanı mikrofilamentlər mikroborucuqlarla və aralıq filamentlərlə birləşərək fəaliyyət göstərirlər.

17.1 Mikrofilamentlər və Aktin Quruluşlar

Mikrofilamentlər hüceyrə daxilində geniş müxtəliflikdə fərqli quruluş tiplərində yığıla bilirlər (Şəkil 17-4a). Bu geniş müxtəliflikli quruluşların hər biri xüsusi hüceyrə funksiyasının əsasını təşkil edir. Mikrofilamentlər filamentlərin nazik, barmağabənzər mikrovillilərin sıx bağı şəkildə mövcud ola bilirlər, amma onlar plazma membranının altında hüceyrənin təşkilinə kömək edən *hüceyrə qabığı* adlanan az nizamlı torlar şəkildə də tapılırlar. Epiteli hüceyrələrində, mikrofilamentlər hüceyrə ətrafında, *yapışqan kəmərlər* adlanan yığıla bilən zolağı əmələ gətirirlər, bunlar da epiteliyə möhkəmlik vermək üçün yapışqan qovşaqlarla sıx birləşirlər (bax Fəsil 20). Miqrasiya edən hüceyrələrdə, mikrofilamentlər şəbəkəsi hüceyrənin ön hissəsində, *aparıcı qırağ* və ya *filopoidiya* adlanan filamentlər bənzər uzaqaraq çıxdığı *lamellipodiyada* tapılmışdır. Çox hüceyrələr, hüceyrə miqrasiya edərkən xarici qatı yapışqan *stress lifləri* adlanan yığıla bilən filamentlərə malik olurlar (Fəsil 20-də müzakirə olunur). Makrofaqlar kimi ixtisaslaşmış hüceyrələr yığıla (sıxıla) bilən mikrofilamentlərdən patogenləri udaraq daxilə mənimsəmək və sonra daxilə dağıtmaq üçün istifadə edirlər. Aktin filamentlərin yığılmasının yüksək dinamik, qısa partlayışları *endositoz qovucuqların* plazma membranından kənara hərəkətini gücləndirir. Heyvanlarda hüceyrə bölünməsinin sonrakı mərhələlərində bütün orqanoidlər ikiləşdikdən və ayrıldıqdan sonra *sitogenez* kimi məlum olan prosədə *yığılma həlqəsi* sıxılaraq iki qız hüceyrəni yaradır. Beləliklə hüceyrələr aktin filamentləri çox proseslərdə: quruluş rolunda, aktin polimerləşməsi enerjisinin iş görülməsinə qoşulmasında və ya myozin motor üçün hərəkət yolu kimi istifadə edirlər. Şəkil 17-4b-də elektron mikrofotusu mikrovillərdəki mikrofilamentləri göstərir. Mikrofilamentlərin fərqli düzülüşü, Şəkil 17-4c-də miqrasiya edən fibroblastlarda göstərilirdiyi kimi, çox zaman eyni vaxtda bir hüceyrə daxilində mövcud olur.

Mikrofilamentlərin əsas quruluş blokları, yüksək dərəcədə geriye dönəbilən, bir yerə yığılaraq fərqli funksional uclara malik olan, qütbləşmiş filamentləri əmələ gətirmək qabiliyyətinə malik olan aktin zülalıdır. Bu filamentlər sonra aktin birləşdirən zülallarla, əvvəlki paragrafda təsvir edilmiş müxtəlif quruluşları formalaşdırır. Hüceyrənin nazik qatlı preparatlarında elektron mikroskopçular tərəfindən görünən çox nazik filamentlərdən meydana gələn *mikrofilament* adı assosiasiyada olduğu zülallarla birlikdə aktinin polimerləşmiş formasına aiddir. Bu bölmədə, biz aktin zülallarının özünə və onların yığılmaqları filamentlərə baxacağıq.

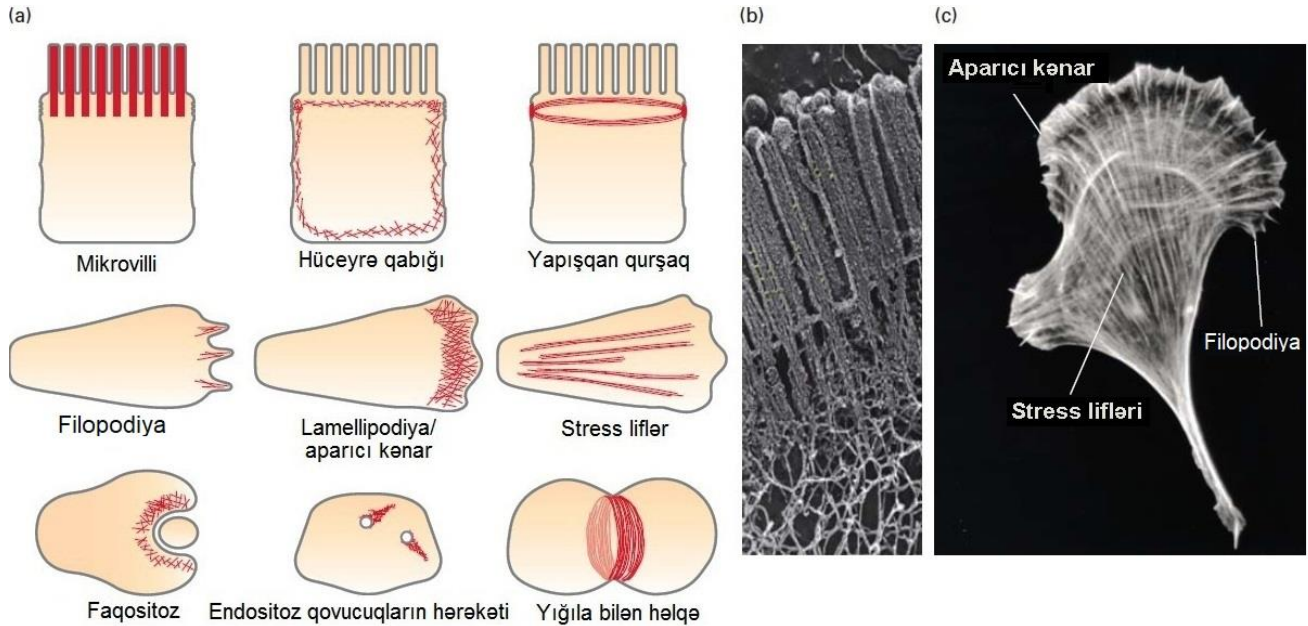
Aktin Qədimdir, Boldur və Yüksək Dərəcədə Konservativdir

Eukariot hüceyrələrdə aktin bol hüceyrədaxili zülaldır. Məsələn, əzələ hüceyrələrində aktin çəki miqdarına görə ümumi hüceyrə zülalının təxminən 10 faizini təşkil edir, hətta qeyri-əzələ hüceyrələrində aktin ümumi hüceyrə zülalının 1-5 faizini təşkil edir. Qeyri-əzələ hüceyrələrində aktinin sitozolda qatılığı 0.1-dən 0.4 mM qədər ola bilər, amma mikrovillər kimi xüsusi quruluşlarda aktinin lokal qatılığı 5 mM qədər yüksək ola bilər. Hüceyrədə nə qədər aktinin mövcud olduğunu tapmaq üçün tipik qaraciyər hüceyrəsinə baxaq, o 2×10^4 insulin reseptoru

molekuluna, amma 5×10^8 və ya yarım milyard aktin molekuluna malikdir. Onlar hüceyrə daxilində çox böyük bir hissəsini kəsb uzanan quruluşları əmələ gətirdiyindən sitoskelet zülalları hüceyrədə ən bol zülallar arasındadır.

Aktin, növlər daxilində və arasında daha çox konservativ olan zülalların yaranmasına səbəb olan böyük genlər ailəsi tərəfindən kodlaşdırılır. Ameobadan və heyvanlardan alınan aktinin zülal ardıcılığı, milyard illik təkamülünə baxmayaraq, amin turşusu yerləşməsinə görə 80 faiz oxşarlığa malikdir. Müasir eukariotlarda tapılmış çoxsaylı aktin genləri məhsulları hüceyrə divarının sintezi üçün əhəmiyyətli olan bakterial filamətləri əmələ gətirən bakterial *MreB* genlərinə yaxındır. Bəzi birhüceyrəli eukariotlar, məsələn maya və ameyoba bir və ya iki ədəd aktin geninə malikdirlər, halbuki çoxhüceyrəli orqanizmlər çox zaman daha çox sayda aktin genlərinə malik olurlar. Məsələn, insanlarda altı aktin geni vardır, bəzi bitkilərin

isə altmışdan artıq aktin geni vardır (baxmayaraq ki, əksəriyyəti funksional aktin zülalını kodlaşdırma bilməyən psevdogenlərdir). Hər bir funksional aktin geni zülalın fərqli izoformalarını kodlaşdırır. Aktin izoformalar onlardakı ümumi yükünə görə tarixən üç qrupda təsnifləşdirilirlər: α -aktin, β -aktin, və γ -aktin. Onurğalılarda dörd aktin izoforması spesifik əzələ hüceyrəsi tiplərində mövcuddur, iki izoforma isə qeyri-əzələ hüceyrələrində tapılmışdır. Bu altı izoformalar tam zülalın 375 qalıqından təxminən 25 qalıqı ilə fərqlənirlər və yaxud 93 faiz oxşarlıq göstərilirlər. Lakin bu fərqlər çox az görünür, bu üç tip izoformalar fərqli funksiyaya malikdirlər: α -aktin müxtəlif yığılıb-açılma quruluşları ilə əlaqədirlər, γ -aktin stress liflərindəki filamentlərə daxildirlər, β -aktin isə hüceyrə qabığında və hərəkətli hüceyrələrin aparıcı kənarında zəngindir.



ŞƏKİL 17-4 Mikrofilament əsaslı quruluşların nümunələri. (a) Hər bir paneldə, mikrofilamentlər qırmızı rəngdə göstərilmişdir. (b) Polyarlaşmış epitel hüceyrələrinin apikal rayonu mikrovillərin qabığını əmələ gətirən aktin filamentlərinin dəstlərini göstərir. Nümunələr tez və kəskin dondurma, dərin iz salma, fırlanan kölgələmə protokolu ilə hazırlanmış və transmissiyalı elektron mikroskopu ilə

baxılmışdır. (c) Hərəkət istiqaməti səhifənin yuxarisına doğru yönəlmişdir, göstərilən hüceyrələr F-aktinə spesifik birləşən fluoressent faloidinli aktinə görə rənglənmişdir. Bir hüceyrədə mikrofilamentlərin nə qədər müxtəlif quruluş təşkilinin mövcud olmasına diqqət yetirin. [(b) hissəsi nəzakətlə Nobutaka Hirokawa-dan; (c) hissəsi nəzakətlə J. Vic Small-dan.]

G-Aktin Monomerləri Uzun Spiral F-Aktin Polimerlərində Yığılırlar

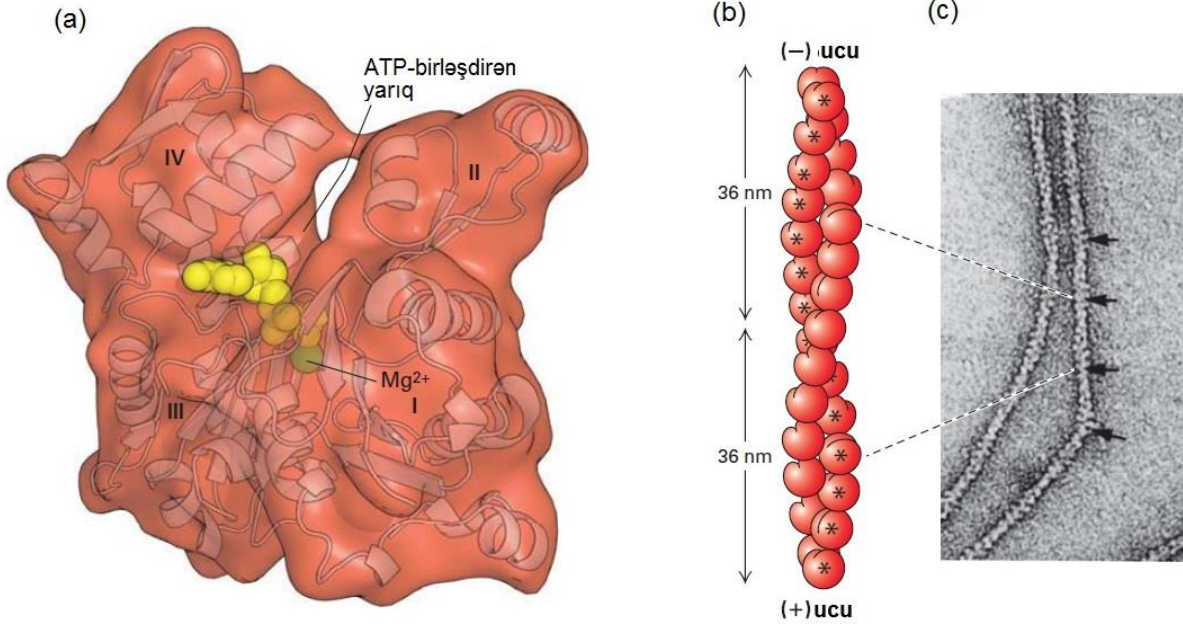
Aktin *G-aktin* kimi adlandırılan qlobulyar monomer şəkilində və *G-aktin* subvahidlərinin xətti zəncirindən ibarət olan və *F-aktin* adlanan filament (sap) şəkilli polimer şəkilində mövcud olur. Hər bir aktin molekuluna ATP və ya ADP ilə kompleksdə olan Mg^{2+} ionuna malikdir. Faktiki olaraq, aktin ATP-azadır, çünki o ATP-ni ADP və P_i hidroliz edir. Aktinin ATP və ADP formaları arasında çevrilmələrinin əhəmiyyəti aşağıda müzakirə olunur.

Rentgen-kristalloqrafiya analizləri aşkar etdi ki, *G-aktin* monomerləri dərin yarıqla iki ləpəyə ayrılır (Şəkil 17-5a). Yarıqın əsasında (dibində) ATP və Mg^{2+} birləşdiyi sayt *ATP-aza*

qatlanması yerləşir, bu da quruluşuna görə GTP-aza molekulyar keçiricilərin GTP-birləşdirən yarıqına (bax Şəkil 15-5) bənzəyir. Yarıqın dibi, ləpələrin bir-birinə nisbətən yerdəyişməsinə imkan verən asılıq rolunu oynayır. ATP və ya ADP *G-aktinə* birləşəndə, birləşmiş nukleotid molekulunun konformasiyasına təsir edir, faktiki olaraq birləşmiş nukleotid olmayanda *G* aktin sürətlə denaturasiya edir. Mg^{2+} , K^+ və ya Na^+ kimi kationların *G-aktin* məhluluna əlavə edilməsi *G-aktinin* *F-aktin* filamentlərə polimerləşməsinə induksiya edəcək. Bu proses geriye dönəndir: Məhlulun ion gücü zəifləyəndə *F-aktin* *G-aktinə* depolimerləşir. In-vitro formalaşan *F-aktini* filamentlərini hüceyrədə olan mikrofilamentlərdən fərqləndirmək olmur, bu da göstərir ki, *F-aktin* mikrofilamentlərin əsas komponentidir.

Alimlər aktin filamentlərin rentgen difraksiya tədqitlərinin nəticələrindən və aktin monomerlərin Şəkil 17-5a-da göstərilmiş quruluşundan təyin etdilər ki, aktin filamentlərin subvahidləri spiral quruluşunda düzülüşlər (Şəkil 17-5b). Bu düzülüşdə filamentlər bir-biri ətrafında dolanan iki zəncir kimi hesab edilə bilər. Bu quruluşda hər bir subvahid öz yerləşdiyi zəncirdə özündən bir subvahid yuxarıdakı və bir subvahid aşağıdakı ilə həmçinin digər zəncirdə iki subvahidlə əlaqədə olur. Bir

zəncirdəki subvahidlər başqa bir zəncirin arxa tərəfi ətrafında dolanır və 72 nm-dən və ya 14 aktin subvahiddən bir təkrarlanır. İki zəncir mövcud olduğundan, görünür aktin filament hər 36 nm-dən bir təkrar olunur (bax Şəkil 17-5b). Uranil asetatla mənfə rəngləndikdən sonra F-aktinə elektron mikroskopunda baxıldıqda o, diametri 7 və 9 nm arasında dəyişən burulmuş ip kimi görünür (Şəkil 17-5c).



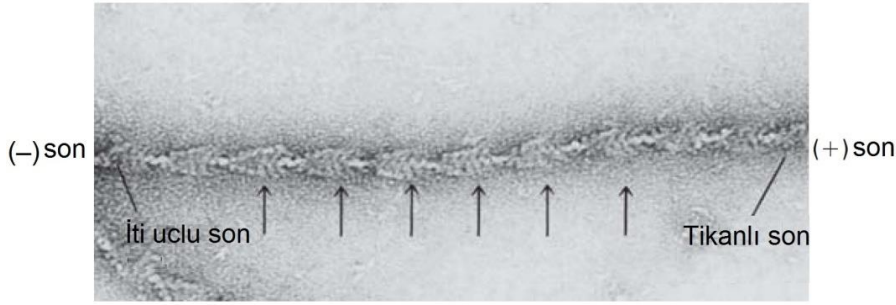
ŞƏKİL 17-5 Monomer G-aktin və F-aktin filamentlərin quruluşu.
(a) Aktin monomerinin quruluşu ($5.5 \times 5.5 \times 3.5$ nm ölçülər) mərkəzi yarıqla təxminən iki bərabər ölçülü ləpəyə və I-IV kimi nömrələnən dörd subdomnə ayrılır. ATP (qırmızı) yarığın dibində birləşmişdir və hər iki ləpə ilə əlaqəlidir (sarı rəngli şar Mg^{2+} təmsil edir). N- və C-sonluqlar I subdomnədə yerləşir. (b) Aktin filamentlər subvahidlərin iki zənciri kimi görünür. Bunların təkrarlanan vahidlərinin sayı 28 subvahiddir (hər biri zəncirdə 14, bir zəncirdəkilər * ilə işarələnmişdir), əhatə etdiyi məsafə 72 nm-dir. Hər bir aktin subvahidin ATP-birləşdirən yarığı filamentin eyni ucu istiqamətində yönəlmişdir.

Filamentin ucu açıq birləşmə yarığı (-) ilə, əks ucu isə (+) ilə işarələnmişdir. (c) Elektron mikroskopunda, mənfə (neqativ) rənglənməmiş aktin filamentlər dənəvər subvahidlərin uzun çevik və burulmuş zəncirləri kimi görünür. Burulduğuna görə filament növbələşən nazik (7 nm diametrdə) və nisbətən qalın (9 nm diametrdə) (oxlar) saplar kimi görünür. (Hüceyrədə elektron mikroskopu ilə vizuallaşdırılmış mikrofilament F-aktin filamentlər və onlara birləşmiş hər hansı zülallardır.) [(a) hissəsində verilənlər C.E. Schut et al., 1993, *Nature* 365:810, PDBID2bt, nəzakətlə M. Rozycki-dən. (c) hissəsi nəzakətlə Roger Creig, University of Massachusetts Medical School.]

F-Aktin Quruluşuna və Funksiyasına görə Polyarlıqə Malikdir

Aktin filamentin bütün subvahidləri eyni şəkildə yönəlmişdir. Belə subvahid yönəlməsinin nəticəsində filament bütövlükdə polyarlıq nümayiş etdirir, onun bir tərəfi digər tərəfindən fərqlənir. Bizim görəcəyimiz kimi, bu subvahid yönəlməsinin nəticəsi odur ki, filamentin bir ucu aktin subvahidlərinin əlavə edilməsinə meyillidir və (+) kimi işarələnir, digər ucu isə subvahid dissosiasiyasına meyillidir və (-) kimi işarələnir. (+) ucunda, sonuncu aktin subvahidin ATP-birləşdirən yarığı qonşu subvahidlə kontaktda (əlaqədə) olur, halbuki (-) ucunda, yarıq onu əhtə edən mühitə açılır (bax Şəkil 17-5b).

Rentgen kristalloqrafiyası ilə təmin edilən atom rezolyusiyası (ayırtdmə) olmadan aktin subvahidindəki yarıq və uyğun olaraq filamentin polyarlıqə aşkar oluna bilmir. Amma, aktin filamentlərin polyarlıqə, Fəsil 17-5-də müzakirə olunan motor zülalı myozinin aktin filamentlərinə xüsusi birləşdirmə imkanlarından istifadə edən “naxışlama” (“decoration”) eksperimentlərində elektron mikroskopiyə vasitəsi ilə nümayiş etdirilə bilər. Bu tipli eksperimentlərdə, myozinin aktin birləşdirən baş domeninə malik olan S1 myozin artıq miqdarda birləşmə prosesinin baş verdiyi şərait altında aktin filamentlərlə qarışdırılır. Myozin bir az əyilmiş şəkildə filamentin yan tərəfinə yapışır. Bütün aktin subvahidləri myozinlə birləşəndə, filament hamısı filamentin bir ucuna doğru istiqamətlənmiş ox başlıqları ilə “naxışlanmış” şəkildə görünür (Şəkil 17-6).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-6 Myozin S1 naxışlama aktin filamentlərin identikliyi və polyarlığını nümayiş etdirir. Myozin S1 baş domeni xüsusi yönümdə aktin subvahidlərə birləşir. Filamentdə bütün subvahidlərə birləşərkən, S1 filamenti ətrafında burulmuş kimi görünür. Myozin başlıqların bu örtüyü çoxsaylı oxbaşıqlarına-bənzər naxışları (oxlar) əmələ gətirir. Naxışların polyarlığı iti (-) ucu və tikanlı (+) ucu təyin edir. [Nəzakətə Roger Graig, University of Massachusetts Medical School.]

S1 myozinin F-aktinə birləşmək və onu örtmək qabiliyyəti eksperimental cəhətdən çox səmərəlidir, o tədqiqatçılara aktin filamentlərin polyarlığını həm in vitro həm də hüceyrə daxilində təyin etməyə imkan verdi. Ox başlıqları (-) ucuna doğru istiqamətlənmişdir, beləliklə çox zaman (-) uc aktin filamentin “yönəlmiş” ucu adlandırılır; (+) uc isə “tikanlı” sonluq kimi adlandırılır. Myozin mikroborucuqlara və ya aralıq filamentlərə deyil məhz aktin filamentə birləşdiyindən, hüceyrənin elektron mikrofotosundakı oxbaşıqları ilə naxışlanma, digər sitoskelet liflər arasında aktin filamentlərin qəti şəkildə təyin edilməsinin bir kriteriyasıdır.

17.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mikrofilamentlər və Aktin Quruluşlar

- Mikrofilamentlər müxtəlif quruluşlarda yığıla bilirlər, onların çoxu plazma membranı ilə əlaqəli olur (bax Şəkil 17-4a).
- Mikrofilamentlərin əsas tərkib blokları olan aktin eukariot hüceyrələrin əsas zülalıdır və yüksək dərəcədə konservativdir.
- Aktin geriye dönən şəkildə aktin subvahidlərinin iki spiralından təşkil olunmuş filamentlərdə yığıla bilirlər.
- Nukleotid-birləşdirən saytı (-) ucda açıq qalmaqla aktin subvahidlərinin hamısı filamentdə eyni istiqamətdə yönəlmişlər (bax Şəkil 17-5).

17.2 Aktin Filamentlərin Dinamikası

Aktin sitoskeleti aktin filamentlərinin dəstələrindən və şəbəkələrindən ibarət statik, dəyişməz bir quruluş deyil. Mikrofilamentlərin həm yığılması həm də pozulması çox mükəmməl şəkildə tənzimlənir. Bunun nəticəsində mikrofilamentlər müəyyən bir quruluşda saatlarla stabil qala bilər, halbuki başqalarında onlar yüksək dərəcədə dinamikdirlər, saniyə müddətində uzunluqlarına görə arta və ya qısala bilirlər. Aktin filamentlərin təşkilindəki bu dəyişilmələr hüceyrənin formasında güclü dəyişikliklərə səbəb olan və ya hüceyrədaxili hərəkətləri idarə edən qüvvələri yarada bilirlər. Bu bölmədə biz, hüceyrədə filamentlərin dinamik təbiətinin əsasında duran, aktin zülallarının özlərinin necə polimerləşməsinə və depolimerləşməsinə baxırıq. Biz görəcəyik ki, bir sıra aktin-birləşdirən zülallar filamentlərin stabilliyinə və pozulmasına çox əhəmiyyətli dərəcədə kömək edirlər. Növbəti bölmədə biz

filamentlərin yığılmasında hüceyrənin istifadə etdiyi mexanizmlərə və bu yığılmanın yerləşməsinin siqnal yolları ilə necə tənzimlənməsinə diqqət edirik.

Aktin Polimerləşməsi In vitro Üç Mərhələdə Gedir

F-aktin filamentlərini əmələ gətirmək üçün G-aktin monomerlərinin in vitro polimerləşməsi vizkometriya, sedimentasiya fluoressent spektroskopiyaya və ya fluoressent mikroskopiyaya ilə ekranlaşdırıla bilər (bax Fəsil 4). Aktin filamentlər kifayət qədər çox uzunadıqda, o dolaşmış vəziyyətə keçir, məhlulun viskometrədə axıcılıq qabiliyyətinin azalması kimi ölçülən özlüklüyü artır. Sedimentasiya (çökdürmə) sınağının əsasında ultrasentrifüqa ilə G-aktini deyil, F-aktini çökdürmək (30 dəqiqə müddətində 100000g) qabiliyyəti durur. Üçüncü sınaqda G-aktinin fluoressent boya ilə kovalent birləşməsi istifadə edilir, nişanlanmış G-aktin monomerinin fluoressensiya spektri, onun F-aktinə polimerləşməsi ilə dəyişir. Nəhayət, fluoressent nişanlanmış filamentlərin böyüməsi fluoressensiya vidio mikroskopiyaya vasitəsi ilə aşkar edilə bilər. Bu sınaqlar, aktin polimerləşməsinin kinetik tədqiqatları üçün və aktin-birləşdirən zülalların aktin dinamikasına necə təsir etdiyini təyin etmək və ya aktin filamentləri ilə necə çarpaz kəsişdiklərini təyin etmək mexanizmi üçün onların xarakterizə olunması məqsədi sərfəlidir.

Aktin yığılmasının (assembly) mexanizmi geniş şəkildə tədqiq olunmuşdur. Maraqlidir ki, G-aktini yüksək zülal qatılığında filamentləri əmələ gətirmədən, mühitin ATP ilə təmin olunmuş və aşağı kation qatılığının saxlanıldığı şəraitin təmin olunması ilə təmizləmək mümkündür. Amma, əvvəllər bizim gördüyümüz kimi, əgər kation səviyyəsi qalxarsa (məsələn, 100 mM K⁺ və 2 mM Mg²⁺) G-aktin polimerləşməsi, G-aktinin başlanğıc qatılığından asılı olan reaksiyanın kinetikası ilə baş verəcək. Təmizlənmiş G-aktinin in vitro polimerləşməsi üç ardıcıl fazada davam edəcəkdir (Şəkil 17-1a):

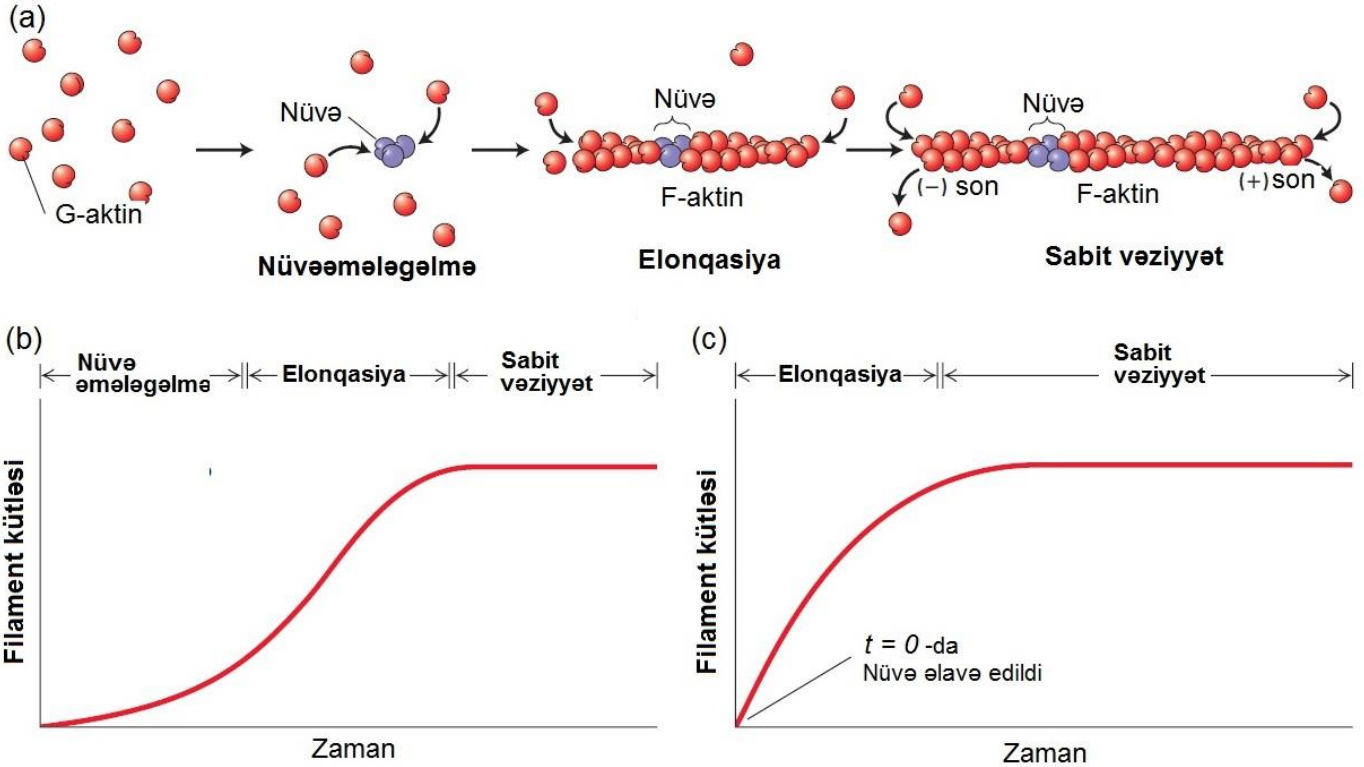
1. *Nukleasiya fazasında*, G-aktin subvahidlərinin iki və ya üç subvahidin oliqomerlərində toplandığı **laq** period ilə qeyd olunur. Oliqomerlər üç subvahid uzunluğuna çatdıqda o növbəti faza üçün toxum və ya nüvə (mərkəz) kimi fəaliyyət göstərir.
2. *Elongasiya fazasında* qısa oliqomerin uzunluğu onun hər iki ucuna doğru aktin monomerlərin əlavə olunması ilə sürətlə artır. F-aktin filamenti böyüdükcə G-aktin monomerinin qatılığı filament ucları ilə monomerlər arasında tarazlıq alınana qədər azalır və sonra sabit vəziyyət alır.

3. *Sabit vəziyyət fazasında*, G-aktin monomerləri filamentin uclarındakı subvahidlərlə mübadilə edirlər, amma filamentin ümumi uzunluğunda xalis dəyişiklik baş vermir.

Şəkil 17-7b, c-dəki kinetik əyriylər polimerləşmənin hər bir fazasında filamentin kütləsini göstərir. Biz Şəkil 17-7c-dən görürük ki, laq period nukleasiyaya görə olur, çünki o az sayda çox qısa filamentdən təşkil olunmuş F-aktin nüvələrinin (mərkəzlərin) G-aktin məhluluna əlavə olunması ilə ləğv oluna bilər.

Spontan filament toplanması üçün nə qədər G-aktin tələb olunur? Alimlər müxtəlif qatılıqda G-aktini polimerləşmə şərait

altında saxladıqda aşkar etdilər ki, müəyyən qatılıqdan aşağı filamentlər toplanma bilmir (Şəkil 17-8). Bu qatılıqdan yuxarı qatılıqda filamentlər əmələ gəlməyə başlayır və sabit vəziyyətə çatanda daha da daxil olma sərbəst subvahidlərin miqdarı filament uclarından dissosiasiya edən subvahidlərlə tarazlaşır və filamentlə monomerlərdən ibarət olan qatılıq alınır. Filamentlərin əmələ gəldiyi qatılıq ümumi *kritik qatılıq* (*critical concentration* C_c) kimi məlumdur: C_c -dən aşağı olduqda filamentlər əmələ gəlmir, C_c -dən yuxarı olduqda filamentlər əmələ gələcək. Sabit tarazlıq vəziyyətində monomer aktinin qatılığı kritik qatılıq vəziyyətində olur (bax Şəkil 17-8).



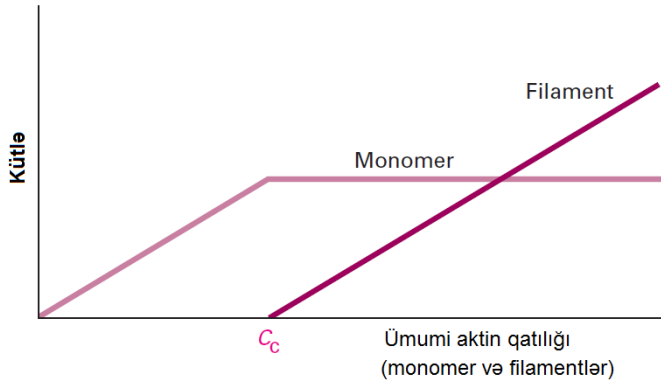
ŞƏKİL 17-7 In vitro G-aktin polimerləşməsinin üç fazası. (a) İlk nukleasiya fazasında, ATP-G-aktin monomerləri (qırmızı) yavaş-yavaş aktinin stabil komplekslərini (tünd qırmızı) yaradırlar. Bu nüvələr ikinci fazada filamentin hər iki ucuna subvahidlərin əlavə edilməsi ilə sürətlə uzanır (elonqasiya). Üçüncü fazada aktin filamentin ucları monomer G-aktinlə tarazlıqda olur. (b) in vitro polimerləşmə

reaksiyasının zaman kursu nukleasiya, elonqasiya və sabit vəziyyət fazaları ilə əlaqəli olan ilkin laq periodu aşkar edir. (c) Əgər bəzi qısa stabil aktin filamentləri fraqmentləri nüvə kimi fəaliyyət göstərmək üçün reaksiyanın başlanğıcında əlavə edilirsə, elonqasiya heç bir laq periodu olmadan dərhal başlayır.

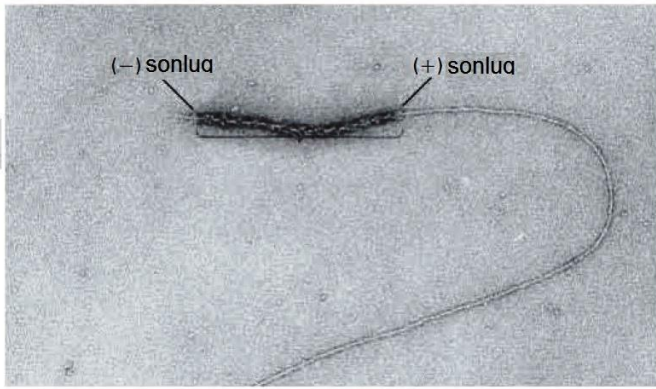
Aktin Filamntlər (-) Sonluqlara Nisbətən (+) Sonunluqlarda Sürətlə Artır

Biz əvvəllər gördük ki, myozin S1 naxışlama eksperimentləri F-aktinin məxsusi quruluş polyarlığını aşkar etdi, bu da filamentdə birformalı subvahid oriyentasiyasına görə olur (bax Şəkil 17-6). Əgər sərbəst ATP-G-aktin artıq mövcud olan myozin-naxışlanmış filamentlərə əlavə edilirsə, iki sonluq çox fərqli sürətlə uzanır (Şəkil 17-9). Faktiki olaraq, ATP-G-aktinin əlavə edilmə sürəti (+) ucunda (-) ucuna nisbətən 10 dəfə sürətlidir. Təbii ki, əlavə edilmənin sürəti sərbəst ATP-G-aktinin qatılığı ilə təyin edilir. Kinetik eksperimentlər göstərdi ki, əlavə edilmənin sürəti $12 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (+) sonluqdadır və təxminən 1.3

$\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (-) sonluqdadır (Şəkil 17-10a). Bu göstərir ki, $1 \mu\text{M}$ sərbəst ATP-G-aktin formalaşmış filamentə əlavə edilir, orta hesabla hər saniyədə 12 subvahid (+) sonluğa əlavə ediləcək, halbuki (-) sonluqda hər saniyədə bu 1.3 olacaqdır. Bəs hər bir ucdan subvahidlərin itirilmə sürəti necə olacaqdır? Bunun əksinə, ATP-G-aktin subvahidinin hər iki ucdan dissosiasiya sürəti kifayət qədər oxşardır, bu (+) sonluq üçün 1.3 s^{-1} və (-) sonluq üçün 0.8 s^{-1} -dir. Bu dissosiasiya sadəcə olaraq subvahidlərin uclardan ayrılma sürəti olduğundan, o sərbəst ATP-G-aktinin qatılığından asılı deyildir.



Çəkil 17-8 Aktinin qatılığı ilə filamentlərin əməl gəlməsinin təyini. Kritik qatılıq (C_c) G-aktin monomerinin aktin filamentlə tarazlıqda olduğu qatılıqdır. Monomerin C_c -dən aşağı olan qatılığında polimerləşmə baş vermir. Polimerləşmə monomerin C_c -dən yuxarı olan qatılığında induksiya olunarkən filamentlər sabit vəziyyətə çatana qədər toplanır və monomerin qatılığı C_c -ə düşür.



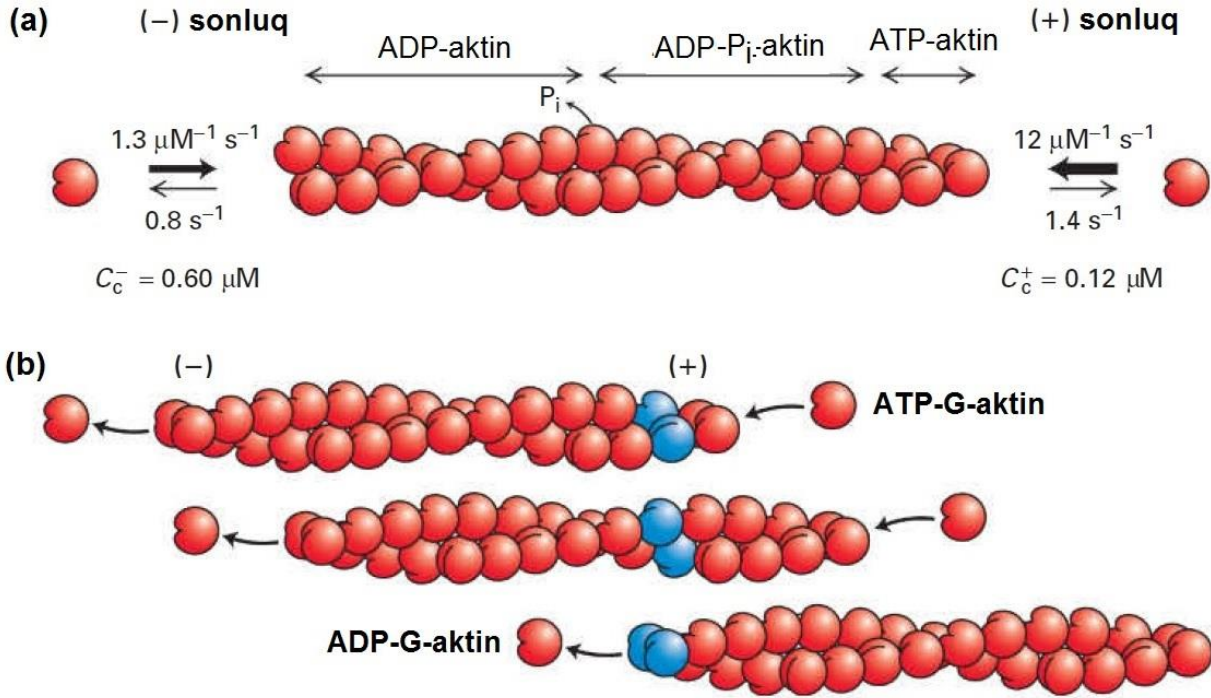
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-9 Myozinlə-naxışlanmış aktin filamentin iki ucu fərqli sürətlə böyüyür. Filamentlərin yönəmini təyin etmək üçün və sonra aktin polimerləşməsini nukleasiya etmək üçün qısa aktin filamentləri myozin S1 başlıqlarla naxışlandıqda G-aktin monomerlər (-) uclara nisbətən (+) uclara daha çox effektiv şəkildə əlavə edilir. [Nəzakətə Thomas Polland-dan.]

Bu assosasiya və dissosasiya nisbətinin aktin dinamikasına hansı təsiri vardır? Əvvəlcə yalnız bir sonluğa, (+) uca baxaq. Yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, subvahidlərin əlavə edilməsi sərbəst ATP-G-aktinin qatılığından asılıdır, halbuki subvahidlərin itirilməsi ondan asılı deyildir. Beləliklə, subvahidlər sərbəst ATP-G-aktin qatılığında yüksək dərəcədə

əlavə ediləcək, amma qatılıq aşağı endikcə əlavə olunma sürəti ilə itirilmə sürəti bir nöqtədə tarazlaşacaq və sonda xalis artım olmayacaq. Bu nöqtə (+) sonluq üçün kritik qatılıq C_c^+ adlanır və biz bunu yığılma sürətini dağılma sürətinə bərabər etməklə hesablaya bilərik. Beləliklə, kritik qatılıqda yığılma sürəti, $12 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ əlavə edilməsinin C_c^+ dəfə ölçülmüş dərəcəsi ($C_c^+ 12 \text{s}^{-1}$) olduğu halda, dağılma sürəti sərbəst aktin qatılığından asılı deyildir, yəni, 1.4s^{-1} -dir. Bu iki sürət dərəcəsinə bir-birinə bərabər etdikdə $C_c^+ = 1.4 \text{s}^{-1}/12 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ və ya $0.12 \mu\text{M}$ (+) sonluq üçün alınır. Sərbəst ATP-G-aktinin bundan yuxarı qatılığında subvahidlər (+) sonluğa əlavə edilir və xalis artım baş verir, halbuki bundan aşağı qatılıqda subvahidlər itirilir və qısalma baş verir.

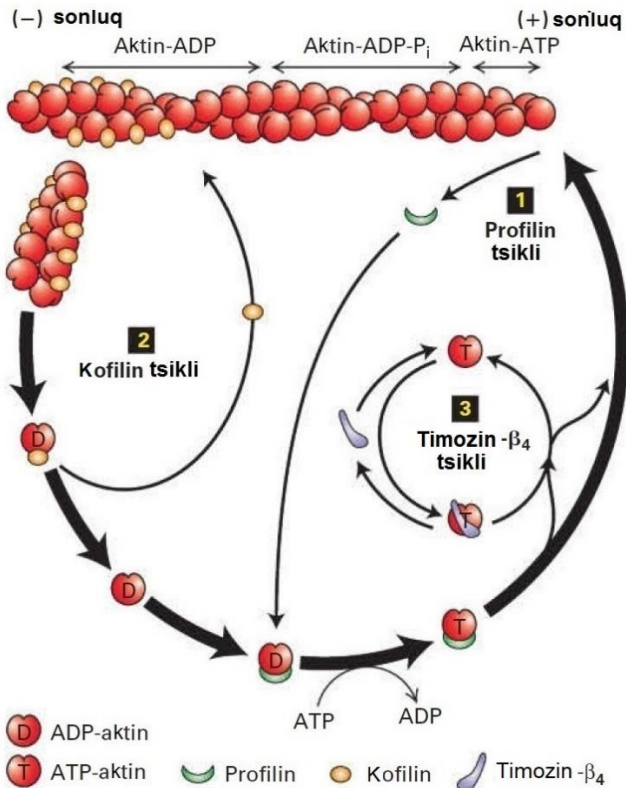
İndi yalnız (-) sonluğu nəzərdən keçirək. Subvahidlərin əlavə olunması sürəti çox aşağı, $1.3 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ olduğundan, dissosiasiya dərəcəsi, 0.8s^{-1} , təxminən eynidir, biz C_c^- kritik qatılığı (-) sonluqda C_c^+ -dən yüksək gözləyirik. Həqiqətən də, indi (+) sonluq üçün etdiyimiz kimi, biz C_c^- -ni təxminən $0.8 \text{s}^{-1}/1.3 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ kimi və ya $0.6 \mu\text{M}$ kimi hesablaya bilərik. Beləliklə, sərbəst ATP-G-aktinin $0.6 \mu\text{M}$ -dan aşağı olan qatılığında, deyək ki, $0.3 \mu\text{M}$ qatılıqda, (-) sonluq subvahidləri itirəcək. Amma, qeyd edək ki, bu qatılıqda (+) sonluq uzanacaq, çünki $0.3 \mu\text{M}$ C_c^+ -dən yuxarıdır. Hər ikisi ucun kritik qatılığı fərqli olduğundan, sabit vəziyyətdə ATP-G-aktin C_c^+ ilə C_c^- arasında orta (intermediat) olacaq, beləliklə, (+) sonluq uzanacaq (-) sonluq isə subvahidləri itirəcək. Bu hadisə *treadmilling* kimi məlumdur çünki xüsusi subvahidlər, məsələn Şəkil 17-10b-də göstərilənlər filamentərdən kəsib keçir.

Aktin filamentlərin *treadmilling*i ATP hidrolizi ilə təmin olunur. ATP-G-aktin (+) sonluğa birləşəndə ATP ADP və P_i -a hidroliz olunur. P_i filamentdə subvahiddən tədricən elə azad olur ki, filament simmetrik vəziyyət alır, (+) sonluqda ATP-aktin subvahidinin ardınca ADP- P_i -aktin gəlir və sonra P_i azad olduqdan sonra ADP-aktin subvahidi (-) sonluğa doğru yönəlir (bax Şəkil 17-10a). ATP-nin hidrolizi zamanı və ardınca da P_i -in filamentdə subvahiddən buraxılması zamanı aktin konformasiya dəyişikliyinə məruz qalır, bu da iki sonluqda assosasiya və dissosasiya dərəcəsinə fərqlərin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Biz burada yalnız ATP-G-aktinin kinetikasına baxdıq, amma həqiqətdə (-) sonluqdan ADP-G-aktin dissosasiya edir. Bizim analizlərimiz həm də ATP-G-aktinin bəli təminatına əsaslanır, bu bizim görəcəyimiz kimi, *in vivo* vəziyyətin olduğu ortaya çıxır. Beləliklə, aktin *treadmilling* etmək üçün ATP hidrolizindən alınan enerjiden istifadə edə bilər və bizim sonra görəcəyimiz kimi, filamentlərin *treadmilling*-i *in vivo* işləyə bilər.



ŞƏKİL 17-10 Aktin tredmillinqi. ATP-aktin subvahidi aktin filamentin (-) ucuna nisbətən (+) ucuna daha sürətlə əlavə edilir, nəticədə (+) ucunda aşağı kritik qatılıq əldə olunur və sabit vəziyyətində tredmillinq olur. (a) ATP-G-aktinin əlavə edilmə dərəcəsi (+) ucda (-) uca nisbətən daha çox sürətlə baş verir, halbuki ADP-G-aktinin dissosiasiya dərəcəsi hər iki ucda eynidir. Bu fərq (+) ucda aşağı kritik qatılığın olması ilə nəticələnir. Sabit vəziyyətdə ATP-aktin (+) ucda daha üstünlüklə əlavə edilir, filamentin ATP-aktinə malik olan

qısa rayonunun və (-) uc istiqamətində ADP-P_i-aktinə və ADP-aktinə malik olan rayonlarının yaranmasına səbəb olur. (b) Sabit vəziyyətdə ATP-G-aktin subvahidləri daha üstünlüklə (+) uca əlavə edilir, halbuki ADP-G-aktin subvahidlər (-) ucdan ayrılırlar, subvahidlərinin tredmillinqi səbəb olurlar. İki aktin subvahidi filament daxilində istinad nöqtəsi kimi mavi rəngdə rənglənmişlər



ŞƏKİL 17-11 Filament dövriyyəsinin aktin-birləşdirən zülallarla tənzimlənməsi. Aktin-birləşdirən zülallar aktin filamentlərin yığılmasını və dağılmasını və eləcə də polimerləşmə üçün G-aktinin mövcud olmasını tənzimləyirlər. Profilin tsiklində (1) profilin ADP-G-aktinlə birləşir və ADP-nin ATP ilə mübadiləsini kataliz edir. ATP-G-aktin-profilin kompleksi profilinin dissosiasiyası və yenidən istifadəyə göndərilməsi ilə aktini filamentin (+) ucuna çatdırır. Kofilin tsiklində (2) kofilin daha üstünlüklə ADP-aktinə malik olan filamentə birləşir, onların fraqmentlərə ayrılmasını induksiya edir və beləliklə daha çox filament sonluğunu yaratmaqla onların depolimerləşməsini gücləndirir. Timozin-β₄ tsiklində (3), profilin tsikli ilə əldə olunması mümkün edilən ATP-G-aktin onu polimerləşməkdən ayıran timozin-β₄ ilə birləşir. Polimerləşmə ilə sərbəst G-aktinin qatılığı azalan kimi, G-aktin-timozin-β₄ dissosiasiya edir sərbəst G-aktini profilinlə assosiasiya etmək və sonra da polimerləşmək üçün mümkün edir.

ATP-aktinin, ADP-P_i-aktinin və ADP-aktinin miqdarı filamentlərdə necə təyin edilir? Aktinin ATP-ə fəallığı və P_i buraxılması zəif olur, belə ki, aktin yığılmasının sürəti gücləndiriləndə (+) sonluqda ATP-aktinin miqdarı da yüksəlir. Növbəti bölmədə görəcəyimiz kimi, hüceyrələrin filamentlərin yığılmasını, eləcə də dağılmasını tənzimləyən mexanizmi var, bunun la da filament boyu nukleotid paylanmasını tənzimləyir.

Aktin Filament Tredmillinqi Profilin və Kofilinlə Sürətləndirilir

Aktin treadmillinqi dərəcəsinin in vivo ölçümləri göstərir ki, o təmiz aktinlə in vitro fizioloji şərait altında olandan bir neçə dəfə yüksək ola bilər. Treadmillinq modelinə uyğun olaraq, aktin filamentlərin in vivo böyüməsi yalnız (+) sonluqda baş verir. Gücləndirilmiş treadmillinq necə əldə olunur və hüceyrələr (-) sonluqdan dissosiasiya edən ADP-aktini (+) sonluqda yığılmaq üçün yenidən ATP-aktinə necə yükləyir? İki müxtəlif aktin-birləşdirən zülal bu prosesə mühüm yardım edir.

Bu zülallardan birincisi *profilindir*, bu kiçik zülal nukleotid birləşdirən yarığın əks tərəfindən G-aktinə birləşir. Profilin ADP-aktinlə birləşərkən o yarığı açır və ADP-nin itirilməsini güclü şəkildə sürətləndirir və onu hüceyrədə daha zəngin olan ATP ilə əvəz edir, profilin-ATP-aktin kompleksini əmələ gətirir. Bu kompleks (-) uca birləşə bilmir, çünki profilin G-aktin üzərindəki (-) yığılma saytını blok edir. Amma, profilin-ATP-aktin kompleksi effektiv şəkildə (+) sonluğa birləşə bilir və yeni aktin subvahidi birləşdikdən sonra profilin dissosiasiya edir (Şəkil 17-11). Profilinin funksiyası özlüyündə treadmillinqin sürətini gücləndirmir, amma o, azad olmuş ADP-aktindən ATP-aktinin yaranmasını təmin edir, bunun ən mühüm nərcəsi odur ki, hüceyrədə bütün sərbəst G-aktin ATP ilə birləşmiş olur.

Profilin başqa bir mühüm xüsusiyyətə də malikdir: o eyni zamanda aktinlə birləşdiyi halda ardıcılığı prolin qalığı ilə zəngin olan başqa zülalları da birləşdirə bilər. Biz sonra, bu xüsusiyyətin aktin filamentlərin yığılmasında necə fəaliyyət göstərdiyini görəcəyik.

Kofilin aktin treadmillinqinə daxil olan başqa bir kiçik zülaldır, amma o spesifik olaraq, filamentin (-) sonluğuna doğru köhnə subvahidləri olan və bu subvahidləri GDP-yə malik olan F-aktinə birləşir (bax Şəkil 17-10a). Kofilin körpü əmələ gətirməklə iki aktin monomerinə birləşir və filamentin burulmasında kiçik dəyişiklik əmələ gəlməsini induksiya edir. Bu kiçik burulma filamentin sabitliyini pozur, onu kiçik hissələrə bölür. Bu yolla filamenti qırmaqla, kofilin daha çox sərbəst (-) sonluqları yaradır, ona görə də filamentin xalis dağılmasını güclü şəkildə sürətləndirir (bax Şəkil 17-11). Sərbəst buraxılmış ADP-aktin subvahidləri sonra yenidən profilinlə yüklənir və yuxarıda qeyd edildiyi kimi (+) sonluğa əlavə edilir. Bu yolda, profilin və kofilin treadmillinqi in vitro on dəfəyə qədər, in vivo tapılmış səviyyəyə qədər gücləndirə bilər. Gözlənilə bildiyi kimi, hüceyrələr həm profilini həm də kofilini tənzimləmək üçün və bununla da filamentlərin dövrəsini tənzimləmək üçün siqnal ötürülməsi yollarından istifadə edirlər.

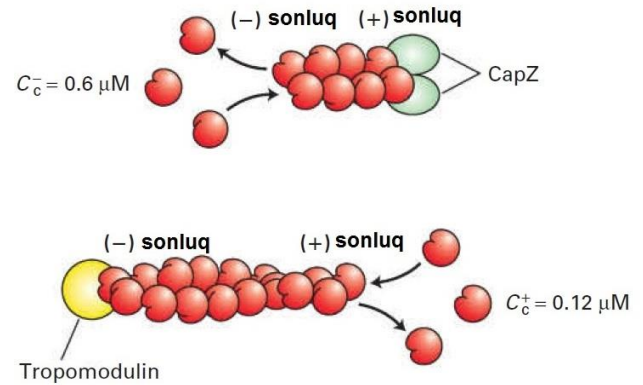
Timozin-β₄ Polimerləşmə üçün Aktin Ehtiyatını Təmin Edir

Uzun müddət məlum idi ki, hüceyrələr polimerləşməmiş aktin ehtiyatına malikdir, bəzən bu ehtiyat hüceyrədə olan bütün aktinin yarısına qədər böyük bir hissəsini təşkil edir. Hüceyrədə aktinin ümumi səviyyəsi 100-400 μM qədər yüksək olduğundan, demək olar ki, hüceyrədə polimerləşməmiş aktin 50-200 μM qədər mövcud olur. Nəyə görə hüceyrədə kritik qatılıq 0.2 μM qədər olduğu bir halda bütün bu aktinlər polimerləşmirlər? Bu sualın cavabı ən azı müəyyən qədər aktin monomerlərini ayıran zülallardadır. Bu zülallardan biri *timozin-β₄*-dür, ATP-G-aktinə birləşən bu kiçik zülal bu yolla aktin subvahidinin filamentin

istənilən sonluğuna əlavə edilməsini ingibirləşdirir. Məsələn, timozin-β₄ insanın qan trombosit hüceyrələrində çox zəngin ola bilər. Disk-formalı bu hüceyrə fraqmentləri qanda çox boldur və qan laxtalanması zamanı onlar fəallaşanda aktin zülallarının güclü şəkildə yığılmasına səbəb olurlar. Trombositlər aktinlə zəngindirilər: hesab olunur ki, onlarda aktinin ümumi qatılığı təxminən 550 μM-dır, bunların da 220 μM-ı polimerləşməmiş formadadır. Onlar həmçinin 500 μM-a yaxın timozin-β₄-ə malikdirlər, bu da sərbəst aktinin çox hissəsini tutub ayırır. Amma əksər zülal-zülal əlaqələrində olduğu kimi, sərbəst aktin və sərbəst timozin-β₄ aktin-timozin-β₄ ilə dinamik tarazlıqdadırlar. Əgər sərbəst aktinin bir hissəsi polimerləşdirmək üçün istifadə olunursa, o zaman daha çox aktin-timozin-β₄ dissosiasiya edəcək və polimerləşmək üçün sərbəst aktinin mövcud olmasını mümkün edəcək (bax Şəkil 17-11). Beləliklə, timozin-β₄ polimerləşməmiş aktin üçün bufer rolunu oynayır və ona ehtiyac olanda onu əldə ediləbilən edir.

Papaq Zülalları Aktin Filamenti Uclarının Yığılmasını və Dağılmasını Blok Edir

Aktin filamentlərin treadmillinqi və dinamikası hüceyrədə daha sonra, filamentlərin uclarına spesifik olaraq birləşən *papaq zülalları* (*capping proteins*) ilə tənzimlənirlər. Əgər bu baş verməsəydi, o zaman aktin filamentləri tənzimlənməyən böyüməkdə və dağılmaqda davam edərdilər. Gözlənilə bildiyi kimi, iki sinif zülal aşkar edilmişdir: onlardan bir sinif (+) sonluğa birləşir digər sinif isə (-) sonluğa birləşir (Şəkil 17-12).



ŞƏKİL 17-12 Filament papaq zülalları. Papaq zülalları filament uclarının yığılmasını və dağılmasını blok edir. Papaq zülalı CapZ filamentin normal uzunadığı (+) sonluğuna blok edir, beləliklə onun fəaliyyəti aktinin (-) sonluqda dinamikasını dayandırmaqdadır. Papaq zülalı tropomodulin filamentin normal şəkildə dağıldığı (-) sonluğuna blok edir, beləliklə tropomodulinin əsas funksiyası filamentləri stabiləşdirməkdir.

İki yaxın subvahiddən təşkil olunmuş, *CapZ* kimi məlum olan zülal yüksək afinitlə (~0.1 nM) aktin filamentin (+) sonluğuna birləşir və beləliklə subvahid birləşməsinə və itirilməsinə ingibirləşdirir. Hüceyrlərdə *CapZ* zülalının qatılığı əsasən yeni formalaşmış (+) sonluqları qapamaq üçün kifayət edir. Belə olan halda bəs, filamentlər (+) sonluqda necə böyüyürlər? Ən azı iki mexanizm *CapZ*-nin fəaliyyətini tənzimləyir. Birincisi, *CapZ*-nin papaq-əmələ gətirmə fəallığı,

plazma membranında tapılmış tənzimləyici fosfolipid olan fosfatidilinozitol 4,5-difosfatla [PI(4,5)P₂] (bax Fəsil 16) ingibirləşir. İkincisi, son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, müəyyən tənzimləyici zülallar (+) sonluğa birləşə bilir və onu CapZ zülaldan mühafizə edərək orada subvahid yığılmasına imkan yaradır. Beləliklə, hüceyrələr aktin filamentləri onların yığılmasının vacib olduğu zaman istisna olmaqla, onların (+) sonluqlarında yığılmasını blok edən dəqiq işləyən mexanizmi yaratmışlar.

Tropomodulin adlanan başqa bir zülal, aktin filamentlərin (-) sonluğuna birləşir, həm də onun yığılmasını və dağılmasını ingibirləşdirir. Bu zülallar, aktin filamentlərin yüksək dərəcədə stabilləşməsinin tələb olunduğu hüceyrələrdə tapılmışdır. Belə filamentlərin iki nümunəsi, hansıki biz bu fəsildə sonra qarşılaşacağıq, qırmızı qan hüceyrələrinin qabığındakı qısa aktin filamentlər və əzələlərdəki aktin filamentlərdir. Hər iki halda tropomodulin başqa bir zülalla, filament boyu yerləşərək onu stabilləşdirən tropomyozinlə işləyir. Tropomodulin həm tropomyozinə həm də (-) sonluğunda aktinə birləşir və filamenti güclü şəkildə stabilləşdirir.

CapZ ilə yanaşı başqa sinif zülallar da aktin filamentlərin (+) sonluğunda papaq ola bilir. Bu zülallar aktin zülalları qıra da bilirlər. Bu ailənin bir nümayəndəsi *gelsolin* Ca²⁺ ionlarının qatılığı ilə tənzimlənir. Ca²⁺ birləşməklə *gelsolin* konformasiya dəyişikliyinə uğrayır, bu onun aktin filamentlərinə yandan birləşməsinə və sonra özünü spiraldakı subvahidlər arasına daxil etməsinə və beləliklə də filamenti qırmasına imkan verir. Sonra o, (+) sonluqda birləşmiş vəziyyətdə qalıb papaq kimi fəaliyyət göstərir və yeni (-) sonluğu yaradır ki, bu sonluqdan da dağılma gedə bilir. Bizim sonrakı bölmədə müzakirə edəcəyimiz kimi, çarpaz aktin birləşdirən zülallar fərdi aktin filamentləri arasında əlaqələri təmin edir, F-aktin məhlulunu gel formasına keçirir. Əgər *gelsolin* belə gelə əlavə edilərsə və Ca²⁺ ionlarının səviyyəsi qaldırılsa *gelsolin* aktin filamentlərini qıracaq və geli yenidən maye məhluluna çevirəcək. Zülalın bu qabliyyətinə, geli məhlula (sol) çevirmə qabliyyətinə görə zülal *gelsolin* adlandırılmışdır.

17.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Aktin Filamentlərin Dinamikası

- Aktin filamentlərin yığılmasında sürət-məhdudlaşdırıcı mərhələ qısa aktin oliqomerlərin (nukleasiya) əmələ gəlməsidir, bunlar sonra elonqasiya edərək (uzanaraq) filamentləri əmələ gətirirlər.
- Kritik qatılıq (C_c) sərbəst G-aktin monomerlərinin filament sonluğuna əlavə edilməsi və onun həmin sonluqdan itirilməsi ilə tarazlaşdığı qatılıqdır.
- G-aktinin qatılığı C_c-dən yüksək olduqda filamentin sonluğu uzanacaq, amma o C_c-dən aşağı olanda filament qısalacaq (bax Şəkil 17-8).
- ATP-G-aktin (-) sonluğa nisbətən (+) sonluğa daha sürətlə əlavə edilir, nəticədə (+) sonluqda (-) sonluğa nisbətən aşağı kritik qatılıq yaranır.
- Sabit vəziyyətində aktin subvahidlər filamentdən keçərək tredmillinq edir. ATP-aktin (+) sonluğa əlavə edilir, sonra

ATP ADP və P_i-a hidroliz olunur, P_i itirilir və ADP-aktin (-) sonluqdan dissosiasiya edir.

- Aktin filamentlərin uzunluğu və geriyə dönməsi sürəti xüsusi aktin-birləşdirən zülallarla tənzimlənir (bax Şəkil 17-11). Profilin G-aktində ADP-nin ATP ilə mübadiləsini gücləndirir, kofilin filamentin (-) sonluğundan ADP-aktinin itirilməsi dərəcəsini gücləndirir, timozin-β₄ G-aktinə birləşərək tələb olunan zaman, ehtiyat aktini təmin edir. Papaq-əmələ gətirən zülallar filament uclarına birləşir, filamentin yığılma və dağılmasını blok edirlər.

17.3 Aktin Filamentin Yığılması Mexanizmləri

Aktin filamentin polimerləşməsinin sürət-məhdudlaşdırıcı mərhələsi, sonra filamentlərin uzanaraq yarandığı ilkin aktin nüvələrin əmələ gəlməsidir (bax Şəkil 17-7a). Hüceyrələrdə bu mərhələ aktin filamentlərin harada yığılmasına və hansı tip aktin quruluşların yaranmasına nəzarət nöqtəsi kimi istifadə edilir (bax Şəkil 17-1 və 17-4). İki əsas sinif *aktin-nukleasiya zülalları*— *formin* zülallar ailəsi və nukleasiya aktin aqreqatı *Arp2/3 kompleksi*, siqnal ötürülməsi yollarının nəzarəti altındadır. Bundan başqa, onlar müxtəlif aktin quruluşların aqreqatlarını nukleasiya edirlər: forminlər uzun aktin filamentlərin toplanmasına apardıqları halda, Arp2/3 kompleksi şaxələnməmiş şəkəlin yaranmasına səbəb olur. Biz burada bunların hər birini ayrılıqda müzakirə edirik və aktin polimerləşməsinin gücünün hüceyrənin hərəkətliyini necə idarə etdiyini görürük. Biz sonra son zamanların kəşfinə, ixtisaslaşdırılmış aktin-nukleasiya edən faktorlara toxunuruq.

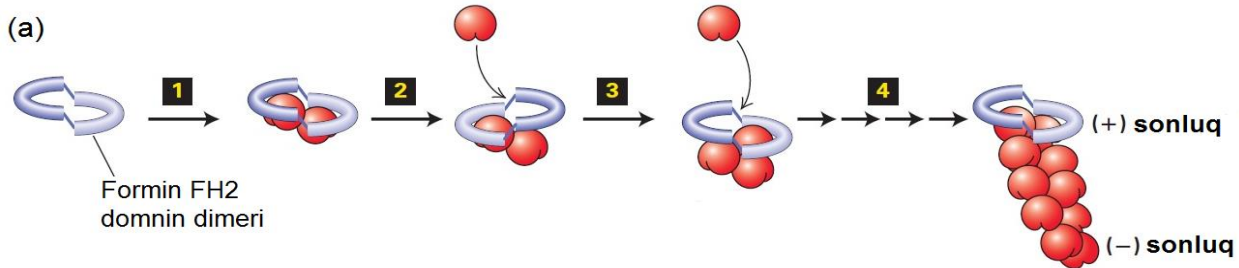
Forminlər Şaxələnməmiş Filamentləri Toplayırlar

Forminlər, zülalların çox böyük müxtəlifliyə malik olan ailəsi kimi, əsasən bütün eukariot hüceyrələrdə tapılmışdır, onurğalılarda onların yeddi müxtəlif sinifi mövcuddur. Baxmayaraq ki, onlar kifayət qədər müxtəlifliyə malikdirlər, bütün formin ailəsi nümayəndələri bir-birinə yaxın yerləşən (bitişik) iki ümumi domenə, FH1 və FH2 (formin homoloji domenlər 1 və 2) kimi adlandırılan domenlərə malikdirlər. İki fərdi formin monomerinin iki FH2 domeni assosiasiya edərək kömbə-qoğal-formalı kompleksi əmələ gətirir (Şəkil 17-13a). Bu kompleksin, iki aktin subvahidinin birləşməsi ilə, yeni yaranan filamentin (+) sonluğunu FH2 domen istiqamətində saxlamaqla aktin aqreqatlarını nukleasiya etmək qabliyyəti vardır. İndi filament, FH2 domen dimerinin ona birləşmiş vəziyyətdə olduğu müddətdə (+) sonluğundan böyüyə bilir. Bu necə mümkün olur? Bizim əvvəllər gördüyümüz kimi, aktin filamentinə bir-birinə sarınmış iki subvahid zənciri kimi baxıla bilər. FH2 dimer iki terminal subvahidə birləşə bilir. Yəqin ki, o sonra iki uc subvahid arasında sürüşür, yeni subvahidin əlavə olunması üçün birinin keçib getməsinə imkan verir, sonra yeni əlavə olunmuş subvahidə birləşir və başqa bir subvahidin o biri zəncirə əlavə olunması üçün yeri boşaldır. Bu yolla o iki uc subvahidi arasında sürüşərək birləşmiş vəziyyətdə qalır və eyni vaxtda (+) sonluqda böyüməyə imkan yaradır (bax Şəkil 17-13a).

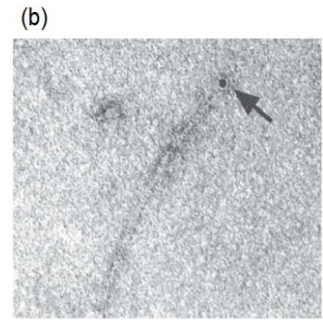
FH2 domenə bitişik olan FH1 domeni də aktin filamentin böyüməsinə çox əhəmiyyətli kömək edir (Şəkil 17-14). Bu

domen, bir neçə profilin molekulunun birləşmə saytı rolunu oynayan prolin qalıqları ilə zəngindir. Biz əvvəllər profilin-ATP-G-aktini yaratmaq üçün profilin G-aktində ADP nukleotidini ATP ilə necə dəyişdiyini müzakirə etdik. FH1 domeni profilin-ATP-G-aktin üçün eniş saytı rolunu oynayır və bu kompleksin lokal qatılığını artırır. Sonra aktin filamentin (+) ucuna əlavə olunmaq üçün profilin-aktin komplekslərindən FH2 domenə verilir və profilin azad olur (bax Şəkil 17-14). Formin aktin subvahidlərinin sürətlə (+) sonluğa əlavə edilməsinə imkan

verdiyindən, (+) sonluqda formin olan uzun filamentlər yaranır (Şəkil 17-13b). Bu qayda ilə, forminlər yalnız aktin yığılmasını nukleasiya etmirlər, onlar həm də (+) uca birləşmiş vəziyyətdə qalmaq kimi nəzərə çarpacaq qədər mühüm qabliyyətlə malikdirlər və eyni zamanda orada sürətlə yığılmaya imkan verirlər. Filamentlərin fasiləsiz davam edən böyüməsini təmin etmək üçün forminlər (+) sonluğa elə birləşirlər ki, normal halda toplanmanı (aqrəqat əmələ gəlməni) dayandıran CapZ kimi papaq zülallarının (+) sonluğa birləşməsinə mane olurlar.



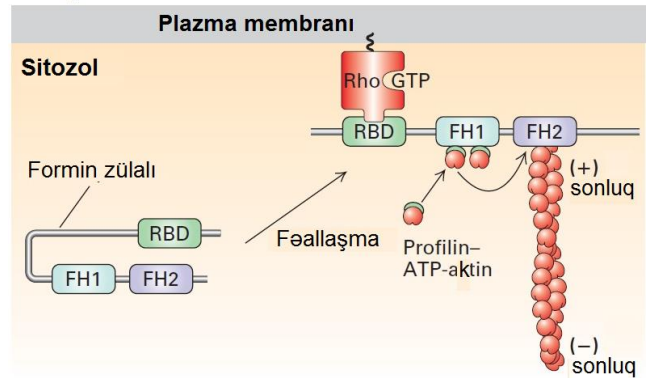
ŞƏKİL 17-13 Formin FH2 domeni ilə aktinin nukleasiyası. (a) Forminlər dimer əmələ gətirə bilən və filament yığılmasını nukleasiya edən FH2 adlanan domenə malikdirlər. Dimer iki aktin subvahidini birləşdirir (pillə 1) və geriye-qabağa yellənərək (yırğalanaraq) (pillə 2-4) FH2 domenlə böyüməkdə olan filamentin (+) sonluğuna əlavə subvahidlərin daxil edilməsinə imkan yaradır. FH2 domen (+) sonluğuna papaq zülalları ilə qapanmaqdan qoruyur. (b) Forminin FH2 domeni kolloid qızılla nişanlanıb (qara nöqtələr) və aktin filamentlərinin yığılmasının nukleasiyasında istifadə edilmişdir. Əmələ gələn filament uranil asetatla boyandıqdan sonra, elektron mikroskopunda vizuallaşdırılmışdır. Forminlər uzun şaxələnməmiş filamentləri əmələ gətirirlər. (b) hissəsi AAAS icazəsi ilə, Pryne et al., "Role of formines in Actin assembly Nucleation and Barbed-End Association", *Science* 279:612, 2002-dən yenidən çap olundu; razılıq Copiright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alındı.]



Hüceyrəyə faydalı olmaq üçün forminin fəallığı tənzimlənə bilər. Çox forminlər zülalın birinci yarımhissəsi ilə onun C-sonluq quyruğu arasındakı qarşılıqlı əlaqə nəticəsində bükülmüş qeyri fəal vəziyyətdə olurlar. Bu forminlər membrana birləşmiş, Ras sinifindən olan (17-7 bölməsində müzakirə olunur) Rho-GTP ilə fəallaşır. Rho özünün qeyri fəal Rho-GDP vəziyyətindən fəal, membrana birləşmiş-Rho-GTP vəziyyətinə keçəndə bu forminlərə birləşərək onları fəallaşdırır. (bax Şəkil 17-14).

Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, forminlər əzələ hüceyrələrində, stress liflərində, filopodlarda və sitokinez zamanı əmələ gələn dartılan halqa kimi (bax Şəkil 17-4) uzun aktin filamentlərinin yığılmasını həyata keçirirlər. Forminlərin aktin-nukleasiya edən rolu yalnız son zamanlar aşkar edilmişdir, beləliklə geniş müxtəlifliyə malik olan bu zülallar sinifinin yerinə yetirdiyi rol yalnız indi aşkar edilir. Heyvanlarda çoxsaylı formin sinifləri olduğundan, çox güman ki, forminlər başqa aktin-əsaslı quruluşların yığılmasında da aşkar ediləcəkdir.

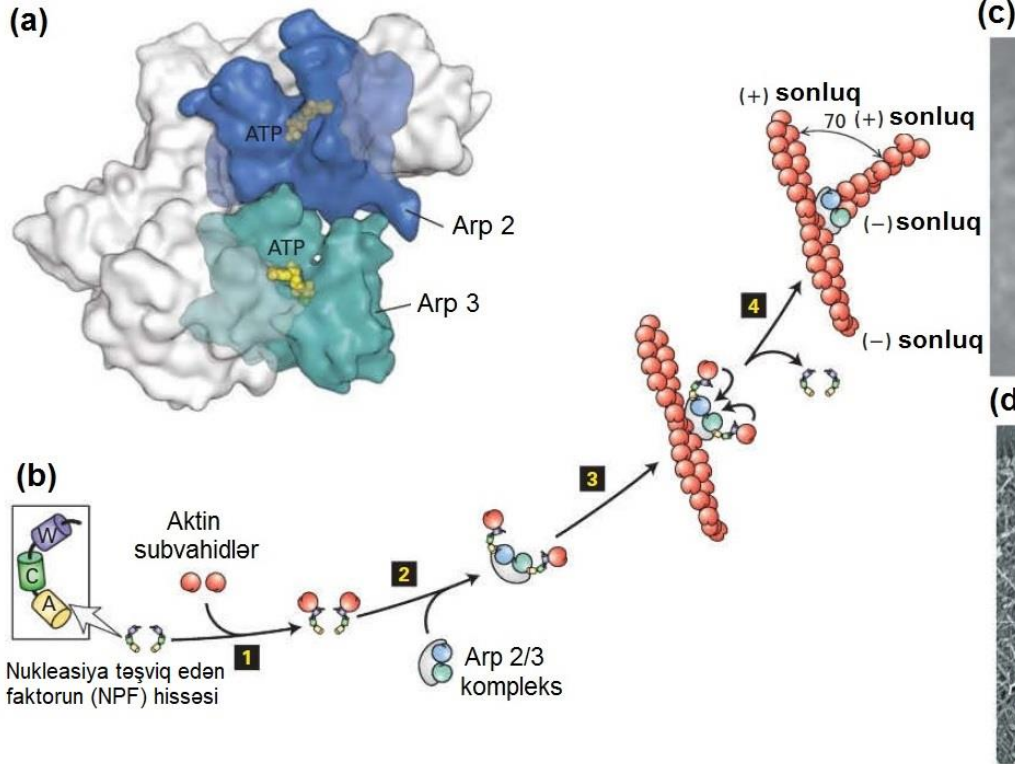
Hüceyrə xarici



ŞƏKİL 17-14 Formin fəallığının molekul daxili təsirlərlə tənzimlənməsi. Onurğalılarda tapılmış bəzi formin sinifləri molekul daxili təsirlərlə tənzimlənir. Formin qeyri-fəal vəziyyətində geriye, özünə qatlanaraq FH2 domeninin fəallığını ingibirləşdirir. Qeyri-fəal forminin Rho-birləşdirən domeni (RBD) membrana birləşmiş fəal Rho-GTP ilə birləşərək fəallaşır, nəticədə forminin FH2 domeni açılmış vəziyyət alır və sonra yeni aktin filamentləri nukleasiya edir. Bütün forminlər FH2 domenə bitişik olan FH1 domeninə malikdirlər, prolinlə-zəngin olan FH1 domeni profilin-ATP-G-aktin komplekslərinin səfərbər olunması saytıdır və sonra böyüyən (+) sonluğa verilir. Təsvirin sadəliyi üçün tək bir formin zülalı göstərilmişdir, amma Şəkil 17-13-də göstəriləndiyi kimi, FH2 domeni aktin yığılmasının nukleasiya olunması üçün dimer kimi fəaliyyət göstərir. Kiçik GTP-azaların Rho ailəsinin tənzimlənməsinin detalları Şəkil 17-41 və 17-43-də verilmişdir.

Arp2/3 kompleksi Şaxələnmiş Filament Aqreqatını Nukleasiya Edir

Arp2/3 kompleksi yeddi subvahiddən ibarət olan zülal maşındır, subvahidlərdən ikisi aktinlə əlaqəli zülaldır (*actin related protein*) (Şəkil 17-15a). O bütün eukariotlarda, o cümlədən bitki, maya və heyvan hüceyrələrində tapılmışdır. Arp2/3 kompleksi təklidə çox zəif nukleatordur. Şaxələnmiş aktin aqreqatlarını nukleasiya etmək üçün Arp2/3 kompleksi, mövcud olan aktin



ŞƏKİL 17-15 Arp2/3 kompleksi vasitəsi ilə aktin nukleasiyası. (a) Arp2/3 kompleksinin rentgen-kroştalloqrafiya ilə alınan quruluşu, beş subvahid boz rəngdə, Arp2 və Arp3 subvahidləri müvafiq olaraq yaşıl və mavi rənglərdədir. (b) Aktin yığılmasını səmərəli şəkildə nukleasiya etmək üçün, Arp2/3 NPF-in burada göstərilmiş W (WH2), C (connector – birləşdirici) və A (acidic – turş) fəallaşdırıcı hissələri ilə əlaqədə olmalıdır. Birinci pilləyə (1) hər bir NPF-in W domeninə aktin subvahidlərinin birləşməsi daxildir. Sonra iki NPF-aktin kompleksi Arp2/3 kompleksi ilə birləşir (pillə 2). Bu qarşılıqlı təsir Arp2/3 kompleksində konformasiya dəyişməsinə səbəb olur. Arp2/3 kompleksinin aktin filamentin yan tərəfinə birləşməsindən sonra, aktin subvahidləri W domenləri ilə birləşmək üçün Arp2/3 kompleksinə ötürülür (pillə 3), hansı ki, sonra, mövcud olan (+) sonluqda aktin

Arp2/3 kompleksi və NPF-lər aktin filamentin yığılmasını necə nukleasiya edirlər? İki NPF-in hər biri aktin subvahidinin WH2 domenlərinə birləşir və onlar birlikdə Arp2/3 kompleksini onun birləşdirici və turş domenləri ilə əlaqəyə girərək fəallaşdırırlar. Qeyri fəal Arp2/3 kompleksində iki aktinə-yaxın polipeptidlər — Arp2 və Arp3 — filament aqreqatlarını nukleasiya edə bilmək üçün səhv konfigurasiyadadırlar (bax Şəkil 17-15b, pillə 2). Arp2 və Arp3 NPF-lər vasitəsi ilə fəallaşanda düzgün konfigurasiyaya keçirlər və bu kompleks artıq mövcud olan aktin filamentin yan tərəfinə birləşir. NPF-

filamentin yan tərəfi ilə birləşməyə yanaşı *nukleasiyanı təşviq edən faktorla (nucleation promoting factor–NPF)* qarşılıqlı əlaqəyə girərək fəallşmalıdır. Baxmayaraq ki, çoxsaylı müxtəlif NPF-lər mövcuddur, əsas NPF ailəsi WCA (WH2, connector, acidic) adlanan rayonun olması ilə xarakterizə olunur. Eksperimentlər göstərdi ki, əgər WCA domeni aktin yığılması sınağında əvvəldən əmələ gəlmiş aktin filamentləri ilə birlikdə əlavə edilərsə, o zaman Arp2/3 sonrakı aktin yığılmalarının güclü nukleatoruna çevrilir.

filamentin yığılması baş verir (pillə 4). Arp2/3 şaxəsinə köhnə və yeni filamentlər arasında xarakterik 70° bucağı əmələ gətirir. (c) Aktin şaxəsində Arp2/3-ün bir neçə elektron mikrofotosundan toplanaraq alınmış ortalama təsviri. (d) Hərəkətdə olan hüceyrənin aparıcı ucunda aktin filamentlərinin fərdi şaxələnmiş filamentlərlə böyüdülmüş və rənglənmiş təsviri. [(a) hissəsindəki verilənlər B.J. Nolen and T.D. Pollard, 2007, *Mol. Cell* 26:449-457, PDB ID2p9t-dən; (c) hissəsi Eglie C., Rouiller L., Xu X-P., VolkmanN., Li R. et al., 2005, Mechanism of filament nucleation and branch stability revealed by the structure of the Arp2/3 kompleks at actinbranch junctions. *Plas Biol.* 3(11): e383-dən; (d) hissəsi ©1999 Tatyana Svitkina, Gary Borisi et al., *J. Cell Biol.* 145:1009-1026. Doi:10.1083/jcb.145.5.1009-dan.]

lərin WH2 domenləri ilə gətirilən aktin subvahidlər filamentin (+) sonluqda yığılmasını nukleasiya etmək üçün Arp2/3 templeyətə birləşirlər (Şəkil 17-15b). NPF-lər buraxılır və sonra yeni (+) sonluq, ATP-G-aktinin mövcud olduğu müddətdə və ya (+) sonluq CapZ kimi papaq zülalları ilə tutulduğu ana qədər böyüyür. Köhnə filamentlə yeni filament arasında bucaq 70°-dir (Şəkil 17-15c). Bizim növbəti bölmələrdə müzakirə etdiyimiz kimi, Arp2/3 kompleksi hüceyrədaxili hərəkətləri gücləndirmək üçün aktin polimerləşməsinin idarə olunmasında istifadə oluna bilər.

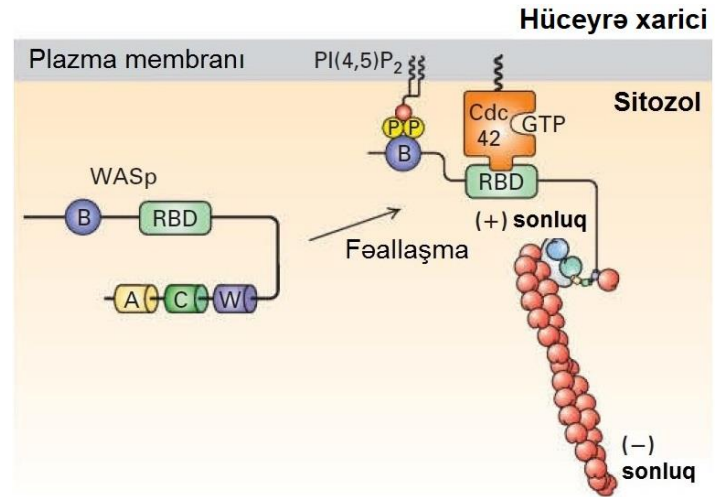
Arp2/3 kompleksi tərəfindən aktinin nukleasiya olunması incə nəzarət olunur və NPF-lər bu tənzimləyici prosesin bir hissəsidirlər. Bir NPF, eqzema, aşağı trombosit sayı və immun çatışmazlığı ilə xarakterizə olunan X-əlaqəli xəstəlik Viskot-Aldriç sindromlu xəstələrinde qüsurlu olduğu üçün WASp adlanır. WASp bükülmüş qeyri fəal konformasiyada olur, bu da onun WCA domenini əlçatmaz edir (Şəkil 17-16). Çox əhəmiyyətlidir ki, bu zülal yalnız plazma membranında fəallaşsın və onun fəallaşması iki siqnalı tələb edir. Bir siqnal tənzimləyici fosfolipidin, PI(4,5)P₂-nin olmasıdır, o xarakterik olaraq plazma membranında zənginləşmiş vəziyyətdə olur (Fəsil 16). WAS PI(4,5)P₂-i əsas domeni vasitəsi ilə birləşdirir. İkinci siqnal, siqnal yoluna cavab olaraq fəallaşan kiçik GTP-birləşdirən zülal Cdc42-nin fəallaşmış formasının birləşməsidir (müzakirəsi 1.7 bölməsində). Bu tipli, *təsadiüfi aşkarlama* (*coincidence detection*) adlanan iki-siqnalı giriş, zülalın düzgün yerdə - plazma membranında və düzgün siqnal yolu ilə fəallaşmasını təmin edir. İki giriş siqnalına birləşdikdən sonra, WASp açılır və WCA domeni əlçatan olur.

Başqa bir mühüm NPF, WAVE adlanan böyük zülal kompleksidir, o da həmçinin Arp2/3 kompleksini fəallaşdıran WCA domeninə malikdir. WAVE həmçinin turş fosfolipidlərin birləşməsi ilə və başqa kiçik GTP-birləşdirən zülal Ras1-in fəal forması ilə fəallaşır. Bizim 17.7 bölməsində müzakirə etdiyimiz kimi, Arp2/3 kompleksinin WASp vasitəsilə Cdc42 ilə və WAVE vasitəsilə Rac1 ilə fəallaşması müxtəlif mikrofilament əsaslı quruluşların əmələ gəlməsini induksiya edir.

Forminlər və Arp2/3 kompleksinin göbələklərdə, bitkilərdə və heyvanlarda tapılmasına baxmayaraq, son zamanlar heyvan hüceyrələrində başqa aktin nukleatorlar da aşkar edilmişdir. Bunlardan **Spire** adlanan biri dörd tandem WH2 domenlərinə malikdir, beləliklə o dörd aktin monomerinə birləşə bilər. O bunu, aktinlərin filament daxilinə yığılmasına imkan verən üsulla edir, hərçənd ki, bunun dəqiq mexanizmi hələ tam aydın deyildir. Aktin filamentlərinin hüceyrədə bu qədər çoxsaylı funksiyaları həyata keçirməsini nəzərə alsaq, son zamanlar əlavə NPF zülalların və aktin nukleatorların aşkar edilməsi təccüblü deyildir.

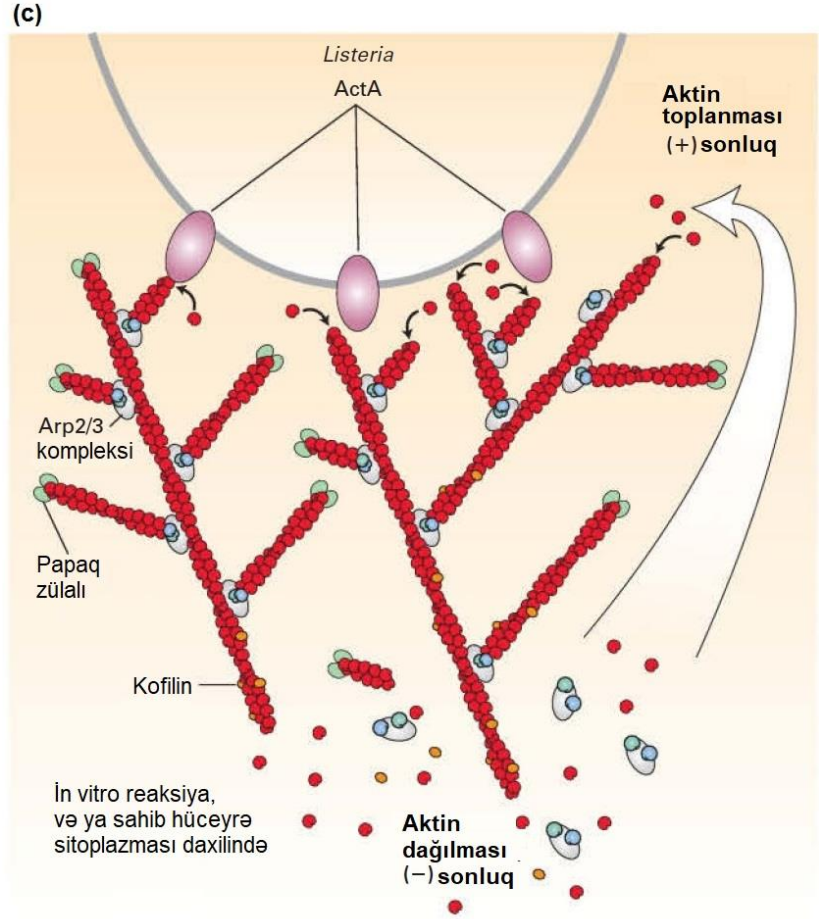
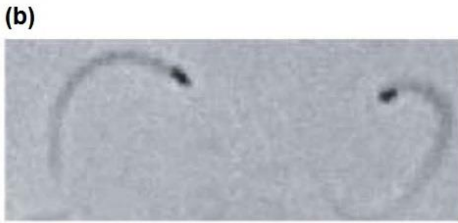
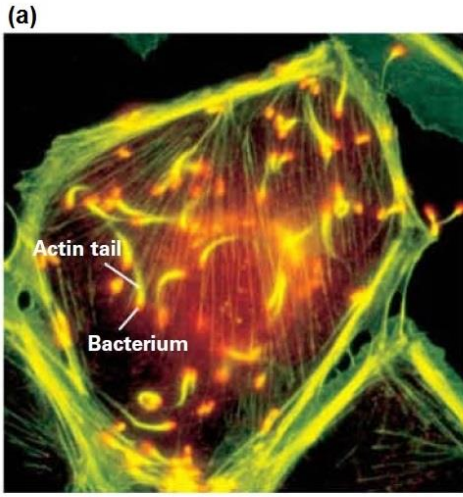
Hüceyrədaxili Hərəkətlər Aktinin Polimerləşməsi ilə Təmin Edilə Bilir

Aktin polimerləşməsi iş görülməsində necə istifadə edilə bilər? Bizim gördüyümüz kimi, aktin polimerləşməsində aktin-ATP-nin aktin-ADP-yə hidrolizi baş verir, bu aktinin daha böyük üstünlüklə (+) sonluq istiqamətində böyüməsinə və (-) sonluq istiqamətdə dağılmasına imkan verir. Əgər sitoskelet şəbəkəsində aktin filamentini tutub fiksə etmək mümkün olsaydı və siz (+) sonluqda ona birləşsə və onu sürə bilsəydiniz, o zaman siz bütün hüceyrədən keçib daşınmalıydınız. Bu məhz hüceyrədaxili bakteriyal parazit *Listeria monocytogenes*-in hüceyrənin ətrafında dolaşmaq üçün etdikləridir. Faktiki olaraq, *Listeria*-nın hərəkətililiyinin öyrənilməsi Arp2/3 zülalının nukleasiya fəallığının aşkar edilməsi üçün bir yol olmuşdur. Biz tezliklə görəəcəyik ki, *Listeria* normal hüceyrə hərəkətililiyi prosesini öz məqsədi üçün oğurlamışdır. Biz ilk növbədə *Listeria*-nı müzakirə edirik, çünki o, oxşar mexanizmlərin istifadə etdiyi normal proseslərdən daha yaxşı öyrənilmişdir.



ŞƏKİL 17-16 Arp2/3 kompleksinin WASp və PI(4,5)P₂ vasitəsi ilə tənzimlənməsi. WCA domenini maskalayan molekul daxili qarşılıqlı təsire görə NPF WASp qeyri fəaldır. O *təsadiüfi aşkarlama* mexanizmi ilə fəallaşır: o həm əsas domeni (B) vasitəsi ilə tənzimləyici fosfolipid PI(4,5)P₂-ə, həm də onun Rho-birləşdirən domeni (RBD) vasitəsi ilə membrana birləşmiş fəal kiçik G zülalı Cdc42-GTP-yə (Rho ailəsinin nümayəndəsi) birləşməlidir. Bu yolla fəallaşarkən, WASp-da molekul daxili qarşılıqlı təsir buraxılır, Arp2/3 kompleksini fəallaşdırmaq üçün W domeninə imkan verilir ki, aktinə və turş A domeninə birləşsin. Sadəlik üçün yalnız tək NPF-Arp2/3 qarşılıqlı təsir göstərilir. Kiçik GTP-azanın Rho ailəsinin tənzimlənməsinin detalları Şəkil 17-41 və 17-43-də verilir.

Listeria qida ilə yaranan patogen olub əksər yetkin adamlarda müəlim mədə bağırsağ simptomlarına səbəb olur, amma qocalarda, immun sistemi zəif olan fərdlərdə çox ağır (öldürücü) ola bilər. O heyvan hüceyrələrinə daxil olur və sitoplazmada bölünür. Bir sahib hüceyrədən digərinə keçmək üçün o aktini roket arxasındakı lələk kimi komet quyruqda polimerləşdirməklə hüceyrə ətrafında hərəkət edir (Şəkil 17-17a, b) və o plazma membranına daxil olarkən yoluxdurmaq üçün qonşu hüceyrəyə keçir. Bunu etmək üçün o sahib-hüceyrə aktin yığılmasını öz arxasınca istiqamətləndirməli, eyni zamanda aktin yığılmasını elə davam etməlidir ki, bakteriyayı səmərəli şəkildə irəliyə (qabağa) itələsin. O bunu necə edir? *Listeria* öz səthində ActA adlanan zülalə malikdir və bu zülal özünü aktin birləşdirən sayta və Arp2/3 kompleksini effektiv şəkildə fəallaşdıran turş rayonu ilə NPF-ə bənzədir (Şəkil 17-17c). ActA zülalı həmçinin sahib hüceyrənin VASP kimi məlum olan və üç əhəmiyyətli xassəyə malik olan zülalına birləşir. Birincisi, VASP prolinlə zəngin rayona malikdir, bu rayon asanlıqla profilin-ATP-aktinlə birləşir, beləliklə ATP-aktinin Arp2/3 kompleks vasitəsi ilə yeni yaranmış iti uclara yığılmasını gücləndirir. İkincisi o, yeni əmələ gəlmiş filamentin ucundan tuta bilər. Üçüncüsü, o böyüyən filamentin onun (+) sonluğunun papaq zülalı CapZ tərəfindən tutulmasından mühafizə edir. Bu xassələr VASP-a imkan verir ki, aktin yığılmasını gücləndirsin və bakteriyanın ardınca davam edib uzansın. Filamentin yığılması bakteriyayı itəyir. Filamentlər hüceyrədə stasionar skelet matrisasına yükləndiyindən *Listeria* hüceyrəsi polimerləşməkdə olan filamentin önündə qabağa itələnmiş olur. *Listeria* hərəkətiliyi üçün minimum nələrin tələb olunduğunu



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-17 *Listeria* hüceyrədaxili hərəkət üçün aktin polimerləşməsinin gücündən istifadə edir. (a) Bakteriyal səth zülalına (qırmızı) spesifik anticisimlə boyanmış və F-aktinin (yaşıl) lokalizasiyası üçün flüoressent falloidinlə rənglənmiş kultura olunan hüceyrənin flüoressensiya mikroskopiyası. Hər bir *Listeria* bakteriyasının ardındakı bakteriyamı aktin polimerləşməsinin önündə aparan aktin "komet quyruğu"dur. Bakteriya plazma membranına daxil olanda o membranı filopodium kimi quruluşdan xaricə itələyir və qonşu hüceyrə daxilinə dik çıxarır. (b) *Listeria*-nın hərəkətliyi bakteriya tərəfindən və yalnız dörd zülal – G-aktin, Arp2/3 kompleksi, CapZ və kofilin ilə in vitro bərpa edilə bilər. Bu faza-kontrast mikrofoto bakteriyamı (qara) göstərir, arxasındakılar isə faza-sıx aktin quyruqlardır. (c) *Listeria*-nın yalnız dörd zülaldan istifadə edərək hərəkət etdiyi model. Bakterial hüceyrə səthində ActA zülalları artıq

mövcud olan filamentlərdən yeni filament aqreqatlarını nukleasiya etmək üçün Arp2/3 kompleksini fəallaşdırır. Filamentlər başları CapZ papaq zülalla qapanana qədər (+) sonluqlarında böyüyürlər. Aktin, filamentin (-) sonluğunda depolimerləşməni gücləndirən kofilin fəaliyyəti ilə yenidən istifadəyə qoşulur. Bu münvalla, polimerləşmə bakteriyamın arxası ilə məhdudlaşır və bakteriyamı irəliyə itələyir. In vitro hərəkətlik üçün əhəmiyyətli olmasa da, VASP zülalı (burada göstərilmir), məndə təsvir edildiyi kimi, hərəkətliyi gücləndirmək üçün ActA ilə in vivo birləşir. [(a) hissəsi nəzakətlə Julie Theriot and Timoty Michison tərəfindən; (b) hissəsi, Macmillan Publishers Ltd. razılığı ilə: Loisel, T. Et al., "Reconstitution of actin based motility of *Listeria* and *Shigella* using pure proteins", *Nature*, 1999, **401**:613-616-dan yenidən çap olunmuşdur].

təyin etmək üçün tədqiqatçılar *Listeria* hərəkətliyini təmizlənmiş zülaldan istifadə edərək sınaq şərtlərində qurdular. Təəccüblüdür ki, yalnız dörd zülal: ATP-G-aktin, Arp2/3 kompleksi, CapZ və kofilin (bax Şəkil 17-17b, c) əlavə edildikdən sonra bakteriyalar hərəkət edir. Biz aktinin və Arp2/3-ün rolunu müzakirə etdik, bəs CapZ və koflin nəyə görə lazımdır? Bizim əvvəllər gördüyümüz kimi, CapZ aktin filamentlərdə sərbəst (+) sonluğu papaq zülalla qapayır, beləliklə böyüyən filament bakteriyal hərəkətə artıq kömək edə bilməyində sürətlə onun başı qapanır və daha sonra elonqasiya etmədən ingibirləşir. Bu münvalla, yığılma əsasən bakteriyaya çox yaxın hissədə baş verir, o yerdə ki, ActA Arp2/3 kompleksini stimullaşdırır. Koflin, polimerləşmə tsiklinin davam etdirilməsinə görə sərbəst aktinin yaradılması üçün, aktin

filamentin (-) sonluğunun dağılmasını sürətləndirmək üçün lazımdır (bax Şəkil 17-11). Hərəkətliyin belə minimal sürəti, yuxarıda qeyd edilmiş VASP və profilin kimi digər zülalların iştirakı ilə artırıla bilər.

Hüceyrələrin daxilinə keçmək üçün *Listeria* bakteriyası və eləcə də *Shigella* kimi başqa fürsətçil (opportunistic) bakteriyalar dizenteriyaya səbəb olur, hüceyrə hərəkətliyinə daxil olan normal, tənzimlənən hüceyrə proseslərini zəbt edir. Bizim sonrakı bölmələrdə (Bölmə 17-7) detalları ilə müzakirə etdiyimiz kimi, hərəkət edən hüceyrələr hüceyrə önündə aparıcı kənar adlanan nazik sitoplazma təbəqəsinə malikdirlər (bax Şəkillər 17-1c, 17-4 və 17-15). Sitoplazmanın bu nazik təbəqəsi hüceyrə

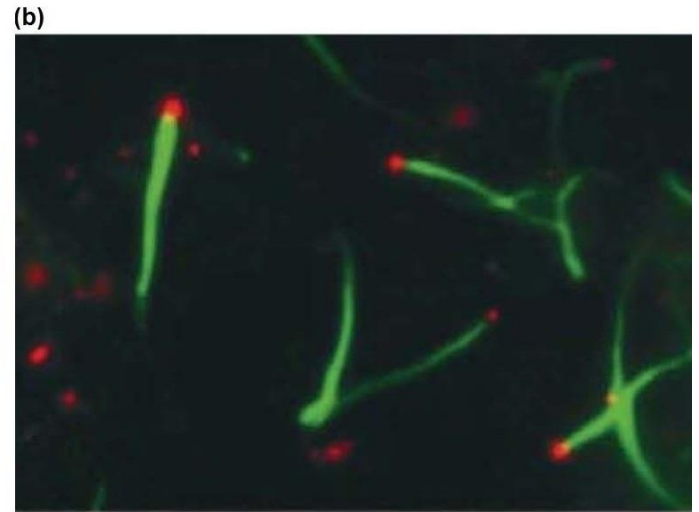
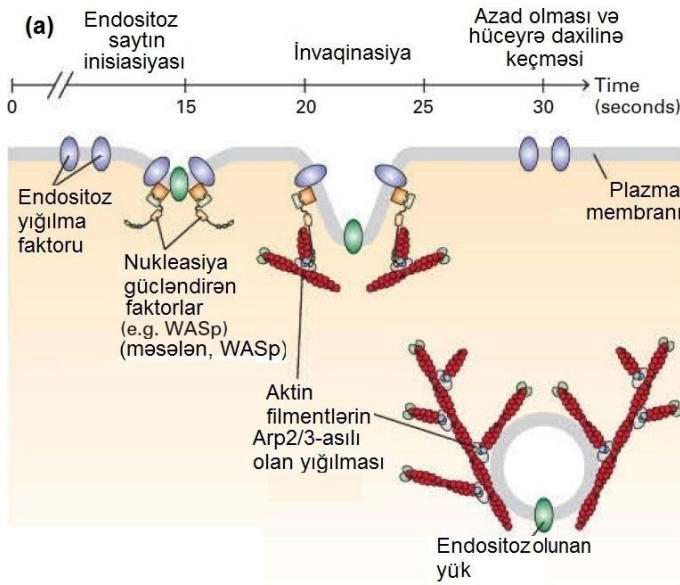
önündə daim uzunayan (elonqasiya edən) və membranı irəliyə itələyən aktin filamentlərin sıx şəbəkəsindən ibarətdir. Aparıcı kənar membranındakı faktorlar bu filamentləri nukleasiya etmək üçün Arp2/3 kompleksini fəallaşdırır. Beləliklə, aktin yığılmasının gücü membranı irəliyə itələyir və hüceyrənin hərəkətinə yardım edir.

Mikrofilamentlər Endositozda Fəaliyyət Göstərilir

Bizim Fəsil 14-dən gördüyümüz kimi, endositoz hüceyrələrin zərrəcikləri, molekulları, və ya mayeni xarici mühətdən plazma membranı ilə örtərək götürdüyü və daxilə mənimsədiyi prosesdir. Molekulların və ya mayenin udulması *reseptorla-vasitələnən* və

ya *maye-faza endositozu* adlanır və böyük molekulların udulması *faqositoz* (“hüceyrənin yeməsi”) adlanır. Mikrofilamentlər bu proseslərin hər ikisində iştirak edir.

Maye faza endositozu yüksək dərəcədə təşkil olunmuş prosesdir və son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, aktin yığılmasının gücü bu mexanizmə yardım edir. Endositoz yığılması faktoru NPF-ləri cəlb edir, belə ki, endositoz qovucuqları invaginasiya edib membrandan qoparaq ayrılır, onlar Arp2/3 kompleksi vasitəsi ilə çox sürətli və qısa müddətli (bir neçə saniyə) aktin polimerləşməsi yolu ilə sitoplazmaya aparılır (Şəkil 17-18a). Endositoz qovucuqların aktinə əsaslı bu hərəkəti in vitro bərpa edilə bilər (Şəkil 17-18b) və mexaniki cəhətdən aparıcı-kənarın formalaşmasına və *Listeria* hərəkətliliyinə çox oxşardır.



ŞƏKİL 17-18 Endositoz zamanı Arp2/3-dən-asılı olan aktin yığılması. (a) Klatrinlə-vasitələnən endositoz sürətli və nizamlanan prosesdir. O, spesifik pillələrin müvəqqəti ardıcılığının təsvir edildiyi mayada çox yaxşı öyrənilmişdir. In vivo təsvirləmə göstərdi ki, endositoz yığılma faktorları Arp2/3 kompleksini fəallaşdıran NPF-ləri cəlb edir. Arp2/3-dən asılı olan aktin yığılmasının başlanması daxilə mənimsənilmiş qovucuqların *Listeria*-nın hərəkət etdiyi şəkildə plazma membranından kənara aparır. (b) Endosom hərəkəti in vivo bərpa edilə

bilər. Fluorescent nişanlanmış transferini (qırmızı) götürmüş hüceyrələrdən ayrılmış endosomlar fluorescent nişanlanmış aktinə (yaşıl) malik olan hüceyrə ekstraktına əlavə edildi. Endosomlar WASp-ə birləşir, o isə sonra onları sitoplazmada hərəkət etdirən aktin quyruqlarını yığmaq üçün Arp2/3 kompleksini fəallaşdırır. [(b) hissəsi ©2000 Taunton et al., J. Cell Biol. 148:59-530 doi:10.1083/jcb.148.3.519 götürülmüşdür.]

Faqositoz leykositlər (ağ qan hüceyrələri) vasitəsilə bakteriyalar kimi patogenlərin tanınmasında və tutulub yox edilməsində həyati əhəmiyyətə malik olan prosesdir. İmmun sistemi bakteriyaları yad material kimi identifikasiya edir və onun səthindəki komponentləri tanıyan anticisləri istehsal edir. Bizim Fəsil 3-də müzakirə etdiyimiz kimi, hər bir anticism spesifik olaraq öz antigeninə, indiki hada bakteriya səthindəki komponentə, birləşən Fab domeni adlanan rayona malikdir. Anticislər bakteriyaları öz Fab domeni ilə onların hüceyrə-səth antigenləri arasındakı qarşılıqlı əlaqə əsasında örtükdə, Fc domeni kimi məlum olan ikinci anticism domeni açıq vəziyyətdə qalır. Bu proses opsonizasiya kimi məlumdur (Şəkil 17-19, pillə 1, bax Fəsil 23). Leykositlər öz hüceyrə səthlərində, Fc reseptor adlanan və bakteriyadakı anticisləri tanıyan reseptora malikdirlər; bu qarşılıqlı əlaqə hüceyrəyə patogenə birləşmək və

onu udmaq siqnalı verir (pillə 2 və 3). Siqnal həmçinin hüceyrədə bakteriya ilə əlaqə saytında mikrofilamentlərin yığılmasına səbəb olur və yığılmış mikrofilamentlər myozin motor zülallarla birlikdə bakteriyaları hüceyrə daxilinə aparan gücü yaradır, sonda patogeni plazma membranında tam əhatə edir (pillə 4). Yeni yaranmış faqosom daxilə mənimsənilikdən sonra lizosomlarla qovuşur və patogen lizosom fermentləri vasitəsi ilə məhv edilib parçalanır.

Son zamanlar, endositoz yolunun başqa pillələrində də, o cümlədən ifrazat yolunda aktin yığılmasının iştirakı aşkar edilmişdir. Məsələn, WASH adlanan NPF endosomlarda aktin filamentin Arp2/3-dən asılı olan nukleasiyasında iştirak edir, onların formasını tənzimləyir və daşınmasına yardım edir. WHAMM adlanan başqa bir NPF Qolci kompleksində yerləşir və güman olunur ki, endoplazmatik şəbəkədən Qolciyə olan

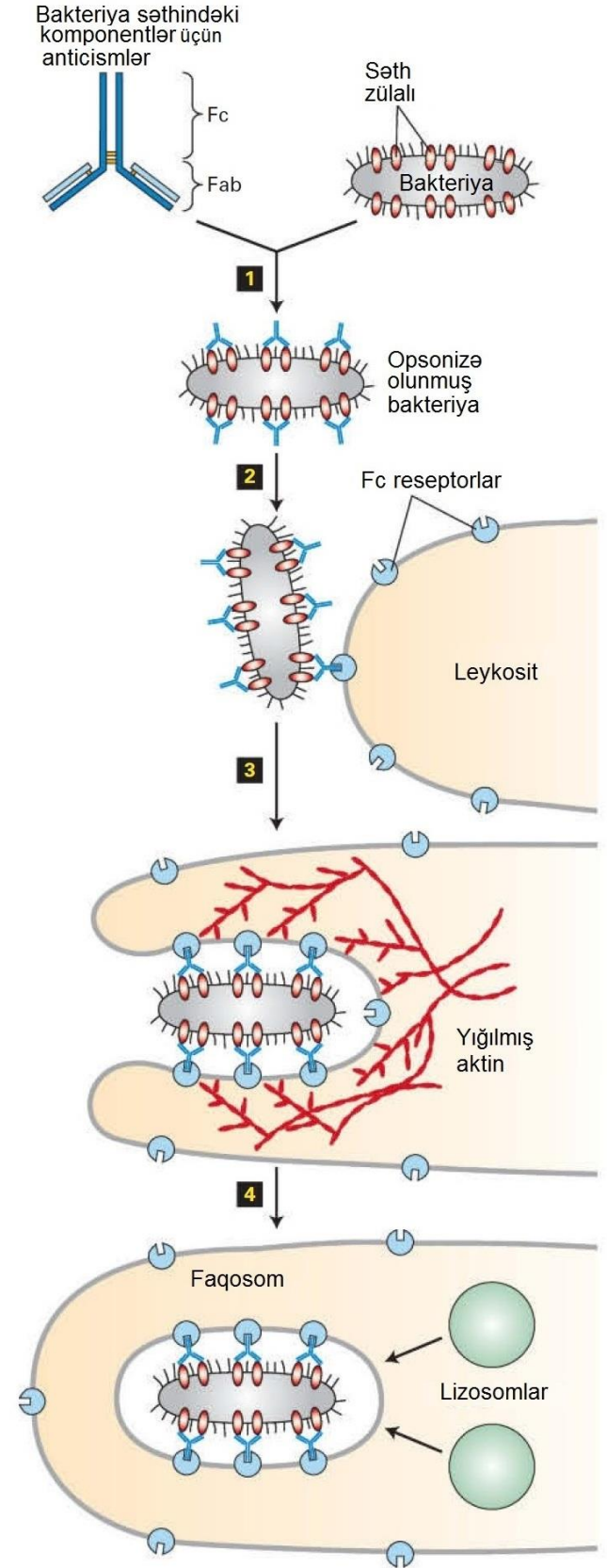
membran daşınmada iştirak edən, Arp2/3-dən asili olan aktin yığılmasını istiqamətləndirir. Ortaya çıxan yeni fikir ondan ibarətdir ki, aktin yığılması membran daşınmalarının bir sıra pillələri üçün vacib deyildir, amma ifrazat və endositoz yollarının müxtəlif komponentləri arasında daşınmalara şərait yaradır, asanlaşdırır.

Aktin Monomerli Toplusunu Həyacanlandıran Toksinlər Aktin Dinamikasını Öyrənmək Üçün Faldalıdır

Bəzi göbələklər və süngərlər aktin polimerləşməsi tsiklini hədəf edən toksinləri yaratmışlar, ona görə də heyvan hüceyrələri üçün zəhərlidirlər, amma aktin dinamikasının öyrənilməsi üçün faydalıdırlar. Bu toksinlərin iki tipi xarakterizə olunmuşdur. Birinci sinif bir-birinə yaxın olmayan iki toksinlə, filamentlərin depolimerləşməsini, hərçəndki fərqli mexanizmlərlə, sürətləndirən sitokalazin D və latrunkulin ilə təmsil olunur.

ŞƏKİL 17-19 Faqositoz və aktin dinamikası. Aktin yığılması və dərtilməsi zərrəciklərin faqositozla daxilə mənimsənilməsini idarə edir. Burada göstərilən leykositlərlə bakteriyanın faqositoz olunması və dağıdılmasıdır. Yoluxduran bakteriya, opsonizasiya adlanan prosesdə hüceyrə səth zülallarına spesifik anticismlərlə örtülür (pillə 1). Birləşmiş anticismlərin Fc rayonu bakteriya səthində göstərilir və leykosit səthində olan spesifik reseptor, Fc reseptor tərəfindən tanınır (pillə 2). Bu qarşılıqlı əlaqə hüceyrəyə, sıxıla (dərtilə) bilən aktin quruluşunun yığılması barədə siqnal verir, nəticədə bakteriyanın udulması və daxilə mənimsənilməsi baş verir (pillə 3). Bakteriya faqosomların daxilinə keçdikdən sonra, o lizosomlardan çatdırılmış fermentlər vasitəsi ilə öldürülərək dağıdılır (pillə 4).

Göbələk alkaloidi olan sitokalazin D, F-aktinin (+) sonluğuna birləşməklə aktin əlavə edilməsini blok edərək aktin filamentlərini depolimerləşdirir. Süngərlər tərəfindən ifraz olunan latrunkulin toksini G-aktinə birləşərək onu ayırır və onun filament ucuna əlavə edilməsini ingibirləşdirir. Hər iki toksinin istənilən biri ilə təsir etmək monomer toplusunu artırır. Sitokalazin D və ya latrunkulin canlı hüceyrələrə əlavə ediləndə aktin sitoskelet dağılır, sitokinez və lokomasiya kimi hüceyrə hərəkətləri ingibirləşir. Bu müşahidələr aktin filamentlərin hüceyrə hərəkətində istifadə olduğunu ilk dəfə göstərən müşahidələrdən olmuşdur. Latrunkulin xüsusən faydalıdır ona görə ki, o aktin monomerlərinə birləşir və istənilən yeni aktin yığılmasının qarşısını alır. Beləliklə, əgər latrunkulin hüceyrəyə əlavə edilirsə, aktin əsaslı quruluşların itirilməsi sürəti onların normal dövrəetmə sürətini əks etdirir. Bu metod aşkar etdi ki, bəzi aktin quruluşların yarım-yaşama dövrü bir dəqiqədən az çəkir, bəzilərininki isə daha çox stabil olur. Məsələn, latrunkulinlə aparılan eksperimentlər göstərdi ki, hərəkət edən hüceyrələrin aparıcı kənarları hər 30-180 saniyədən bir çevrildiği halda stress lifləri hər 5-10 dəqiqədən bir çevrilir.



Əksinə, monomer-polimer tarazlığı, başqa bir süngər toksini, jasplakinolid və *Amanita phalloides*-dən ("ölüm

mələyi” göbələyi) ayrılmış falloiddinin təsiri ilə filament istiqamətində yerini dəyişir. Jaspalakolinid aktin dimerlərinə birləşərək onu stabilləşdirməklə nukleasiyanı gücləndirir və bununla da kritik qatılığı aşağı salır. Falloidin F-aktində subvahidləri arasında interfeysə (ara üzünə) birləşir yaxın subvahidləri bir yerdə bağlayır və aktin filamentin depolimerləşməsinə mane olur. Hətta aktin öz kritik qatılığından aşağı qatılığa durulaşdırılarda belə falloiddinlə-stabilləşmiş filamentlər depolimerləşməyəcəklər. Çoxsaylı aktin-əsaslı proseslər aktin filamentin dövrəsindən asılı olduğundan falloiddinin hüceyrə daxilinə keçirilməsi bütün bu sistemləri iflic edir və hüceyrə ölür. Amma, yalnız F-aktinə birləşən falloiddin tədqiqatçılar üçün fluorescent nişanlanmış falloiddin kimi çox faydalı olmuşdur, işıq mikroskopiyası üçün aktin filamentlərin boyanmasında çox istifadə olunur (bax Şəkil 17-4).

17.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYƏLƏRİ

Aktin Filamenti Yığılması Mexanizmləri

- Aktin yığılması iki sinif zülallarla nukleasiya olunur: forminlər şaxələnməmiş filamentləri nukleasiya edir (bax Şəkil 17-13), Arp2/3 kompleksi isə şaxələnməmiş aktin şəbəkəsini nukleasiya edir (ba Şəkil 17-15). Forminlərin və Arp2/3 kompleksinin fəallığı siqnal ötürülməsi yolları ilə tənzimlənir.
- Fəaliyyətinə görə fərqlənən aktin-əsaslı quruluşlar forminlərlə və Arp2/3 nukleatorlarla toplanır. Forminlər stress liflərinin yığılmasını və darala bilən həlqəni idarə etdiyi halda, Arp2/3 nukleatorlar hərəkətli hüceyrələrin aparıcı kənarında tapılan şaxələnməmiş aktin filamentlərinin yığılmasını idarə edir.
- Yoluxucu bakteriyalarda Arp2/3-dən asılı olan hüceyrədaxili hərəkətlərdən (bax Şəkil 17-17) və endositoz qovucuqlarının daxilə hərəkətindən (bax Şəkil 17-18 və 17-19) görüldüyü kimi aktin polimerləşməsinin gücü iş görməyə cəlb oluna bilər.
- Bir sıra toksinlər aktin polimerləşməsinin dinamikasına təsir edirlər, latrunkulin kimi bəziləri aktin monomerlərinə birləşərək onları ayırır, amma falloiddin kimi başqaları isə lifli aktinləri stabilləşdirir. Fluorescent nişanlanmış falloiddin aktin filamentlərin boyanması üçün faydalıdır.

17.4 Aktin-Əsaslı Hüceyrə Quruluşlarının Təşkili

Biz gördük ki, aktin filamentlər geniş müxtəliflikdə fərqli düzülüşdə yığılırlar və gördük ki, çox sayda zülallar aktin yığılmalarını nukleasiya edir və filament döriyyəsinə tənzimləyirlər. Onurğalıların hüceyrələrində onlarla zülallar bu filamentlərin müxtəlif funksional quruluşlarda təşkilini həyata

keçirirlər. Biz burada bu zülallardan bir neçəsini müzakirə edirik, hüceyrələrdə tapılmış aktin-kəşimə zülallarının tipik nümunələrini və eləcə də, aktin və membran zülalları arasındakı funksional əlaqənin yaranmasında iştirak edən zülalları göstəririk. Haqqında çox az məlum olan, belə bir maraqlı problem, hüceyrələrin eyni hüceyrənin sitoplazması daxilində fərqli aktin əsaslı quruluşları necə yığılmasıdır. Bu təşkil olunmanın bəzisi lokal nizamlanmaya görə olmalıdır, biz bu mövzuya fəsilin sonunda qayıdıraq.

Çarpaz Kəşimən-Əlaqəli Zülallar Aktin Filamentlərin Qomşəkili və ya Şəbəkədə Düzülməsini Təşkil Edirlər

Aktin filamentlərini sınaq tyubunda yığarkən onlar dolaşq şəbəkəni əmələ gətirirlər. Amma hüceyrələrdə aktin filamentlər, mikrovillərdəki yüksək nizamlanmış filament dəstləri və ya hərəkətli hüceyrələrdə aparıcı qırağın xarakterik şəbəkəsi kimi çox müxtəlif quruluşlarda tapılmışlar (bax Şəkil 17-4a). Bu müxtəlif quruluşlar filament yığılmasının yuxarıda müzakirə olunmuş mexanizmləri ilə və *kəşimən-əlaqəli zülallarla* təyin edilir. Aktin filamentlərin təşkilinin mümkün olması üçün aktin-kəşimən zülallar iki F-aktin-birləşdirən saytlara malik olmalıdır (Şəkil 17-20a).

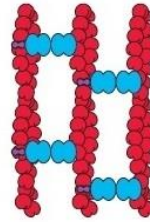
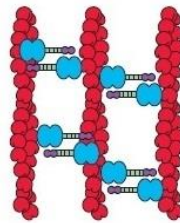
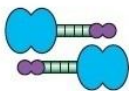
F-aktinin kəşimən-əlaqələri, mikrovillərdə tapılmış və eyni polyarlığa malik olan filament qomlarını əmələ gətirən *fimbrin* zülalda olduğu kimi, vahid bir polipeptiddə iki aktin-birləşdirən sayta malik olmaqla əldə etmək olar, (Şəkil 17-20b). Digər aktinlə kəşimən-əlaqəli zülallar polipeptid zəncirində aktin birləşdirən tək sayta malikdirlər və iki zəncir birləşərək dimeri əmələ gətirməklə iki aktin-birləşdirən saytı bir yerə gətirirlər. Belə dimer kəşimən-əlaqəli zülallar, *α-aktinində* olduğu kimi, iki birləşmə saytını əlaqələndirmək üçün yığılaraq sərt çubuğu əmələ gətirirlər. Fimbrin kimi *α-aktinin* zülalı da paralel aktin filamentlərini bir yerə bağlayır, amma fimbrinə nisbətən onları bir-birindən uzaqda saxlayır. *Spektrin* adlanan başqa bir zülal iki aktin-birləşdirən saytılı tetramerdir, spektrin aktin filamentləri arasında daha böyük məsafəni əhatə edir və plazma membranı altında şəbəkəni əmələ gətirir (Şəkil 17-21-də göstərilir və növbəti bölmədə müzakirə olunur). Çarpaz əlaqəli zülalların *filamin* kimi başqa tipləri, molekulyar yarpaq yayı (**molecular leaf spring**) kimi fəaliyyət göstərən iki aktin-birləşdirən sayt arasında yüksək dəyişkən rayona malikdirlər, beləliklə onlar şəbəkədə, hərəkətli hüceyrələrin aparıcı kənarında tapılanlar kimi, filamentlər arasında stabilləşdirici kəşimən əlaqəni əmələ gətirə bilirlər (Şəkil 17-20c). Bizim aktin filament yığılmasını nukleasiya etmək qabiliyyəti nöqtəyi-nəzərindən müzakirə etdiyimiz Arp2/3 kompleksi də, bir filamentin (-) sonluğunu başqa filamentin kənarına birləşdirən çox əhəmiyyətli kəşimən-əlaqəli zülaldır (bax Şəkil 17-15).

(a)

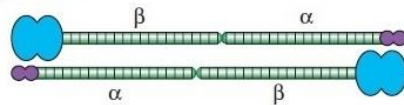
Fimbrin



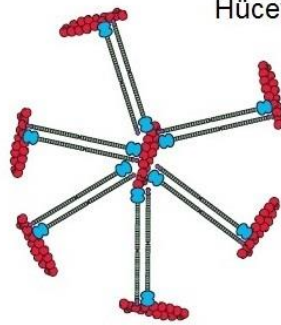
Yerləşməsi

Mikrovilli,
filopodiya,
fokal yapışma α -aktininStress lifləri
filopodiya,
əzələ Z xətti

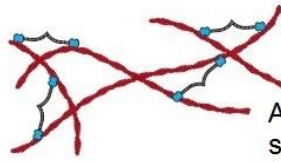
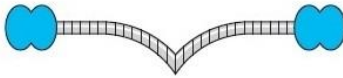
Spektrin



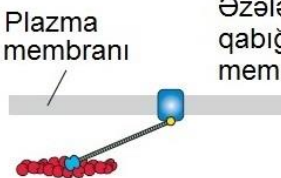
Hüceyrə qabığı



Filamin

Aparıcı kənar,
stress lifləri,
filopodiya

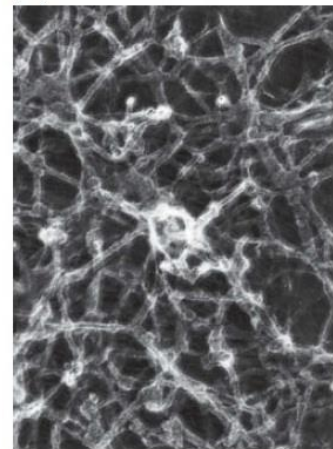
Distrofn

Plazma
membranıƏzələdə aktin
qabığı əlaqələndirici
membran zülalı

(b)



(c)



ŞÖKİL 17-20 Aktinlə kəsişən-əlaqəli zülallar. Aktinlə kəsişən-əlaqəli zülallar F-aktin filamentlərini müxtəlif quruluşlara salır. (a) Dörd aktinlə kəsişən-əlaqəli zülalların nümunələrinin hamısının F-aktinlə birləşən iki domeni vardır (mavi). Bəziləri Ca^{2+} -birləşdirən sayta da malikdir (tünd qırmızı), bu onların fəallığını Ca^{2+} -un yüksək səviyyəsində ingibirləşdirir. Göstərilənlər arasında distrofn, aktin-birləşdirən saytı olan N-sonluğa və membran zülalı distroqlikana birləşən C-sonluq domeninə malikdir. (b) Daxili qulağın sensor tük hüceyrələrində stereosiliumun (onlar həqiqətən də çox böyük

mikrovillər olduğundan uğuruz adlandırma) nazik kəsiyinin transmissiyalı elektron mikrofotusu. Bu quruluş aktin filamentlərin fimbrin zülalları ilə kəsişmiş qomuna malikdir, fimbrin zülalları kiçik kəsişmə zülalları olub aktin filamentlərin sıx və müntəzəm əlaqələrinə imkan yaradırlar. (c) Filamin kimi uzun kəsişən-əlaqəli zülallar dəyişkəndir və ona görə də aktin filamentlərlə çarpaz kəsişən sərbəst şəbəkəni əmələ gətirirlər. [(b) hissəsi ©1983 Tilney et al., J.Cell Biol. 96:822-834. Doi: 10.1083/jcb.96.3.822; (c) hissəsi nəzakətlə John Hartwig tərəfindən, Harvard Brigham and Women's Hospital.]

Adaptor Zülallar Aktin Filamentləri Membranlara Bağlayır

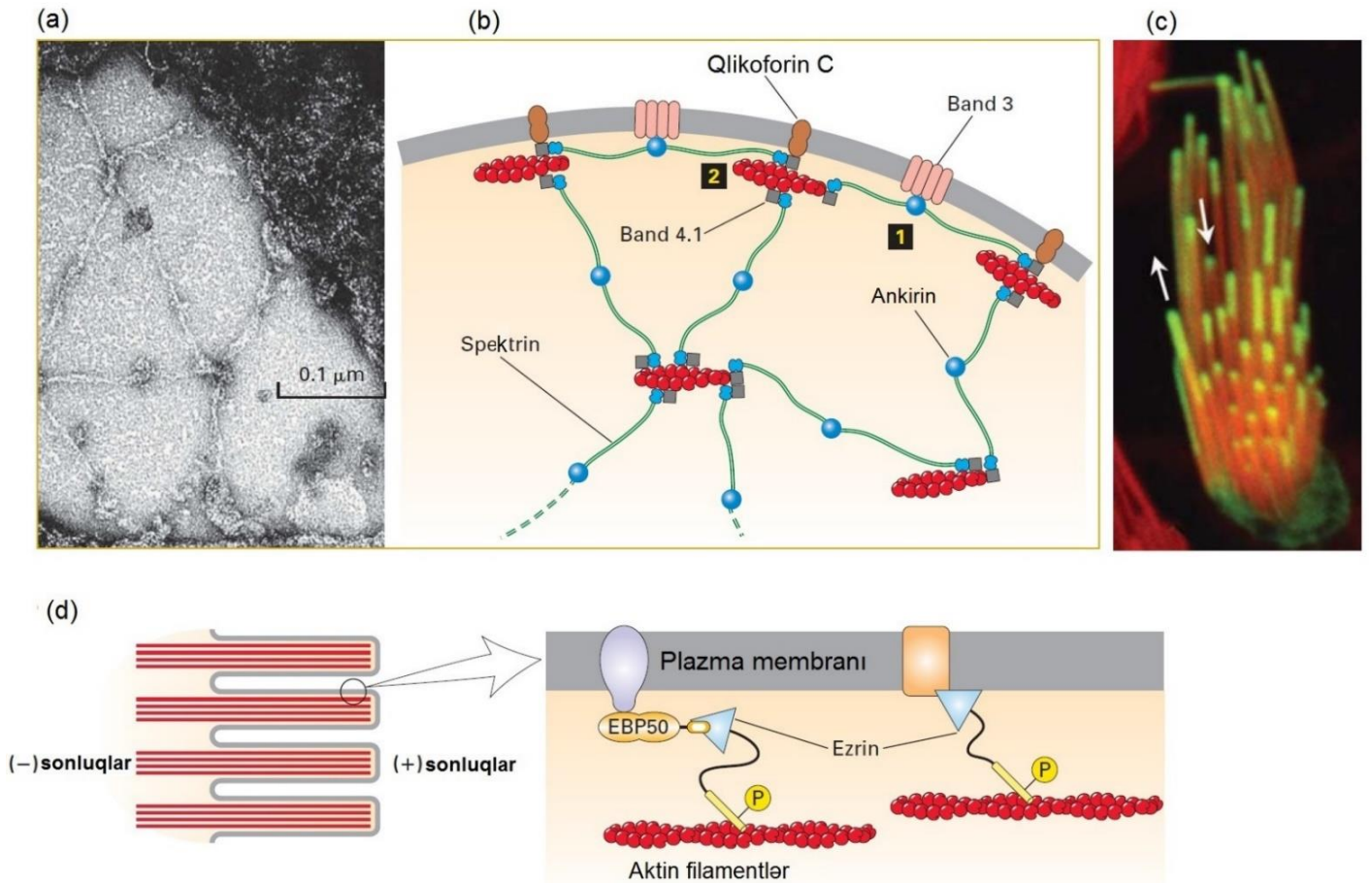
Hüceyrələrin quruluşuna öz töhfəsini vermək və aktin polimerləşməsinin gücündən istifadə etmək üçün aktin filamentlər çox hallarda membrana yapışırlar və ya

hüceyrədaxili quruluşlara bilşirlər. Aktin filamentlər xüsusən hüceyrə qabığında zəngin olub plazma membranı altında yerləşirlər və ona dayaq olurlar. Aktin filamentlər membranla ya lateral ya da ya da onların uclarından əlaqəyə girirlər.

Aktin filamentlərin membrana qoşulması barədə bizim ilk nümunəmizə insanın eritrositləri – qırmızı qan hüceyrələri

daxildir. Eritrosit əsasən yüksək qatılıqda olan hemoqlobin zülalını əhatə edən plazma membranından təşkil olunmuşdur. O oksigenin ağciyərdən toxumalara və karbon iki-oksidin toxumalardan geriye, ağciyəre daşınmasında fəaliyyət göstərir və bunların hamısı çox güclü əzələ olan ürək vasitəsi ilə həyata keçirilir. Eritrositlər, qanın ürəkdən şiddətli axımına, sonra ürək vasitəsi ilə ağciyərlərdən keçərək yenidən istifadəyə dönməsindən öncə arteriyalardan keçərək dar kapillyarlarla sıxılaşaraq axmasına davam gətirərək sağ qalmağa qabil olmalıdırlar. Minlərlə dövrünün bu cürə ağır prosesinə davam gətirmək üçün, eritrositlər plazma membranını altında yerləşmiş, onlara hər cürə möhkəmlilik verən və qan dövründəki səfərləri üçün lazım olan çevikliyi təmin edən əsas şəbəkəyə malikdirlər. Bu şəbəkə, təxminən 14 subvahid uzunluqda qısa aktin filamentlərinə əsaslanmışdır, yanlarından tropomyozinlə (detalları 17.6 Bölməsində müzakirə edilir) və (-) sonluğunda

papaq zülalı tropomodulinlə stabilləşir. Bu qısa filamentlər altı dəyişkən spektrin molekulunun birləşərək balıq toruna-bənzər quruluşu yaratması üçün mərkəzi tor rolunu oynayır (Şəkil 17-21a), bu da quruluşda möhkəmlilik və dəyişkənliyi təmin edir. Spektrin molekuluları membran zülallarına iki mexanizmlə qoşulmuşlar: *ankirin* adlanan zülallar vasitəsi ilə bikarbonat daşıyıcıya (həmçinin *band3* kimi məlum olan transmembran zülal) və *band 4.1* adlanan spektrin- və F-aktin-birləşdirən zülal vasitəsi ilə başqa bir transmembran zülala *qlikoforin C*-yə birləşir (Şəkil 17-21b). Baxmayaraq ki, spektrin-əsaslı bu şəbəkə eritrositlərdə yüksək dərəcədə inkişaf etmişdir, oxşar tipli əlaqələr bir-çox hüceyrə tiplərində olur. Məsələn, ankirin-spektrin birləşməsinin oxşar tipləri Na^+/K^+ ATP-azaları epitelial hüceyrələrin bazolateral membranının sitoskeleti ilə əlaqələndirir.



ŞƏKİL 17-21 Mikrofilamentlərin membrana lateral qoşulması. (a) Eritrosit membranının elektron mikrofotusu insanın eritrositlərində plazma membranına kömək edən qabıq sitoskeletində mil-və-tor quruluşun təşkilini göstərir. Uzun millər əsasən spektrin zülallarından təşkil olunmuşlar və onların membrana qoşulma saytlarında torla kəsişdiyini görmək olur. Millərin üzərindəki qara ləkələr, spektrinləri inteqral membran zülalları ilə əlaqələndirən ankirin molekulalarıdır. (b) Eritrosit sitoskeletin diaqramı membran qoşulmalarının iki əsas tipini göstərir: (1) ankirin vasitəsi ilə band 3-ə və (2) bənd 4.1 vasitəsi ilə qlikoforin C-yə. (c) Aktin stereosiliyanın (qıqant mikrovillərin) uclarına birləşir. Sterosiliyalı hüceyrələr GFP-nişanlanmış aktini qısa zaman müddətində ekspressiya etmək üçün transfeksiya olundular və sonra bütün F-aktinləri boyamaq üçün rodamin-falloidinə qarşı boyandılar.

Eksperiment göstərdi ki, yeni aktin stereosiliyanın uclarında birləşir. (d) Ezrin-radiksin-moesin (ERM) ailəsinin nümayəndəsi ezrin aktin filamentləri mikrovillər kimi səth quruluşlarında plazma membranına lateral əlaqələndirir, membrana qoşulma birbaşa və ya dolayı ola bilər. Fosforlaşma (P) ilə fəallaşan ezrin transmembran zülalların (sağda) sitoplazmatik rayonu ilə birbaşa əlaqəli olur və ya EBP50 kimi skafolt zülallar vasitəsi ilə (solda) dolayı yolla əlaqəli olur. Bax R.G. Fehon et al., *Nature Rev.Moç. Cell Biol.* **11**:276, S.E. Lux, 1979, *Nature***281**:426, və E.J. Luna and A.S.L. Hitt, 1992, *Science***258**:955. [(a) hissəsi Byers T.J., Branton D., 1985, *PNAS, Sci USA***82**:6153, nəzakətlə Daniel Branton-dan; (c) hissəsi ©2004 Rzadinsk A.K. et al., *J. Cell Biol.* **164**:887-897. Doi:10.1083/200310055.]



Qırmızı qan hüceyrələrinin sitoskeletindəki zülallarda genetik qüsurlar hüceyrələrdə asanlıqla qırılmaq kimi irsən keçən sferositik anemiya adlanan xəstəliklə nəticələnə bilər (bu ona görə *sferositik* adlanır ki, hüceyrələr dairəvidir və qırmızı qan hüceyrələrinin çatışmazlığı olduğuna görə *anemiya* adlanır) və ona görə də həyat dövrü qısa olur. Xəstə insanlarda spektrin, band 4.1-də və ankirində mutasiyalar bu xəstəliyə səbəb ola bilər.



Mikrofilamentlər həmçinin mikrovilli və membran büzülmələri kimi hüceyrə-səth quruluşlarının saxlanmasına da kömək edir. Əgər biz mikrovillusa baxsaq, aydın olur ki, aktin filamentləri ucda sonluqları ilə qoşulmaya və uzunluğu boyu yandan (lateral) qoşulmalara malikdir. Aktin filamentlərin mikrovillidə istiqamətlənməsi necədir? Naxışlama eksperimentləri göstərir ki, (+) sonluq mikrovilli ucunda yerləşir. Bundan başqa fluoressent aktin hüceyrəyə əlavə ediləndə o mikrovillusun ucuna inkorporasiya edir, bu göstərir ki, burada yalnız (+) sonluq yerləşir, eyni zamanda burada aktin filamentlərin yığılması baş verir (Şəkil 17-21c). Bu vaxta qədər məlum deyil ki, aktin filamentləri mikrovillərin ucuna necə qoşulur və ya burada yığılma necə tənzimlənir. Aktin filamentlərin plazma membranla nisbətə belə (+) sonluğa yönəlməsi universal olaraq tək mikrovillərdə deyil, həmçinin başqalarının, məsələn, hərəkətli hüceyrələrin aparıcı uclarında da tapılmışdır. Plazma membranına lateral qoşulmalar ən azı qismən də olsa *ERM* (*ezrin-radiksin-meozin*) ailəsi zülalları vasitəsi ilə təmin edilir. Bu ailə, bükülmüş qeyri fəal formada mövcud olan tənzimlənən zülallardan təşkil olunmuşlar. Xarici siqnalara cavab kimi fosforlaşmaqla lokal fəallaşarkən, ERM zülalların F-aktin-birləşdirən və membran zülalını birləşdirən saytları aktin filamentlərlə lateral əlaqə yaratmaq üçün açıq vəziyyətdə qalır (Şəkil 17-21d). ERM zülallar aktin filamentlərini membran zülallarının sitoplazmatik domeni ilə birbaşa və ya skafolt zülallar vasitəsi ilə dolayı yolla əlaqələndirə bilər.

Bizim bu vaxta qədər müzakirə etdiyimiz aktin-membran əlaqələrinin tiplərinə plazma membranının toxumadakı başqa hüceyrələrə və ya hüceyrəxarici matrisaya *yapışan qovşaqlar* adlanan birbaşa yapışan sahələri daxil deyildir (bax Şəkil 17-1b). Bu assosiasiyanın *fokal adgeziya* adlanan başa ixtisaslaşmış rayonları hüceyrələrin hüceyrəxarici matrisaya birləşməsinə həyata keçirir. Birləşmənin xüsusiləşmiş bu tipi öz növbəsində sitoskeletə bağlı olur və bu, hüceyrə miqراسiyasını müzakirə edərkən (Bölmə 17.7) və hüceyrələri toxuma kontekstində müzakirə edərkən (bax Fəsil 20) daha dəqiqliklə təsvir ediləcək.



Əzələ distrofiyası genetik xəstəlikdir və çox zaman skelet əzələlərinin progressiv şəkildə zəifləməsi ilə xarakterizə olunur. Bu genetik xəstəliklərdən biri, Düşən əzələ distrofiyasıdır, X xromosomunda yerləşən distrofin geninin kodlaşdırdığı distrofin zülalına təsir edir, ona görə də xəstəlik qadınlara nisbətən kişilər arasında daha çox yayılmışdır. *Distrofin* modulyar zülaldır, funksiyası əzələ hüceyrələrində qabıq aktin şəbəkəsini hüceyrəxarici matrisa ilə əlaqəli olan membran zülallar kompleksi ilə əlaqələndirməkdir. Belə ki, distrofin N-sonluğunda aktin-birləşdirən domenə malikdir, ardınca da spektrinə-bənzər təkrarlar gəlir və o transmembran distroqlikan

kompleksini hüceyrəxarici matrisa zülalı laminin ilə birləşdirən domenlə başa çatır (bax Şəkil 17-20a və Şəkil 1-31). Distrofin olmadıqda, əzələ hüceyrələrinin plazma membranı əzələ yığılmaları tsikli nəticəsində zəifləyir və sonda yırtılır, bu da tədricən əzələ liflərinin ölümü ilə nəticələnir. ■

17.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Aktin-Əsaslı Hüceyrə Quruluşlarının Təşkili

- Aktin filamentlər iki F-aktin-birləşdirən sayta malik olan kəsişən-əlaqəli zülallardan təşkil olunmuşlar. Aktin kəsişən-əlaqəli zülallar onların aid olduqları quruluş tipindən asılı olaraq uzun və ya qısa, sərt və ya dəyişkən ola bilərlər (bax Şəkil 17-20).
- Aktin filamentlər, eritrositlərdən və mikrovillər kimi hüceyrə-səth quruluşlarından göründüyü kimi spesifik zülallar sinifi vasitəsi ilə plazma membranına lateral qoşula bilərlər (bax Şəkil 17-21).
- Aktin filamentlərin (+) sonluqları, filament ucu ilə membran arasındakı yığılmalar vasitəsi ilə də membrana qoşula bilərlər.
- Plazma membranının altında yerləşən mikrofilament-əsaslı qabıq (kortikal) sitoskeletdəki qüsurlara görə bir sıra xəstəliklər müşahidə olunmuşdur.

17.5 Myozinlər: Aktin-Əsaslı Motor Zülallar

17.3 bölməsində biz aktin polimerləşməsinin Arp2/3 kompleksi ilə nukleasiya olunmasının endositoz zamanı qovucuqların hərəkətində, hərəkətli hüceyrələrin aparıcı uclarında və *Listeria* bakteriyasının eukariot hüceyrə boyu itələyərək irəliləməsi üçün iş görülməsi üçün necə istifadə edildiyini müzakirə etdik. Bu cürə aktin-polimerləşməsinə əsaslanan hərəkətilikdən başqa, hüceyrələr aktin filamentlər boyunca hərəkət edə bilən **myozinlər** adlanan motor zülalların böyük ailəsinə malikdirlər. İlk aşkar edilən myozin – *myozin II* sümük əzələlərindən ayrılmışdır. Uzun müddət bioloqlar hesab edirdilər ki, bu təbiətdə tapılmış yeganə mövcud olan myozin tipidir. Amma, onlar sonralar başqa myozin tiplərini də aşkar etdilər və bunların nə qədər funksional siniflərinin mövcud ola bilməsi barədə düşündülər. Bu gün biz bilir ki, myozinlərin sümük əzələsində tapılan myozin II-dən başqa bir sıra sinifləri də var, bunlar hamısı aktin boyunca hərəkət edirlər. Həqiqətən də, növbəti fəsildə müzakirə olunan, bütün bu mikrofilament-əsaslı motorların və müvafiq olaraq mikro-borucuqlara əsaslanan motorların kəşf olunması ilə, bizim hüceyrə barədə əvvəlki nisbətən statik baxışlarımız sitoplazmanın inanılmaz dərəcədə, ətrafında ciddi şəkildə motorla daşınan komponentlərdən təşkil olunmuş, amma yüklənmiş magistral sistem kimi, dinamik olmasının reallaşması ilə əvəz olundu.

Myozinlərin ATP hidrolizindən alınan enerjini çox gözəl mexaniki işə (aktin boyu hərəkət etmək kimi) çevirmək qabiliyyəti vardır. Bütün myozinlər ATP hidrolizindən alınan enerjini işə çevirirlər, buna baxmayaraq, müxtəlif myozinlər çox müxtəlif tipli funksiyaları həyata keçirirlər. Məsələn, myozin II-nin çox molekulları əzələ dartılmasını həyata keçirmək üçün birlikdə aktin filamentlərdə birləşirlər, amma myozin V qovucuqlarda yükə birləşərək onların aktin filamentlər boyu

nəqliyyatını həyata keçirir. Myozinin başqa sinifləri isə orqanoidlərin hüceyrə daxilində hərəkətdən hüceyrə miqrasiyasına qədər sayısız-hesabsız funksiyaları təmin edirlər.

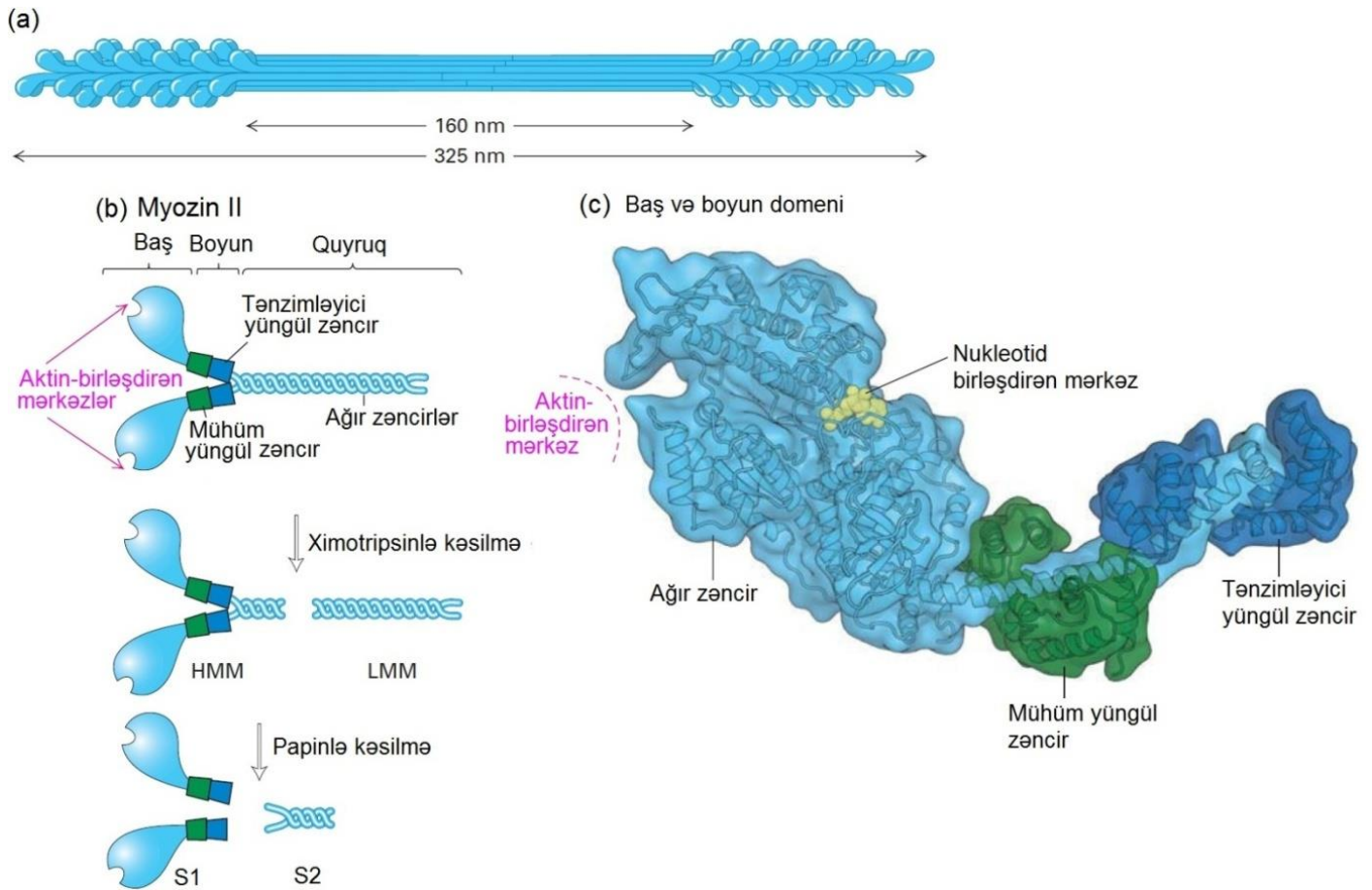
Myozinləri anlamağa başlamaq üçün biz birinci onların əsas təşkilini müzakirə edirik. Bu informasiyanı əldə etdikdən sonra, biz müxtəlif orqanizmlərdəki myozin siniflərinin müxtəlifliyini tədqiq edirik və bunlardan eukariotlarda daha çox yayılan bəzilərinin detallarını təsvir edirik. Bu myozin siniflərinin geniş müxtəlifliyinin yalnız bir motor mexanizminə necə uyğunlaşdığını anlamaq üçün ATP hidrolizindən ayrılan enerjinin işə çevrilməsinin əsas mexanizmini tədqiq edirik və sonra da, spesifik myozin siniflərinin xassələrinin onların spesifik funksiyasına uyğunlaşdırılması üçün bu mexanizmin necə modifikasiya olunduğuna baxırıq.

Myozinlər Fərqli Funksiyaları Olan Baş, Boyun və Quyruq Domenlərinə Malikdirlər

Myozin haqqında bizim bildiklərimizin çoxu, sümük əzələlərdən ayrılmış myozin II-nin tədqiqatlarından gəlir. Skelet əzələlərində, yüzlərlə fərdi myozin II molekulları qalın

filamentlər adlanan bipolyar bağlarda yığılmışdılar (Şəkil 17-22a). Sonrakı bölmələrdə, biz bu myozin filamentlərinin əzələ yığılmalarını əmələ gətirmək üçün aktin filamentlərlə birgə necə yığıldığını müzakirə edəcəyik. Burada biz əvvəlcə myozin molekullarının özlərinin xassələrini müzakirə edirik.

Myozin qalın filamentini ATP və qatı duz məhlulunda həll edib pozaraq fərdi myozin molekullarının toplusunu yaratmaq olur. Həllolan myozin II molekulu əslində altı polipeptid subvahiddən təşkil olunmuş zülal kompleksidir. Subvahidlərdən ikisi identik, yüksək-molekul-çəkili polipeptidlər myozin ağır zəncirləri kimi məlumdurlar. Bunların hər biri daimi *boyun* domeni vasitəsilə bir-biri ilə əlaqələnmiş qlobulyar *baş* domendən və uzun *quyruq* domenindən təşkil olunmuşdur. İki myozin ağır zəncirinin quyruqları bir-birinə keçərək sarınmışlar, beləliklə baş rayonlar çox yaxın yerləşmişlər. Myozin kompleksinin qalan dörd subvahidi ölçüsünə görə çox oxşardılar və yüngül zəncir kimi tanınırlar. İki tip yüngül zəncir vardır, *mühüm yüngül zəncir* və *tənzimləyici yüngül zəncir*. Hər bir tipin bir yüngül zənciri hər bir ağır zəncirin boyun rayonu ilə assosiasiya əmələ gətirir (Şəkil 17-22b, *yuxarıda*). Myozinin ağır zənciri və iki tip yüngül zənciri üç müxtəlif genlə kodlaşdırılırlar.



ŞƏKİL 17-22 Myozin II-nin quruluşu. (a) Skelet əzələlərdən ayrılmış myozin II-nin filamentlərdə təşkil. Myozin II dipolyar filamentlərdə yığılır, quyruqlar filamentdə dəstəyi əmələ gətirirlər və başlar isə uclarda yerləşirlər. Bipolyar filamentlərin ATP və yüksək duz qatılığı ilə işlənilməsi filamentləri myozin II molekullarına ayırır. (b) Myozin II molekulu iki eyni ağır zəncirdən (açıq mavi) və dörd yüngül

zəncirdən (yaşıl və tünd göy) təşkil olunmuşlar. Ağır zəncirlərin quyruğu dimerləşmək üçün spirallaşmış spirala əmələ gətirir, hər bir ağır zəncirinin boyun rayonu onunla assosiasiyada olan iki yüngül zəncirə malikdir. Myozin II-nin məhdud proteolitik kəsilməsi LMM və S2 quyruq fraqmentlərini və S1 motor domenini əmələ gətirir. (c) Vahid S1 baş domeninin üç-ölçülü modeli göstərir ki, o əyilmiş, uzanmış

formaya malikdir və yarıqla hissələrə ayrılmışdır. Nukleotid-birləşdirən cib bu yarıqın bir tərəfində yerləşir, aktin birləşdirən mərkəz isə digər tərəfdə, başın ucuna yaxın yerləşmişdir. α -spiral boyun mili ətrafında dolananlar yüngül zəncirlərdir. Bu zəncirlər boyunu tarım çəkirlər ki, o

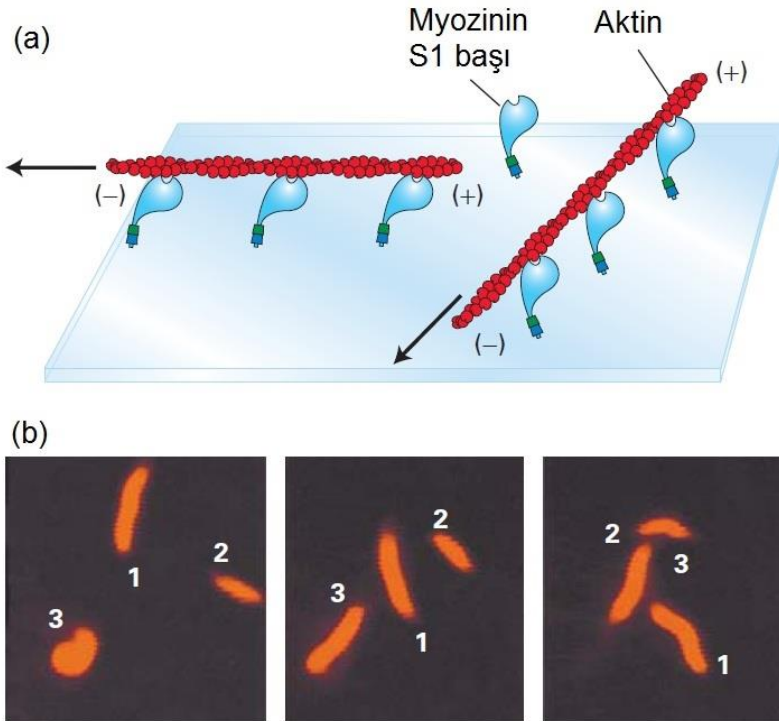
Həllolan myozin II molekulu ATP-ə fəallığına malikdir, bu onun ATP hidrolizindən alınan enerji ilə hərəkət etmə qabiliyyətini əks etdirir. Amma, myozin kompleksinin hansı hissəsi bu fəallığı həyata keçirir? Zülalların funksional domenlərinin identifikasiyasının ənənəvi yanaşması zülalların spesifik proteazalarla fraqmentlərə bölünməsi və sonra da hər bir fraqmentin fəallığının ölçülməsidir. Həllolan myozin II-ni kemotripsin proteaza ilə ehtiyatla kəsməklə iki fraqment almıq olur, bunlardan biri ağır meromyozin adlanır (HMM; *mero* nəyinsə “bir hissəsi” deməkdir), digəri isə yüngül meromyozin (LMM) adlanır (Şəkil 17-22b, *ortada*). Ağır meromyozin sonra papain proteazası ilə kəsilərək subfraqment 1 (S1) və subfraqment 2-ni (S2) əmələ gətirir (Şəkil 17-22b, *aşağıda*). Müxtəlif fraqmentlərin – S1, S2, LMM – xassələrini analiz etməklə aşkar edilmişdir ki, myozinin daxili ATP-ə fəallığı onun S1 fraqmentində yerləşir və filament aktinin iştirakı ilə çox gücləndirilir, ona görə bu fraqmentə *aktinlə-fəallaşan ATP-ə fəallığı* deyilir və bu bütün myozinlərin emblemasıdır. Myozin II-nin S1 fraqmentini yüngül zəncirlərlə assosiasiyada olan baş və boyun domenlərindən təşkil olunduğu halda, S2 domeni və LMM rayonu quyruq domenini əmələ gətirirlər.

Baş və boyun domenlərin rentgen-kristalloqrafiya analizləri subvahidlərin formalarını, yüngül zəncirlərin mövqeyini, ATP-birləşdirən və aktin birləşdirən mərkəzlərin yerini aşkar etdi (Şəkil 17-22c). Myozin başın əsasında, iki yüngül-zəncir molekulu ağır zəncirin ətrafını C-sıxıca kimi örtüdü

baş üçün link qol rolunu oynaya bilsin. Burada göstərilən ADP birləşmiş konformasyadır. [(c) hissəsi S.Gourinath et al., 2003, Structure 11:1621-1627, PDB ID 1qvi.]

yerdə α -spiral boyun durur. Bu vəziyyətdə, yüngül zəncirlər boyun rayonunu tarım çəkirlər. Aktin-birləşdirən sayt baş domenin ucunda açıq qalmış rayondur, ATP birləşdirən sayt da baş domendədir və yarıq daxilində aktin-birləşdirən saytın əks tərəfində yerləşir.

Myozin II molekulu nə qədər hissəsi onun “motor” fəallığı üçün lazımdır və kifayətdir? Bu suala cavab vermək üçün sadə bir in vitro hərəkətilik sınağını həyata keçirmək lazımdır. Belə bir sınaqda, *sürüşən-filament sınağında*, myozin molekulları üzərinə stabilləşmiş və fluoressent nişanlanmış aktin filamentləri əlavə edilmiş örtük şüşəsinə bərkidilir. Myozin molekulları örtük şüşəsinə bərkidildiyindən sürüşə bilmirlər, beləliklə myozin başlıqların aktin filamentlərlə əlaqəsi nəticəsində yaranan istənilən qüvvə filamentlərin myozinə nisbətən hərəkət etməsini məcbur edir (Şəkil 17-23a). Əgər mühitdə ATP varsa, əlavə edilən aktin filamentlərin örtük şüşə üzərində sürüşməsi görünəcək, əgər ATP yoxsa, filamentlərin hərəkəti müşahidə olunmayacaq. Bu sınaqdan istifadə edərək, myozin II-nin S1 fraqmentinin aktin filamentlərini hərəkətə gətirmək üçün kifayət etdiyini göstərmək olar. Bu hərəkətə, filamentin (+) sonluğuna tərəf “hərəkət etməyə” çalışan bərkidilmiş (örtük şüşəsinə yapışdırılmış) myozin S1 fraqmenti səbəb olmuşdur, beləliklə filamentlər (-) sonluq tərəfi aparıcı istiqamət olmaqla hərəkət etmiş olur. Myozinin aktin filamentlərini hərəkətə gətirdiyi sürət sürüşən filamentlər sınağının video çəkilişindən təyin edilə bilər (Şəkil 17-23b).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-23 Sürüşən-filament sınağı myozinlə-həyata keçən hərəkəti aşkar etmək üçün istifadə olunur.

(a) Myozin molekulları örtük şüşəsinin səthinə adsorbsiya olunduqdan sonra myozin molekullarının örtük şüşəyə yapışmamış artıq hissəsi uzaqlaşdırılır, sonra örtük şüşə myozin-birləşən-səthi aşağıya olmaqla şüşə slaydın üstünə elə yerləşdirilir ki, arada qalan kamerada məhlul axa bilsin. Rodaminlə-nişanlanmış falloidinlə boyamaqla görüntülənən və stabilləşdirilən aktin filamentlərin məhlulu kamera daxilinə buraxılır. ATP iştirak edən halda, myozin başlar sonra Şəkil 17-26-da müzakirə və təsvir olunan mexanizmle aktin filamentlərin (+) sonluğuna tərəf hərəkət edir. Myozin quyruq örtük şüşəyə immobilizə olunduğundan (yapışdığından) onun (+) sonluğa tərəf hərəkəti filamentlərin sürüşməsinə səbəb olur və sanki filamentlər (-) sonluqları irəliyə olmaqla hərəkət edirlər. Fərdi filamentlərin hərəkəti fluoressent işıq mikroskopunda müşahidə edilə bilər. (b) Vidio mikroskopla çəkilmiş bu fotoqrafiyalar üç aktin filamentin (1, 2, 3 kimi nömrələnmiş) 30 saniyə intervalı ilə yerləşmə vəziyyətlərini göstərir. Filament hərəkətinin sürəti belə vidio çəkilmələrlə təyin edilə bilər. [(b) hissəsi nəzakətlə James Spudich tərəfindən verilmişdir.]

Bütün myozinlər myozin II-nin motor fəallığını həyata keçirən baş və boyun domenlərindən təşkil olunmuş S1 domeninə yaxın olan domenə malikdirlər. Amma, bizim sonrakı bölmədə görəcəyimiz kimi, boyun domenin uzunluğu və onunla assosiasiyada olan yüngül zəncirlərin sayı və tipləri myozin sinifləri arasında fərqlənir. Quyuq domeni hərəkətə kömək etmir, amma S1-lə əlaqəli olan domenlə təyin hərəkət edəcəyini təyin edir. Beləliklə, gözlənilmədiyi kimi, quyuq domenləri spesifik yüklərə birləşməni təyin etmək üçün çox fərqli ola bilərlər.

Myozinlər Mexanokimyəvi Motor Zülalların Böyük Ailəsini Təşkil Edirlər

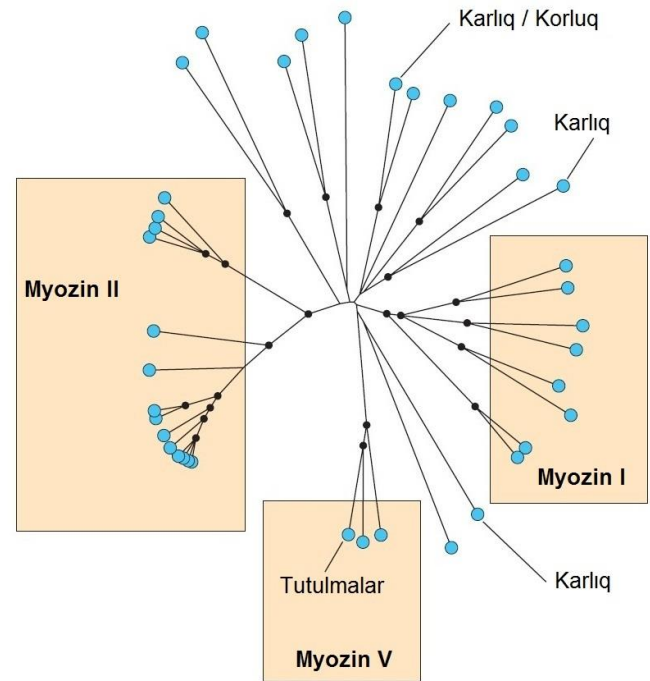
Bütün myozinlər, əsas amin turşusu ardıcılığında kifayət qədər oxşarlığa malik olan yaxın S1 domeninə malik olduğundan, ardıcılığı oxunmuş genomda neçə myozin geni və onların neçə müxtəlif siniflərinin olduğunu təyin etmək olar. İnsan genomunda təxminən 40 myozin geni vardır (Şəkil 17-24), bunlar *Drosophyla*-da doqquz, və tumurcuqlayan mayada beşdir. Myozin baş domenlərin ardıcılıqlarındakı yaxınlığın kompüter analizləri göstərir ki, eukaryotlarda myozinlər siniflərarasına nisbətən sinifdaxili daha çox ardıcılıq oxşarlığına malik olan təxminən 20-ə yaxın müxtəlif siniflər yaranıb inkişaf etmişdir. Şəkil 17-24-də göstəriləyi kimi, bəzi şərtlərin genetik əsasları myozin kodlaşdıran genlərə qədər izlənilmişdir. Bütün myozin baş domenlər ümumi mexanizmdən istifadə edərək ATP hidrolizini mexaniki işə çevirirlər. Amma, bizim görəcəyimiz kimi, bu mexanizmdə incə bir variasiya müxtəlif myozin siniflərinin funksional xssəsində geniş təsirə malik olur. Bu müxtəlif siniflər quyuq domenlərinə görə necə oxşarlığa malikdirlər? Çox heyrətləndiricidir ki, əgər myozinin quyuq domeninin yalnız zülal ardıcılığı götürülərsə və bu məlumat onların siniflərə bölünməsində istifadə olunarsa onlar motor domenlərində olduğu kimi eyni qruplaşmalara düşəcəklər. Bu kəşf işarə edir ki, xüsusi xassələrə malik olan baş domenlər quyuq domenlərin spesifik sinifləri ilə eyni zamanda birlikdə yaranmışlar, bu da bir çox mülahizələrə səbəb olur və göstərir ki, hər bir myozin sinifi spesifik funksiyanı həyata keçirmək üçün yaranmışdır.

Myozinlərin bütün bu sinifləri arasında, bütün heyvanlarda və göbələklərdə tapılmış üçü sinifi xüsusən çox yaxşı öyrənilmişdir, onlar: *myozin I*, *myozin II* və *myozin V* ailələri kimi adlandırılır (Şəkil 17-25). İnsanlarda, səkkiz gen myozin I ailəsinin, on dörd gen myozin II ailəsinin və üç gen myozin V ailəsinin ağır zəncirini kodlaşdırır (bax Şəkil 17-24).

Myozin II molekulları, filamentin iki yarısı əks tərəfə istiqamətlənmiş dipolyar filamentlərdə yığılırlar, beləliklə filamentin hər iki ucunda baş domenlərin klasteri olur. Belə təşkil olunma onun əzələ dartılmalarında iştirak etməsi üçün əhəmiyyətlidir, həqiqətən də, bu yeganə myozin sinifidir ki, dartılma funksiyalarında iştirak edir. Bu sinifin çox böyük sayda nümayəndələrinin olması, müxtəlif əzələlərdə (o cümlədən, skelet, ürək və müxtəlif tipli saya əzələlərdə) və eləcə də qeyri-əzələ hüceyrələrində dartılma xassəsində yüngülcə fərqlərə malik olan myozin II filamentlərə olan tələbatı əks etdirir.

Myozin II sinifi yeganə sinifdir ki, bipolyar filamentlərdə yığılırlar. Bütün myozin II filamentlər nisbətən qısa boyun domeninə malikdirlər və hər bir ağır zəncirə görə iki yüngül zəncirə malikdirlər. Myozin I sinifi kifayət qədər böyük sinifdir,

dəyişkən sayda yüngül zəncirlər boyun rayonu ilə assosiasiya edirlər və yeganə sinifdir ki, iki ağır zəncir öz quyuq domenləri ilə assosiasiya etmirlər və beləliklə bir-başlıdırlar. Myozin I sinifin böyük ölçüləri və müxtəlifliyi göstərir ki, bu myozinlər çox funksiyalı yerinə yetirirlər və bunların çoxu təyin edilməmişdir, amma bu ailənin bəzi nümayəndələri aktin filamentlərini membrana birləşdirir, başqaları isə endositozda iştirak edirlər. Bu myozin molekullarının hər birinin yalnız bir başı olduğundan hərəkəti əmələ gətirmək üçün onların bir neçəsi birlikdə işləməli və onlardan ən azı biri aktin filamentlə birləşmiş olmalıdır. Myozin V sinifinin nümayəndələri iki ağır zəncirə malikdir, nəticədə iki başa, hər biri altı yüngül zəncirə malik olan uzun boyun rayonlarına, dimerləşən və spesifik daşınan orqanoidlərə birləşən domenlərdə başa çatan quyuq rayonlarına malik olan motoru əmələ gətirirlər. Bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, boyun rayonunun uzunluğu myozin hərəkətinin sürətinə təsir edir.

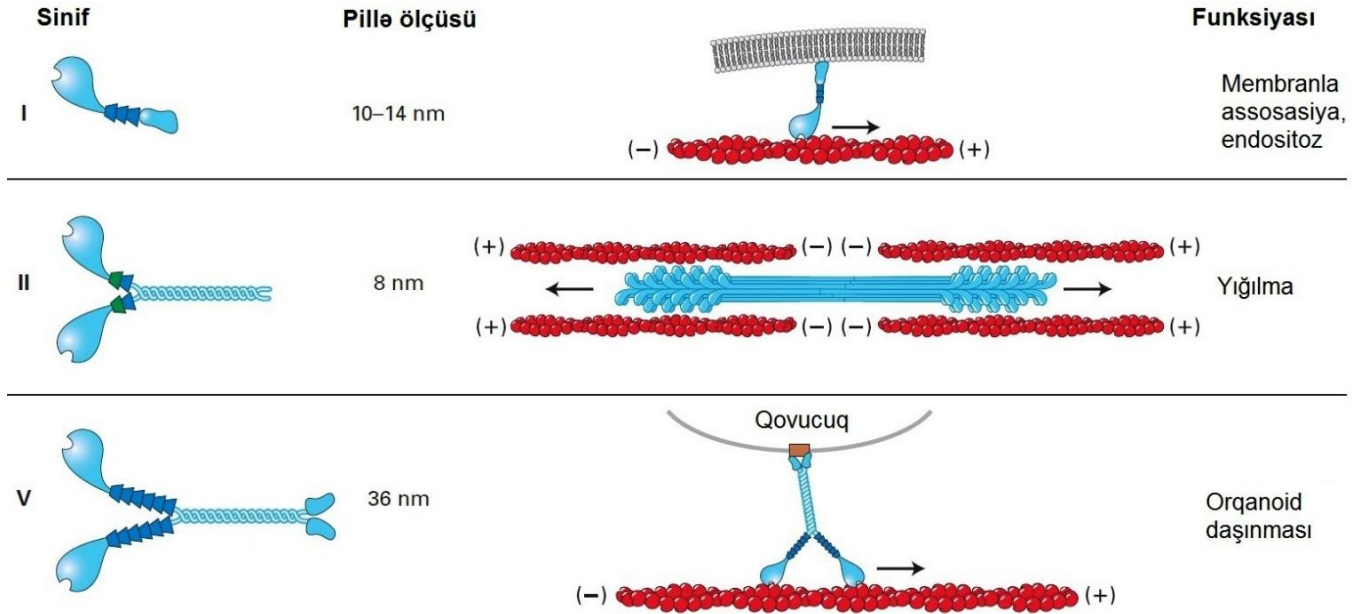


ŞƏKİL 17-24 İnsanlarda myozin superailəsi. İnsanlarda kodlaşdırılan təxminən 40-a yaxın myozinin hamısının S1 baş domenindəki yaxınlığın kompüter analizlərinin nəticələri. Hər bir myozin mavi nöqtə ilə göstərilmişdir. Qara xəttin uzunluğu yaxınlıq münasibətlərindəki filogenetik məsafəni göstərir: qısa xətlərlə əlaqələnməmiş myozinlər daha oxşardırlar, daha uzun xətlərlə ayrılanlar isə daha uzaq qohumluğa malikdirlər. Bu myozinlər arasında üç sinif – myozin I, II və V – eukaryotlar arasında geniş təmsil olunmuşlar; başqaları isə daha çox xüsusilənmiş funksiyalara malikdirlər. Spesifik myozinin itirildiyi göstərilən nümunələr xəstəliklərə səbəb olurlar. [Verilənlər R.E. Chene, 2001, *Mol.Biol.Cell* **12**:780-dən.]

Bu axta qədər sınaqdan keçirilmiş hər bir halda myozinlər, yalnız heyvanlarda tapılmış *myozin VI* istisna olmaqla aktin filamentlərin (+) sonluğuna doğru hərəkət edirlər. Bu çox nəzərə çarpan myozin öz baş domenində bir əlavəyə (insert) malikdir və bu ona əks istiqamətdə işləməyə imkan verir, beləliklə o aktin filamentin (-) sonluğuna tərəf hərəkət edə bilər. Guman olunur ki,

myozin VI endositoz qovucuqlarını aktin filamentlər boyu plazma membranından kənara hərəkət etdirməklə endositoza kömək edir. Xatırladaq ki, membranla-birləşmiş aktin filamentlər membrana tərəf yönəlmiş (+) sonluqlarına

malikdirlər, beləliklə (-) sonluq istiqamətində yönəlmiş motor onları membrandan kənara, hüceyrə mərkəzi istiqamətində aparmalıdır.



ŞƏKİL 7-25 Myozinlərin üç ümumi sinifi. Myozin I molekulları baş domendən və boyun domindən təşkil olunublar, müxtəlif sayda yüngül zəncirlər boyun domeni ilə assosiasiyada olur. Myozin I sinifinin nümayəndələri vahid baş domənə malik olan yeganə myozinlərdir. Bu myozinlərin bəziləri, guman olunur ki, lipid qarşılıqlı əlaqə vasitəsi ilə birbaşa membranla assosiasiyada olur.

Myozin II molekulları iki baş domənə və hər bir boyunda iki yüngül zəncirə malikdir və yeganə sinifdir ki, dipolyar filamentlərdə yığılırlar. Myozin V molekulları iki baş domənə hər boyunda altı yüngül zəncirə malikdirlər. Onlar daşdıqları orqanoiddəki xüsusi reseptorlarla birləşirlər (qonur boks). Bu üç sinifdə olan bütün myozinlər aktin filamentlərin (+) sonluğuna tərəf hərəkət edirlər.

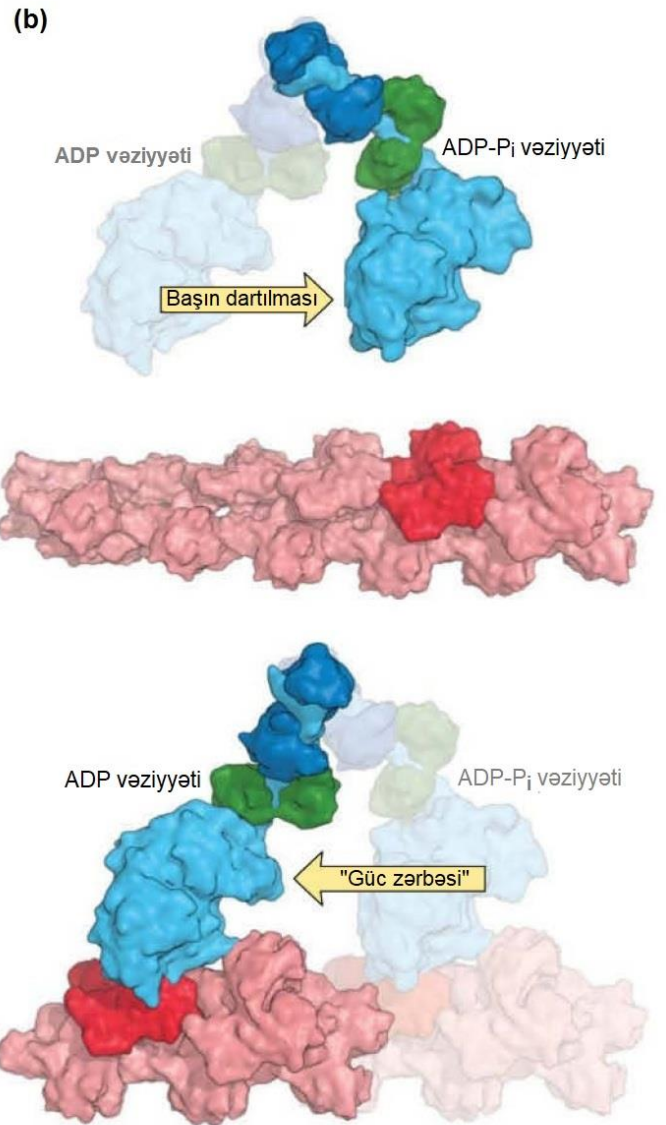
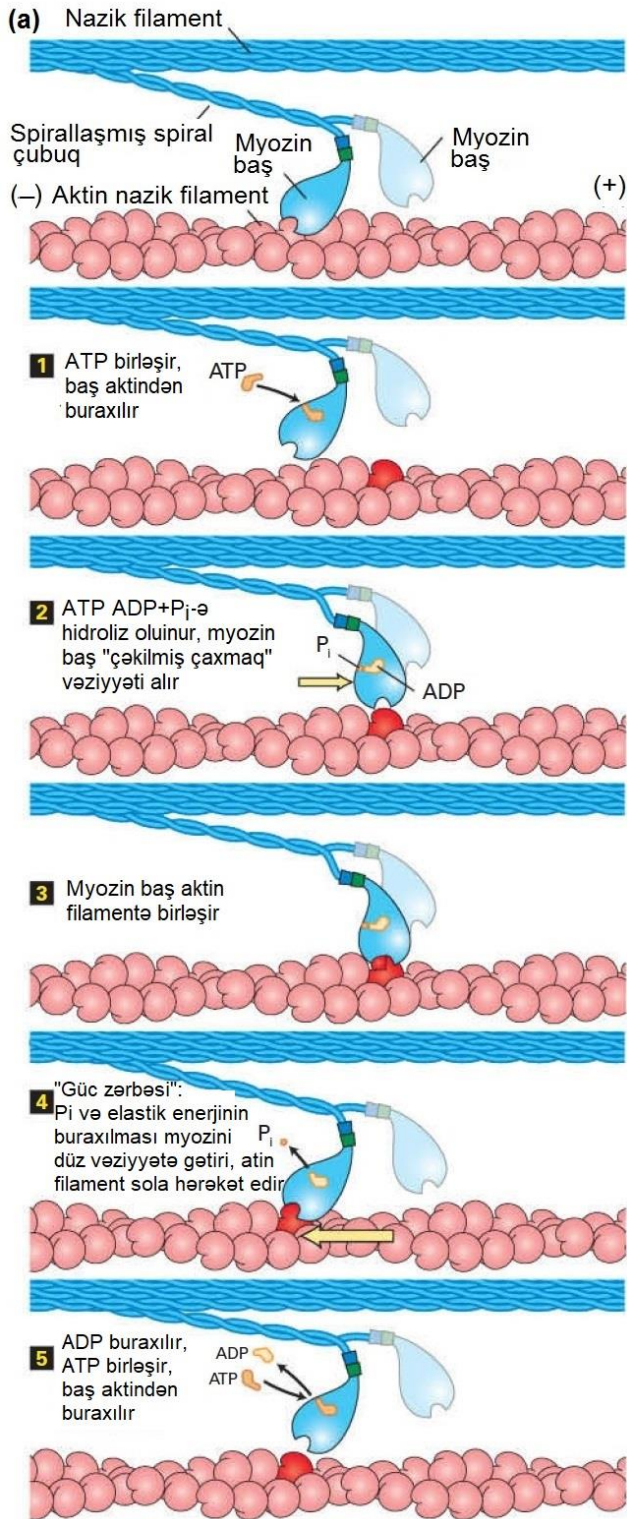
Miozun Başında Konformasiya Dəyişməsi ATP Hidrolizini Hərəkətlə Birləşdirir

Əzələ yığılmalarının öyrənilməsi myozin başların aktin filamentləri boyunca sürüşməsi və ya hərəkət etməsi barədə ilk sübutları verdi. Əzələ yığılması mexanizminin izahında in vitro hərəkətilik sınağının inkişaf etməsi və vahid-molekul gücünün ölçülmələri böyük komək oldu. Bu metodlar vasitəsi ilə alınmış informasiyaya və myozin başların üçölçülü quruluşuna əsasən (bax Şəkil 17-22c), tədqiqatçılar myozinin ATP hidrolizindən alınan enerjini aktin filamentlər boyunca hərəkətə necə çevirməsinin ümumi modelini inkişaf etdirdilər. Bütün myozinlərin hərəkəti yaratmaq üçün eyni əsas mexanizmdən istifadə etdiyi düşünüldüyündən, biz myozin quyruqların qovucuqlara birləşmiş olmasını və ya əzələdə olduğu kimi, qalın filamentin bir hissəsi olduğu momentə nəzərə almayacağıq. Bu modelin daha çox əhəmiyyətli aspekti ondan ibarətdir ki, vahid ATP molekulunun hidrolizi myozin molekulunun aktin filamenti boyunca etdiyi hərəkətinin hər bir pilləsi ilə birləşir.

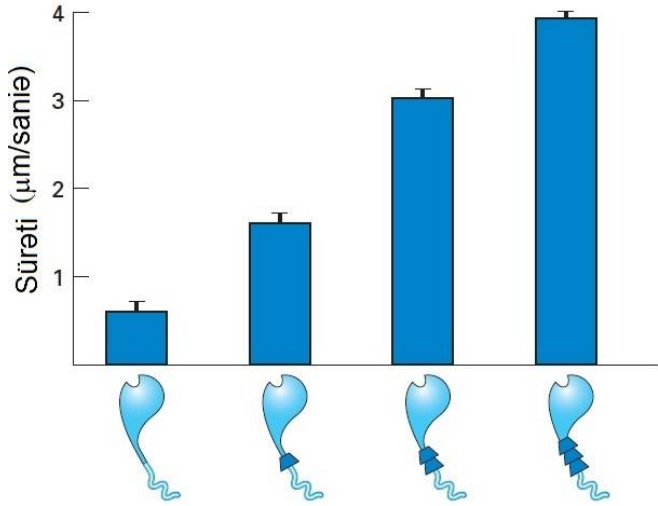
Myozin ATP hidrolizindən ayrılan kimyəvi enerjini mexaniki işə necə çevirə bilər? Yuxarıda qeyd edildiyi kimi, myozinin S1 başı ATP-azadır, ona görə də ATP-ni ADP-yə və P_i hidroliz edə bilər. Biokimyəvi analizlər myozin hərəkətinin mexanizmini aşkar etdi (Şəkil 17-26a). ATP olmayanda myozin baş möhkəm şəkildə F-aktinə birləşir. ATP başa birləşəndə, onun F-aktinə olan affinliyi güclü şəkildə azalır və o

aktindən ayrılır. Sonra myozin baş ATP-ni hidroliz edir və hidroliz məhsulları ADP və P_i ona birləşmiş vəziyyətdə qalır. ATP hidrolizindən ayrılan enerji başda konformasiya dəyişikliyinə baş verməsinə səbəb olur, nəticədə baş domeni boyuna nisbətən fırlanır və bu “çəkilməmiş çaxmaq” vəziyyətini xatırladır (Şəkil 17-26b, yuxarıda). F-aktin olmadıqda, P_i buraxılması həddən artıq zəif gedir, bu ATP-aza tsiklinin ən zəif hissəsidir. Amma, aktinin iştirakı ilə baş F-aktinə möhkəm şəkildə birləşir və bu P_i buraxılmasını və başın geriyyə əvvəlki vəziyyətinə qayıtmasını induksiya edir, beləliklə aktin filamentin boyun domeninə nisbətən hərəkət etməsinə səbəb olur (Şəkil 17-26b, aşağıda). Bu yolla, F-aktinin birləşməsi başın hərəkət etməsinə və P_i buraxılmasını induksiya edir, bununla da iki prosesi birləşdirir. Bu proses *güc zərbəsi* (*power stroke*) kimi məlumdur. Baş ADP-nin buraxılmasına və yeni ATP-nin başa birləşməsinə və onu aktin filamentdən ayırmasına qədər birləşmiş vəziyyətdə qalır. Dövrə yenidən təkrarlanır və myozin yenidən filamentin əksi istiqamətdə hərəkət edə bilər.

Başın nukleotid-birləşən cibində ATP-nin hidrolizi gücə necə çevrilir? ATP-nin hidrolizi baş domendə kiçik konformasiya dəyişikliyinə əmələ gətirir. Bu kiçik hərəkət, başın altında olan “çevirici” rayon ilə amplifikasiya olunur, bu da dayaq nöqtəsi kimi fəaliyyət göstərərək çubuqşəkilli boyunun fırlanmasına səbəb olur. Bu fırlanma boyun domeni ilə amplifikasiya olunur, beləliklə aktin filamentlər bir neçə nanometr hərəkət edir (bax Şəkil 17-26b).



ŞƏKİL 17-26 Aktin filamentlər boyunca myozinin ATP ilə idarə olunan hərəkəti. (a) ATP olmayanda, myozin baş aktin filamentlərə möhkəm şəkildə birləşmişdir. Baxmayaraq ki, bu vəziyyət canlı əzələlərdə çox qısa müddətdə olur, bu ölüm zamanı əzələlərin tarım çəkilməmiş vəziyyətdə olmasına cavab verir (rigor mortis). Pıllə 1: ATP birləşməsi ilə, myozin baş aktin filamentdən buraxılır. Pıllə 2: Baş ATP-ni ADP və P_i-ə hidroliz edir və başın boyuna nisbətən fırlanmasını induksiya edir. Bu "çəkilməmiş çaxmaq" vəziyyəti ATP hidrolizi tərəfindən ayrılan enerjini dartılmış yayda olan elastik enerji kimi saxlayır. Pıllə 3: Myozin "çəkilməmiş çaxmaq" vəziyyətdə aktinə birləşənə qədər stabil qalır. Pıllə 4: Aktinə birləşərkən, myozin baş P_i buraxılması ilə elastik enerjinin buraxılmasını aktin filamentin hərəkət etməsi üçün birləşdirir. Bu hərəkət, aktin filamentin myozinin boyun domeninin ucuna nisbətə yerinin dəyişməsinə aid olduğundan "güc zərbəsi" kimi tanınır. Pıllə 5: Baş ADP ondan buraxılana və yeni ATP ona birləşənə qədər aktin filamentə sıx şəkildə birləşmiş vəziyyətdə qalır. Bax R.D. Vale and R.A. Milligan, 2002, Science 288:88. (b) Myozin başdakı konformasiya dəyişikliyinə molekulyar modeli başın "dik qalxması" (yuxarı panel) zamanı və enerji zərbəsindən sonra (aşağı panel). Myozin yüngül əncirlər tünd göy və yaşıl rənglərdə göstərilir, myozin başın qalan hissəsi və boyun açıq mavi rəngdə, aktin isə qırmızı rəngdə göstərilir. Bax S. Fisher et al., 2005, Proc.Ntl.Acad.Sc.USA 102:6873-6876. [(b) hissəsi Ken Holmes-dən.]



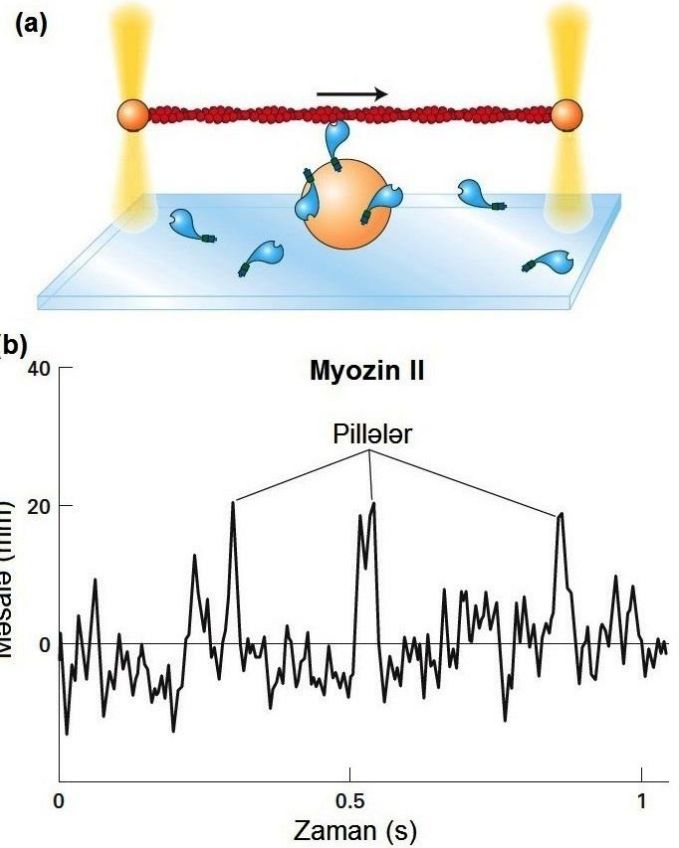
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-27 Myozin II boyun domeninin uzunluğu hərəkətin sürətini təyin edir. Myozin hərəkətinin qol (ling) modelini yoxlamaq üçün tədqiqatçılar müxtəlif uzunluqda boyun domeninə birləşdirilmiş myozin başları yaratmaq üçün rekombinant DNT texnologiyasından istifadə etdilər. Myozinin aktin filamentlər üzərində hərəkət etdiyi sürət təyin edildi. Qol (ling) nə qədər uzun oldusa myozin də bir o qədər sürətlə hərəkət etdi, bu guman olunan mexanizmi təsdiq etdi. [Nöticələr K.A. Ruppek and J.A. Spudich, 1996, Ann. Rev. Cell Dev. Biol12:543-573.]

Bu model güclü proqnoz verə bilər: bir ATP-nin hidrolizi zamanı aktin boyunca myozinin hərəkət etdiyi məsafə—myozin *addım ölçüsü*—boyun domeninin uzunluğuna mütənasib olmalıdır. Bu proqnozu yoxlamaq üçün müxtəlif uzunluqlarda boyun domeni olan mutant myozin molekulları yaradılmışdır və onların aktin filamenti boyunca hərəkət etdiyi məsafə təyin edilmişdir. Maraqlıdır ki, boyun domeninin uzunluğu ilə hərəkətin sürəti arasında çox əlaqə korrelyasiya aşkar edilmişdir (Şəkil 17-27).

Aktin Filamentlər Boyunca Myozin Baş Diskret Addımlar Edir

Myozinin ən kritik əhəmiyyətli xüsusiyyəti onun hərəkəti əmələ gətirən güvvə yaratmaq qabiliyyətidir. Tədqiqatçılar vahid bir myozin molekulu tərəfindən yaradılan güvvəni ölçmək üçün *optik tələlərdən* istifadə etdilər (Şəkil 17-28a). Bu yanaşmada, myozin aşağı sıxlıqda qranulalara immobilizə olundu. İki optik tələ arasında qalan aktin filamenti qranulalar istiqamətində myozin molekulunda baş hissəsi ilə əlaqə əmələ gətirənə qədər aşağıya enir. ATP əlvə edildikdə myozin aktin filamentə tərəf dartılır. Kompüterlə idarə olunan geriye əlaqə mexanizmindən istifadə edərək dartılma məsafəsini və hərəkət güvvəsini və müddətini ölçmək olar. Optik tələ tədqiqatlarının nəticələri göstərir ki, myozin II diskret pillələr edir, orta hesabla hər biri 8 nm (Şəkil 17-28b) və 3-5 pikonyuton (pN) güvvəni əmələ gətirir, bu təxminən bir bakteriyanın qravitasiya ilə əmələ gətirdiyi güvvəyə bərabərdir. Biz həmçinin görə bilərik ki, myozin II aktin filamentlə əlaqəni fasiləsiz davamlı şəkildə əmələ gətirmir, əksinə, birləşir, hərəkət edir və onu buraxır (bax Şəkil 17-28b).

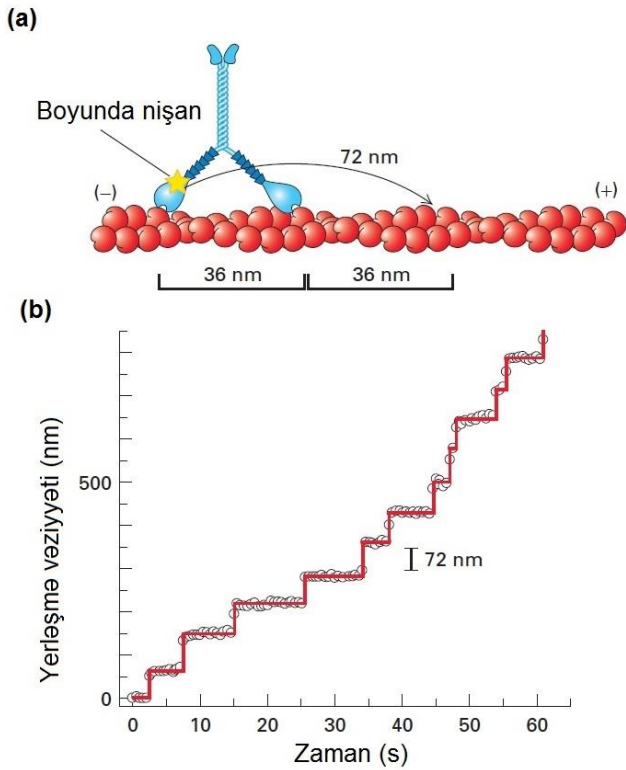
Faktiki olaraq, myozin II orta hesabla hər bir ATP-əza dövrəsinin yalnız 10 faizini F-aktinlə əlaqədə keçirir, necə deyirlər, vəzifə dərəcəsi 10 faiz təşkil edir. Biz sonra əzələ yığımlarına baxdıqda bu müşahidələr çox əhəmiyyətli olacaq, yüzlərlə myozin baş aktin filamentlərini dartır, belə ki, başların 10 faizi birləşərək rəvan (müntəzəm) dartılmanı təmin edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-28 Myozin addımlarının uzunluğunun və güvvəsinin optik tələlərdə tutulan aktinlə ölçülməsi. (a) Optik tələ metodu vahid myozin molekulunun addım ölçülərini və əmələ gələn güvvəni təyin etmək üçün istifadə oluna bilər. Optik tələdə, qranulaları çəkmək və şüanın ortasında saxlamaq üçün işıq mikroskopu ilə infraqırmızı lazerin şüaları lateks qranulalara (və ya infraqırmızı lazeri udmayan istənilən başqa cisimə) yönəldilir. Qranulaları saxlayan güvvənin möhkəmliyi lazer şüalarının intensivliyinin artırılması və ya azaldılması ilə nizamlanır. Bu eksperimentdə, aktin filament iki optik tələ arasında saxlanılır. Sonra aktin filament durulaşdırılmış myozin molekulları ilə örtülmüş üçüncü qranulanın ortasına endirilir. Əgər aktin filament ATP olan yerdə myozin molekulu ilə rastlaşsın, myozin aktin filamentini çəkəcək, bu da tədqiqatçıya əmələ gələn güvvəni və myozinin etdiyi addımın ölçüsünü ölçməyə imkan verəcək. (b) Optik tələ pillələrini ölçməklə tədqiqatçılar myozin II-nin hərəkətini analiz etdilər. İzləmə piklərində göstərilirdiyi kimi, myozin II dəyişkən kiçik addımlar edir (5-15 nm), bu göstərir ki, o aktin filamentə birləşir, hərəkət edir və onu buraxır. Buna görə də o qeyri-prosessiv motordur. [(b) hissəsi Finer et al., 1994, Nature 368:113-dən.]

İndi isə myozin V-in necə hərəkət etməsinə baxaq. Alimlər məhz myozin V molekulunun iki boyn rayonundan brinə fluorescent probu birləşdirər bildilər və molekul aktin filamenti boyunca hərəkət etdikcə fluorescent təsvirə baxa bildilər (Şəkil

17-29a). Nişanlanmış baş aktindən ayrılmadan çox sayda 72 nm addımlar (pillələr) edir – buna prosessiv hərəkət deyilir (Şəkil 17-29b). Addımların ölçüsü aktin filamentindəki spiral təkrarlar arasındakı 36 nm məsafədən iki dəfə artıqdır (bax Şəkil 17-5b və 17-29a). Beləliklə, filamentdəki hər bir təkrarlanan 36 nm spiral sayt birləşmə saytlarını təmsil edir, çünki hər baş ardıcıl olaraq 72 nm-lik addımlar edir – sanki çayın içindəki daşları addımlayaraq keçən adam bunu hər ayağını başqa bir daşın üstünə qoymaqla edir. Diqqət yetirin ki, hər bir fərdi baş üçün addımların ölçüsü 72 nm olsa da, myozin V-in quyruq rayonuna qoşulmuş yük, baş yükün arxasından onun qabağına doğru hərəkət etdikcə hər addımda 36 nm hərəkət edəcəkdir. Beləliklə, motorun addım ölçüsü, Şəkil 17-29-da göstəriləndiyi kimi, ümumilikdə 36 nm-dir. Ehtimal ki, myozin V filamentin spiral təkrarlarının ölçüsünə uyğun olan böyük addımlar etmək üçün uzun boyun domenini – lingi – yaradıb inkişaf etdirmişdir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-29 Myozin V 36 nm addım ölçüsünə malikdir, hər baş 72 nm addımlarla əl-ələ hərəkət edir. (a) Tədqiqatçılar myozin V-in yalnız bir başında boyunu nişanladılar və onun aktin filamentini boyunca hərəkətini nanometr dəqiqliyi ilə izlədilər (bunun necə əldə olunması üçün 4.2 Bölməyə bax). (b) Bir myozin V molekulu aktin filamentini boyunca hərəkət etdikcə ondakı nişanın izlənməsi. Nişanlanmış myozin baş ardıcıl olaraq 72-nm addımlar edir. Nişan quyruğa birləşəndə, aşkar edildi ki, myozin V motor bütövlükdə 36-nm addımlar edir (burada göstərilir). Beləliklə, myozin V başlar əl-ələ aktin filament boyunca hər bir baş 72-nm addımlarla olmaqla, amma motor bütövlükdə hər addım 36 nm olmaqla aktin filamentini boyunca aşağı hərəkət edir. İzləmədən görüldüyü kimi, myozin V filament boyu çoxsaylı ardıcıl addımlar edir, beləliklə ona prosessiv deyilir. Panel (a)-da göstəriləndiyi kimi, addımın ölçüsü aktin filamentin spiral quruluşunun ekvivalent saytlarına uyğun gəlir. [Nətcələr A. Ydiz et al., 2003, *Science* 300:2061-dən.]

Bundan başqa, onun ATP-ə dövrəsi (tsikli) ADP buraxılmasını zəiflətməklə daha yüksək vəzifə (yerinə yetirmə) dərəcəsinə (>70 faiz) malik olmaq üçün modifikasiya olunmuşdur, beləliklə, baş dövrənin daha böyük faizində aktin filamentlə əlaqədə olur. Myozin V molekulu iki başa malik olduğundan, 50 faizdən yüksək olan yerinə yetirmə dərəcəsi aktin filamentini boyunca hərəkət etmə zamanı onun aktin filamentlə daim əlaqədə olmasını təmin edir, belə ki, o heç vaxt ayrılmır. Bunlar, yükü aktin filamentini boyunca daşımaq üçün nəzərdə tutulmuş motor üçün gözlənilən bilən dəqiq xüsusiyyətlərdir.

17.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Myozinlər: Aktin-Əsaslı Motor Zülallar

- Myozinlər ATP hidrolizi ilə işləyən aktin əsaslı motorlardır.
- Myozinlər motor baş domenə, qol boyun domeninə və yük birləşən quyruq domenə malikdirlər (bax Şəkil 17-22).
- Myozinlərin çox sinifi vardır, onlardan üçü bütün eukaryotlarda mövcuddur: tək bir baş domenə malik olan myozin I; iki baş domenə malik olan və dipolyar filamentlərdə yığılan myozin II; iki başı olan, amma filamentlərdə yığılmayan myozin V (bax Şəkil 17-25).
- Myozinlər, baş F-aktinə birləşən zaman boyun domenini vasitəsi ilə başda kiçik konformasiya dəyişikliyinə amplifikasiya etməklə ATP hidrolizini mexaniki işə çevirir (bax Şəkil 17-26).
- Myozin başlar aktin filamentini boyunca diskret addımlar edirlər, və myozin II-də olduğu kimi bunlar kiçik (8 nm) və qeyri prosessiv, və ya myozin V-də olduğu kimi böyük (ümumilikdə motor üçün 36 nm, hər bir baş üçün 72 nm) və prosessiv olurlar.

17.6 Myozinlə-Gücləndirilən Hərəkət

Biz artıq, myozinlərin motor xassəsini yerinə yetirən baş və boyun domenlərini müzakirə etdik. İndi biz, yükün daşınmasını və myozinlərin hərəkətini təyin edən quyruq domenlərin müzakirəsinə başlayırıq. Myozinlərin metazoonlarda yeni aşkar edilmiş çox sinifinin funksiyaları hələ tam məlum deyildir. Biz bu bölmədə, spesifik myozin funksiyaları barədə gözəl ideyalarımızın olduğu məhz iki nümunəni veririk. Bizim birinci nümunəmiz, myozin II-nin aşkar edildiyi skelet əzələləridir. Əzələdə, hər biri aşağı yerinə yetirmə nisbətində malik olan bir çox myozin II başlar birlikdə çalışaraq əzələ yığılmalarının həyata keçirən dipolyar filamentlərdə dəstə şəkilində bağlanırlar. Buna oxşar şəkildə təşkil olunmuş yığılma maşını, saya əzələlərin, stress liflərinin və sitokinez zamanı dartıla bilən həlqələrin yığılmasında da fəaliyyət göstərir. Biz sonra myozin V sinifinə qayıdırdıq, onun yüksək yerinə yetirmə nisbəti bu myozinlərə aktin filamentlərdən dissosiasiya etmədən, yükün nisbətən uzaq məsafəyə daşınmasına imkan verir.

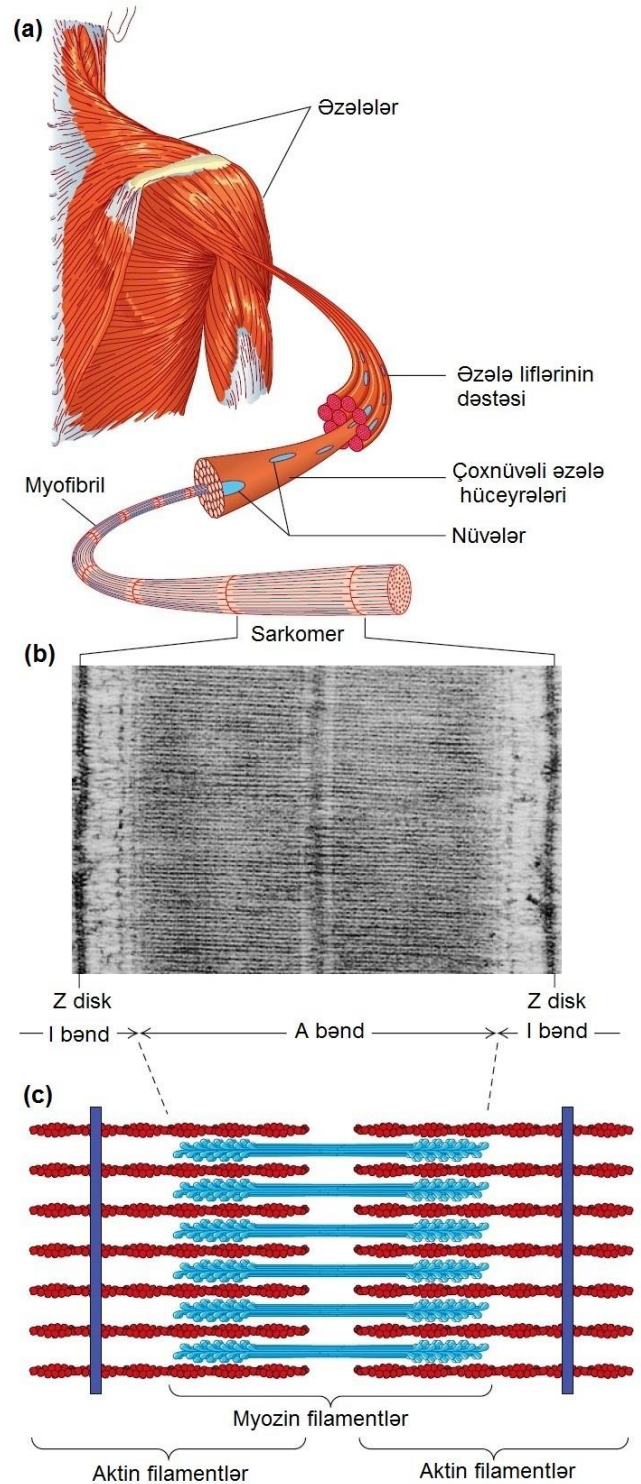
Qalın Myozin Filamentlər və Nazik Aktin Filamentləri Skelet Əzələlərində Yığılma Zamanı Bir-Birinin Yanından Sürüşərək Keçirlər

Əzələ hüceyrələri yüksək bir funksiyanı, əzələ yığılmasını yerinə yetirmək üçün yaranıb inkişaf etmişdir. Əzələ yığılmaları çox sürətlə və təkrarlarla baş verməlidir və onlar uzun məsafələrdə və kifayət qədər qüvvə ilə baş verməlidir ki, böyük bir yükü daşıya bilsinlər. Tipik skelet əzələ hüceyrəsi silindrikdir, böyük (1-40 mm uzunluqda və 10-50 µm enlikdə) və çoxnüvəli (100 qədər çoxsaylı nüvəsi) olmalıdır (Şəkil 17-30a). Hər bir əzələ hüceyrəsi daxilində olan çoxsayda **myofibrillər sarkomer** adlanan xüsusi quruluşların rəqulyar təkrarlanan düzülüşündən təşkil olunmuşdur (Şəkil 17-30b). Sarkomer sakitlikdə olan təxminən 2 µm uzunluqda olub, əzələ yığılması zamanı öz uzunluğunun 70 faizə qədərində qısala bilər. Elektron mikroskopiya və biokimyəvi analizlər göstərir ki, hər bir sarkomer iki əsas tip filamentə malik olur: *qalın filamentlər*, əsasən myozin II-dən təşkil olunublar və *nazik filamentlər*, əsasən aktin və onunla assosiasiyada olan zülallardan təşkil olunublar (Şəkil 17-30c).

Qalın filamentlər myozin II dipolyar filamentlərdir, filamentin iki yarım hissəsindəki başlar əks tərəfə yönəlmişlər (bax Şəkil 17-22a). Nazik aktin filamentlər (+) sonluqları ilə *Z disk* kimi məlum olan tünd rənglənmiş quruluşda yığılmışlar, belə ki, sarkomerlərdə aktin filamentlərin iki dəsti əks orientasiyaya malikdirlər (Şəkil 17-31). Əzələnin necə yığıldığını anlamaq üçün, Şəkil 17-26-da təsvir ediliyi kimi, bir myozin başı ilə (yüzlərlə qalın filamentlər arasında) bir nazik (aktin) filament arasındakı qarşılıqlı təsirə baxaq. Həmçinin, *kəşiyən körpü tsikli* kimi də adlanan bu tsiklik qarşılıqlı təsirlər zamanı, ATP-nin hidrolizi myozin başın aktin nazik filamentin (+) sonluğuna uyğun gələn *Z disk*ə doğru hərəkəti ilə birləşir. Qalın filament dipolyar olduğundan, qalın filamentin əks uclarında myozin başların fəaliyyəti nazik filamentləri qalın filamentlərin məkəzinə doğru və ona görə də sarkomerin mərkəzinə doğru datır (bax Şəkil 17-31). Bu hərəkət sarkomerləri qalın filamentlərin sonuna, təxminən *Z disk*ə qədər qısaldır. Bütöv (intakt) bir əzələnin dartılması yüzlərlə myozin başların tək bir qalın filamentdə, sarkomerdəki yüzlərlə nazik və qalın filamentlərdə və əzələ lifində minlərlə sarkomerlərdə amplifikasiya olunan fəallığının nəticəsidir. İndi biz görə bilirik, nəyə görə myozin II həm qeyri-prosessivdir həm də aşağı yerinə yetirmə dərəcəsinə malik olmalıdır: hər bir baş aktin filamentdə qısa bir məsafəni dartır və sonra başqa başlara dartmağa imkan verir, beləliklə bu qədər çox başlar bir yerdə işləyərək sarkomerin sərbəst yığılmasına imkan yaradırlar. Əzələ yığılmasının sürüşən filamentlər modelinin ilk eksperimental əsası Klassik Eksperiment 17-1-də işıqlandırılmışdır.

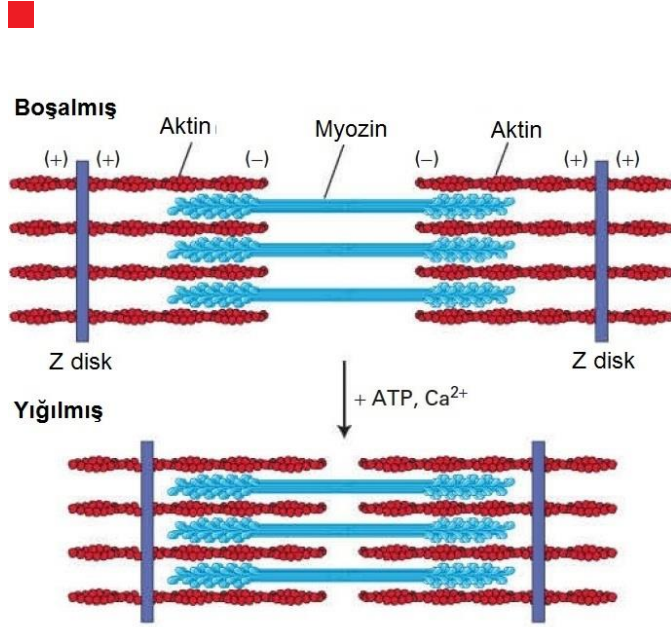


İnsanın ürəyi heyranedicə dərəcədə yığılan orqandır – o fasiləsiz şəkildə dayanmadan il ərzində 3 million dəfə və ya bütün həyat boyu təxminən milyardın beşdə biri qədər yığılır. Ürəyin əzələ hüceyrələrinin yığılıb-açılma məşını skelet əzələlərinin yığılıb-açılma mexanizminə çox oxşardır, istisna odur ki, onar bir- və ya iki-nüvəli hüceyrələrdir. Hər bir hüceyrədəki uc sarkomer plazma membranında, hüceyrələri yığılıb-açılma zəncirində əlaqələndirən interkalyasiya olunmuş disklər adlanan quruluşa daxil olurlar. Ürək əzələ hüceyrələri ömürün yalnız başlanğıcında yaranırlar və onlar infarkt zamanı meydana gələn zədələnmələrə görə əvəz edilə bilmirlər. Ürək



ŞƏKİL 17-30 Skelet əzələ sarkomerinin quruluşu. (a) Skelet əzələləri, çoxnüvəli hüceyrələrdən əmələ gəlmiş əzələ liflərindən təşkil olunublar. Hər bir hüceyrə, sarkomerlər adlanan minlərlə təkrarlanan dartılan quruluşdan təşkil olunmuş myofibrillər dəstəsinə malikdir. (b) Siçanın skelet əzələsinin uzununa kəşiyinin elektron mikrofotosu bir sarkomeri göstərir *Z* disklərin istənilən bir tərəfində yüksək dərəcədə rənglənmiş bəndlər tamamilə aktin nazik filamentdən təşkil olunmuşdur. Bu nazik filamentlər *A* bəndində tünd rənglənmiş myozin qalın filamentlərlə daraq şəkilli kəşiyəmək üçün *Z* diskin hər iki tərəfindən uzanırlar. (c) Sarkomerdə myozinin və aktin filamentlərin düzülüşünün diaqramı. [(b) hissəsi © James Dennis /Phototake].

yığılıb-açılma maşını zülallarında çoxsaylı müxtəlif mutasiyalar *hipertrofik kardiomiopatin* – ürək divarı əzələlərinin qalınlaşmasının meydana gəlməsinə səbəb olur, bu da onun faliyyətini zəiflədir. Məsələn, ürək myozin-ağır zəncirin genində qeyd edilmiş çox mutasiyalar hətta heteroziqot fərdlərdə də zülalın yığılıb-açılma fəaliyyətini zəiflədir. Belə fərdlərdə ürək hipertrofiya (çox böyümə) ilə kompensasiya etməyə çalışır, bu da çox hallarda ağır (fatal) ürət aritmiyası (qeyri müntəzən döyünmə) ilə nəticələnir. Myozin ağır-zəncirindəki qüsurlardan başqa, kardiomiopatiyanın əmələ gəlməsinə səbəb olan qüsurlar əzələ yığılıb-açılma maşınının başqa komponentlərində, o cümlədən aktin, myozin yüngül zəncirləri, tropomyozin və troponindəki mutasiyalarla və titin (aşağıda müzakirə olunur) kimi quruluş komponentlərindəki mutasiyalarla da izlənilmişdir.

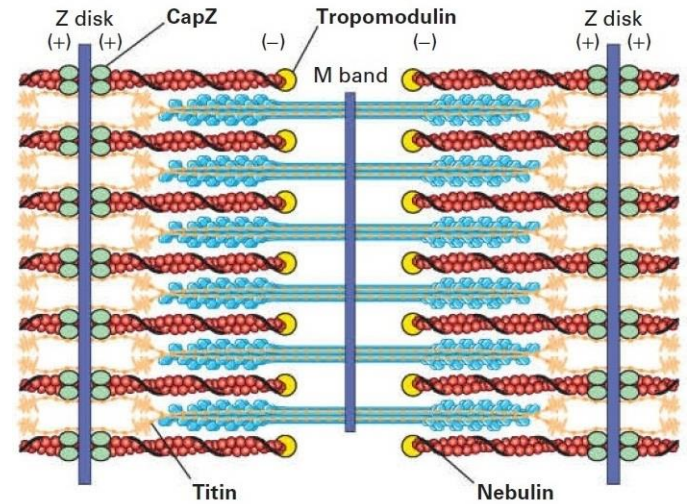


ŞƏKİL 17-31 Skelet əzələlərində yığılıb-açılmanın sürüşən-filament modeli. Qalın myozinin və nazik aktin filamentlərinin boşalmış vəziyyətdə düzülüşü yuxarıdakı diaqramda göstərilir. ATP və Ca^{2+} iştirakı ilə qalın filamentlərdən uzanıb çıxan myozin başlar filamentin (+) sonluğuna tərəf hərəkət edir. Nazik filamentlər Z diske (tünd qırmızı) lövbər etdiyindən myozinin hərəkət etməsi aktin filamentləri sarkomerin mərkəzinə doğru dartır, onun uzunluğunu aşağıdakı diaqramda göstəriləndiyi kimi, yığılmış vəziyyətə qədər qısaldır.

Skelet Əzələsi Stabilizirici və Skafolt Zülallarla Qurulmuşdur

Sarkomerlərin quruluşu bir sıra aksesuar zülallarla saxlanılır (Şəkil 17-32). Aktin filamentlər onların (+) sonluğunda CapZ ilə, (-) sonluğunda isə tropomodulinlə sabitləşir. *Nebulin* kimi məlum olan nəhəng (gigant) zülal, nazik aktin filamenti boyu onun birləşdiyi Z diskdən tropomodulinə qədər bütün məsafəni uzandır. *Nebulin* təkrarlanan domenlərdən ibarətdir, bunlar da filamentdəki aktinlərlə birləşir və güman olunur ki, aktin-birləşdirən təkrarların sayı və buna görə nebulinin uzunluğu nazik filamentlərin uzunluğunu təyin edir. Digər nəhəng zülal *titin* (ona görə ki, o çox böyükdür) Z disklə assosiasiya edən başa malikdir və qalın filamentin ortasına qədər uzandır, hansı ki,

buradan başqa titin molekulu növbəti Z diske qədər uzandır. Belə güman edilir ki, titin elastik molekuludur və qalın filament sarkomerin ortasında saxlayır və onun nazik filamentlər arasında saxlanılmasını təmin etmək üçün həddən atıq dartılmasına mane olur.



ŞƏKİL 17-32 Sümük əzələlərində tapılmış aksesuar zülallar. Aktin filamentləri sabilləşdirmək üçün Z diskindəki filamentlərin (+) sonluğunu CapZ papaq kimi qapadığı halda, (-) sonluğu tropomodulin papaq kimi qapayır. Çox böyük (gigant) zülal olan titin qalın filamentlərlə uzandır və Z diske yapışır. Nebulin aktin subvahidlərlə birləşir və nazik filamentlərin uzunluğunu təyin edir.

Skelet Əzələlərinin Yığılıb-Açılması Ca^{2+} və Aktin-Birləşdirən Zülallarla Tənzimlənir

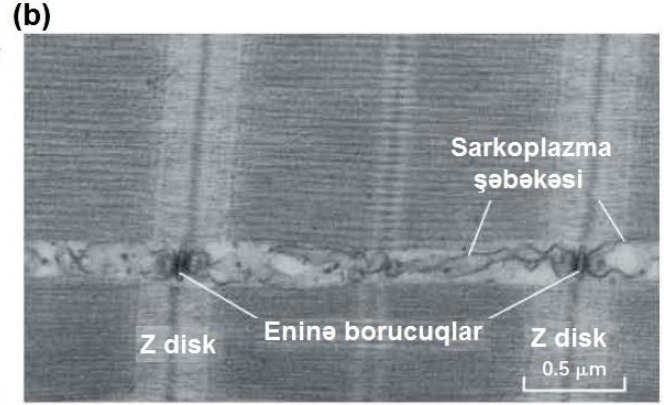
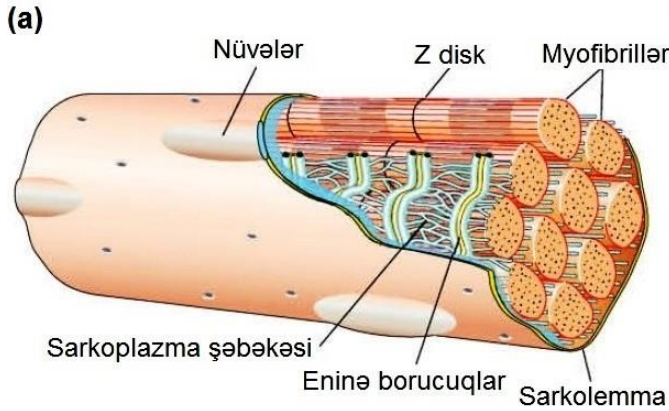
Çoxsaylı hüceyrə prosesləri kimi, skelet əzələsinin yığılması sitozolda Ca^{2+} qatılığının artması ilə inisiyasiya olunur. Fəsil 11-də müzakirə edildiyi kimi, sitozolun Ca^{2+} qatılığı normal şəkildə aşağı, $0.1 \mu M$ saxlanılır. Skelet əzələ hüceyrələrində sitozolun Ca^{2+} qatılığının aşağı səviyyəsi əsasən, fasiləsiz şəkildə Ca^{2+} ionlarını miofibrillərə malik olan sitozoldan əzələ hüceyrələrinin endoplazmatik şəbəkəsinin xüsusi forması olan sarkolazmatik şəbəkəyə (retikuluma) vuran unikal Ca^{2+} ATP-ə vasitəsi ilə saxlanılır (Şəkil 17-33). Bu fəaliyyət SR-da Ca^{2+} rezervuarını yaradır.

Sinir impulslarının (və ya *təsir potensialının*, bax Fəsil 22) gəlməsi sinir-əzələ qovşağında əzələ hüceyrəsinin plazma membranında (həmçinin sarkolazma kimi məlumdur) təsir potensialının yaranmasına təkan verir. Fəaliyyət potensialı, hər bir myofibril ətrafında hüceyrənin içərisinə nüfuz edən *eninə borucuqlar* kimi məlum olan plazma membranının invaziasiyası boyunca aşağıya hərəkət edir. Təsir potensialının eninə borucuqlara gəlib çatması SR membranında gərginliklə bağlı Ca^{2+} -kanallarının açılmasını stimullaşdırır və Ca^{2+} -un SR-dan buraxılması ilə miofibrillərdə sitozol Ca^{2+} qatılığının artmasını təmin edir. Ca^{2+} qatılığının belə artması, aktin filamentlərinə birləşərək normal halda myozin birləşməsini blok edən iki aksesuar (köməkçi) zülallarda tropomisin və troponində dəyişikliyi induksiya edir. Bu zülalların aktin nazik filamentlər üzərində vəziyyətinin dəyişməsi öz növbəsində aktin-myozin

qarşılıqlı əlaqəsinə və beləliklə də dartılmaya imkan yaradır. Bu cürə tənzimlənmə çox sürətlidir və *incə filament tənzimləməsi* kimi məlumdur.

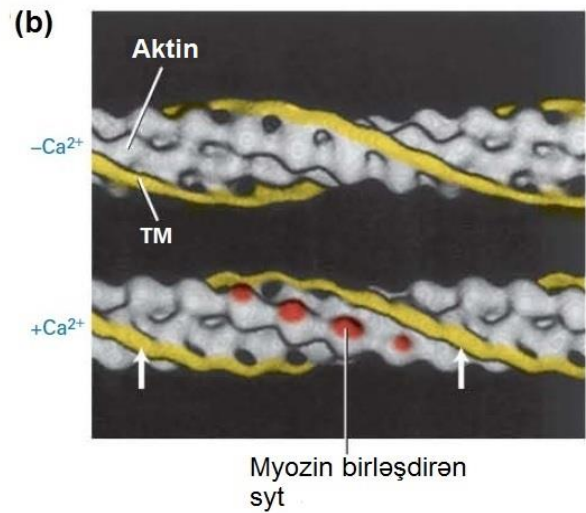
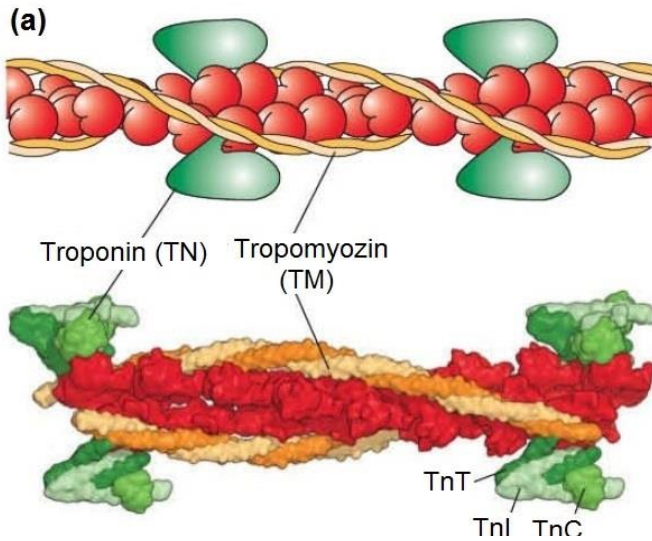
Tropomyozin (TM) ipşəkili molekul olub 40 nm uzunluğa malikdir, yeddi aktin subvahidini aktin filamentində birləşdirir. TM molekuluları başdan quyruğa birlikdə tarım çəkilmişlər, aktin

nazik filamentlərin hər iki tərəfi boyu davam edən fasiləsiz zənciri əmələ gətirirlər (Şəkil 17-34a, b). Hər bir tropomyozin molekulu ilə assosiasiyada olan *tropinin* (TN), üç subvahidin TN-T, TN-I və TN-C kompleksidir. TN-C tropinininin kalsium-birləşdirən subvahididir, o TM-I və TM-T vasitəsi ilə aktin filamentin səthi üzərində TM-in mövqeyini nizamlayır.

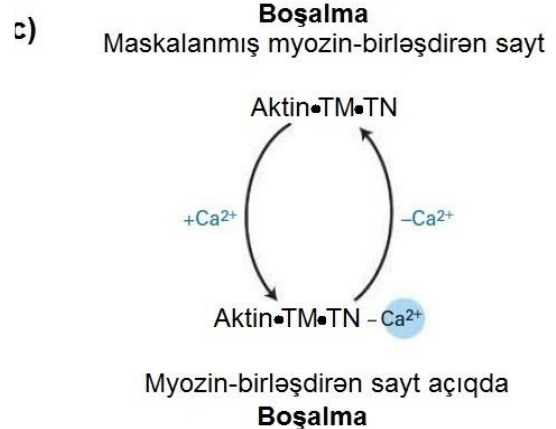


ŞƏKİL 17-33 Sarkoplazma şəbəkə miofibrillərdə sərbəst Ca^{2+} səviyyəsini tənzimləyir. (a) Sinir impulsları əzələ hüceyrələrini stimullaşdıranda təsir potensialı plazma membranının (sarkolemma) davamı olan eninə borucuqlarla aşağıya ötürülür (sarı), ona yaxın olan sarkoplazmatik şəbəkədən (mavi) Ca^{2+} ionlarının miofibrillərə

buraxılmasına səbəb olur. (b) Skelet əzələlərinin nazik kəsiklərinin elektron mikrofotusu sarkoplazmatik şəbəkənin (retikulumun) əzələ liflərinə olan yaxın münasibətlərini göstərir. [(b) hissəsi nəzakətlə Keith R. Porter və Clara Franzini-Armstrong tərəfindən]



ŞƏKİL 17-34 Skelet əzələ yığılması zamanı Ca^{2+} -dan asılı olan nazik filamentin tənzimlənməsi. (a) Nazik filamentlərdə tropomyozin-tropinin tənzimləyici kompleksin modeli və müvafiq quruluşu. Troponin uzun α -spiral tropomyozin molekuluna birləşmiş zülal kompleksidir. (b) Əzələ nazik filamentində tropomyozin spiralının (sarı) üç-ölçülü elektron-mikroskopu ilə rekonstruksiyası. Tropomyozin boşalmış vəziyyətində (*yuxarıda*) sarkoplazmada Ca^{2+} qatılığı artanda yığılmanı induksiya edən (*aşağıda*) vəziyyətdə yeni mövqeyə keçir (oxlar). Bu yerdəyişmə aktin üzərindəki myozin-birləşən saytları (qırmızı) açıq vəziyyətə gətirir. (Bu təsvirdə troponin göstərilmiş, amma tropomyozinin hər iki tərəfində ona birləşmiş vəziyyətdədir.) (c) Ca^{2+} -un troponinə birləşməsi ilə skelet əzələlərinin yığılmasının ümumi təsviri. [(a) hissəsi nəticələri S. Wu et al., 2002, *Plos One* 7:39422, PDB ID 2w4u. (b) hissəsi ©1993, Lehman et al., *J. Cell Biol.* 123:313–321-dən. doi: 10.1083/jcb.123.2.313]



Ca^{2+} və TN-in nəzarəti altında TM filament üzərindəki iki vəziyyətdən birini tuta bilir. Ca^{2+} və TN olmayanda, TM myozinin F-aktinlə əlaqəsini blok edir və əzələ boşalır. Ca^{2+} ionlarının TN-C-yə birləşməsi TM-in filament üzərində yeni mövqeyə keçməsinə səbəb olur və bununla da aktin üzərindəki myozin-birləşən saytları açıq vəziyyətdə gətirir (bax Şəkil 17-34b). Beləliklə, Ca^{2+} -un 1 μ M-dan yuxarı qatılığında TN-TM kompleksi vasitəsi ilə edilən ingibirləşmə götürülür və əzələ yığılması baş verir. Skelet əzələlərində boşalma və yığılma vəziyyətləri arasında Ca^{2+} -dan asılı olan dövrə Şəkil 17-34c-də ümumiləşdirilmişdir.



Skelet əzələsi kimi ürək əzələsi də, ürək-spesifik tropomyozin və troponindən istifadə edərək nazik filamentlərlə tənzimlənir. Ürək infarktı zamanı (miokardal infarkt) ürək hüceyrələri kifayət qədər oksigendən məhrum olurlar (ürək işemiyası) və sonra da ölə bilirlər. Ölmüş hüceyrələrin plazma membranı dağılaraq hüceyrə komponentlərini qan axarına buraxır. Spesifik olaraq ürək-spesifik troponinlərin səviyyəsinin ölçülməsi üzrə qan yoxlamaları ürək infarktının ağırlığını təyin etmək üçün həkimlər tərəfindən istifadə edilir. ■

Aktin və Myozin II Qeyri-əzələ Hüceyrələrində Yığılıb-Açılan Bağları Əmələ Gətirir

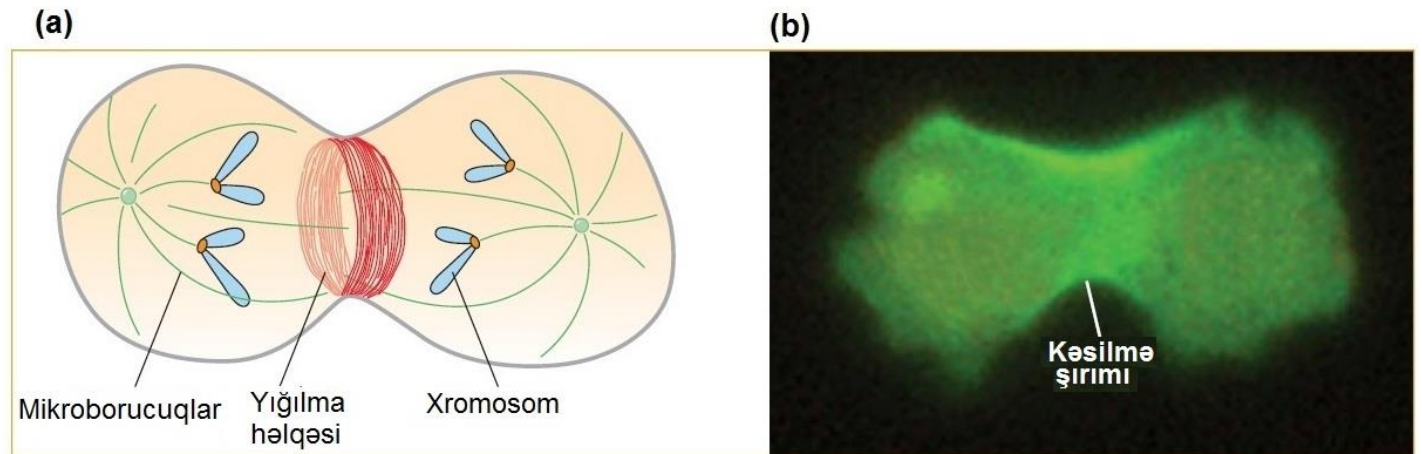
Bizim gördüyümüz kimi, skelet əzələlərində aktin nazik filamentlər və myozin II qalın filamentlər yığılıb-açılan quruluşda toplanırlar. Qeyri-əzələ hüceyrələri, skelet əzələ liflərində olanlara oxşar olan amma onlardan çox az təşkil olunmuş aktin və myozin II filamentlərdən ibarət olan bir neçə tip oxşar yığılıb-açılan bağlara malikdirlər. Bundan başqa, onlarda troponin tənzimləyici sistemləri yoxdur, əksinə aşağıda müzakirə olunduğu kimi, myozinin fosforlaşması ilə tənzimlənirlər.

Epiteli hüceyrələrində, yığılıb-açılan bağlar, dairəvi lent kimi məlum olan, yapışan qovşaqlarda hüceyrənin daxili səthini

əhatə edən dartılan kəmərlər kimi daha çox yayılmış şəkildə tapılmışdır (bax Şəkil 17-4a). Bu bağlar epitelinin bütövlüyünün saxlanılmasında çox əhəmiyyətlidir (Fəsil 20-də müzakirə olunur). Süni səthlərdə (şüşə və ya plastik) kultura olunan hüceyrənin aşağı səthi boyunca və ya hüceyrəxarici matrisada görünən stress lifləri hüceyrə adgeziyasında (yapışmasında), xüsusən də deformasiya olunan substratda yığılıb-açılan bağların ikinci tipidir (bax Şəkil 17-4a, c). Stress liflərin ucları hüceyrəni altı yerləşən substrata yapışdıraraq xüsusi quruluşlarda, integrin saxlayan fokus adgeziyasında tamamlanır (bax Şəkil 17-40 aşağıda və Fəsil 20-də). Dairəvi kəmərlər və stress lifləri, sayə əzələlərin yığılıb-açılan aparatlarında tapılmış bir neçə zülalə malikdirlər və əzələ sarkomerlərindəkinə oxşar olan bəzi təşkilatçılıq xüsusiyyətlərini nümayiş etdirirlər. Yığılıb-açılan halqa hesab edilən, üçüncü tip yığılıb-açılan bağlar heyvan hüceyrələrində bölünən hüceyrələrin ekvatorunda, mitoz şpindelinin qütübləri arasındakı yarı yolda hüceyrəni əhatə edən yığılmış qısa müddətli öteri quruluşdur (Şəkil 17-35a). Həlqə yığılanda plazma membranını daxilə dartır, sitoplazma ikiye bölünür və sonda sitokinez kimi məlum olan proseslə qoparaq iki hissəyə ayrılır və iki qız hüceyrənin yaranmasına səbəb olur. Myozin I və myozin II-yə qarşı anticismlə rənglənmiş bölünən hüceyrələr göstərir ki, myozin II yığılıb-açılan həlqədə yerləşir, amma myozin I mərkəzdən uzaq rayonlarda yerləşir, burada o hüceyrə qabığını plazma membranı ilə əlaqələndirir (Şəkil 17-35b). Myozin II-nin ağır zəncirini kodlaşdıran genin silindiyi hüceyrələrdə sitokinezə baş verə bilmir. Əksinə, bu hüceyrələr sitokinezə getmədiyindən, amma nüvə bölünməsinin ingibirləşməsi baş vermədiyindən çoxnövli sinsitiumu əmələ gətirirlər.

Myozindən-Asılı Mexanizmlər Sayə Əzələ və Qeyri-əzələ Hüceyrələrində Əzələ Dartılmasını Tənzimləyir

Sayə əzələlər xüsusi toxuma olub əksər daxili orqanlarda tapılmış yığılıb-açılan hüceyrələrdən təşkil olunmuşdur. Sayə



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-35 Sitokinezin gedişi zamanı fluorescent anticismlər myozin I və myozin II-nin lokalizasiyasını aşkar etdi. (a) Sitokinezdən keçən hüceyrənin diaqramı mitoz şpindelini göstərir (mikroborucuqlar yaşıl, xromosom mavi), və yığılıb-sıxılma həlqəsi aktin filamentlərlə (qırmızı). (b) GFP-myozin

II-ni ekspressiya edən *Dictyostelium* amiobanın fluoressensiya mikrofotusu, sitokinez zamanı hüceyrə qopub iki qız hüceyrəyə ayrılarkən kəsilmə şırımının qabığında myozin-II-nin znginləşməsini aşkar edir. [(b) hissəsi nəzakətlə Douglas N Robinson tərəfindin.]

əzələlər xüsusi toxuma olub əksər daxili orqanlarda tapılmış yığılıb-açılan hüceyrələrdən təşkil olunmuşdur. Məsələn, saya əzələlər qan təzyiqini tənzimləmək üçün qan damarlarını əhatə edirlər, qidanın bağırsaqlarda hərəkətini təmi etmək üçün bağırsaqları əhatə edirlər və ağciyərlərdə hava yollarını əhatə edirlər. Saya əzələ hüceyrələri böyük boş (sərbəst) düzlənmiş, epitel hüceyrələrdəkini xatırladan yığılıb-açıla bilən bağlara malikdirlər. Saya əzələlərin yığılıb-açılma aparatı və onun tənzimlənməsi, onun yığılıb-açılma fəaliyyətinin qeyri-əzələ hüceyrələrinə kimi tənzimlənməsinə görə əhəmiyyətli bir modeli təşkil edir. Bizim yenidən gördüyümüz kimi, skelet əzələ hüceyrələrinin dartılması aktin nazik filamentlərə birləşmiş tropomyozin-troponin kompleksinin Ca^{2+} iştirakı ilə dartılma-induksiya edən vəziyyət ilə Ca^{2+} olmayan halda boşalmış vəziyyət arasında birindən digərinə keçməsi ilə tənzimlənir. Əksinə, saya əzələ yığılması myozin II-nin işə salınması və salınmayan vəziyyətlər arasında dövrə etməsi ilə tənzimlənir. Myozin II dövrəsi və ona görə saya əzələ və qeyri-əzələ hüceyrələrinin dartılması çoxsaylı hüceyrəxarici siqnallara cavab olaraq tənzimlənir.

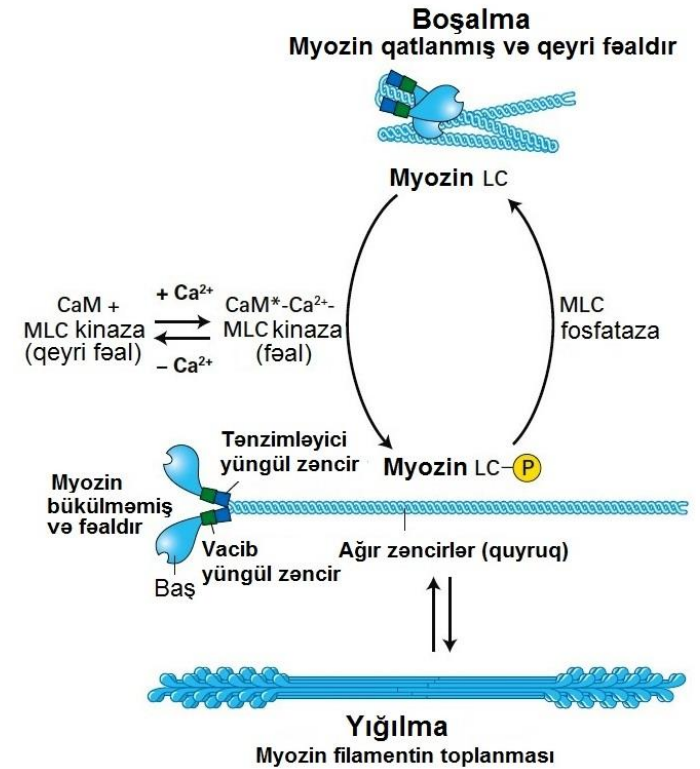
Onurğalıların saya əzələ dartılması əsasən myozin II boyun domeni ilə assosiasiyada olan *myozin tənzimləyici yüngül zəncirin* (LC) (bax Şəkil 17-22b) fosforlaşmaya və defosforlaşmaya məruz qaldığı yolla tənzimlənir. Tənzimləyici LC fosforlaşmayanda, saya əzələ myozin II bükülmüş konformasiyanı alır və onun ATP-ə tsikli qeyri fəal olur. Tənzimləyici LC, fəallığı sitozolda Ca^{2+} səviyyəsi ilə tənzimlənən *myozin yüngül-zəncir kinaza* (MLC) vasitəsi ilə fosforlaşanda, myozin II-nin bükülməsi açılır, fəal bipolyar filamentlərdə yığılır və əzələ yığılmasını induksiya etmək üçün fəal olur (Şəkil 17-36). MLC kinaza fəallığının Ca^{2+} -dan asılı olan tənzimlənməsi Ca^{2+} -birləşdirən zülal kalmodulin vasitəsi ilə həyata keçirilir (bax Şəkil 3-33). Əvvəlcə kalsium kalmodulinə birləşir və onda konformasiya dəyişməsinə induksiya edir, sonra Ca^{2+} -kalmodulin kompleksi MLC-kinaza ilə birləşərək onu fəallaşdırır. Ca^{2+} səviyyəsi sakitlik dövründəki səviyyəyə qayıdanda MLC-kinaza qeyri fəal olur və sistemin öz əvvəlki boşalmış vəziyyətinə qaytmasına imkan vermək üçün myozin yüngül-zəncir fosfataza fosfat qalıqlarını uzaqlaşdırır (atır). Tənzimlənmənin bu üsulu sarkomerlərə nisbətən Ca^{2+} -un daha uzaq məsafəyə diffuziyasına və proteinkinazaların fəaliyyətinə əsaslanır, beləliklə saya əzələlərdə yığılma skelet əzələlərinə nisbətən çox yavaş baş verir. Bu tənzimləmədə myozin iştirak etdiyindən o *qalın filament tənzimləməsi* kimi adlandırılır.

Yalnız sinir impulslarının yığılması ilə stimullaşan skelet əzələlərindən fərqli olaraq, saya əzələ hüceyrələri və qeyri-əzələ hüceyrələri çox müxtəlif tipli xarici siqnallarla tənzimlənirlər. Məsələn, norepinefrin, angiotensin, endotelin, histamin və digər siqnal molekulları saya əzələlərin yığılmasını modulyasiya edə və ya induksiya edə bilirlər və ya müxtəlif siqnal yollarını işə salmaqla qeyri-əzələ hüceyrələrinin formasının və adgeziyasının dəyişməsinə səbəb olurlar. Bu yollardan bəziləri, sitozolda Ca^{2+} qatılığının artmasına səbəb olur, əvvəllər təsvir edildiyi kimi, bu artma MLC kinazanı fəallaşdırmaqla myozin fəallığını stimullaşdırır (bax Şəkil 17-36a). Bizim aşağıda görcəyimiz kimi, başqa yollar *Rho kinazanı* fəallaşdırır, o isə tənzimləyici yüngül zənciri

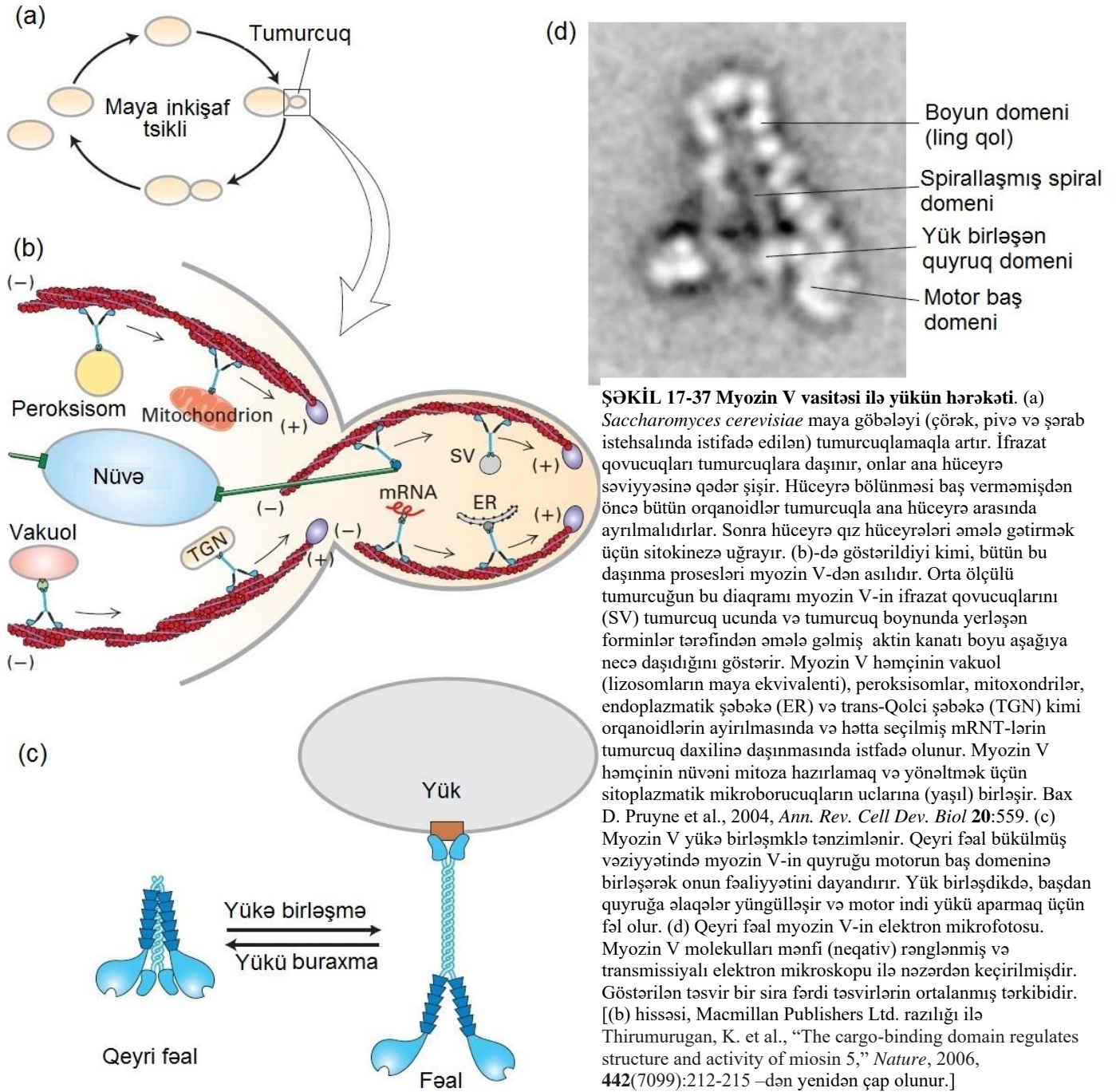
fosforlaşdırmaqla myozin fəallığını artırır, hərçənd ki, bu Ca^{2+} -dan asılı olmayan üsuldadır.

Myozin V-Birləşmiş Qovucuqlar Aktin Filamentləri Boyunca Daşır

Myozin II filamentlərinin yığılıb-açılma fəaliyyətinin əksinə olaraq myozin V ailəsi zülalları, məlum olan motorlar arasında ən prosessiv olanı yükü aktin filamenti boyunca daşıyır. Növbəti fəsilə biz, orqanoidlərin nəqliyyatını həyata keçirmək üçün onların mikroborucuq motorlarla birlikdə necə işləməsinə müzakirə edirik. Hərçənd ki, məməlilərin hüceyrələrində onların fəaliyyəti barədə çox az məlumdur, myozin V motorlar əhəmiyyətsiz deyildirlər: spesifik myozin V zülalında qüsurlar ürəkkeçmə və apopleksiya kimi çox ağır xəstəliklərə səbəb ola bilər (bax Şəkil 17-24).



ŞƏKİL 17-36 Myozin yüngül zəncirin fosforlaşması saya əzələ yığılmasını tənzimləyir. Onurğalıların saya əzələlərində myozin yüngül zəncirin (LC) fosforlaşması yığılmanı fəallaşdırır. 10^{-6} M-dan aşağı Ca^{2+} qatılığında tənzimləyici yüngül zəncir fosforlaşdır və myozin bükülmüş konformasiyanı alır. Ca^{2+} səviyyəsi qalxanda Ca^{2+} kalmodulinlə (CM) birləşir və onu konformasiya dəyişikliyinə uğradır (CM*). CM*- Ca^{2+} kompleksi myozin yüngül zəncir kinazası (MLC kinaza) ilə birləşərək onu fəallaşdırır, o isə öz növbəsində myozin LC-i fosforlaşdırır. Fosforlaşma myozin II-nin bükülməsini açır, indi artıq o fəaldır və əzələ yığılmasında iştirak etmək üçün bipolyar filamentlərdə toplanır. Ca^{2+} səviyyəsi düşəndə, myozin LC, fəallığı Ca^{2+} -dan asılı olmayan myozin yüngül-zəncirin (MLC) fosfatazası ilə defosforlaşır və əzələ boşalmasına səbəb olur.



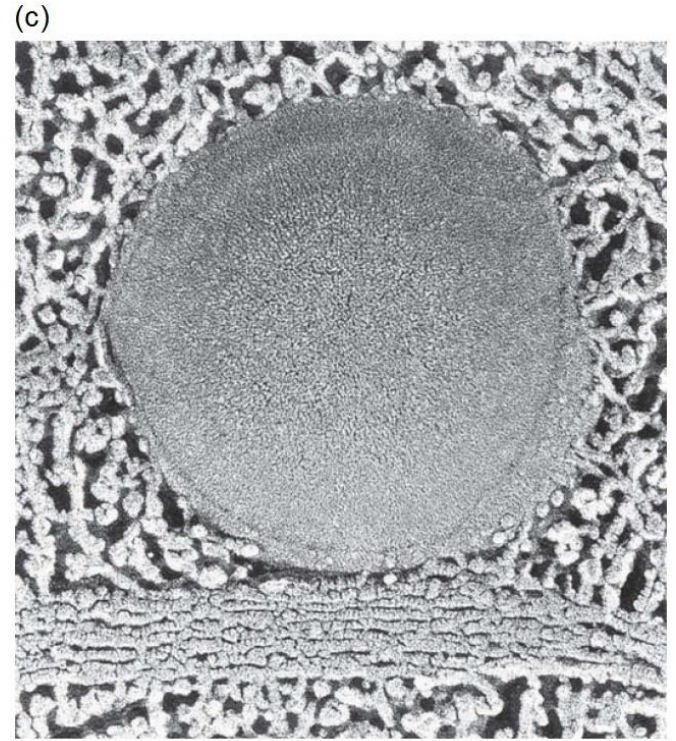
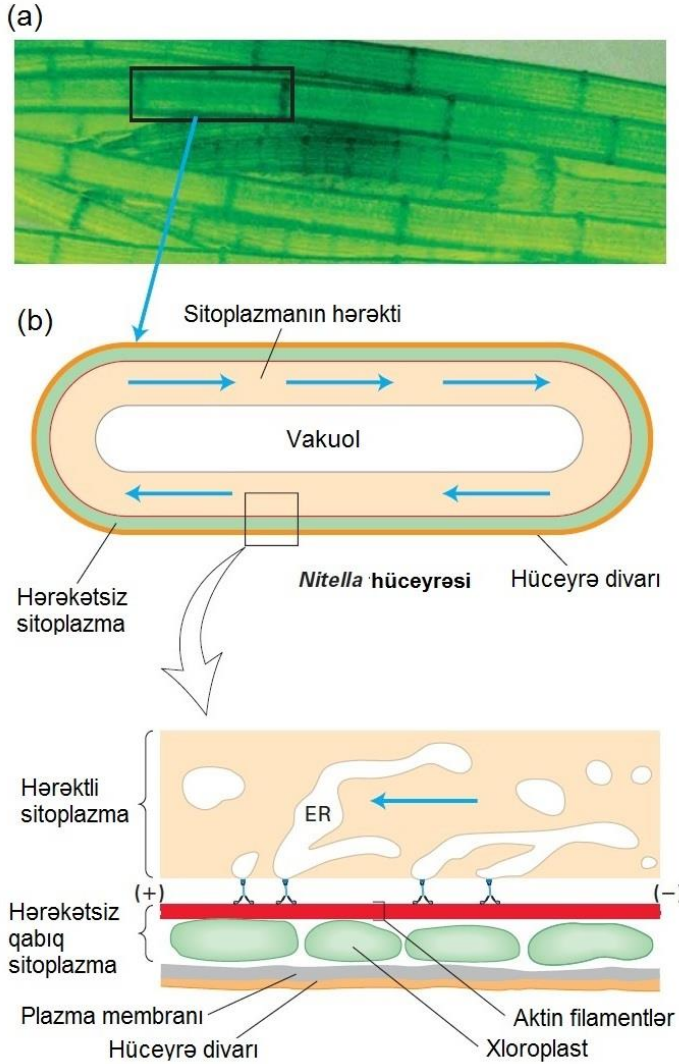
ŞƏKİL 17-37 Myozin V vasitəsi ilə yükün hərəkəti. (a) *Saccharomyces cerevisiae* maya göbləyi (çörək, pivə və şərab istehsalında istifadə edilən) tumurcuqlamaqla artır. İfrazat qovucuqları tumurcuqlara daşır, onlar ana hüceyrə səviyyəsinə qədər şişir. Hüceyrə bölünməsi baş verməmişdən öncə bütün orqanoidlər tumurcuqla ana hüceyrə arasında ayrılmalıdır. Sonra hüceyrə qız hüceyrələri əmələ gətirmək üçün sitokineza uğrayır. (b)-də göstərilirdiyi kimi, bütün bu daşınma prosesləri myozin V-dən asılıdır. Orta ölçülü tumurcuğun bu diaqramı myozin V-in ifrazat qovucuqlarını (SV) tumurcuq ucunda və tumurcuq boynunda yerləşən formınlar tərəfindən əmələ gəlmiş aktin kanatı boyu aşağıya necə daşdığını göstərir. Myozin V həmçinin vakuol (lizosomların maya ekvivalenti), peroksisomlar, mitoxondrilər, endoplazmatik şəbəkə (ER) və trans-Qolci şəbəkə (TGN) kimi orqanoidlərin ayrılmasında və hətta seçilmiş mRNT-lərin tumurcuq daxilində daşınmasında istifadə olunur. Myozin V həmçinin nüvəni mitoza hazırlamaq və yönəltmək üçün sitoplazmatik mikroborucuqların uclarına (yaşıl) birləşir. Bax D. Pruyne et al., 2004, *Ann. Rev. Cell Dev. Biol* **20**:559. (c) Myozin V yükə birləşməklə tənzimlənir. Qeyri fəal bükülmüş vəziyyətində myozin V-in quyruğu motorun baş domeninə birləşərək onun fəaliyyətini dayandırır. Yük birləşdikdə, başdan quyruğa əlaqələr yüngülləşir və motor indi yükü aparmaq üçün fəal olur. (d) Qeyri fəal myozin V-in elektron mikrofotusu. Myozin V molekulları mənfə (neqativ) rənglənmiş və transmissiyalı elektron mikroskopu ilə nəzərdən keçirilmişdir. Göstərilən təsvir bir sıra fərdi təsvirlərin ortalanmış tərkibidir. [(b) hissəsi, Macmillan Publishers Ltd. rəzilığı ilə Thirumurugan, K. et al., "The cargo-binding domain regulates structure and activity of miosin 5," *Nature*, 2006, **442**(7099):212-215 –dən yenidən çap olunur.]

Tumurcuqlayan maya kimi eksperimental əldə ediləbilən sistemlərdə və daha sadə sistemlərdə miyozin V motorları barədə daha çox şey məlumdur. Çox yaxşı öyrənilmiş bu orqanizmlər tumurcuqlamaqla çoxalır və yeni sintez olunmuş materialı böyüməkdə olan tumurcuğa hədəf etmək üçün onun ifrazat mexanizminin olmasını tələb edir (Şəkil 17-37a). Myozin V ifrazat qovucuqlarını aktin filamentləri boyunca 3 µm/s sürətlə tumurcuq daxilində daşıyır. Amma, bu myozin V zülalının mayada yeganə funksiyası deyildir. Hüceyrə tsiklinin sonrakı mərhələlərində bütün orqanoidlər ana və qız hüceyrələr arasında bölünərək daşınmalıdır. Maraqlıdır ki, myozin V molekulları mayada peroksisomlar, mitoxondrilər, vakuollar, endoplazmatik

şəbəkə və *trans*-Qolci şəbəkə kimi çox orqanoidlərin seqreasiyası üçün nəqliyyat sistemini və hətta mikroborucuqların uclarının və bəzi spesifik məlumat RNT-lərin tumurcuq daxilində daşınmasını təmin edirlər (Şəkil 17-37b). Bu orqanoidlərin hər biri myozin V-in birləşdiyi reseptora malikdir. Motor çoxsaylı çatdırılma dövrləri edir, ona görə də o, öz orqanoid yükünü götürmə, daşıma və çatdırma yoluna malik olmalıdır. Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, myozin V bükülmüş qeyri-fəal, onun quyruğunun motorun baş domeninə birləşərək onu ingibirləşdirdiyi vəziyyətdə və yüklə birləşməklə baş və quyruq əlaqələrinin qırıldığı fəal vəziyyətdə mövcud olur (Şəkil 17-37d, d). Motorun öz yükünü çatdırdıqdan


sonra necə buraxması hələ tam aydın deyil – bir halda, orqanoidi son təyinat yerinə çatdırıldıqdan sonra orqanoid reseptoru parçalanır. Halbuki tumurcuqlayan maya çox orqanoidlərin daşınmasında myozin V və polyarlaşmış aktin filamentlərdən

istifadə edir, daha çox uzun olan heyvan hüceyrələri çoxsaylı oxşar orqanoidləri nisbətən uzaq məsafəyə daşımaq üçün mikroborucuqlardan və onların motorundan istifadə edirlər. Biz bu nəqliyyat mexanizmini növbəti fəsildə müzakirə edirik.



Şəkil 17-38 Silindrik nəhəng yosunlarda sitoplazmatik axın. (a) Yayda gölməçlərdə tapılan şirin su yosunu *Nitella* hüceyrələri. Aşağıda təsvir edilən sitoplazmatik hərəkət sadə mikroskopla asanlıqla müşahidə edilə bilər, beləliklə, get bir az *Nitella* (və ya buna oxşar yosun) tap və heyrətamiz fenomenə bax! (b) *Nitella* hüceyrələrinin mərkəzi, ətrafı hərəkətdə olan sitoplazma təbəqəsi ilə əhatə olunan (mavi oxlar) bir böyük su ilə dolu vakuolla dolmuşdur. Qabıq sitoplazmanın hərəkətsiz təbəqəsi plazma membranın altında yerləşən xloroplastlarla dolmuşdur (aşağıdakı şəkildə böyüdülmüşdür). Bu

təbəqənin daxili tərəfində, stasionar aktin filamentlərin bağları yerləşir (qırmızı), onların hamısı eyni polyarlıqla yönəlmişlər. Motor zülalı (mavi) olan bitki myozin V endoplazmatik şəbəkənin (ER) bir hissəsini aktin filamentləri boyunca aparır. ER şəbəkənin hərəkəti özlü sitoplazmanı ER şəbəkəyə dolaşmış orqanoidlər də daxil olmaqla qabağa itələyir. (c) Kortikal sitoplazmanın elektron mikrofotosu uzanmış aktin filamentlərlə birləşmiş böyük qovucuğu göstərir. [(a) hissəsi nəzakətlə James C. French tərəfindən; (c) hissəsi nəzakətlə Bechara Kachar tərəfindən.]

 Yəqin ki, myozin V-in ən çox dramatik istifadəsi *Nitella* və *Chara* kimi nəhəng yaşıl yosunlardadır. Bu yosunlar yay müddətində asanlıqla nohurlarda tapıla bilər və onların hərəkəti sadə mikroskopdan istifadə etməklə asanlıqla müşahidə edilə bilər. Onların 2 sm-ə qədər uzunluqda olan böyük hüceyrələrində sitozol, hüceyrənin daxili dairəsində ucsuz ilgəkdə təxminən 4.5

mm dəqiqə sürəti ilə axır (bax Şəkil 17-38). Bu *sitoplazmatik axın* hüceyrə metabolitlərini çatdırmaq üçün əsas mexanizmdir, xüsusən də bitki hüceyrələri və ameba kimi böyük hüceyrələrdə. Yosun hüceyrələrində, membrana yaxın yerləşən stasionar xloroplastlardan yuxarıda uzanan hüceyrə uzunluğu boyu düzülmiş aktin filamentlərinin bağları vardır. Sitozolun əsas hissəsi, aktin filamentlərlə yaxın yerləşən ER-in bir

hissəsinə qoşulmuş (bitkilərdə myozin XI kimi də məlum olan) myozin V vasitəsi ilə hərəkətə gəlir. *Nitella*-da sitozolun axma sürəti təxminən istənilən başqa myozinin yaratdığı hərəkət sürətindən 1.5 dəfə yüksəkdir. ■

17.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Myozinlə-Gücləndirilən Hərəkət

- Skelet əzələlərində, yığılıb-açılan miofibrillər sarkomerlər adlanan minlərlə təkrarlanan vahidlərdən təşkil olunmuşlar. Hər bir sarkomer iki bir-birinə sarıyan filament tiplərindən, myozin qalın filamentlərdən və aktin nazik filamentlərdən təşkil olunmuşdur (bax Şəkil 17-30).
- Skelet əzələ yığılmasına sarkomerli və bu yolla da miofibrilləri qısaltmaq üçün myozin filamentlərin aktin filamentini boyunca ATP-dən-asılı olan sürüşməsi daxildir (bax Şəkil 17-31).
- Aktin nazik filamentin ucları skelet əzələlərində (+) sonluqda CapZ ilə, (-) sonluqda isə tropomodulinlə stabilləşir. İki böyük zülal, nazik filamentlərlə assosiasiyada olan nebulin və qalın filamentlərlə assosiasiyada olan titin də həmçinin skelet əzələlərinin təşkilində iştirak edirlər.
- Skelet əzələlərinin yığılması nazik filamentlərlə tənzimlənməyə məruz qalır. Sərbəst Ca^{2+} aşağı səviyyəsində tropomyozin myozinlə F-aktinin əlaqəsini blok edir və əzələ boşalır. Sərbəst Ca^{2+} yuxarı səviyyəsində tropomyozinlə assosiasiyada olan troponin kompleksi Ca^{2+} ilə birləşir və tropomyozini hərəkət etdirərək aktin üzərindəki myozin-birləşdirən saytların üstünü açır və əzələ yığılmasına imkan verir (bax Şəkil 17-34).
- Səy əzələ və qeyri əzələ hüceyrələrində aktin və myozin filamentlərin, skelet əzələlərindəki kimi təşkil olunan amma az nizamlılığa malik olan yığılıb-açılan bağları vardır.
- Yığılıb-açılan bağlar qalın filamentlərlə tənzimlənməyə məruz qalır. Myozinin yüngül zənciri myozin yüngül-zəncir kinaza ilə fosforlaşır və myozini fəallaşdıraraq əzələ yığılmasını induksiya edir. MLC kinaza sərbəst Ca^{2+} qatılığı yüksəldəndə Ca^{2+} -kalmodulinlə birləşərək fəallaşır (bax Şəkil 17-36).
- Qeyri fəal myozin V yükün birləşməsi ilə fəallaşır, və onu aktin filamentlər boyunca prosesiv daşıyır.

17.7 Hüceyrə Miqrasiyası: Mexanizmlər, Siqnal Verilməsi və Kematiksiz

Biz indi hüceyrələrin hərəkəti yaratmaq üçün istifadə etdikləri müxtəlif mexanizmləri – aktin filamentlərin toplanmasından və aktin filamentləri bağlarının və şəbəkələrinin formalaşmasından tutmuş aktin və myozin bağların dartılmasına və myozin molekulları tərəfindən orqanoidlərin aktin filamentləri boyunca daşınmasına qədər mexanizmləri öyrəndik. Bu eyni mexanizmlərdən bəziləri əsas prosesləri təşkil edir, beləliklə hüceyrələr miqrasiya etmək üçün lazım olan qüvvəni yaradırlar.

Hüceyrə miqrasiyası hüceyrənin müxtəlif hissələrində əmələ gələn, müxtəlif endositik dövrə ilə inteqrasiya edən hərəkətlərin əlaqələndirilməsi nəticəsində yaranır.

Hüceyrə miqrasiyasının öyrənilməsi biologiyanın və təbabətin çox sahələri üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir. Məsələn, heyvanların inkişaf etməsinin çox əhəmiyyətli bir xüsusiyyəti spesifik hüceyrələrin əvvəlcədən müəyyən edilmiş yolla hərəkət etməsidir. Yetkin heyvanlarda epitel hüceyrələri yaralanmaları sağaltmaq üçün hərəkət edirlər, ağız qan hüceyrələri isə yoluxmuş sahəyə miqrasiya edirlər. Daha az aydın olan bağırsağ epitel hüceyrələrinin bağırsaqlarda villi boyunca və qan damarlarının örtüyünü əmələ gətirən endotelial hüceyrələrin fasiləsiz şəkildə zəif miqrasiya etməsidir. Xərçəng hüceyrələrinin normal toxumalardan qopub ayrıldıqdan sonra arzu olunmayan miqrasiyası metastazla nəticələnir.

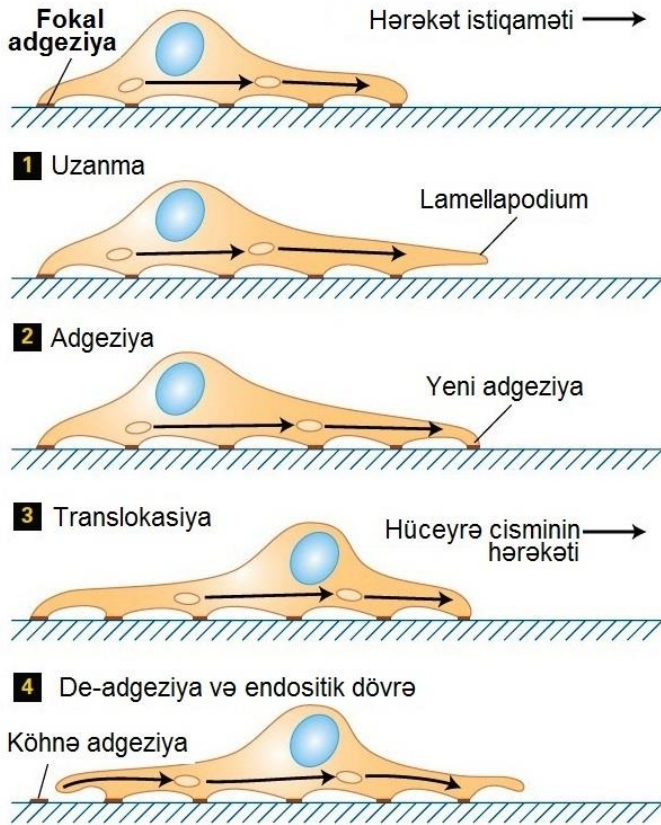
Hüceyrə miqrasiyası hüceyrənin aparıcı kənarında böyük və geniş membran çıxıntısının (protruziya) əmələ gəlməsi ilə inisiyasiya olunur. Videomikroskopiya aşkar etdi ki, bu hərəkətin əsas xüsusiyyəti membranda aktinin polimerləşməsidir. Onurğalılarda hüceyrələrində aktin filamentlər lamellipodium adlanan aparıcı kənarında çıxıntı rayonunda sürətlə bağlar və şəbəkə daxilində çarpaz-kəsişirlər. Bəzi hallarda, nazik barmağabənzər, fillopodiya adlanan membran çıxıntıları da aparıcı kənardan uzanaraq çıxır. Bu quruluşlar hüceyrənin altdakı hərəkət etdiyi səthlə (hüceyrə xarici matris kimi) stabil əlaqələri əmələ gətirirlər. Bu bölmədə, biz hüceyrələrin səthlə hərəkət etmək üçün müxtəlif mikrofilament-əsaslı prosesləri endositozla necə əlaqələndirməsinə yaxından baxırıq. Biz həmçinin, indiki araşdırmanın əsas diqqət mərkəzinə, sitoskeletonin koordinasiya olunmasında və inteqrasiyasında siqnal yollarının roluna baxırıq.

Hüceyrənin Miqrasiyası Güc Əmələgəlməsini Hüceyrə Adgeziyası Və Membranın Təkrar İstifadəsi ilə Koordinasiya Edir

Hərəkətdə olan fibroblast (birləşdirici toxuma hüceyrələri) hadisələrin xarakterik ardıcılığını: membran çıxıntısının ilkin uzanması, substrata birləşmək, sitozolun irəliyə istiqamətdə axması və hüceyrə arxasını çəkib aparılmasını nümayiş etdirir (Şəkil 17-39). Bu hadisələr fibroblast kimi yavaş hərəkət edən hüceyrələrdə nizamlanmış ardıcılıqla baş verir, amma mikrofaqlar kimi sürətli hərəkət edən hüceyrələrdə bunların hamısı eyni zamanda koordinasiya olunmuş şəkildə baş verir. Biz əvvəlcə, hüceyrə hərəkətində aktin sitoskeletonin, aparıcı kənarında yığılmanın, eləcə də stress lifləri ilə substrata bağlanmanın daxil olduğu roluna nəzər yetiririk (Şəkil 17-40a, b), sonra isə endositoz tsiklinin rolunu müzakirə edirik.

Membran genişlənməsi Aparıcı (ön) tərəfdəki aktin filamentlər şəbəkəsi membran aktin polimerləşməsi ilə *Listeria*-nın irəliyə itələnməsinə çox oxşar üsuldə irəliyə itələyən hüceyrə mühərriki tipidir (Şəkil 17-40d; *Listeria* üçün bax Şəkil 17-17c). Aparıcı tərəfin membranında aktin fəallaşmış Arp2/3 kompleksi vasitəsi ilə nukleasiya olunur (yaranır) və filamentlər plazma membranına yaxın olan (+) uclarda toplanmaqla uzanır. Aktin şəbəkə substratla nisbətə dəyişməz olduğundan filament uzunadıqca ön membranı basaraq kənara çıxarır. Bu proses, polimerləşən aktin quyruğu üzərində “sürülən” və sitoplazma

daxilində qalan *Listeria*-nın hərəkətinə çox oxşardır. Aktin dövrüyəsi (turnover) və beləliklə treadmillinqi, *Listeria*-nın komet quyruğunda olduğu kimi, profilin və kofilinin fəaliyyəti ilə həyata keçir (bax Şəkil 17-40d).



ŞƏKİL 17-39 Hüceyrə hərəkətinin pillələri. Hərəkət hüceyrənin aparıcı önündə bir və ya bir neçə lamellapoidiyanın uzanması ilə başlanır (pillə 1); bəzi lamellapodiya fokal adgeziya ilə substrata yapışır (pillə 2). Sonra hüceyrədə olan sitoplazmanın qalan bütün hissəsi hüceyrə arxasındakı dartılma nəticəsində irəliyə doğru axır 3. Hüceyrənin arxa kənarı, sonda quyruğun tam ayrılaraq hüceyrə daxilində dartılmasına qədər substrata yapışmış vəziyyətdə qalır. Sitoskelet əsaslı tsiklin bu gedişi zamanı endositik tsikl hüceyrə arxasında membranı və inteqrinləri daxilə mənimsəyir və onları yeni adgeziyanın yaradılmasında istifadə 4 etmək üçün hüceyrə önünə daşıyır (oxlar).

Hüceyrə-substrat adgeziyası Membran genişləndikdən və aktin şəbəkə yığılarkən plazma membranı möhkəm şəkildə substrata yapışır. Zaman-fasilə mikroskopiyası göstərdi ki, aktin bağları (dəstələri) aparıcı (ön) tərəfdə fokal adgeziya kimi məlum olan quruluşa lövbər etmiş olur (Şəkil 17-40c). Bu qoşulma iki məqsəd kimi xidmət edir: o lamellipoidiyanın dadrılmasına mane olur və hüceyrəni substrata birləşdirir, hüceyrənin irəliyə hərəkətinə imkan yaradır. Fokal adgeziyanın və hüceyrənin hərəkəti zamanı tənzimlənməsinin əhəmiyyətini nəzərə alsaq təccüblü deyildir ki, onlar çox siqnal ötürülməsi yollarına daxil olan zəngin molekullar kimi aşkar edilmişdir. Fokal adgeziyanın detalları Fəsil 20-də müzakirə edilir, burada biz hüceyrə-matrisə əlaqələrini müzakirə edirik.

Hüceyrə matrisə əlaqələrinin əksər hissəsini həyata keçirən hüceyrə-adgeziyası molekulları *inteqrinlər* adlanan membran zülallarıdır. Bu zülallar, fibronektin və kollagen kimi hüceyrəxarici matrisanın spesifik komponentlərinə birləşən xarici domenə və onları aktin sitoskeletə birləşdirən sitoplazmatik domenə malikdirlər (bax Şəkil 17-40c və Fəsil 20). Hüceyrə aparıcı öndə adgeziya edir, hüceyrə irəliyə hərəkət etdikcə, adgeziya sonda arxaya doğru mövqe tutur.

Hüceyrə-Cisminin Translokasiyası İrəliyə istiqamətdə adgeziya olunduqdan sonra, hüceyrə cisminin qalan hissəsi irəliyə doğru translokasiya olunur (bax Şəkil 17-39, pillə 3). Guman edilir ki, nüvə və sitoskeletə birləşmiş (batmış) başqa orqanoidlər, aşağı hissəsi sıxılıb çıxarılmış diş pastası tiyubunda olduğu kimi, hüceyrənin arxa hissəsindəki myozin II-dən-asılı olan kortikal dartınma ilə irəliyə istiqamətdə hərəkət edirlər. Bu modelə uyğun olaraq, myozin II hüceyrənin arxa qabığında yerləşir.

Hüceyrə Yapışmalarının Qırılması Nəhayət sonda, hərəkətin axıncı pilləsində (de-adgeziya), hüceyrənin arxasında fokal adgeziyalar qırılır, inteqrin yenidən istifadəyə qayıdır və buraxılmış (azad olmuş) quyruq irəliyə aparılır. İşıq mikroskopunda, çox zaman quyruğun birləşdiyi yerdən “qəfildən ayrıldığı” görünür, bu yəqin ki, quyruqdakı stress liflərinin yığılması ilə və ya elastik dartılması ilədir və bəzən o öz membranının az bir hissəsini substrata bərk yapışmış şəkildə arxada buraxır.

Bəzən hüceyrələr səthə çox möhkəm yapışanda və ya tamamilə yapışmayanda hərəkət edə bilmirlər. Hüceyrələrin hərəkət etmə qabiliyyəti sitoskeletlə yaranmış mexaniki qüvvələrlə hüceyrə adgeziyası tərəfindən yaradılmış qüvvələr arasındakı tarazlığa müvafiq olur. Bu münasibətlər müxtəlif səviyyədə inteqrin ekspresiya edən hüceyrələrdə hərəkət etmə sürətinin ölçülməsi ilə nümayiş etdirilə bilər. Belə ölçmələr göstərir ki, daha sürətli miqrasiya adgeziyanın aralıq (intermediat) səviyyəsində baş verir, adgeziyanın yüksək və aşağı səviyyələrində hərəkət sürəti aşağı enir. Beləliklə hüceyrə hərəkəti (lokomotion) hüceyrə tərəfindən onun yerləşdiyi substrat üzərində yaratdığı dartılma qüvvəsi nəticəsində baş verir.

Membran və Inteqrinlərin Endositozla Təkrar İstifadəsi

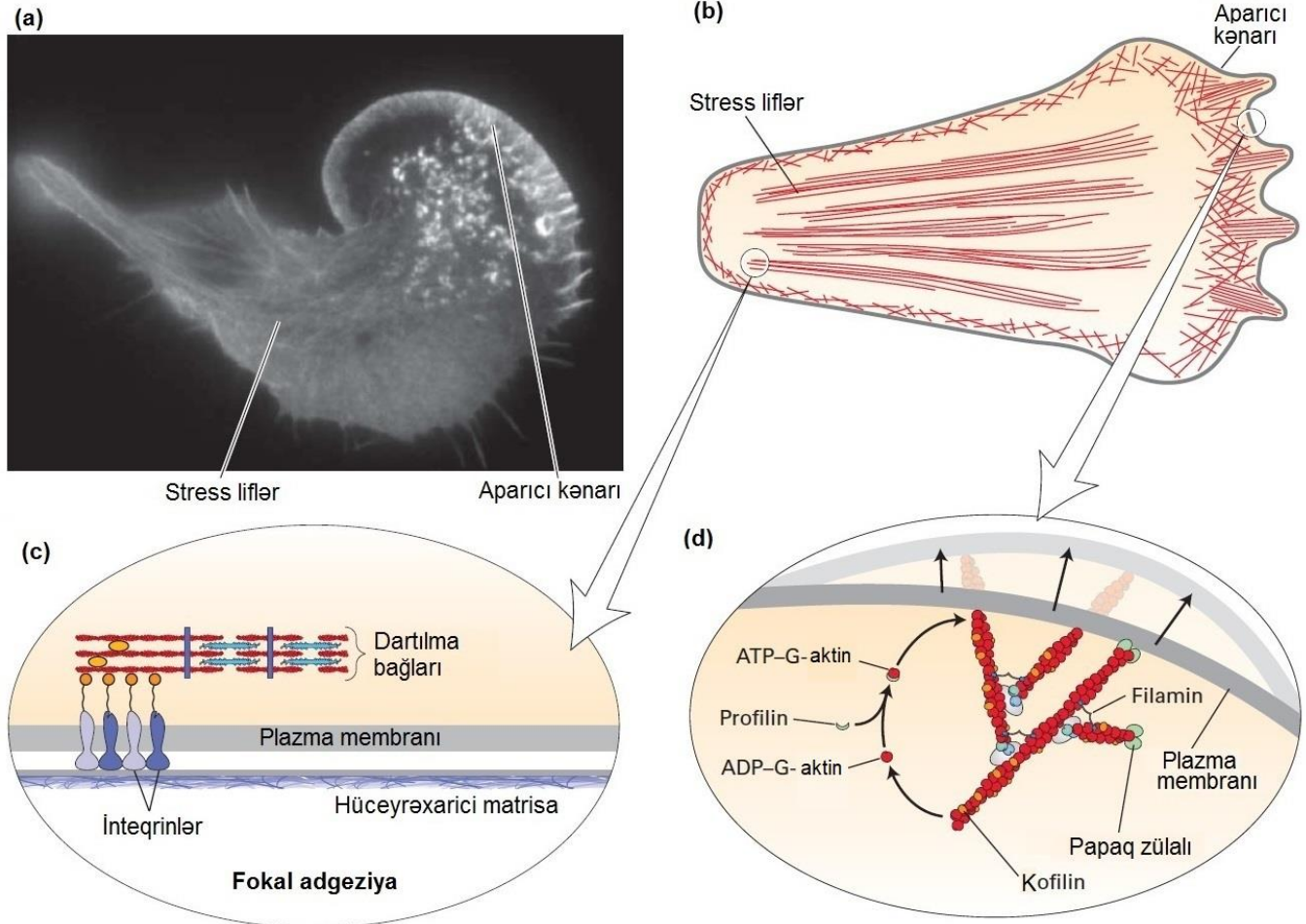
Aktin sitoskeletindəki dinamik dəyişikliklər təkliddə hüceyrə miqrasiyasını idarə etmək üçün kifayət deyildir, o həmçinin membranların endositik təkrar istifadəsindən asılıdır. Lamellapodiumun uzunaması zamanı lazım olan membran onlar eqzositoz olunduqda sonra daxili endosomlar tərəfindən təmin edilir. Hüceyrənin arxa tərəfində fokal adgeziyadakı adgeziya molekulları bu adgeziyalar dağıldıqdan dərhal sonra daxilə mənimsənilir və yeni substrat yapışmalarını etmək üçün endositik tsikllə hüceyrə önünə daşınır (Şəkil 17-39, pillə 4). Adgeziya molekullarının miqrasiya edən hüceyrələrdə belə dövrüyəsi tankın hərəkət etmək üçün öz zəncirindən (təkrəndən) istifadə edərək irəliyə hərəkət etməsi yoluna bənzəyir. Membranın daxilə hüceyrə boyu hərəkəti həmçinin hüceyrə səthindən keçən arxaya doğru membran axımını da əmələ gətirir. Həqiqətən də, bu cürə axın hüceyrə hərəkətinin (locomotion) mexanizminə kömək edə bilər, necə ki, son zamanlar aşkar edilmişdir ki, ağ qan hüceyrələri mayədə substrata yapışmadan hərəkət edə (“üzə”) bilirlər, ehtimal ki,

avarlar kimi fəaliyyət göstərərək səth quruluşlar hüceyrə səthinə boyunca arxaya hərəkət edir.

Kiçik GTP-Birləşdirən Zülal Cdc42, Rac, və Rho Aktinin Təşkil olunmasına Nəzarət Edir

Hərəkətdə olan hüceyrənin nəzərə çarpan xüsusiyyəti onun polyarlığıdır: onun ön və arxa tərəfi vardır. Hüceyrə dönərkən yeni hərəkət istiqamətində yeni aparıcı kənar əmələ gəlir. Əgər

bu genişlənmə eyni zamanda bütün istiqamətlərdə yaransaydı hüceyrə yeni hərəkət istiqaməti götürə bilməyəcəkdir. Hərəkəti müəyyən istiqamətdə saxlamaq üçün, hüceyrəyə hüceyrə önündə baş verən hadisələrin gedişini hüceyrə arxasında baş verən hadisələrin gedişi ilə əlaqələndirmək üçün siqnallar lazımdır, həqiqətən də siqnallar onun ön tərəfinin harada olduğunu hüceyrəyə deyir. Bu əlaqələndirmənin necə baş verməsi barədə bizim anlayışlarımız boy faktorları ilə aparılan tədqiqatlardan meydana gəlir.



ŞƏKİL 17-40 Aktin-əsaslı quruluşlar hüceyrə hərəkətində iştirak edirlər. (a) Hüceyrə miqrasiyasında iştirak edən mikrofilamentlərin siniflərinin diaqramı. (b) Aktin filamentlər şəbəkəsi aparıcı tərəfdə hüceyrəni qabağa çəkir. Dartılma lifləri hüceyrə qabığında hüceyrə cismini irəliyə doğru basır, fokal adgeziyada sona çatan stress lifləri isə, arxadakı adgeziya buraxılan kimi hüceyrə cisminin əsas qalan hissəsini irəliyə çəkir. (c) Fokal adgeziyanın quruluşuna stress liflərin ucunun

inteqrinlər vasitəsi ilə hüceyrəxarici matrisəyə yapışması daxildir. Fokal adgeziya hüceyrə hərəkəti (locomotion) üçün əhəmiyyətli olan çoxsaylı siqnal molekullarına da malikdir. (d) Aparıcı uca dinamik aktin şəbəkə Arp2/3 kompleksi vasitəsi ilə yaranır və *Listeria*-nın quyruğunda aktin filamentlərin yığılmasına və dağılmasına nəzarət edən eyni faktorlar dəstindən istifadə edir (bax Şəkil 17-17). [(a) hissəsi nəzakətlə J. Vic Small tərəfindən.]

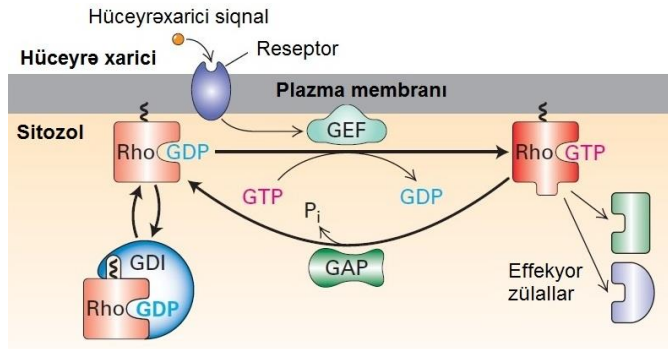
Epidermal boy faktorları (EGF) və trombositdən-törənən boy faktorları (PDGF) kimi boy faktorları spesifik hüceyrə-səth reseptorlarına (bax Fəsil 16) birləşir, hüceyrəni hərəkət etməyə, sonra da bölünməyə stimullaşdırır. Məsələn, yaralanma zamanı, yaralanma həddlərində qan trombositləri hüceyrəxarici matrisədə kollagenin təsirinə məruz qalmaqla fəallaşır, bu da qanın laxtalanmasına kömək edir. Fəallaşmış trombositlər həmçinin fibroblastların və epitel hüceyrələrin yarıya daxil olub

onu bərpa etməsi üçün PDGF ifraz edirlər. Bu prosesin bir hissəsinə in vitro baxmaq olar. Əgər siz hüceyrəni kultura qabında yetişdirərsəniz, onları boy faktorlarından ac saxladıqdan sonra təzə boy faktoru əlavə etsəniz, bir və ya iki dəqiqə müddətində hüceyrə buna membran şırımlarının (ruffle) yaranması ilə cavab verəcək. Membran çıxıntıları miqrasiya edən hüceyrələrdəki lamellapodiyaya çox oxşardır: onlar aktin

yığılmaları ilə qovuşan endosomlardakı eqzozitoza nəzarət mexanizminin fəallaşmasının nəticəsidir.

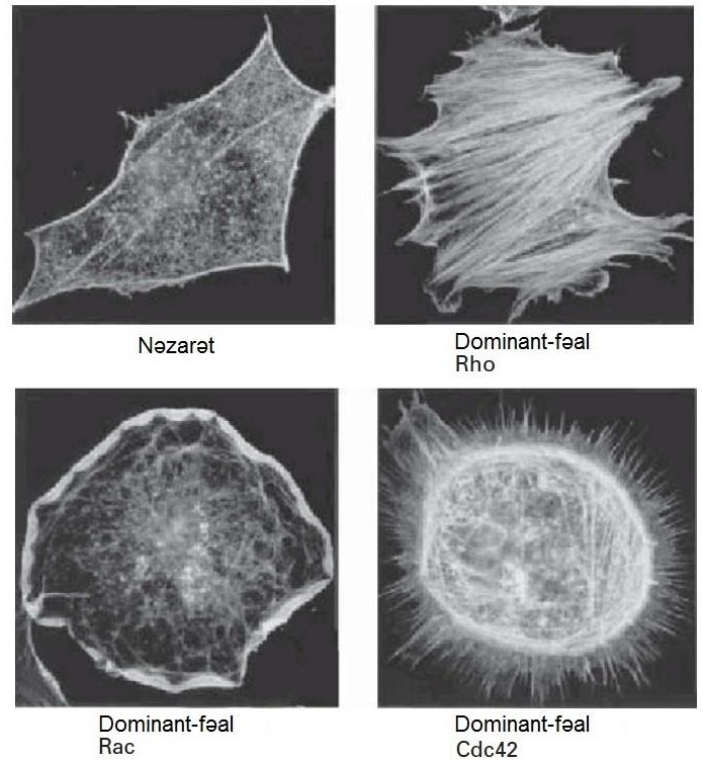
Alimlər bildirilər ki, boy faktorları hüceyrə səthində çox spesifik receptorlara birləşirlər və plazma membranının daxili səthində siqnal ötürülməsi yolunu induksiya edirlər (bax Fəsil 15), amma bu prosesin aktin mexanizmi ilə necə əlaqələndiyi sirr olaraq qalırdı. Sonrakı tədqiqatlar aşkar etdi ki, siqnal ötürülməsi yolu Rac-a bənzər zülalların kiçik GTP-azalar superailəsinin nümayəndəsi Rac zülalını fəallaşdırır (bax Fəsil 15). Rac mikrofilament quruluşunun təşkilini tənzimləyən zülallar ailəsinin bir nümayəndəsidir, digər iki zülal isə Cdc42 və Rho zülallarıdır. Təəssüf ki, onların aşkar edilmə tarixinə görə Cdc42, Rac, və Rho zülallarının daxil olduğu ailə ümumilikdə “Rho zülallar” adlanır. Bu zülalların necə işlədiyini anlamaq üçün biz əvvəlcə kiçik GTP-aza zülallarının fəaliyyət yolunu yada salmalıyıq.

Rac super ailəsinin bütün başqa kiçik GTP-azaları kimi, Cdc42, Rac və Rho GDP-birləşmiş qeyri fəal və GTP-birləşmiş fəal vəziyyətdə olan molekulyar keçiricilər kimi fəaliyyət göstərirlər (Şəkil 17-41). Onlar GDP-birləşmiş vəziyyətdə sitoplazmada qvanin nukleotidi dissosiasiyasının inhibitoru (GDI) adlanan zülalla birləşmiş şəkildə qeyri fəal formada sərbəst olurlar. Boy faktorları membrana-birəşmiş spesifik qvanin nukleotid mübadiləsi faktorları (GEFs) adlanan tənzimləyici zülalları işə-salmaq üçün öz reseptorları ilə birləşə və onları fəallaşdırırlar, bu da membranda Rho zülallarını GDI-dan ayırmaqla və onlarda GDP-nin GTP ilə mübadiləsini kataliz etməklə fəallaşdırır. GTP-birləşmiş fəal Rho zülalı plazma membranı ilə assosiasiya edir və bioloji cavabı ötürmək üçün orada *effektor zülallarla* birləşir. Kiçik GTP-azalar, spesifik GTP-aza-fəallaşdırıcı zülallarla (GAP) stimullaşaraq GTP-nin GDP-yə hidroliz olunmasına qədər fəal qalırlar.



ŞƏKİL 17-41 Rho ailəsinin kiçik GTP-azaların tənzimlənməsi. Rho ailəsinin kiçik GTP-azaları aksesuar zülallarla tənzimlənən molekulyar keçiricilərdir. Rho zülallar Rho-GDP birləşmiş vəziyyətdə, onları sitozolda qeyri-fəal vəziyyətdə saxlayan, GDI (qvanin nukleotidi dissosiasiyası inhibitoru) kimi məlum olan zülalla kompleksdə olurlar. Membranla-bağlı olan siqnal yolları Rho zülallarını membrana gətirir və GEF (qvanin nukleotid mübadiləsi faktoru) vasitəsi ilə GDP-ni GTP ilə dəyişərək onu fəallaşdırır. Membranla-bağlı fəallaşmış Rho-GTP sonra effektor zülallarla birləşir, nəticədə aktin sitoskeletonunda dəyişikliyə səbəb olur. Rho zülalı o vaxta qədər fəal Rho-GTP vəziyyətində qalır ki, GAP (GTP-aza fəallaşdırıcı zülal) ona təsir edir və imkan verir ki, o GDI ilə əlaqəyə girsin və sitoplazmaya qayıtsın. Bax S. Etienne-Manneville and A. Hall, 2002, *Nature* 420:629.

Rho zülallarının funksiyalarını açmaq üçün əhəmiyyətli bir yanaşma, hüceyrələrin daxilinə ya fəal-Rho-GTP-vəziyyətində, ya da qeyri fəal-Rho-GDP-vəziyyətində blok olunmuş (kilidlənən) mutant zülalların keçirilməsi olmuşdur. Fəal vəziyyətində kilidlənən, *dominant-fəal* zülal adlanan mutant kiçik GTP-aza konstitutiv şəkildə effektor molekullara birləşir və onlarda bioloji nəticələr qiymətləndirilə bilər. Alternativ olaraq, müvafiq GEF zülalına birləşərək onu ingibirləşdirən, *dominant-mənfi* adlanan başa mutant daxil edilə bilər. Beləliklə dominant-mənfi zülalın tətbiqi, hətta endogen təbii-formalı zülalın iştirak etdiyi halda belə, siqnal ötürülməsi yoluna mane olur, bu yolla hansı prosesin blok olunduğu müəyyənəndirilə bilər.



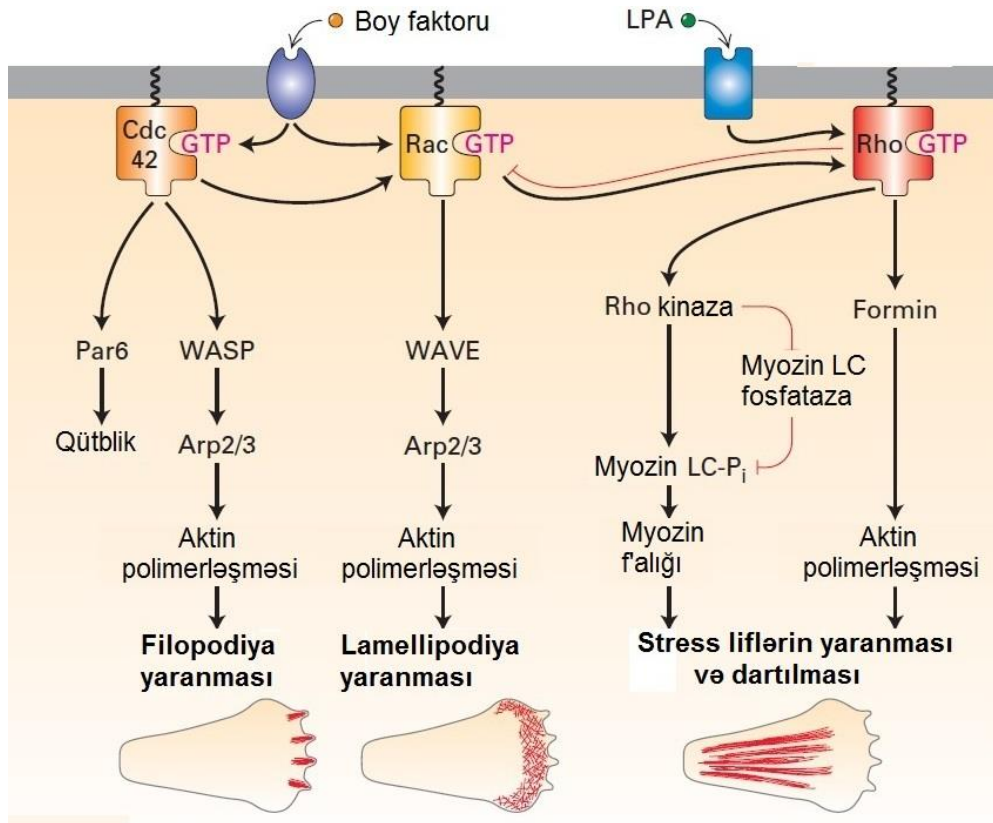
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-42 Dominant-fəal Rac, Rho və Cdc42 aktin-saxlayan müxtəlif quruluşları induksiya edir. Konstitutiv fəal Rac, Rho və Cdc42-nin təsirinə baxmaq üçün, boy faktoruna görə ac saxlanılan fibroblastlara üç zülalın dominant-fəal variantlarını ekspressiya edən plazmidlər mikroinyeksiya olundular. Sonra hüceyrələrə sapşəkilli aktini rəngləyən fluorescent falloidinlə təsir edildi. Dominant-fəal-Rac sonra periferial membran qırışlarının əmələ gəlməsini induksiya etdi, halbuki dominant-fəal-Rho bol yığılma (kontractil) stress liflərinin əmələ gəlməsini, dominant-fəal-Cdc42 isə filopodiyaları induksiya edir. [AAAS-in razılığı ilə, Hall A., “Rho GTPases and the actin cytoskeleton” *Science*, 1998, 279(5350)509-14-dən yenidən çap olunmuşdur. Razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]

Cdc42, Rac və Rho mikrofilament təşkilinin tənzimlənməsində iştirak edirlər, çünki dominant-fəal mutant zülalların tətbiqi aktin sitoskeleton üzərində, hətta boy faktorları olmadıqda belə dramatik təsirə malik olmuşdur. Aşkar edilmişdir ki, dominant-fəal Cdc42 filopodiyaların əmələ gəməsi ilə nəticələnir, dominant-fəal Rac membran çıxıntılarının əmələ

gəlməsinə səbəb olur və dominant-fəal Rho stress liflərin yaranması ilə nəticələnir ki, onlar da sonra dartılır (Şəkil 17-42). Dominant-fəal Rac-ın və boy faktoru ilə stimullaşmanın, hansı ki, hər ikisi membran çıxıntısının əmələ gəlməsini stimullaşdırır, eyni siqnal yolunda iştirak etmələrini necə təyin etmək olar? Əgər boy faktorunun stimullaşması Rac-ın fəallaşmasına səbəb olursa, onda dominant-mənfi Rac zülalın hüceyrə daxilinə keçirilməsi boy faktorunun membran çıxıntılarını əmələ gətirməsini blok etməlidir. Tapılan da məhz budur. Bu və digər çoxsaylı biokimyəvi strategiyalardan istifadə edərək, alimlər Cdc42, Rac və Rho-nun daxil olduğu siqnal yollarını identifikasiya etdilər (Şəkil 17-43).

Bu zülalların tənzimlədiyi siqnal yollarından bəzilərinə bizim tanış olduğumuz zülallar da daxildir. Cdc42-nin fəallaşması Arp2/3 vasitəsi ilə aktin yığılmasını, *nukleasiya təşviq edən faktor* (NPF) WASp-in fəallaşması yolu ilə stimullaşdırır (bax

Şəkil 17-16), filopidiyanın əmələ gəlməsinə səbəb olur. Ras-ın fəallaşması, WAVE kompleksi vasitəsi ilə Arp2/3 də induksiya edir, aparıcı uca şaxələnmiş aktin filamentlərinin yığılmasına səbəb olur. Rho-nun fəallaşması ən azı iki təsirə malik olur. Birincisi, o şaxələnməmiş aktin filamentin yığılması üçün formını fəallaşdırır. İkincisi, o qeyri əzələ myozin II-ni fəallaşdırmaq üçün, Rho kinazanın fəallaşması ilə myozin yüngül zənciri fosforlaşdırır və həmçinin, onun fəallığını ingibirləşdirmək üçün myozin yüngül-zəncir fosforlaşdırmaqla yüngül-zəncirin defosforlaşmasını ingibirləşdirə bilər. Rho kinazanın hər iki fəaliyyəti myozin-yüngül zəncirin yüksək dərəcədə fosforlaşmasına və beləliklə də yüksək myozin fəallığı və yığılmasına səbəb olur. Üç Rho zülalı, Cdc42, Rac və Rho da, Şəkil 17-43-də göstəriləyi kimi, fəallaşma və ingibirləşmə yolları ilə də əlaqəlidir.



ŞƏKİL 17-43 Aktin sitosketində siqnalla induksiya olunan dəyişikliyin xülasəsi

Boy faktorları və lizofosfatid turşusu (LPA) kimi spesifik siqnallar hüceyrə səth reseptorları tərəfindən aşkar edilir. Bu aşkar olunma kiçik GTP-birləşdirən zülalların fəallaşmasına səbəb olur, onlar isə sonra effektorlarla əlaqəyə girirərək, qeyd olunduğu kimi, sitosketdə dəyişikliyin əmələ gəlməsinə səbəb olurlar.

Hüceyrə Miqrasiyası Cdc42, Rac və Rho Tənzimlənməsinin Əlaqələndirilməsini Əhatə Edir

Bu kiçik GTP-birləşdirən zülalların hər biri hüceyrə miqrasiyasına necə kömək edir? Bu suala cavab etmək üçün tədqiqatçılar in vitro yara sağalması sınağını yaradıb inkişaf etdirmişlər (Şəkil 17-44a). Hüceyrələr petri qablarında kulturada bir-birinə qovuşaraq hüceyrə birqatlısını əmələ gətirənə qədər boy faktorları ilə yetişdirilir, onlar bu səviyyəyə çatanda bölünməni dayandırılır. Sonra, hüceyrələrin bir sırasını çıxarmaq üçün hüceyrə birqatlısı iynə ucuy ilə qoparılır, sərbəst uca malik olan hüceyrədə "yaralanma" əmələ gəlir. Ucdakı hüceyrələr qonşu hüceyrələrin itirildiyini hiss edir və indi kultura qabında açıq

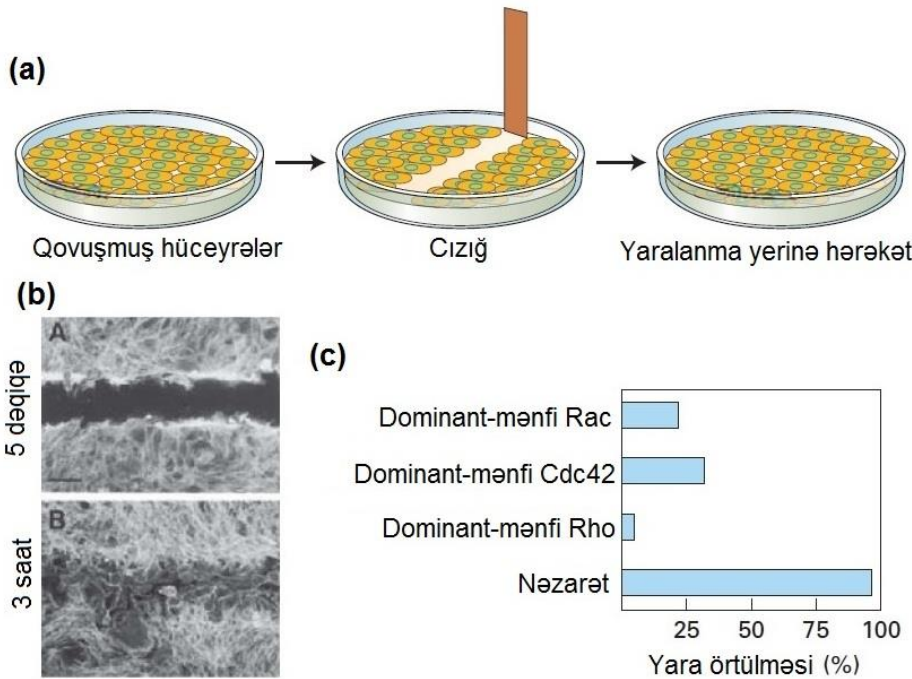
qalmış hüceyrəxarici matrisinin komponentlərinə cavab olaraq yaralanmış boş yerləri doldurmaq üçün hərəkət edirlər (Şəkil 17-44b). Bunu etmək üçün onlar özlərini boş yerlərə tərəf yönləndirirlər, əvvəlcə lamellipodiya uzanır, sonra da bu istiqamətdə hərəkət edirlər. Bu yolla hüceyrələrin istiqamətlənmiş miqrasiyasının induksiyasını in vitro öyrənmək olar.

Belə yaralanmış-hüceyrə birqatlısı sınağından istifadə edərək tədqiqatçılar hüceyrələrin yaralanma nahiyyəsinə miqrasiya edərək oranı doldurmaq qabiliyyətinə Rac-ın necə təsir etməsini görmək üçün yaralanma kənarında dominant-mənfi Rac zülalını hüceyrə daxilinə keçirdilər. Lamellipodiumu əmələ

gətirmək üçün Arp2/3 kompleksin fəallaşmasında Rac lazım olduğundan, təcüblü deyildir ki, hüceyrələr bu quruluşu əmələ gətirə bilmirlər və ona görə də miqrasiya edə bilmirlər, beləliklə də yara örtülmür (Şəkil 17-44c). Çox maraqlı nəticə dominant-mənfi Cdc42-ni yaranma kənarı nahiyəsində hüceyrələrin daxilinə keçirəndə əldə olunmuşdur: onlar lamellipodiumu əmələ gətirə bildilər, amma, faktiki olaraq düzgün istiqamətdə yönəlmə bilmədilər, onlar təsadüfi istiqamətlərdə miqrasiya etməyə çalışdılar. Bu müşahidələr göstərir ki, Cdc42 hüceyrənin ümumi polyarlığının təyin edilməsi üçün kritik əhəmiyyətlidir. Maya ilə tədqiqatlar (Cdc42-nin birinci təsvir edildiyi), yaralanmış hüceyrə birqatlısında, epitel hüceyrələrində və neyronlarda aparılmış tədqiqatlar aşkar etdilər ki, çoxsaylı müxtəlif sistemlərdə Cdc42 polyarlığın əsas tənzimləyicisidir. Bu tənzimləmənin bir hissəsi heyvanlarda Cdc42-nin nematolarda (ilk dəfə aşkar edilmişdi), neyronlarda və epitel hüceyrələrində fəaliyyət göstərən, öz effektor zülalı olan polyarlıq zülalı Par6 ilə

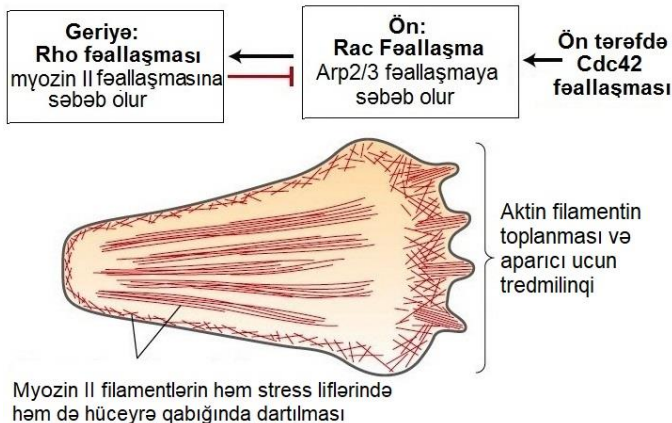
birlişməsinə əhatə edir. Biz bu polyarlıq yolunun detallarını ilə Fəsil 21-də tədqiq edirik.

Bu tip tədqiqatlar hüceyrə miqrasiyasının necə nəzarət olunmasının əsas modelini göstərir (Şəkil 17-45). Sıqnal ətraf mühitdən hüceyrəni istiqamətləndirən Cdc42-yə ötürülür. İstiqamətlənmiş hüceyrə ön hissəsində, aparıcı kənarı əmələ gətirən yüksək Rac fəallığına malikdir, Rho fəallığı isə arxa tərəfdə yüksəkdir, yığıla (dartıla) bilən quruluşların toplanmasını və myozin-II-əsaslı yığılma məşininin fəallaşmasını induksiya edir. Bunu qeyd etmək əhəmiyyətlidir ki, hüceyrənin müxtəlif rayonları Cdc42, Rac və Rho zülallarının müxtəlif səviyyədə fəallığına malik olurlar, beləliklə bu tənzimləyicilər hüceyrə daxilində lokal nəzarət olunurlar. Bu məkan tənzimlənməsinin bir hissəsi kiçik G-zülalların antoqonist fəaliyyət göstərə bilməsinə görə baş verir. Məsələn, fəal Rho Rac-ı inaktivasiya edən yolları stimullaşdırır. Bu proseslər ola bilsin ki, qeyri aparıcı-uc quruluşun hüceyrənin arxa tərəfində əmələ gəlməsinin təmin edilməsinə kömək edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-44

Yaralanmış hüceyrə birqatlısı sınağı istiqamətlənmiş hüceyrə hərəkətində siqnal yolunun ayrılmasında istifadə oluna bilər. (a) Hüceyrələr arasında sərbəst hüceyrə sərhədlərini yaratmaq üçün hüceyrələrin qovuşmuş birqatlısından üç hüceyrə enində zolaq cızılaraq qoparılmışdır. Qalan hüceyrələr boş sahəni və yeni təsir edilmiş (çılpaq qalmış) hüceyrəxarici matrisi aşkar edir və bir saatdan artıq müddətdə bu sahəni doldururlar. (b) Yaralanmış birqatlıda aktinin lokalizasiyası zolağın qoparılmasından 5 dəqiqə və 3 saat sonra. 3 saatdan sonra, hüceyrələr yaralanmış sahəyə miqrasiya edir. (c) Dominant-mənfi Cdc42, Rac, və Rho-nun yaralanmış uca hüceyrəyə daxil edilməsinin təsiri; onların hamısı yaranmaya çox oxşar təsir edirlər. [(b) hissəsi, 1999 Nobes & Hall et al., *J. Cell Biol.* 144:1235-1244. doi:10.1083/jcb.144.6.1235-dən. (c) hissəsi nəticələr C. D. Nobes and A. Hall, 1999, *J. Cell Biol.* 144:1235-dən.]



ŞƏKİL 17-45 Cdc42, Rac və Rho-nun hüceyrə hərəkətinə töhfəsi.

Miqrasiya edən hüceyrələrin ümumi polyarlığı hüceyrə önündə fəallaşan Cdc42 ilə nəzarət olunur. Cdc42-nin fəallaşması hüceyrə önündə aparıcı kənarı əmələ gətirən fəal Rac-ın yaranmasına səbəb olur və hüceyrə arxasında myozin II-nin fəallaşmasına və dartılmaya səbəb olan fəal Rho-nu əmələ gətirir. Fəal Rho Rac fəallaşmasını ingibirləşdirir, iki fəal G-zülalın qeyri simmetrikliliyini təmin edir.

Miqrasiya Edən Hüceyrələr Kemotaktik Molekullarla İdarə Olunurlar

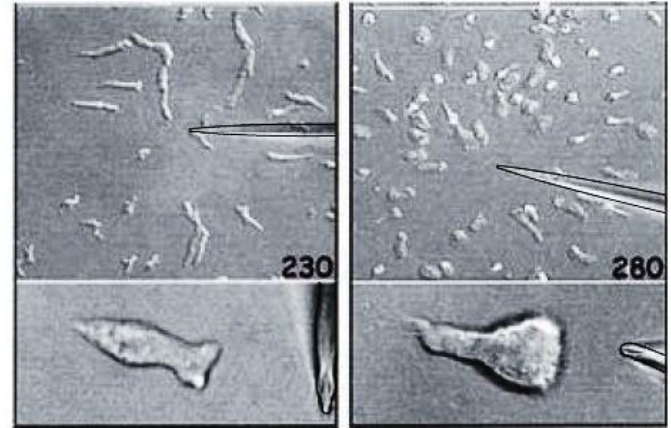
Müəyyən şəraitlərdə, hüceyrə xarici kimyəvi siqnallar hüceyrə hərəkətinə xüsusi bir istiqamətdə bələdçilik edirlər. Bəzi hallarda, hərəkəti yuxarıda təsvir edilmiş yaralı-hüceyrə

birqatlısında olduğu kimi, substratdakı həll olmayan molekullar istiqamətləndirir. Başqa hallarda, hüceyrələr həll olan molekulları hiss edirlər və onların qatılığının artan istiqamətində qatılıq qradienti boyunca onların ardınca gedirlər — bu proses **kemotaksis** kimi məlumdur. Məsələn, leykositlər yoluxma istiqamətində çox bakteriyanın ifraz etdiyi tripeptidə görə gedirlər (Şəkil 17-46). Başqa bir nümunədə, skelet əzələsinin inkişafı gedişində ifraz olunan, *dağılma faktoru* (*scatter factor*) adlanan zülal siqnal mioblastların əzələnin yaranma yerində düzgün məkana miqrasiyasına bələdçilik edir. Kemotaksisin çox yaxşı öyrənilmiş bir nümunəsi *Dictyostelium* amebinin aclığa cavab miqrasiyasıdır. Bu torpaq ameybləri stress keçirərkən onlar cAMP ifraz edirlər, hansıki bu orqanizmlərdə xarici xemotaktik agent rolunu oynayır. Digər *Dictyostelium* hüceyrələri cAMP qatılıq qradientinin artan istiqamətində onun mənbəyinə doğru hərəkət edirlər (bax Şəkil 17-46). Beləliklə ameyblər biri-digəri istiqamətində hərəkət edir, miqrasiya edən kütləyə aqreqasiya edirlər və sonra məhsul verən cismə (*fruiting body*) differensasiya edirlər və aclığa-dözümlü sporları əmələ gətirirlər.

EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 17-46 Kemotaktik molekullar aktin sitoskeletə siqnal verməklə miqrasiya edən hüceyrələrə bələdçilik edirlər. *Dictyostelium* hüceyrələri cAMP olan pipetkaya doğru miqrasiya edirlər (*solda*), insan neytrofilləri (leykositin bir tipi) isə fMLP (formilləşmiş Met-Leu-Phe) olan pipetkaya, bakteriyalar tərəfindən istehsal olunan peptidə (*sağda*) doğru miqrasiya edirlər. İki aşağı panel fərdi kemotaksis edən *Dictyostelium* və neyrofill hüceyrələrdir, bunlar təkamülün gedişində, 800 milyon ilə qədər bundan öncə ayrılmasına baxmayaraq kifayət qədər oxşar görünürlər. [Elsevier-in razılığı ilə, Parent, C. A., "Making all the right moves: chemotaxis in neutrophils and *Dictyostelium*," *Current Opinion in Cell Biology*, 2004,16(1):4-13, 2004-dən yenidən çap olunub; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınıb.]

Fərqli kemotaktik molekulların — şəkərlərin, peptidlərin, hüceyrə metabolitlərinin, hüceyrə divarı və ya membran lipidlərinin — müxtəlifliyinə baxmayaraq, onlar hamısı məlum olan ümumi mexanizmlə fəaliyyət göstərir: hüceyrə səth reseptorlarına birləşmək, hüceyrədaxili siqnal yolunu fəallaşdırmaq və müxtəlif aktin-birləşdirən zülalları ingibirləşdirmək və ya fəallaşdırmaqla sitoskeletdə dəyişiklik etmək. Olduqca maraqlıdır ki, hüceyrə arxasında və önündə kemotaktik molekulların qatılığında yalnız 2 faiz fərq kifayət edir ki, istiqamətlənmiş hüceyrə miqrasiyasını induksiya etsin (Klassik eksperiment 17-2 bax). Kemotaksisdə istifadə olunan daxili siqnalın ötürüldüyü yolun bir milyard ildən artıq təkamülünə baxmayaraq *Dictyostelium* ameybu ilə insan

leykositləri arasında konservativliyin tapılması eyni dərəcədə maraqlıdır.



Dictyostelium ameybu cAMP-yə miqrasiya edir

İnsanın neytrofilləri fMLP-yə miqrasiya edir

17.7 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Miqrasiyası: Mexanizmlər, Siqnal Verilməsi və Kemotaksis

- Hüceyrə miqrasiyası hüceyrə önündə aktinlə-zəngin aparıcı kənarın uzanması, hüceyrə ilə nisbətdə geriye hərəkət edən fokal adgeziyanın əmələ gəlməsini və sonra onların sərbəst buraxılmasını, hüceyrəni irəliləyə itələmək üçün arxa yığılma ilə kombinasiyada əhatə edir (bax Şəkil 17-39).
- Hüceyrə miqrasiyasına həmçinin, membranı və adgeziya molekullarını hüceyrə arxasında götürən və hüceyrə önündə yenidən hüceyrəyə daxil edən istiqamətlənmiş endositik dövrə (tsikl) daxildir.
- Aktin filamentlərin toplanması və fəaliyyəti Rho ailəsinə daxil olan kiçik GTP-birləşdirən siqnal yolları ilə nəzarət olunur. Cdc42 ümumi qütblüyü (polyarlığı) və filopodiyanın əmələ gəlməsini tənzimləyir, Rac Arp2/3 kompleks vasitəsi ilə aktin şəbəkəsinin əmələ gəlməsini tənzimləyir, Rho isə formınlar vasitəsi ilə aktin filamentin yaranmasını və eləcə də myozin II-nin tənzimlənməsi ilə yığılmanı (contraction) tənzimləyir (bax Şəkil 17-43).
- Hüceyrə hərəkətinin hüceyrəxarici kimyəvi maddələr istiqamətində yönəlməsi olan kemotaksisə aktin sitoskeleti tənzimləyən və hüceyrə miqrasiyasını istiqamətləndirən siqnal yolları daxildir (aidir).

Açar Sözlər

aktin
aktin kəsişən-əlaqəli zülallar
aparıcı kənar
aralıq filamentlər

Arp2/3 kompleksi
CapZ zülal
Cdc42 zülal
F-aktin

filopodia
formin
G-aktin
hüceyrə miqrasiyası
hüceyrə polyarlığı (qütbliyi)
kemotaksis
kofilin
kritik qatılıq (C_c)
qalın filamentlər
lamellipodium
mikroborucuqlar
mikrofilamentlər
mikrovilli
motor zülallar
myozin
myozin yüngül-zəncir kinaza

nazik filamentlər
nukleasiya təşviq edən factor (NPF)
pillə ölçüsü
enerji zərbəsi (power stroke)
profilin
Rac zülal
Rho zülal
sıxılıb-açılan bağlar
sitoskelet
stress liflər
timozin β_4
treadmilling
tropomodulin
tropomyozin
vəzifə nisbəti
WASp

Konsepsiyalara baxış

1. Eukariotların əksəriyyətində sitoskelet filamentlərin üç sistemi mövcuddur. Onları tərkibinə, funksiyasına və quruluşuna görə müqayisə et.
2. Aktin filamentlər müəyyən polyarlığa malikdir. Filament polyarlığı nədir? O subvahid səviyyəsində necə yaranır? Filament polyarlığı necə təyin edilə bilər?
3. Hüceyrələrdə aktin filamentlər dəstləri (bağları) və ya şəbəkəni əmələ gətirirlər. Hüceyrələr bu cürə quruluşları necə əmələ gətirirlər və hansı spesifik əlamətlərə görə filamentin dəstə (bağ) və ya şəbəkə (tor) əmələ gətirməsini müəyyən etməklə olurlar?
4. Hüceyrələrdə aktin yığılması (assembly) barədə bizim anlayışlarımızın əksəriyyəti təmizlənmiş aktindən istifadə etməklə in vitro eksperimentlərdən alınmışdır. In vitro aktin toplanmasını öyrənmək üçün hansı metodlardan istifadə oluna bilər? Bu metodların hər birinin necə işlədiyini izah edin. Bu metodlardan hansı sizə aktin filamenti kütləsinin çoxlu sayda qısa aktin filamentlərdən və ya bir neçə böyük aktin filamentlərdən təşkil olunduğunu deyə bilər?
5. Hüceyrə daxilində aktinin predominant formaları ATP-G-aktin və ADP-F-aktindir. Bunların nukleotid vəziyyətinin bir-birinə çevrilməsinin aktin subvahidlərinin toplanması və dağılması ilə necə əlaqələndiyini izah edin. Əgər mutasiya aktinin ATP birləşdirmə qabiliyyətinə mane olursa aktin filamentin toplanması və ya dağılmasının nəticəsi nə ola bilər? Əgər mutasiya aktinin ATP hidroliz etmə qabiliyyətinə mane olursa onun nəticəsi nə ola bilər?
6. Sürünən hüceyrələrin aparıcı (ön) qırağında aktin filamentlər treadmillinqə uğrayırlar. Treadmillinq nədir və belə yığılma davranışını nə izah edir?
7. Baxmayaraq ki, təmizlənmiş aktin in vitro geriye dönən yığılır, müxtəlif aktin-birləşdirən zülallar hüceyrədə aktin filamentlərin yığılmasını tənzimləyirlər. Əgər aşağıdakıların hər birinə qarşı funksiyaları-blok edən anticismlər bir-birindən asılı olmadan hüceyrəyə mikroinyeksiya olunarsa hüceyrənin aktin sitoskeletinə təsirini təxmin edin: profilin, timozin- β , CapZ və Arp2/3 kompleksi.
8. Aktinin CapZ, tropomodulin və ya profilin-aktin mövcud olan hallarda qısa aktin filamentlələ naxışlanmış myozin

üzərində (Şəkil 17-9-da göstərilirdiyi kimi) necə polimerləşməsini təxmin edin.

9. Formin və WASp-ın fəallaşdığı yolları müqayisə edin və qarşı-qarşıya qoyun, onların hər birinin aktin filamentin əmələ gəlməsini necə stimullaşdırdığını izah edin.

10. Myozinin təxminən 20 müxtəlif tipi var. Bu tiplər hansı ümumi oxşar xassəyə malikdirlər və onları nə fərqləndirir? Niyə myozin II yeganə myozindir ki, dartılma gücünü əmələ gətirir?

11. Myozinin aktin filamentini boyunca gedə bilməsi uyğun təchiz olunmuş mikroskopla müşahidə oluna bilər. Belə sınaqların adətən necə həyata keçirilməsini təsvir edin. Nə üçün bu sınaqlara ATP tələb olunur? Belə sınaqlar myozin hərəkətinin istiqamətinin təyin edilməsində və ya myozin tərəfindən yaranan gücün təyin edilməsində necə istifadə oluna bilər?

12. Dartılma bağları (contractile bundles) qeyri əzələ hüceyrələrində baş verir, bu quruluşlar əzələ hüceyrələrindəki sarkomerlərə nisbətən az mütəşəkkilliyə malikdirlər. Qeyri-əzələ dartılma bağlarının məqsədi nədir? Dartılma bağlarında hansı tip myozin tapılmışdır?

13. Myozin ATP hidrolizindən ayrılan kimyəvi enerjini mexaniki işə necə çevirir?

14. Myozin II-nin vəzifə yerinə yetirmə nisbəti 10 faizdir və onun addım ölçüsü 8 nm-dir. Əksinə, myozin V daha yüksək vəzifə yerinə yetirmə nisbətində (təxminən 70 faiz) malikdir və aktin filamentini boyunca gedərkən onun addım ölçüsü 36 nm-dir. Myozin II ilə myozin V arasında hansı fərq onların müxtəlif xassəyə malik olmalarını müəyyən edir? Myozin II ilə myozin V-in müxtəlif quruluşları və xassələri onların hüceyrədəki funksiyalarında necə əks olunur?

15. Həm skelet əzələsi həm də sınaq əzələsi yığılması sitozolda Ca^{2+} artması ilə işə salınır. Hər iki tip əzələnin Ca^{2+} qatılığının yüksəlməsini əzələ yığılmasına necə çevirdiyi mexanizmi müqayisə edin.

16. Myozin yüngül-zəncir kinazının (MLC kinaza) proteinkinaza A (PKA) ilə fosforlaşması MLC kinazının Ca^{2+} /kalmodulinlə fəallaşmasını ingibirləşdirir. Albuterol kimi dərmanlar β -adrenergik reseptora birləşir, hansiki hüceyrədə cAMP-nin miqdarının artmasına və PKA-nın fəallaşmasına səbəb olur. Astma tutmaları zamanı nəfəs yolunu əhatə edən

güclü sayə əzələ yığılmalarına təsir etmək üçün albuterolun nəyə görə sərfəli olduğunu izah edin.

17. Səth boyu lokomasiyasını (hərəkəti) həyata keçirmək üçün bir neçə tip hüceyrə aktin sitoskeletin gücündən istifadə edir. Aktin filamentlərin müxtəlif bağları lokomasiyada necə iştirak edirlər?

18. Spesifik istiqamətdə hərəkət etmək üçün miqrasiya edən hüceyrə, hansı zülalın ön kimi təsir edəcəyini və hansı zülalın arxa kimi fəaliyyət göstərəcəyini təyin etmək üçün hüceyrəxarici siqnallardan istifadə etməlidir. Miqrasiya edən hüceyrələrin hərəkətin istiqamətini təyin etmək üçün istifadə etdiyi siqnal yollarında kiçik GTP-aza zülalların necə iştirak etməsini təsvir edin.

19. Hüceyrə hərəkətliliyi (motility) hərəkət edən tank təkərinin hərəkəti kimi təsvir edilmişdir. Aparıcı qıraqda, aktin filamentlər sürətlə bağları (dəstləri) və şəbəkəni əmələ gətirilər, bunlar da çıxıntıları əmələ gətirir və hüceyrəni irəliyə aparırlar. Arxa tərəfdə, hüceyrə adgeziyası qırılır, və hüceyrənin quyuq ucu irəliyə tərəf aparılır. Hüceyrənin hərəkət etməsi üçün dartmanı nə təyin edir? Hüceyrə cisminin translokasiyası necə baş verir? Hüceyrələr irəliyə hərəkət etdikdən sonra hüceyrə adgeziyaları necə buraxılır?

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Mikrofilamentlər və Aktin Quruluşlar

Holmes, K. C., et al. 1990. Atomic model of the actin filament. *Nature* **347**:44–49.

Kabsch, W., et al. 1990. Atomic structure of the actin:DNase I complex. *Nature* **347**:37–44.

Pollard, T. D., and J. A. Cooper. 2009. Actin, a central player in cell shape and movement. *Science* **326**:1208–1212.

Aktin Filamentlərin Dinamicası

Paavilainen, V. O., et al. 2004. Regulation of cytoskeletal dynamics by actin-monomer-binding proteins. *Trends Cell Biol.* **14**:386–394.

Theriot, J. A. 1997. Accelerating on a treadmill: ADF/cofilin promotes rapid actin filament turnover in the dynamic cytoskeleton. *J. Cell Biol.* **136**:1165–1168.

Aktin Filament Yığılması və Pozulması Mexanizmləri

Briher, W. 2013. Mechanisms of actin disassembly. *Mol. Biol. Cell* **24**:2299–2302.

Campellone, K. G., and M. D. Welch. 2010. A nucleator armsrace: cellular control of actin assembly. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **11**:237–251.

Chen, B. et al. 2014. The WAVE regulatory complex links diverse receptors to the actin cytoskeleton. *Cell* **156**:195–207.

Gouin, E., M. D. Welch, and P. Cossart. 2005. Actin-based motility of intracellular pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* **8**:35–45.

Rotty, J. D., C. Wu, and J. E. Bear. 2013. New insights into the regulation and cellular functions of the Arp2/3 complex. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:7–12.

Aktin-Əsaslı Hüceyrə Quruluşlarının Təşkili

Bennett, V., and D. N. Lorenzo. 2013. Spectrin- and ankyrin-based membrane domains and the evolution of vertebrates. *Curr. Top. Memb.* **72**:1–37.

Fehon, R. G., A. I. McClatchey, and A. Bretscher. 2010. Organizing the cell cortex: the role of ERM proteins. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **11**:276–287.

Myozinlər: Aktin-Əsaslı Motor Zülallar

Berg, J. S., B. C. Powell, and R. E. Cheney. 2001. A millennial miosin census. *Mol. Biol. Cell* **12**:780–794.

Vale, R. D. 2003. The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell* **112**:467–480.

Vale, R. D., and R. A. Milligan. 2000. The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science* **288**:88–95.

Myozinlə Təmin Olunan Hərəkətlər

Clark, K. A., et al. 2002. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* **18**:637–706.

Hammer, J. A. III and J. R. Sellers. 2012. Walking to work: roles for class V miosins as cargo transporters. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:13–26.

Hüceyrə Miqrasiyası: Siqnal Verilməsi və Kemotaksis

Artemenko, Y., T. J. Lampert, and P. N. Devreotes. 2014. Moving towards a paradigm: common mechanisms of chemotactic signaling in *Dictyostelium* and mammalian leukocytes. *Cell Mol. Life Sci.* **71**:3711–3747.

Etienne-Manneville, S. 2004. Cdc42—the centre of polarity. *J. Cell Sci.* **117**:1291–1300.

Etienne-Manneville, S., and A. Hall. 2002. Rho GTPases in cell biology. *Nature* **420**:629–635.

Pollard, T. D., and G. G. Borisy. 2003. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell* **112**:453–465.

Ridley, A. J., et al. 2003. Cell migration: integrating signals from the front to back. *Science* **302**:1704–1709.

KLASSİK EKSPERİMENT 17.1

ƏZƏLƏ YIĞILMASINA BAXDIQDA

H. Huxley and J.Hanson, 1954, Nature 173:973-976

Eninəzolaqlı əzələlərin dartılması və boşalması bizə gündəlik tələblərimizi yürünə yetirməyi imkan verir. Bu necə baş verir? Alimlər uzun müddət çalışdılar ki, miofibrillər adlanan qovşaq əzələ hüceyrələrinin güclü hərəkəti yarada bilməyən başqa hüceyrələrdən necə fərqləndiyini görsünlər. 1954-cü ildə Jean Hanson və Hugh Huxley baş verən mexanizmlə nümayiş etdirilən əzələ yığılmaları üzrə mikroskopiya tədqiqatlarını nəşr etdirdilər.

Arxa Plan

Əzələlərin iş görmə qabiliyyəti uzun müddət maraqlı bir proses olmuşdur. "Könüllü" əzələ yığılmaları, mikroskop altında baxılarkən görünüşlərinə görə adlandırılan eninəzolaqlı əzələlərlə yerinə yetirilir. 1950-ci illərdə miofibrilləri öyrənən bioloqlar mikroskop altında müşahidə apardıqları çox quruluşları adlandırdılar. Sarkomerlər adlandırılan bir dartılan vahid, A zolağı və I zolağı adlandırılan iki əsas rayondan təşkil olunmuşdur. A zolağı iki tünd rənglənmiş qalın zolaqlardan və bir nazik zolaqdan təşkil olunmuşdur. I zolağı isə əsasən açıq rəngdə olan, bir-birindən Z diski adlandırılan tünd rəngli xətlərlə ayrılan zolaqlardan təşkil olunmuşdur. Bu quruluşların xarakterizə olunmasına baxmayaraq, onların əzələ yığılmasında rolu aydın deyildir. Eyni zamanda biokimyəçilər problemin həllinə qeyri-əzələ hüceyrələrinə nisbətən miofibrillərdə daha çox yayılan zülalları axtarmaqla da çalışdılar. Onlar tapdılar ki, əzələlər böyük miqdarda, bir-biri ilə kompleks əmələ gətirən quruluş zülalları aktin və myozinə malikdirlər. Aktin və myozin adenozin-trifosfatla (ATP) təsir edərək qısalan polimerləri əmələ gətirirlər.

Bu müşahidələri yadda saxlayaraq Hanson və Haksley əzələlərin çarpaz kəsişməsi üzrə öz tədqiqatlarına başladılar, onlar biokimyəvi nəticələri mikroskopik müşahidələrlə birləşdirdilər və bu günə qədər hələ də doğru sayılan əzələ yığılmasının modelini yaratdılar.

Ekspərimənt

Hanson və Haksley ev dovşanından ayırdıqları eninəzolaqlı əzələlər üzrə apardıqları tədqiqatlarında əsasən faza-kontrast mikroskopiyasından istifadə etdilər. Bu texnika onlara imkan verdi ki, sarkomerlərin təmiz şəklini alsınlar və ehtiyatla A və I zolaqlarını ölçsünlər. Əzələlərə müxtəlif kimyəvi maddələrlə təsir etməklə, sonra da faza-kontrast mikroskopu altında tədqiqatları aparmaqla onlar əzələ quruluşunu və eləcə də əzələ yığılmasının mexanizmini təsvir etmək üçün, biokimyəvi nəticələri mikroskopiya ilə uğurla birləşdirə bildilər.

Öz ilk tədqiqatlarında Hanson və Haksley, myozini və ya aktini miofibrillərdən spesifik olaraq ekstraksiya edən məlum olan kimyəvi maddələri istifadə etdilər. Onlar əvvəlcə miofibrillərə spesifik olaraq myozini əzələlərdən ayıran kimyəvi maddələrlə təsir etdilər. Təsir edilməmiş miofibrillərin myozin-ekstraksiya olunmuş miofibrillə müqayisəsi üçün onlar faza-

kontrast mikroskopiyasından istifadə etdilər. Təsir edilməmiş əzələlərdə, onlar əvvəllər identifikasiya olunmuş sarkomer quruluşları, o cümlədən tünd rənglənmiş A zolaqlarını müşahidə etdilər. Amma, onlar myozin-ekstraksiya olunmuş hüceyrələrə baxanda tünd rənglənmiş A zolaqları müşahidə olunmadı. Sonra onlar myozin-ekstraksiya olunmuş əzələ hüceyrələrindən aktini ekstraksiya etdilər. Həm myozin həm də aktin ekstraksiya olunmuş miofibrillərdə onlar hüceyrədə identifikasiya oluna bilən quruluşu faza-kontrast mikroskopiyası ilə görə bildilər. Bu eksperimentlərdən, onlar yekun xülasəyə gəldilər ki, myozin əsasən A zolağında yerləşdiyi halda, aktin bütün miofibrillərdə tapıldı.

Əzələ quruluşunun biokimyəvi təbiətini daha yaxşı anlamaqla Haksley və Hanson əzələ yığılması mexanizminin öyrənilməsinə girişdilər. Onlar əzələ toxumasından fərdi miofibrilləri ayırdılar və ATP ilə ona təsir etdilər, onların aşağı sürətlə dartılmasına səbəb oldular. Bu metoddan istifadə edərək onlar faza-kontrast mikroskopiyasından istifadə edərək müşahidə olunan əzələ yığılmasının müxtəlif mərhələlərində şəkillərini çəkə bildilər. Onlar həmçinin örtük şüşəsindən istifadə edərək mexaniki uzanmanı induksiya edə bildilər, bu həmçinin onlara əzələ boşalması prosesini də müşahidə etməyə imkan verdi. Bu metodları mənimsəməklə, onlar miofibrillərin uzanma və dartılma zamanı quruluşunun necə dəyişdiyini yoxladılar.

Birincisi Haksley və Hanson myofibrillərə ATP ilə təsir etdilər, sonra onların faza-kontrast mikroskopiyası ilə müşahidə etdikləri fotosəkillərini çəkildilər. Bu şəkillər onlara imkan verdi ki, həm A zolağının həm də I zolağının uzunluqlarını yığılmanın müxtəlif mərhələlərində ölçə bilsinlər. Onlar miofibrillərin sərbəst yığılmasını gördükdə, açıq rənglənmiş I zolağının ardıcıl qısalmasını qeyd etdilər, halbuki A zolağının uzunluğu dəyişilməz (konstant) qaldı (Şəkil 1). A zolağı daxilində onlar, dartılma zamanı artan sıxlaşmış sahənin əmələ gəlməsini müşahidə etdilər.

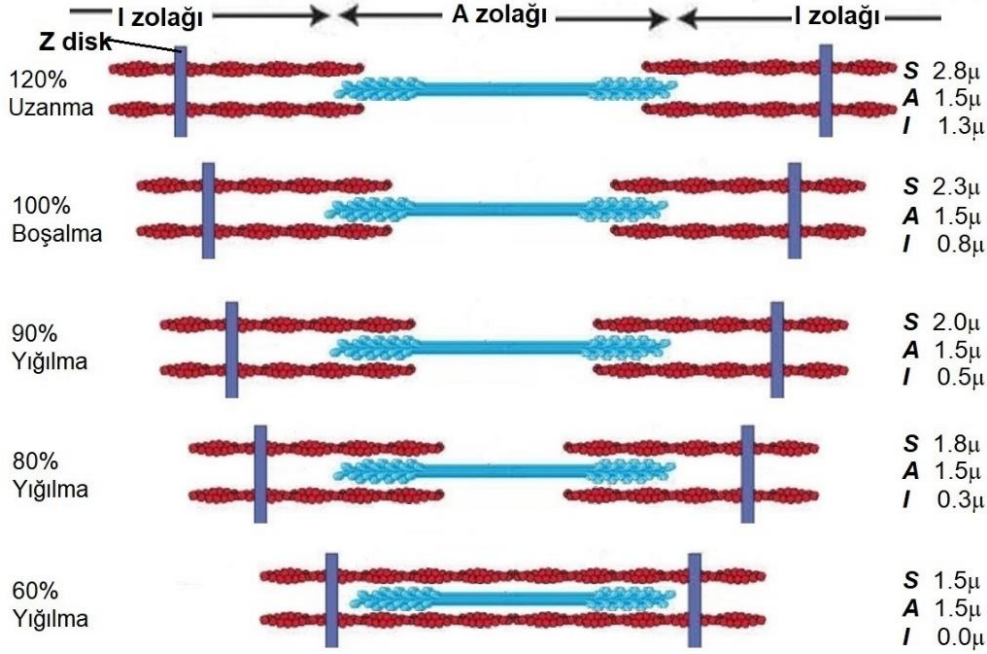
İki alim, növbəti simulyasiya olunan əzələ uzanmasında myofibril quruluşların necə dəyişdiyini yoxladılar. Onlar örtük şüşədən istifadə edərək şüşə lövhəyə quraşdırılmış ayrılmış myofibrilləri dartıb uzatdılar. Onlar yenidən faza-kontrast mikroskopiyanın fotosəkilini çəkildilər, A zolağın və I zolağın uzunluğunu ölçdülər. Uzanma zamanı I zolağının uzunluğu dartılmada olduğu kimi, qısalmaqda artır. Yəni də A zolağın uzunluğu dəyişilməz qalır. Əzələ yığılması zamanı A zolaqda əmələ gələn sıxlaşmış zona uzanma zamanı az sıxlaşmış vəziyyət alır.

Hanson və Haksley öz müşahidələrindən əzələ yığılması və uzanmasının modelini yaradıb inkişaf etdirdilər (Şəkil 1). Onların modelində dartılma zamanı I zolağındakı aktin filametlər A zolağına yerləşir və beləliklə I zolaq qısalmış olur. Bu A zolağında yerləşən myozinlə aktin filamentlər arasında əlaqənin yüksəlməsinə imkan verir. Əzələ dartıldıqca aktin filamentlər A zolağından çıxır. Bu nəticələrdən, Hanson və Haksley irəliyə sürdülər ki, əzələ yığılması aktin filamentlərin stasionar myozin filamentlər kütləsi daxilinə və xaricinə hərəkət etməsi ilə idarə olunur.

Müzakirəsi

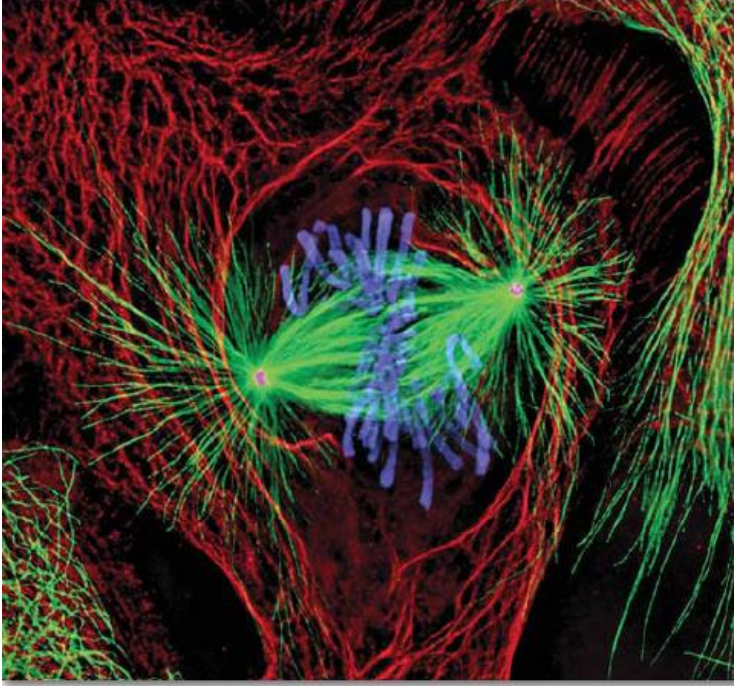
Mikroskopik müşahidələri əzələ liflərinin məlum olan biokimyəvi işləmələri ilə birləşdirməklə, Hanson və Haksley əzələ quruluşunun biokimyəvi təbiətini təsvir edə bildilər və əzələ yığılması mexanizminin xülasəsini verə bildilər. Böyük miqdarda tədqiqatlar əzələ yığılması prosesinin başa düşülməsi istiqamətində davam edir. İndi Alimlər bilirlər ki, əzələlər,

myozini aktin üzərinə dartan onun konformasiya dəyişikliyi idarə edən ATP hidrolizi ilə yığılırlar. Tədqiqatçılar bu prosesin molekulyar detallarının açılmasında davam edirlər, amma Hanson və Haksley tərəfindən irəli sürülən əzələ yığılma mexanizmi öz yerində qalır.



ŞƏKİL 1. Hanson və Haksley tərəfindən müşahidə olunan əzələ yığılmasının və uzanmasının sxematik diaqramı. Sarkomerin (S) uzunluğu, A zolağı (A) və I zolağı (I) uzunluğuna görə boşalmış (aşağıda) və ya 120 faiz uzanmış (yuxarıda) əzələ ilə müqayisədə 60 faiz yığılmış əzələ nümunələrində ölçülmüşdür. Sarkomerin, I zolağın və A zolağın uzunluqları sağ tərəfdə qeyd olunmuşdur. Qeyd edək ki, 120 faiz uzanmadan 60 faiz yığılmaya qədər A zolaq uzunluğuna görə dəyişilmir. Amma, I zolağın uzunluğu 1.3 μm qədər dartıla (uzana) və 60 faiz yığıla bilər. Sarkomer A zolağın ümumi uzunluğuna qədər qısalan kimi o itir. [J. Hanson and H. E. Huxley, 1955, *Symp. Soc. Exp. Biol. Fibrous Proteins and Their Biological Significance* 9:249 götürülmüşdür]

FƏSİL 18



Salamandra ağciyər hüceyrəsinin mitozu (fuksin), mikroborucuqlar (yaşıl) xromosomlar (mavi) və keratin aralıq filamentləri (qırmızı). [Macmillan Publishers Ltd: A. Khodjakov, “Olympus/Nature competition: A 1, 2, 3 in light microscopy,” *Nature* 408, 423-424-dən yenidən çap olunmuşdur. Nəzakətlə Alekey Khodjakov-dan.]

Hüceyrənin Təşkili və Hərəkəti II: Mikroborucuqlar və Aralıq Filamentlər

Əvvəlki fəsildə öyrəndiyimiz kimi, üç tip filament: mikrofilamentlər, mikroborucuqlar və aralıq filamentlər heyvan hüceyrələrinin sitoskeletini təşkil edir. Bu üç müxtəlif tip filament nə üçün yaranmışlar? Görünür ki, onların fiziki xassələri müxtəlif funksiyalara uyğun gəlir. 17-cı Fəsildə biz aktin mikrofilamentlərin çox hallarda dəyişkən və dinamik quruluşları yaratmaq üçün çox sayda müxtəlif sinifli myozin motorlar üçün iz rolunu oynayan bir şəbəkədə və ya bağlamlarda kəşidklərini təsvir etdik. Eynilə, mikroborucuqlar vahid bir quruluş kimi mövcud olan sərt borulardır, hüceyrədə 20 µm qədər uzana bilirlər və ya kirpik və qamçı kimi xüsusiləşmiş hüceyrə-səth quruluşlarında olduğu kimi bağlarda (bundle) düzülürlər. Onların tubulyar (boruvari) dizaynına görə mikroborucuqlar əyilmədən itələmə və ya dartma gücü yaratmağa qabildirlər və bu xassə imkan verir ki vahid bir borucuq hüceyrə daxilində uzun məsafəyə qədər uzansın və flaqellada və mitoz şpindelində olduğu kimi bir-birinin yanından keçərək bağları əmələ gətirsin. Mikroborucuqların hüceyrə daxilində uzun məsafəyə qədər uzanmaq qabiliyyəti onların daxili polyarlığı ilə birlikdə mikroborucuqlardan-asılı motorlarda istifadə olunur və orqanoidlərin uzaq məsafəyə

daşınmasında “rels” rolunu oynayır. Mikroborucuqlar yüksək dərəcədə dinamik ola bilirlər – onlar uclarından sürətlə toplanır və dağılır, beləliklə də, hüceyrə ona lazım olan kimi mikroborucuq təşkilinin dəyişməsinə asanlıqla təmin edə bilər.

Mikrofilamentlərdən və mikroborucuqlardan fərqli olaraq, aralıq filamentlər böyük elastiklik gücünə malikdir və daha güclü stressə və dartılmalara davam gətirmək üçün yaranmışdır. Mükəmməl molekulyar kəndir xassələri ilə onlar ideal olaraq həm hüceyrə həm də toxumalarda quruluş bütövlüyünü qoruyur və hüceyrənin təşkilində öz töhfəsini verir. Aralıq filamentlərin mikrofilamentlərdə və mikroborucuqlarda olduğu kimi, daxili polyarlığı yoxdur, ona görə də təccüblü deyildir ki, aralıq filamentlərin “rels” (iz) kimi istifadə etdiyi heç bir məlum olan motor zülalları yoxdur. Hərçənd ki biz bu fəsildə aralıq filamentləri və mikroborucuqları birlikdə müzakirə edirik və baxmayaraq ki, onların sitozolda lokalizasiyası faktiki olaraq kifayət qədər oxşardır, biz görəcəyik ki, onların dinamikası və fəaliyyəti çox fərqlidir. Bu üç filament sistemi arasında oxşarlığın və fərqliliyin ümumi icmalı Şəkil 18-1-də göstərilmişdir.

İcmal

18.1 Mikroborucuqların Quruluşu və Təşkili

18.2 Mikroborucuqların Dinamikası

18.3 Mikroborucuqların Quruluşu və Dinamikasının Tənzimlənməsi

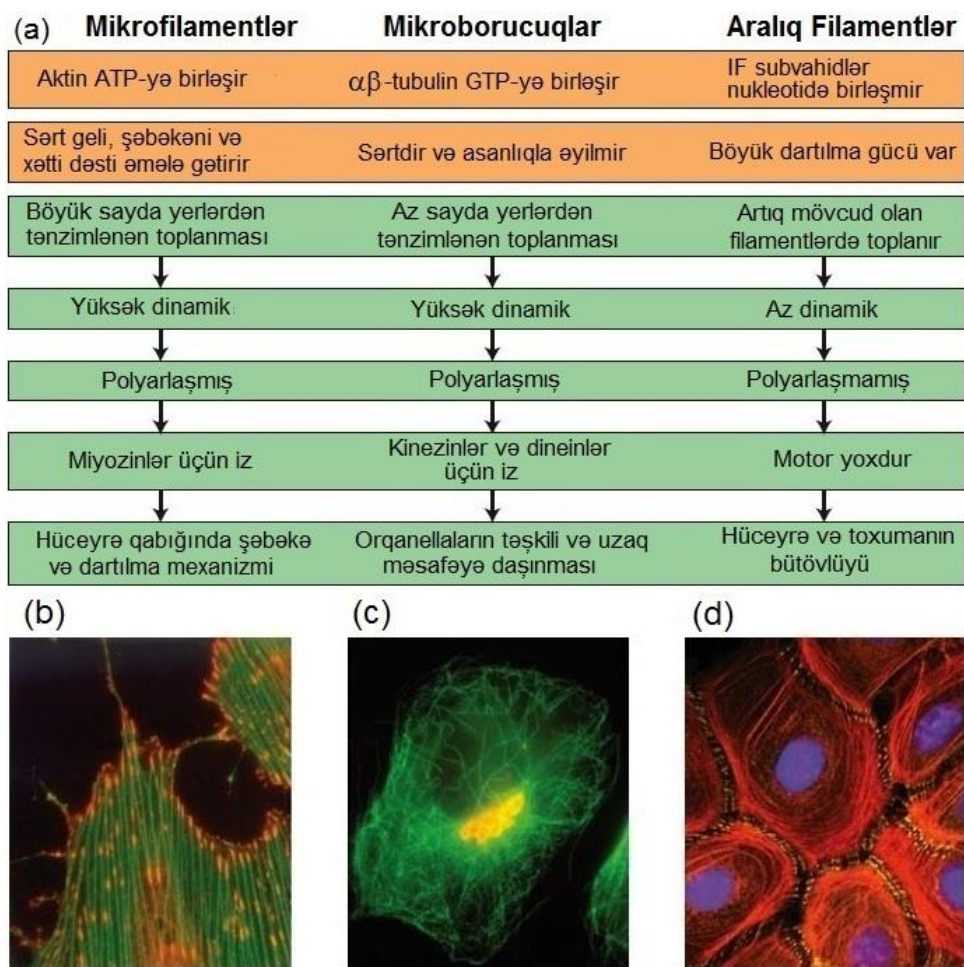
18.4 Kinezinlər və Dineinlər: Mikroborucuq-Əsaslı Motor Zülallar

18.5 Kirpiklər və Qamçılar: Mikroborucuq-Əsaslı Səth Quruluşlar

18.6 Mitoz

18.7 Aralıq Filamentlər

18.8 Sitoskelet Elementləri Arasında Koordinasiya və Kooperasiya



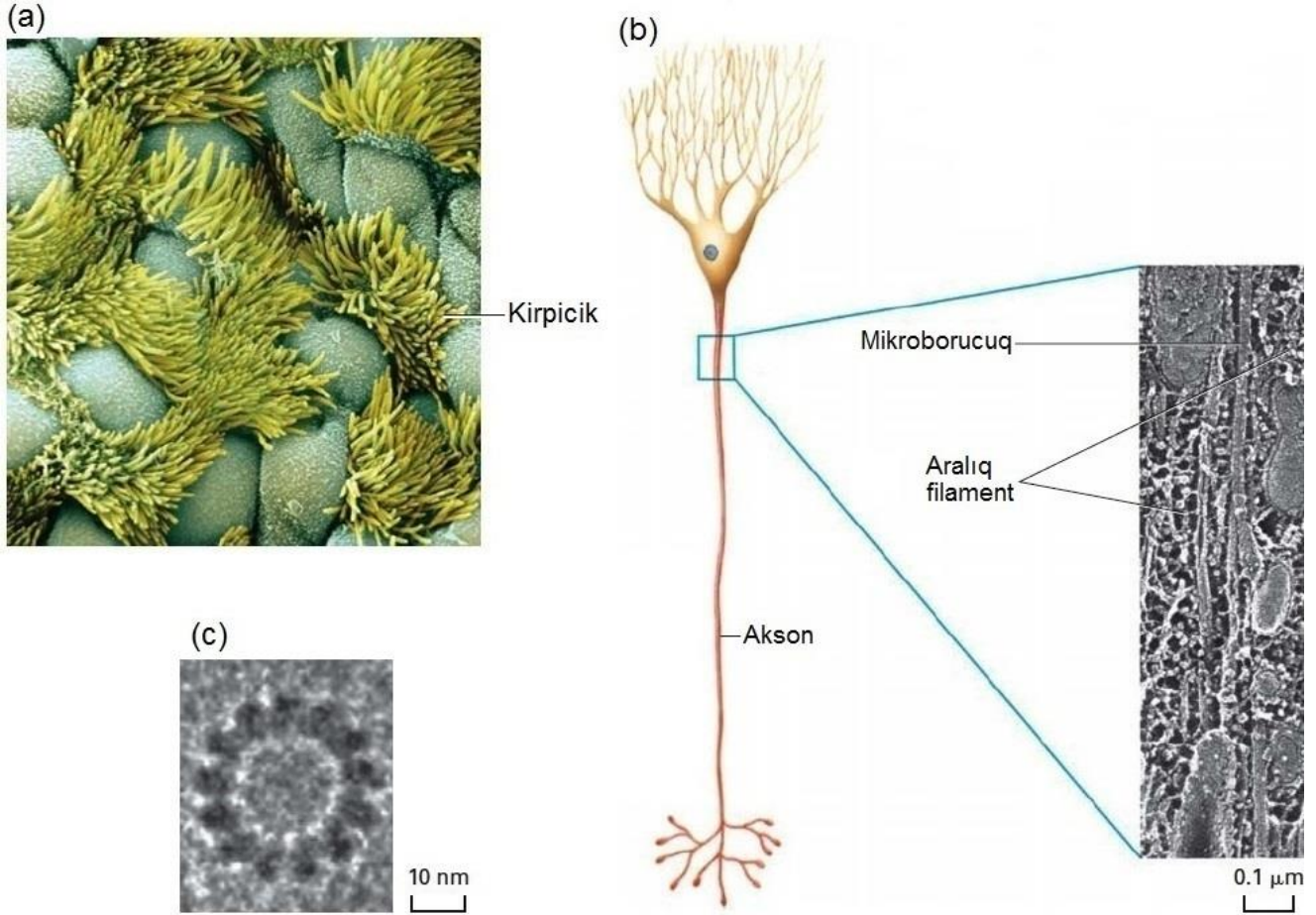
ŞƏKİL 18-1 Heyvan hüceyrələrində üç filament sistemlərinin fiziki xassəsi və fəaliyyətinin ümumi icmalı. (a) Hər bir filament tipi üçün biokimyəvi və biofiziki xassələr (narıncı) və bioloji xassələri (yaşıl) göstərilir. Mikrofotolar (b-d) xüsusi hüceyrə kontekstində hər bir filament tipinin nümunəsini göstərir, amma qeyd etmək lazımdır ki, mikroborucuqlar başqa quruluşları da yaradırlar, həmçinin qeyd edək ki, aralıq filamentlər nüvənin daxili səthini təşkil edir. (b) Aktinə görə (yaşıl) rənglənmiş kultura olunan hüceyrələr və aktinin substrata yapışması üçün saytlar (narıncı). (c) Mikroborucuqların (yaşıl) və Qolci kompleksinin (sarı) lokalizasiyası. Makromolekullarla yanalşı daşınmaqla orada toplanmış Qolci kompleksinin mərkəzi lokalizasiyasına diqqət yetirin. (d) Aralıq filament tipi olan sitokeratinlərin (qırmızı) lokalizasiyası və epitelial hüceyrələrdə desmosomların komponenti (sarı). Fərdi hüceyrələrin sitokeratinləri desmosomlar vasitəsi ilə biri digərinə qoşulmuşdur (yapılmışdır). [(b) hissəsi nəzakətlə Keith Burridge-dən. (c) hissəsi nəzakətlə William J. Brown, Kornel Universiteti. (d) hissəsi nəzakətlə Elaine Fuchs-dən.]

Bu fəsil beş əsas mövzunu əhatə edir. Birinci, biz mikroborucuqların quruluşunu və dinamikasını və onların motor zülallarını müzakirə edirik. İkinci, biz kirpiciklərin və qamçıların hərəkətində mikroborucuqların və onların motorlarının köməyini öyrənirik. Üçüncü, biz ikiləşmiş xromosomları dəqiqliklə ayıran molekulyar maşın olan mitoz şpindelində mikroborucuqların rolunu müzakirə edirik. Dördüncü, biz hüceyrə nüvəsinin quruluşunu təmin edən və eləcə də hüceyrələrin və toxumaların möhkəmliyinin təşkilini təmin edən müxtəlif sinifə aid olan aralıq filamentlərin rolunu tədqiq edirik. Hərçənd ki, biz mikroborucuqlara, mikrofilamentlərə və aralıq filamentlərə fədrə baxırıq, bu üç filament sistemlər bir-birindən asılı olmadan (sərbəst) fəaliyyət göstərmirlər, və biz bu fəsilin son bölməsində belə qarşılıqlı-asılılığın bir sıra nümunələrinə baxırıq.

18.1 Mikroborucuqların Quruluşu və Təşkili

Elektron mikroskopunun yarandığının ilk günlərində, hüceyrə bioloqları sitoplazmada uzun borucuqları aşkar etdilər və onları

mikroborucuqlar adlandırdılar. Aşkar edildi ki, morfoloji cəhətdən oxşar olan mikroborucuqlar aksonların komponentləri kimi və kirpiciklərdəki və qamçılardakı quruluş elementləri kimi mitoz şpindelindəki lifləri əmələ gətirilər (Şəkil 18-2a, b). Müxtəlif mənbələrdən vahid bir mikroborucuğun eninə kəsiyinin diqqətlə yoxlanılması göstərdi ki, onlar hamısı, indi *protofilamentlər* adlanan 13 uzununa təkrarlanan vahiddən ibarətdir (Şəkil 18-2c), bu da göstərir ki, belə müxtəlif mikroborucuqlar ümumi quruluşa malikdirlər. Sonralar göstərilmişdir ki, beyindən təmizlənmiş mikroborucuqlar əsas zülallardan, tubulindən və onlarla assosiasiyada olan mikroborucuq-assosiasiyalı zülallardan (MAP) ibarətdirlər. Təmizlənmiş tubulin təklidə əlverişli mühitdə mikroborucuqlarda yığıla bilirlər və bu göstərir ki, tubulin mikroborucuq divarlarının quruluş komponentləridir. MAP-lar həmçinin mikroborucuqların fəaliyyətinə və yığılması dinamikasının həyata keçirilməsinə də kömək edir. Bu bölmədə biz mikroborucuqların 18.2 və 18.3 Bölmələrində dinamikasının və tənzimlənməsinin ətraflı müzakirəsinə başlamazdan öncə onların əsas quruluşuna və təşkilinə baxacağıq.



ŞƏKİL 18-2 Mikroborucuqlar çox müxtəlif yerlərdə tapılmışlar və onların hamısı oxşar quruluşa malikdirlər. (a) Dovşanın yumurtalığını daxildən örtən kirpikli epitelinin səthinin skan edən elektron mikroskopu ilə görünüşü. Hər biri qabıq mikroborucuqlarına malik olan kirpiciklərin döyünməsi, yumurtanı yumurtalıqla aşağıya (firladaraq) hərəkət etdirir. (b) Sürətlə dondurulmuş və dərin iz açılmış qurbağa aksonunda mikroborucuqlar və aralıq filamentlər transmissiyalı elektron mikroskopu ilə vizuallaşdırılmışdır. (c) Tək bir

mikroborucuğun yüksək böyüdülmüş görünüşü protofilamentlər kimi məlum olan 13 təkrarlanan vahidləri göstərir. [(a) hissəsi NIBSC/Science Source. (b) hissəsi 1982 N. Hirokawa et al., *The Journal of Cell Biology*, **94**:129–142. doi: 10.1083/jcb.94.1.129. (c) hissəsi Sosa, H. and Chretien D., “Relationship between moire patterns, tubulin shape, and microtubule polarity,” *CYTOSKELETON*, Vol. 40, Issue 1, pages 38-43 © 1998 Wiley.]

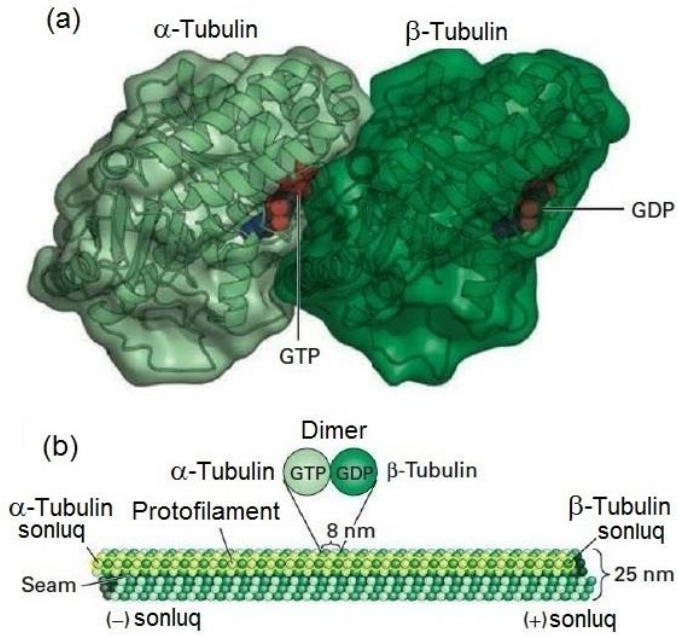
Mikroborucuq Divarları α -Tubulin Dimerlərdən İbarət olan Polyarlaşmış Quruluşdur

Təmiz və həllolan formada ayrılmış tubulin iki bir-birinə çox oxşar olan subvahiddən, α - və β -tubulin adlanan subvahidlərdən təşkil olunmuşdur və hər birinin molekulyar çəkisi təxminən 55000 Da-dur. Genom analizi aşkar etdi ki, həm α - həm də β -tubulini kodlaşdıran genlər bütün eukariotlarda mövcuddur və çoxhüceyrəli orqanizmlərdə bu genlərin sayı əhəmiyyətli dərəcədə genişlənmişdir. Məsələn, tumurcuqlayan mayada α -tubulini kodlaşdıran iki gen və β -tubulin kodlaşdıran bir gen olduğu halda torpaq nematodu *Caenorhabditis elegans*-də doqquz gen α -tubulini kodlaşdırır və altı gen β -tubulini kodlaşdırır. Bizim tezliklə görəyimiz kimi, bütün eukariotlarda α - və β -tubulindən başqa mikroborucuqların toplanmasında iştirak edən üçüncü tubulin γ -tubulin də vardır. Həmçinin aşkar edilmişdir ki, tubulinlərin əlavə izoforması yalnız orqanizmlərdə mövcuddur ki, onlar sentriollar və bazal cismlər adlanan hüceyrə quruluşuna malikdirlər və bu göstərir ki, tubulin izoformaları bu quruluşlar üçün böyük əhəmiyyət

kəsb edir. Bu fəsilə bizim öyrənəcəyimiz kimi, sentriollar və bazal cismlər xüsusi quruluşlardır, bəzi orqanizmlər bunları mikroborucuq toplanmasının nukleasiyasında və qurulmasında istifadə edirlər.

Tubulin dimerin α - və β -subvahidlərinin hər biri bir molekulyar GTP-ni birləşdirə bilir (Şəkil 18-3a). α -tubulin subvahidində GTP heç zaman hidroliz olunmur və α - və β -subvahidlər arasındakı interfeyslə tərəfindən tutulur. Əksinə, β -subvahidində GTP-birləşdirən sayt dimerin səthində yerləşir. β -subvahidə birləşmiş GTP hidroliz oluna bilir və nəticədə əmələ gələn GDP GTP ilə dəyişilə bilir. Müvafiq şərait altında həll olan tubulin dimerlər mikroborucuqlarda yığıla bilir (Şəkil 18-3b). Fəsil 17-dən gördüyümüz kimi, aktinin polimerləşməsi üçün ATP-G-aktin daha böyük üstünlüklə mikroborucuğun bir ucuna, toplanmaq üçün daha əlverişli olduğundan (+) sonluq kimi qeyd edilən ucuna əlavə edilir. Bizim irəlində görəyimiz kimi, GTP hidroliz olunanda tubulin filamentə birləşir (inkorporasiya olunur), amma aktin filamentlərdə ATP

hidrolizinin əksinə burada GTP hidrolizi mikroborucuqların (+) sonluğunun davranışına böyük (dramatik) təsir göstərir.



ŞƏKİL 18-3 Tubulin dimerlərinin quruluşu və mikroborucuqlarda yığılması. (a) Tubulin dimerinin lent diaqramı. α -tubulin monomerinə birləşmiş GTP mübadilə olunmayı, amma β -tubulin monomerinə birləşmiş GDP sərbəst GTP ilə mübadilə olunandır. (b) Tubulin subvahidlərin mikroborucuqlarda təşkili. Dimerlər, yan-yana yerləşərək mikroborucuq divarını əmələ gətirən protofilamentlərdə uc-uca düzülür. Protofilamentlər yüngülcə ləngər vurduğundan (əyildiyindən), yalnız α -subvahidin β -subvahidlə əlaqədə olduğu bənd yeri istisna olmaqla bir protofilamentdəki α -tubulin qonşu protofilamentdəki α -tubulinlə əlaqədə olur. Mikroborucuq quruluş qütblili (polyarlığı) belə nümayiş etdirir ki, subvahidlər β -tubulin monomerin açıq qaldığı sonluqda daha üstünlüklə əlavə edirlər. Mikroborucuğun bu ucu (+) sonluq kimi məlumdur. [(a) hissəsindəki verilənlər E. Nogales et al., 1998, *Nature* 391:199, PDB 1D1tub-dən.]

Mikroborucuq, xarici diametri 25 nm olan borucuğu əmələ gətirən 13 lateral assosiasiya etmiş protofilamentlərdən təşkil olunmuşdur (bax Şəkil 18-3b). 13 protofilamentin hər biri $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərinin əmələ gətirdiyi sıra olub uzununa elə düzülüşlər ki, subvahidlər protofilament boyunca aşağıya doğru növbələşirlər və hər bir subvahid tipi hər 8 nm-dən bir təkrarlanır. Protofilamentdə $\alpha\beta$ -tubulin dimerlər eyni cürə yönəldiyindən hər bir protofilamentin bir ucunda α subvahidi

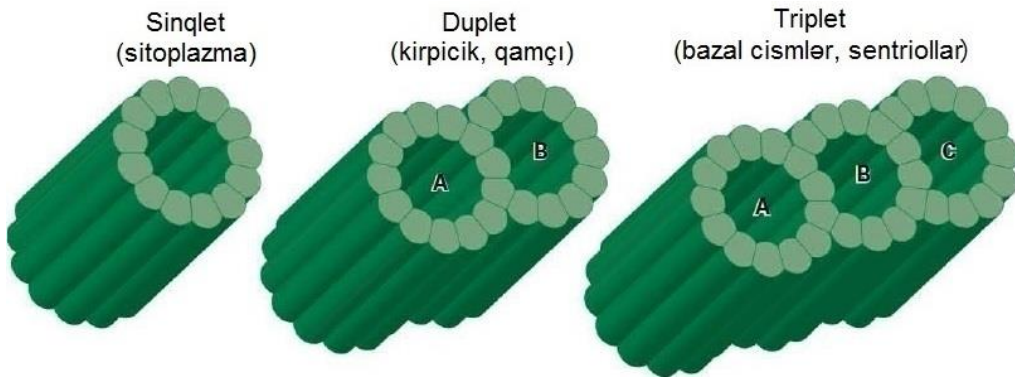
digər ucunda isə β subvahidi olur, beləliklə protofilamentlər daxili polyarlığa malik olurlar. Mikroborucuqlarda, lateral birləşmiş protofilamentlər eyni polyarlığa malikdirlər, beləliklə mikroborucuqlar da həmçinin ümumi polyarlığa malikdirlər. Açıq qalmış β -subvahidi olan uc (+) sonluqdur, açıq qalmış α -subvahidi olan uc isə (-) sonluqdur. Mikroborucuqlarda, yaxındakı protofilamentlərdə heterodimerlər yüngülcə ləngər vurur, mikroborucuq divarlarında α və β tubulin monomerlərin əyilmiş sıralarını əmələ gətirir. Əgər β subvahidlərin sırası ilə davam etsəniz, məsələn, mikroborucuq ətrafında spiral kimi tam bir dövrə vursanız, siz dövrəni protofilamentin üç subvahidi yuxarıda α -subvahidlə qurtaracaqsınız. Beləliklə bütün mikroborucuqların uzununa tək bir *tikişi* (*seam*) var, burada bir protofilamentdəki α -subvahid yaxındakı protofilamentin β -subvahidi ilə qarşılaşır.

Hüceyrədəki mikroborucuqların əksəriyyəti sadə borudan, 13 protofilamentdən qurulmuş *sinqlet* mikroborucuqdan təşkil olunmuşdur. Seyrək hallarda, sinqlet mikroborucuqlar nisbətən çox və ya az protofilamentlərdən ibarət olurlar, məsələn nematod qurdların neyronlarında müəyyən mikroborucuqlar 11 və ya 15 protofilamentə malik olur. Bundan başqa, sadə sinqlet quruluş, duplet və ya triplet mikroborucuqlar kirpik və qamçılar (duplet mikroborucuqlar), sentriollar və bazal cismlər (triplet mikroborucuqlar) kimi xüsusi quruluşlarda tapılmışlar, bu quruluşları biz bu fəsildə sonra müzakirə edəcəyik. Hər bir duplet və ya triplet bir tam 13-protofilamentli mikroborucuğa (A borucuq adlanır) və hər biri 10 protofilamentdən təşkil olunmuş bir və ya iki əlavə borucuğa (B və C boruları) malik olur (Şəkil 18-4).

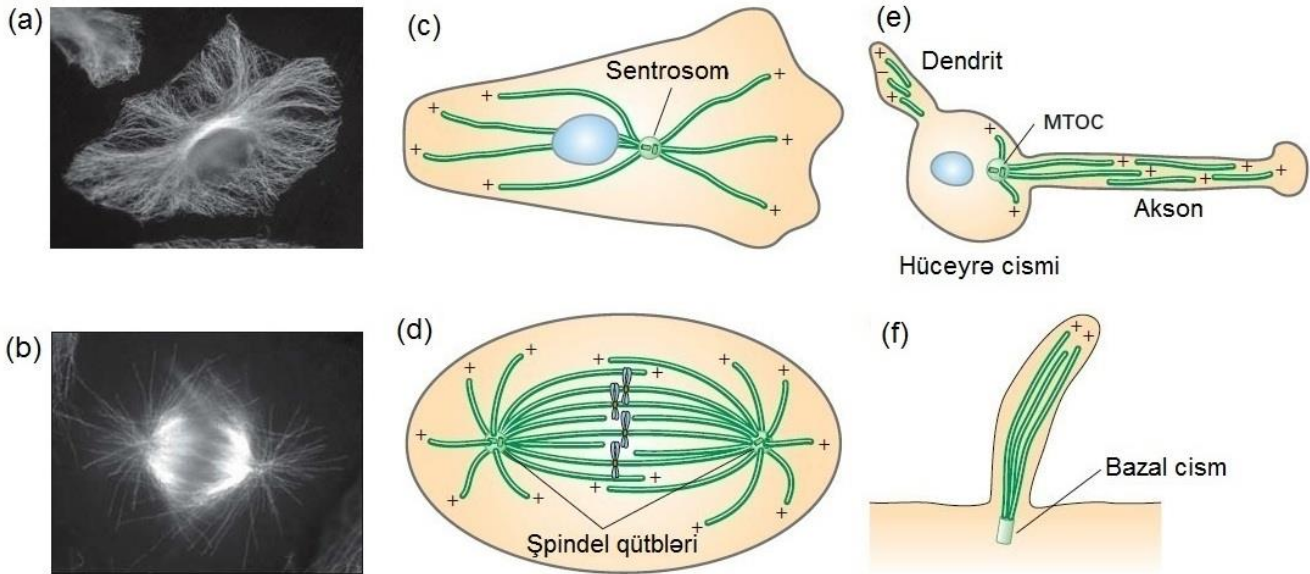
Mikroborucuqlar Müxtəlif Konfiqurasiyaları Yaratmaq Üçün MTOC-dan Toplanırlar

Tubulin mikroborucuqlarının əsas quruluş komponenti kimi identifikasiya olunduqdan sonra, tubulin anticismləri yaradıla və mikroborycyqların hüceyrədə yerinin təyin edilməsində istifadə oluna bilər (Şəkil 18-5 a, b). Bu yanaşma elektron mikroskopiya ilə birlikdə göstərdi ki, hüceyrədə mikroborucuqlar spesifik saylardan toplanaraq çoxsaylı müxtəlif konfiqurasiyaları yaradırlar.

Mikroborucuq toplanmasının nukleasiya fazası energetik cəhətdən elə əlverişsiz reaksiyadır ki, spontan nukleasiya in vivo mikroborucuq toplanmasında əhəmiyyətli rol oynamır. Daha doğrusu, bütün mikroborucuqlar **mikroborucuq-təşkil edən mərkəzlər** (**microtubule-organizing centers - MTOC**) kimi məlum olan quruluşdan nukleasiya olunur. Çox hallarda, mikroborucuğun (-) sonluğu MTOC daxilində lövbər vəziyyətində olur, halbuki (+) sonluq ondan kənara uzanır.



ŞƏKİL 18-4 Singlet, duplet və triplet mikroborucuqlar. Eninə kəsikdə tipik singlet mikroborucuq 13 protofilamentlərdən ibarət olan sadə bir borucuqdur. Duplet mikroborucuqda 10 protofilamentdən ibarət olan əlavə ikinci borucuq (B) birinci borucuğun (A) divarından istifadə edərək yaranır. Əlavə 10 protofilamentin (B) borucuğa qoşulması (C) borucuğu əmələ gətirir, bu triplet quruluşdur.



ŞƏKİL 18-5 Mikroborucuqlar mikroborucuq təşkil dən mərkəzlərdən (MTOC) toplanırlar. (a-b) Tubulinə spesifik anticismlərdən istifadə etməklə immunofluoressensiya mikroskopiyasından görüldüyü kimi, kultura olunan hüceyrələrdə mikroborucuqların paylanması interfaza hüceyrələrində (a) və mitozda olan hüceyrələrdə (b). (c) İnterfaza hüceyrələrində MTOC sentrosom

adlanır (nüvə mavi ovalla göstərilmişdir). (e) Neyronlarda mikroborucuqlar həm aksonlarda həm də dendritlərdə bazal cismlər kimi məlum olan MTOC-dan toplanırlar. Mikroborucuqların polyarlığı (+) və (-) ilə işarələnir. [(a) hissəsi nəzakətlə Anthony Bretscher-dən. (b) hissəsi nəzakətlə Trosten Wittman-dan.]

MTOC-ların bir neçə tipi mövcuddur. **Sentrosom** heyvan hüceyrələrində əsas MTOC-dur. İnterfaza gedişində sentrosom əsasən nüvə yaxınlığında yerləşir, (+) sonluqları ilə hüceyrə periferiyası istiqamətində yayıl mikroborucuqların massivini (array) yaradırlar (Şəkil 18-5c). Belə radial düzülüş, ifrazat və endositoz yollarını təşkil edən membrana-birləşmiş kompartimentləri təşkil edib daşımaq üçün mikroborucuq-əsaslı motor zülalları üçün yolu təmin edir. Mitoz gedişində hüceyrələr ikilənmiş xromosom nüsxələrini dəqiqliklə seqrepsiya edən, *şpindel qütbləri* adlanan, iki sentrosomdan uzanan bipolyar şpindel yaratmaq üçün öz mikroborucuqlarını yenidən qururlar (Şəkil 18-5d). Başqa bir nümunədə neyronlar, aksonlar adlanan uzunmüddətli proseslərə malikdirlər və bunlar üzərində orqanoidlər mikroborucuqlar boyu hər iki istiqamətdə daşınırlar

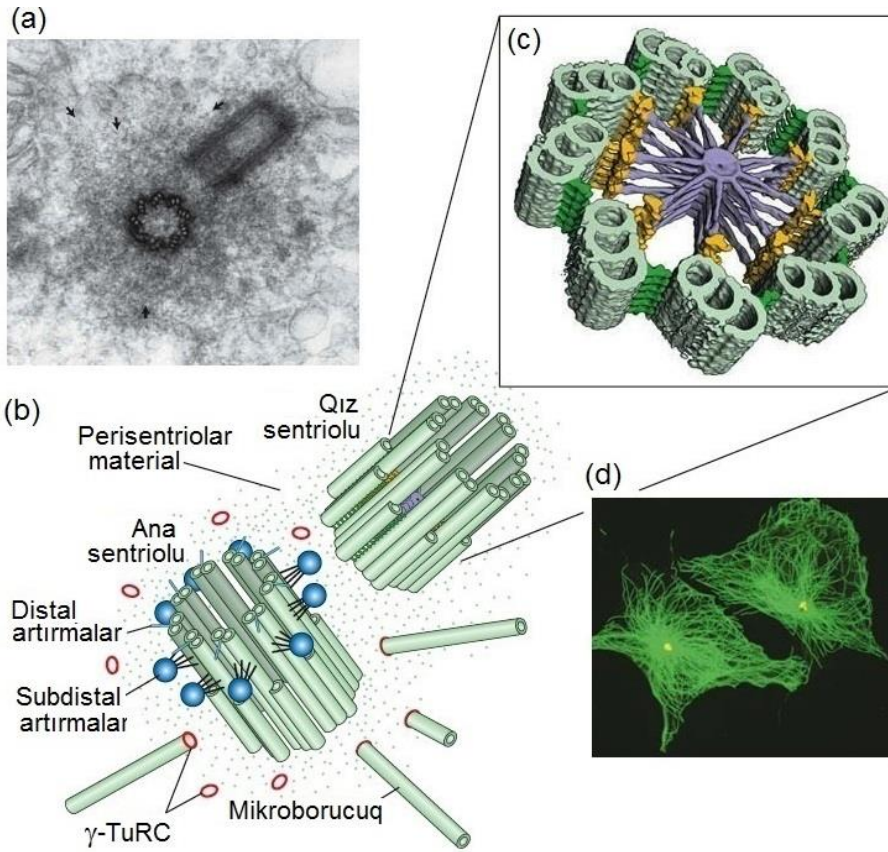
(Şəkil 18-5e). Aksonlarda 1 m qədər uzunluqda ola bilən mikroborucuqlar fasiləsiz (davam edən) deyillər və MTOC-dən sərbəst buraxılırlar, amma buna baxmayaraq onların hamısı eyni polyarlığa malik olurlar. Daha qısa proseslərdə olan dendritlər adlanan mikroborucuqlarda qarışıq polyarlıq olur, hərçənd ki, bu fərqliliyin funksional əhəmiyyəti məlum deyil. Kirpiciyədə və qamçılarda (Şəkil 18-5f) mikroborucuqlar *bazal cismlər* adlanan MTOC-dan toplanırlar. Bizim sonra qeyd edəcəyimiz kimi, bitkilərdə sentrosomlar və bazal cismlər yoxdur, amma başqa mexanizmlərdən istifadə edərək mikroborucuqların toplanmasını nukleasiya edirlər. Elektron mikroskopiyaya göstərir ki, hər bir sentrosom heyvan hüceyrələrində, yəqin ki, perisentriol material adlanan amorf materialla əhatə olunan bir cüt ortoqonal düzlənmiş silindirik sentriollardan təşkil olunmuşdur (Şəkil 18-

6a). 0.5 μm uzunluqda və 0.2 μm diametrdə olan sentriollar yüksək dərəcədə təşkil olunmuş və stabil quruluşlardır, triplet mikroborucuqların doqquz dəstindən təşkil olunmuşlar (Şəkil 18-6b). Onlar quruluşuna görə kirpiciklərin və qamçıların bazında (əsasında) tapılmış bazal cismlərə çox yaxındırlar. Sitoplazmatik mikroborucuq massivini nukleasiya edən sentriollar özləri deyillər, əksinə perisentriol materiallardakı faktorlardır. Kritik komponent perisentriol materialda yerləşən və bir sıra başqa zülallarla assosiasiyada olan γ -tubulinin çoxsaylı nüsxələrindən ibarət olan γ -tubulin halqası kompleksidir (γ -tubulin ring complex - γ TuRC) (Şəkil 18-6c və Şəkil 18-7). Guman olunur ki, γ -TuRC yeni mikroborucuğun əmələ gəlməsi üçün $\alpha\beta$ -tubulin dimerinə birləşmə prosesində kəsilmiş-şayba templeyti kimi yəliyyət göstərir, bu zaman (-) sonluq γ -TuRC ilə assosiasiyada olur və (+) sonluq daha sonrakı yığılma üçün sərbəst qalır. Mikroborucuqların yığılmasının nukleasiyasından əlavə sentrosomlar mikroborucuqların orada

yerləşmiş (-) sonluquna lövbər edərək onun dinamikasını tənzimləyirlər.

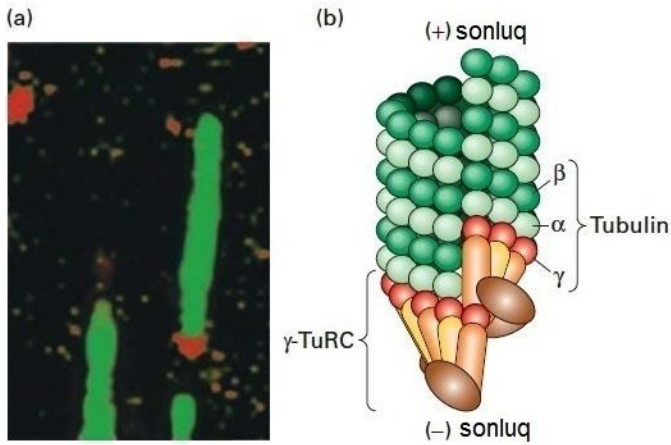
Sentriollardakı quruluşa bənzər quruluşa malik olan bazal cismlər, kirpicik və qamçıların əsasında tapılmış MTOC-lardır. Onların triplet mikroborucuqlarının A və B boruları, kirpicik və qamçının özək (əsas) quruluşunu təşkil dən mikroborucuqların yığılması üçün templeyti təmin edir.

Son zamanların işləri heyvan hüceyrələrində mikroborucuqların nukleasiyası üçün γ TuRC-nin də daxil olduğu əlavə mexanizmi aşkar etdi. *Auqumin kompleks* adlanan, səkkiz polipeptiddən təşkil olunmuş zülal kompleksi mövcud mikroborucuqlara yandan birləşə bilər, sonra γ TuRC-ni səfərbər edə və yeni mikroborucuğun toplanmasını nukleasiya edə bilər. Sonrakı bölmədə bizim müzakirə etdiyimiz kimi, auqumin kompleks mitoz şpindelində mikroborucuq toplanmasına kömək edir.



ŞƏKİL 18-6 Sentrosomların quruluşu. (a)

Heyvan hüceyrə sentrosomunun nazik kəsiyi, perisentriol material ilə əhatə olunmuş (oxlar), bir-birinə qarşı düzbucaq altında olan iki sentriolu göstərir. (b) Sentrosomun diaqramı ana və qız sentriolları göstərir, hər biri γ -TuRC nukleasiya edən quruluşa malik olan perisentriol materiala batmış (yüklənmiş) doqquz bir-biri ilə əlaqəli triplet mikroborucuqdan təşkil olunmuşdur. Ana sentriol distal əlavələrin (mavi kürələr) olmasına görə qız sentrioldan fərqlidir. (c) *Chlamidomonas* yosunun qız sentriolunun kəsiyinin tomoqrafik təsviri. Ehtimal olunur ki, qız sentriol sonralar atılan, doqquz qat simmetrik quruluş əsasında yaranmış araba təkəri şəkilindədir. (d) Sentrosomal zülalın (sarı) anticismindən istifadə edilən immunofluoresensiya mikrofotusu kultura olunan heyvan hüceyrələrində mikroborucuq massivini (yaşıl) və MTOC-un yerləşməsini göstərir. [(a) hissəsi Macmillan Publishers Ltd razılığı ilə: G. Sluder, "Two-way traffic: centrosomes and the cell cycle," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005, 6:743-748-dən yenidən çap olunmuşdur. (c) hissəsi Guichard et al. 2013, *Curr. Biol.* 23:1620, EMD-2329 and EMD-2330-dən. (d) hissəsi nəzakətlə Ryoko Kuriyama tərəfindən.]



ŞƏKİL 18-7 Mikroborucuğun yığılmasını nukleasiya edən γ -tubulin halqası kompleksi (γ -TuRC). (a) Mikroborucuqların in vitro yığılmasının yaşıl nişanlanmış və γ -TuRC komponentlərin qırmızı nişanlanmış, immunofluoresensiya mikrofotosu göstərir ki, o spesifik olaraq mikroborucuqların bir ucunda yerləşir. (b) γ -TuRC (-) sonluğa uyğun olan templeyti əmələ gətirməklə mikroborucuq yığılmasının nukleasiya edilməsi modeli. [Part (a) hissəsi razılıqla Macmillan Publishers Ltd: Keating, T.J. and Borisy, G.G., “Immunostuctural evidence for the template mechanism of microtubule nucleation,” *Nature Cell Biology*, 2:352, copyright 2000-dən yenidən çap olunmuşdur.]

18.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mikroborucuqların Quruluşu və Təşkili

- Tubulin mikroborucuqların əsas quruluş elementidir (bax Şəkil 18-3). Mikroborucuq-əssosasiyalı zülallar (MAPs) tubulinlə əssosasiya edir və mikroborucuqların yığılmasının, dinamikasının və fəaliyyətinin həyata keçməsinə kömək edir.
- Sərbəst tubulin dimer kimi mövcud olur, α -subvahid tutduğu hidroliz oluna bilməyən GTP-yə malikdir, β -subvahid isə mübadilə oluna bilən və hidroliz olunan GTP ilə birləşir
- $\alpha\beta$ -Tubulin mikroborucuqlarda toplanır, bunların hər biri 13 lateral birləşmiş protofilamentlərdən təşkil olunur, hər bir protofilamentin (-) sonluğunda α -subvahid, (+) sonluğunda isə β -subvahid açıq qalır.
- Kirpiciklərdə və qamçılarda, eləcə də sentriollarda və bazal cismlərdə duplet və ya triplet mikroborucuqlar mövcud olur, bu əlavə mikroborucuqlar 10 protofilamentə malik olurlar (bax Şəkil 18-4).
- Bütün mikroborucuqlar mikroborucuq-təşkil edən mərkəzlərdən (MTOCs) nukleasiya olunurlar və çoxları öz (-) sonluğu ilə orada lövbər etmiş şəkildə qalır. Beləliklə, MTOC-dan uzaqda olan uc həmişə (+) sonluq olur.
- Sentrosom, heyvan interfaza hüceyrələrində mikroborucuqların radial massivini nukleasiya edən MTOC-dur. İki sentrosom və ya şpindl qütbləri heyvan hüceyrələrində mitoz şpindelinin mikroborucuqlarını

nukleasiya edən MTOC-dur. Bazal cismlərdə, kirpiciklərdə və qamçılarda mikroborucuqları yığan MTOC-lardır (bax Şəkil 18-5).

- Sentrosomlar iki sentrioldan və onları əhatə edən, γ -TuRC mikroborucuq-nukleasiya edən kompleksə malik olan perisentriolar materialardan təşkil olunublar (bax Şəkil 18-6 və 18-7).

18.2 Mikroborucuqların Dinamikası

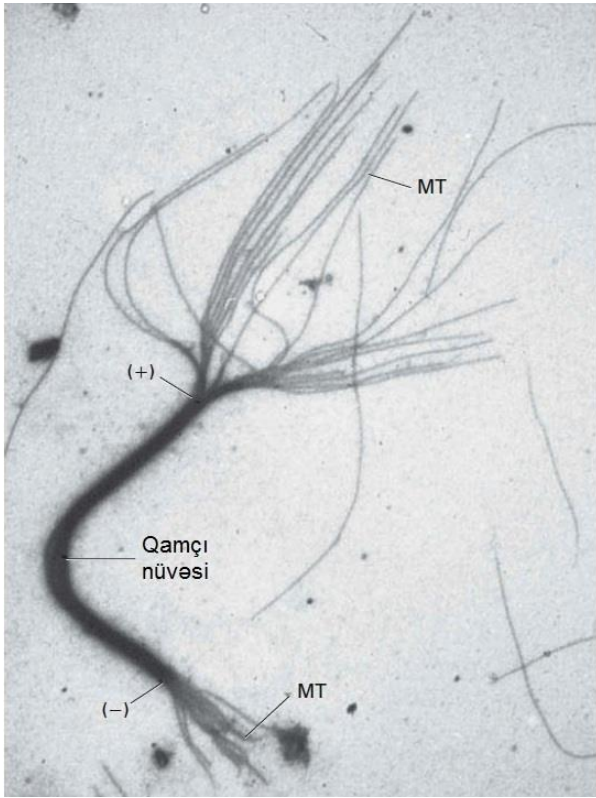
Mikroborucuqlar dinamik quruluşlardır və uclarından sürətlə yığıla və dağıla bilirlər. Onların ömrü çox fərqli ola bilər, orta hesabla mitozda olan hüceyrələrdə 1 dəqiqədən az və heyvan hüceyrələrinin interfazasında radial massivi əmələ gətirən mikroborucuqlarda təxminən 5-10 dəqiqə qədər ola bilər. Mikroborucuqların ömrü aksonlarda uzun olur ən uzun ömürlü isə kirpiciklərdə və qamçılarda olur. Bu fərqlərin necə baş verdiyini görmək üçün gəlin mikroborucuqların dinamik xassələrini və bu xassələrin hüceyrənin təşkilinə verdiyi töhfəsini müzakirə edək.

Fərdi Mikroborucuqlar Dinamik Qeyri Stabillik Numayiş Etdirirlər

Aparılmış erkən eksperimentlər aşkar etdi ki, heyvan hüceyrələrində əksər mikroborucuqlar hüceyrəni 4 °C qədər soyutduqda dağılır və yenidən 37 °C qızdırdıqda yenidən toplanırlar. Tədqiqatçılar başa düşdülər ki, mikroborucuqların bu daxili xassəsi onların komponentlərini təmizləmək üçün istifadə edilə bilər. Beyin toxuması mikroborucuqlarla zəngin olduğundan donuz beyninin həll olan ekstraktı 4 °C-də hazırlandı, şəffaflaşmış bu ekstraktlar sonra mikroborucuqların toplanmasını indksiya etmək üçün 37 °C-yə qədər qızdırıldı. Yığılmış mikroborucular sentrifugalama yolu ilə çöküntüyə toplandı, supernatantdan ayrıldı və sonra da yenidən 4 °C bufer əlavə etməklə dağıdıldı. Kolleksiyanı qızdırmaqla yenidən toplamaq (assemble) və soyutmaqla dağıtmanın yeni tsiklindən sonra tədqiqatçılar, $\alpha\beta$ -tubulinin və **mikroborucuq-əssosasiyalı zülalların (MAP)** ümumi adlandırılması olan **mikroborucuq zülalını (microtubular protein)** aşkar etdilər. Sonra onlar fraksiyaların davranışını ayrılıqda öyrənmək üçün mikroborucuq zülallarını təmiz $\alpha\beta$ -tubulin və MAP zülal fraksiyalarına ayıra bildilər. Tədqiqatçılar tapdılar ki, $\alpha\beta$ -tubulinin mikroborucuqlara polimerləşməsi MAP iştirakı ilə güclü şəkildə kataliz olunur. onun ümumi aktualığı olundu.

Baxmayaraq ki, çox böyük miqdarda tədqiqat cəhdləri məhlulda mikroborucuq zülallarının kütləvi polimerləşmə xassəsinin xarakterizə olunmasına həsr edilmişdir, onun ümumi aktualığı ayrı-ayrı mikroborucuqların xüsusiyyətlərini araşdıran sonrakı tədqiqatlarla əvəz edilmişdir. Bunlara baxmayaraq, bu ilkin in vitro tədqiqatlardan öyrənilmiş bəzi dərslər (problemlər) mikroborucuq biologiyası üçün əhəmiyyət kəsb edir. Birincisi, yığılmanın baş verməsi üçün $\alpha\beta$ -tubulinin qatılığı **kritik qatılıqdan (C_c)** yuxarı olmalıdır, məhz bizim aktin polimerləşməsində gördüyümüz kimi (bax Şəkil 17-8). İkincisi, $\alpha\beta$ -tubulinin qatılıqları C_c -dən yuxarı olanda dimerlər mikroborucuğun bir ucuna digərinə nisbətən daha sürətlə əlavə

edilir (Şəkil 18-8). F-aktin yığılmasında olduğu kimi, yığılamaq üçün üstün olan uc, açıq qalmış β -tubulin olan sonluq (+) sonluq kimi işarələnir. (-) sonluqda isə açıq qalmış α -tubulin olur (bax Şəkil 18-3b).

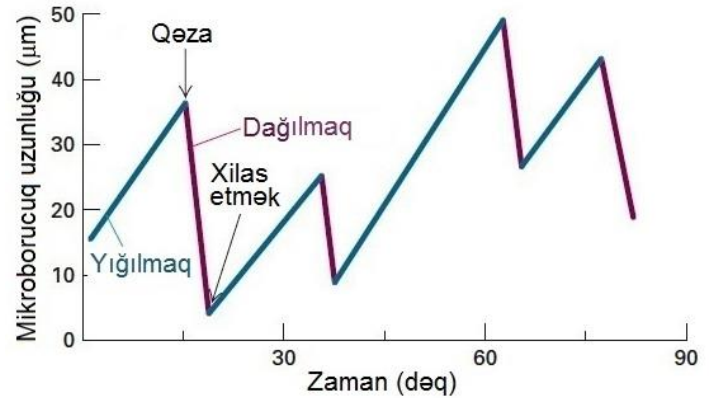


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-8 Mikroborucuqlar (+) sonluqdan daha üstünlüklə uzanırlar. Qamçıdan mikroborucuq bağının fraqmenti $\alpha\beta$ -tubulinin in vitro əlavə edilməsi üçün mərkə kimi istifadə edildi. Nukleasiya edən qamçı fraqmenti, bu elektron mikrofotosundan görüldüyü kimi, qalın bağıdır və uclarından yeni formalaşmış mikroborucuqlar radial çıxırlar. Mikroborucuqların bir ucunda, (+) ucunda böyük uzunluğun olması göstərir ki, tubulin subvahidləri bu sonluğa daha böyük üstünlüklə əlavə edilir. [Nəzakətlə Gary G. Borisy-dən.]

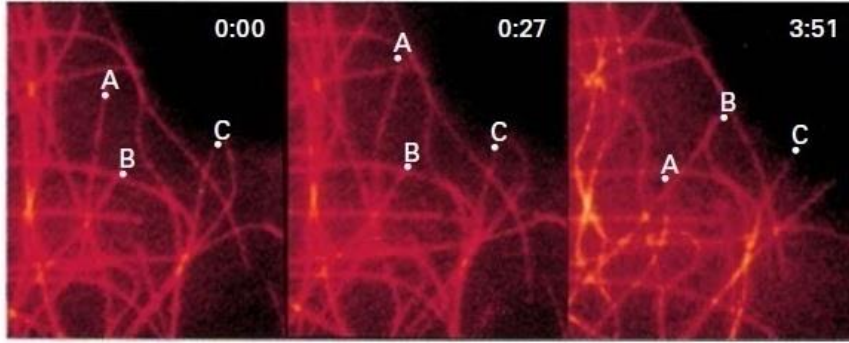
Mikroborucuq toplanmasının kütləvi xassəsini öyrənərkən belə hesab etmək olar ki, bütün mikroborucuqlar özlərini eyni aparacaq. Amma, tədqiqatçılar populyasiya daxilində fərdi mikroborucuğun davranışını yoxladıqda aşkar etdilər ki, bu baş vermir. Fərdi mikroborucuqların davranışı çox sadə bir eksperimentlə yoxlanılmışdır: mikroborucuqlar in vitro toplanmış və sonra individual uzunluqları mikroskop altında analiz oluna bilən qısa parçalara ayırmaq üçün doğranmışdır. Bu şərait altında, belə gözləmək olar ki, bütün qısa mikroborucuqlar sərbəst tubulinin qatılığından asılı olaraq ya uzanırlar ya da qısalır. Amma, tədqiqatçılar aşkar etdilər ki, bəzi mikroborucuqlar uzunluğuna görə böyüyür, bəziləri isə sürətlə qısalır, bununla mikroborucuqların iki populyasiyasının mövcud olduğunu göstərdilər. Sonrakı tədqiqatlar göstərdi ki, fərdi

mikroborucuqlar böyüyə bilir və sonra birdən *fəlakətə* (*katastrofa*) məruz qalır: mikroborucuqların sürətli depolimerləşməyə getməli olduğu dövrdə qısalma mərhələsinə kəskin keçid baş verir. Bundan başqa, bəzən depolimerləşən mikroborucuq ucu *xilas etmə* yolu keçərək böyüməyə başlayır (Şəkil 18-9). Hərçənd ki, bu fenomen ilk dəfə in vitro görünmüşdür, canlı hüceyrəyə mikroinyeksiya edilmiş fluorescent nişanlanmış tubulin göstərdi ki, mikroborucuqlar hüceyrələrdə də böyümə və qısalma dövrünə uğrayırlar (Şəkil 18-10). Böyümə və qısalma vəziyyətlərinin belə növbələşməsi *dinamik qeyristabillik* kimi məlumdur. Beləliklə mikroborucuqların ucunun dinamik həyatı böyümə sürəti, fəlakətin tezliyi, depolimerləşmə sürəti və xilas etmələrin tezliyi ilə müəyyən olunur. Bizim sonra görəcəyimiz kimi, mikroborucuq dinamikasının bu xüsusiyyəti in vivo tənzimlənir. Mikroborucuqların (-) sonluğu heyvan hüceyrələrində əsasən MTOC-lara birləşdiyindən bu dinamizm daha çox mikroborucuğun (+) sonluğuna aiddir.

Dinamik qeyristabilliyin molekulyar əsası nədir? Əgər, uzunayan və qısalan mikroborucuqların uclarına elektron mikroskopunda diqqətlə baxsanız, siz görəcəksiniz ki, onlar kifayət qədər fərqlidirlər. Böyüyən mikroborucuqların küt ucu var, halbuki depolimerləşən ucun qoç buynuzuna oxşar sıçraması var (Şəkil 18-11). Faktiki olaraq böyüyən mikroborucuq ucu sadəcə olaraq küt uc deyildir, əksinə o, tubulin dimerləriniun protofilament uclarına əlavə edilməsi ilə yaranmış qısa və ehmalca əyilmiş təbəqə-şəkilli quruluşdur, bu da sonra düz protofilamentlərlə silindirik mikroborucuqları əmələ gətirmək üçün tikiş boyunca yuvarlanırlar.



ŞƏKİL 18-9 Mikroborucuqların in vitro dinamik qeyristabilliyi. Fərdi mikroborucuqlar işıq mikroskopu ilə müşahidə edilə bilər və onların uzunluğu yığılma zamanı müxtəlif dövrlərdə plotlaşdırıla bilər. Yığılma və dağılma hər biri eyni dərəcədə davam edə bilər, amma, xətlərin enişindən görüldüyü kimi, yığılmanın sürəti ilə dağılmanın sürəti arasında böyük fərq vardır. Mikroborucuqların qısalması (7 $\mu\text{m}/\text{dəqiqə}$) uzanmasına (1 $\mu\text{m}/\text{dəqiqə}$) nisbətən daha kəskin sürətlə gedir. Sıxılma mərhələsinə (fəlakət) və uzanma (xilas etmə) mərhələsinə kəskin keçidə diqqət yetirin. [Verilənlər P. M. Bayley, K. K. Sharma, və S. R. Martin, 1994, in *Microtubules*, Wiley-Liss, p. 118-dən.]

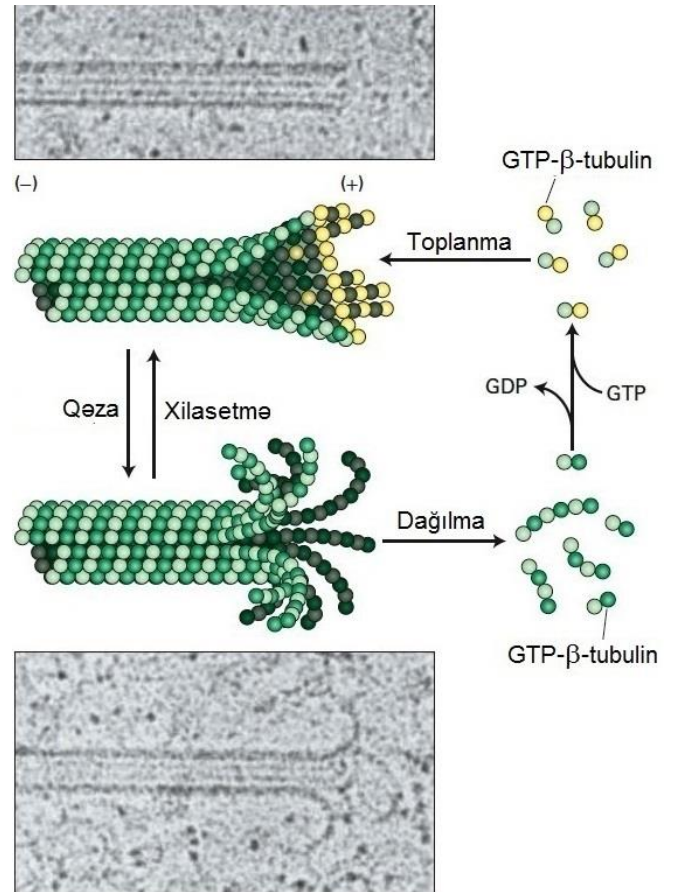


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-10 Fluoresensiya mikroskopiyasi fərdi mikroborucuqların *in vivo* böyüməsini və qısalmasını aşkar edir. Fluoresent nişanlanmış tubulin insanın kultura olunan fibroblastına inyeksiya olunur. Mövcud olan mikroborucuqları tubulin dimerlərə depolimerləşdirmək üçün hüceyrələr soyuduldu, sonra yenidən onların polimerləşməsi üçün hüceyrələr 37 °C-də inkubasiya olundu, bu zaman fluoesent nişanlanmış tubulin hüceyrə daxilində hüceyrə mikroborucuqlarına inkorporasiya olunur. Hüceyrə periferiyası

rayonu 0 saniyə, 27 saniyə sonra, 3 dəqiqə 51 saniyə sonra (*soldan sağa panel*) fluoesensiya mikroskopunda baxılmışdır. Bu dövr ərzində bir sıra mikroborucuğun elonqasiya etdiyi və qısaldığı görünür. A, B və C kimi nişanlanmış nöqtələr üç mikroborucuğun uclarının mövqeyini göstərir. [Macmillan Publishers: razılığı ilə P.J. Sammak and G. Borisy, "Direct observation of microtubule dynamics in living cells," *Nature*, 1998, **332**:724-726 yenidən çap olunmuşdur.]

Sadə quruluş fərqi, bu iki müxtəlif sinif mikroborucuq (+) uclarının morfolojiyasını əks etdirir. Yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, $\alpha\beta$ -tubulin dimerinin β -subvahidi hər bir protofilamentin (+) sonluğunda açıq vəziyyətdə qalır. Tədqiqatçılar GDP analoqundan istifadə edərək tapdılar ki, lateral qarşılıqlı əlaqəyə məruz qalmamış, süni düzəldilmiş *tək* protofilamentlər, qoç buynuzu kimi əyilmiş (burulmuş) GDP- β -tubulinə malik olan təkrarlanan $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərini əmələ gətirirlər. Amma, β -tubulinin GTP analoqa birləşdiyi $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərindən hazırlanmış süni düzəldilmiş *tək* protofilamentlər yalnız zəif burulmuşdur. Mikroborucuqların toplanma sonluğu belə zəif burulmuş yeni yaranan protofilamentlərə malik olur, uzunayan uclara xarakterik olan yüngülcə burulmuş təbəqələrin və *tək* protofilamentlərin yaranmasına səbəb olur (bax Şəkil 18-11). GTP- β -tubulinə malik olan yüngülcə burulmuş protofilamentlər sonra, mikroborucuq daxilində düz protofilamentləri əmələ gətirmək üçün lateral qarşılıqlı əlaqələrlə bağlanır. Əksinə, burulmuş ucları olan qısalan mikroborucuqlar GDP- β -tubulində qurtarır. Ona görə də, əgər terminal β -tubulindəki GTP molekulları böyüməni dayandırmış mikroborucuqlarda hidroliz olunursa əvvəllər küt-uclu olan mikroborucuq burulacaq və fəlakət baş verəcək. Bu əlaqələr Şəkil 18-11-də ümumiləşdirilmişdir.

Bu nəticələr əlavə və cəlbedici əhəmiyyətə malikdir, amma bunu anlamaq üçün biz böyüyən mikroborucuğu daha ətraflı nəzərdən keçirməliyik. Böyüyən mikroborucuqda protofilamentin (+) sonluğuna dimerin əlavə edilməsi artıq mövcud olan terminal β -subvahidlə yeni əlavə edilmiş α -subvahid arasında əlaqənin yaranmasına səbəb olur. Bu qarşılıqlı əlaqə əvvəlki terminal- β -subvahiddə GTP-nin GDP-yə və P_i hidrolizini gücləndirir. Sonra, bütün uzunluğu boyu GDP- β -tubulinin çoxluq təşkil etdiyi mikroborucuqların əldə olunması üçün qeyri üzvi fosfat buraxılır. Amma, yeni əlavə edilmiş dimerdəki β -tubulin GTP-yə malik olur. Beləliklə, böyüyən mikroborucuqda hər bir protofilament uzunluğu boyu əsasən GDP- β -tubulinə malik olur və bir-neçə terminal GTP- β -tubulinə və GDP- P_i - β -tubulinə malik olan dimerlə qapaq kimi qapanır.



ŞƏKİL 18-11 Dinamik qeyristabillik GTP- β -tubulin qapağın mövcud olub olmamasından asılıdır. Böyüyən mikroborucuğun (*yuxarıda*) və qısalan mikroborucuqların (*aşağıda*) dondurulmuş nümunəsinin elektron mikroskopu ilə çəkilmiş təsviri. Qeyd edək ki, böyüyən mikroborucuğun ucu küt sonluğa malik olduğu halda, qısalan mikroborucuğun ucu qoç buynuzu kimi burulur. Diaqramda göstərilirdiyi kimi, hər bir protofilamentinin ucunda GTP- β -tubulinə olan mikroborucuq böyüməyə güclü meyillidir. Amma, protofilamentlərinin uclarında GDP- β -tubulin olan mikroborucuq burulmuş quruluşu əmələ gətirir və sürətlə dağılmaya məruz qalır.

Böyüyən və qısalan fazalar arasında, xilasetmələr və fəlakətlər adlanan keçidlər baş verə bilər və keçmə sürəti assosiasiyada olan zülallarla tənzimlənir. A. Desai and T.J. Mitchison, 1997, Ann. Rev. Cell Dev. Bi. 13:83-117-ə bax. [Fotolar, 1991 Mandelkow, E-M et al., *The Journal of Cell Biology*, **114**:977-991. Doi: 10.1083/jcb.114.5.977.]

Bizim yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, GDP- β -tubulinə malik olan *ayırılmış* protofilament öz uzunluğu boyu burulur, belə olan halda nəyə görə o mikroborucuqlarda mövcud olanda qırılıb ayrılır və ya soyulub atılır? GTP- β -tubulin qapaqdakı lateral protofilament-protofilament əlaqələri kifayət qədər möhkəmdir və mikroborucuqların onları öz ucundan qoparıb ayırmasına imkan vermir, beləliklə GTP- β -tubulin qapağın arxasındakı protofilamentlər çıxarılıb ayrılmaqdan məhrumdurlar (bax Şəkil 18-11). Qapaq arxasında subvahidlərdəki GTP hidrolizindən ayrılan enerji GTP- β -tubulin qapaq itirildikdə sərbəst buraxılmasını gözləyən quruluş gərginliyi kimi şəbəkə daxilində saxlanılır. Əgər GTP- β -tubulin qapaq itirsə saxlanılan enerji, dağılan mikroborucuq ucuna qoşulmuş xromosom kimi bəzi quruluşlarda iş görə bilər. Bizim görəcəyimiz kimi, bu saxlanılan enerji, mitozun anafaza mərhələsində xromosomların hərəkətinə kömək edir.

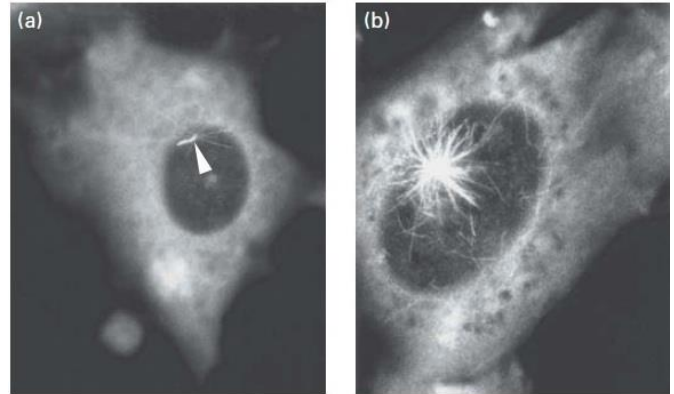
Dağılmaqda olan mikroborucuqlar yenidən böyümək üçün birdən-birə necə xilas ola bilər? Bu bir təccüblü problemin mümkün olan cavabı son zamanlar verilmişdir. GDP- β -tubulin deyil yalnız GTP- β -tubulin taniyan anticislərdən istifadə etməklə tədqiqatçılar aşkar etdi ki, GTP- β -tubulin "adacıqlar" yığılmış mikroborucuqların uzunluğu boyu davam edə bilər. Görünür ki, mikroborucuqların dağılması bu GTP- β -tubulin adacıqlardan biri ilə qarşılaşdıqda dağılma fasilə verir və bu xilasetmənin başlamasına səbəb ola bilər.

Lokallaşdırılmış Yığılma və "Axtar və Tut" Mikroborucuqların Təşkil Olunmasına Kömək Edir

Biz indi, mikroborucuq təşkilinə və (+) sonluq dinamikasına aid olan iki əsas konsepsiyayı təqdim etdik: mikroborucuqlar MTOC kimi məlum olan lokallaşmış saytlardan yığılırlar və fərdi mikroborucuqlar dinamik qeyri stabilliyə uğrayırlar. Bu iki proses birlikdə mikroborucuqların hüceyrədə paylanmasına kömək edirlər.

"Kulturada interfaza hüceyrə böyüməsində mikroborucuqlar sentrosomlardan konstant şəkildə nucleasiya edirlər və kənara yayılırlar, nizamsız şəkildə sitoplazmatik məkanı "axtarırlar". Fəlakətlərin və xilasetmələrin tezliyi böyümə və qısalma sürəti ilə birlikdə hər bir mikroborucuğun uzunluğunu təyin edir: əgər mikroborucuq yüksək fəlakət tezliyinə və aşağı xilasetmə tezliyinə düçar olursa, o geriye sentrosoma doğru qısalacaq və yox olacaq, əksinə əgər aşağı fəlakət tezliyinə və yüksək xilasetməyə malik olacaqsa, o böyüməkdə davam edəcək. Əgər mikroborucuğun axtarışı hüceyrə quruluşunda və ya orqanoiddə müvafiq hədəfə rast gəlsə, mikroborucuğun ucu bu quruluşa birləşə bilər. Orqanoid və ya hüceyrə-quruluşunun mikroborucuqlarla "tutulması" onun (+) ucunu stabilləşdirə bilər və onu fəlakətlərdən mühafizə edir, halbuki birləşməmiş mikroborucular böyük dağılma tezliyə malikdir. Beləliklə, mikroborucuğun (+) sonluğunun dinamikası

mikroborucuğun həyat dövrünün və funksiyasının çox əhəmiyyətli determinantıdır. Hüceyrədə "Axtar və Tut" mikroborucuqların ümumi təşkilini təyin edən mexanizmin bir hissəsidir. Bundan başqa, nukleasiya sürətini və ya lokal mikroborucuq dinamikasını və tutma saytlarını dəyişməklə hüceyrə öz ümumi mikroborucuq paylanmasını sürətlə dəyişə bilər. Biz sonra görəcəyik ki, bu hüceyrənin mitozda daxil olduğu zaman baş verir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-12 Mikroborucuqlar MTOC-dan inkişaf edirlər. Mikroborucuqların in vivo yığılmasını tədqiq etmək üçün kultura olunan fibroblastlara sitoplazmatik mikroborucuqlar tam dağılana qədər kolxisinlə təsir edildi. Sonra hüceyrələr tubulin anticismi ilə boyandı və immunofluoresensiya mikroskopiyası ilə vizuallaşdırıldı (a). Sonra mikroborucuqların yenidən yığılmasına imkan vermək üçün kolxisin yuyularaq atıldı. Panel (b) yenidən yığılmanın birinci mərhələsini göstərir, nüvədən yuxarı mərkəzi rayonda mikroborucuqların MTOC-dən böyüməsini aşkar edir (qaranlıq sahələr). Qeyd edək ki, (a) panelində qalan, sentrosomla assosiasiyada olan ilkin kirpik (ox başlığı, 18.5 Bölmədə müzakirə olunur) bu şəraitdə kolxisinlə işlənilməklə depolimerizə olunmamışdır. Sitoplazmada polimerləşməmiş $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərinin fluoresensiyasını diqqət edin. [1991 Mandelkow, E-M et al., *The Journal of Cell Biology*, **114**:977-991. doi: 10.1083/jcb.114.5.977.]

Tubulin Polimerləşməsinə Təsir Edən Dərmanlar Eksperimentlərdə və Xəsrəliklərin Müalicəsində Faydalıdır



Tubulinlərin konservativ təbiəti və onların mitoz kimi kritik proseslərdə vacib iştirakı onları polimerləşməyə və depolimerləşməyə təsir edən həm təbii formada meydana gələn dərmanların həm də sintetik dərmanların əsas hədəfi edir. Tarixən ilk belə dərman, tubulin dimerlərinə birləşərək onların mikroborucuqlarda polimerləşməsinə mane olan, çəmənin zəfəranının ekstraktında mövcud olan kolxisin olmuşdur. Mikroborucuqların əksəriyyəti dimerlər və polimerlər arasında dinamik vəziyyətdə olduğundan, kolxisinin əlavə edilməsi sitoplazmada olan bütün sərbəst dimerləri müsadirə edir və təbii dövriyyəsi səbəbinə görə mikroborucuqların itirilməsinə səbəb olur. Kultura olunan hüceyrələrin kolxisinlə qısa müddətli işlənilməsi bütün sitoplazmatik mikroborucuqların depolimerləşməsinə səbəb olur, daha stabil olan tubulinə-malik olan sentrosomlar qalır (Şəkil 18-12a). Mikroborucuqların yenidən böyüməsi üçün kolxisin yuyularaq atılarda onların

sentrosomlardan böyüdüyünü görmək və yeni mikroborucuqların yığılmasının nucleasiya etmə qabliyyəti aşkar etmək olur (Şəkil 18-12b).

Kolxisin yüz illərlə oynaq ağırlarının kəsgin qrupunun aradan qaldırılmasında istifadə olunmuşdur, bu xəstəliyi aradan qaldırmaq üçün kolxisinlə müalicə olunan məşhur xəstə ingilis kralı Henri VIII olmuşdur. Kolxisinin aşağı səviyyəsi ağ qan hüceyrələrində mikroborucuqların dinamikasını azaltmaqla və onların iltihab olan sahələrə girməsini qeyri mümkün etməklə podoqra ilə əmələ gələn iltihabı aradan götürür. Kolxisindən başqa, bir sıra digər dərmanlar tubulin dimerə birləşir və onların polimer əmələ gətirməsini məhdudlaşdırır. Bu dərmanlara podofilotoksin (ardıcdan) və nokodazol (sintetik dərman) aiddirlər.

Qaraçöhrə ağacından ayrılmış bitki alkaloidi **taksol** mikroborucuqlara birləşir və onları depolimerləşməyə qarşı stabilizə edir. Taksol mitozu ingibirləşdirməklə hüceyrənin bölünməsinə dayandırdığından süd vəzisi və yumurtalıq kimi bəzi xərçənglərin müalicəsində istifadə olunur, bu hüceyrələr dərmana xüsusən həssas olurlar. ■

18.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSÜPSİYALARI

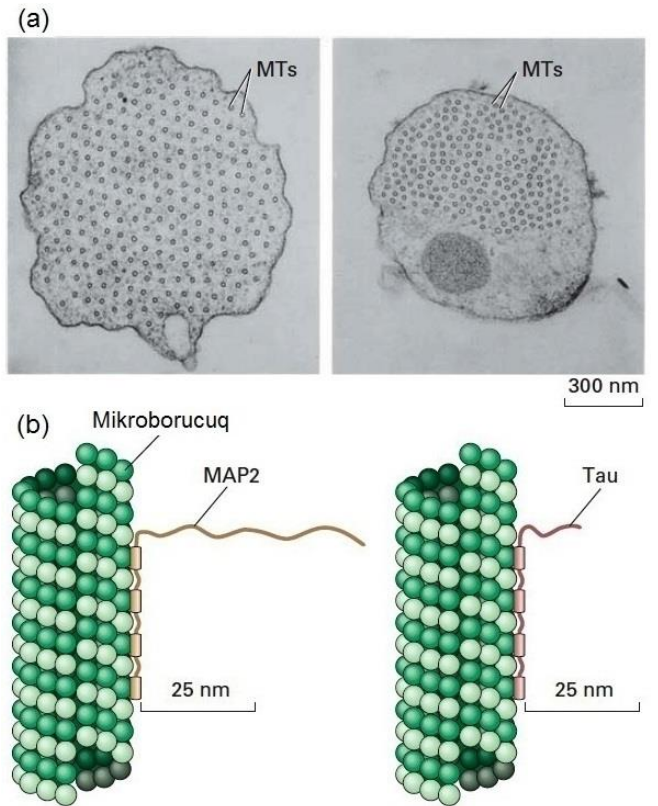
Mikroborucuqların Dinamikası

- Fərdi mikroborucuq (+) ucları dinamik qeyrisabitliyə məruz qala bilər, bu böyümənin və ya sürətli qısalmanın növbələşən dövrlərini göstərir (bax Şəkil 18-10).
- Mikroborucuqlarda β -tubulinin əksəriyyəti onlara birləşmiş GTP-yə malikdirlər. Böyüyən mikroborucuqlarda (+) sonluqlar GTP- β -tubulinə və GDP-Pi- β -tubulinə malik olan bir neçə dimerdən ibarət qapağa malikdir, kütdürlər və ya yüngülcə nizamsız buraxılmış vəziyyətdədirlər. Mikroborucuqların qısalması qapağı itirir, ucunda GDP- β -tubulinə malik olan protofilamentlərin kənarlaşdırılmasına və dağılmasına səbəb olur (bax Şəkil 18-11).
- Böyüyən mikroborucuqlar GTP hidrolizindən ayrılaraq enerjini mikroborucuq qəfəsində ehtiyat saxlayırlar, beləliklə onlar dağılarkən potensial iş görmə qabliyyətinə malik olurlar.
- Sentrosomlardan yığılmış və dinamik qeyri sabitlik nümayiş etdirən mikroborucuqlar sitoplazmanı müvafiq hədəfə malik olan quruluşlara və orqanoidlərə görə “axtara” bilirlər və onları “tuta” bilirlər, nəticədə mikroborucuqların (+) sonluğu sabitləşir. Bu yolla, “axtarmaq və tutmaq” birləşən yığılma hüceyrədə mikroborucuqların ümumi paylanmasında öz töhfəsini verə bilər.

18.3 Mikroborucuqların Quruluşu və Dinamikasının Tənzimlənməsi

Mikroborucuqların divarı $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərdən qurulmuşdur və yüksək təmizlənmiş $\alpha\beta$ -tubulin in vitro mikroborucuqlarda toplanacaq. Amma mikroborucuqların in vitro toplanması sabitləşdirici mikroborucuq-əsaslı zülallarla (MAP) güclü şəkildə artırıla bilər. Sabitləşdirici

MAP-lar mikroborucuqlarda tubulinlə qarşılıqlı əlaqədə olan yalnız bir sinif zülalları təmsil edir, MAP-ların başqa sinifləri mikroborucuqları destabilizə edir və ya onların böyümə xassəsini modifikasiya edirlər. Biz bu bölmədə müxtəlif sinif MAP-ları müzakirə edəcəyik. Mikroborucuq quruluşunun və dinamikasının tənzimlənməsi düzgün hüceyrə funksiyasının tənzimlənməsi üçün kritik əhəmiyyət kəsb edir. Bizim sonra görəcəyimiz kimi, mikroborucuqlar heyvan hüceyrələrində orqanoidlərin əsas təşkilatçılarıdır və onların stabilliyi və dinamikası istənilən verilmiş zaman daxilində hüceyrənin spesifik funksiyasına uyğunlaşır. Məsələn, mikroborucuqların dinamikası hüceyrə mitozu daxil olan kimi, ona mikroborucuqların yeni konfigurasiyanın, yəni mitoz şpindelinin yaradılmasına imkan yaratmaq üçün dramatik artır.



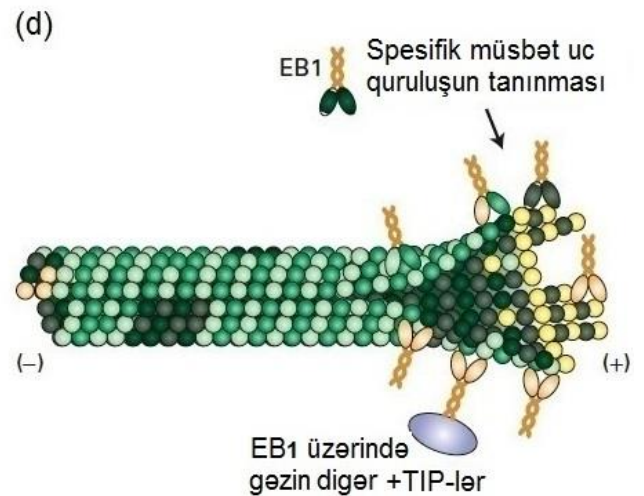
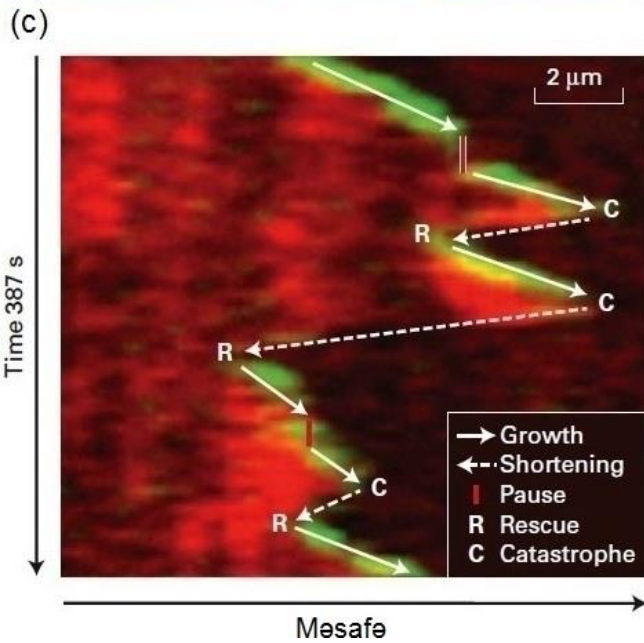
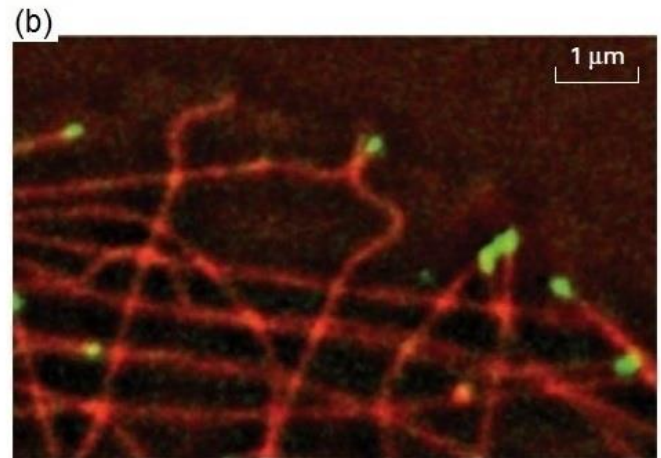
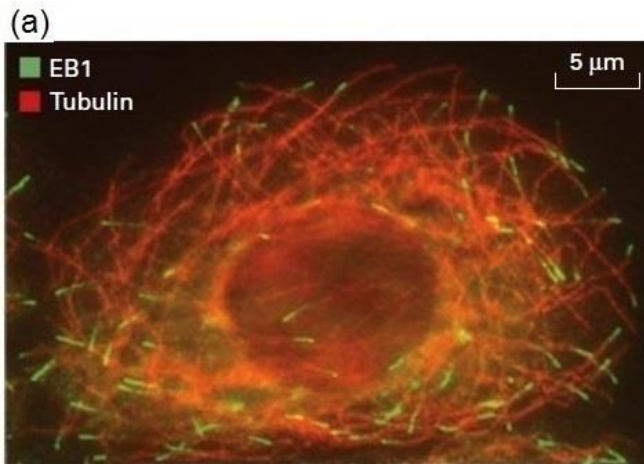
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-13 Mikroborucuqların yerləşmə məsafəsi mikroborucuq-əsaslı zülalları arasında. (a) Uzun qola malik olan MAP2-ni ekspressiya etmək üçün və ya qısa qola malik olan tau-nu ekspressiya etmək üçün transfeksiya olunan həşarat hüceyrələri uzun aksona-bənzər prosesləri inkişaf etdirirlər. Bu elektron mikrofotosu, transfeksiya olunan hüceyrələrdə MAP2 (*solda*) və tau-nun (*sağda*) ekspressiyası ilə induksiya olunan proseslərlə çarpaz kəsikləri göstərir. Qeyd edək ki, mikroborucuqlarla (MT) MAP2-saxlayan hüceyrələr arasında məsafə tau-saxlayan hüceyrələr arasındakı məsafəyə nisbətən daha çoxdur. Hər iki hüceyrə tipi təxminən eyni sayda mikroborucuğa malikdir, amma MAP2-nin təsiri aksona-bənzər proseslərin kalibrini böyütməkdir. (b) Mikroborucuqlar və MAP-lar arasında əsaslıyanın diaqramı. MAP2 və tau zülallarda uzanmış çıxan domenlərin uzunluqları arasında fərq qeyd edin. [(a) hissəsi Macmillan Publishers Ltd razılığı ilə yenidən çap olunmuşdur: J. Chen et al., “Projection domains of MAP2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons,” *Nature* 1992, **360**:6405, pp. 674-676.]

Mikroborucuqlar Yandan-Birləşən Zülallarla Sabitləşirlər

Bir neçə müxtəlif sinifi zülallar mikroborucuqları sabilləşdirirlər, bunlardan çoxu hüceyrə-tipi-spesifik ekspressiya göstərir. Ən yaxşı öyrənilmiş MAP-lar arasında **tau** ailəsinə aid olan zülalların nümayəndəsidir, bunlara tau özü və eləcə də MAP2 və MAP4 adlanan zülallar aiddir. Tau və MAP2 neyron zülallarıdır, halbuki MAP4 başqa hüceyrə tipləri tərəfindən ekspressiya olunur və əsasən neyronlarda mövcud olmur. Bu zülallar iki əsas domen ilə birlikdə modular dizayna malikdirlər. Birinci domen müsbət yüklənmiş 18-qalıqdan ibarət olan ardıcılıqdan təşkil olunub, üçdən dördə qədər təkrarlanır və mənfi yüklənmiş mikroborucuq səthinə birləşir. İkinci domen mikroborucuqdan sağ tərəfə xaricə uzanıb çıxır. Guman olunur ki, tau zülallar mikroborucuqları sabilləşdirir, həmçinin onlar arasında speyser kimi fəaliyyət göstərir. MAP2 yalnız dentritlərdə və neyronlarda tapılmışdır, o burada

mikroborucuqlar arasında lifli çarpaz-körpünü əmlə gətirir və mikroborucuqları aralıq filamentlələ əlaqələndirir. Başqa MAP-ların əksəriyyətindən çox kiçik olan tau həm aksonlarda həm də dentritlərdə mövcud olur. Bu spesifikliyin əsasında nəyin durduğu hələ də qaranlıqdır.

Mikroborucuğun xarici divarının MAP-ladan ibarət olan qabığı sabilləşəndə, onlar mikroborucuqların böyümə sürətini artırır və ya fəlakətin tezliyini azaldır. Çox hallarda, MAP-ların fəallığı onların uzanıb çıxan domeninin geriyyə dönən fosforlaşması ilə tənzimlənir. Fosforlaşmış MAP-lar mikroborucuqlara birləşmə qabiliyyətinə malik deyillər, beləliklə, fosforlaşma mikroborucuqların dağılmasını gücləndirir. Məsələn, mikroborucuq-affinliyini tənzimləyən kinaza (MARK/Par-1) tau zülalların əsas modulyatorudur. Bəzi MAP-lar, o cümlədən MAP4, hüceyrə tsiklinin gedişində zülalların fəallığına nəzəət edilməsində böyük rol oynayan tsiklindən-asilı olan kinaza (CDK) ilə də fosforlaşır (bax Fəsil 19).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-14 +TIP zülal EB1 dinamik olaraq mikroborucuqların (+) sonluğu ilə assosiasiya edir. (a)

Kultura olunan hüceyrə tubulinə olan anticismlə (qırmızı) və +TIP zülal EB1-ə olan anticismlə (yaşıl) rəngləyinir. Mikroborucuğun (+)

sonluq rayonu EB1 ilə zənginləşir. (b) EB3-GFP (yaşıl) və mCherry α -tubulini (qırmızı) ekspresiya edən canlı hüceyrənin kənarı. EB1-ə çox yaxın olan EB3 bəzi mikroborucuqların uclarında tapılmışdır. (c) Bu dırnaqarası kimoqraflardan görüldüyü kimi, EB3-GFP böyüyən mikroborucuqlarla selektiv assosiasiya edir. Bu şəkildə, canlı hüceyrədə bir mikroborucuğun (qırmızı) və EB3-ün (yaşıl) dinamikası, (b) hissəsində göstəriləndiyi kimi, filmin ardıcıl çərçivələrindən eyni rayonu götürərək yuxarıdan aşağıya düzlənilməsinə bənzəyir. Yuxarıda filmin başlanğıcını EB3-lə qapanmış mikroborucuqla görmək olur. Təsvirlə aşağıya doğru hərəkət etdikcə zamanın keçməsi ilə mikroborucuğun dinamikasını onun uzunaması və qısalması ilə izləmək olur.

+TIP-lər Mikroborucuq (+) Sonluğun Fəaliyyətlərini və Xassələrini Tənzimləyir

Yandan-birləşən MAP-lardan başqa, mikroborucuqların (+) sonluğu ilə assosiasiyada olan MAP-lar da identifikasiya olunmuşlar. Çox hallarda, onlar qısalan deyil yalnız uzunayan (+) sonluqla assosiasiya edirlər (Şəkil 18-14a, b). Bu sinifə aid olan MAP-lar müsbət-sonluğu izləyən zülallar üçün +TIP-lər kimi məlumdurlar. Baxmayaraq ki, TIP-lərin böyüyən mikroborucuqların (+) sonluğunu tanıması üçün müxtəlif mexanizmlər mövcuddur, ehtimal olunur ki, EB1 (sona birləşən-1 – end binding-1) adlanan əsas +TIP-in böyüyən mikroborucuğun (+) sonluğu ilə assosiasiyası böyüyən mikroborucuğun ucundakı GTP- β -tubulin və GDP-P_i- β -tubulinə malik olan qapaq ilə əlaqəsi vasitəsilə meydana gəlir (Şəkil 18-14c): EB1 GDP- β -tubulinlə olan yüksək burulmuş dağılan uca və ya mikroborucuq cismindəki mikrofilamentlərə deyil bu quruluşa daha böyük üstünlüklə birləşir. Əksər başqa +TIP-lər ya EB1-lə birləşərək, ya da (+) sonluqla birləşmək üçün EB1 tələb edərək (+) sonluqla assosiasiya edirlər və bir qayda olaraq buna EB1-də “avtostop” (“hitchhiking”) deyilir (Şəkil 18-14d).

Başqa +TIP-lər, mikroborucuq yığılmasını sürətləndirməklə və fəlakətləri supressiya etməklə mikroborucuq böyüməsini gücləndirə bilirlər. Məsələn, XMAP215 adlanan zülal dörd TOG adlanan domenə malikdir. Bu domenlər sərbəst $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərə və eləcə də mikroborucuqların böyüyən ucunda mikrofilamentlərin az əyilmiş rayonlarına birləşmək imkanlarına malikdirlər. Böyüyən uca birləşməklə və daha çox $\alpha\beta$ -tubulin dimerləri oraya gətirməklə XMAP215 mikroborucuq toplanmasını gücləndirmək üçün səmərəli şəkildə lokal $\alpha\beta$ -tubulin qatılığını artırır. Zülalların CLASP-lar adlanan başqa bir sinifi oxşar TOG domenlərə malikdirlər, amma toplanmanı gücləndirmirlər. Əvəzində onlar yumuşaq əyilmiş böyüyən uca birləşirlər və fəlakətləri supressiya edirlər

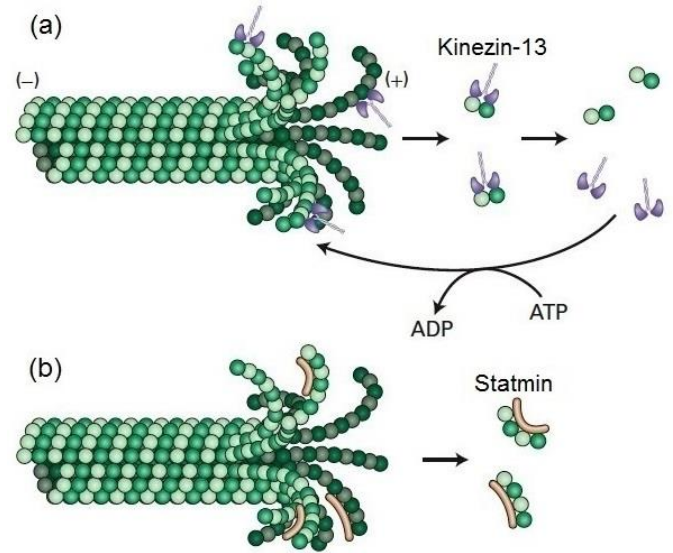
+TIP-lər mikroborucuq həyatında çox əhəmiyyətlidir, çünki onlar mikroborucuğun xassələrini bir neçə yolla modifikasiya edə bilirlər. Birincisi, EB1 və XMAP215 kimi zülallar, (+) sonluğun polimerləşməsini sürətləndirməklə mikroborucuq böyüməsini gücləndirirlər. İkincisi, CLASP-lar kimi digər +TIP-lər fəlakətlərin tezliyini azalda bilir, bununla da mikroborucuğun boyuməsini gücləndirirlər. Üçüncü sinif +TIP-lər mikroborucuqların (+) sonluğunu hüceyrədəki, hüceyrə qabığı, F-aktin və bizim mitozu müzakirə edərkən sonra görəcəyimiz xromosomlar kimi başqa quruluşlarla əlaqələndirir, bu dinamik sistemin əsas xüsusiyyəti odur ki, “axtaran” mikroborucuğun ucunda +TIP müvafiq hədəfə rast gələndə mikroborucuq “tutula” və stabilləşdirilə bilər. Amma digər TIP-

Mikroborucuq böyüdükcə, o EB3 ilə qapaqlı vəziyyətdə qalır. Mikroborucuğun böyüməsi fasilə verdikdə və ya mikroborucuq qısaldıqda, artıq EB3 sonluqla assosiasiyada olmur, amma böyümə başladıda o yenidən sonluqla assosiasiya girir (birləşir). Mikroborucuğun dinamikasının sxematik xülasəsi kimoqrafın üzərində yerləşir. (d) EB1-in böyüyən mikroborucuğa birləşməsinin mümkün olan mexanizmi və başqa zülallarla EB1 üzərində “hitchhiking”. [(a)–(c) hissələri nəzakətlə Dr. A. Akhmanova, Cell Biology, Utrecht University, The Netherlands, və Dr. M. Steinmetz, Biomolecular Research, Paul Scherrer Institut, Villigen PSI, Switzerland.]

lər mikroborucuqların (+) sonluğunu membranlarla əlaqələndirir, məsələn, endoplazmatik şəbəkədə transmembran zülal STIM əlaqələndirmə tubulyar (boruvari)-endoplazmatik şəbəkənin mikroborucuqlardan asılı olan uzunamasını gücləndirir.

Digər Sonluqla-Birləşən Zülallar Mikroborucuq Dağılmasını Tənzimləyir

Mikroborucuqların dağılmasını gücləndirən mexanizmlər də mövcuddur. Hərçənd ki, mikroborucuqların dinamikasının tənzimlənməsinin əksəriyyəti (+) sonluqla baş verir, amma mitoz kimi bəzi vəziyyətdə bu hər iki uca baş verə bilər.



ŞƏKİL 18-15 Mikroborucuqların uclarını destabilləşdirən zülallar. (a) Mikroborucuq ucunda zəngin olan kinezin-13 ailəsinin nümayəndəsi bu ucun dağılmasını gücləndirə bilər. [Hərçənd ki, göstərilən (+) sonluğun depolimerləşməsidir, kinezin-13 (-) sonluğu da depolimerləşdirə bilər.] Bu zülallar ATP-azalardır və ATP onları $\alpha\beta$ -tubulin dimerlərdən dissosiasiya etməklə onların fəallığını gücləndirir. (b) Op18/statmin burulmuş protofilamentlərə selektiv birləşir və onların mikroborucuq uclarından dissosiasiyasını gücləndirir. Bu zülalların fəallığı fosforlaşma ilə ingibirləşir.

Mikroborucuqların destabilləşməsi üçün müxtəlif mexanizmlər məlumdur. Bunlardan birinə kinezin-13 ailəsinin zülalları daxildir. Bizim 18.4 bölməsində görəcəyimiz kimi,

kinezinlərin əksəriyyəti molekulyar motorlardır, amma kinezin-13 zülallar kinezinlərin fərqli sinifidir, tubulin protofilamentlərin ucuna birləşərək onu GDP- β -tubulin konformasiyasına əyir. Onlar sonra terminal tubulin dimerlərinin uzaqlaşdırılmasına imkan yaradır və beləliklə fəlakətlərin tezliyini güclü surətdə artırır (Şəkil 18-15a). Terminal tubulin dimerlərini ardıcıl uzaqlaşdırmaq üçün ATP hidroliz etmək lazım olduğundan onlar katalitik fəaliyyət göstərirlər.

Op18/statmin kimi məlum olan başqa zülal da fəlakətlərin tezliyini artırır. O ilk dəfə bəzi xərcənglərdə yüksək dərəcədə ekspressiya olunan zülal kimi identifikasiya olunmuşdur və onun adının bir hissəsi də buradan götürülmüşdür (Onkoprotein-18). Op18/statmin GDP- β -tubulinə bənzər konformasiyada burulmuş vəziyyətdə olan iki tubulin dimerinə birləşən kiçik zülaldır, (Şəkil 18-15b). O, terminal tubulin dimerində GTP-nin hidrolizini gücləndirməklə və onun mikroborucuq ucundan dissosiasiya etməsinə kömək etməklə fəaliyyət göstərə bilər. Mikroborucuq uclarının tənzimləyicisindən gözlənilən bildiyi kimi, o çoxsaylı müxtəlif kinazlarla fosforlaşmaqla mənfi tənzimlənməyə məruz qalır. Faktiki olaraq, aşkar edilmişdir ki, Op18/statmin hərəkətli hüceyrənin aparıcı ucu yaxınlığında fosforlaşma ilə fəalsızlaşır (inaktivasiya olunur), bu da mikroborucuqların hüceyrənin önü istiqamətdə daha üstünlüklə böyüməsinə imkan yaradır.

18.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mikroborucuqların Quruluşu və Dinamikasının Tənzimlənməsi

- Mikroborucuqlar yandan birləşən mikroborucuq-assosiasiyalı zülallarla (MAP-lar) stabilləşə bilərlər (bax Şəkil 18-13).
- +TIP-lər adlandırılan bəzi MAP-lar mikroborucuğun böyüyən (+) sonluğuna selektiv birləşir və mikroborucuğun dinamik xassələrini dəyişə bilər və ya hüceyrə komponentlərini mikroborucuğun axtarış (+) ucuna qoşa bilər (bax Şəkil 18-14).
- Mikroborucuq sonluğu kinezin-13 ailəsi zülalları və ya Op18/statmin kimi bəzi zülallar vasitəsi ilə fəlakətin tezliyini artırmaqla stabilləşdirilə bilər (bax Şəkil 18-15).

18.4 Kinezinlər və Dineinlər: Mikroborucuq-Əsaslı Motor Zülallar

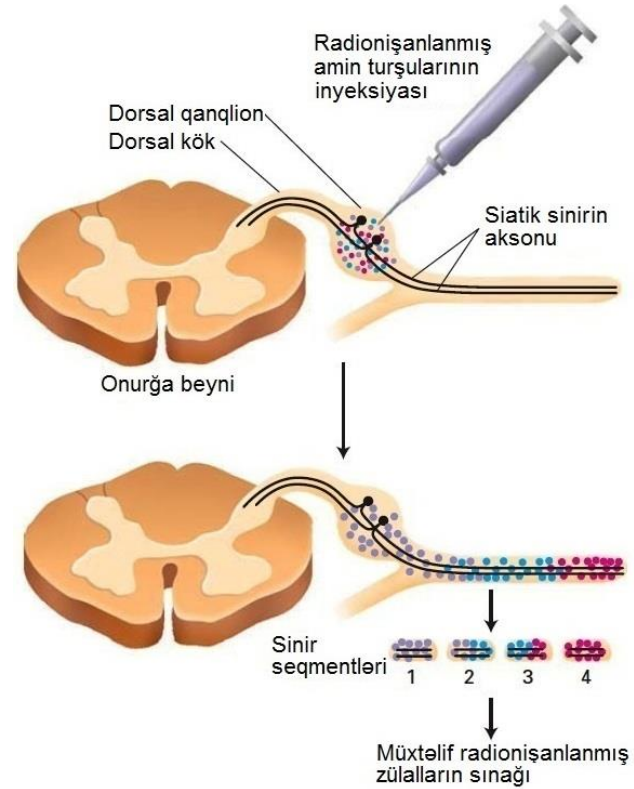
Hüceyrələrdə tez-tez hallarda orqanoidlər sitoplazma daxilində yaxşı müəyyən edilmiş marşrutla bir neçə mikrometrə qədər məsafəyə daşına bilər və xüsusi hüceyrə hissəsinə çatdırılırlar. Diffuziya təklidə bu sürəti, istiqamətliyi və belə nəqliyyat prosesinin son mənzilə çatdırılmasını həyata keçirə bilmir. Balıq pulcuğunun piqment hüceyrələri və neyronları ilə aparılan əvvəlki eksperimentlərdə əldə olunanlar ilk dəfə nümayiş etdirdilər ki, müxtəlif tipli “yükərin” hüceyrədaxili nəqliyyat zamanı mikroborucuqlar yol (iz) kimi fəaliyyət göstərirlər.

Artıq müzakirə olunduğu kimi, mikroborucuqların polimerləşməsi və depolimerləşməsi GTP hidrolizindən alınan enerji ilə işləyə bilər. Bundan əlavə, motor zülallar ATP hidrolizi ilə gücləndirilərək mikroborucuqlar boyu hərəkət edir. Motor zülalların iki əsas ailəsi, kinezinlər və dineinlər mikroborucuqlar

boyu nəqliyyatı həyata keçirirlər. Bu bölmədə, bu motor zülalların necə işlədiyini və və onların interfaza hüceyrələrdə həyata keçirdiyi işi müzakirə edirik. Növbəti bölmələrdə biz onların kirpici və qamçıların fəaliyyətində və mitozda rolunu müzakirə edəcəyik.

Aksonlarda Orqanoidlər Mikroborucuqlar Boyu Hər-iki İstiqamətdə Daşınırlar

Neyron, başqa hüceyrələrlə qovşaqlarda (sinapslarda) neyroötürücülərin eqzositozu zamanı itirilənlərin yerini doldurmaq üçün öz akson terminalını fasiləsiz şəkildə yeni materiallarla – zülallar və membranlarla təmin etməlidir (bax Fəsil 22). Zülallar və membranlar əsasən hüceyrə cisminə sintez olunduğundan, bu materiallar, bəzi neyronlarda bir metrə qədər uzaqda sinaptik rayonlarda yerləşən aksonlara daşınmalıdırlar. Materialların belə hərəkəti, (+) ucları ilə akson terminala tərəf istiqamətlənmiş mikroborucuqlarla həyata keçirilir (bax Şəkil 18-5e).

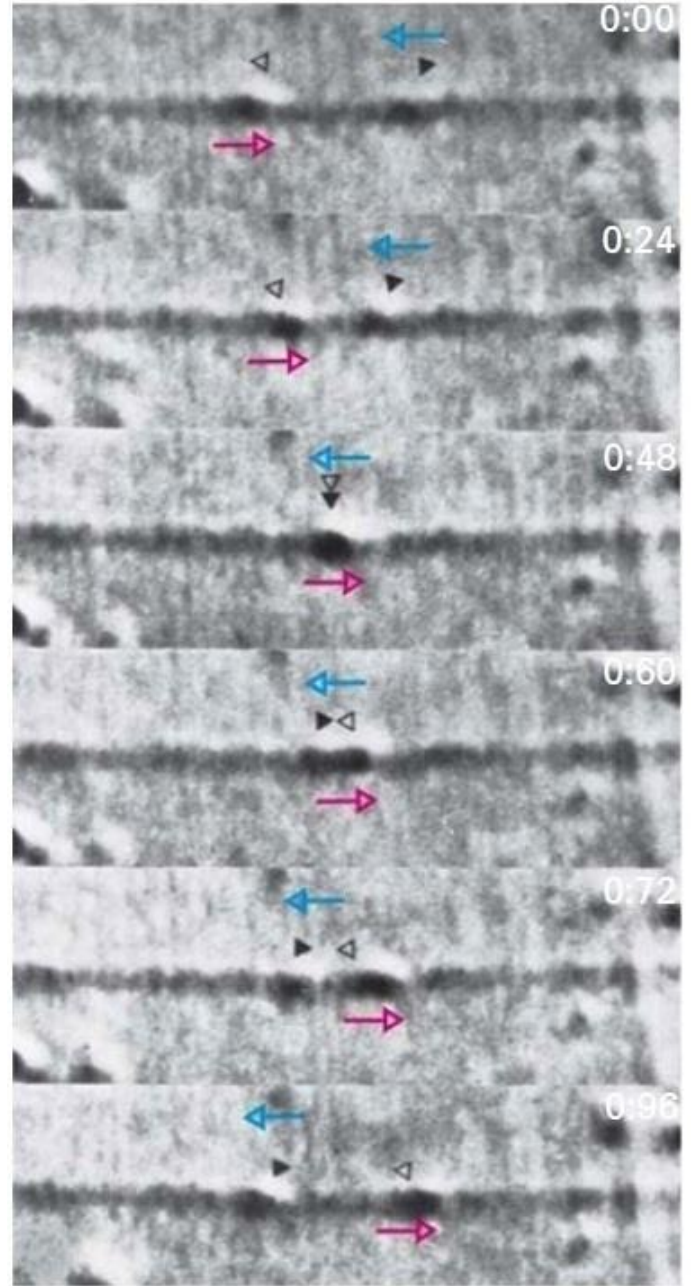


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-16 Akson daşınması sürəti *in vivo* radionişənlənmə və gel elektroforezi ilə təyin edilə bilər. Siatik sinirlərdə neyronların hüceyrə cismi dorsal-kök qanqlionlarda (onurğa beyni yaxınlığında) yerləşir. Eksperimental heyvanlarda bu qanqlionlara inyeksiya olunmuş radioaktiv amin turşuları yeni sintez olunan zülallara qoşulur, hansıki sonra aksonlardan sinapslara daşınırlar. İnyeksiyadan müxtəlif zaman müddətində sonra heyvanlar kəsilir və radioaktiv nişənlənmiş zülalların nə qədər uzağa daşındığını görmək üçün kəsilib ayrılmış siatik sinir kiçik seqmentlərə ayrılır, bu zülallar gel elektroforezindən sonra avtoradiografiya ilə identifikasiya edilə bilər. Qırmızı, mavi və bənövşəyi nöqtələr aksondan müxtəlif sürətlə daşınan zülallar qrupunu təmsil edir, qırmızı ən yüksək sürətli, bənövşəyi isə ən aşağı sürətli göstərir.

Radioaktiv amin turşularının onurğa beyini yaxınlığında dorsal kök qanqlionlara mikroinyeksiya edildiyi və onların onurğa beyini neyronlarının zülallarına inkorporasiya etməsinə imkan verildiyi və radioaktivliyin bu hüceyrənin aksonları boyu izləndiyi klassik puls-izləmə eksperimentlərinin nəticələri göstərdi ki, akson daşınmaları hüceyrə cismindən aşağıya doğru baş verir. Başqa eksperimentlər göstərdilər ki, nəqliyyat əks istiqamətdə, hüceyrə cisminə tərəf də baş verir. *Anteroqrad* nəqliyyat hüceyrə cismindən akson ucluqlarına doğru başlayır və akson böyüməsi və sinaptik qovucuqların çatdırılması ilə bağlı olur. Əks istiqamətdə - *retroqrad* istiqamətdə, “köhnə membranlar” akson uclardan akson boyu hüceyrə cisminə doğru sürətlə hərəkət edir və orada onlar lizosomlarda parçalana bilər. Belə eksperimentlərin nəticələri həm də aşkar etdi ki, müxtəlif materiallar müxtəlif sürətlə hərəkət edirlər (Şəkil 18-16). Birinci hərəkət edən material, membranla əhatə olunan qovucuqlar 3 mm/saat və ya 250 mm/gün sürətlə hərəkət edir – beləliklə onurğa beyində hüceyrə cismindən baş barmaqdakı aksonlara qədər getməsi üçün 4 gün tələb olunur. Tubulin subvahidlərindən və neyrofilamentlərdən (neyronlarda tapılmış aralıq filamentlər) təşkil olunmuş, ən zəif hərəkət edən material, gün ərzində millimetrin yalnız bir hissəsini gedə bilər. Mitoxondri kimi orqanoidlər akson boyu orta sürətlə hərəkət edirlər.

Neyrobioloqlar çoxdandır ki, orqanoidlərin mikroborucuqlar boyu hərəkətini öyrənmək üçün kalmaların nəhəng aksonlarından geniş şəkildə istifadə edirlər. Kalmaların suda təkən vermə sisteminin tənzimlənməsində iştirak edən, nəhəng akson adlandırılan, 1 mm diametrdə ola bilən bu akson məməlilərin orta akson ölçüsündən 100 dəfə enlidir. Bundan əlavə, aksonun diş pastasının tyubu kimi sıxılması sitoplazmanın sıxılıb çıxarılmasına (həmçinin aksoplazma kimi məlumdur) səbəb olur, bu da vidiomikroskopla müşahidə edilə bilər. Belə hüceyrəsiz sistemlərdə qovucuqların mikroborucuqlar boyu hərəkəti ATP-ni tələb edir, onların sürəti intakt hüceyrədəki aksonal nəqliyyatın sürəti ilə eynidir və həm anteroqrad həm də retroqrad istiqamətlərdə hərəkət edə bilərlər (Şəkil 18-17). Kalmaların nəhəng aksonunun sitoplazmasının eyni rayonunun elektron mikroskopiyası fərdi mikroborucuqlara birləşmiş orqanoidləri aşkar etdi. Bu ilk tədqiqatların in vitro eksperimentləri tam müəyyənliklə təyin etdi ki, orqanoidlər fərdi mikroborucuqlar boyu hərəkət edir və onların hərəkəti ATP tələb edir.

Yaşıl fluoressent zülalla (GFP) yarıqlanmış neyrofilamentlərin hüceyrəyə inyeksiya olunduğu eksperimentlərdən aşkar edilənlər göstərdi ki, neyrofilamentlər akson boyu hərəkət etdikcə tez-tez fasilə edirlər. Hərçənd ki, neyrofilamentlərin sürət piki sürətlə hərəkət edən qovucuqların sürətinə oxşardır, onların çoxsaylı fasilələri daşınmanın ümumi sürətini aşağı salır. Bu kəşflər göstərir ki, sürətli və zəif aksonal daşınma arasında fundamental fərq yoxdur, hərçənd ki, neyrofilament nəqliyyatın dövrü olaraq dayanıb fasilə verməsinin səbəbi hələ tam aydın deyil.

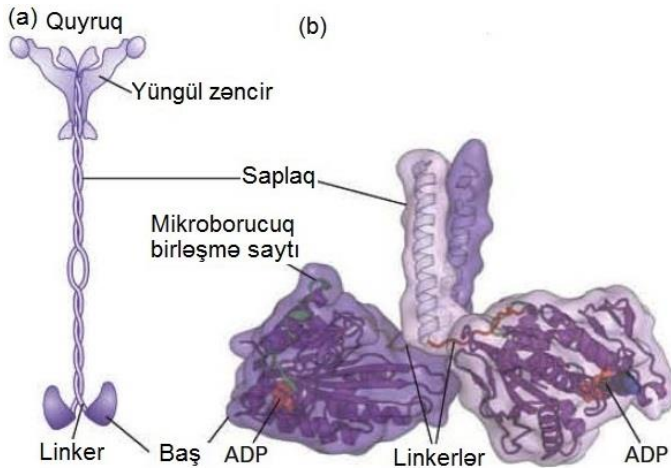


1 μm

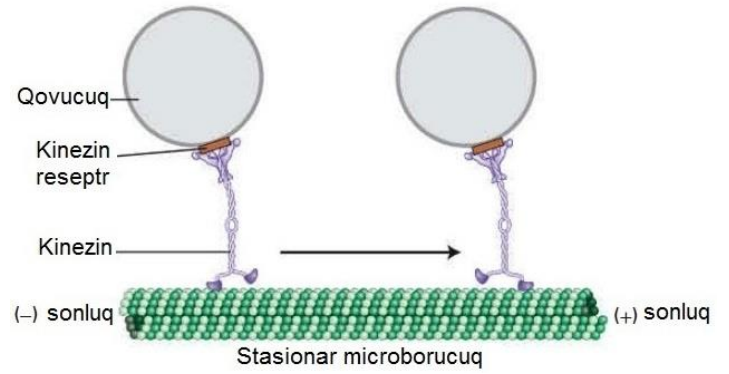
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-17 DIC mikroskopiya mikroborucuq-əsaslı qovucuq nəqliyyatını in vitro nümayiş etdirir. Sitoplazma kalmaların nəhəng aksonundan rolukla sıxılıb örtük şüşəsi üzərində çıxarıldı. Tərkibində ATP olan bufer preparata əlavə edildikdən sonra, o differensial interferens kontrast (DIC) mikroskopiyası ilə baxıldı və alınan təsvirlər vidiolent üzərində yazıldı. Göstərilən ardıcıl təsvirlərdə, açıq və bütöv üçbucaqlarla göstərilən iki orqanoid eyni filament boyunca əks istiqamətlərdə hərəkət edirlər (rənglənmiş oxlarla göstərilir), bir-birinin yanından keçərək öz ilkin istiqamətlərində hərəkəti davam etdirirlər. Saniyələrə keçən zaman hər bir vidio-çərçivənin yuxarı sağ küncündə göstərilir. [Schnapp, B. J., et al., “Single microtubules from squid axoplasm support bidirectional movement of organelles,” *Cell*, 1985, 40:455–62-dan Elsevier razılığı ilə yenidən çap olunmuşdur.]

Kinezin-1 Qovucuqların Akson Boyu Mikroborecuqların (+) Sonluğuna Doğru Anteroqrad Nəqliyyatını Gücləndirir

Anteroqrad orqanoid nəqliyyatına cavab verən zülal ilk təfə akson ekstraktlarından ayrılıb təmizlənmişdir. Tədqiqatçılar tapdı ki, onlar üç komponenti – kalmar aksonundan təmizlənmiş orqanoidləri, orqanoidi olmayan sitozol akson ekstraktını və taksolla-stabilləşən mikroborecuqları bir yerə qatdıqda mikroborecuqlar üzərində orqanoidlərin ATP-dən asılı olan üsulla hərəkətini müşahidə etdilər. Amma, əgər onlar aksonal ekstraktı əlavə etməsələr, o zaman orqanoid mikroborecuqlar boyu nə birləşirlər nə də hərəkət edirlər. Tədqiqatçılar belə qənaətə gəldilər ki, ekstrakt orqanoidləri həm mikroborecuqlara qoşan həm də onları mikroborecuq boyunca daşıyan zülalə kömək edir, bu məhz motor zülalıdır. Motor zülallarını təmizləmək üçün onların strategiyası mikroborecuq üzərində hərəkət edən orqanoidlərin əlavə müşahidələrinə əsaslandı. Məlum idi ki, əgər ATP ADP-yə hidroliz olunursa orqanoidlər mikroborecuqlardan düşürlər (ayrıldılar). Amma, hidroliz oluna bilməyən ATP analoqu AMPPNP əlavə edilərsə orqanoidlər mikroborecuqlarla birləşmiş vəziyyətdə qalırlar, amma hərəkət etmirlər. Bu müşahidələr göstərir ki, motor zülallar AMPPNP-nin iştirakı ilə orqanoidləri mikroborecuqlarla sıx əlaqələndirir, amma onlar, AMPPNP-ni ADP-yə hidroliz oluna bilən ATP ilə əvəz etdikdə mikroborecuqlardan buraxılırlar. AMPPNP-nin iştirakı ilə mikroborecuqlara birləşən və ATP əlavə etdikdən sonra onları buraxan zülalı axtararkən tədqiqatçılar motor zülalını təmizləyə bildilər və onu *kinezin* adlandırdılar.



ŞƏKİL 18-18 Kinezin-1-in quruluşu. (a) Hər birinin baş rayonunda motor domeni olan kinezin-1-in bir-birinə sarınmış iki ağır zəncirini göstərən təsviri. Hər bir baş dəyişkən linker domeni ilə spirallaşmış-spiral gövdəyə birləşir. İki yüngül zəncir ağır zəncirin quyruq domeni ilə birləşir. Bax R.D.Vale, 2003, *Cell* 112:467. (b) Kinezin başların mikroborecuq-birləşdirən və nukleotid-birləşdirən (ADP-yə malik olan) saytlarla rentgen quruluşu linkerlər və gövdənin başlanğıcı da daxil olmaqla göstərilir. Bax M. Thormahlen et al., 1998, *J. Struct. Biol.* 122:30. [Nəticələr F. Kozielski et al., 1997, *Cell* 91:985–994, PDB ID 3kin-dən]



ŞƏKİL 18-19 Kinezin-1-lə kataliz olunan qovucuq daşınmasının modeli. Qovucuq səthindəki reseptorlara birləşmiş kinezin-1 molekulları qovucuqları stasionar molekulların (-) sonluğundan (+) sonluğuna doğru daşıyır. Hərəkət üçün ATP tələb olunur. Bax R. D. Vale et al., 1985, *Cell* 40:559, və T. Schroer et al., 1988, *J. Cell Biol.* 107:1785.

Kalmarın nəhəng aksonlarından ayrılmış kinezin-1, hər biri yüngül zəncirlə assosiasiyada olan iki ağır zəncirin dimeridir və ümumi molekulyar çəkisi 380000 Da-dur. Molekul, qısa dəyişkən *linker domenlər* vasitəsi ilə uzun *mərkəzi gövdə* domenləri ilə birləşən bir cüt qlobulyar N-sonluq *baş domenlərdən*, və yüngül zəncirlə assosiasiyada olan bir cüt sona çatan kiçik qlobulyar *quyruq domenlərdən* təşkil olunub (Şəkil 18-18). Hər bir domen xüsusi bir funksiyamı daşıyır: baş domen mikroborecuqə və ATP-yə birləşir və kinezinin motor fəallığını həyata keçirir; linker domen irəliləyən hərəkəti həyata keçirmək üçün kritik əhəmiyyətlidir; gövdə domeni spiral-spiral əlaqələri ilə iki ağır zəncirin dimerləşməsində iştirak edir (bax Şəkil 3-9); quyruq domeni isə reseptorun yüklərin membranına birləşməni həyata keçirir.

Kinezin-1-dən asılı olan hərəkət, myozindən-asılı olan hərəkətin öyrənilməsində istifadə olunan (bax Şəkil 17-23) in vitro hərəkətlilik analizindən istifadə etməklə izlənilə bilər. Bir tip sınaqda, qovucuq və ya kinezin-1-lə örtülmüş kürəciklər stabiləşmiş mikroborecuq preparatı ilə birlikdə şüşə slayd üzərinə əlavə olunur və mikroskop altında müşahidə edilir. ATP mövcud olduqda, kürəciklərin mikroborecuqlar boyu bir istiqamətdə hərəkəti müşahidə edilir. Tədqiqatçılar aşkar etdilər ki, kinezin-1-lə örtülü kürəciklər həmişə mikroborecuqların (-) sonluğundan (+) sonluğuna doğru hərəkət edirlər (Şəkil 18-19). Beləliklə kinezin-1 (+) sonluğa-istiqamətlənmiş mikroborecuğun motor zülalıdır, və digər sübutlar göstərir ki, o orqanoidlərin akson boyu anteroqrad daşınmasını həyata keçirir.

Kinezinlər Müxtəlif Funksiyaları Olan Böyük Zülal Superailəsini Təşkil Edirlər

Kinezin-1-in aşkar olunmasının ardınca oxşar motor domenlərə malik olan çoxsaylı zülallar həm genetik ekranlaşdırma həm də molekulyar-bioloji yanaşmalar vasitəsi ilə identifikasiya olunmuşdur. İndi heyvanlarda kinezinlərin, kinezin-1-lə oxşar amin turşu ardıcılığı homologiyası ilə müəyyən olunmuş 14 məlum sinifi var. İnsan genomunda kinezin superailəsinin

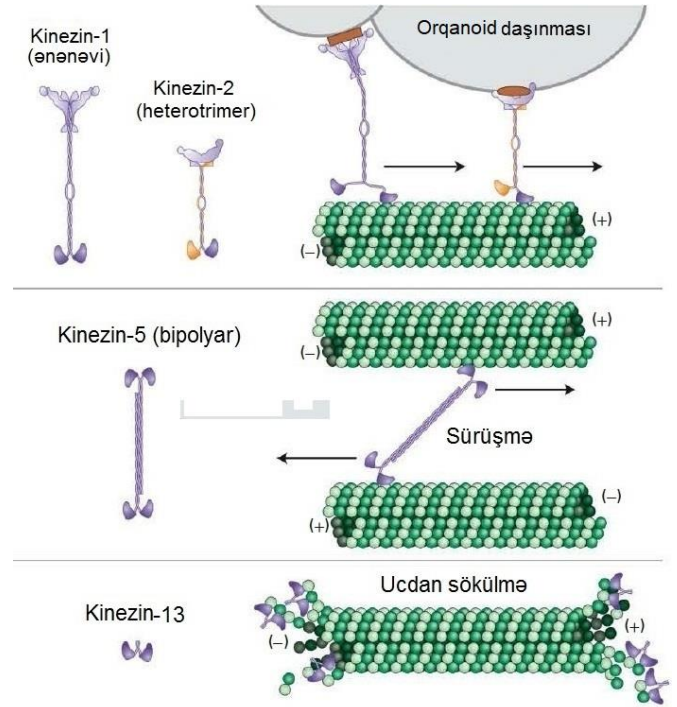
zülalları 45-ə qədər genlə kodlaşdırılır. Hərçənd ki, bütün bu zülalların funksiyası hələ də tam aydınlaşdırılmamışdır, bəzi yaxşı öyrənilmiş kinezinlər orqanoid, mRNT və xromosom daşınması, mikroböyüç sürüşməsi və mikroböyüç depolimerləşməsi kimi proseslərdə iştirak edirlər.

Myozin motorların müxtəlif siniflərində olduğu kimi, müxtəlif kinezin ailələrində konservativ motor domenlər müxtəlif sinif-spesifik qeyri-motor domenlərlə qovuşur (şəkil 18-20). Kinezin-1 iki identik ağır zəncirə və iki identik yüngül zəncirə malik olduğu halda, kinezin-2 ailəsinin nümayəndələri (bunlar həmçinin orqanoid daşınmasında da iştirak edirlər) iki yaxın, ammma fərqli olan ağır-zəncir motor domenlərə və quyruqla assosiasiyada olan və yükə birləşən üçüncü polipeptidə malikdirlər. Bipolyar kinezin-5 ailəsinin nümayəndələrinin dörd ağır zənciri var, antiparalel mikroböyüçlərlə çarpaz bağlana bilən bipolyar motorlorları əmələ gətirirlər və hər bir mikroböyüçün (+) sonluğuna doğru hərəkət etdikcə bir-birinin yanından sürüşərək keçirlər. Kinezin-14 motor zülallar mikroböyüçlərin (-) sonluğuna doğru hərəkət edən məlum olan yeganə sinifdir, bu sinif mitozda fəaliyyət göstərir. Kinezin-13 ailəsinin nümayəndələrinin iki subvahidi var, amma konservativ kinezin domeni polipeptidin mərkəzindədir. Kinezin-13 zülalların motor fəallığı yoxdur, əvəzində onlar xüsusi ATP-hidroliz edən zülallardır və mikroböyüç uclarının depolimerləşməsini gücləndirə bilirlər (bax Şəkil 18-15).

Kinezin-1 Yüksək Prosesiv Motordur

Kinezin-1 mikroböyüç boyu necə hərəkət edir? Myozinin öyrənilməsində istifadə edilən, optik tələ və fluoressent-nişanlama metodları (bax Şəkillər 17-28 və 17-29) kinezin-1-in mikroböyüç boyu necə hərəkət etməsini və ATP hidrolizini mexaniki işə necə çevirməsini öyrənmək üçün istifadə edildi. Belə eksperimentlər nümayiş etdirdi ki, o çox işləyən (prosesiv) motordur, mikroböyüç üzərində ondan dissosiasiya etmədən yüzlərlə “addım” edərək “əl-ələ” hərəkət edirlər. Bu proses gedində iki-başlı molekullar bir tubulin dimerindən növbəti dimerə 8-nm addımlar edir, mikroböyüç daxilində eyni protofilamentlə aşağıya doğru hərəkət edir. Bu hərəkət 16 nm addımlarla hər bir *fərdi* başı öz ardınca çəkir. İki baş yüksək koordinasiya olunmuş şəkildə elə işləyir ki, həmişə onlardan biri mikroböyüçə birləşmiş vəziyyətdə olur.

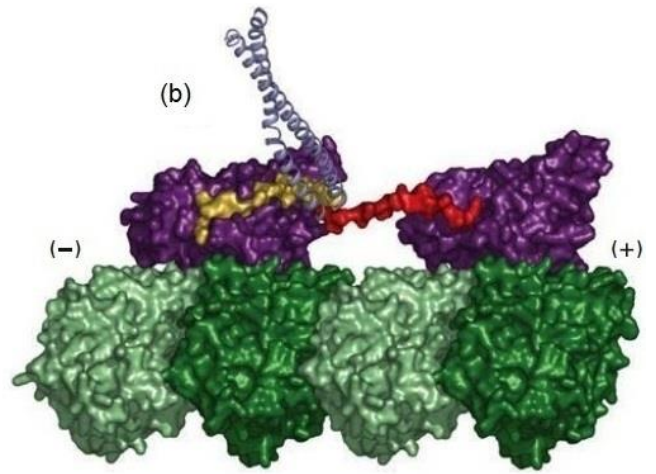
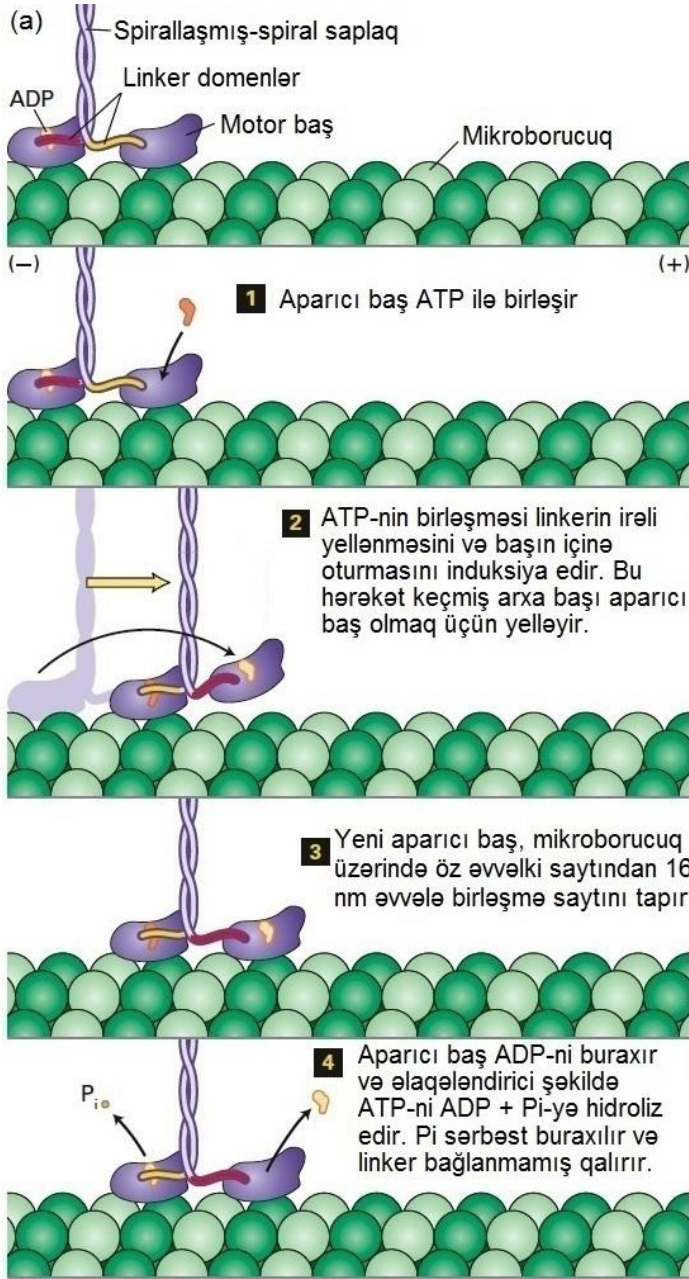
Kinezin-1 hərəkətinin ATP tsikli, əgər biz ona motor işə düşdükdən dərhal sonra baxsaq, daha asanlıqla başa düşülür (Şəkil 18-21a). Bu anda motor, protofilamentdə tubulin dimerə möhkəm şəkildə birləşmiş nukleotiddən azad aparıcı ön başa və protofilamentlə zəif assosiasiyada olan ADP-birləşmiş arxa başa malikdir. Sonra ATP aparıcı başa birləşir (Şəkil 18-21a, pillə 1), və bu birləşmə linker domenində elə konformasiya dəyişikliyi induksiya edir ki, o geriye dönmək əvəzinə irəliyə doğru ləngərlənərək assosiasiya edən başa “oturur”. Belə ləngərləmə hərəkəti linker domenin irəliyə doğru fırlanması ilə nəticələnir və o arxa başa birləşmiş olduğundan, arxa başı yelləyir, sanki rəqs edən balerina kimi onu elə mövqeyə atır ki, o aparıcı baş olsun (Şəkil 18-21a, pillə 2). Yeni aparıcı baş mikroböyüç üzərində növbəti birləşmə saytı tapır (Şəkil 18-21a, pillə 3 və Şəkil 18-21b). Aparıcı başın mikroböyüçə birləşməsi ADP-ni buraxmaq üçün aparıcı başı induksiya edir, eyni zamanda arxa baş ATP-ni ADP-yə və P_i hidroliz edir (Şəkil 18-21a, pillə 4).



ŞƏKİL 18-20 Kinezin superailəsinin seçilmiş nümayəndələrinin quruluşu və funksiyası. Kalmazın aksonundan ayrılmış orjinal kinezinlərə daxil olan kinezin-1, orqanoid daşınmasında iştirak edən, (+) sonluğa-istiqamətlənmiş mikroböyüç motorudur. Kinezin-2-nin iki müxtəlif, ammma bir-birinə çox yaxın olan ağır zəncirləri və yük birləşdirən üçüncü subvahidi var, bu sinif də orqanoidləri (+) sonluğa-istiqamətlənmiş tərzdə daşıyır. Kinezin-5 ailəsinin nümayəndələri, antiparalel mikroböyüçlərlə əlaqəyə girmək üçün və (+) sonluğa doğru hərəkət etmək üçün bipolyar konfigurasiyada toplanmış dörd ağır zəncirə malikdir. Kinezin-13 ailəsinin nümayəndələri ağır zəncirlərinin ortasında motor domeninə malikdirlər və motor fəallıqları yoxdur, amma onlar mikroböyüç uclarını destabilləşdirirlər (bax Şəkil 18-15a). Əlavə kinezin ailəsi nümayəndələri təktədə göstərilir. Müxtəlif kinezinlərə çoxsaylı müxtəlif adlar verilmişdir. Biz C. J. Lawrence et al., 2004, *J. Cell Biol.* 167:19–22-də təsvir edilən vahid nomenklaturadan istifadə edirik. Bax R. D. Vale, 2003, *Cell* 112:467.

İndi ATP aparıcı başa birləşərək tsikli təkrar edə bilər və zülalın mikroböyüç üzərində növbəti addım atmasına imkan verir.

Bu dövrənin iki xüsusiyyəti, başlardan birinin həmişə qəti şəkildə mikroböyüçə birləşmiş vəziyyətdə olmasını təmin edir. Birincisi, baş domen nukleotiddən-azad, ATP və ADP+P_i vəziyyətlərində mikroböyüçə möhkəm şəkildə birləşmiş olur, amma ADP vəziyyətində zəif birləşmiş olur. İkincisi, iki baş ünsiyyətdə (əlaqədə) olur: aparıcı baş mikroböyüçə birləşəndə və ADP-ni buraxanda, o zəif birləşmiş vəziyyətdən sıx möhkəm birləşmiş vəziyyətə keçir. Bu dəyişiklik, mikroböyüçlə sıx əlaqədə olan ATP-birləşmiş arxa başa çatdırılır. Arxa baş ATP-ni hidroliz etmək və P_i ayırmaq üçün stimullaşdırılır və onu zəif birləşmiş konformasiyaya keçirir. Bu dövrə başlardan birinin həmişə protofilamentdə tubulin dimerə möhkəm birləşmiş vəziyyətdə olmasını tələb etdiyindən, kinezin-1 mikroböyüç üzərində ondan ayrılmadan minlərcə addım edə bilər.

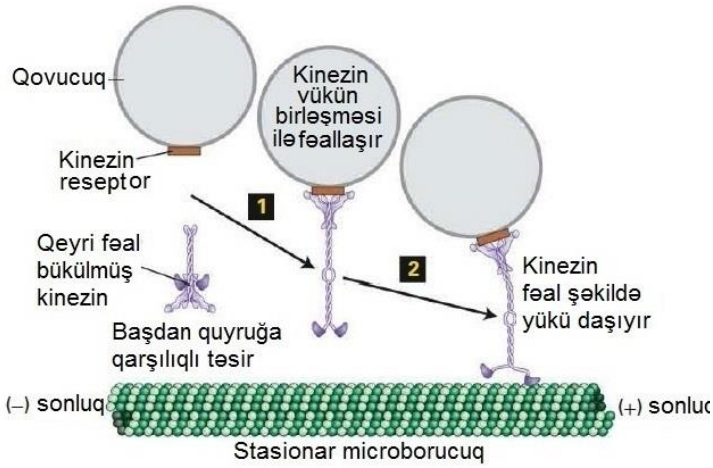


ŞƏKİL 18-21 Kinezin-1 mikroborucuq üzərində hərəkət etmək üçün ATP istifadə edir. (a) Bu diaqramda, fərqləndirmək üçün iki kinezin başı fərqli rənglənməmiş (sarı və qırmızı) linker domenləri ilə göstərilir. Kinezinin birinci addım etməsindən sonra başlayan dövrə göstərilir, aparıcı baş sıx şəkildə mikroborucuğa birləşmişdir və heç bir nukleotidlə birləşməmişdir, halbuki arxa baş zəif şəkildə mikroborucuğa birləşmişdir və ona birləşmiş ADP-si vardır. Sonra, aparıcı baş ATP ilə birləşir (pillə 1), nəticədə sarı linker rayonun irəliyə doğru ləngərlənməsinə və onun assosiasiyada olan baş domene keçməsinə səbəb olan konformasiya dəyişikliyi induksiya edir, beləliklə də arxa başı irəliyə itələyir (pillə 2). Yeni aparıcı baş indi birləşmə saytını mikroborucuqda 16 nm aşağıda tapır və ona zəif birləşir (pillə 3). İndi aparıcı baş ADP-ni buraxır və mikroborucuqla möhkəm (sıx) birləşir və arxa başın ATP-ni ADP və P_i hidroliz etməsini induksiya edir (pillə 4). P_i buraxılır, arxa baş zəif birləşmə vəziyyətinə keçir, və birləşdiyi linker domeni buraxır. İndi dövrə yeni pillə üçün özünü təkrar edir. Bax R. D. Vale and R. A. Milligan, 2000, *Science* **288**:88. (b) Mikroborucuqda protofillamentə birləşmiş iki kinezin başın (bənövşəyi) quruluş modeli. Arxa baş solda birləşmiş ATP-yə malikdir və digər başı aparıcı mövqeyə itələyir. Diqqət yetirin, linker domen (sarı) arxa başa oturduğu halda, aparıcı başın linker domeni (qırmızı) hələ də sərbəstdir. [(b) hissəsindəki nəticələr E. P. Sablin and R. J. Fletterick, 2004, *J. Biol. Chem.* **279**:15707-dəndir və xüsusi PDB fayllar 3kin, 1mkj, və 1jff əsaslanır.]

Orqanoidlərin daşıyıcısı kimi, kinezin-1 düzgün yükə birləşməli və onu aparmalıdır. O bunu, müvafiq orqanoiddə olan, motor zülalın quyruq domeninə birləşən reseptor zülalları vasitəsi ilə edir. Kinezin-1 ATP-ə olduğundan, bu əhəmiyyətlidir ki, ona ehtiyac olmayanda və nəqliyyat başa çatdırıb orqanoidi buraxanda enerjinin qorunub saxlanması məqsədi ilə onun fəallığı fəalsızlaşır. Bunu həyata keçirmək üçün kinezin-1 qeyri fəal konformasiyada bükülüb bilir, bu zaman quyruq domeni motor baş domenlə əlaqəyə girib onun həm ATP-ə fəallığını həm də mikroborucuğa birləşməsinə ingibirləşdirir (Şəkil 18-22). Quyruq karqo-assosiasiyalı reseptor zülal birləşəndə bükülmüş motor açılır və fəallaşır (pillə 1). Karqo ilə fəallaşan motor kompleks mikroborucuqla qarşılaşanda o orqanoidi daşıyır (pillə 2). Orqanoid

çatdırıldıqdan sonra kinezin-1 karqodan buraxılır və yenidən baş-quyruq ingibirləşdirici vəziyyətə bükülməklə fəalsızlaşır.

Kinezin başın rentgen kristalloqrafiya quruluşu müəyyən olunanda bir sürpriz meydana çıxdı – onun katalitik özəyi miyozininki ilə eyni quruluşda oldu (Şəkil 18-23). İki zülal arasında heç bir konservativ amin turşusu ardıcılığının olmamasına baxmayaraq, bu qəti şəkildə əmin edir ki, uzaqlaşan (convergent) təkamül işin alınması üçün ATP hidrolizindən istifadə edə bilən iki quruluşu meydana gətirmişdir. Bundan başqa, eyni tipli üç-ölçülü quruluş, GTP hidrolizi ilə konformasiya dəyişikliyinə uğrayan Ras kimi kiçik GTP-birləşdirən zülallarda da görünür (bax Şəkil 15-7).



ŞƏKİL 18-22 Kinezin-1 baş-quyruq əlaqələri ilə tənzimlənilir. Bu ingibirləşmiş formasında kinezin-1 baş geriye qatlanır və quyruqla əlaqəyə girir. Bu qarşılıqlı əlaqə kinezin-1-in ATP-aza fəallığı ingibirləşdirir. Motor müvafiq reseptorla qarşılaşanda, burada qovucuqlar üzərində göstərilir, onun bükülməsi açılır (pillə 1) və yükü mikroborucuğun (+) sonluğuna doğru daşıyır (pillə 2). Hələ bu vaxta qədər məlum deyil ki, çatdırılma məkanına yetişəndə motor yükdən necə dissosiasiya edir, o yalnız yükü buraxan kimi ingibirləşmiş vəziyyətə bükülür.

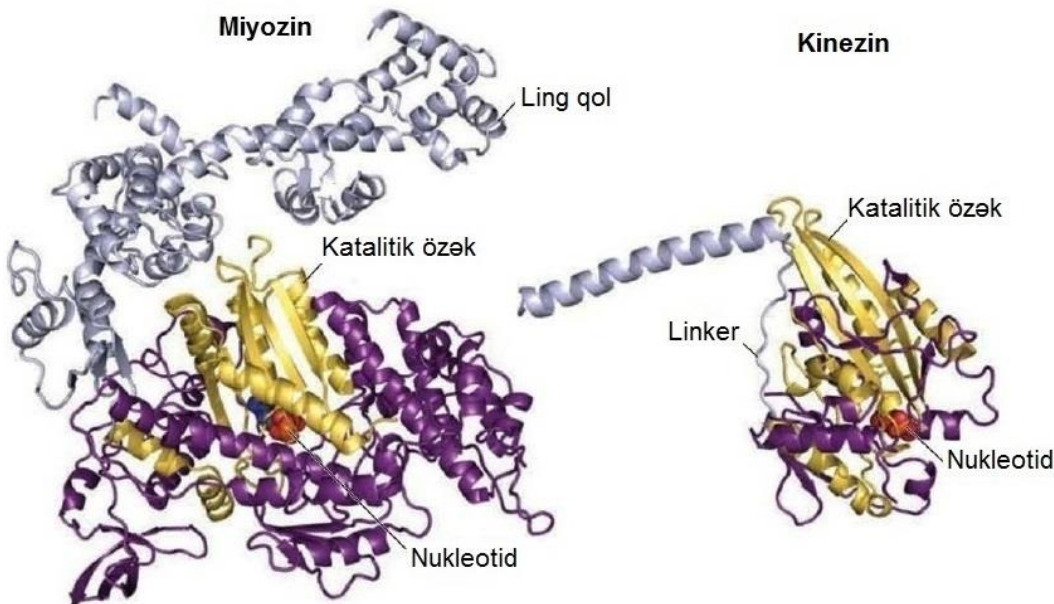
Dinein Motorlar Orqanoidləri Mikroborucuqların (-) Sonluğuna Doğru Daşıyır

Əsasən anteroqrad (+) sonluğa-istiqaətlanmış orqanoid daşınmasını həyata keçirən kinezin motorlardan başqa, hüceyrələr digər motor zülalından, orqanoidlərin mikroborucuqların (-) sonluğuna yönəlmiş retroqrad istiqamətdə daşınmasında *sitoplazmatik dinein* istifadə edirlər. Bu motor zülal çox böyükdür, iki böyük (>500 kDa), iki aralıq və iki kiçik subvahidlərdən təşkil olunub. O yalnız oranoidlərin aksonlarda mikroborucuqların (-) sonluğu istiqamətində ATP-dən-asılı olan retroqrad daşınmasını deyil,

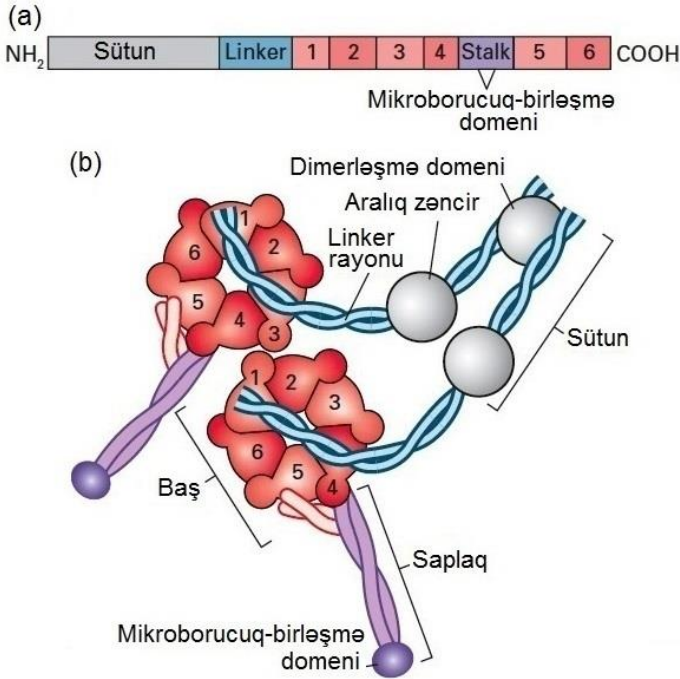
həmçinin bizim növbəti bölmələrdə baxacağımız çoxsaylı digər funksiyaları da yerinə yetirir. Myozinlər və kinezinlərlə müqayisədə dineinlə-əlaqəli zülallar ailəsi çox böyük müxtəlifliyə malik deyildir.

Kinezin-1 kimi, sitoplazmatik dineinlər iki başlı molekullardır, iki təxminən eyni və ya çox yaxın olan ağır zəncirdən təşkil olunmuşlar. Amma, motor domenin həddən artıq böyük ölçüdə olmasına görə dinein mexaniki-kimyəvi fəallığına görə daha az öyrənilmişdir. Bir dinein ağır zənciri çoxsaylı fərqli domenlərdən təşkil olunub (Şəkil 18-24a). Birincisi, digər dinein subvahidlərin birləşdiyi *gövde* domenidir, bu domen dinaktin adlı başqa bir zülal kompleksi vasitəsi ilə yüklə birləşir. Ağır zəncirin növbəti hissəsi *linker*dir, bu hissə ATP-dən asılı olan motor fəallığında kritik əhəmiyyət kəsb edir. Ağır zəncirin böyük hissəsi, içərisində ATP-aza fəallığı yerləşən çiçəkşəkilli quruluşda toplanmış altı təkrardan ibarət olan *AAA ATP-aza* domeninə malik olan *başı* təşkil edir. AAA təkrarların dördüncü və beşinci təkrarı arasında *gövde* yerləşir, o quruluşdan dik çıxır və mikroborucuq birləşdirən rayona malikdir.

Dineinin ağır zəncirinin elektron mikroskopiyaya və son zamanlar əldə olunmuş rentgen quluş ilə alınmış şəkilləri birlikdə dineinin necə işləməsi barədə təsəvvürü təmin edir. Ehtimal ki, yalnız birinci AAA təkrarlanması, ATP-nin hidrolizini mexaniki işə çevirməkdə iştirak edir. Nukleotid olmayanda dinein mikroborucuqlara birləşir və linker AAA domeni üzərində düz uzanır və birinci və beşinci təkrarlarla dissosiasiya girir. ATP birləşən zaman dinein mikroborucuqdan dissosiasiya edir və linker ikinci və üçüncü AAA təkrarları arasında çarpaz əyilmiş olur ("insultdan öncə"; Şəkil 18-25a və *sol panellər*). Mikroborucuqla qarşılıqlı əlaqə zamanı və ATP-nin hidrolizi və Pi ayrılması ilə linker düzəlmiş formanı alır. Bu düzəlmə, yükü mikroborucuğun (-) sonluğuna tərəf hərəkət etdirən güc zərbəsidir ("insultdan-sonra", Şəkil 18-25a və b, sağ panellər). ADP buraxılır və motorun başı mikroborucuğa birləşmiş qalır. ATP birləşərkən baş buraxılır və dövrə yeni pillə üçün təkrar olunur.



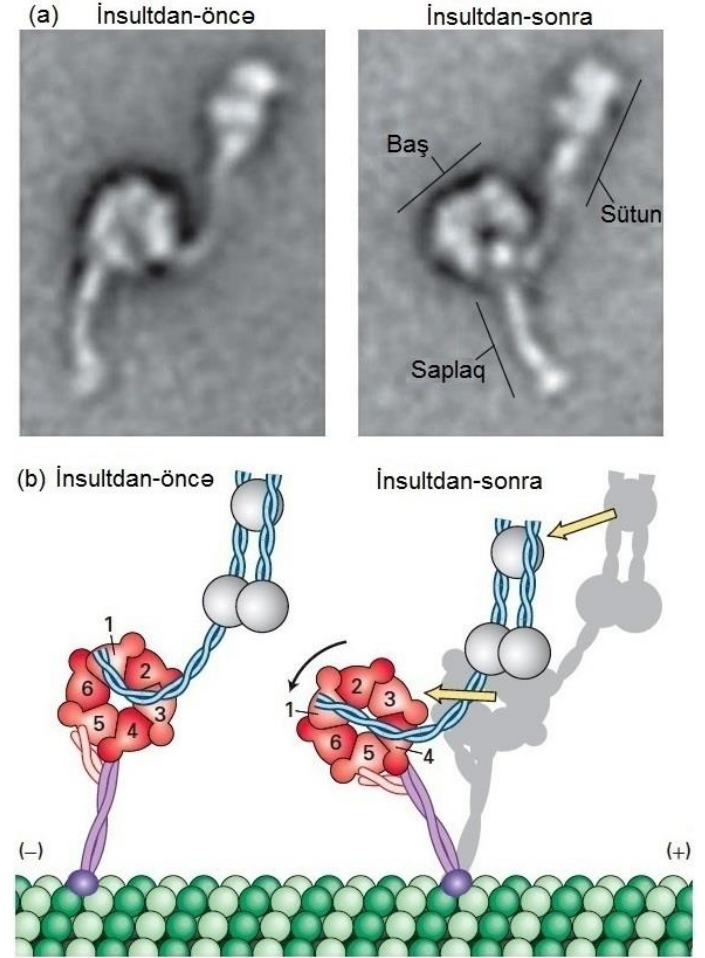
ŞƏKİL 18-23 Myozin və kinezin başların ATP-birləşdirən özəyinin konvergent quruluş təkamülü. Myozinin və kinezinin ümumi katalitik özəyi sarı rəngdə, nukleotidlər qırmızı, ling qol (myozin II üçün) və linker domen (kinezin-1 üçün) açıq bənövşəyi rəngdə göstərilir. Bax R. D. Vale and R. A. Milligan, 2000, *Science* 288:88. [Verilənlər F. Kozielski et al., 1997, *Cell* 91:985-994-dən, xüsusi PDB faylı (*solda*) və PDB ID 3kin (*sağda*).]



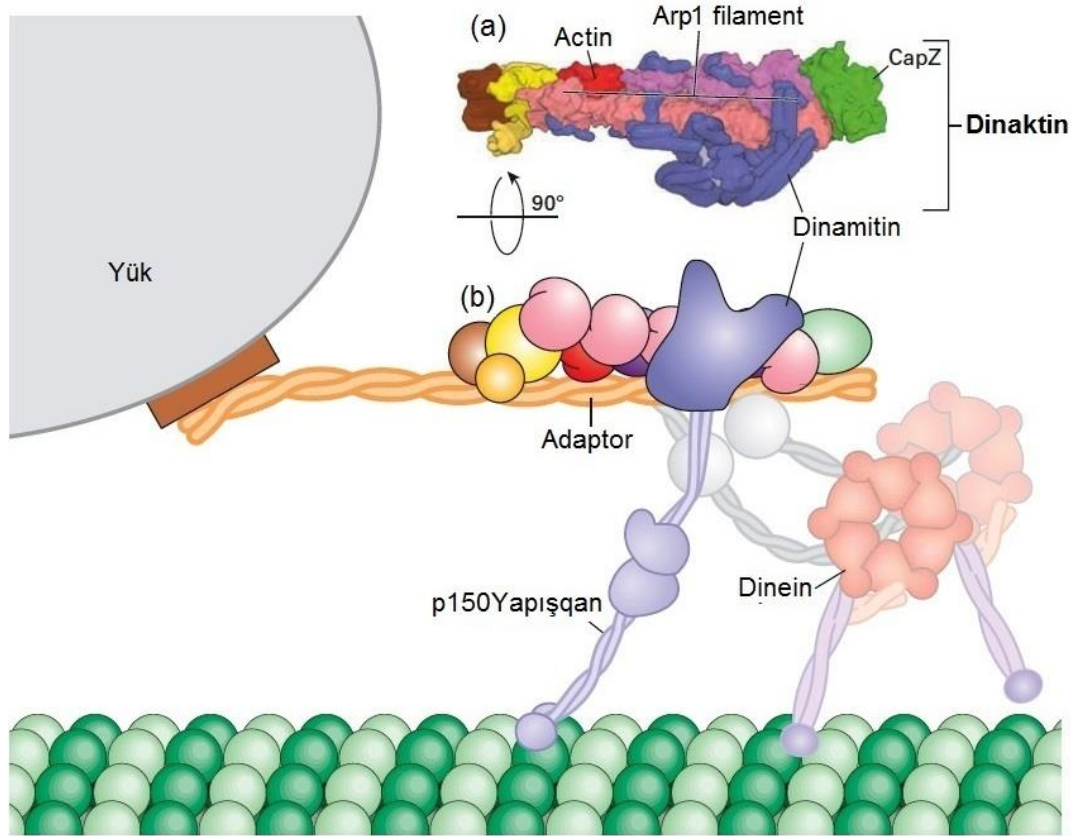
ŞƏKİL 18-24 Sitoplazmatik dineinin domenin quruluşu. (a) Dineinin 4000-dən artıq amin turşusu qalığından ibarət olan ağır zənciri bir neçə domenə malikdir. Sütun və linker domenlərin ardınca altı AAA təkrarlar (1-6 kimi nömrələnmiş saftalı quruluşlar) gəlir və onun saplaq ilə mikroborucuq-birləşdirən domeni 4 və 5-ci təkrarlar arasında yerləşir. Zülal saplağa dəstək olan α -spiral domenlə başa çatır. (b) Altı AAA təkrar çiçəkdəki ləçəklərə bənzəyir. Ucunda mikroborucuq-birləşdirən sayta malik olan spirallaşmış-spiral saplaq domeni bu quruluşdan çıxır. Çoxsaylı əlavə subvahidlər sütun rayonla assosiasiyada olur və dineini dinaktin vasitəsilə yüklə əlaqələndirir. Bax R.D. Vale, 2003, *Cell* **112**:467.

Kinezin-1-dən fərqli olaraq sitoplazmatik dinein özü yükü daşıya bilmir. Əksinə, dineinlə-bağlı daşınma, dineini onun yükü ilə əlaqələndirən və onun fəallığını tənzimləyən böyük zülal kompleksi *dinaktin* kimi tənzimləyiciləri tələb edir (Şəkil 18-26). Dinaktin funksiyasına görə iki domenə bölünmüş 11 müxtəlif tipli subvahidlərdən təşkil olunmuşdur. Bir domen bir aktin filamentı və qısa bir filamentda toplanmış aktin-əlaqəli zülal Arp1-in səkkiz nüsxəsi ətrafında qurulmuşdur. Bu filamentın (+) sonluğuna uyğun olan uc, aktin filamentının (+) ucunu qapayan (bax Şəkil 17-12) eyni zülal, qapaq zülalı CapZ ilə qapanmışdır, çoxsaylı başqa subvahidlər (-) sonluqla əlaqəlidirlər. Arp-1-ə malik olan bu domen yükə birləşməni həyata keçirir. Dinastinin ikinci domeni, dinein birləşdirən sayta malik olan və bir ucunda mikroborucuq-birləşdirən saytı olan p150^{Glued} (p150^{Yapışqan}) adlanan uzun zülaldan təşkil olunub. İki dinaktin domenini birlikdə saxlayan zülal *dinamitin* adlanan zülaldır, ona görə belə adlandırılır ki, o superekspressiya olınarkən iki domenə dissosiasiya edib (və ya "hissələrə parçalanır") qeyri funksional kompleksi əmələ gətirir. Bu

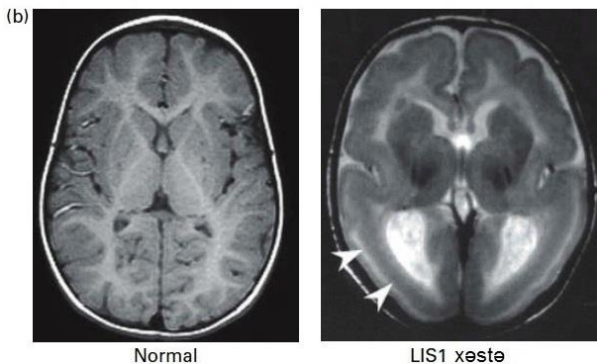
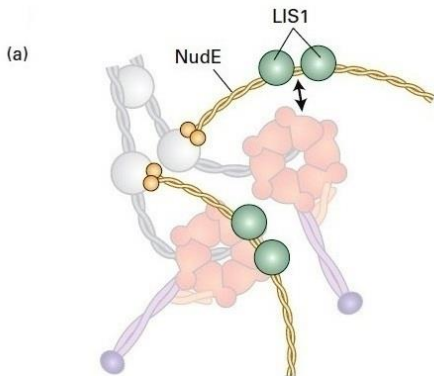
xüsusiyyət eksperimental olaraq çox səmərəli olmuşdur, çünki o tədqiqatçılara imkan verdi ki, dinamini superekspressiya edən hüceyrələrdə qırılan dinein və dinaktinin qarşılıq əlaqəsindən asılı olan prosesi müəyyən etsinlər.



ŞƏKİL 18-25 Dineinin enerji zərbəsi. (a) Təmizlənmiş tğək-başlı dinein molekullarının çoxsaylı təsvirləri insultdan öncə və insultdan sonrakı vəziyyətlərdə elektron mikroskopunda yazılmış və sonra ortalama aparılmışdır. Soldakı təsvir ADP+P_i vəziyyətində dineini göstərir və insuldaqədər vəziyyəti təmsil edir, sağ tərəfdəki təsvir isə, onun nukletiddən-azad insultdansonrakı vəziyyətini göstərir. (b) Son zamanlar əldə olunmuş quruluş nəticələri ilə mikroskopik təsvirlərin birgə müqayisəsi göstərdi ki, qüvvə-əmələ gətirən mexanizmə linker vəziyyətindəki mikroborucuq-birləşdirən gövdəni hərəkətə gətirən dəyişikliklər daxildir. [(a) hissəsi Macmillan Publishers Ltd razılığı ilə S.A. Burgess, "Dynein structure and power stroke," *Nature*, 2003, **421**:6924, pp. 715-718-dən çap olunmuşdur.]



ŞÖKİL 18-26 Dinaktin kompleksi dineini yüklə əlaqələndirir. (a) Yüklə bağlayan kompleksin bir domeni, aktin-əlaqəli zülal Arp1-in səkkiz subvahidinin birləşməsindən və CapZ subvahidi tərəfindən qapanmış bir aktin subvahidindən əmələ gəlmiş qısa filament ətrafında qurulmuşdur. Digər bir domen distal ucuda mikrobörcüq birləşdirən saytı olan, həmçinin sitoplazmik dyneinin kompleksə birləşdirilməsində iştirak edən zülal p150^{Yapışqan}-dan ibarətdir. Dinamitin dinaktin kompleksinin iki hissəsini bir yerdə saxlayır. (b) Dinaktin və dinein kompleksinin bir-biri ilə və mikrobörcüqlə necə qarşılıqlı əlaqədə olmasının diaqramı. Bax Urnavicius et al. 2015, *Science* 347: 1441.



EKSPERİMENTAL ŞÖKİL 18-27 Dineini tənzimləyən LIS1 zülal beyinin inkişafı üçün tələb olunur. (a) LIS1-in dineinin ağır zəncirinin ATP-əza domeni ilə qarşılıqlı əlaqəyə girməsinə imkan yaratmaq üçün NudE-nin dineinlə necə assosiasiya etməsi modeli. Bax McKenney et al., 2010, *Cell* 141:304-314. (b) Normal beyinin (*solda*) və Miller Dieker Lissencefali xəstənin beyininin (*sağda*) maqnit rezonans təsvirləri (MIG). Xəstənin beyində oxlarla işarələnmiş nahiyələrdə bükülmələrin olmamasına diqqət yetirin. [(b) hissəsi Kato, M. & Dobyns, W. B. "Lissencephaly and the molecular basis of neuronal migration," *Hum. Mol. Genet.* (2003) 12, R89-R96, Okford Universitəcəsi ilə.]

Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, həm dinein həm də dinaktin qeyri fəal formada mövcud ola bilərlər. Amma, onlar müvafiq yük adaptorla rastlaşanda, üç molekul üçtərəfli kompleksi əmələ gətirir, dinaktin mikrobörcüqlərə birləşmək üçün fəallaşır və yükün uzaq məsafəyə daşınması üçün kritik əhəmiyyətli olan dineinin nəqliyyatı yüksək dərəcədə prosesiv olur (Şəkil 18-26b). Bəzi hallarda dinein qeyri-fəal formada müəyyən bir yerdə daşınmalıdır və sonradan orada fəallaşmalıdır. Məsələn, tapılmışdır ki, dinaktin p150^{Yapışqan} subvahidi EB1-ə birləşir, dineinə imkan verir ki, mikrobörcüqün böyüyən (+) ucu ilə assosiasiya etsin. Nəyə görə dinein (-) sonluğa-istiqləmətlənən motor olsa da, o mikrobörcüqün (+) sonluğu ilə birləşir? Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, dinein dinaktin-EB1 ilə qarşılıqlı əlaqə vasitəsi ilə mikrobörcüqün (+) sonluğu

ilə birləşəndə, o qeyri fəal konformasiyada saxlanılır. Böyüən mikroborucuq hüceyrə qabığına çatanda qeyri fəal dinein və dinaktin orada yerləşən aktivatorla rastlaşırlar. İndi dinein, qabıqla birləşərək onu oraya çatdıran mikroborucuğu dartaraq fəal vəziyyət alır. Göstərilmişdir ki, bu mexabizm mayada mitoz şpindelinin istiqamətlənməsinə kömək edir və çox ehtimal ki, başqa hallarda da tətbiq olunur.

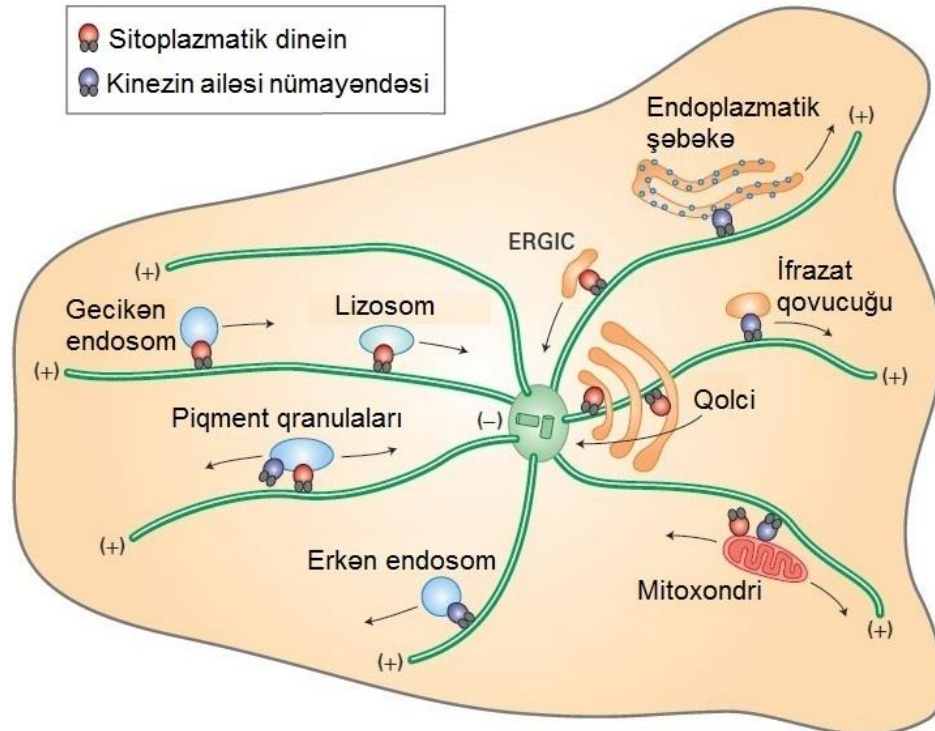
Kinezinlər Və Dineinlər Hüceyrədə Orqanoidlərin Daşınmasında Kooperativdirler

Həm dinein həm də kinezin ailəsinin nümayəndələri hüceyrədə orqanoidlərin mikroborucuqdan-asılı olan təşkilində əhəmiyyətli rol oynayırlar (Şəkil 18-28). Mikroborucuqların istiqamətlənməsi MTOC tərəfindən təyin olunduğundan, daşınmanın istiqaməti – hüceyrə mərkəzinə tərəf və ya oradan kənara – motor zülallardan asılıdır. Məsələn, Qolci kompleksi sentrosomlar ətrafında toplanır, harda ki, mikroborucuqların (-) sonluqları yerləşir və buraya dinein-dinastin vasitəsilə gəlirlər. Bundan başqa, endoplazmatik şəbəkədən ayrılan ifrazat yükü Qolciyə dinein-dinastin vasitəsi ilə daşınır. Əksinə, endoplazmatik şəbəkə bütün sitoplazma boyu səpilməmişdir və oraya, mikroborucuqların periferiyal (+) sonluğu istiqamətində hərəkət edən kinezin-1 vasitəsi ilə daşınırlar. Endositik yolun bəzi orqanoidləri, o cümlədən endosomlar və lizosomlar dinein-dinastinlə assosiasiyada olurlar. Göstərilmişdir ki, kinezinlər mitoxondriyə, həmçinin inkişafın gedişində yerləşdirilməsi lazım olan zülalları kodlaşdıran spesifik mRNT-lər kimi membransız yükləri daşıyırlar.

Kinezin-1-in orqanoidləri anteroqrad istiqamətdə aksonlar bou necə daşdığı biz artıq gördük. Motor aksonun sonuna

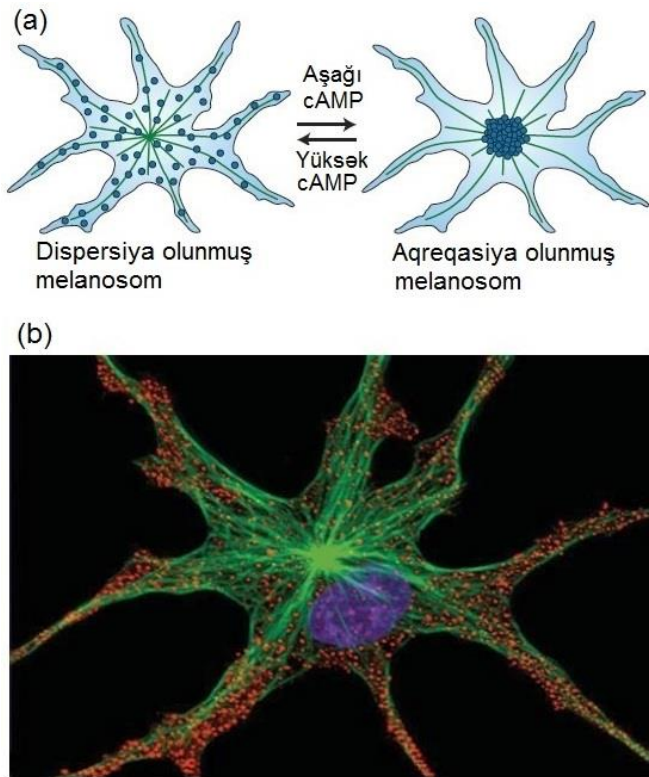
çatanda onda nə baş verir? Cəvab odur ki, o sitoplazmatik dineinlərlə daşınan orqanoidlərlə retroqrad istiqamətdə geriyyə aparılır. Beləliklə kinezin və dinein eyni orqanoidlə assosiasiya edə bilirlər və bir motorun fəallaşması zamanı digərini söndürən mexanizm mövcud olamlıdır, hərçənd ki, belə mexanizm hələ də tam anlaşılmamışdır.

Mikroborucuq-əsaslı orqanoid daşınmasının tənzimlənməsi barədə bizim biliklərimizin əksəriyyəti balıq (məsələn, angelbalıq) və ya qurbağa melanoforlarından istifadə etməklə aparılan tədqiqatlardan gəlir. Melanoforlar onurğalılarda dəri hüceyrələri olub melanosomlar adlanan yüzlərlə melaninlə-dolu piqment qranulalarına malikdirlər. Melanoforlarda melanosomlar ya səpilməmiş şəkildə olur, hansıki dərini tründ edirlər, ya da hüceyrə mərkəzində aqreqatları əmələ gətirirlər və dərini solğun edirlər (Şəkil 18-29). Dərinin rənginin balıqlarda neyroötürücülər vasitəsi ilə və qurbağalarda isə hormonlar vasitəsi ilə tənzimlənen belə dəyişməsi balıqlarda maskalanmağa, qurbağalarda isə onların sosial münasibətlərini yüksəltməyə xidmət edir. Melanosomların hərəkəti cAMP-nin hüceyrədaxili dəyişməsi ilə həyata keçir və mikroborucuqlardan asılıdır. Hansı motorun iştirak etdiyini öyrənən tədqiqatlar göstərdi ki, melanosomların səpilməsi (dispersiyası) kinezin-2-ni tələb edir, halbuki melanosomların aqreqasiyası sitoplazmatik dinein-dinaktini tələb edir. Bu fəaliyyətlərin necə koordinasiya oluna bilməsi barədə ilk fikirlər dinamitinin superekspressiyasının melanosomların hər iki istiqamətdə daşınmasını ingibirləşdirdiyi nəticələrdən meydana gəlmişdir. Bu heyrətləndirici nəticələr, dinaktinin yalnız sitoplazmatik dinein ilə deyil həmçinin kinezin-2 ilə birləşə bilməsi və iki motorun fəallığını koordinasiya edə bilməsi aşkar olunduqdan sonra izah olundu.



ŞƏKİL 18-28 Orqanoidin mikroborucuq motorlarla daşınması.

Sitoplazmatik dineinlər (qırmızı) orqanoidlərin mikroborucuqların (-) sonluğuna doğru retroqrad daşınmanı həyata keçirirlər (hüceyrə mərkəzi); kinezinlər (bənövşəyi) (+) sonluğa doğru anteroqrad daşınmanı həyata keçirir (hüceyrə periferiyası). Orqanoidlərin əksəriyyətinin onlarla əlaqəli bir və ya daha artıq mikroborucuq-əsaslı motor zülalları var. Qeyd etmək lazımdır ki, motorların orqanoidlərlə assosiasiyası hüceyrə tipindən asılı olaraq dəyişir, beləliklə bu assosiasiyalardan bəziləri bütün hüceyrələrdə mövcud olmaya bilər, bəziləri isə burada göstərilmişdir. ERGIC = ER-to-Golgi intermediat kompartiment.



ŞƏKİL 18-29 Qurbağa melanoforlarında pigment qranularının hərəkəti. (a) cAMP-nin səviyyəsinə görə melanosomların mikroborucuq-əsaslı yenidən təşkilinin diaqramı. Melanosomlar sitoplazmatik dineinlərlə aqreqasiya edir və kinezin-2 ilə səpələnir (dispersiya edir). (b) İmmunofluoressensiya mikroskopundan görüldüyü kimi, melanosomlar (qırmızı) səpilməmiş vəziyyətdə. Mikroborucuqlar yaşıl işarələnmişlər və nüvədə DNT mavi işarələnmişdir. [(b) hissəsi nəzakətlə Steve Rogers-dən.]

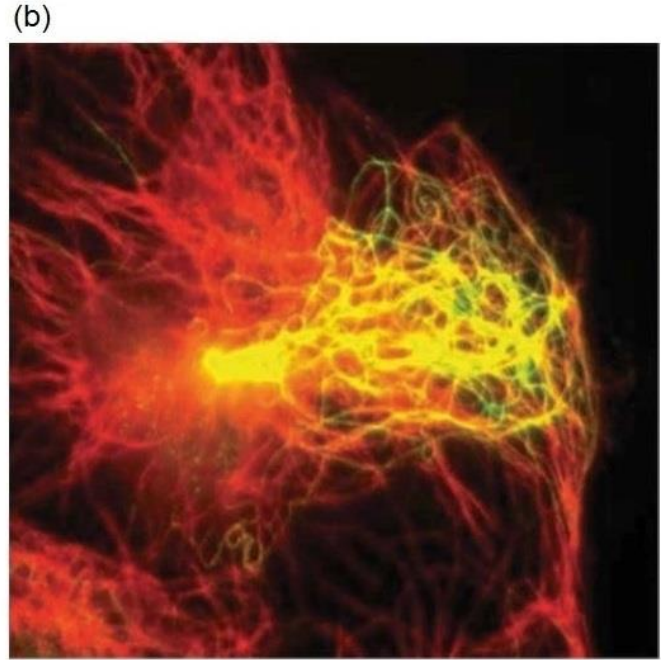
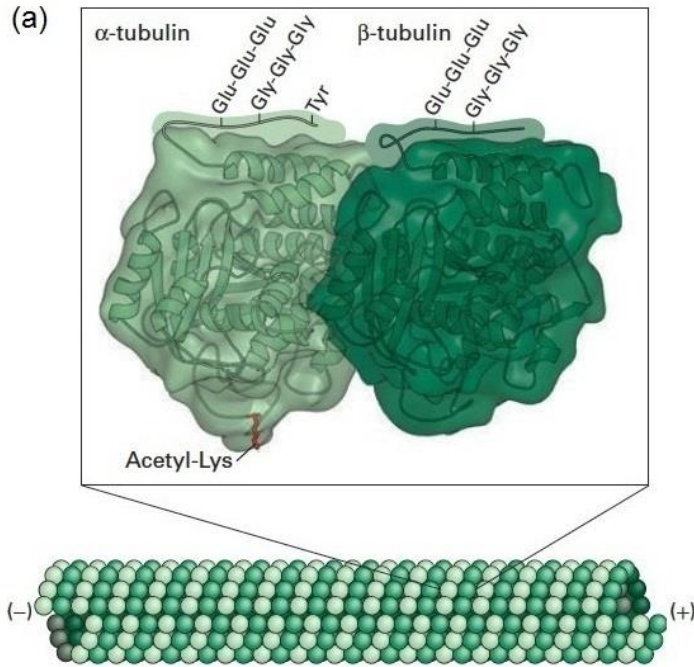
Dinein və kinezin-2-nin eyni orqanoidlə assosiasiyası melanosomlarla məhdudlaşmır, son zamanlar göstərilmişdir ki, bu motorlar bəzi hüceyrələrdə gecikən endosomların, lizosomların və mitoxondrilərin müvafiq lokalizasiyasında birgə fəaliyyət göstərirlər. Beləliklə orqanoidlərin bir sıra fərqli motorlarla assosiasiyası istisna deyil, meydana çıxan bir mövzudur.

Tubulinin Modifikasiyası Müxtəlif Sınıf Mikroborucuqları və Onların Motorlarla Əlçatanlığı Fərqləndirir

Müxtəlif sınıf mikroborucuqların fəaliyyətinə və stabilliyinə post-translyasiya modifikasiyaları təsir edir. Hərçənd ki, müxtəlif tipli modifikasiyalar aşkar edilmişdir, amma biz burada müzakirəmizi daha yaxşı anlaşılanlarla — lizin asetilləşməsi, deasetilləşməsi, poliqlutaminləşməsi və poliqlisilləşməsi ilə (Şəkil 18-30a) və onların funksional nəticələri ilə məhdudlaşdıracağıq.

Bu modifikasiyalardan ikisi yalnız α -tubulində tapılmışdır, β -tubulində isə yoxdur. Birinci mikroborucuq içərisində yerləşən α -tubulinin spesifik lizin qalıqlarında ϵ -amin qrupunun asetilləşməsidir, belə asetilləşmiş lizin qalığı olan mikroborucuqlar sentriollar, bazal cismlər və əsas kirpiciyə kimi (ilkin kirpiciyə 18.5 Bölməsində müzakirə olunur) stabil mikroborucuq quruluşlarda tapılmışdır. Həqiqətən də, tubulini asetilləşdirən bilməyən hüceyrələrdə əsas kirpiciyə qüsurlu olur, asetilləşmənin atıla (uzaqlaşdırıla) bilmədiyini hüceyrələrdə isə qeyri adi stabil əsas kirpiciyə olur. α -tubulinin ikinci modifikasiyası onun C-sonluqlu tirozin qalığındadır. Bu tirozin spesifik olaraq yalnız mikroborucuğun səthinə birləşndə fəaliyyət göstərən karboksipeptidaza vasitəsi ilə atıla bilər, karboksi peptidaza α -tubulin subvahidlərindən C-sonluq tirozinlərini ardıcıl olaraq çıxarır. Belə detirozilləşmiş mikroborucuqlar depolimerizasiyanın kinezin-13 ailəsi tərəfindən aparılan depolimerləşməyə davamlı olduqlarından daha çox sabitdirlər. Bundan başqa, miqrasiya edən hüceyrələrdə daha çox stabil olan bu mikroborucuqlar əsasən hüceyrə önünə tərəf istiqamətlənirlər. Detirozilləşmiş mikroborucuqlar depolimerləşəndə $\alpha\beta$ -dimerin α -tubulin subvahidinin C-sonluqlu tirozinini yalnız həllolan tubulində fəaliyyət göstərən tirozin liqaza vasitəsi ilə geriyyə əlavə olunur və indi $\alpha\beta$ -tubulin dimer başqa bir böyüyən mikroborucuğun uzunamasında (elonqasiyasında) istifadə oluna bilər.

Həm α - həm də β -tubulinin C-sonluqlu rayonu qlutamin turşusu qalığı ilə çox zəngindir və spesifik fermentlər bu qalıqları modifikasiya edə bilirlər. Bu modifikasiyalar yalnız mikroborucuqlar yığıldıqdan sonra baş verir. Tubulin quyruqlar qlutamin turşusu qalıqları zəncirinin spesifik qlutamat qalığına əlaqələndiyi poliqlutaminləşmə ilə və ya qlisin qalıqları zəncirinin başqa bir qlutamat qalıqlarına əlavə edildiyi poliqlisilləşmə ilə modifikasiya oluna bilər. Hal-hazırda bu iki modifikasiyanın bir-birinə zidd olduğu guman olunur, belə ki, əgər tubulin subvahidi poliqlisilləşmə ilə modifikasiya olunursa o poliqlutamilləşməyə qarşı mühafizə olunur və əksinə. Detirozilləşmə kimi, poliqlutamilləşmə də mikroborucuğun sabitliyini yüksəldə bilər.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-30 Tubulinin post-translyasiya modifikasiyası mikroborucuqların stabilliyinə və fəaliyyətinə təsir edir. (a) α - və β -tubulinin mikroborucuğun daxili səthində lizin asetilləşməsi saytlarını, xarici səthində isə poliqlisilləşmə və detirozilləşmə saytlarını göstərən quruluşu. Qeyd edək ki, poliqlutamilləşmə və poliqlisilləşmənin qarşılıqlı ziddiyatlı olması ehtimal olunur, beləliklə normal halda onlar eyni zamanda meydana gəlmirlər. Bax J. W. Hamond, D. Cai, and K. J. Verhey, 2008, *Curr. Opin. Cell Biol.* **20**:71–76. (b) Detirozilləşmiş mikroborucuqlar daha

böyük üstünlüklə hərəkətdə olan hüceyrənin aparıcı kənarına tərəf yönəlmişlər. Sağ tərəfə miqrasiya edən hüceyrə ümumi mikroborucuqlara görə (qırmızı) və detirozilləşmiş mikroborucuqlara görə (yaşıl) rənglənmişdir. Nəticədə birləşdirilmiş təsvirlər detirozilləşmiş mikroborucuqları hüceyrənin önündə qırmızı və yaşılın kombinasiyası olan zənginləşmiş sarı rəngdə göstərir. [(a) hissəsi E. Nogales, S. G. Wolf, and K. H. Downing, 1998, *Nature* **391**:199–203-dən, PDB ID 1tub. (b) hissəsi nəzakətlə Greg Gundersen tərəfindən.]

Tubulinin bu post-translyasiya modifikasiyaları yalnız mikroborucuq sabitliyinə deyil həmçinin molekulyar motorların mikroborucuqlarla əlaqəyə girmək qabiliyyətinə də təsir edir (Şəkil 18-30b). Kinezin-1 daha böyük üstünlüklə detirozilləşmiş və asetilləşmiş mikroborucuqlarla əlaqəyə girir, belə ki, bu modifikasiyalar ola bilsin ki, neyronlarda bu motorların aksonal daşınmaya səfərbər olunması üçün əhəmiyyətlidir. Bizim Şəkil 18-5e-də qeyd etdiyimiz kimi, neyronlar öz dendritlərində və öz aksonlarında müxtəlif mikroborucuq təşkilinə malikdirlər. Aksonlarda mikroborucuqlar asetilləşmə və detirozilləşmə ilə sabitləşirlər, bu aksonal transport üçün kinezin-1-in onlarla daha böyük üstünlüklə assosiasiyaya girməsinə imkan verir. Poliqlutamilləşmənin əsas rolu kirpiciklərin və qamçının döyünməsindədir, biz bunu növbəti bölmədə müzakirə edirik.

Mikroborucuqların funksiyasında və mikroborucuq-əsaslı motorlarda tubulinin post-translyasiya modifikasiyasının təsirini izah edən tədqiqatlar hamısı son zamanların tədqiqatlarıdır; biz müxtəlif mikroborucuq siniflərini fərqləndirən və onları xüsusi funksiyaya hazırlayan çoxsaylı “kodların” aşkar olunmasını həyata keçirən gələcək tədqiqatları gözləyə bilirik.

18.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Kinezinlər və Dineinlər: Mikroborucuq-Əsaslı Motor Zülalları

- Kinezin-1 mikroborucuğun (+) sonluğuna-istişamətlənmiş membranla əhatə olunan orqanoidləri daşıyan ATP-dən asılı olan motor zülalıdır (bax Şəkil 18-19).
- Kinezin-1, hər biri N-sonluqlu motor domeninə malik olan iki ağır zəncirdən və yüklə birləşən iki yüngül zəncirdən təşkil olunub (Şəkil 18-18).
- Kinezin superailəsinə interfaza və mitoz hüceyrələrində fəaliyyət göstərən, orqanoidləri daşıyan və antiparalel mikroborucuqları bir-birindən sürüşərək keçən motorlar daxildir. Superailəyə, hərəkətli olmayan, əvəzində mikroborucuq uclarını stabiləşdirən kinezin-13 sinifi daxildir (bax Şəkil 18-20).
- Kinezin-1, ATP hidrolizini özünün iki başı arasında koordinasiya etdiyindən və bu zaman başlardan biri həmişə möhkəm şəkildə mikroborucuğa birləşmiş vəziyyətdə olduğundan, o yüksək prosessiv motordur (bax Şəkil 18-21).
- Kinezin-1 qeyri fəal bükülmüş konformasiyada və ya yük ilə assosiasiyada olan genişlənməmiş konformasiyada mövcud olur (bax Şəkil 18-22).
- Sitoplazmatik dinein mikroborucuğun (-) sonluğuna-istişamətlənmiş ATP-dən asılı olan motor olub yükü daşımaq üçün dinaktin kompleksi və yük adaptorları ilə birləşir (bax Şəkil 18-24 və 18-26).

- Kinezinlər və dineinlər çoxsaylı müxtəlif orqanoidlərin hüceyrədə yerləşməsinə təşkil etmək üçün onlarla birləşirlər (bax Şəkil 18-28).
- Tubulinin post-translyasiya modifikasiyası mikroborucuqların sabitliyinə təsir edə bilər və onların mikroborucuq-əsaslı motorlarla əlaqə yaratmaq imkanlarını tənzimləyir

18.5 Kirpiciklər və Qamçılar: Mikroborucuq-Əsaslı Səth Quruluşları

Kirpiciklər və qamçılar plazma membranının mikroborucuq-əsaslı və membranla-örtülmüş uzanmalarına aiddirlər, əksər heyvan hüceyrələrindən və ibtidailərin çoxundan uzanıb çıxırlar. Çoxsaylı zəngin hərəkətli kirpiciklər xüsusi epitelilərin səthində, məsələn traxeyanı örtən epitelilərin səthində tapılmışdır (bax Şəkil 4-35), burada onlar mayeni hərəkət etdirmək üçün dalğışəkilli formada döyünürlər. Kirpiciklərə nisbətən daha uzun olan amma quruluşuna görə onlara çox oxşar olan heyvan-hüceyrələrinin qamçıları sperma kimi hüceyrəni mayədə pər (**propell**) kimi hərəkət etdirə bilər. Kirpicik və qamçılar çox sayda müxtəlif mikroborucuq-əsaslı motorlara malik olurlar: aksonemal dineinlər qamçıların və kirpiciklərin döyünməsinə həyata keçirirlər, halbuki kinezin-2 və sitoplazmatik dinein qamçı və kirpiciyin toplanmasını və dağılmasını həyata keçirir.

Eukariotik Kirpiciklər və Qamçılar Dynein Motor Körpülərlə Birləşmiş Uzun Duplet Mikroborucuqlara Malikdirlər

Kirpicik və qamçılar uzunluğuna görə bir neçə mikrometrdən bəzi həşaratların sperma qamçılarında 2 mm qədər uzanır. Onlar mikroborucuqların mərkəzi cüt sinqlet, lakin ultraquruluşuna görə fərqli olan mikroborucuqları əhatə edən, doqquz duplet mikroborucuğun 9 + 2 düzülüşündən ibarət olan **aksonema** kimi adlandırılan mərkəzi dəstəsinə malikdirlər (Şəkil 18-31a, b). Doqquz xarici dupletdən hər biri 13 protofilamenti olan A mikroborucuqdan və 10 protofilamenti olan B mikroborucuqdan ibarətdir (bax Şəkil 18-4). Kirpiciklərdə və qamçalarda bütün mikroborucuqlar eyni polyarlığa malikdirlər: (+) sonluqlar distal

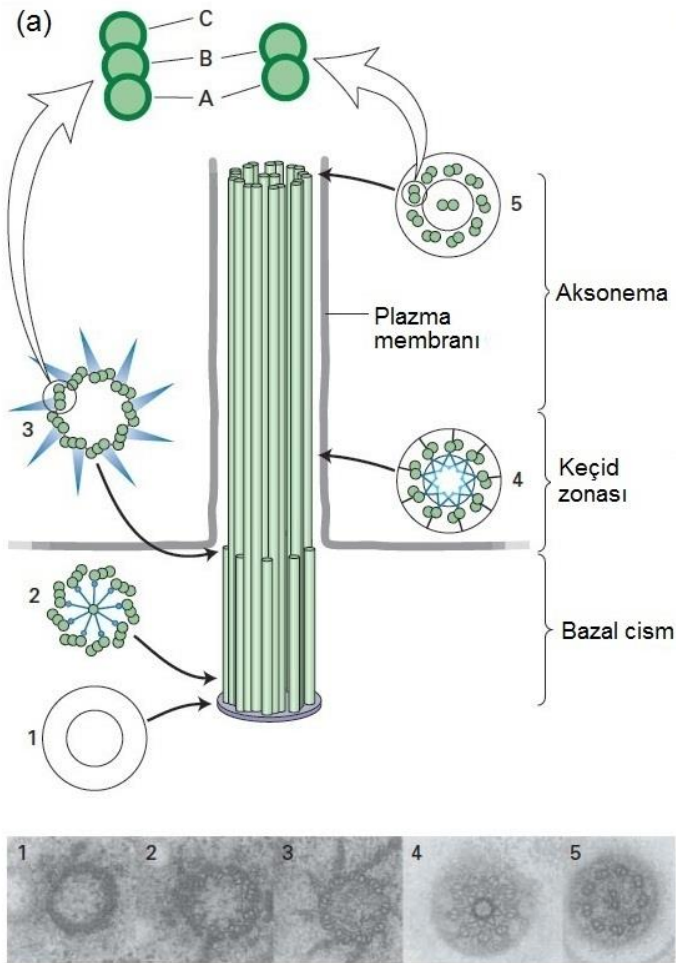
(uzaq) uclarda yerləşir. Aksonoma hüceyrədəki qoşulma nöqtəsində, doqquz triplet mikroborucuqdan ibarət olan mürəkkəb quruluşu əmələ gətirən bazal cismlə bağlıdır.

Aksonem üç zülal dəstəsinin kəşifən əlaqələri ilə bir yerdə saxlanılır (Şəkil 18-31b). İki mərkəzi sinqlet mikroborucuq, nərdivandakı pillələr kimi dövrü körpülərlə bir-biri ilə bağlıdır. Linkerlərin *neksin* zülallarından təşkil olunmuş ikinci dəsti yaxınlıqdakı xarici duplet (ikiqat) mikroborucuğu bir-biri ilə bağlayır. *Radial millər* xarici dupletlərin hər bir A borucuğundan mərkəzi cütlərə doğru uzanır.

Kirpiciklərdə və qamçalarda olan əsas motor zülalı, sitoplazmatik dineinə yaxın olan böyük çoxsubvahidli zülal, *aksonemal dinein*dir. Aksonemal dinein motorların iki sırası periodik olaraq xarici duplet mikroborucuqların A borucuğunun hər birinin aşağıya doğru uzunluğu boyu qoşulurlar; bu motorlar *daxili-qol* və *xarici-qol* dineinləri kimi adlanırlar (bax Şəkil 18-31b). Məhz bu dinein motorların yaxınlıqda olan dupletdəki B borucuqlarla qarşılıqlı əlaqəsi kirpicik və qamçıların əyilməsinə səbəb olur.

Kirpiciklərin və Qamçıların Döyünməsi Xarici Duplet Mikroborucuqların Nəzarət Olunan Sürüşməsi ilə Əmələ Gəlir

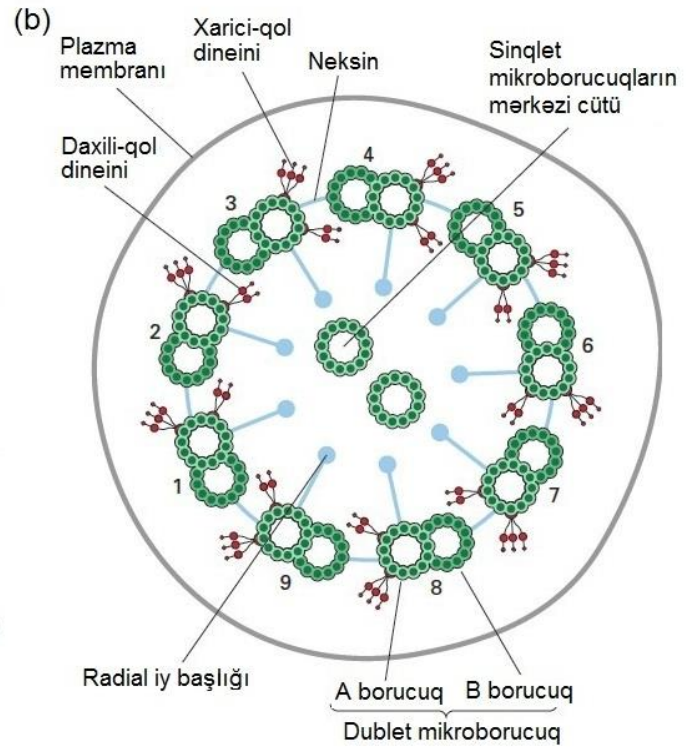
Kirpiciklər və qamçılar hərəkətli quruluşlardır, çünki aksonemal dinein motorun fəallaşması onların əyilməsinə səbəb olur. Video mikroskopiyadan istifadə edərək onların hərəkətinin yaxından öyrənilməsi aşkar etdi ki, əyilmə kirpiciyin və ya qamçıların əsasında başlayır sonra da bütün quruluş boyunca yayılır (Şəkil 18-32). Bunun necə baş verməsinin açarı ayrılmış aksonların tədqiqatlarından gəlmişdir. Bu klassik eksperimentlərdə, aksonemlər onları yalnız neksin linkerlərdən kəsən proteazalarla ehməlcə işlənmişdir. İşlənmiş aksonemlərə ATP əlavə ediləndə duplet mikroborucuqlar bir dupletin A borucuğu birləşmiş, yaxın (bitişik) dupletin B borucuğu ilə aşağıya doğru hərəkət edən dinein kimi bir-birindən sürüşüb keçirlər (Şəkil 18-33b, c). İntakt neksin linkeri olan aksonemlərdə mikroborucuq dupletləri bir-biri ilə əlaqəli olduğundan, dinein aktini qamçıların əyilməsinə induksiya edir (Şəkil 18-33a).



ŞƏKİL 18-31 Kirpicik və qamçının quruluşunun təşkili. (a) Kirpicik və qamçılar doqquz əlaqəli triplet mikroborucuqlar ətrafında qurulmuş bazal cismlərdən yığılmışlar. Bazal cismlərin A və B mikroborucuqları ilə davam edən aksonemin A və B borucuqları - kirpicik və qamçıların membranla əhatə olunan özəyidir. Bazal cismlə aksonemin arasında keçid zonası yerləşir. Bazal cismin diaqramı və onu

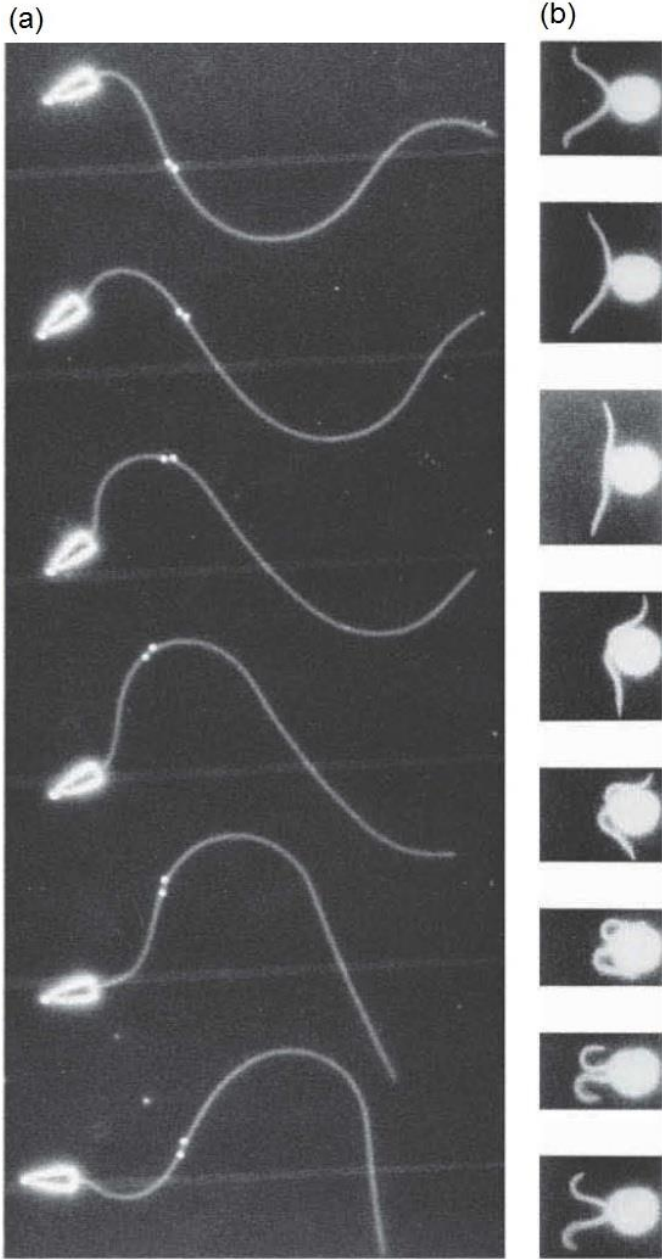
Dineinin spesifik yarımbölmələrin necə fəallaşdığı və fəallaşma dalğasının aksonema boyu aşağıya necə yayıldığı hələ tam anlaşılmır, amma tubulinin post-translyasiya modifikasiyası burada rol oynaya bilər. 18.4 bölməsindən yada salaq ki, tubulin subvahilərin post-translyasiya modifikasiyası motor zülallarla mikroborucuqlar arasındakı əlaqələrə təsir edə bilər. Xarici aksonema dupletin B borucuqları tez-tez poliqlutaminləşir və bu modifikasiya daxili qol dineinin B borucuqla qarşılıqlı əlaqələrinə güclü təsir edir. Daxili-qol dinein motorlar kirpiciklərin döyünməsinə əsasən dalğışəkili təsir etdiyindən, kirpicik funksiyasının məhz bu aspekti poliqlutaminləşməyə gedə bilməyən mutantlarda pozulmuşdur.

Qamçıdaşılı Daşınma Materialı Kirpiciklərdə və Qamçılarda Aşağıya və Yuxarıya Hərəkət Etdirir

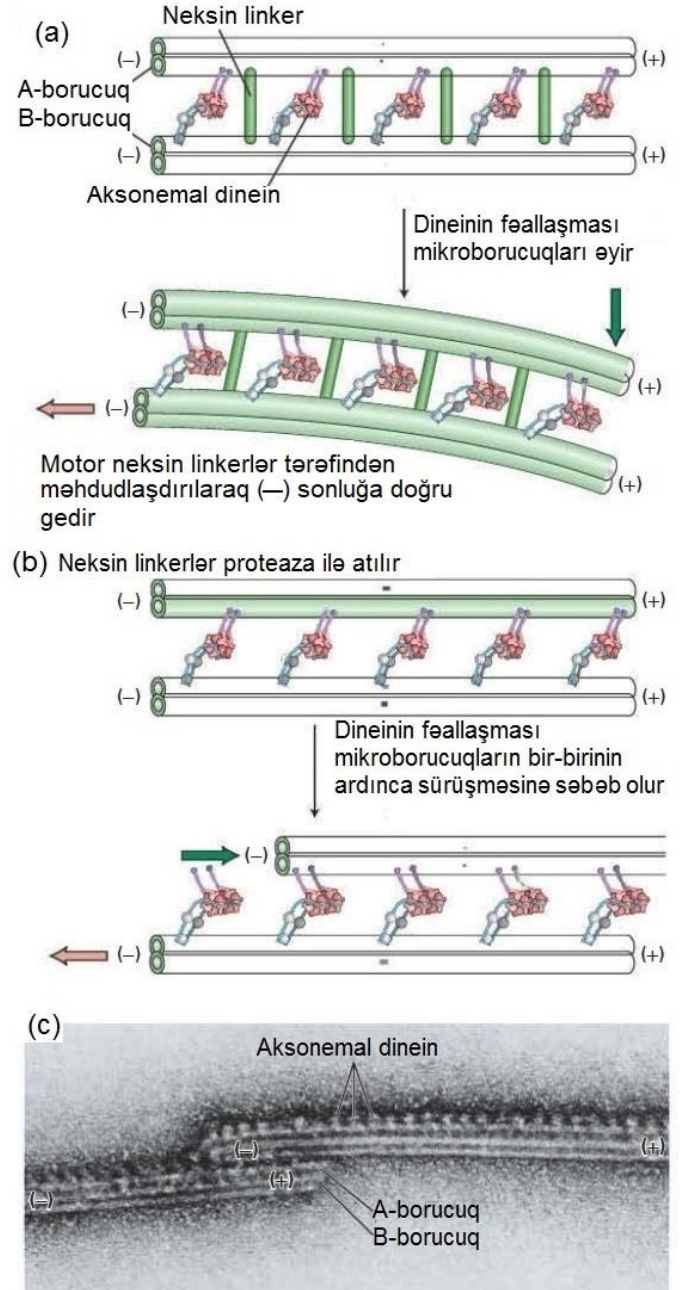


müşayət edən eninə bölmələr, keçid zonası və aksonema onların mürəkkəb quruluşunu göstərir. (b) Kirpiciyin eninə kəsiyi bu quruluşların identikliyinə göstərir. Bax S.K. Dutcher, 2001, *Curr. Opin. Cell Biol.* 13:49-54. [Microfotolar Elsevier-in razılığı ilə Dutcher, S. K., "The tubulin fraternity: alpha to eta," *Curr. Opin. Cell Bio.*, 2001, 13(1):49-54-dən yenidən çap olunur.]

Hərçənd ki, aksenomal dinein kirpiciklərin və qamçıların əyilməsində iştirak edir, son zamanlar bu quruluşlarda ba.qa bir tip hərəkətlilik d' müşahidə edilmişdir. *Chlamydomonas reinhardtii* iki-qamçılı yaşıl yosunda aparılan dəqiq tədqiqatlar aşkar etdi ki, sitoplazmatik zərrəciklər 2.5 µm/saniyə sürətində konstant sürətlə qamçının ucuna doğru hərəkət edir (anteroqrad hərəkət) və başqa zərrəciklər 4 µm/saniyə sürətlə qamçının ucundan əsasına doğru hərəkət edir (retroqrad hərəkət). *Qamçıdaşılı daşınma (IFT – intraflagellar transport)* kimi məlum olan bu hərəkət həm kirpiciklərdə həm də qamçılarda baş verir. Işıq və elektron mikroskopiyası aşkar etdi ki, zərrəciklər xarici duplet mikroborucuqlar və plazma membranı arasında hərəkət edir (Şəkil 18-34). Yosun mutantlarının analizi nümayiş etdirdi ki, anteroqrad hərəkət kinezin-2 ilə retroqrad hərəkət isə sitoplazmatik dineinlə gücləndirilir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-32 Vidiomikroskopiya göstərir ki, qamçılarla hərəkət (fırlanaraq) spermanı və *Chlamydomonas*-ı irəliyə hərəkət etdirir. Hər iki halda, hüceyrələr sola hərəkət edirlər. (a) Tipik sperma qamçısında əyilmənin ardıcıl dalğaları qamçı əsasında əmələ gəlir və uca doğru yayılır, bu dalğalar hüceyrəni mühitdəki mayenin əksinə tərəf itələyir və onu irəliyə hərəkət etdirir. Belə çoxsaylı-təsiretmə ardıcılığında çəkilmiş, birinci çərçivədə (yuxarıda) qamçı əsasında əyilmə qamçı boyunca son çərçivəyə qədər yarı yolu irəliləmişdir. Bu qamçılara bərkidilmiş bir cüt qızıl dənələrinin, əyilmə onların olduğu rayondan keçdikdə kənara hərəkət etmələri görünür. (b) *Chlamydomonas*-da iki qamçının döyünməsi effektiv zərbə (iki yuxarı çərçivə) və bərpa zərbəsi (qalan çərçivələr) kimi adlandırılan iki mərhələdə baş verir. Effektiv zərbə orqanizmi suda dartır. Bərpa zərbəsi zamanı əyilmənin başqa bir dalğası qamçının əsasında kənara doğru hərəkət edərək, qamçı hüceyrənin səthi boyunca yeni effektiv zərbəni yaratmaq üçün lazım olan vəziyyətə çatmasına qədər itələyir. Adətən vurma saniyədə 5-10 dəfə baş verir. [(a) hissəsi ©1991 C. Brokaw et al., *The Journal of Cell*



ŞƏKİL 18-33 Kirpiciyə və qamçılarla əyilmə aksoneomal dinein vasitəsi ilə baş verir. (a) Xarici dupletin A borucuğu üzərinə bərkidilmiş aksoneomal dinein qonşu dupletin B borucuğunu çəkir və (-) sonluğa doğru hərəkət etməyə çalışır. Qonşu borucuqlar nekxinlə bağlı olduğundan dinein tərəfindən yaranmış qüvvə kirpiciyi və ya qamçıyı əyir. (b) (a)-dakı modelin eksperimental sübutu. Dineinin fəallığını induksiya etmək üçün nekxin linkerləri proteazalarla kəsildə və ATP əlavə edildəndə mikroborucuq dupletləri sürüşərək bir-birinin yanından keçirlər. (c) Proteaza ilə işlənmiş və ATP ilə inkubasiya olunmuş iki duplet mikroborucuğun elektron mikrofotosu. Çarpaz kəsişən zülallər olmadıqda, duplet mikroborucuqlar hədsiz dərəcədə sürüşürlər. Dinein qollarının A borucuqlardan uzandığını və sol mikroborucuq dupletindəki B borucuqları ilə əlaqəyə girdiyini görmək olur. [(c) hissəsi nəzakətlə P. Satir tərəfindən.]

Chlamydomonas qamçılarında daşınan anteroqrad və retroqrad IFT zərrəciklər ayrılmış və onların tərkibi öyrənilmişdir. Onlar, IFT kompleks A və IFT kompleks B kimi adlandırılan iki müxtəlif zülal komplekslərindən təşkil olunmuşlar. Bu komplekslərə təsir edən mutasiyalı hüceyrələrin fenotiplərini analiz edərək aşkar edilmişdir ki, B kompleksi anteroqrad IFT üçün lazım olduğu halda A kompleksi retroqrad IFT üçün lazımdır. Funksiyanın bu cürə ayrılmasına baxmayaraq, hər iki kompleks hər iki istiqamətdə daşınır. IFT zərrəciklərin bütün komponentləri, nematodlar, meyvə milçəkləri, siçan və insan kimi kirpiciyə malik olan orqanizmlərdə homoloqları vardır, amma bu zərrəciklər, kirpiciyə olmayan mayaların və bitkilərin genomunda yoxdur, bu göstərir ki, onlar IFT üçün spesifikdirlər.

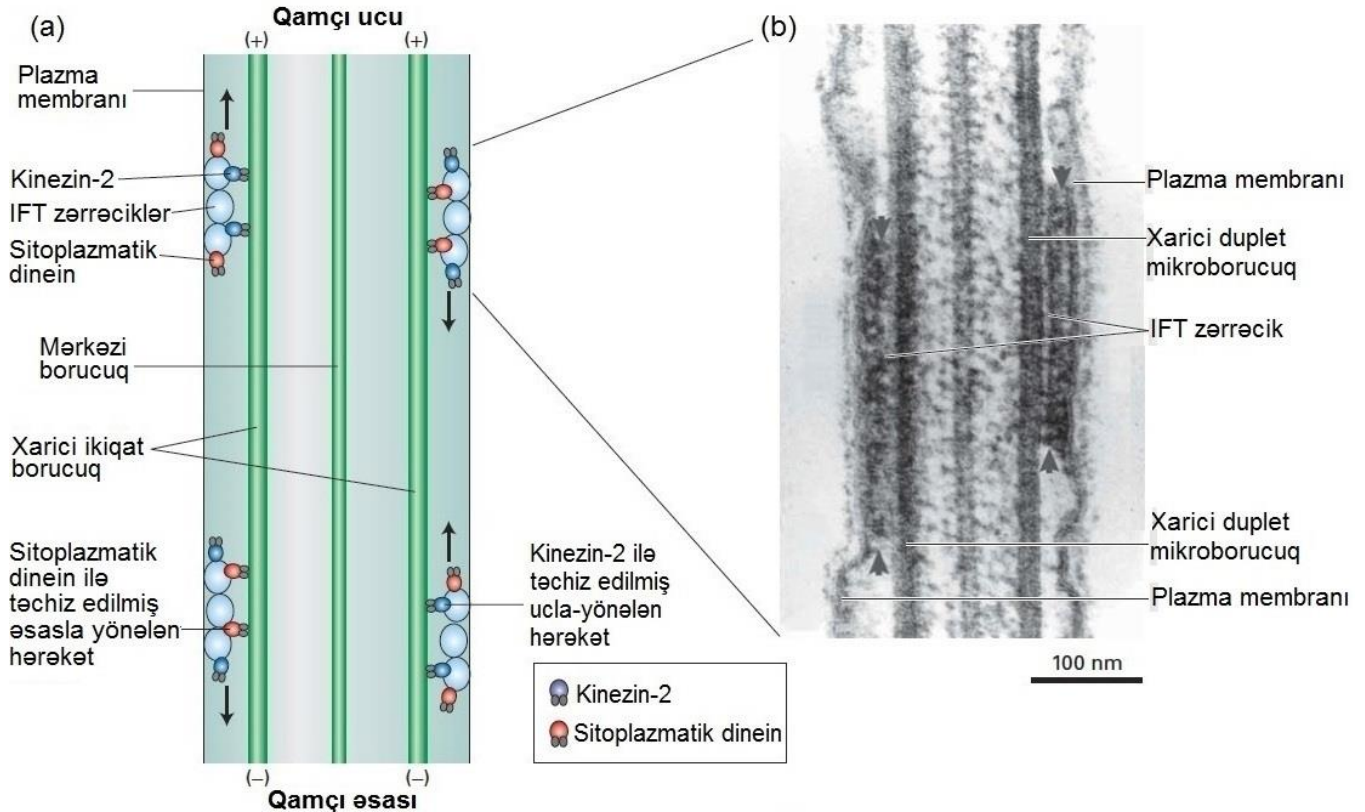
IFT-nin funksiyası nədən ibarətdir? Qamçıda olan bütün mikroborucuqların ucunda böyüyən (+) sonluq olduğundan, bu sonluq yeni tubulin subvahidləri və qamçının quruluş zülallarının əlavə olduğu saytdır. Üstəlik, hətta bərabər uzunluqlu qamçıları olan hüceyrələrdə mikroborucuqlar, qamçı ucunda baş verən yığılma və dağılma vasitəsi ilə təkrar dönürlər. Kinezin-2-nin qüsurlu olduğu hüceyrələrdə qamçı qısalır, bu göstərir ki, IFT yeni matrialları uzanma üçün uca daşıyır. IFT fasiləsiz baş verən proses olduğundan kinezin-2 molekulları uca çatarkən onlarda nə baş verir və dinein motorlar zərrəcikləri retroqrad daşımaq üçün haradan gəlirlər? Qeyd edək ki, dinein qamçı ucuna kinezin-2 ilə güclənən anteroqrad-hərəkətli

zərrəcik üzərində yük kimi gətirilir və sonra zərrəcik dinein vasitəsi ilə geriye qamçı əsasına daşınanda kinezin-2 özü yükə çevrilir.

Əsas Kirpiciyə Interfaza Hüceyrələrinin Sensor Orqanoidləridir

Çoxsaylı onurğalı hüceyrələri əsas (ilkin) kirpiciyə adlanan hərəkətsiz, eyni ölçülü kirpiciyə əmələ gətirirlər. Əsas kirpiciyə stabil quruluşlar olub, mikroborucuqların əksəriyyətini dağıdan kolxisin kimi dərmanlara qarşı stabil olurlar; kolxisinlə təsir etdikdən sonra qalan yeganə mikroborucuq sentriollarda və əsas kirpiciyədə tapılmışdır (bax Şəkil 18-12). Üstəlik, əsas kirpiciyədə tubulin yüksək dərəcədə asetillənmiş olur, beləliklə asetillənmiş α -tubulini tanıyan xüsusi anticislərdən istifadə etməklə hər bir interfaza hüceyrəsində tək bir əsas kirpiciyə identifikasiya etmək olur (Şəkil 18-35a).

Terminal differensasiya olunmuş hüceyrələr və bölünən hüceyrələr interfazada əsas kirpiciyəyə malik olurlar. Sonuncu vəziyyətdə, əsas kirpiciyənin mövcud olması sentriolların duplikasiyası ilə bağlıdır (18.6 Bölmədə müzakirə olunur), əvvəlki qocalmış "ana" sentriol əsas kirpiciyənin toplanması üçün bazal cism kimi fəaliyyət göstərir (Şəkil 18-35b)



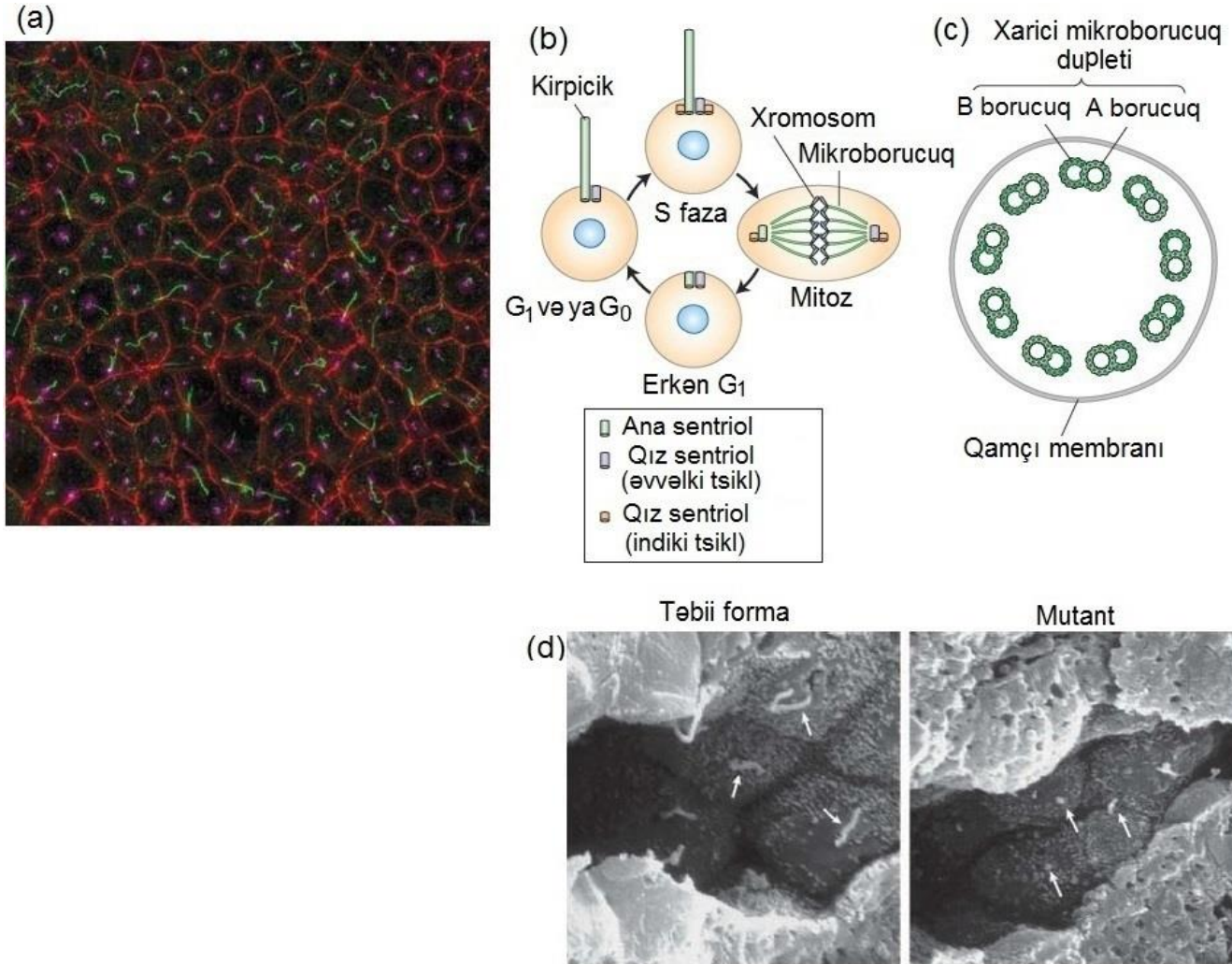
ŞƏKİL 18-34 Qamçı daxili daşınma. (a) Zərrəciklər plazma membranı ilə xarici duplet mikroborucuqlar arasında daşınır. Zərrəciklərin qamçı ucuna daşınması kinezin-2-dən asılı olduğu halda, qamçının əsasına doğru daşınma sitoplazmatik dinein vasitəsi ilə həyata keçirilir. (b) Bu nazik kəsikli elektron mikrofoto

Chlamydomonas qamçısında IFT zərrəciklərini göstərir. [(b) hissəsi Macmillan Publishers Ltd: razılığı ilə Rosenbaum J.L., and Witman, G.B., "Intraflagellar transport," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2002, 3, 813-825-dən təkrar çap olunur.]

Əsas kirpiciklər hərəkətsizdir, çünki onlarda başqa kirpiciklərdə və qamçılarda tapılmış mikrororucuqların və dinein qolların mərkəzi cütləri yoxdur (Şəkil 18-35c). Son zamanların tədqiqatları aşkar etdi ki, əsas kirpiciklərin əsasında sensor orqanoidləri durur, hüceyrəxarici siqnalları tutmaqla hüceyrələrin “antennası” kimi fəaliyyət göstərir. Məsələn, qoxunun hiss olunması odorantların burunda olfaktori sensor neyronların əsas kirpiciklərində yerləşən reseptorlara birləşməsi ilə baş verir (bax Fəsil 22). Başqa bir nümunədə, gözün çöp və konus hüceyrələri işığın udulmasında iştirak edən zülalları yerləşdirmək üçün güclü şəkildə genişlənmiş uca malik olan əsas kirpiciyi vardır. IFT sisteminin bir hissəsi kimi kinezin-2 ilə daşınan retinal zülal opsin əsas kirpiciklə, təxminən dəqiqə

ərzində 2000 molekullu sürətlə hərəkət edir. Bu daşınmada qüsurlu retinalın degenerasiyasına səbəb olur.

Əsas kirpiciyin öz əsasında diffuziya baryeri vardır, belə ki, yalnız müvafiq zülallar ona daxil ola bilər: 10 kDa-dan yüksək olan qlobulyar zülallar asanlıqla daxil ola bilər, amma 40 kDa-dan yüksək olan zülallar daxil ola bilmir. Qeyd etmək lazımdır ki, bu maneədən keçən nəqliyyat nüvə məsələlərindən keçən nüvəyə nəqliyyat ilə oxşarlığa malikdir, həqiqətən də, nəqliyyatın bu iki formasının bəzi ümumi komponentləri vardır. Yada salmaq ki, nüvə məsələlərindən import Ran GTPazanın qradientini tələb edir və yük zülalları importinlərə birləşirlər (bax Bölmə 13-6). Ən azı, kinezin-2 kimi bəzi zülalların əsasında keçərək və əsas kirpiciyə daşınması həm Ran GTP-azanın qradientini həm də importinləri tələb edir.



ŞƏKİL 18-35 Çoxsaylı interfaza hüceyrələri hərəkətsiz əsas (ilkin) kirpiciklərə malik olurlar. (a) Şiçanın, əsas kirpiciyi naxışlayan, asetillənmiş α -tubulinə (yaşıl) spesifik olan, sentrosomları naxışlayan perisentrinə spesifik (magenta – çərhayı) anticisimlərlə və hər bir hüceyrəni əhatə edən sıx qovşaqları yarılqlayan ZO-1 (qırmızı) ilə rənglənmiş epitel hüceyrələrinin fluoressensiya mikrofotusu. Diaqram ilkin kirpiciyin mövcud olmasının bazal cism rolunu oynayır sentriollarla necə bağlı olduğunu göstərir. (c) Diaqram hərəkətsiz ilkin kirpiciklərdən keçən kəsiyi göstərir, hərəkətli kirpicik və qamçılar üçün tipik olan mikrororucuqların və dinein qolların mərkəzi cütlərinin olmadığını göstərir. (d) Təbii formalı şiçanın (*solda*) və IFT

zərrəciklərinin komponentlərinə görə qüsurlu olan mutant şiçanın böyrəyinin toplayıcı kanallarının epitel hüceyrələrinin skaner elektron mikrofotusu. Oxlar, mutant şiçanda qırıqlar kimi görünən ilkin kirpiciklərə işarə edir. [(a) John Wiley & Sons razılığı ilə “A Cell-Based Screen for Inhibitors of Flagella-Driven Motility in Chlamydomonas Reveals a Novel Modulator of Ciliary Length and Retrograde Actin Flow,” Enge, B.D. et al., *Cytoskeleton*, **68**(3)-dən təkrar nəşr olunur. Müəlliflik hüququ © 2011. (d) ©1991 Douglas J. Cole, from Pazour, G. et al., *The Journal of Cell Biology*. **151**:709-718. doi: 10.1083/jcb.151.3.709.]

Əsas Kirpiciklərdəki Qüsurlar Çox Xəstəliklərə Səbəb Olur



Uzun illər əsas kirpiciyin quruluşu və funksiyası nəzərə alınmırdı. Amma, bu vəziyyət son onillikdə dramatik şəkildə dəyişildi, belə ki, siçanlarda qamçı daxili daşınmada (IFT) qüsurların əsas kirpiciklərin itirilməsi ilə nəticələndiyi göstərilmişdir (şəkil 18-35d) və xəstəlik əsas kirpiciyin və IFT-in qüsurları ilə izlənilmişdir. İlk ipuculardan biri *Chlamidomonas*-dakı IFT zülalın məməlilərdəki homoloqunun itirilməsinin əsas kirpiciklərdə qüsurun əmələ gəlməsi ilə nəticələnməsinin və autosomal dominant polisistik böyrək xəstəliyinə (ADKPD) səbəb olmasının kəşfindən gəlmişdir. Guman olunur ki, böyrək toplayıcı boruların epitel hüceyrələrində əsas kirpiciklər maye axınının sürətini onların əyilmə dərəcəsində ölçmək üçün mexaniki-kimyəvi sensor kimi fəaliyyət göstərirlər.

Başqa bir misaldə, Bardet-Biedl sindromlu xəstələrdə retinal dağılma (degradasiya), polidaktilya (Yunan sözü “çox barmaqlar”) və piylənmə baş verir. Sindrom 14 gendin istənilən birində baş verən mutasiya nəticəsində yaranır və əsas kirpiciyin funksiyasındakı qüsurlara qədər izlənilmişdir. Bu genlərin çoxu, COPI, COPII və klatrin (14 Fəsilə müzakirə olunur) ümumi olan quruluş elementləri olan və membran zülallarını kirpiciklərə ötürən qabıq əmələ gətirən oktamer kompleks BBSom subvahidini kodlaşdırır. BBSomların çoxunun komponentlərində qüsurlar əsas kirpiciklərin özlərinin quruluşuna təsir etmir, normal halda onlar BBSomların IFT aparatla qarşılıqlı əlaqəsi vasitəsi ilə əsas kirpiciyə çatdırılan spesifik membran reseptorlarının çatışmaması nəticəsində yaranırlar. Məsələn, Bardet-Biedl sindromlu xəstələrdə görünən polidaktilya əsas kirpicikdə embriogeneza zamanı forma inkişafında lazım olan xüsusi HedgeHog signalının olmaması nəticəsində yaranır (bax Fəsil 16). ■

18.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Kirpiciklər və Qamçılar: Mikroborucuq-Əsaslı Səth Quruluşlar

- Kirpiciklər və qamçılar, xarakterik mərkəzi cüt singlet mikroborucuqlara və doqquz dəst xarici duplet mikroborucuqlara malik olan mikroborucuq əsaslı hüceyrə səth quruluşlarıdır (bax Şəkil 18-31).
- Bütün kirpicik və qamçılar, sentriollara çox yaxın (oxşar) olan doqquz dəst xarici triplet mikroborucuqlardan ibarət olan quruluşlardan, bazal cisimlərdən inkişaf edirlər.
- Kirpicik və qamçıların əyilməsi üçün bir mikroborucuq dupletində A borucuğa qoşulmuş aksonomal dineinlər digər dupletdəki B borucuqla qarşılıqlı əlaqəyə girir.
- Kirpiciklər və qamçılar qamçı daxili daşınma (IFT – intraflagellar transport) mexanizminə malikdirlər, material

kirpicik ucuna kinezin-2 vasitəsilə daşınır, ucdan geriyyə, əsasən isə sitoplazmatik dineinlə daşınır. IFT kirpiciyin və qamçının uzunluğunu və funksiyasını tənzimləyir.

- Çox hüceyrələr öz səthində, normal hərəkətli hüceyrələrdəki mərkəzi cüt mikroborucuqlardan və dinein qollardan məhrum olan tək hərəkətsiz əsas (ilkin) kirpiciyə malikdirlər. Əsas kirpicik, hüceyrə xarici signal üçün öz plazma membranında lokalizasiya olunmuş reseptora malik olan sensor orqanoidi kimi fəaliyyət göstərir. Onun sensor fəaliyyətinə görə, çox xəstəliklər reseptorların lokalizasiyasındakı qüsurlar və ya əsas kirpiciyin öz quruluşundakı qüsurlar nəticəsində meydana gəlir.

18.6 Mitoz

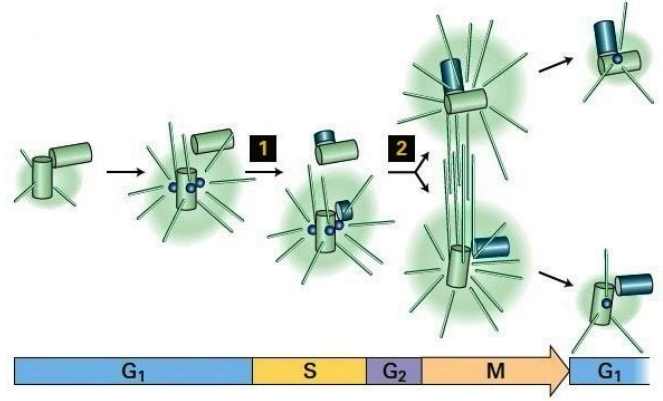
Həyatın mövcud olması və davam etməsinə imkan verən bütün proseslərin yəqin ki, ən kritik əhəmiyyətli hüceyrələrin dəqiqliklə ikiləşməsi və sonra da xromosomlarını hər bir hüceyrə bölünməsində dəqiq şəkildə seqreasiya etməsidir. Hüceyrə tsikli zamanı, hüceyrələrin Fəsil 19-da müzakirə olunan yüksək dərəcədə tənzimlənən prosesi onların xromosomlarını hüceyrə tsiklinin S faza (DNT sintezi fazası) adlanan dövründə dəqiqliklə ikiləşdirir (duplikasiya edir). Fərdi xromosomlar ikiləşdikdən sonra, onlar kohezirlər adlanan zülallar vasitəsi ilə bir yerdə saxlanılırlar. Sonra, hüceyrələr ikiləşmiş xromosomların gız hüceyrələr arasında seqreasiya etdiyi mitoz keçməzdən öncə G2 adlanan dövrü (gap-2 – boşluq-2) keçirlər. Mitoz prosesi çox dəqiq olmalıdır – xromosomun itirilməsi və ya artıq qazanılması ya hüceyrə üçün öldürücü olmalıdır (bu hal tez-tez aşkar edilmir), ya da hüceyrə üçün ağır mürəkkəbləşmələrlə nəticələnməlidir. Belə hesab edilir ki, maya öz 16 xromosomundan birini yalnız 100000 hüceyrə bölünməsində bir dəfə səhv seqreasiya edir, bu da mitozu biologiyanın ən dəqiq proseslərindən biri edir. Bu dəqiqliyə nail olmaq üçün proses elə yüksək dərəcədə tənzimlənməlidir ki, o nizamlanmış ardıcıl şəkildə mərhələlərlə səhvlər edilmədən getsin. Mitozun etibarlılığını təmin edən mexanizmlər və zaman, 19-cu fəsilə ətraflı müzakirə etdiyimiz hüceyrə tsikli dövrəsi ilə sıx şəkildə tənzimlənir. Burada biz bu dövrə üzrə müzakirələrimizi onların mikroborucuqlara və mitozun gedişinə tətbiqi ilə məhdudlaşdırırıq.

Sentrosomlar Hüceyrə Tsiklinin Əvvəlində Mitoza Hazırlıq Zamanı İkiləşir

Mitoz zamanı xromosomları bir-birindən ayırmaq üçün hüceyrələr MTOC-larını – sentrosomlarını - S fazasında xromosomların çoxalması ilə əlaqələndirilmiş şəkildə ikiləşdirirlər (Şəkil 18-36). Fəsil 19-da müzakirə edəcəyimiz kimi, hüceyrə tsikli əsasən hüceyrə-tsikli-spesifik tsiklinlərin tsiklindən-asılı olan kinazalarla (CDK) assosiasiyası ilə idarə olunur. İki kinaza – G₁/S faza CDK-lər və Plk4 adlanan digər tip kinaza sentrosomların ikiləşməsinə gücləndirirlər. Hüceyrə mitozu daxil olan kimi, ikiləşmiş sentrosomlar *sentrosom*

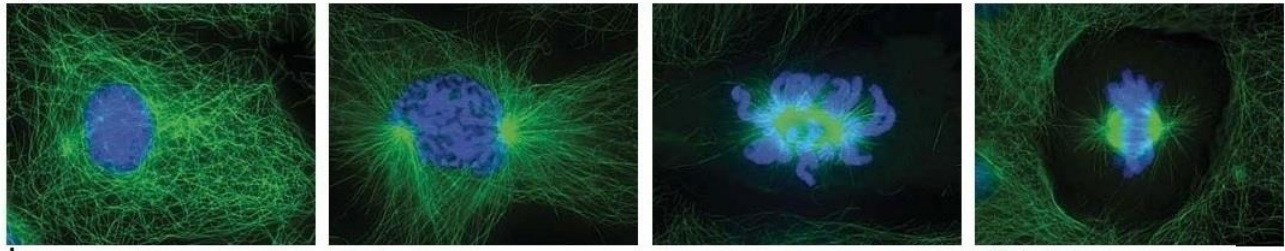
ayrılması adlanan proseslə ayrılırlar və sonra da mitoz şpindelinin iki qütbünün əmələ gəlməsi üçün mikroborucuqların yığılmasını nucleasiya edirlər. Heyvan hüceyrələrində sentrosomların sayına çox dəqiq şəkildə nəzarət olunmalıdır. Faktiki olaraq əksər şiş hüceyrələri ikidən artıq sentrosoma malik olurlar, bu da genetik qeyri sabitliyə gətirir, nəticədə xromosomların səhv seqreçiyası və bununla əlaqədar aneuploidiya (xromosomların qeyri bərabər sayı) baş verir. Aneuploidiyanın nəyə görə xərçəngə səbəb olması 24-cü Fəsilə ətrafı müzakirə olunur.

Hüceyrələr mitoz daxil olan kimi, iki MTOC-un fəallığı – onların mikroborucuq nucleasiya etmək qabiliyyəti – onlar daha çox perisentriol materialları topladıqca güclü şəkildə artır. Toplanmış mikroborucuqların bu MTOC-lardan şüalar şəkilində çıxması artdıqca, indi onlar ulduzu xatırlatdıqlarına görə, onlara çox zaman mitotik asterlər deyilir.



ŞƏKİL 18-36 Sentrosom ikiləşməsinin hüceyrə tsikli ilə əlaqəsi. G₁/S faza CDK-lər və Plk4 ilə inisiyasiya olunan sentrosom ikiləşməsi (pillə 1), cüt sentriolların (yaşıl) ayrılması və hər birindən qız sentriolun (mavi) tumurcuqlanması ilə nəticələnir. G₂ fazada, qız sentriolların böyüməsi tamamlanır, amma bu iki cüt sentriol bir sentrisomal kompleksin tərkibində qalır. M faza CDK-lərin fəallaşması ilə idarə olunan mitozun əvəlində (pillə 2) sentrosom parçalanır, alınan hər bir yarım hissə mikroborucuqların yığılmasını nucleasiya edir və iki sentriol cüt nüvənin əks tərəflərinə çəkilirlər. Perisentriol materialların miqdarı və sentrosomların mikroborucuq nucleasiya fəallığı mitozda güclü surətdə artır. Mitozda hər bir MTOC şpindel qütbü adlanır.

(a)

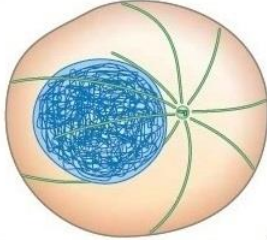


Interfaza

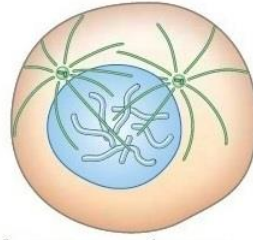
Profaza

Prometafaza

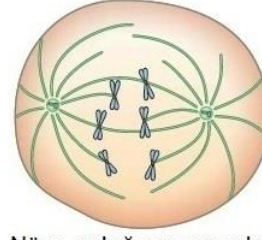
Metafaza



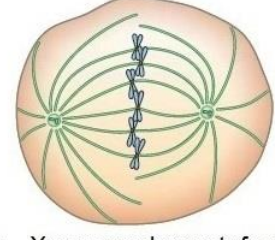
Xromosom ikiləşməsi
və yapışması
Sentrosom ikiləşməsi



İnterfazanın parçalanması
mikroborucuq arrayi və onun
mitotik asterlərlə əvəz olunması
Mitotik aster ayrılması
Xromosom kondensasiyası
Kinetoxor yığılması

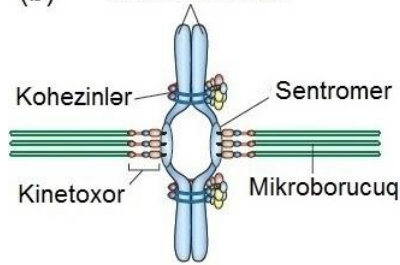


Nüvə qabığına parçalanması
Xromosomların tutulması,
hüceyrə ekvatoruna di-
orientasiyalı gətirilməsi



Xromosomlar metafaza
lövhəsində düzülür

(b) Bacı xromatidlər



Kohezinlər

Sentromer

Kinetoxor

Mikroborucuq

ŞƏKİL 18-37 Mitozun mərhələləri. (a) Yuxarı panel, DNT-yə görə mavi və tubulinə görə yaşıl rənglənmiş kultura olunan hüceyrələrdə mərhələləri göstərir. Aşağı diaqram müxtəlif mərhələləri və bu mərhələlərin hər birində baş verən hadisələri göstərir. Mitoz fasiləsiz davam edən prosesdir və təsvir edilməsinin asan olmasına görə mərhələlərə bölünmüşdür. (b) Mitozda kondensasiya olunmuş

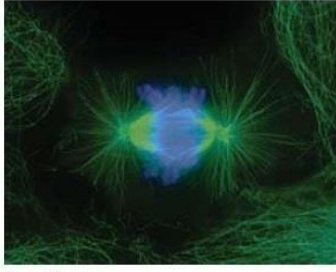
xromosomun hissələri. İkiləşmiş xromosom, sentromer adlanan daralmış rayonda kohezin zülalla bir yerdə saxlanılan iki qız xromatiddən ibarətdir (hər biri vahid DNT dupleksindən ibarətdir). Sentromer həmçinin kinetoxorların olduğu rayondur və mikroborucuqların kinetoxorlara birləşməsi baş verir. [(a) hissəsi mikrofotolar nəzakətlə Torsten Wittmann tərəfindən.]

Mitoz Altı Mərhələyə Bölünə Bilər

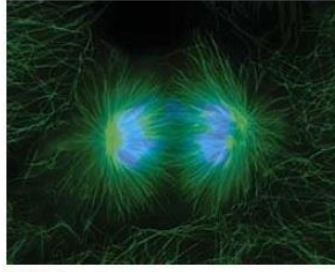
Mitoz asan təsvir olmaq üçün bir neçə mərhələyə bölünür (Şəkil 18-37a). Amma əslində o fasiləsiz davam edən prosesdir. Burada biz hər bir mərhələdə baş verən prosesləri nəzərdən keçirəcəyik.

Mitozun **profaza** adlanan birinci mərhələsi bir sıra koordinasiya olunan dramatik hadisələrlə siqnalizasiya olunur. Birincisi, ikiləşmiş sentrosomlar mikroborucuqların nucleasiyasında daha fəal olduğuna görə interfaza mikroborucuqlarının massivi əvəz olunur. Bu fəallıq mitotik asterləri əmələ gətirən dinamik mikroborucuq yığılması üçün iki saytı təmin edir. Bundan başqa, böyüyən mikroborucuqların dinamikası onların (+) sonluğundakı +TIP-lərin fəaliyyətindəki dəyişikliklər nəticəsində artır. Sonra iki aster, qarışan mikroborucuqları bir-birindən kənara itələyən dipolyar kinezin-5 motorun fəaliyyəti ilə nüvənin əks tərəflərinə çəkiliblər (bax Şəkil 18-20). Ayrılmış sentrosomlar **mitoz spindlinin** iki qutbinə, xromosomları ayıran mikroborucuq əsaslı quruluşa

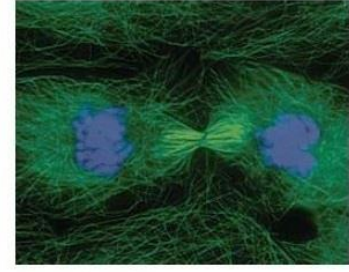
çevriləcək. İkincisi, zülal sintezi mRNT-nin 5'-papağından asılı olan vəziyyətdən asılı olmayan vəziyyətə (5.4 bölməyə bax) keçir və normal halda mikroborucuqların interfaza massivindən (array) asılı olan daxili membran sistemləri dağılır. Bundan başqa, endositoz və eqzositoz dayandırılır və mikrofilamentlər yuvarlaq hüceyrənin əmələ gəlməsi üçün yenidən təşkil olunurlar. Nüvədə nüvəcik dağılır və xromosomlar kondensasiya etməyə başlayır. İkiləşmiş hər cüt xromosomu və ya onların bu mərhələdə adlandırıldıqları kimi bacı xromatidləri bir yerdə saxlayan kohezinlər, iki bacı xromatidin intakt kohezinlə bağlı qaldıqları sentromer rayon istisna olmaqla parçalanırlar (Şəkil 18-37b). Həmçinin profaza dövründə mikroborucuq birləşmə saytına çevrilən **kinetoxorlar** adlanan xüsusi quruluşlar hər bir bacı xromatidin sentromer rayonunda yığılır (əmələ gəlir). Fəsil 19-da daha ətraflı müzakirə olunduğu kimi, bütün bu hadisələr, bir sıra zülalları fosforlaşdıraraq hüceyrə tsiklinin gedişini idarə edən kinaza mitotik tsiklin-CDK kompleksin fəallığının kəskin artması ilə koordinasiya olunur.



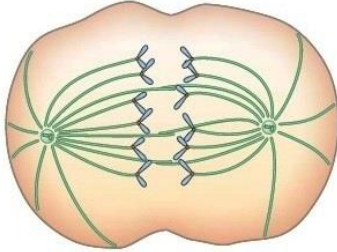
Anafaza



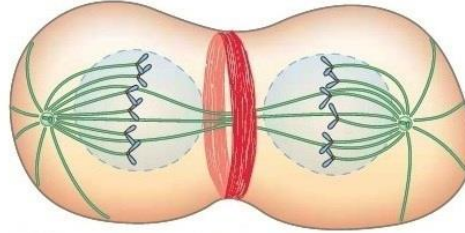
Telofaza



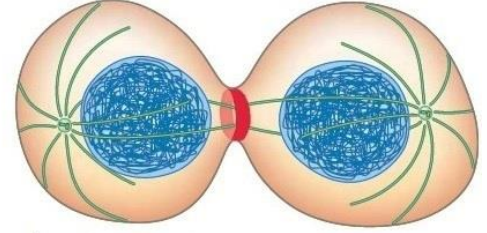
Sitokinez



APC/C fəallaşır və kohezirlər dağılır
Anafaza A: Xromosomun qütblərə hərəketi
Anafaza B: Şpindel qütb seqreqasiyası



Nüvə qabığıның dağılması
Yığılan həlqənin toplanması



İnterfaza mikroborucuq massivin yenidən formalaşması
Yığılan həlqə kəsilmə şırımını yaradır

Mitozun növbəti mərhələsi **prometafaza** nüvə qabığının dağılması, onun geri endoplazmatik şəbəkəyə çəkilməsi, nüvə məsələlərinin dağılması və lamin əsaslı nüvə laminasının pozulması ilə inisiyasiya olunur. Şpindel qütblərində yığılan mikroborucuqlar xromosom cütlərini axtarıb kinetoxorlarla assosiasiya edərək onları “tuturlar”. Hər bir xromatidin öz kinetoxoru var, beləliklə bacı xromatid cütünün iki kinetoxoru var və bunların hər biri aşağıda ətraflı müzakirə olunan kritik proses olan prometafaza dövründə mikroborucuqlar vasitəsi ilə müxtəlif şpindel qütblərinə birləşirlər. Sonra xromosom cütləri iki şpindel qütbləri arasında hər iki qütblədən bərabər məsafədə düzlənirlər. Prometafaza bütün xromosomlar düzlənmiş olana qədər davam edir və bu andan etibarən hüceyrə yeni mərhələyə metafazaya daxil olur.

Hüceyrə aşkar edəndə ki, bütün xromosomlar şpindələ düzgün qoşulmuşlar, yeni mərhələ **anafaza** anafaza-fəallaşdırıcı komplekslə və ya tsiklosomla (APC/C) induksiya olunur (19-cu fəsilə müzakirə olunur). Fəallaşmış APC/C (bir sıra aralıq mərhələlərdən keçərək) sonda bacı xromatidləri birlikdə saxlayan kohezirlərin dağılmasına səbəb olur, beləliklə hər bir xromatid onların kinetoxoruna birləşmiş mikroborucuqlar vasitəsi ilə dartılaraq öz müvafiq qütbünə çəkilə bilər. Belə hərəkət **anafaza A** kimi məlumdur. Ayrı və fərqli bir hərəkət də baş verir: şpindel qütblərinin bir-birindən uzaq kənara hərəkət prosesi **anafaza B** kimi məlumdur. Artıq xromosomların tam ayrıldığı indiki halda, hüceyrələr telofazaya keçirlər, nüvə qabığı yenidən formalaşır, xromosomlar dekonkondensasiya edirlər və sitokinez

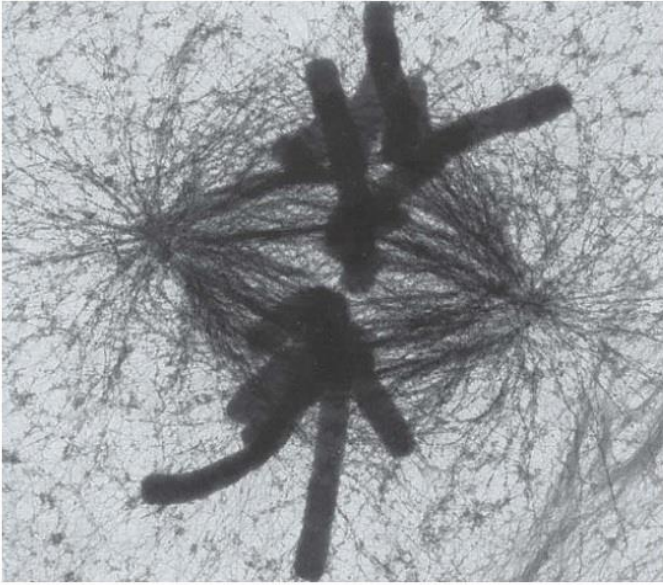
zamanı hüceyrə dartılan həlqə vasitəsi ilə iki qız hüceyrəyə ayrılır.

Mitoz Şpindel Üç Sınıf Mikroborucuqlara malikdir

Mitozun əlamətdar prosesinin baş verən mexanizmini izah etməzdən öncə, üç müxtəlif sınıf mikroborucuqların onların (–) sonluqlarının birləşdiyi şpindel qütblərindən çıxdığını anlamaq çox vacibdir. *Astral mikroborucuqlar* şpindel qütblərindən hüceyrə örtüyünə tərəf uzanır (Şəkil 18-38). *Astral mikroborucuqlar* qabıqla əlaqəyə girərək kritik bir funksiyani, şpindelin hüceyrə bölünməsi oxuna yönəlməsini yerinə yetirir. *Kinetoxor mikroborucuqlar* şpindel qütblərini bacı xromatid cütlərindəki kinetoxorlarla əlaqələndirmək üçün **axtar-və-tut** mexanizmi üzrə fəaliyyət göstərirlər. Anafaza A dövründə kinetoxor mikroborucuqlar yeni ayrılmış xromosomları öz müvafiq qütblərinə daşıyırlar. *Qütb (polyar) mikroborucuqlar* hər bir şpindel qütblindən əks tərəf istiqamətində uzanır və anti paralel şəkildə əlaqəyə girirlər. Bu mikroborucuqlar profaza zamanı ilkin olaraq ikiləşmiş sentrosomları itələyərək bir-birindən uzaqlaşdırılmasını, sonra şpindelin quruluşunun saxlanılmasını və daha sonra anafaza B zamanı şpindel qütblərinin itələyərək uzaqlaşdırılmasını həyata keçirirlər.

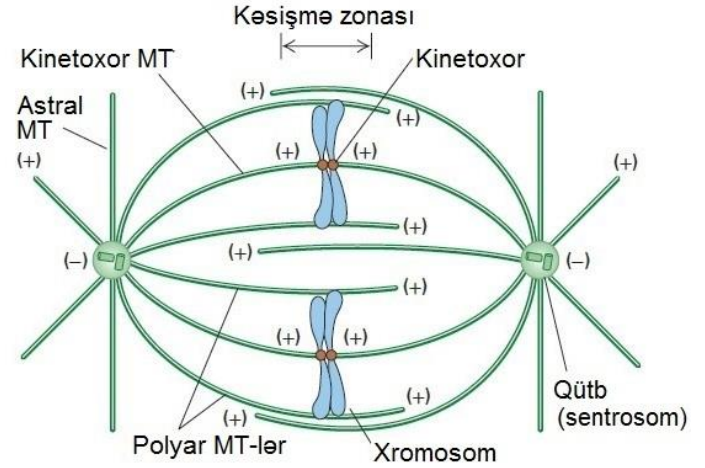
Qeyd edək ki, ortaya qədər uzanan və qarşı tərəfin mikroborucuqları ilə qarşılıqlı daraşəkili quruluşu əmələ gətirən bəzi polyar (qütb) mikroborucuqlar istisna olmaqla bütün mikroborucuqlar simmetrik şpindelin hər iki yarım hissəsində eyni orientasiyaya malik olurlar.

(a)



ŞƏKİL 18-38 Mitoz şpindelləri üç müxtəlif sinif mikroborucuqlara malikdirlər. (a) Bu yüksək gərginlikli elektron mikrofotosunda mikroborucuqlar onların ölçüsünü böyütmək üçün biotinlə-nişanlanmış anti-tubulin anticismlərlə rənglənmişdir. Böyük silindrik obyektlər xromosomlardır. (b) (a)-dakı metafaza hüceyrələrinə müvafiq olan sxematik diaqram. Üç dəst mikroborucuq (MT-lər) mitoz aparatını əmələ gətirir. Bütün mikroborucuqların (-)

(b)



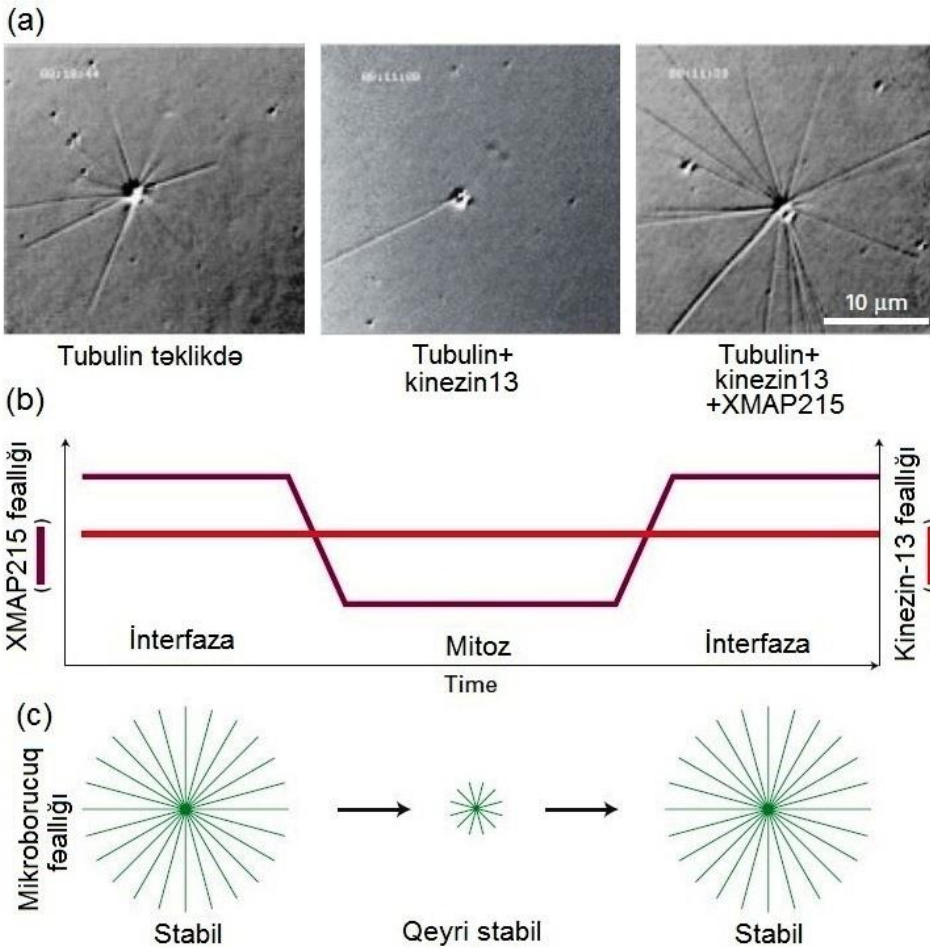
sonluğu qütblərə birləşir. *Astral mikroborucuqlar* hüceyrə örtüyünə tərəf uzanırlar və onunla bağlanırlar. *Kinetoxor mikroborucuqlar* xromosomlara birləşirlər. *Polyar mikroborucuqlar* üst-üstə düşən distal (+) sonluğu ilə hüceyrə mərkəzinə tərəf uzanırlar. Şpindel qütbü və bunlarla bağlı olan mikroborucuqlar mitotik asterlər kimi də məlumdurlar. [(a) hissəsi nəzakətlə J. Richard McIntosh tərəfindən.]

Mikroborucuqların Dinamikası Mitoz Zamanı Dramatik Şəkildə Artır

Hərçənd ki, biz mitozun mərhələlərinin statik təsvirini çəkmişik, mitozun bütün mərhələlərində mikroborucuqlar yüksək dərəcədə dinamikdirlər. Bizim gördüyümüz kimi, hüceyrə mitozda daxil olan kimi, onların sentrosomlarının mikroborucuqların toplanmasını nukleasiya etmək imkanı əhəmiyyətli dərəcədə artır (bax Şəkil 18-36). Bundan başqa, mikroborucuqlar daha çox dinamik olurlar. Bu necə təyin edilmişdir? Prinsipcə, mikroborucuqları fluorescent yarıqla nişanlamaq və onların fərdi davranışını izləmək olar, amma praktiki olaraq bunu etmək üçün mitoz şpindelində mikroborucuqlar həddən artıq çoxdurlar. Bu mikroborucuqların dinamik qeyri sabitliyinin orta qiymətini almaq üçün tədqiqatçılar, nizamsız olaraq bütün mikroborucuqlara inkorporasiya olunan fluorescent nişanlanmış tubulin zülalını hüceyrəyə keçirər bildirlər. Onlar daha sonra, mitoz şpindelinin kiçik rayonlarda fluorescent nişanı fotoağarda və fotoağartmadan sonra fluorensensiyanın bərpası (*fluorescence recovery after photobleaching* - *FRAP*) metodundan istifadə edərək hansı fluorensensiyanın qeyriyə qayıtma dərəcəsini ölçməyə başladılar (bax Şəkil 4-23). Fluorensensiyanın bərpa olunması həllolan tubulin demerlərdən yeni mikroborucuqların yığılması ilə bağlı olduğundan onun sürəti mikroborucuqların dövretmə sürətini əks etdirir. Mitoz şpindelində onların yarımdağılma dövrü 15 saniyəyə qədərdir,

halbuki interfaza hüceyrələrində bu 5 dəqiqədir. Qeyd etmək lazımdır ki, bunlar kütləvi ölçmələrdir və fərdi mikroborucuqlar, necə ki, biz sonra görəcəyik, daha stabil və ya dinamik ola bilirlər.

Mitoz zamanı mikroborucuqları daha dinamik edən nədir? Əvvəllər bizim müzakirə etdiyimiz kimi, dinamik qeyri stabillik böyümə sürətinin, qısalma sürətinin, fəlakətlərin və xilasətmələrin nisbi töhfəsinin ölçüsüdür (bax Şəkil 18-9). Mikroborucuq dinamikasının in vivo analizi göstərir ki, fərdi mikroborucuqların mitoz zamanı yüksələn qeyri-sabilliyi böyümə (uzanma) və ya daralma (qısalma) sürətində kiçik dəyişikliklə əsasən fəlakətlərin artması və xilasətmələrin azalması ilə yaranır. Qurbanğa oositinin ekstraktı ilə aparılan tədqiqatlar göstərdilər ki, interfaza və mitotik ekstraktlarda fəlakətlərin artmasının əsas faktoru kinezin-13 zülallarının depolimerləşməsidir. Bunu, mikroborucuqların təmiz tubulindən toplanmasının təmizlənmiş nukleosomlardan nukleasiya olunduğu in vitro analizlərdə də görmək olur (Şəkil 18-39a). Əgər, analizə kinezin-13 əlavə edilsə, çox az mikroborucuq əmələ gəlir. Amma, əgər (+) sonluqda toplanmanı gücləndirən XMAP215 zülalı kinezin-13 ilə birlikdə əlavə edilsə, fəlakətlərin tezliyindəki dramatik azalma ilə əlaqədar olaraq daha çox mikroborucuq əmələ gələcək. Bu, hüceyrə mitozda daxil olduğundan, bu daha qeyri stabil (daha çox dinamik) mikroborucuqların yaranması ilə nəticələnir (Şəkil 18-39c).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-39

Mitoz zamanı sabitləşdirici MAP itirildiyindən mikroborucuq dinamikası artır.

(a) Bu üç panel, sentrosomların müxtəlif şəraitlər altında mikroborucuq toplama qabiliyyətini aşkar edir: təmiz tubulin ilə (*solda*); tubulin və destabilləşdirici kinezin-13 ilə (*ortada*); tubulin, kinezin-13 və sabitləşdirici zülal XMAP215 (Xenops MAP 215 kDa) ilə (*sağda*). Sonrakı analizlər göstərdi ki, XMAP215-in əsas təsiri kinezin-13 vasitəsi ilə induksiya olunan fəlakətləri supresiya etməkdir. (b) Mitozda mikroborucuqların artan dinamikası XMAP215-in fosforlaşması ilə qeyri fəallaşmasıdır. (c) İnterfazada və mitozda mikroborucuqların sabitliyinin müqayisəli diaqramı. Qeyd edək ki, mitozda *sabitləşmənin* azalmasından başqa, MTOC-ların mikroborucuqları nukleasiya etmək imkanı mitozda kəskin şəkildə artır. [(a) hissəsi AAAS razılığı ilə Kinoshita et al., "Reconstitution of Physiological Microtubule Dynamics Using Purified Components," *Science* **294**, no 5545,1340-1343 (2001) yenidən çap edilir. (b) hissəsi Kinoshita et al, 2002, *Trends Cell Biol.* **12**:267–273-dən.]

Mitoz Asterləri Kinesin-5 Tərəfindən Kənara İtəlinir, Dynein Tərəfindən isə yönəldilir

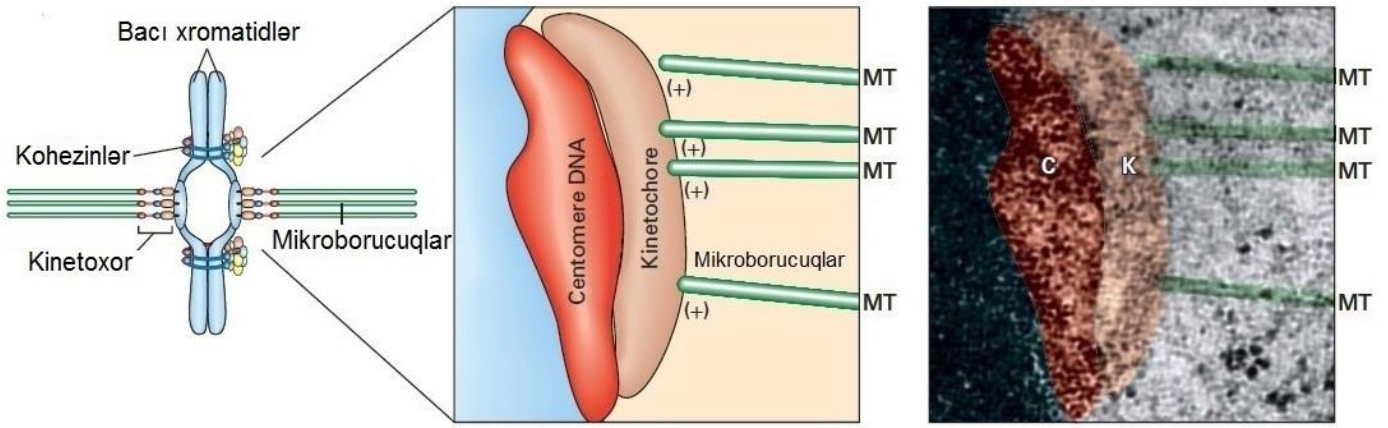
İki mitoz asteri yaranan kimi, onlar öz aralarında əks qütblərin mikroborucuqlarının qarşılıqlı daraqşəkilli (*interdigitated*) mikroborucuqlarını əmələ gətirirlər. Profaza zamanı bipolyar kinezin-5 antiparallel mikroborucuqlarla əlaqəyə girir və hər bir mikroborucuqun (+) sonluğuna doğru hərəkət edir, onları sürüşdürərək bir-birindən ayırır və bununla da asterləri bir-birindən kənara itələyir. (-) sonluğa-istiqləməmiş sitoplazmatik dinein motor də asterlərin ayrılmasına və eləcə də şpindellərin hüceyrə daxilində müvafiq orientasiyasına kömək edir. Dinein bunu hüceyrə örtüyü ilə assosiasiya etməklə və mitotik asterlardan nukleasiya olunmuş mikroborucuqları dartmaqla həyata keçirir. Tezliklə biz müzakirə edəcəyik ki, bu eyni mexanizm anafaza B zamanı şpindel elonqasiya etməsində istifadə edilir (bax Şəkil 18-43 aşağıda).

Prometafaza Zamanı Xromosomlar Tutulur və Yönəldilir

Kinetoxorlar xromosomlarla mikroborucuqlar arasında bağlanmanı həyata keçirən quruluşlar olub hər bir bacı

xromatiddə sentromer adlanan rayonda yığılırlar. Sentromer kondensasiya olunmuş xromosomun sentromer DNT ardıcılığı ilə müəyyən olunan daralmış rayonudur. Sentromer DNT ölçüsünə görə güclü şəkildə fərqli ola bilər: tumurcuqlayan mayada 125 ə.c.-dən insanlarda 1 M.ə.c. qədər fərqli ölçüdə ola bilər (bax Fəsil 8). Kinetoxorlar sentromer DNT ilə mikroborucuqlar arasında əlaqənin saxlanılmasına imkan yaratmaq üçün çoxsaylı zülal komplekslərinə malikdirlər. Heyvan hüceyrələrində kinetoxorlar sentromer DNT qatından və daxili və xarici kinetoxor qatlarından ibarətdirlər və kinetoxor mikroborucuğun (+) sonluğu xarici qatda qurtarır (Şəkil 18-40). Maya kinetoxorları öz şpindel qütblərinə tək bir mikroborucuqla, insanın kinetoxorları təxminən otuz qədər mikroborucuqla, bitkilərin kinetoxorları isə yüzlərlə mikroborucuqlarla birləşirlər.

Prometafaza zamanı kinetoxorlar mikroborucuqlara necə birləşirlər? Şpindel qütblərindən nukleasiya olunan mikroborucuqlar çox dinamik olurlar və onlar istər lateral istərsə də ucları ilə kinetoxorlara toxunanda, bu kontakt xromosomların birləşməsinə səbəb olur (Şəkil 18-41a, pillə 1a və 1b). Kinetoxorları "tutan" mikroborucuqlar fəlakətlrin sürətinin reduksiya olunması ilə selektiv sabitləşirlər, bu da qoşulmanın davam etmə şansını artırır.

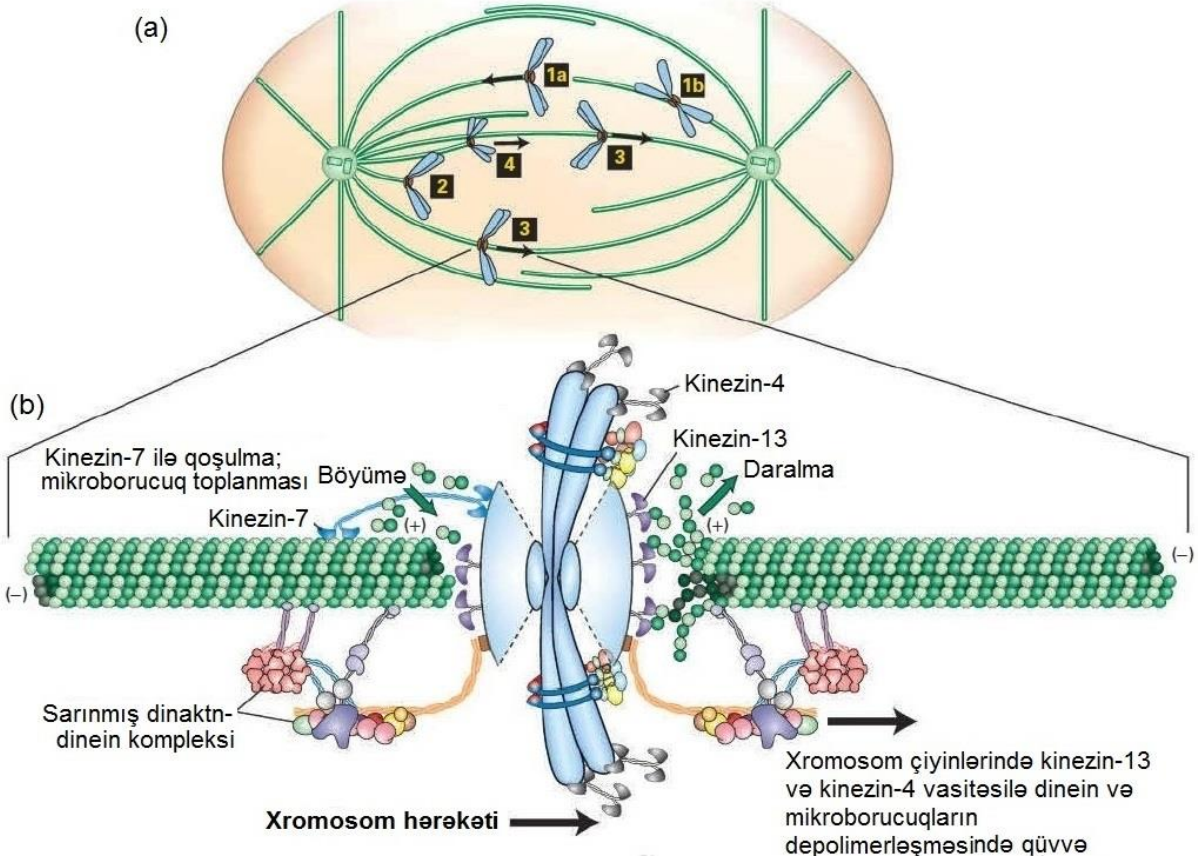


ŞƏKİL 18-40 Məməlilərin kinetoxorunun quruluşu. Məməlilərin kinetoxorunun diaqramı və elektron mikrofotusu. [Şpringerin razılığı ilə McEwen et al., "A new look at kinetochore structure in vertebrate

somatic cells using high-pressure freezing and freeze substitution," *Chromosoma*, 1998, **107**: 6-7 pp. 366-375-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]

Son zamanlı aparılan tədqiqatlar, kinetoxorların mikroborucuqlarla rastlaşa bilmək ehtimalını artıran kiçik GTP-aza Ran zülalının iştirak etdiyi mexanizmi aşkar etdi. Fəsil 13-dən yada salağ ki, interfaza zamanı Ran GTP-aza tsikli zülalları nüvə məsələləri vasitəsi ilə nüvəyə və nüvədən kənara daşınmasında iştirak edir (bax Şəkil 13-37). Mitoz zamanı, nüvə membranı və məsələləri pozularkən Ran GTP-azanın qanın nukleatid mübailəsi faktoru xromosomlara birləşir və bununla da xromosomların yaxınlığında Ran·GTP-nin yüksək lokal

qatılığını əmələ gətirir. Ran-dakı GTP-nin hidrolizini stimullaşdıran ferment – Ran GAP sitozolda bərabər şəkildə paylanır, bu xromosomlarda mərkəzləşmiş Ran·GTP-nin qradientini yaradır. Ran·GTP sitozol mikroborucuq-sabitləşdirici faktorun mikroborucuqlarla assosiasiyasını induksiya edir, nəticədə mikroborucuqların böyüməsini gücləndirir və bu yolla mikroborucuqların şpindel qütblərində xromosomlara doğru böyüməsinə maneə törədir.



ŞƏKİL 18-41 Prometafazada xromosom tutulması və yığılması. (a) Prometafazanın birinci mərhələsində, xromosomlar mikroböyüdümlərin ya bir ucuna (1a) ya da yan tərəfinə yapışırlar (1b). Sonra xromosom, xromosom kinetoxorlarının biri ilə assosiasiya edən dinein-dinaktin vasitəsi ilə şpindel qütblinə tərəf çəkilir və mikroböyüdümlərin (-) sonluğuna tərəf hərəkət edir (2). Sonda əks qütblə mikroböyüdümlərin sərbəst kinetoxoru taparaq ona birləşir və indi xromosom bi-orientasiya olunmuş olur (3). Bəzi xromosomlar bi-orientasiya olunduqdan sonra, bir kinetoxor-qütblə əlaqədə qalan digərləri orientasiyaya kömək etmək üçün sərbəst kinetoxorlarda CNEP-E/kinezin-7-dən istifadə edirlər (4). Bi-orientasiya olunmuş xromosomlar sonra, xromosom toplanması kimi məlum olan proseslə şpindel qütbləri arasındakı mərkəzi nöqtəyə hərəkət edirlər. Qeyd edək ki, bu mərhələlərin gedişində, xromosom çiyinləri yaxınlıqdakı şpindel

Kinetoxor mikroböyüdümlərə lateral və ya terminal birləşdikdən sonra, dinein-dinaktin ikiləşmiş xromosomları ayıraraq mikroböyüdümlərin boyu şpindel qütblinə doğru aparmaq üçün kinetoxorla assosiasiya edir. Sonda bu hərəkət mikroböyüdümlərin ucunun kinetoxorun birinə birləşməsi ilə nəticələnir (Şəkil 18-41a, pillə 2). Bu hərəkət bacı xromatidlərin istiqamətləndirilməsinə kömək edir ki, əks tərəfdəki tutulmamış kinetoxor qarşı tərəfdəki (distal) şpindel qütblinə tərəf yönəlmiş olsun. Tədricən sonda, uzaq qütblərdən çıxan mikroböyüdümlərin sərbəst kinetoxoru tutacaq, bu **nöqtədə** bacı xromatid cütünə *bi-orientasiya olunmuş* deyilir (Şəkil 18-41a, pillə 3). İkiləşmiş xromosom iki dəst kinetoxor mikroböyüdümləri ilə hər iki istiqamətdə dartılaraq əks qütblərə birləşmiş iki kinetoxorla gərginlik altında olur. Bir və ya bir neçə xromosom bi-orientasiya olunduqda başqa xromosomlar mövcud olan bu kinetoxor mikroböyüdümlərini öz orientasiyalarını yaratmaq və şpindel mərkəzinə doğru hərəkət etmək üçün istifadə edirlər. Bu orientasiya, sərbəst kinetoxorlarla assosiasiya edən kinezin-7 (həmçinin CNEP-E kimi məlum olan) vasitəsi ilə həyata keçir və xromosomu kinetoxor mikroböyüdümlərin (+) sonluğuna tərəf aparır (Şəkil 18-41a, pillə 4).

İkiləşmiş Xromosomlar Motorlar və Mikroböyüdümlərin Dinamikası Vasitəsiülə Düzlənilir

Prometafaza müddətində, xromosomlar *xromosom toplanması* (*chromosome congression*) adlanan məlum proseslə iki qütblə arasında *metafaza lövhəsi* adlanan orta nöqtədə yerləşmək üçün gəlirlər. Bu prosesin gedişində bi-orientasiya olunan xromosom cütləri metafaza lövhəsinə çatmadan öncə tez-tez geriye və irəliyə **tərəddüd** (*oscillate*) edir. Xromosom toplanmasına bir sıra mikroböyüdümlərin əsaslı motorların mikroböyüdümlərin yığılmasının və dağılmasının tənzimləyiciləri ilə birlikdə koordinasiya olunmuş fəaliyyəti daxildir (Şəkil 18-41b). Bu tənzimləyicilər kinetoxorlarda yerləşirlər, amma onların necə tənzimləndiyi hələ də tam anlaşılmır, onlara növbəti bölmədə müzakirə olunan sabit kinetoxor komplekslərinin hissələri deyillər. Xromosomların tərəddüdü davranışına öz qoşulduqlarını itirmədən bir kinetoxora birləşmiş mikroböyüdümlərin uzanması və digər kinetoxora birləşmiş mikroböyüdümlərin qısalması daxildir. Metazoanlarda, kinetoxorlarla assosiasiya edən bir sıra mikroböyüdümlərin əsaslı motorları bu prosesə kömək edir. Birincisi, xromosom cütlərini daha *uzaq* qütblərə dartmaq üçün lazım olan çox güclü güvənə dinein-dinaktin təmin edir. Bu hərəkət

qütblərdən kənara baxırlar (istiqamətlənilirlər): bu ona görə belə olur ki, xromosom çiyinlərində olan xromokinezin/kinezin-4 motorları poliar mikroböyüdümlərin (+) sonluğuna tərəf hərəkət edir. Heyvan hüceyrələrində, çox mikroböyüdümlərin hər bir kinetoxorla assosiasiya girir. Təsvir edilmənin asan olması üçün burada yalnız bir kinetoxor mikroböyüdümlərin göstərilir. (b) Toplantıya xromosomların ikiistiqamətli tərəddüdü daxildir, bir dəst kinetoxor mikroböyüdümlərin xromosomun bir tərəfində qısalır və digər dəst başqa tərəfdə uzanır. Qısalan tərəfdə kinezin-13 zülalı mikroböyüdümlərin dağılmasını stimullaşdırır və dinein-dinaktin kompleksi xromosomu qütblə tərəf çəkir. Mikroböyüdümlərin uzunadığı tərəfdə kinezin-7 zülalı böyüyən mikroböyüdümlərin üzərində olur. Kinetoxor da həmçinin burada göstərilməyən çox sayda əlavə zülal komplekslərinə malik olur. Bax Cleveland et al., 2003, *Cell* **112**:407-421.

mikroböyüdümlərin eyni vaxtda kinetoxorda yerləşən kinezin-13 ilə gücləndirilən qısalmasını tələb edir. Başqa kinetoxorla assosiasiyada olan mikroböyüdümlərin xromosom hərəkət etdikcə uzanmalıdırlar. Bu kinetoxorlara lövbər edən, uzanan mikroböyüdümlərin böyüyən (+) sonluğunda saxlanılan kinezin-oxşar motor, kinezin-7-dir. Həmçinin, xromosom yığılmasına yardım edən başqa bir kinezin, xromosom çiyinləri ilə assosiasiyada olan xromokinezin/kinezin-4-dür. (+) sonluğa istiqamətlənən motor kinezin-4, xromosomları şpindel ortasına tərəf dartmaq üçün poliar mikroböyüdümlərlə əlaqəyə girir. Xromosomlar metafaza lövhəsinə toplananda dinein-dinaktin kinetoxorlardan buraxılır və kinetoxor mikroböyüdümlərlə aşağıya doğru qütblərə axırlar. Belə fərqli fəaliyyətlər və əks qüvvələr bütün xromosomları, hüceyrənin anafaza üçün hazır olduğu nöqtəyə, metafaza lövhəsinə gətirmək üçün birgə işləyirlər.

Xromosom Sərnişin Kompleksi (Passenger Complex) Kinetoxorlarda Mikroböyüdümlərin Qoşulmasını Tənzimləyir

Biz qeyd etdik ki, mitoz zamanı xromosomların seqreasiyası çox dəqiq olmalıdır, belə ki, bütün xromosomların anafaza başlamazdan öncə bi-orientasiya olunması çox vacibdir. Kinetoxorun mikroböyüdümlərinə nizamsız qoşulma prosesində səhvlərin edilməsi mümkündür, məsələn, bacı xromatidlə cütünün hər iki kinetoxoru eyni şpindel qütblərinə mikroböyüdümlərinə birləşə bilirlər. Əgər metafaza zamanı belə birləşmə davam edərsə, bu hüceyrələrin birində xromosomlardan birinin çatışmazlığı ilə nəticələnərdi və digəri isə bir artıq xromosoma malik olardı, bu da ya öldürücü və ya çox zərərli olardı. Hüceyrələrin, anafaza başlamazdan öncə bütün xromosomların düzgün ikiistiqamətli birləşməsinə təmin edən iki mühüm mexanizmi vardır.

Birinci mexanizm ikili orientasiya baş verənə qədər kinetoxor-mikroböyüdümlərin əlaqələrinin zəif olmasını təmin edir. Xromosomlar düzgün ikili orientasiya olunanda xromosom boyu gərginlik yaranır və bu gərginlik kinetoxor-mikroböyüdümlərin qoşulmalarının sabitləşməsinə səbəb olur. Bunun necə baş verdiyini anlamaq üçün biz kinetoxorları mikroböyüdümlərlə əlaqələndirən molekulyar komponentlərə daha yaxından baxmalıyıq. Bizim Fəsil 8-də müzakirə etdiyimiz kimi, kinetoxorlar CNEP-A adlanan sentromer-spesifik H3 histonun variantı ilə qeyd olunmuş sentromer-spesifik xromosom DNT

rayonunda toplanılar. Bu variant, çox mürəkkəb proses olan kinetoxor toplanması üçün saytı işarələyir. Göstərilmişdir ki, 40 müxtəlif zülaldən təşkil olunmuş təxminən altıya qədər fərqli zülal kompleksləri mayada bu sentromer rayonu ilə assosiasiya edir. Əslində bütün bu zülal kompleksləri insanlarda qorunub saxlanılıb, ona görə də kinetoxorların fundamental əhəmiyyətə malik olmaları heç də təəccüblü deyil. Bunlardan biri, Ndc80 kimi adlandırılan kompleks uzun və dəyişkəndir və onun çox nüsxələri qol şəkilində düzülməklə (*sleevelike arrangement*) daxili kinetoxoru mikroborecuğun (+) sonluğu ilə əlaqələndirir (Şəkil 18-42a). Ndc80-ın və onunla assosiasiyada olan çoxsaylı faktorların kinetoxorlarda fəaliyyəti *xromosom sərnəşin kompleksi (chromosomal passenger complex – CPC)* ilə tənzimlənir. Bu kompleks mitozun əvvəlində daxili kinetoxorla birləşir və onun komponentləri arasında *Aurora B* adlanan proteinkinaza da vardır. CPC kinetoxorla assosiasiya edərək *Aurora B* yaxınlıqdakı bir sıra komponentləri, o cümlədən Ndc80 kompleksi fosforlaşdırır, bu da Ndc80-ın mikroborecuqlara birləşməsinə zəiflədir. Bu komponentlərin fosforlaşması sabit deyildir, amma, başqa bir zülal, xarici kinetoxorla assosiasiyada olan PP1 fosfataza onları defosforlaşdırır. Beləliklə, kinetoxorlar cüt bacı xromatidlərdə gərginlik altında olmayanda, Ndc80 fasiləsiz şəkildə *Aurora B* vasitəsi ilə fosforlaşır və PP1 vasitəsi ilə defosforlaşır. Nəticədə kinetoxorla mikroborecuq arasında əlaqə zəif olur. Amma, ikili-orientasiya meydana gəldikdə, yaranan dartılma gərginliyi hər iki kinetoxoru çəkir və elastik Ndc80 kompleksini uzadaraq daxili və xarici kinetoxorlar arasında məsafəni artırır (Şəkil 18-42b, c). Bu hərəkət nəticəsində, Ndc80 *Aurora B* vasitəsi ilə fosforlaşır və Ndc80-ın defosforlanmış forması onu daha da möhkəm şəkildə mikroborecuqlara birləşmiş vəziyyətdə saxlayır. Bu yolla, mikroborecuqların ikili-orientasiyalı kinetoxorlara birləşməsi selektiv şəkildə sabitləşir.

CPC hər bir fərdi xromosomun bi-orientasiyası üçün əhəmiyyətli olduğu halda, o anafaza başlamazdan öncə *bütün* xromosomların bi-orientasiya olunmasını təmin etmir. Düzgün xromosom seqrasiyasını təmin edən ikinci mexanizm *şpindel toplanmasının nəzarət keçid məntəqəsidir (spindle assembly checkpoint pathway)*, siqnal yolu anafazada hüceyrə tsiklinin gedişini *bütün* kinetoxorlarda gərginlik yaranana qədər dayandırır. Hətta tək bir dənə birləşməmiş və ya qeyri-müvafiq birləşmiş kinetoxor şpindel toplanmasına nəzarət keçid məntəqəsini fəallaşdırır və səhv aradan qaldırılana qədər hüceyrə tsiklini durdurur. Fəasil 19-da ətraflı müzakirə edilən bu mexanizm hüceyrə tsikli anafazaya keçməzdən öncə bütün xromosomların düzgün bi-orientasiya olunmasını təmin edir.

Anafaza A Mikroborecuqların Qısalması ilə Xromosomları Qütblərə Aparır

Anafaza A-nın başlanğıcı işıq mikroskopu altında müşahidə oluna bilən ən əhəmiyyətli hərəkətlərdən biridir. Şpindel yığılmasının nəzarət keçid məntəqəsi keçdikdən sonra APC/C fəallaşması bacı xromatidləri bir yerdə saxlayan qalan kohezirlərin proteolizini induksiya edir. Birdən-birə cüt halda olan iki bacı xromatid bir-birindən ayrılır və öz müvafiq qütblərinə çəkilirlər. Hərəkət ona görə birdən-birə baş verir ki, kinetoxor mikroborecuq dartılmış gərgin vəziyyətdə olur və

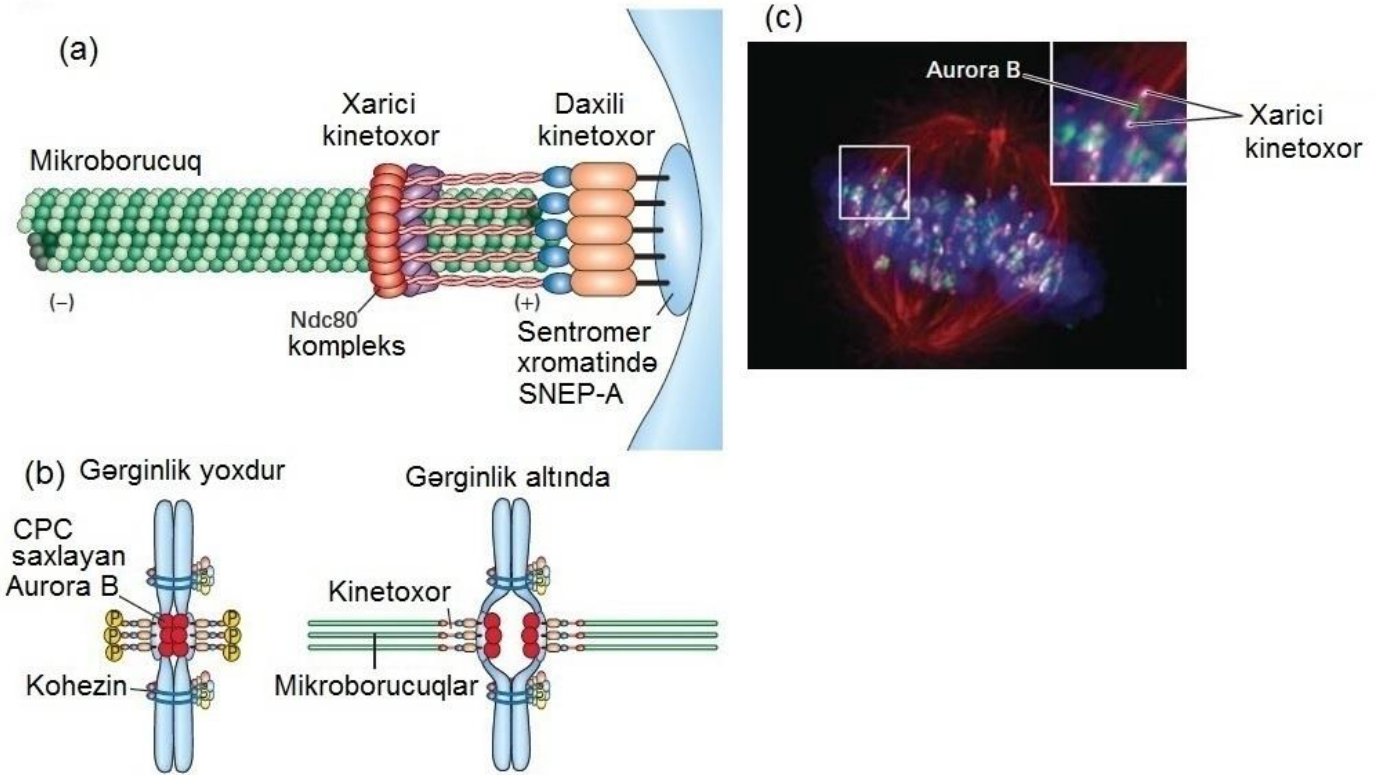
xromatidlər arasında onları bir yerdə saxlayan kohezirlər uzaqlaşdırılan kimi ayrılmış xromatidlər sərbəst hərəkət edirlər. Ayrılmış metafaza xromosomları ilə aparılan eksperimentlər göstərdi ki, anafaza A hərəkəti mikroborecuq ucunda GTP birləşmiş tubulin subvahidlərinin çıxarılması ilə sərbəst qalan quruluş gərginliyindən istifadə edərək mikroborecuqların qısalması ilə təchiz oluna bilər. Bu mexanizm in vitro çox gözəl nümayiş etdirilə bilər. Metafaza xromosomları təmizlənmiş mikroborecuqlara əlavə edildə, onlar böyük üstünlüklə mikroborecuqların (+) sonluğuna birləşirlər. Sərbəst tubulin dimerlərinin qatılığını azaltmaq üçün qatışıqın durulaşdırılması mikroborecuğun xromosom birləşmiş (+) uclarından depolimerləşməsi nəticəsində xromosomların (-) uclara tərəf hərəkət etmələri ilə nəticələnir. Bundan başqa, son zamanlar aparılmış eksperimentlər göstərdilər ki, *Drosophila*-da mikroborecuq depolimerləşdirən kinezin-13 zülalı ailəsinin iki nümayəndəsi (bax Şəkil 18-15) də anafaza A xromosom hərəkətinə kömək edir. Bu kinezin-13 zülallardan biri kinetoxorda yerləşir və orada pozulmanı gücləndirir (Şəkil 18-43, A1), digəri isə şpindel qütblündə yerləşərək **orada depolimerləşməni gücləndirir** (Şəkil 18-43, A2). Beləliklə, ən azı milçəklərdə anafaza A, spesifik olaraq kinetoxorda və şpindel qütblündə yerləşən, kinetoxor mikroborecuqlarını onların həm (+) həm də (-) sonluqlarından qısaltdan və xromatidləri qütblərə çəkən kinezin-13 zülallarla qismən təchiz olunurlar.

Kinezin və Dineinin Birgə Fəaliyyəti ilə Anafaza B Qütbləri Ayırır

Anafazanın ikinci hissəsində şpindel qütblərinin anafaza B kimi məlum olan prosesdə ayrılması baş verir. Bu hərəkətə əsas kömək edən bipolyar kinezin-5 zülallarının iştirak etməsidir (Şəkil 18-43, B1). Bu motorlar üst-üstə düşən polyar mikroborecuqlarla assosiasiya girir və onlar (+) sonluğa doğru istiqamətlənmiş motorlar olduğundan qütbləri kənara itələyirlər. Bu baş verdiyinə görə, polyar mikroborecuqlar qütblər arasında artan məsafəni örtmək üçün böyüməlidirlər. Başqa bir motor — hüceyrə örtüyündə yerləşən və lövbər edən, mikroborecuğun (-) sonluğuna istiqamətlənən sitoplazmatik dinein astiral mikroborecuqları dartır və beləliklə, şpindel qütblərinin ayrılmasına kömək edir (Şəkil 18-43, B2).

Əlavə Mexanizmlər Şpindel Formalaşmasına Kömək Edir

Bir sıra hallar vardır ki, sentrosomlar olmadan da şpindel yaranır, məsələn bitki hüceyrəsinin mitozu və dişi fərdlərdə heyvan hüceyrəsinin meyozu. Bu müşahidələr göstərir ki, mikroborecuqların sentrosomlardan nukleasiya olunması şpindel yaranmasının yeganə yolu deyildir. Qurbanğa yumurtasının sentrosomlara malik olmayan ekstraktından istifadə edərək aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, DNT ilə örtülmüş qranulların əlavə edilməsi nisbətən normal mitoz şpindelini yığılması üçün kifayət edir (Şəkil 18-44). Bu sistemdə, qranullar mikroborecuqların toplanmasını induksiya edir və ekstraktdakı faktorlar şpindel yaranmasında onunla kooperativlik edirlər. Bu reaksiya üçün lazım olan faktorlardan



ŞƏKİL 18-42 Mikroborucuq-kinetoxor qoşulmasının CPC tənzimlənməsi. Ndc80 kompleksi kinetoxorla mikroborucuğun (+) sonluğu arasında kritik əhəmiyyətli və tənzimlənən qoşulmanı yaradır. (a) Diaqram daxili kinetoxoru xarici kinetoxora yüklənmiş (batmış) mikroborucuğun (+) sonluğuna əlaqələndirən Ndc80 kompleksinin qol şəkilli düzlişünü göstərir. Bax S. Santaguida and A. Musacchio, 2009, *EMBO J.*28:2511–2531. (b) Daxili kinetoxorlara birləşmiş və Aurora B kinazaya malik olan xromosom sərnəşin kompleksi (CPC) ilə PP1 fosfatazanın birləşdiyi xarici kinetoxor arasındakı əlaqələrin diaqramı. Hər iki kinetoxor gərginlik altında olanda xarici kinetoxorun CPC-dən

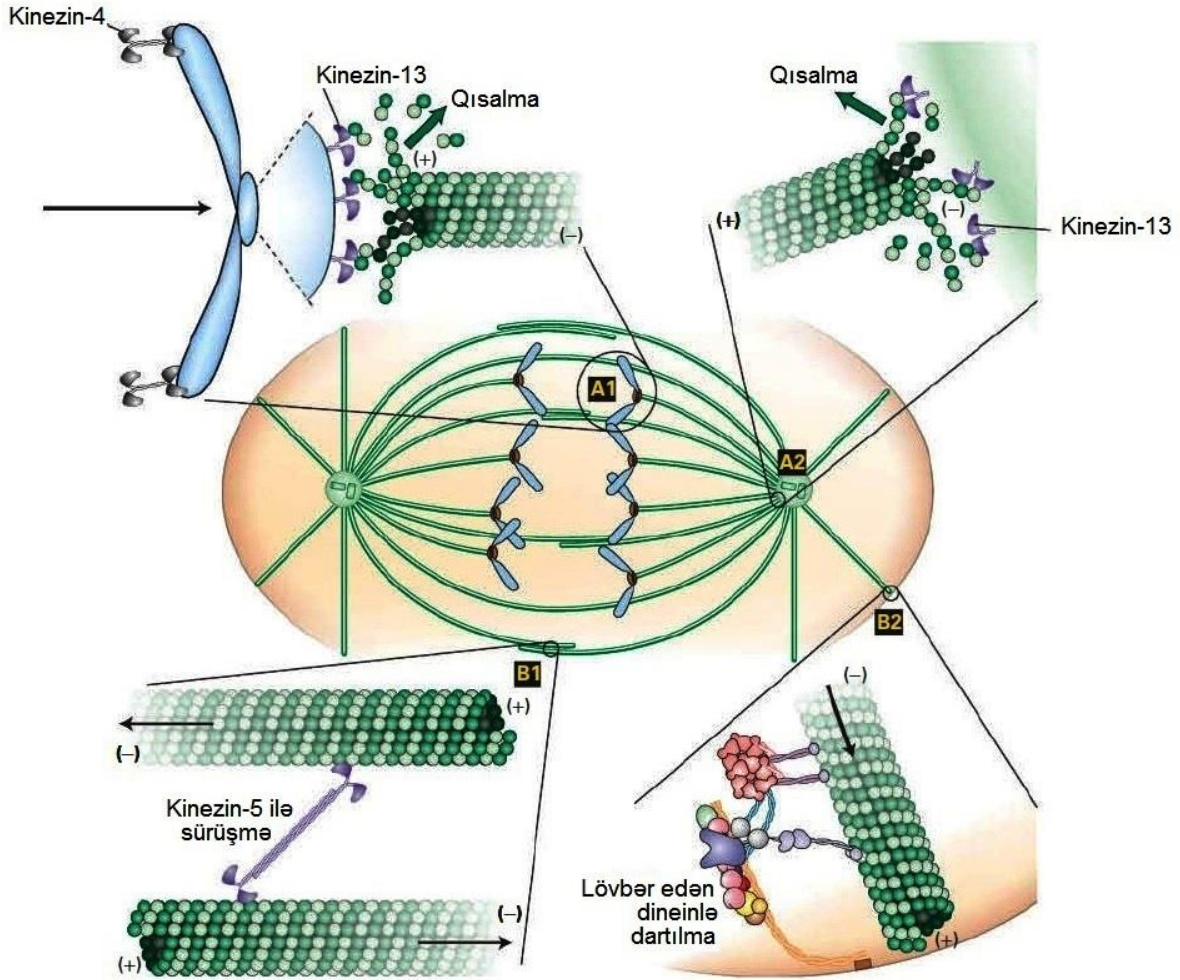
uzaqlaşmasına diqqət yetirin, nəticədə Aurora B Ndc80 kompleksin mikroborucuq-birləşdirmə sayının daxil olduğu xarici kinetoxor komponentlərini fosforlaşdırma bilmir. (c) Metafazada hüceyrə tubulinə (qırmızı), DNT-yə (mavi), Aurora B kinazaya (yaşıl) və xarici kinetoxora (fuksin) görə rənglənilir. Xarici kinetoxorun Aurora B-dən necə kənara dartıldığına diqqət edin (əlavə edilmə). [(c) hissəsi Macmillan Publishers Ltd: razılığı ilə Ruchaud S. et al., “Chromosomal passengers: conducting cell division,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, 8:798–812-dən yenidən çap olunur.]

biri sitoplazmatik dincindir, guman olunur ki, o iki mikroborucuğa birləşir və onların (-) sonluğuna miqrasiya edir, beləliklə onları bir-yerə çəkir.

18.1 bölməsində qeyd edildiyi kimi, son zamanlar aşkar edilmiş γ -TuRC-assosiasiyalı kompleks olan *auqmin kompleksi* də mitoz şpindelində mikroborucuqlara kömək edir. Gecikən prometafazada və metafazada auqmin kompleksi ana mikroborucuqlar kimi eyni polyarlığa malik olan əlavə mikroborucuqların yığılmasını nukleasiya etmək üçün mövcud şpindel mikroborucuqlarının yan tərəfinə birləşir. Bu fəallıq həm polyar həm də kinetoxor mikroborucuqlarının şpindelə bolluğunu təmin edir.

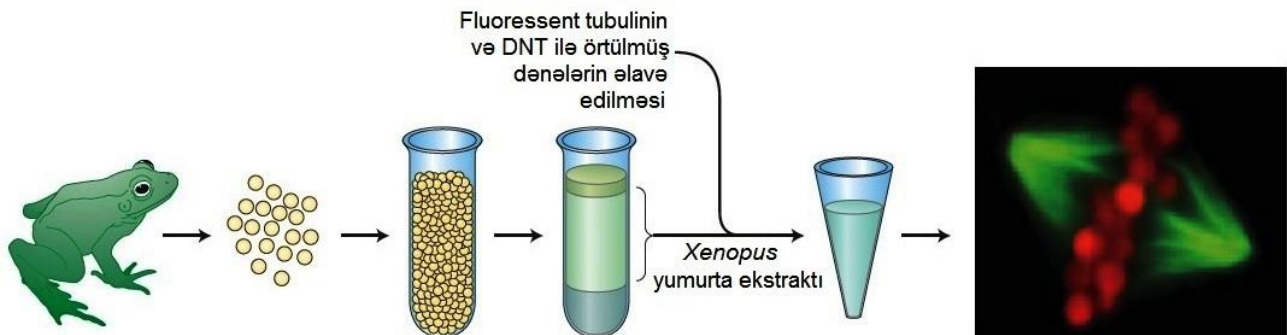
Son zamanların tədqiqatları sentromerlər olmadan şpindel necə əmələ gilməsi barədə modeli yaratdı. DNT ilə örtülən qranulların mikroborucuqların yığılmasını induksiya edə bilməsinin mümkünlüyü interfaza hüceyrələrində nüvə eksportunu və importunu həyata keçirən (bax Bölmə 13.6) kiçik GTP-aza zülalı Ran-dan asılıdır. Yada salaq ki, nüvə daxilinə import üçün təyin olunan zülallar importin adlanan nüvə import reseptoru ilə birləşir, nəticədə nüvə məsələləri vasitəsi ilə

sitolazmada nüvəyə keçən kompleks yaranır. Ran•GTP-nin səviyyəsi nüvədə yüksəkdir, çünki onun aktivatoru olan Ran-quantin nukleotid mübadiləsi faktoru (Ran-GEF) xromatinə birləşərək orada yerləşir. Ran-GTP importinə birləşir, daşınan zülalı buraxmaq üçün onun konformasiyasını dəyişir, sonra importin-Ran•GTP kompleksi nüvə məsələlərindən keçərək sitozola qayıtmaq üçün nüvəni tərk edir. Mitoz zamanı nüvə qabığı dağıldıqdan sonra, Ran-GEF xromatinlə assosiyada olduğuna görə, xromosomlar ətrafında Ran•GTP-nin qradienti yaranır. Bu Ran•GTP TPX adlanan zülalı importindən buraxır. TPX xromatin yaxınlığında, sonra şpindelə əmələ gəlməsində istifadə oluna bilən mikroborucuqların yığılmasını idarə etmək üçün auqmin kompleksi və γ -TuRC ilə birləşir. Sentrosomlu şpindellərdə bu yol kinetoxorların və polyar mikroborucuqların sayını artırmaq üçün də mövcud olur. Buraya, ana mikroborucuğa kiçik bucaq altında olan yeni mikroborucuğun yığılmasını nukleasiya etmək üçün və bununla da eyni polyarlıqda olan mikroborucuqların sıxlığını artırmaq üçün, TPX-auqmin- γ -TuRC kompleksinin mövcud olan mikroborucuqların yan tərəfi ilə birləşməsi daxildir.



ŞƏKİL 18-43 Anafaza zamanı xromosomların hərəkəti və şpindel qütblərinin seqreçasiyası. Anafaza A hərəkəti kinetoxorlarda (A1) və şpindel qütbündə (A2) kinezin-13 zülalların mikroborucuğu qısaltması ilə həyata keçirilir. Qeyd edək ki, xromosom çiyinləri assosiasiyada olan xromokinezin/kinezin-4 nümayəndələrinə görə hələ də şpindel qütbündən kənara yönəlmişdir, buna görə, depolimerləşmə güvvəsi çiyinlərin şpindel mərkəzinə dartılması güvvəsini dəf

etməlidir. Anafaza B dsə həmçinin iki komponentə malikdir: antiparallel polyar mikroborucuqların kinezin-5 (+) sonluğa yönəldilmiş motorla sürüşdürülməsi (B1) və hüceyrə qabığında yerləşən dinein-dinaktin vasitəsi ilə astral mikroborucuqlarda dartılma (B2). Oxlar müvafiq güvvələr tərəfindən yaranan hərəkətin istiqamətini göstərir. Bax Cleveland et al., 2003, *Cell* 112::407-421.

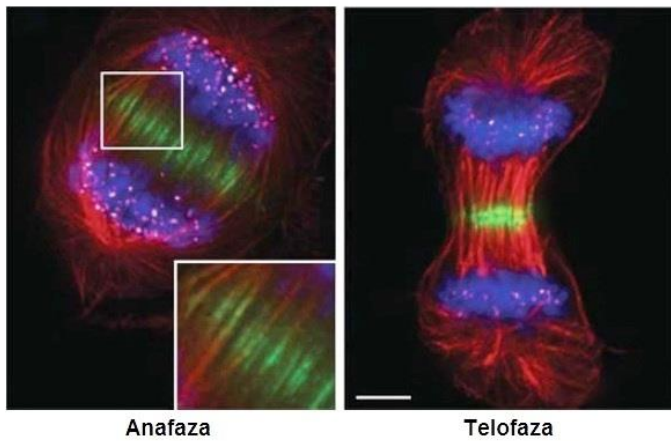


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-44 Mitoz şpindelləri xromosomlar olmayanda da yarana bilər. Sentrosomsuz ekstraktlar qurbağanın mitoz zamanı dayandırılan oositindən həll olan materialları orqanoidlərdən və yumurta sarısından ayırmaq üçün sentrifüqalama yolu ilə alınır. Fluorescent nişanlanmış tubulin (yaşıl) DNT ilə örtülmüş qranullarla (qırmızı) birlikdə həllolan materialların ekstraktına əlavə ediləndə, nizamsız nukleasiya olunmuş

mikroborucuqlardan spontam şəkildə qranullar ətrafında mitotik şpindellər formalaşır. Bax Kinoshita et al., 2002, *Trends Cell Biol.* 12:267-273 və Antonio et al, 2000, *Cell*102:425. [Mikrofoto Nature razılığı ilə Heald, R. et al., "Self-organization of microtubules into bipolar spindles around artificial chromosomes in *Xenopus* egg extracts," *Nature*, 1996, 382:6590, pp. 420-425-dən yenidən çap olunmuşdur.]

Sitokinez İkiləşmiş Hüceyrəni İkiyə Ayırır

Heyvan hüceyrələrində gecikən anafaza və telofaza zamanı, hüceyrələr plazma membranına yapışmış mikroborucuq əsaslı *dartıla bilən halqanı* yığır, hansiki sonda sıxılaraq hüceyrəni ikiyə ayırır, bu proses sitokinez adlanır (bax Şəkil 18-37). Dartıla bilən halqa myozin II bipolyar filamentlərlə kəşişən, qarışıq polyarlıqda olan aktin filamentlərin nazik bir təbəqəsidir (bax Şəkil 17-35). Sıxılma alarkən halqa dartılır, əvvəlcə *ayrılma sırımını* əmələ gətirir, sonra hüceyrəni qoparıb iki yerə ayırır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-45 Xromosom sərnəşin kompleksi (CPC) anafaza və telofaza müddətində şpindel in orta zonasında qalır. Gecikən anafaza (*solda*) və telofaza (*sağda*) hüceyrələrinin mikrofotosu mikroborucuqları (qırmızı), DNT-ni (mavi), Aurora B kinazını (yaşıl) və kinetoxorları (maqnet) göstərir. CPC-nin bir hissəsi olan Aurora B-nin mikroborucuqların bir-birini ördüyü və yığılan həlqənin əmələ gəldiyi rayonda necə qatılacağına diqqət yetirir. Miqyas barı 5 µm-dir. [Macmillan Publishers Ltd: razılığı ilə Ruchaud S. et al., "Chromosomal passengers: conducting cell division." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, 8:798–812-dən yenidən çap olunur.]

Dartıla bilən halqanın iki aspekti onun funksiyası üçün çox vacibdir. Birincisi, o, hüceyrədə müvafiq yerində yerləşdirilməlidir. Məlumdur ki, bu yerləşdirmə şpindel tərəfindən verilmiş siqnalla təyin edilir, belə ki, halqa iki şpindel qütbləri arasında bərabər məsafəni yaradır. Siqnal ən azı qismən də olsa, prometafazanın gedişində mikroborucuqların kinetoxorlara yapışmasını tənzimləyən xromosom sərnəşin kompleksi (CPC) tərəfindən verilir (bax Şəkil 18-42b). Anafazaya qədər CPC ayrılmamış xromatidlərin daxili kinetoxoru ilə assosiasiyada olur. Anafaza başlayanda, o sentromerləri tərk edir və şpindel in mərkəzində üst-üstə düşən polyar mikroborucuqlarla birləşir (Şəkil 18-45). Orada CPC başqa bir zülal kompleksini, mortor fəallığına görə şpindel in ortasında yığılan (qatılma) (+) sonluğa yönəlmiş kinezin motor zülalı *sentralişpindlini* səfərbər edir. Anafaza B davam edərkən, sentralişpindlin RhoA üçün qanın nukleotidi mübadiləsi faktorunu cəlb edir. Fəsil 17-dən yada saraq ki, Rho zülalları kiçik GTP-birləşdirən zülallardır və GDP-nin GTP-yə mübadilə olunmasını kataliz edən faktorlar vasitəsi ilə fəallaşır. RhoA•GTP, dartılan halqanı əmələ gətirən aktin filamentlərin

nukleasiyasının və yığılmasının idarə olunması üçün formın zülalını fəallaşdırır (bax Şəkil 17-43). Bu yolda, şpindel in vəziyyəti birbaşa dartılan halqanın əmələ gəlmə yerini və beləliklə sitokinezi təyin edir.

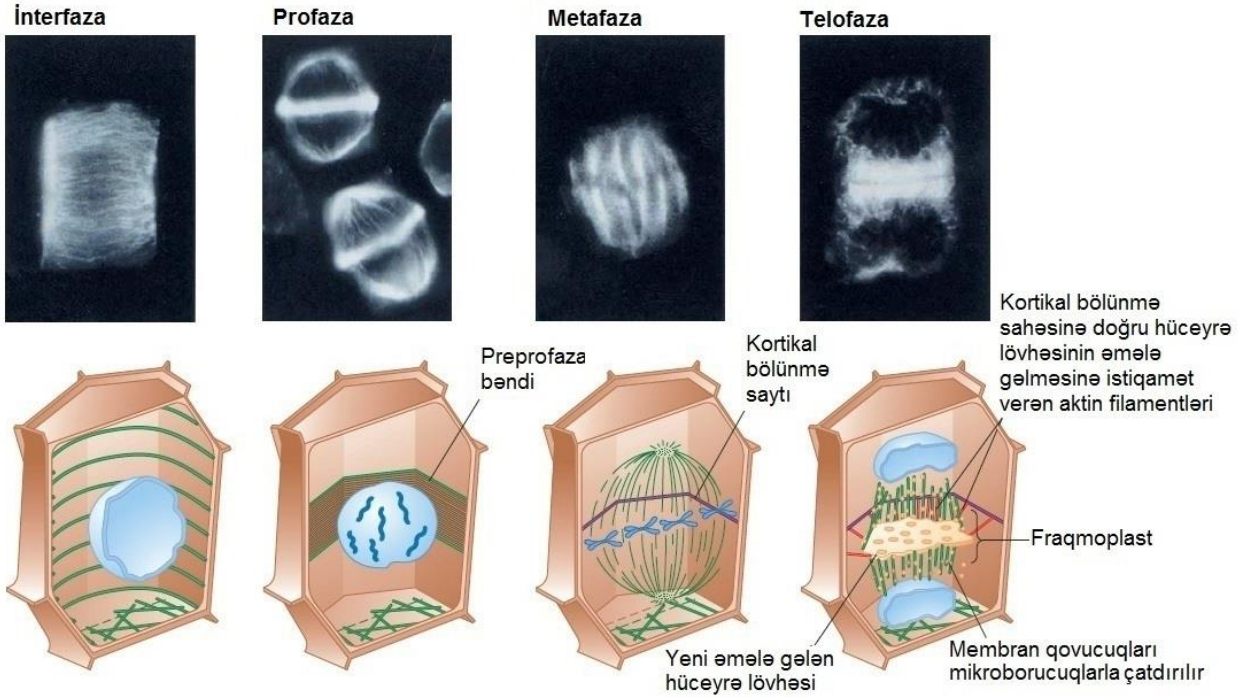
Dartılan halqanın ikinci əhəmiyyətli aspekti onun büzülməsi vaxtıdır: əgər o bütün xromosomların müvafiq qütblərə çəkilməsindən öncə büzülərsə, bu fəlakətli genetik nəticələrə səbəb olardı. Bizim Fəsil 19-da müzakirə etdiyimiz kimi, tumurcuqlayan mayada *şpindel mövqeyinin nəzarət nöqtəsi* adlanan, şpindel müvafiq istiqamətdə yönəlməyincəyə qədər sitokinezin baş verməsinin qarşısını almaq üçün hüceyrə tsikli ni dayandıran siqnal yolu aşkar edilmişdir. Bu koordinasiyanın mexanizmi heyvan hüceyrələrində hələ də açılmamış vəziyyətdə qalır.

Mitoz Zamanı Bitki Hüceyrələri Öz Mikroborucuqlarını Tanıyır və Hüceyrə Divarını Qururlar



İnterfaza bitki hüceyrələrində, heyvan hüceyrələri üçün tipik olan mikroborucuqların radial düzülüşünü yaradan mərkəzi MTOC yoxdur. Əvəzində, tərkibində γ -tubulin olan çoxsaylı MTOC-lar bitki hüceyrələrində örtüyü əmələ gətirir və hüceyrə divarının altında mikroborucuqların eninə düzülən bəndinin yığılmasını nukleasiya edir (Şəkil 18-46, *solda*). Qarışıq polyarlıqda malik olan bu mikroborucuqlar, mikroborucuq-qıran zülal kataninin təsiri ilə kortikal MTOC-lardan buraxılır; kataninin itirilməsi çox uzun mikroborucuqların və qüsurlu hüceyrələrin yaranmasına səbəb olur. Bunun səbəbi odur ki, bitki-spesifik MAP-larla çarpaz kəşişən və hüceyrəxarici selluloza mikrofibrillərin altında yerləşən bu kortikal mikroborucuqlar sərt hüceyrə divarının əsas komponentləridir (bax Şəkil 20-40).

Hərçənd ki, bitki hüceyrələrində mitoz hadisələri heyvan hüceyrələrində baş verənlərə ümumilikdə çox oxşardır, amma şpindel in formalaşması və sitokinez bitkilərdə unikal xüsusiyyətlərə malikdir (bax Şəkil 18-46). Bitki hüceyrələri öz kortikal mikroborucuqlarını və aktin filamentlərini *preprofaza zolaqlarında* dəstələyir və profaza zamanı sentrosomların köməyi olmadan onları şpindel daxilində yenidən təşkil edirlər. Preprofaza zolaqların saytı sonrakı kortikal bölünmə saytını təyin edir. Metafaza zamanı, mitoz aparatı bitki və heyvan hüceyrələrində əsasən eynidir. Bitkilərdə hüceyrə divarı olduğundan hüceyrənin ikiyə bölünməsi heyvan hüceyrələrindən kifayət qədər fərqlidir və yeni qız hüceyrələr arasında hüceyrə divarının yığılmasını tələb edir. Telofaza zamanı meydana gələn Qolcidən-yaranan qovucuqlar *yeni yaranan hüceyrə lövhəsini* əmələ gətirmək üçün mikroborucuqlar boyu daşınır. Hüceyrə lövhəsi genişləyir və heyvan hüceyrələrindəki dartılan halqanı əvəz edən membran quruluşu **fraqmoplastları** yaratmaq üçün aktin filamentlərlə hüceyrə bölünmə saytına doğru istiqamətləndirilir. Fraqmoplastları əmələ gətirən qovucuqların membranları qız hüceyrələrinin plazma membranına çevrilirlər. Bu qovucuqların selluloza və pektinin polisaxarid sələflər kimi tərkibi erkən hüceyrə lövhəsini yaradır və inkişaf edib qız hüceyrələr arasında yeni hüceyrə divarına çevrilir. ■



ŞƏKİL 18-46 Çiçəkləyən bitki hüceyrəsində mitoz.

İmmunofluoresensiya mikrofotosu (*yuxarıda*) və müvafiq diaqramlar (*aşağıda*) interfaza və mitoz bitki hüceyrələrində mikroborucuqların düzlüşünü göstərir. Mikroborucuqların kortikal massivi interfazada hüceyrəni qurşaq kimi bağlayır. Hüceyrə profazaya daxil olanda mikroborucuqlar (yaşıl) filamentlərlə (qırmızı) birlikdə hüceyrə örtüyü altında, gələcəkdə kortikal bölmə saytını əmələ gətirən preprofaza qurşağında yığılırlar. Hüceyrələr prometafazaya və metafazaya daxil olan kimi, heyvan hüceyrələrindəkinə oxşar olan şpindel əmələ gəlir, Amma, hüceyrə divarına görə bitki hüceyrələrində sitokinez heyvan

hüceyrələrdəkindən çox fərqlənir. Mikroborucuqlar membranları fraqmpoplast adlanan membran şəbəkəsini yaratmaq üçün istifadə edilən və təşkil olunması kortikal bölmə sahəsi ilə əlaqəli olan aktin filamentlərlə təyin edilən qovucuları çatdırırlar. Sonda fraqmpoplast iki qız hüceyrənin plazma membranının bir hissəsinə çevrilir. Qovuculardan ifraz olunan fermentlər sonra iki qız hüceyrə arasında hüceyrə divarını qurur. Bax G. Jürgens, 2005, *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:281–299 [Mikrofotolar nəzakətlə Susan M. Wick tərəfindən.]

18.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mitoz

- Mitoza – ikiləşmiş xromosomların dəqiq ayrılmasına – dinamik mikroborucuqlardan və mikroborucuq-assosiasiyalı motorlardan ibarət olan molekulyar maşın daxildir.
- Mitoz şpindelində, hamısı şpindel qütblərindən çıxan üç sinif mikroborucuq vardır: xromosomlara birləşən kinetoxor mikroborucuqlar, hər bir şpindel qütbindən uzanan və şpindel ortasında bir-birini örtən polyar mikroborucuqlar, hüceyrə örtüyünə qədər uzanan astral mikroborucuqlar (bax Şəkil 18-38).
- Mitozun birinci mərhələsində, profazada nüvə xromosomları condensasiya edir və şpindel qütbləri nüvənin hər iki tərəfinə çəkilir (bax Şəkil 18-37).
- Prometafazada nüvə qabığı dağılır, şpindel qütblərindən uzanan mikroborucuqlar bacı xromatid cütlerini onların kinetoxorlarından tutur. İki kinetoxor (hər bir xromatiddən bir dənə) qarşı tərəfdəki şpindel qütbinə birləşir (biorientasiya) və xromosomun şpindel ortasında toplanmasına imkan verir.
- Daxili kinetoxorla birləşən xromosom sənişin kompleksi (CPC), kritik əhəmiyyətli kinetoxor zülallarını fosforlaşdıran kinaza komponenti Aurora B vasitəsi ilə mikroborucuq

birləşmələrini zəif şəkildə saxlayır. Xromosom biorientasiya olunanda gərginlik yaranır və Aurora B substratları kinazadan kənara dartılır (bax Şəkil 18-42). Kinetoxor zülallarının Aurora B tərəfindən fosforlaşması olmadıqda xromosom-kinetoxor birləşməsi stabil qalır.

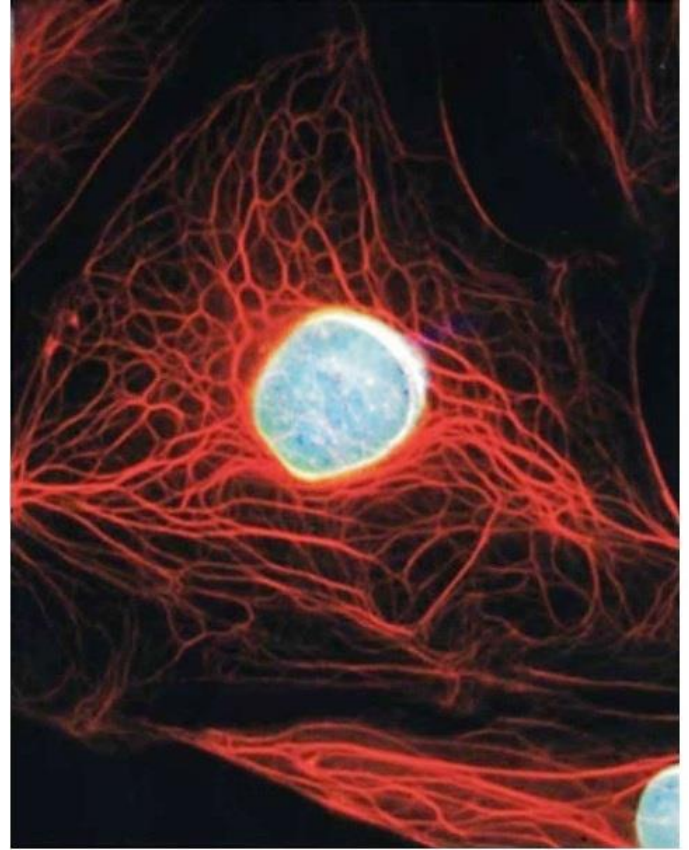
- Metafazada xromosomlar metafaza lövhəsində düzlənir. Şpindel yığılmasının yoxlama-nöqtəsi yolu birləşməməş kinetoxorları yoxlayır və xromosomların hamısı birləşənə qədər anafazanı ləngidir. Anafazada ikiləşmiş xromosomlar ayrılırlar və kinetoxor mikroborucuqlarının həm kinetoxor həm də şpindel qütblərindən qısalması yolu ilə şpindel qütblərinə çəkilirlər (anafaza A). Şpindel qütbləri də bipolyar kinezin-5-in polyar mikrofilamentlərin (+) sonluğu istiqamətində hərəkəti nəticəsində itələnmək yolu ilə uzaqlaşırırlar (anafaza B). Şpindel ayrılmasını kortikal yerləşmiş dineinin astral mikroborucuqları datması da asanlaşdırır (bax Şəkil 18-43).
- Mitoz şpindelini sentrosomlar olmadan özünü-yığma imkanı olduğundan, əlavə mexanizmlər mitoz şpindelini yığılmasına kömək edirlər.
- Yerləşmə mövqeyi şpindelini mövqeyi ilə təyin edilən aktin-myozin-əsaslı dartılan halqa, sitokinez zamanı dartılaraq hüceyrəni qoparıb iki hissəyə ayırır.

- Bitkilərin hüceyrə bölünməsində, sonda iki qız hüceyrənin plazma membranına çevrilən fraqtoplastın yığılması üçün membranların mikrorucuqlarla çatdırılması baş verir.

18.7 Aralıq Filamentlər

Eukariotların üçüncü əsas filament sistemi *aralıq filamentlərdən* (AF) təşkil olunmuşdur. Bu adlandırma onların diametrini əks etdirir, təxminən 10 nm olub 6-8 nm diametrlilik mikrofilamentlərlə skelet əzələsinin qalın myozin filamentləri arasında aralıq təşkil edirlər. Aralıq filamentlər bütün sitoplazma boyu uzanır və həm də interfaza heyvan hüceyrələrində daxili nüvə qabığı örtür (Şəkil 18-47). Aralıq filamentlər onları mikrofilamentlərdən və mikrorucuqlardan fərqləndirən bir neçə unikal xassələrə malikdirlər. Birincisi, onlar biokimyəvi olaraq daha çox heterogendirlər, yəni daha çox fərqlənirlər, amma təkamülə yaxın olan AF subvahidlərə malikdirlər və çox zaman toxumadan-asılı olan şəkildə ekspressiya olunurlar. İkincisi, əsasən ölmüş hüceyrələrin aralıq filamentlərindən təşkil olunan tüklərdən və dırnaqlardan görüldüyü kimi, onlarda böyük elastiklik gücü var. Üçüncüsü, onların mikrofilamentlər və mikrorucuqlarda olan daxili polyarlığı yoxdur və onların təşkil olunduğu subvahidlər nukleotid birləşdirmirlər. Dördüncüsü, onların daxili polyarlığı olmadığından, təcübli deyildir ki, onlardan yol (iz) kimi istifadə edən heç bir məlum olan motor yoxdur. Beşincisi, baxmayaraq ki, onlar subvahid mübadiləsinə görə dinamikdirlər, amma mübadilə sürəti çox aşağı olduğundan mikrofilamentlər və mikrorucuqlarla müqayisədə onlar daha çox sabitdirlər. Həqiqətən də, aralıq filamentlərin təmizlənməsinin standart yolu hüceyrələri detergentdə sərt ekstraksiyaya məruz qoymaqdır, belə ki, bütün membranlar, mikrofilamentlər və mikrorucuqlar həll olurlar və demək olar ki, yalnız aralıq filamentlərdən ibarət olan qalıqlar qalır. Nəhayət sonuncusu, aralıq filamentlər bütün eukariotlarda tapılmamışdır. Göbələklər və bitkilərdə aralıq filamentlər yoxdur, həşəratlar isə onun yalnız bir sinifinə malikdirlər və A/C və B laminləri ekspressiya edən iki genlə təmsil olunurlar.

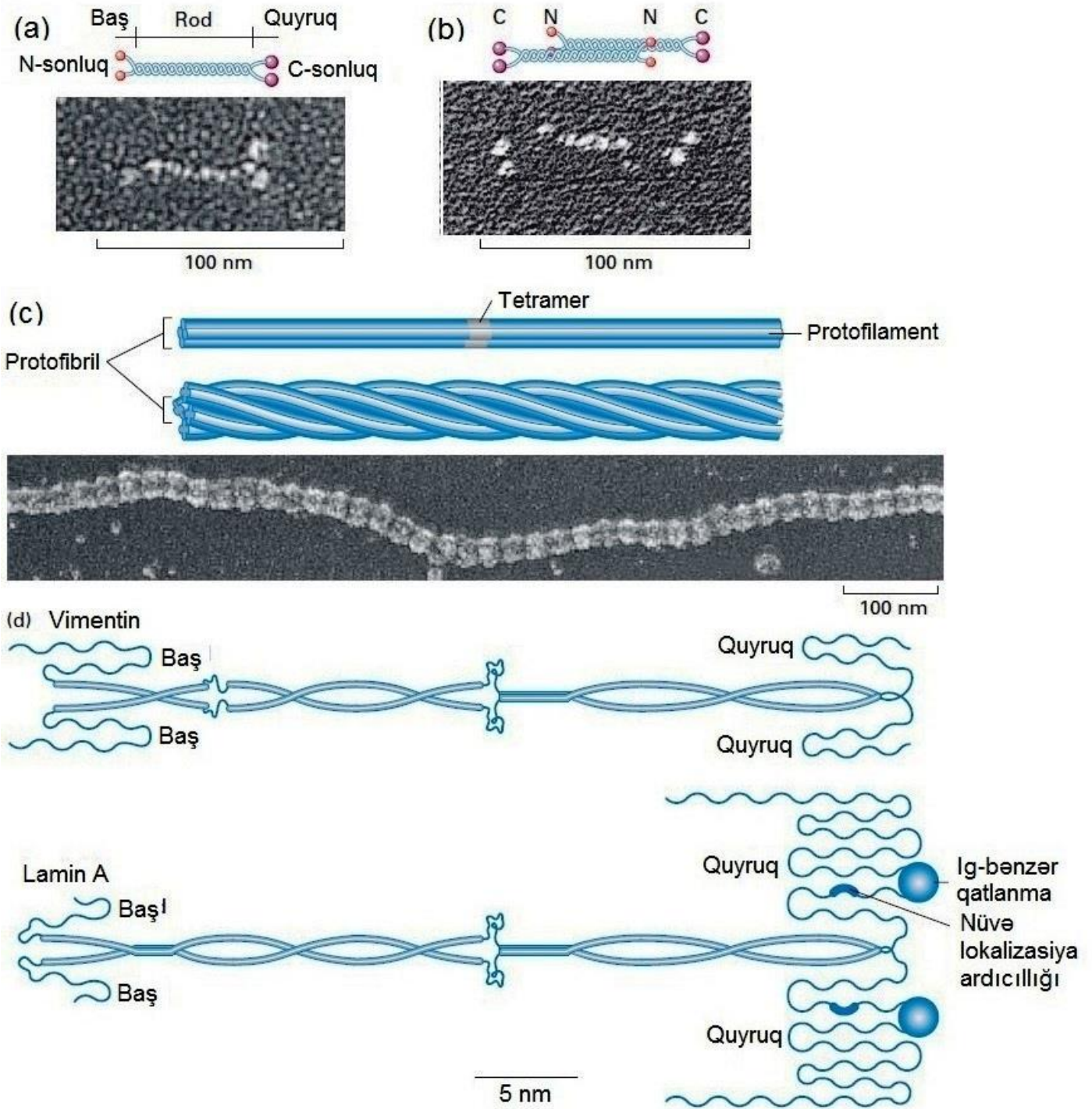
Bu xassələr aralıq filamentləri metazoanlarda unikal və əhəmiyyətli quruluşlar edirlər. Onların əhəmiyyəti yüzlərlə kliniki pozuntuların identifikasiyası ilə vurğulanır, onlardan burada müzakirə olunan bəziləri AF zülalları kodlaşdıran genlərdə baş verən mutasiya ilə əlaqəlidir. Hüceyrə və toxuma kulturasında onların töhfəsini anlamaq üçün, biz əvvəlcə AF zülallarının quruluşunu yoxlayırıq və onların filamentlərdə necə toplandığına baxırıq. Sonra biz onların dinamikasını müzakirə edirik və ardınca aralıq filamentlərin müxtəlif siniflərini və bu siniflərin yerinə yetirdiyi funksiyaları təsvir edirik.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-47 Epiteli hüceyrələrində aralıq filamentlərin iki tipinin lokalizasiyası. Epiteli hüceyrələrinin immunofluoressensiya mikrofotosu keratinə (qırmızı) və laminə (mavi) olan anticislərlə ikiqat rənglənir. Lamin aralıq filamentlərin bir şəbəkəsini nüvə membranı altında görmək olar, keratin filamentləri isə nüvədən plazma membranına qədər uzanır. [Nəzakətə Robert D. Goldman-dan.]

Aralıq Filamentlər Dinamikdirlər

Baxmayaraq ki, aralıq filamentlər mikrorucuqlara və mikrofilamentlərə nisbətən daha çox stabildirlər, göstərilmişdir ki, AF zülal subvahidləri mövcud olan AF sitoskeletlə dinamik tarazlıqdadırlar. Bir eksperimentdə, biotinlə nişanlanmış keratin fibriləst daxilinə yeridilmişdir; iki saat müddətində nişanlanmış zülal artıq mövcud olan keratin sitoskelet daxilinə inkorporasiya olunmuşdur (Şəkil 18-49). Bu eksperimentin və digərlərinin nəticələri nümayiş etdirdi ki, AF subvahidləri həllolan topluda özlərini artıq mövcud olan filamentlərə əlavə edə bilirlər və subvahidlər intakt filamentlərdən dissosiasiya edə bilirlər.



ŞƏKİL 18-48 Aralıq Filamentlərin quruluşu və toplanması.

Bağırsaq parazit qurdu *Ascaris*-dən AF zülal dimerlərin, tetramerlərin və yetkin aralıq filamentlərin elektron mikrofotosu və rəsəmləri. (a) AF zülallar yüksək dərəcədə konservativ spirallaşmış-spiral domeni ilə parallel dimerləri əmələ gətirirlər. AF siniflər arasında qlobulyar başlar və quyruqlar uzunluqlarına və ardıcılığına görə olduqca dəyişkəndirlər. (b) Tetramerlər iki identik dimerin antiparallel, ləngərlənən (staggered), yan-ba-yan aqreqasiyası nəticəsində yaranır. (c) Tetramerlər uc-uc və lateral şəkildə protofibrillərə aqreqasiya edirlər. Dörd protofibrildən təşkil olunmuş yetkin filamentdə

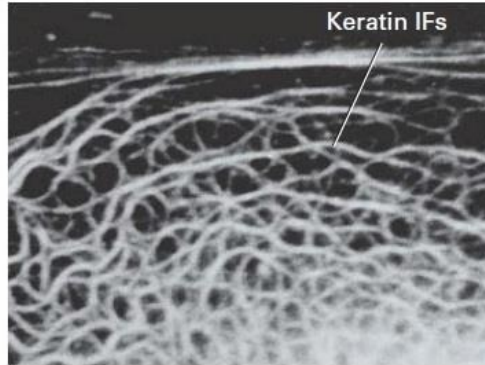
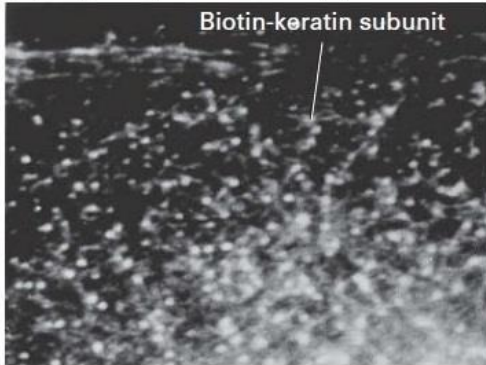
qlobulyar domenlər səthdə dənəvər klasterləri əmələ gətirirlər. Bax N. Geisler et al., 1998, *J.Mol.Biol.* **282**:601, nəzakətlə Ueli Aebi-dən. (d) Vimentin və lamin A quruluşunun müqayisəsi. Qeyd edək ki, lamin zülalında onu nüvəyə hədəf edən nüvə lokalizasiya ardıcılığı (siqnalı) vardır. Bax H. Herrman et al., 2007, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**:562. [Mikrofotolar Elsevier razılığı ilə: N. Geisler et al., "Assembly and architecture of invertebrate cytoplasmic intermediate filaments reconcile features of vertebrate cytoplasmic and nuclear lamin-type intermediate filaments," *J. Mol. Biol.* **282**:601 (1998)-dən yenidən çap olunur.]

Sitoplazmatik Aralıq Filament Zülallar Toxuma-Spesifik Üsulda Ekspressiya Olunur

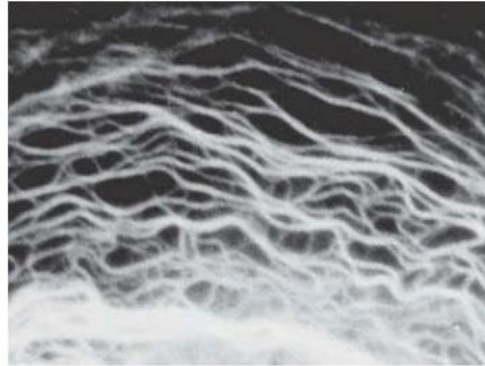
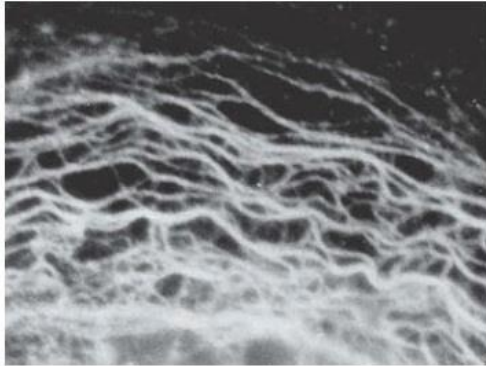
AF zülalların ardıcillıq analizləri aşkar etdi ki, onlar beş fərqli homoloji sinifə bölünürlər və bunlardan dördü sitoplazmada yerləşir. Bu AF siniflər AF zülalların ekspressiya olunduğu hüceyrə tipinin inkişaf mənsəinə güclü uyğunluq göstərilir (Cədvəl 18-1). Biz beşinci sinifi, nüvə laminini ayrılıqda müzakirə edirik, çünki onlar sitoplazmatik aralıq filamentlərdən fərqli funksiyanı yerinə yetirirlər.

AF zülalların I və II siniflərini əmələ gətirən keratinlər epitelilərdə tapılmışdır, III sinif AF zülallar əsasən mezodermal mənşəli hüceyrələrdə tapılmışdır, IV sinif AF zülallar isə neyronlarda tapılmış neyrofilamentləri təşkil edirlər. Göstərilmişdir ki, V sinifi əmələ gətirən laminlər, bütün heyvan toxumalarında nüvəni astar kimi daxildən örtürlər. Biz burada sitoplazmada tapılmış dörd homoloji sinifi qısaca ümumiləşdiririk və spesifik toxumalarda onların rolunu müzakirə edirik.

(a) İnyeksiyadan 20 dəqiqə sonra



(b) İnyeksiyadan 4 saat sonra



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-49, Həllolan keratinlər filamentlə

inkorporasiya olunduğundan, keratin aralıq filamentləri dinamikdirlər.

I tip monomer keratin təmizlənmiş, biotinlə kimyəvi nişanlanaraq inyeksiya etməklə canlı epitel hüceyrələrinə yeridilmişdir. Sonra hüceyrələr inyeksiya olunduqdan müxtəlif zaman müddətlərindən sonra fiksasiya olunaraq biotinə olan anticismə və keratinə olan anticismə nişanlanmışdır. (a) İnyeksiyadan 20 dəqiqə sonra, inyeksiya olunan biotinlə nişanlanmış keratin sitoplazma boyu səpilməmiş kiçik mərkəzlərdə yığılır (*solda*), amma endogen keratin sitoskeletə inteqrasiya etmir (*sağda*). (b) 4 saatdan sonra biotinlə nişanlanmış keratin (*solda*) və keratin filamentlər (*sağda*) identik profili nümayiş etdirirlər və bu göstərir ki, mikroinyeksiya olunmuş zülal mövcud olan sitoskelet daxilinə keçmişdir. [1991 R.K. Miller, K. Vistrom, and R. D. Goldman et al., *The Journal of Cell Biology* 113:843–855 doi

Aralıq Filamentlər Subvahid Dimerlərdən Toplanırlar

Aralıq filamentlər insan genomunda beş subailədə olan 70 müxtəlif genlə kodlaşdırılır. AF zülalların təyinedici xüsusiyyəti təxminən 310 qalıqdan ibarət təkamüldə saxlanılmış konservativ α -spiral rod (çöp) domenin olmasıdır, bu da spirallaşmış-spiral motifin ardıcillıq xüsusiyyətinə malikdir (bax Şəkil 3-9a).

Aralıq filamentlərin əsas quruluş blokları, rod (çöp) domenlər vasitəsi ilə bir yerdə saxlanılmış dimerdir və spirallaşmış spiral kimi birləşirlər (Şəkil 18-48a). Sonra bu dimerlər offset modada birləşərək tetramerləri əmələ gətirirlər, hansı ki iki dimer əks orientasiyaya malikdirlər (Şəkil 18-48b). Tetramerlər uc-uca toplanırlar və uzun *protofilamentlər* daxilində birləşirlər. Dörd protofilament *protofibril* daxilində birləşir, dörd protofibril isə yan-yan birləşərək 10 nm-lik filament əmələ gətirir. Beləliklə, aralıq filament daxilində 16 protofilamentə malikdir (Şəkil 18-48c). Hər bir dimerin çöp

domeni tərəfində, AF sinifi üçün xarakterik olan, müxtəlif ölçülü qeyri spiral N- və C-sonluqlu domenlərdir (Şəkil 18-48d). Tetramerlər simmetrik olduğundan, aralıq filamentlərdə polyarlıq olmur. Filamentin bu təsviri onun toplanma mexanizminə deyil daha çox onun quruluşuna əsaslanmışdır: hazırda hələ də tam aydın deyildir ki, aralıq filamentlər in vivo necə toplanır. Mikrofilamentlərdən və mikrobörcüclərdən fərqli olaraq, məlum olan aralıq filamentin nukleasiya edən, müsadirə edən, qapayan və ya filament-kəsici zülalları yoxdur.

Keratinlər Keratinlər epitel hüceyrəsinə möhkəmlik verir. Birinci iki AF zülalı homoloji siniflər *turş* və *qələvi keratinlərdir*. İnsan genomunda keratinləri kodlaşdıran 50-yə qədər gen vardır və bunlar turş və qələvi sinifləri arasında təxminən bərabər bölünürlər. Bu keratin subvahidləri obliqat (məcburi) dimerlərdə elə toplanırlar ki, dimerin biri turş, digəri

isə əsasi zəncirdən təşkil olunur, sonra bu dimerlər, əvvəlki bölmədə təsvir edilmiş kimi, filamentlərdə toplanırlar.

Keratinlər, qələvi və turş keratin cütlərinin müxtəlif epitel hüceyrələrində müxtəlif ekspressiya profilini göstərərək və differensasiya-spesifik tənzimlənərək AF zülallar ailəsində şübhəsiz daha geniş müxtəlifliyə malik olurlar. Bunlar arasında bərk keratinlər adlandırılanlar tük və dırnaqları əmələ gətirirlər. Bu keratinlər sistein qalıqları ilə zəngindir, hansiki oksidləşərək disulfid körpülərini əmələ gətirir və bununla da zülal möhkəmlik verir. Bu xassə saç düzəldənlər (stilistlər) tərəfindən istifadə olunur: əgər siz saçınızın formasını bəyənirsinizsə, sizin saç keratinində disulfid körpülər azaldıla bilər, saç yeni forma alır və oksidləşməklə disulfid körpülər yenidən yaradılır—nəticədə “daimi” saç burulması və ya saç düzəldirilməsi alınır.

Yumuşaq keratin və ya *sitokeratinlər* adlandırılanlar epitel hüceyrələrində tapılmışdır. Dərini əmələ gətirən epidermal-hüceyrə qatları bu keratinlərin funksiyasının yaxşı nümunəsidir. Hüceyrələrin ən aşağı qatı – bazal lamina ilə əlaqədə olan *bazal qat* konstant proliferasiya edir və *keratinosetlər* adlanan hüceyrələrin yaranmasına səbəb olur. Keationositlər bazal qatdan çıxdıqdan sonra differensasiya edir

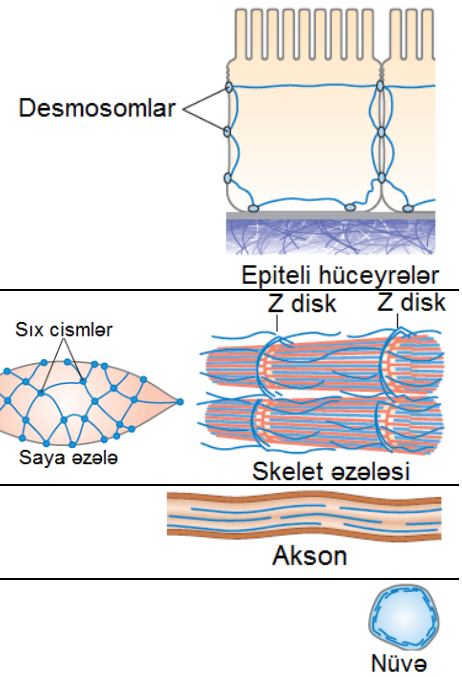
və külli miqdarda sitokeratinləri ekspressiya edirlər. Sitokeratinlər hüceyrələr arasında xüsusi qoşulma saytları ilə birləşirlər və aşınmaya davam edə bilən hüceyrələr təbəqəsini əmələ gətirirlər. Keratinositlər sonda tədricən ölürlər, nəticədə bütün orqanoidlərin yox olduğu ölü hüceyrələr qalır. Bu ölü hüceyrə qatı su buxarlanmasına qarşı çox əhəmiyyətli baryeri əmələ gətirir, bunsuz biz yaşaya bilməzdik. Heyvanlarda dəri hüceyrəsinin ömrü, onun yarandığından ölümünə, lopalarla tökülməsinə qədər qədər təxminən bir aydır.

Bütün epitelilərdə, keratin filamentlər qonşu hüceyrələri bir-biri ilə əlaqələndirən desmosomlarla və hüceyrni xarici matrisə ilə əlaqələndirən hemidesmosomlarla birləşir, bununla da hüceyrələrə və tuxumalara onların möhkəmliyini verir. Bu quruluşlar Fəsil 20-də daha ətraflı müzakirə olunur.

Getdikcə artan dəlillər göstərir ki, keratinlər sadəcə olaraq quruluşun saxlanılmasından başqa, bəzi orqanoidlərin təşkilini təmin edir və siqnal ötürülməsi yollarında da iştirak edirlər. Məsələn, toxuma yaranmasına cavab olaraq, hüceyrələrin sürətli inkişafı induksiya olunur. Göstərilmişdir ki, epitel hüceyrələrində böyümə siqnalı hüceyrə-böyüməsi-siqnal molekulu ilə spesifik keratin arasında əlaqənin olmasını tələb edir.

CƏDVƏL 18-1 Məməlilərdə aralıq filamentlərin əsas sinifləri

Sinif	Zülal	Paylanması	Guman olunan funksiyası
I	Turş Keratin	Epiteli hüceyrələri	Toxuma möhkəmliyi və inteqrasiya
II	Qələvi keratin	Epiteli hüceyrələri	
III	Desmin, GFAP, vimentin	Əzələ, qlial hüceyrələr, mezenxim hüceyrələr	Sarkomerin təşkili, inteqrasiyası
IV	Neyrofilamentlər (NFL, NFM və NFH)	Neyronlar	Akson təşkili
V	Laminlər	Nüvə	Nüvənin quruluşu və təşkili



Desmin AF zülallarının III sinifinə mezenxema hüceyrələrində tapılmış *vimentin* daxildir, *GFAP* (*qlial fibrilyar turş zülallar - glial fibrillary acidic protein*) qlial hüceyrələrdə tapılmışdır, *desmin* isə əzələ hüceyrələrində tapılmışdır. Desmin əzələ hüceyrələrinin möhkəmliyini və təşkilini təmin edir (18-1 cədvəldəki cizkilərə bax).

Saya əzələdə desmin filamentlər, dartılan myofibrillərin də qoşulduğu sitoplazmatik *sıx cismləri* plazma membranı ilə əlaqələndirərək onların həddən artıq dartılmaya dözümlülüyünü

təmin edir. Skelet əzələlərində, desmin filamentlər bağından ibarət olan qəfəs (*lattice*) sarkomeri əhatə edir. Desmin filamentlər Z diski əhatə edir və plazma membranı ilə bağlanır. Uzunamasına desmin filamentləri myofibril daxilində qonşu Z disklərlə kəsişir və yaxınlıqdakı myofibrilin Z diskləri ətrafında desmin filamentlər arasındakı əlaqələr əzələ hüceyrələrində myofibrillərin dəstələr şəkilində kəsişməsinə xidmət edir. Qəfəs myozin qalın filamentlərlə qarşılıqlı əlaqə vasitəsi ilə sarkomera də birləşir. Desmin filamentlər sarkomerdən kənarında

yerləşdiyindən onlar dartılma qüvvəsinin yaranmasında fəal şəkildə iştirak etmirlər. Əksinə, desmin əzələ inteqrasiyasının saxlanılmasında əhəmiyyətli quruluş rolunu oynayır. Məsələn, desminlərdən məhrum olan transgen siçanlarda bu dəstəkləyici arxitektura pozulur və Z dski səhv düzlənir. Bu siçanlarda mitoxondrilərin morfoloqiyası və yerləşməsi də anormaldır, bu da göstərir ki, aralıq filamentlər orqanoidlərin təşkilində də iştirak edir.

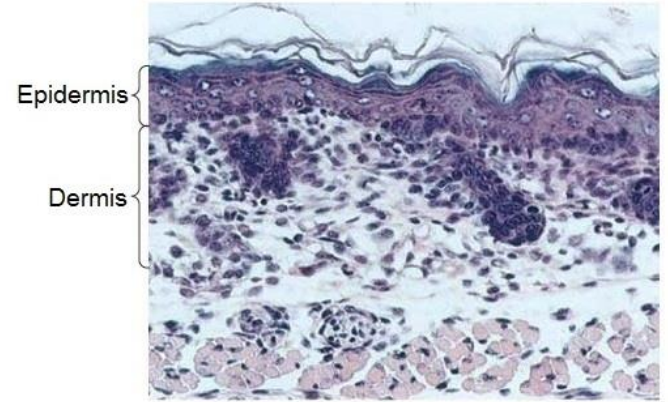
Neyrofilamentlər IV tip aralıq filamentlər üç oxşar filamentdən — NF-L, NF-M və NF-H (NF yüngül, orta və ağır) təşkil olunub, bunlar neyronların aksonlarında tapılan neyrofilamentləri əmələ gətirirlər (Şəkil 18-2). Bu üç subvahid əsasən C-sonluqlarındakı domenlərin ölçüsünə görə fərqlənirlər və hamısı obliqat (məcburi) heterodimerləri əmələ gətirirlər. Transgen siçanlarla aparılan eksperimentlər aşkar etdi ki, neyrofilamentlər aksonların düzgün diametrlərini yaratmaq üçün lazımdırlar, bu da onlarda sinir impulslarının aşağıya doğru sürətini təyin edir.

A Dərinin quruluş bütövlüyü aşınmaya qarşı davam etmək üçün vacibdir. İnsanlarda və siçanlarda K4 və K14 keratin izoformları protofilamentlərdə toplanan heterodimerləri əmələ gətirirlər. N- və ya C-sonluq domeni atılmış mutant K14 in vitro heterodimerləri əmələ gətirə bilər, amma protofilamentlərdə toplanmır. Belə mutant keratin zülallarının hüceyrələrdə ekspressiyası AF şəbəkənin aqreqatlara parçalanmasına səbəb olur. Epidermisin bazal sütun hüceyrələrində mutant K14 zülalını ekspressiya edən siçan ümumi dəri anomaliyasını, ilk növbədə epidermis tuluqlarının əmələ gəlməsini nümayiş etdirir, bu da insanın dəri xəstəliyi *epidermolysis bullosa simplex (EBS)* bənzəyir. Tuluqlanmış hissənin histoloji tədqiqi yüksək dərəcədə ölmüş bazal hüceyrələri açkar etdi. Görünür bu hüceyrələrin ölümünə səbəb üzvlərin hərəkəti zamanı dərinin sürtünməsi nəticəsində baş verən mexaniki zədələnmədir. Keratin filamentlərin normal dəstləri olmasaydı, mutant bazal hüceyrələr gövrək olar və asanlıqla zədələnər, epidermal təbəqələrin üzərində qatların və qabarıqların əmələ gəlməsinə səbəb olardı (Şəkil 18-50). Əzələ toxmalarının saxlanılmasında desmin filamentlərinin rolu kimi, görünür keratin filamentlərinin də əsas rolu hüceyrələr arasındakı əlaqələri mexaniki gücləndirməklə epitelin toxumalarının quruluş bütövlüyünün saxlanılmasıdır. ■

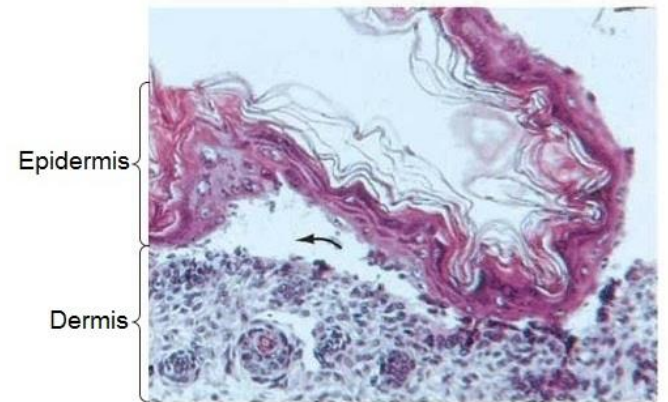
Laminlər Nüvənin Təşkilini və Sərtliyini Təmin Etmək üçün Daxili Nüvə Qabığı Nizamlayır

Ən geniş yayılmış AF zülallar V sinif zülalları laminlərdir. Laminlət bütün AF zülalların əcdadlarıdır, bunlardan gen duplikasiyası və mutasiya yolu ilə sitoplazmatik AF zülalları törəmişər. Onlar, nüvə qabığı ilə nüvə xromatini arasında uzanan *nüvə laminləri* adlanan iki-ölçülü torun əsas komponentləridirlər (Şəkil 18-51a). İnsanlarda laminləri üç gen kodlaşdırır: Bir alternativ splay olunan gen lamin A bə C-ni kodlaşdırır və iki başqa gen lamin B1 və B2-ni kodlaşdırır. B-tip laminlər görünür ilkin (promordial) lamin zülallardır və əsasən bütün hüceyrələrdə ekspressiya olunurlar, halbuki A və C laminlər inkişaf səviyyəsində tənzimlənirlər. B laminlər post-translyasiya

prenilləşirlər (bax s. 288), bu onların daxili nüvə qabığı membranına birləşməsinə imkan verir. Lamin zülallar aralıq filamentlər üçün xarakterik olan spirallaşmış-spiral rayonlarına malikdirlər, bu dimerləşmə üçün lazımdır, onlar həmçinin onları nüvəyə hədəf edən nüvə lokalizasiya ardıcılığına və eləcə də konservativ immunoqlobulinə-oxşar bükülməyə malikdirlər (bax Şəkil 18-48d).



Normal



Mutasiya olunmuş

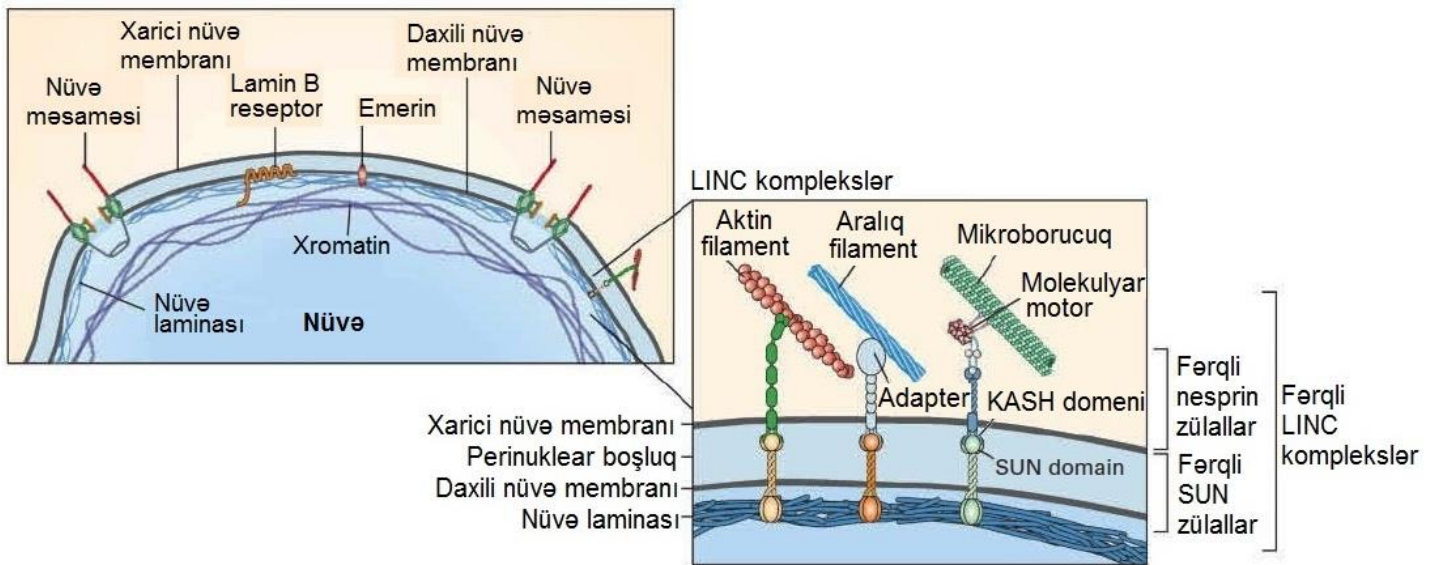
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-50 Mutant keratin genini daşıyan transgen siçanlar, insanın epidermoliz bulloza simpleks xəstəliyinə bənzər qabarcıqları əmələ gətirirlər. Normal siçanın və mutant K14 keratin genini daşıyan transgen siçanın dərisindən alınan histoloji kəsiklər göstərilir. Normal siçanda, dəri bərk xarici epidermal örtük təbəqəsindən və kontaktda (əlaqəli) olan yumuşaq dermal təbəqədən ibarətdir. Transgen siçanın dərisində, epidermisin əsasında olan hüceyrələrin zəifləməsi nəticəsində bu iki təbəqə ayrılırlar (ox). [Elsevier-in razılığı ilə Coulombe et al., "Point mutations in human keratin 14 genes of epidermolysis bullosa simplex patients," *Cell*, 1991, 66:6, pp.1301-1311-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]

Mexaniki stressə məruz qalan hüceyrələr nüvənin bütövlüyünü saxlamaq üçün nüvə lamin şəbəkəsinə malik olurlar. Ona görə də lamin şəbəkə nüvə membranının daxili səthinə həm güc həm də möhkəmlik verir. Əslində, hüceyrələr lamin A-nın səviyyəsini toxuma daxilindəki sərtliyinə uyğun olaraq tənzimləyirlər. Beləliklə, məsələn, nazik kapillyarlarla hərəkət etmək istəyən və dar düyünlərsində miqrasiya edən

neytrofillər lamin A-ın səviyyəsinin çox aşağı olması nəticəsində yüksək dərəcədə ləpələyə ayrılmış (**lobulated**) nüvəyə malik olurlar. Əgər onlarda deformasiyaya davam gətirən böyük, sərt nüvə olarsa onların hüceyrəxarici matrisada olan çox kiçik dar sahədən sıxılaraq keçməsi çətinlik yaradardır.

Sərtliyi təmin etmək üçün, lamin şəbəkə bir tərəfindən xromatinlə digər tərəfindən isə sitoskeletlə assosasiya edir. Daxili nüvə membranına batmış (yüklənmiş) lamin-B reseptor və **emerin** kimi bəzi zülallar həm xromatinlə-assosasiya edən zülallarla həm də laminlərlə birləşə bilir (bax Şəkil 18-51a). Maraqlıdır ki, genlərin transkripsiyaya görə susan rayonları daha böyük üstünlüklə laminlərlə birləşir, və son zamanların dəlilləri sübut edir ki, laminlər genomun təşkilində və DNT reparasiyasında iştirak edirlər. Həm daxili həm də xarici nüvə membranları vasitəsilə sitoskeletə qoşulmada SUN və KASH domenlər kimi adlandırılan zülallar iştirak edirlər. SUN domeni zülallar onların SUN domeni endoplazmatik şəbəkənin

lūmenında olmaqla transmembran zülallar kimi endoplazmatik şəbəkədə sintez olunurlar və onların sitoplazmatik domenindəki çeşidləmə siqnalı onları endoplazmatik şəbəkənin davamı olan xarici nüvə membranına hədəf edir. Onlar, sonra membran zülalları kimi nüvə məsamələrindən keçərək nüvəyə daşınırlar, daxili nüvə membranına çatanda nüvə lamini ilə birləşirlər (Şəkil 18-51b). Nesprinlər xarici nüvə membranının KASH domenə-malik olan transmembran zülalı olub elə yönəlmişdir ki, KASH domeni nüvənin membranlararası boşluğundakı başqa zülalın SUN domeni ilə assosasiya edir. Nesprinlər öz növbəsində birbaşa və ya adaptorlar vasitəsi ilə aralıq filamentlərlə, aktin filamentlərlə və mikroböyüklərlə birləşir və bununla da nüvənin sitoskeletlə fiziki əlaqəsini yaradır. Bu cür birləşmələr nüvənin hüceyrədə düzgün yerləşməsində və eləcə də onun daşınmasında, məsələn onurğalılarda neyroepitelisinin uzun prosesində istifadə olunur.



ŞƏKİL 18-51 Nüvə lamini xromatinə və LINC kompleksi vasitəsi ilə sitoskeletə birləşir. (a) Nüvənin bir hissəsinin diaqramı lamin-saxlayan nüvə laminasının xromatinlə assosiasiyasını və nüvənin iki membranı vasitəsi ilə sitoskeletlə birləşməsini göstərir. Lamin B reseptor və emerin kimi membran assosiasiyalı zülallar lamin aralıq filamentini daxili nüvə membranına sarıyır. Laminlər lamin B-nin preniləşməsi vasitəsi ilə də nüvə membranına bağlanırlar (burada göstərilmir). LINC komplekslər adlanan müxtəlif əlaqələr laminləri iki

nüvə membranı vasitəsi ilə sitoskeletə bağlayır. (b) LINC kompleks laminlərlə qarşılıqlı əlaqədə olan, və daxili nüvə membranından keçərək uzanan SUN domenə-malik zülaldan və perinuklear boşluqdakı SUN domenə-malik zülalla əlaqədə olan və xarici nüvə membranını kəsb keçərək sitoskeletin komponentləri ilə əlaqədə olan KASH domenə-malik zülaldan ibarətdir. Bax B. Burke and C. L. Stewart, 2013, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:13.

Mitoz Zamanı Laminlər Fosforlaşmaqla Reversiv (Geriyyədonəbilən) Dağılırlar

Mitoz zamanı hüceyrələr profazadan prometafazaya keçəndə nüvə qabığının dağılması üçün nüvə laminləri pozulmalıdır. Fəsil 19-da müzakirə edildiyi kimi, mitoz CDK-ləri adlanan proteinkinazalar hüceyrəni mitozu aparırlar və onların substratlarından biri laminlərdir. A, B və C laminlərin fosforlaşması aralıq filamentlər qəfəsinin lamin dimerlərə pozulması ilə nəticələnir. Onların C-sonluğundan preniləşməsinə görə lamin B dimerlər nüvə membranı ilə

birləşmiş vəziyyətdə qalırlar. Nüvə lamin filamentlərinin depolimerləşməsi nüvə lamin torunun dağılmasına səbəb olur və nüvə qabığının pozulmasına kömək edir. Mitozun sonrakı dövründə (telofazada) spesifik fosfatazalar vasitəsi ilə fosfatların uzaqlaşdırılması laminin yenidən yığılmasını təşviq edir, bu da qız xromosomlar ətrafında nüvə qabığının yenidən formalaşması üçün kritik əhəmiyyətlidir. Beləliklə kinazaların və fosfatazaların bir-birinə əks fəaliyyəti lamin aralıq filamentlərin yığılması vəziyyətini idarə etmək üçün sürətli mexanizmdir. Başqa aralıq filamentlər də hüceyrə tsiklinə oxşar pozulmalara və yenidən yığılmalara məruz qalırlar.



İnsanın lamin A genində 200-dən artıq mutasiyalar vardır və onlar ümumilikdə laminopatiyalar adlanan xəstəliklərin yaranmasına səbəb olurlar. Bu xəstəliklərə kardiomyopatiyalar, əzələ distrofiyaları, lipodistrofiya və yaşla-əlaqəli olan proqeriya daxildir. Bu mutasiyalardan bəziləri Emery Dreyfus əzələ distrofiyasına (EDMD) səbəb olur, çox guman ona görə ki, gövrək nüvə stressə və əzələ toxumasında gərginliyə davam gətirə bilmir, beləliklə də bu hüceyrələr ilk simptomları göstərir. EDMD-nin digər formaları, daxili nüvə qabığının lamin-birləşdirən membran zülalı emərində və eləcə də nesprin və SUN zülallarında olan mutasiyalarla izlənmişdir. Lamin A-da başqa mutasiyalar proqeriya — qocalmanın tezləşməsinə, məsələn Hatçison-Gilford proqeriyasına (“yetkinləşməmiş qocalma”) səbəb olur. Nəyə görə eyni insan genindəki müxtəlif mutasiyaların bu qədər geniş müxtəliflikdə xəstəliklərə səbəb olması hələ də sirt olaraq qalır. ■

18.7 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Aralıq Filamentlər

- Aralıq filamentlər sitoskeletin yeganə qeyri polyar fibrilyar komponentləridirlər və motor zülallarla birləşməzlər. Aralıq filamentlər spirallaşmış-spiral dimerlərdən qurulmuşlar, antiparallel formada tetramerlərdə və sonra da 16-sı bir filamenti əmələ gətirən protofilamentlərdə asosasiya edirlər (bax Şəkil 18-48).
- Aralıq filament zülallarının beş əsas sinifi mövcuddur, nüvə laminləri (V sinif) bunların heyvan hüceyrələrində ən geniş yayılanıdır və ən qədimidir. Digər dörd sinif lamin toxuma spesifik ekspressiya nümayiş etdirirlər (bax Cədvəl 18-1).
- Keratinlər (AF siniflər I və II) heyvan tüklərində və dırnaqlarında və eləcə də hüceyrəyə və toxumaya möhkəmlik gətirmək üçün epitel hüceyrələrindəki desmozomlarla asosasiya edən sitokeratin filamentlərdə tapılmışlar.
- Bu filamentlərin III sinifinə, əzələ Z diskələrində quruluşu və nizamlılığı təmin edən və saya əzələləri həddən artıq gərilmədən saxlayan vimentin, GFAP və desmin daxildir.
- Neyrofilamentlər IV sinifi təşkil edirlər və aksonların quruluşu üçün çox əhəmiyyətliyədirlər.
- Laminlər nüvə laminasının əsas komponentidirlər. Onlar genomun təşkilində və eləcə də SUM və KASH domenli zülalların iştirakı ilə sitoskeletlə əlaqə yaratmaqla nüvənin sərtliyində iştirak edirlər.
- Çox xəstəliklər, xüsusilə də keratin genlərində müxtəlif şəraitlərin və mutasiyaların daxil olduğu və dəridə kəskin qüsurların yaranmasına səbəb olan laminopatiyalar aralıq filamentlərdəki qüsurlarla bağlıdır (bax Şəkil 18-49).

18.8 Sitoskelet Elementlər Arasında Koordinasiya və Kooperasiya

Bu vaxta qədər biz sitoskelet filamentlərin əsasən üç sinifini — mikrofilamentləri, mikroborucuqları və aralıq filamentləri müzakirə etdik, sanki onlar bir-birindən asılı olmayaraq

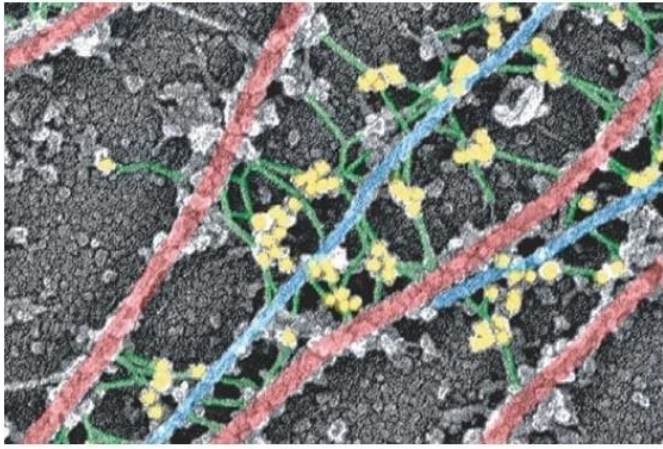
fəaliyyət göstərirlər. Amma, əslində mikroborucuq-əsaslı mitoz şpindelinin mikrofilament-əsaslı dartılan həlqənin əmələgəlmə saytını təyin etməsi bu iki sitoskelet sistemlərinin koordinasiya olunmalarının bir nümunəsidir. Biz burada, sitoskelet elementləri arasında və onların hüceyrənin təşkilinin başqa aspektlərinə inteqrasiyasında fiziki və tənzimləyici əlaqələrin başqa nümunələrini qeyd edirik.

Aralıq Filament-Assosiasiyalı Zülalların Hüceyrənin Təşkilində Töhfəsi

Ümumilikdə *aralıq filament-assosiasiyalı zülallar (AFAP)* adlanan və aralıq filamentlərlə birlikdə təmizlənən zülallar qrupu identifikasiya olunmuşdur. Bu AFAP-lar arasında, aralıq filamentlərin başqa quruluşlarla birləşməsində iştirak edən plakin ailəsinin üzvləri vardır. Bəzi plakinlər keratin filamentləri ilə asosasiya edərək onları toxumada stabilliyi təmin edən epitel hüceyrələri arasında qovşaq olan desmozomlarla və aralıq filamentlərin hüceyrəxarici matrisa ilə əlaqədə olduğu plazma membranı rayonlarında yerləşən hemidesmozomlarla əlaqələndirir (bu mövzu Fəsil 20-də ətraflı şərh edilir). Başqa plakinlər də aralıq filamentlər boyu tapılmışdır və onların da mikrofilamentlərə və mikroborucuqlara birləşmə saytları vardır. Bu zülallardan plektin adlanan birinə, mikroborucuqlarla aralıq filamentlər arasında əlaqəni aşkar etmək üçün immunoelektron mikroskopiyaya ilə baxılmışdır (Şəkil 18-52).

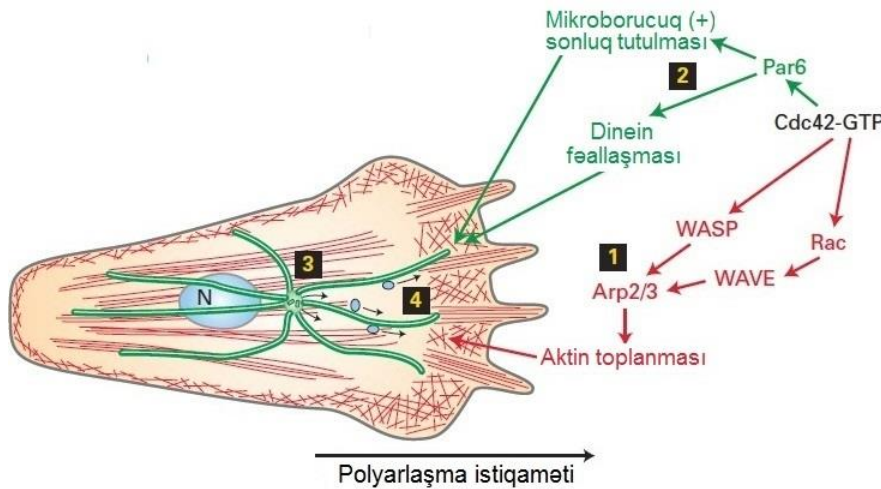
Mikrofilamentlər və Miroborucuqlar Melanosomların Daşınmasını Birgə Hiyata Keçirirlər

Mutant siçanların açıq-rənglənmiş örtüklərlə tədqiqi melanosomların daşınması zamanı mikroborucuqlarla mikrofilamentlərin birgə fəaliyyət göstərdiyi yolu aşkar etdi. Məməlilərin tükündəki pigment melanositlər adlanan hüceyrələrdə, əvvəldə müzakirə olunan balıqların və qurbağaların melanosomlarına (bax Şəkil 18-29) çox oxşar olan hüceyrələrdə istehsal olunur. Melanositlər saç milinin dibindəki saç follikulunda tapılmışdır və melanosomlar adlanan pigmentlə-doymuş qranullara malikdirlər. Melanosomlar ətrafdakı epitel hüceyrələrinə eqzositoz olunmaq üçün melanositlərin dentrit uzantılarına daşınır. Hüceyrə periferiyasına (kənarına) daşınma qurbağanın melanosomları kimi, kinezin ailəsi nümayəndələri vasitəsilə həyata keçirilir. Periferiyada, onlar myozin V-ə ötürülür və eqzositoz olunmaq üçün çatdırılır. Əgər myozin V sistemi qüsurludursa melanosomlar tutulmur və melanosit hüceyrə cismində qalırlar. Beləliklə mikroborucuqlar melanosomların uzaq məsafəyə daşınmanı həyata keçirdikləri halda mikrofilament əsaslı myozin V onların tutulmasını və hüceyrə qabığına çatdırılmasını həyata keçirir. Əməyin bu cürə bölgüsü — mikroborucuqlarla uzaq-məsafəli daşınma və mikrofilamentlərlə yaxın-məsafəyə daşınma, sapşəkili göbələklərdəki daşınmadan aksonlar boyu daşınmaya qədər çoxsaylı müxtəlif sistemlərdə tapılmışdır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-52 Qızılla nişanlanmış anticism aralıq filamentlərlə mikrorucuqlar arasındakı plektin kəsişmələrini müəyyən edir. Fibroblast hüceyrələrinin immunoelektron mikrofotosunda mikrorucuqlar qırmızı rəngdə, aralıq filamentlər mavi rəngdə və onlar arasındakı qısa birləşdirici liflər yaşıl rəngdə işıqlandırılır. Qızılla nişanlanmış plektin anticismi (sarı) ilə rəngləmə aşkar edir ki, bu birləşdirici liflərdə plektin vardır. [1996 T. M. Svitkina, A.B. Verkhovskiy, and G.G. Borisy et al., *The Journal of Cell Biology*, 135:991–1007. doi: 10.1083/jcb.135.4.991.]

Hüceyrə Miqrasiyası Zamanı Cdc42 Mikrorucuqları və Mikrofilamentləri Əlaqələndirir



ŞƏKİL 18-53 Miqrasiya edən hüceyrəni polyarlaşdırmaq üçün mikrorucuqların və mikrorucuqların Cdc42 ilə müstəqil tənzimlənməsi. Fəal Cdc42-GTP hüceyrənin önündə Rac və WASP fəallaşmasına səbəb olur, nəticədə mikrorucuq əsaslı aparıcı tərəf yığılır (pillə 1). Müstəqil şəkildə Cdc42 də mikrorucuqların (+) sonluğunun tutulmasına və dineinin fəallaşmasına səbəb olur (pillə 2). Dinein sentrosomu hüceyrənin önünə tərəf yönəltmək üçün mikrorucuqları dartır. Bu yenidən yönəlmə mikrorucuqlar boyu ifrazat qovucularında hüceyrənin önünə doğru daşınan adgeziya molekullarının çatdırılması üçün ifrazat yolunu tanıyır (pillə 4). Bax S. Etienne-Manneville et al., 2005, *J. Cell Biol.* 170:895–901.

Sinir Böyümə Konuslarının İnkişafı Mikrofilamentlər və Mikrorucuqlar Tərəfindən Koordinasiya Edilir

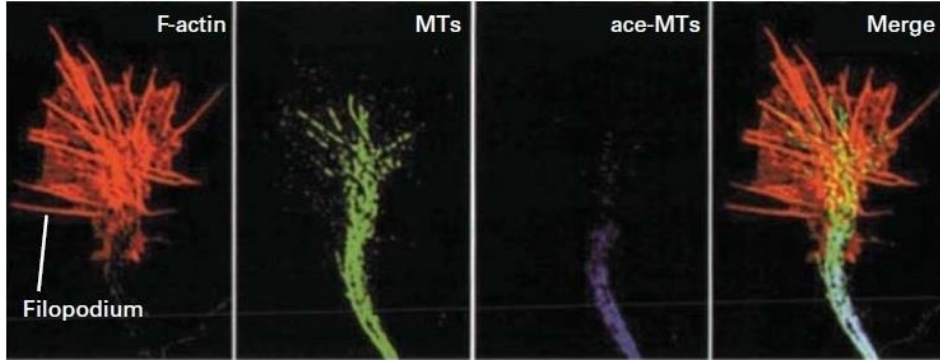
Sinir sistemi siqnalların neyronlarla ötürülməsindən və integrasiyasından asılıdır. Neyronların siqnalları qəbul edən dendritlər adlanan və hədəf hüceyrədə və ya hüceyrələrdə (məsələn, başqa bir neyron və ya bir əzələ hüceyrəsində) bir və ya daha çox sinapslarda sona çatən tək bir akson kimi xüsusi quruluşları vardır (bax Şəkil 18-2). Neyronların düzgün əlaqə yaratması çox mühümdür, beləliklə böyüyən aksonlar öz düzgün

Biz Fəsil 17-də miqrasiya edən hüceyrələrin polyarlığının Cdc42 ilə necə tənzimləndiyini və nəticədə aktin-əsaslı aparıcı tərəfin hüceyrənin önündə, arxasında isə dartılmanın yarandığını müzakirə etdik (bax Şəkil 17-45 və Şəkil 18-53, pillə 1). Görünür ki, Cdc42-nin hüceyrənin önündə fəallaşması mikrorucuq sitoskeletonu polyarlaşmasına da səbəb olur. Bu fenomen ilk dəfə yaralanmanın sağalması sınaqlarında öyrənilmişdir (bax Şəkil 17-44), qeyd olunmuşdur ki, hüceyrələr yaralanma ətrafında qütbləşmək və hərəkət edib boş sahəni doldurmaq üçün induksiya olunanda Qolci kompleksi hüceyrənin ön tərəfi istiqamətində nüvədən qabağa keçir. Qolcinin hüceyrənin önündə lokalizasiyası göstərir ki, sentrosom nüvədən qabağa uzanmaq üçün keçir (yada salaq ki, Qolcinin lokalizasiyası MTOC-un yerləşməsindən asılıdır; bax Şəkillər 18-1c, 18-28). Son zamanların tədqiqatları bunun necə baş verdiyini göstərdi. Fəal Cdc42 hüceyrənin önündə polyarlıq faktoru Par6 ilə birləşir, nəticədə dinein-dinaktin kompleksi səfərbər olunur (Şəkil 18-53, pillə 2). Kortikal lokalizasiya olunmuş dinein-dinaktin sonra mikrorucuqla əlaqəyə girir, sentromeri onun üzərində dartaq yönəldir və beləliklə, mikrorucuqların bütün radial massivini istiqamətləndirir (Şəkil 18-53, pillə 3). Mikrorucuq sisteminin belə yenidən yönəldilməsi, ifrazat məhsullarının, xüsusilə də hüceyrənin miqrasiya etməsi üçün hüceyrə önünün substrata birləşməsi üçün integrinlərin hüceyrəxarici matrisaya birləşməsinə görə çatdırılması üçün ifrazat yolunun yenidən qurulmasına gətirib çıxarır (Şəkil 18-53, pillə 4).

təyinatlarına necə yönəldilir? Aksonlar uzanan kimi, onun sonuncu (terminal) böyüyən konusu hüceyrəxarici matrisadan və onu düzgün yol boyunca yönəldən başqa hüceyrələrdən gələn siqnalları hiss edir. Ona görə də, böyümə konusunun akson böyüməsini istiqamətləndirən siqnalı necə qəbul etməsi və interpretasiyası sinir sisteminin fəaliyyəti üçün kritik əhəmiyyət kəsb edir. Böyümə konuları aktinlə çox zəngindir və adətən onlar geniş lamellapodiuma və çoxsaylı filopodiaya malik olurlar. Böyümə konusunun yönəldilməsi üçün mikrorucuqlar da vacibdir. Xatırladaq ki, aksonlarda bir-formalı polyarlığa

malik olan mikroborucuqlar vardır və onun boyunca aksonun böyüməsi üçün material aksonal daşınma ilə hərəkət edir. (bax Şəkil 18-5e). Bu mikroborucuqlar böyümə konusu daxilinə uzanırlar və aktinlə birlikdə onun irəliləmə istiqamətinin təyin edilməsində iştirak edirlər. Aktin böyümə konusunun irəliləməsi üçün lazım olduğu halda, mikroborucuqlar və aktin birlikdə böyüməni düzgün istiqamətdə idarə etmək üçün lazımdır.

Baxmayaraq ki, buna daxil olan mexanizmlər tam aydınlaşdırılmamışdır, amma aşkar edilmişdir ki, akson şüasında mikroborucuqlar onları stabiləşdirən asetilləşmə kimi post-translyasiya modifikasiyalara malik olduqları halda böyümə konusunda daha çox dinamik olan mikroborucuqlar çox zaman malik olurlar (Şəkil 18-54).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 18-54

Aktin (qırmızı), mikroborucuq (yaşıl) və asetilləşmiş mikroborucuqların (mavi) kiçik böyümə konusunda lokalizasiyası. Sabit asetilləşmiş mikroborucuqların akson sapında necə yerləşdiyinə və dinamik böyümə konusuna nüfuz etməsinə diqqət edin. [Elsevier-in razılığı ilə Bent, E.W. and Gertler, F.B., "Cytoskeletal Dynamics and Transport in Growth Cone Motility and Axon Guidance," *Neuron*, 2003, 40:209–227 yenidən çap olunur.]

18.8 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Sitoskelet Elementlər Arasında Koordinasiya və Kooperasiya

- Aralıq filamentlər həm plazma membranında xüsusi birləşmə saytları (desmosomlar və hemidesmosomlar adlanan) ilə, həm də mikrofilamentlər və mikroborucuqlarla əlaqədirlər (bax Şəkil 18-52).
- Heyvan hüceyrələrində, mikroborucuqlar əsasən orqanoidlərin uzaq məsafəyə daşınmasında istifadə edildiyi

halda, mikrofilamentlər lokal çatdırılmalarda istifadə edirlər.

- Siqnal molekulu Cdc42 hüceyrə miqrasiyası zamanı mikrofilamentləri və mikroborucuqları koordinasiya olunan şəkildə tənzimləyir.
- Neyronlarda böyümə konuslarının inkişafı mikroborucuqların və mikrofilamentlərin qarşılıqlı əlaqəsini tələb edir.

Açar sözlər

akson daşınması
aksoneme
anafaza
anteroqrad
aralıq filament
aralıq filament assosiasiyalı zülallar (AFAP)
asterlər
bazal cism
desmin
dinamik qeyristabillik
dineinlər
əsas qamçı
keratinlər
kinetoxorlar
kinezinlər
kirpicik
qamçı

qamçı daxili daşınma (IFT)
laminlər
metafaza
mikroborucuq
mikroborucuq təşkilətin mərkəzi (MTOC)
mikroborucuq-assosiasiyalı zülallar (MAP)
mitoz
mitoz şpindeli
neurofilamentlər
profaza
protofilament
retroqrad
sentromer
sentrosom
sitokinez
telofaza
tubulin
γ-tubulin həlqəsi kompleksi (γ-TuRC)

Konsepsiyaları Nəzərdən Keçirin

1. Mikroborucuqlar polyar filamentlərdirlər, bu o deməkdir ki, onun bir ucu digərindən fərqlidir. Bu polyarlığın əsasında nə

durur, hüceyrə daxilində bu polyarlığın mikroborucuqların təşkilində necə əlaqəsi var və polyarlığın mikroborucuqdan-asılı olan motorlarla gücləndirilən hüceyrədaxili hərəkətlərlə nə əlaqəsi var?

2. Mikroborucuqlar həm in vitro həm də in vivo dinamik qeyri-stabilliyə ugrayırlar və bu tip yığılma guman olunur ki, mikroborucuqlar üçün daxildir. Dinamik qeyri stabillik üçün hesab edilən müasir model nədir?

3. Mikroborucuqların hüceyrədə yığılması başqa zülallardan və eləcə də tubulinin qatılığından və temperaturdan asılıdır. Hansı tip zülallar mikroborucuqların in vivo yığılmasına təsir edir və hər bir tip yığılmaya necə təsir edir?

4. Hüceyrə daxilində mikroborucuqlar görünür ki, xüsusi nizamla düzlənirlər. Hansı hüceyrə quruluşu hüceyrə daxilində mikroborucuqların düzlənməsinin təyin edilməsinə cavab verir? Tipik hüceyrədə necə belə quruluş tapılmışdır? Belə quruluşların mikroborucuq yığılmasının nukleasiya edilməsində necə iştirak etdiyini təsvir et.

5. Mitozu ingibirləşdirən çox dərmanlar spesifik olaraq tubulinə, mikroborucuğa və ya hər ikisinə birləşir. Belə dərmanlardan hansı xəstəliklərin müalicəsində istifadə edilir? Funksional baxımdan bu dərmanlar onların mikroborucuq yığılmasına təsirinə görə iki qrupa bölünürlər. Belə dərmanların mikroborucuq yığılmasını dəyişdirən iki mexanizm hansılardır?

6. Kinezin-1 kinezin superailəsinin ilk identifikasiya olunan nümayəndəsidir, ona görə də yəqin ki, ən yaxşı xarakterizə olunan superailə nümayəndəsidir. Kinezinin təmizlənməsində onun hansı fundamental xassəsindən istifadə edilmişdir?

7. Müəyyən hüceyrə komponentləri mikroborucuqla iki-istiqaətli hərəkət edirlər. Mikroborucuğun istiqamətlənməsinin MTOC ilə təyin olunmasını nəzərə alaraq bunun necə mümkün olduğunu təsvir et.

8. Zülalların hərəkət etməsində kinezin motorun həm motor domeni həm də linker domeni iştirak edir. Kinezinin hərəkətində, hərəkətin istiqamətində və ya hər ikisində hər bir domenin rolunu təsvir et. Kinezin-1, qeyri fəal başa malik olmaqla qovucuqları mikroborucuq boyu səmərəli şəkildə hərəkət etdirə bilirmi?

9. Dinaktin kompleksinin hansı xüsusiyyəti sitoplazmatik dineinin yükü mikroborucuğun (–) sonluğuna doğru aparmasını mümkün edir? Dinaktinin +TIP EB1 ilə qarşılıqlı əlaqəsinin ingibirləşməsi şpindelini istiqamətlənməsində hansı təsiri malik ola bilər?

10. Hüceyrənin üzməsi mikroborucuqlara malik olan əlavələrdən asılıdır. Bu əlavələrin əsasında hansı quruluşlar durur və bu quruluşlar üzmənin əmələ gəlməsi üçün tələb olunan qüvvəni necə yaradırlar?

11. Dineinin fəalsızlaşmasının kinezin-2-dən asılı olan IFT-yə hansı təsiri olacaq?

12. Mitoz şpindelini çox zaman mikroborucuq əsaslı hüceyrə maşını kimi təsvir edilir. Mitoz şpindelini təşkil edən mikroborucuqlar üç müxtəlif sinifdə təsnifləşdirilə bilər. Şpindel mikroborucuqlarının üç tipi hansılardır və onların hər birinin funksiyası nədən ibarətdir?

13. Mitoz şpindelinin fəaliyyəti əhəmiyyətli dərəcədə mikroborucuq motorlardan asılıdır. Növbəti motor zülallardan hər birinin şpindelini yaranmasında, fəaliyyətində və ya hər ikisində məhz həmin motoru ingibirləşdirən dərman əlavə etməklə təsirini müəyyən et: kinezin-5, kinezin-13 və kinezin-4.

14. Anafaza A zamanı qütblər istiqamətində kinetoxorların və dolayısı ilə xromatidlərin hərəkəti tələb edir ki, kinetoxorların qısalan mikroborucuqlar üzərində qalması saxlanılsın. Kinetoxorlar qısalan mikroborucuqlar üzərində necə dayanırlar?

15. Anafaza B-də şpindel qütblərinin ayrılması baş verir. Hansı qüvvələr, guman olunur ki, bu ayrılmanı aparır? Hansı molekulyar mexanizmlər, guman olunur ki, bu qüvvələri təmin edir?

16. Sitokinez sitoplazmatik bölünmədir, bacı xromatidlər əks şpindel qütblərinə yaxınlaşdıqdan dərhal sonra baş verir. Sitokinezin müstəvisi necə təyin edilir? Mikroborucuların və aktin filamentlərinin sitokinezdə müvafiq rolları nədən ibarətdir?

17. İnsanın spesifik tipli şişlərinin müalicəsinin ən yaxşı strategiyası şişin yaranmasına başlanğıc verən xərcəngə çevrilmiş hüceyrə tipinin təyinindən asılı ola bilər. Uzaq məsafədə koloniyalar əmələ gətirən (metastaz vermiş) çox şişlər üçün valideyin hüceyrə tipinin təyin edilməsi çox çətindir. AF tipli zülal hüceyrə-tipi-spesifik ekspressiya olunduğundan, yalnız bir tipli AF zülalla reaksiya giren monoklonal anticislərin istifadə edilməsi bu təyin etməyə (identifikasiyaya) kömək edə bilər. Siz hansı AF zülala qarşı monoklonal anticismi istehsal etməlisiniz ki, təyin edəsiniz: (a) əzələ hüceyrəsi mənşəli sarkoma; (b) epitel hüceyrə mənşəli karsinoma; (c) qlial hüceyrə şişi astrositoma?

18. Nəyə görə aralıq filamentlərdən yol kimi istifadə edən məlum motorların olmadığını izah edin.

19. Böyümə konusları inkişaf edən neyronların olduqca hərəkətli rayonlarıdır. Böyümə konusunun, lamellipodiyalarda tez-tez baş verdiyi kimi, geriyyə əsas hüceyrə cisminə dönməsinə və ya dağılmasına mane olan nədir?

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Mikroborucuqların quruluşu və təşkili

Badano, J. L., T. M. Teslovich, and N. Katsanis. 2005. The centrosome in human genetic disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**:194–205.

Dutcher, S. K. 2001. The tubulin fraternity: alpha to eta. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:49–54.

Nogales, E., and H.-W. Wang. 2006. Structural intermediates in microtubule assembly and disassembly: how and why? *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**:179–184.

Mikroborucuqların Dinamiksi

Brouhard, G. Y., and L. M. Rice. 2014. The contribution of α -tubulin curvature to microtubule dynamics. *J. Cell Biol.* **207**:323–334.

Desai, A., and T. J. Mitchison. 1997. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Bi.* **13**:83–117.

Microborucuqların Quruluşunun və Dinamikasının Tənzim lənməsi

Galjart, N. 2010. Plus-end-tracking proteins and their interactions at microtubule ends. *Curr. Biol.* **20**:R528–R537.

Hammond, J. W., D. Cai, and K. J. Verhey. 2008. Tubulin modifications and their cellular functions. *Curr. Opin. Cell Biol.* **20**:71–76.

Wloga, D., and J. Gaertig. 2010. Post-translational modifications of microtubules. *J. Cell Sci.* **123**:3447–3455.

Zheng, Y., and P. A. Iglesias. 2013. Nucleating new branches from old. *Cell* **152**:669–670.

Kinezinlər və Dineinlər: Microborucuq-Əsaslı Motor Zülallar

Web site: Kinesin Home Page,
<http://www.cellbio.duke.edu/kinesin/>

Allan, V. 2014. One, two, three, cytoplasmic dynein is go! *Nature* **345**:271–272.

Bhabha, G., et al. 2014. Allosteric communication in the dynein motor domain. *Cell* **159**:857–868.

Carter, A. P., et al. 2011. The crystal structure of dynein. *Science* **331**:1159–1165.

Cho, C., and R. D. Vale. 2012. The mechanism of dynein motility: insight from crystal structures of the motor domain. *Biochim. Biophys. Acta* **1823**:182–191.

Endow, S. A., F. J. Kull, and H. Liu. 2010. Kinesins at a glance. *J. Cell Sci.* **123**:3420–3424.

Hirokawa, N., et al. 2009. Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10**:682–696.

McKenney, R. J., et al. 2010. LIS1 and NudE induce a persistent dynein force-producing state. *Cell* **141**:304–314.

McKenney, R. J., et al. 2014. Activation of cytoplasmic dynein motility by dynactin-cargo adapter complexes. *Nature* **345**:337–341.

Roberts, A. J., et al. 2013. Functions and mechanics of dynein motor proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:713–726.

Troster, M., and T. Surrey. 2012. Lis1 clamps dynein to the microtubule. *Cell* **150**:877–879.

Vale, R. D. 2003. The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell* **112**:467–480.

Vale, R. D., and R. A. Milligan. 2000. The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science* **288**:88–95.

Verhey, K. J., and J. W. Hammond. 2009. Traffic control: regulation of kinesin motors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10**:765–777.

Kirpicik və Qamçı: Microborucuq-Əsaslı Səth Quruluşlar

Gerdes, J. M., E. E. Davis, and N. Katsanis. 2009. The vertebrate primary cilium in development, homeostasis, and disease. *Cell* **137**:32–45.

Jin, H., et al. 2010. The conserved Bardet-Biedl syndrome proteins assemble a coat that traffics membrane proteins to cilia. *Cell* **141**:1208–1218.

Mitoz

Foley, E. A., and T. M. Kapoor. 2013. Microtubule attachment and spindle assembly checkpoint signalling at the kinetochore. *Nat. Rev. Cell Mol. Biol.* **14**:25–37.

Goshima, G., et al. 2009. Augmin: a protein complex required for centrosome-independent microtubule generation within the spindle. *J. Cell Biol.* **181**:421–429.

Lampert, F., and S. Westermann. 2011. A blueprint for kinetochores—new insights into the molecular mechanics of cell division. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **12**:407–412.

London, N., and S. Biggins. 2014. Signalling dynamics in the spindle checkpoint response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:735–747.

Mitchison, T. J., and E. D. Salmon. 2001. Mitosis: a history of division. *Nat. Cell Biol.* **3**:E17–E21.

Santaguida, S., and A. Musacchio. 2009. The life and miracle of kinetochores. *EMBO J.* **28**:2511–2531.

Wang, H., I. Brust-Mascher, and J. M. Scholey. 2014. Sliding filaments and mitotic spindle organization. *Nat. Cell Biol.* **16**:737–739.

Arañ Filamentlər

Burke, B., and C. L. Stewart. 2013. The nuclear lamins: flexibility in function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **14**:13–23.

Isermann, P., and J. Lammerding. 2013. Nuclear mechanics and mechanotransduction in health and disease. *Curr. Biol.* **23**:R1113–R1121.

Luxton, G. W. G., and D. A. Starr. 2014. KASHing up with the nucleus: novel functional roles of KASH proteins at the cytoplasmic surface of the nucleus. *Curr. Opin. Cell Biol.* **28**:69–75.

Worman, H. J. 2012. Nuclear lamins and laminopathies. *J. Pathol.* **226**:316–325.

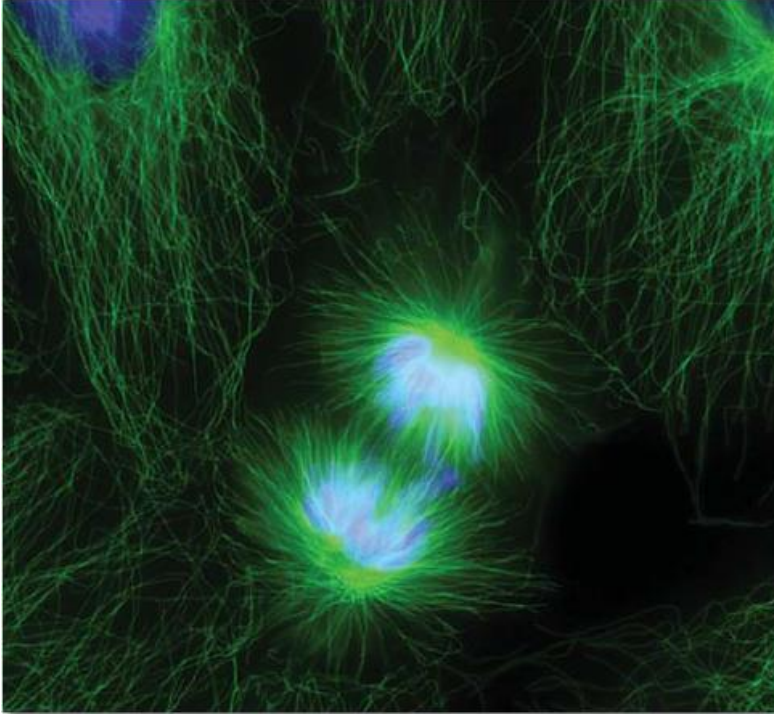
Sitoskelet Elementlər Arasında Koordinasiya və Kooperasiya

Etienne-Manneville, S., et al. 2005. Cdc42 and Par6-PKC ζ regulate the spatially localized association of Dlg1 and APC to control cell polarization. *J. Cell Biol.* **170**:895–901.

Kodama, A., T. Lechler, and E. Fuchs. 2004. Coordinating cytoskeletal tracks to polarize cellular movements. *J. Cell Biol.* **167**:203–207.

Schaefer, A. W., et al. 2008. Coordination of actin filament and microtubule dynamics during neurite outgrowth. *Dev. Cell* **15**:146–162.

FƏSİL 19



İnsanın anafazaya keçirən epiteli hüceyrəsinin mikrofotosu. DNT replikasiyasının ardınca hüceyrələr ikiləşmiş xromosomların seqreqasiyası üçün mitoz gedirlər. Mərkəzdəki hüceyrə mitoz şpindel aparatından (yaşıl) istifadə edərək öz xromosomlarının (mavi) əks uclara seqreqasiyası prosesindədir. Bu proses anafaza zamanı baş verir. Ona görə də, hüceyrənin sitoplazması iki eyni qız hüceyrəni əmələ gətirmək üçün bölünür. [Dr. Torsten Wittmann/Science Source.]

Eukaryotik Hüceyrə Tsikli

Hüceyrə bölünməsinə **Düzgün Nəzarət** bütün orqanizmlər üçün həyati əhəmiyyətə malikdir. Birlüceyrəli orqanizmlərdə hüceyrə bölünməsi hüceyrənin böyüməsi ilə tarazlaşdırılmalıdır ki, hüceyrə ölçüsü lazımı səviyyədə saxlanılsın. Əgər valideyin hüceyrə düzgün ölçüyə qədər böyümədən bir neçə bölünmə baş verərsə sonda qız hüceyrələr sağ qalmaq üçün çox kiçik olacaq. Əgər hüceyrələr bölünməzdən öncə həddən artıq çox böyüyərsə onda hüceyrələr düzgün fəaliyyət göstərmir və hüceyrələrin sayı zəif artır. İnkişafda olan çoxhüceyrəli orqanizmlərdə hər bir hüceyrənin replikasiyası dəqiq idarə olunmalı, hər bir fərddə inkişaf proqramı düzgün və çoxala bilən şəkildə başa çatdırılmalıdır. Hər bir toxumada hər bir hüceyrə tipi beyin və ya böyrək kimi kompleks orqanların normal inkişafı üçün öz replikasiyasını dəqiq tənzimləməlidir. Normal yaşlı fərddə hüceyrələr yalnız harada və nə zaman lazım olduqları anda bölünürlər. Amma, hüceyrə replikasiyasında normal nəzarətin itirilməsi, inkişaf etmiş ölkələrdə hər altı nəfərdən birini öldürən çox məşhur bir xəstəliyin, xərçəngin fundamental qüsurdur (bax Fəsil 24). Bu fəsildə müzakirə olunan, eukariotik hüceyrə bölünməsinə tənzimləyən molekulyar mexanizm xərçəng hüceyrələrində replikasiyaya nəzarətin necə getməsinin izah olunmasında uzun yol keçmişdir. Müvafiq olaraq, Leland Hartwell, Tim Hunt və Paul Nurse 2001-ci ildə bütün eukaryotlarda hüceyrə bölünməsinin əsas tənzimləyicilərini izah

edən ilk eksperimentlərə görə Nobel mükafatı ilə təltif olunmuşlar.

Hüceyrə tsikli termini hüceyrənin bölünməsində və valideyin hüceyrədəki xromosomların eyni (identik) nüxsəsinə malik olan iki qız hüceyrənin əmələ gəlməsində baş verən hadisələrin ardıcıl sıralanmış seriyasına deyilir. Hüceyrə tsikli zamanı, aralarındakı fasilələrlə iki əsas molekulyar proses baş verir: hüceyrə tsiklinin S fazası zamanı hər bir valideyin xromosom eyni qız xromatidlərini əmələ gətirmək üçün ikiləşir; mitoz (M faza) zamanı yaranmış bacı xromatidlər hər bir qız hüceyrəyə çatdırılır (Şəkil 19-1; həmçinin bax Şəkil 1-16). Xromosom ikiləşməsi (replikasiyası) və qız hüceyrələrə seqreqasiyası (ayrılması) hər biur hüceyrə bölünməsi zamanı düzgün ardıcılıqla baş verməlidir. Əgər hüceyrə bütün xromosomların replikasiyası (ikiləşməsi) tamamlanmadan xromosom seqreqasiyasına uğrayırsa ən azı qız hüceyrələrdən biri genetik informasiyanı itirmiş olacaq. Eyni şəkildə, əgər hüceyrə tsikli baş verməzdən öncə xromosomun bir rayonunda ikinci replikasiya mərhələsi baş verərsə, bu rayonda kodlaşdırılan genlər sayca başqa genlərə olan nisbətdən artıq olur və bu hadisə çox hallarda gen ekspressiyasının tarazlığının həyat qabliyyəti ilə uyğun olmayan pozulmasına səbəb olur.

İcmal

19.1 Hüceyrə Tsiklinə Ümumi Baxış və Ona Nəzarət

19.2 Model Orqanizmlər və Hüceyrə Tsiklinin Öyrənilməsi Metodları

19.3 CDK Fəallığının Tənzimlənməsi

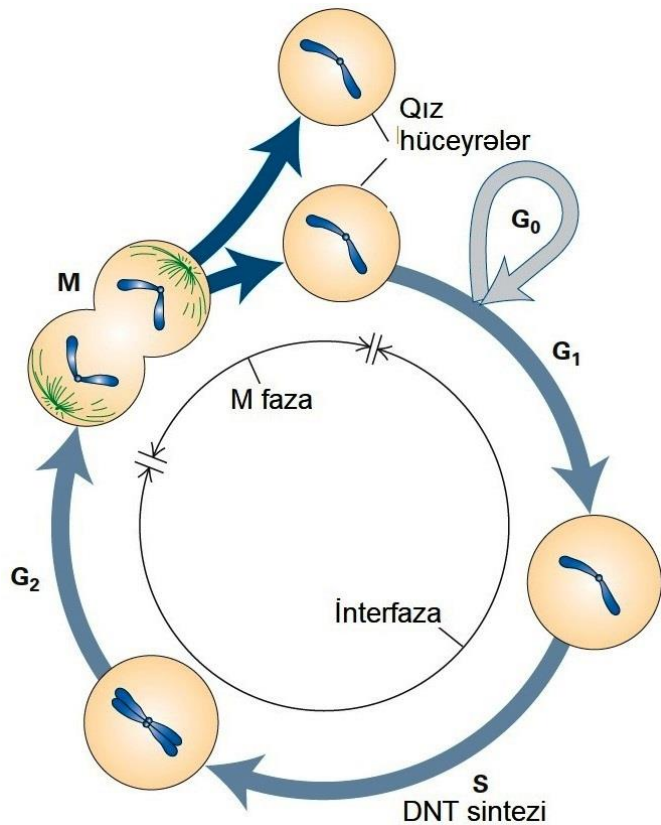
19.4 Hüceyrə Tsiklinə Bağlılıq və DNT Replikasiyası

19.5 Mitoza Giriş

19.6 Mitozun Tamamlanması: Xromosomların Seqreqasiyası və Mitozdan Çıxış

19.7 Hüceyrə Tsiklinin Tənzimlənməsində Nəzarət Müşahidə Mexanizmi

19.8 Hüceyrə Bölünməsinin Xüsusi Tipi: Meoz



ŞƏKİL 19-1 Eukariot hüceyrə tsikli boyunca tək valideyin

xromosomun taleyi. Mitozun (M) ardınca, diploid orqanizmlərdə qız hüceyrələri $2n$ xromosoma və haploid orqanizmlərdə $1n$ xromosoma malik olurlar. Proliferasiya edən hüceyrələrdə G_1 mitozun ardınca hüceyrənin “doğulması” ilə S fazanın başlanğıcı olan DNT sintezinin inisiasiyasına qədər olan dövrür. S fazanın sonunda hüceyrələr G_1 faza ilə müqayisədə iki dəfə artıq DNT sayına malik olmaqla (diploid orqanizmlərdə $4n$ və haploid orqanizmlərdə $2n$) G_2 -ə daxil olur. G_2 -nin sonu mitozun başlanğıcı ilə qeyd olunur, bu zaman hüceyrə bölünməsinə aparıcı çoxsaylı hadisələr baş verir. G_1 , S və G_2 fazalar ümumilikdə *interfaza*, mitoz və növbəti mitoz arasındakı dövr adlanır. Onurğalılarda proliferasiya etməyən hüceyrələrin əksəriyyəti hüceyrə tsiklini G_1 -də tərək edərək G_0 vəziyyətinə daxil olurlar. Hərçənd ki, xromosomlar yalnız mitoz zamanı kondensasiya olunurlar, amma hər bir mərhələdə xromosom sayını aydın şəkildə vurğulamaq üçün onlar bütün hüceyrə tsikli boyu kondensasiya olunmuş formada göstərilir. Sadəlik üçün nüvə qabığı göstərilir.

DNT replikasiyasının düzgün aparılmasına və hər bir qız hüceyrənin hər bir xromosomu irsən düzgün sayda aldığına əmin olmaq üçün yüksək dəqiqlik və həqiqilik tələb olunur. Buna nail olmaq üçün, hüceyrə bölünməsi “*nəzarət yoxlama yolları*” (“*checkpoint pathways*”) adlanan müşahidə nəzarət mexanizmi ilə idarə olunur, bu da hüceyrə bölünməsinin hər bir

mərhələsinin başlanmasına o vaxta qədər mane olur ki, əvvəlki mərhələ tamamlanmış olsun və proses zamanı baş verən səhvlər düzəldilsin. Bu nəzarət yoxlama yollarının normal fəaliyyətini inaktivasiya edən və ya dəyişən hər hansı bir mutasiya xərçəng hüceyrələrinin yaranmasına kömək edir, çünki onlar xromosom yenidənqruplaşması və xromosomların qeyri normal sayı ilə nəticələnir, bu da nəzarət olunmayan hüceyrə artımına aparıcı daha çox mutasiyaların yaranmasına və gen ekspressiyasındakı dəyişikliklərə səbəb olur (bax Fəsil 24).

1980-ci illərin sonunda aydın oldu ki, hüceyrə tsiklinə iki əsas hadisəni tənzimləyən molekulyar proseslər – xromosom replikasiyası və xromosom seqreqasiyası – bütün eukariot hüceyrələrdə fundamental oxşarlığa malikdir. İlk əvvəl, çox tədqiqatçıları təccübləndirirdi ki, tumurcuqlayan maya və insanın inkişaf edən neyronları kimi çox müxtəlifliyə malik olan hüceyrələr öz bölünmələrini tənzimləmək üçün demək olar ki, eyni zülallardan istifadə edirlər. Amma, transkripsiya və zülal sintezi kimi, hüceyrənin bölünməsinə nəzarət də, fundamental hüceyrə prosesi olub eukariot təkamülünün erkən dövründə yaranıb optimallaşmışdır. Bu cürə oxşarlığına görə, hər biri öz xüsusi eksperimental üstünlüyünə malik olan, müxtəlif orqanizmlərlə aparılan tədqiqatlar, hüceyrə tsikli hadisələrinin necə nəzarət və koordinasiya olunması üzrə getdikcə artan anlayışlara öz töhfəsini verdi. Biokimyəvi, genetik, mikroskopik təsvirlərin alınması və mikromanipulyasiya metodlarının hamısı hüceyrə tsiklinin müxtəlif aspektlərinin öyrənilməsində istifadə olundu. Bu tədqiqatlar aşkar etdi ki, hüceyrə bölünməsi əsasən hüceyrə bölünməsi tsiklinə, DNT replikasiyasına və mitozda daxil olmağın vaxtına görə tənzimlənməklə nəzarət olunur.

Hüceyrə tsiklinin əsas nəzarətçiləri, hər biri tənzimləyici subvahidə (tsiklinə) və katalitik subvahidə (tsiklindən asılı olan kinazaya - *cyclin-dependent kinase* – CDK) malik olan kiçik sayda proteinkinazalardır. Bu heterodimer kinazalar hüceyrə tsiklinin başlanmasında, DNT replikasiyasında və mitozda iştirak edən çoxsaylı zülalların fəallığını bu zülalları spesifik tənzimləyici saytlarda fosforlaşdırmaqla tənzimləyir, bəzilərini fəallaşdırmaqla və bəzilərini ingibirləşdirməklə onların fəaliyyətlərini əlaqələndirir (koordinasiya edir). Zülalların tənzimlənməsinə parçalanması da hüceyrə tsiklinin əhəmiyyətli bir keçidində mühüm rol oynayır. Zülalların parçalanması geriye dönməyən olduğundan, o proseslərin hüceyrə tsikli boyu yalnız bir istiqamətdə getməsinə təmin edir.

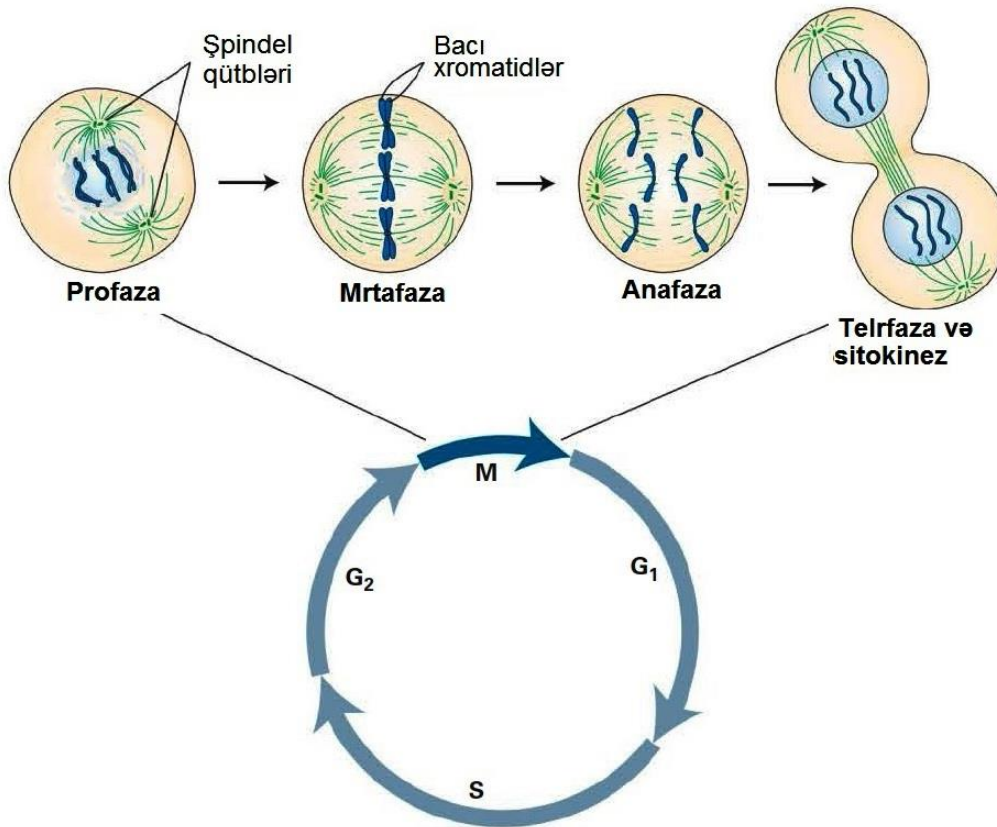
Bu fəsilə biz, əvvəlcə hüceyrə tsiklini ümumi nəzərdən keçirəcəyik, sonra isə bizim hüceyrə tsikli barədə müasir biliklərimizə öz töhfəsini vermiş müxtəlif eksperimental sistemləri təsvir edəcəyik. Biz sonra tsiklindən-asılı olan kinazaları (CDK-lər) və bu əsas hüceyrə tsikli nəzarətçilərinin tənzimləndiyi çox sayda müxtəlif yolları müzakirə edəcəyik. Daha sonra biz, CDK fəaliyyətinin idarə olunmasının hər mərhələdə baş verən hadisələri necə idarə etdiyini vurğulayaraq hüceyrə tsikli mərhələlərini daha ətraflı şəkildə nəzərdən keçirəcəyik. Bunun ardınca biz, hüceyrə tsiklinin ardıcılığını

təşkil edən və hər bir hüceyrə tsikli fazasının dəqiqliklə baş verməsini təmin edən “nəzarət yoxlama yollarını” (“checkpoint pathways”) müzakirə edirik. Fəsil, haploid cinsiyyət hüceyrələrini (yumurta və sperma) əmələ gətirən xüsusi tip hüceyrə bölünməsi meyozun və onu mitozdan fərqləndirən molekulyar mexanizmin müzakirəsi ilə yekunlaşır. Biz müzakirələrimizdə hüceyrə tsikli gedişinin idarə olunmasının əsas prinsiplərini vurğulayırıq və hər bir hüceyrə tsikli mərhələsini idarə edən faktorları müzakirə edərkən növü əhatə edən nomenklaturadan istifadə edirik

19.1 Hüceyrə Tsiklinə Ümumi Baxış və Ona Nəzarət

Eukariotlarda hüceyrə tsikli hadisələrin yüksək dərəcədə konservativ, dəqiq-düzlənmiş ardıcılığından ibarətdir. Hər bir tsikl zamanı, DNT replikasiyası iki eyni DNT molekulunun yaranmasına səbəb olur, hansiki iki qız hüceyrə arasında seqreasiya etmək üçün qısalmış sıx quruluş alırlar. Bu bölmədə biz, öz müzakirələrimizi eukariot hüceyrə tsiklinin mərhələlərini nəzərdən keçirməklə başlayırıq, sonra əsas tənzimləyiciləri, tsiklindən-aslı olan kinazaları təqdim edirik və hüceyrə tsiklinin idarə olunmasının prinsiplərini nəzərdən keçirməklə yekunlaşdırırıq.

Hüceyrə Tsikli Hüceyrə İkiləşməsinə (Replikasiyasına) Aparan Hadisələrin Ardıcıl Sırasıdır



Hüceyrə tsikli dörd əsas fazaya bölünür (bax Şəkil 19-1). Məməlilərin replikasiya edən somatik hüceyrələri G₁ (birinci ara – *first gap*) fazada ölçüsünə görə böyüyür və DNT sintezi üçün tələb olunan RNT və zülalları sintez edir. Hüceyrələr müvafiq ölçüyə çatandan və tələb olunan zülalları sintez etdikdən sonra, onlar mayada *START* kimi və məməlilərdə *restriksiya (məhdudiyət) nöqtəsi* kimi G₁-də tanınan nöqtəni keçərək tsiklə daxil olurlar. Bu nöqtəni küçükdən sonra hüceyrələr hüceyrə bölünməsinə məcburdurlar. Üğurlu hüceyrə bölünməsi istiqamətində ilk addım S (sintez) fazaya keçməkdir. Bu dövrdə hüceyrələr fəal şəkildə öz xromosomlarını replikasiya edirlər. İkinci ara (*gap*) fazasından G₂ fazadan keçdikdən sonra, hüceyrələr M faza (mitoz fazası) kimi də adlandırılan və bir neçə mərhələyə bölünən mitozun mürəkkəb proseslərinə başlayırlar (Şəkil 19-2).

Mitozun müzakirəsi zamanı biz tez-tez *xromosom* sözünü, mitozun erkən dövrlərində kondensasiya edib işıq mikroskopu altında görünə bilən *ikiləşmiş (replikasiya etmiş)* quruluşlar üçün istifadə edirik. Beləliklə hər bir xromosom, DNT replikasiyası nəticəsində əmələ gələn iki eyni DNT molekulundan, üstə gəl histon və xromosom-assosiasiyalı digər zülallardan təşkil olunub (bax Şəkil 8-35). İki eyni DNT molekulu və onlarla assosiasiyada olan xromosom zülalları, hansiki tək bir xromosomu əmələ gətirirlər, **bacı xromatidlər** adlanırlar. Bacı xromatidlər kəşişən zülal əlaqələri ilə bir-birinə birləşirlər.

ŞƏKİL 19-2 Mitozun mərhələləri. Profaza zamanı nüvə qabığı dağılır, mikrobörcüqlər mitoz şpindel aparatını əmələ gətirir və xromosomlar kondensasiya olunurlar. Metafazada, xromosomların öz kinetoxorları vasitəsi ilə mikrobörcüqlərə birləşməsi tamamlanır. Anafaza zamanı motor zülallar və şpindel mikrobörcüqlərinin qısalması bacı xromatidləri qarşı tərəfdəki şpindel qütblərinə dartır. Xromosomların şpindel qütblərinə çəkilməsindən sonra, xromosomlar dekonensasiya edirlər. Hüceyrələr nüvə membranını yeni yaranmış qız hüceyrələrin nüvəsi ətrafında yenidən toplayır və sitokinezə keçirlər.

Hüceyrə tsiklinin bir hissəsi olan iunterfazanın, bir M fazanın sonu ilə növbətinin başlanğıcı arası, gedişi müddətində nüvənin xarici membranı endoplazmatik şəbəkə membranının davamıdır. Profazada mitozun başlaması ilə, ali eukariotların əksəriyyətinin hüceyrələrində nüvə qabığı geriye endoplazmatik şəbəkəyə dartılır, Qolci kompleksinin membranı isə qovuculara parçalanır. Bu ona görə lazımdır ki, sentrosomlar vasiyyəti ilə nukleasiya olunan mikroborucuqlar, mikroborucuqların futbol-topu formalı dəstlərindən ibarət olan və hər bir ucundan və ya *şpindel qütbündən* mikroborucuqların ulduz-şəkilli klasterlərinin şüa kimi çıxdığı **mitoz şpindelini** yaratmaq üçün xromosomlarla əlaqəyə girə bilsinlər. Çoxzülallı kompleks kinetoxor hər bir sentromerdə yığılır. Metafazada nüvə qabığı dağıldıqdan sonra bacı xromatidlərin kineoxorları qarşı tərəfdəki şpindel qütblərindən gələn mikroborucuqlarla birləşir (assosasiya edir) (vax Şəkil 18-37) və xromosomlar hüceyrənin mərkəzindəki müstəvidə düzlənirlər. Anafaza zamanı, bacı xromatidlər ayrılırlar. Onlar ilkin olaraq mikroborucuqlarla şpindel qütbünə tərəf dartılırlar və sonra şpindel qütbləri bir-birindən uzaqlaşdıqca daha da ayrılırlar (bax Şəkil 19-2).

Xromosom seqreçasiyası qurtardıqdan sonra, mitoz şpindelini dağılır və xromosomlar telofaza zamanı dekonvensasiya edirlər. Seqreçasiya edən xromosomlar dekonvensasiya edən kimi nüvə qabığı onların ətrafında yenidən formalaşır. Sitoplazmanın *sitokinez* adlanan fiziki bölünməsi iki qız hüceyrəsinə əmələ gətirir. Mitozun ardınca, tsikli başa vuran hüceyrələr G_1 fazaya keçir, və növbəti tsiklə daxil olurlar.

Hüceyrə tsiklinin gediş mərhələləri bütün eukariotlar üçün eynidir, hərçənd ki, onun bir tsiklinin tamamlanmasına qədər götürdüyü zaman orqanizmlər arasında kifayət qədər fərqlənir. Sürətlə replikasiya edən insan hüceyrələri tam hüceyrə tsiklini 24 saata qədər müddətə keçir: G_1 9 saata, S faza 10 saata, G_2 faza 4.5 saata və mitoz 30 dəqiqəyə qədər başa çatır. Bunun əksinə sürətlə artan maya hüceyrələrində tam tsikl 90 dəqiqəyə başa çatır. *Drosophyla melanogaster* meyvə milçəyinin embrional inkişafının erkən dövründə hüceyrə bölünməsi 8 dəqiqəyə qədər kiçik müddətə baş verir.

Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə, əksər differensasiya etmiş hüceyrələr hüceyrə tsiklindən çıxır və dörd gün, həftə, və ya bəzi hallarda (məsələn sinir hüceyrələri və göz linzasının hüceyrələri kimi) orqanizmin bütün ömrü boyu yenidən bölünmədən sağ qala bilirlər. Belə *postmitoz* hüceyrələr hüceyrə tsiklindən əsasən G_1 fazadan çıxaraq G_0 fazaya keçirlər (bax Şəkil 19-1). Bəzi G_0 hüceyrələr yenidən hüceyrə tsiklinə qayıda bilirlər və replikasiya etməyi davam etdirirlər, bu cürə yenidən daxilolma tənzimlənilir və bununla da hüceyrə proliferasiyasına nəzarət olunur.

Tsiklindən Asılı Olan Kinazalar Eukariot Hüceyrə Tsiklinə Nəzarət Edirlər

Fəsilin girişində qeyd edildiyi kimi, hüceyrə tsiklindən keçid, katalitik subvahiddən və tənzimləyici subvahiddən ibarət olan heterodimer proteinkinazalarla nəzarət olunur. Tsiklindən-asılı olan kinazaların (CDK) katalitik subvahidləri tənzimləyici subvahid tsiklinlə birləşənə qədər qeyri fəal olur. Hər bir CDK az sayda müxtəlif tsiklinlərlə birləşə bilər, bu kompleksin substrat spesifikliyi, yəni hansı zülal fosforlaşdırmasını müəyyən edir.

Hər bir tsiklin yalnız onun hüceyrə tsiklinin gedişini gücləndirdiyi mərhələdə mövcud və fəal olur, beləliklə o birləşdiyi hüceyrə tsikli mərhələsində CDK-in kinaza fəallığını məhdudlaşdırır. Tsiklin-CDK kompleksləri hüceyrə tsikli gedişində iştirak edən yüzlərlə zülalları xüsusi tənzimləyici saytlarda fosforlaşdırmaqla fəallaşdırır və ya ingindirir. Beləliklə, hüceyrə tsiklinin düzgün inkişafı, müvafiq tsiklin-CDK kompleksinin müvafiq zamanda fəallaşması ilə idarə olunur. Bizim görəcəyimiz kimi, müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsində tsiklinin ekspressiyasının məhdudlaşması hüceyrələrin tsiklin-CDK heterodimerlərinin fəallığının tənzimlənməsində istifadə etdiyi çoxsaylı mexanizmlərdən biridir.

Bir Neçə Əsas Prinsip Hüceyrə Tsiklini İdarə Edir

Hər bir hüceyrə bölünməsinin məqsədi eyni genetik tərkibli iki qız hüceyrəni yaratmaqdır. Buna nail olmaq üçün, *hüceyrə tsikli hadisələri düzgün ardıcılıqla baş verməlidir*. DNT replikasiyası həmişə xromosom seqreçasiyasından qabaq gəlməlidir. Bu gn biz bilir ki, hüceyrə tsikli gedişini irəli aparan (sürətləndirən) əsas zülalların, CDK-lərin fəallığı *hüceyrə tsikli zamanı dəyişkən olur*. Məsələn, S fazanı gücləndirən CDK-lər S faza zamanı fəal olurlar amma, mitoz zamanı qeyri fəal olurlar. Mitozu fəallaşdıran CDK-lər yalnız mitoz zamanı fəal olurlar. CDK fəallığında belə *tərəddüdlər (oscillations)* eukariot hüceyrə tsikli nəzarətinin fundamental aspektidir və biz bu tərəddüdlərin necə yaranması barədə bəzi anlayışları qazanmışıq. Tərəddüdlər müsbət geriye əlaqə mexanizmləri nəticəsində yaranır və bununla da spesifik CDK-lər öz fəallaşmalarını gücləndirirlər. Bu müsbət geriye əlaqə ilqələri sonrakı mənfi geriye əlaqə mexanizmləri ilə birləşdirilir və bu yolla CDK-lər dolayı yolla və ya daxili gecikmə ilə öz fəallıqlarının dayandırılmasını təşviq edirlər. Onların tərəddüdü hüceyrə tsiklini irəliyə aparmaqla bərabər həm də müxtəlif hüceyrə tsiklləri arasında kəskin keçidləri də yaradır, bu da fərqli hüceyrə tsikli vəziyyətlərini anlamaq üçün vacibdir.

Hüceyrə tsiklinin tərəddüdləri (*oscillator*) mexanizmi üzərində duran müşahidə nəzarət mexanizmləri sistemi əmin edir ki, növbəti hüceyrə tsikli, mövcud tsikl başa çatmadan və ya mövcud mərhələdə baş verən səhvlər düzəldilmədən fəallaşmasın. Bu müşahidə nəzarət mexanizmləri *nəzarət məntəqəsi yolları* adlanır və onların vəzifəsi xromosom replikasiyası və seqreçasiyası proseslərinin dəqiqiyini təmin etməkdir. Xromosomların dəqiqliklə seqreçasiyasını təmin edən sistem həm də ona görə səmərəlidir ki, səhv-seqreçasiya hadisələri yalnız 10^4 - 10^5 bölünmədə bir dəfə baş ver bilər. Hüceyrə tsiklinə nəzarət məşininin belə çoxtəbəqəli olması hüceyrə tsiklinin möhkəm və səhvsiz olmasını əmin edir.

19.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Tsiklinə Ümumi Baxış və Ona Nəzarət

- Eukaryot hüceyrə tsikli dörd fazaya bölünür: G_1 (mitozla nüvə DNT replikasiyasının başlanması arasındakı dövr), S (nüvə DNT replikasiyası dövrü), G_2 (nüvə DNT replikasiyasının tamamlanması ilə mitoz arasındakı dövr), M (mitoz) fazaları.

- Hüceyrələr yeni hüceyrə bölünməsinə G_1 -də START kimi və ya restriksiya nöqtəsi kimi məlum olan spesifik nöqtədən keçirlər.
- Tnzimləyici tsiklin subvahidindən və katalitik tsiklindən-asılı lan kinazadan (CDK) ibarət olan tsiklin-CDK kompleksləri hüceyrələrin hüceyrə tsiklindən keçməsinə idarə edirlər.
- Tsiklinlər CDK-ləri fəallaşdırırlar və yalnız təşviq edəcəkləri hüceyrə tsikli mərhələsində mövcud olurlar.
- CDK fəaliyyətləri hüceyrə tsikli zamanı tərəddüd edir. Müsbət və mənfi geriye əlaqələr bu tərəddüdləri idarə edir.
- Yoxlama məntəqəsi yolları kimi adlandırılan müşahidə nəzarət mexanizmləri, hər bir hüceyrə tsikli mərhələsinin növbəti mərhələə başlanmazdan öncə düzgün tamamlanmasını təmin edir.

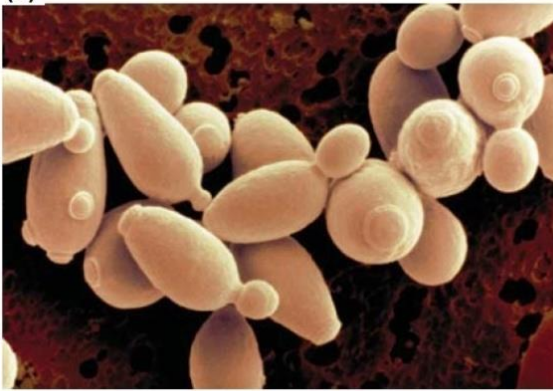
19.2 Model Orqanizmlər və Hüceyrə Tsiklinin Öyrənilməsi Metodları

Eukariotlarda hüceyrə tsiklinin idarə olunmasının molekulyar mexanizminin aşkar edilməsi kifayət qədər sürətli olmuşdur və bu proses genetik və biyokimyəvi yanaşmaların güclü kombinasiyası ilə təmin edilmişdir. Bu bölmədə biz bir neçə

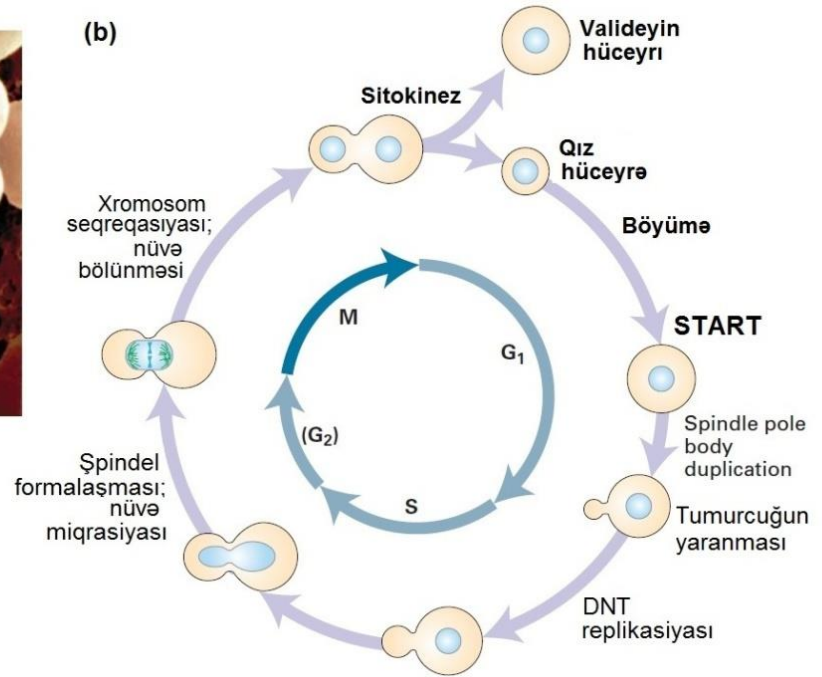
model sistemi və hüceyrə bölünməsinin molekulyar mexanizminin açılmasında onların töhfəsini müzakirə edirik. Hüceyrə tsiklinin öyrənilməsində istifadə edilən üç ən əhəmiyyətli sistem bir-hüceyrəli mayalar *Saccharomyces cerevisiae* (tumurcuqlayan maya), *Schizosaccharomyces pombe* (bölünən maya) və *Xenopus laevis* qurbağanın oosity və erkən rüşeymidirlər. Biz həmçinin, hüceyrə bölünməsi və inkişafı arasındakı qarşılıqlı əlaqənin öyrənilməsində son dərəcə güclü olan model sistemi, meyvə milçəyi *Drosophila melanogaster*-i də müzakirə edirik. Məməlilərin toxuma kulturası hüceyrələrinin öyrənilməsi məməlilərdə hüceyrə tsiklinin nəzarətinin xarakterizə olunmasına gətirib çıxardı.

Çoxsaylı müxtəlif eksperimental sistemlərdə hüceyrə tsiklinin öyrənilməsi hüceyrə tsiklinin ümumi nəzarəti barədə iki əhəmiyyətli kəşfə səbəb oldu. Birinci, DNT replikasiyasının inisiasiyası və mitoz giriş kimi kompleks molekulyar proseslər hamısı kiçik sayda əsas (master) hüceyrə tsikli tənzimləyici zülalları vasitəsi ilə tənzimlənir. İkinci, bu master tənzimləyicilər və onlara nəzarət edən zülallar yüksək dərəcədə konservativdirlər, belə ki, hüceyrə tsiklinin göbələklərdə, dəniz kirpilərində, həşəratlarda, qurbağalarda və başqa növlərdə öyrənilməsi bütün eukariot hüceyrələrdə, o cümlədən insan hüceyrələrində birbaşa tətbiq edilə bilər.

(a)



(b)



ŞƏKİL 19-3 Tumurcuqlayan maya *S. cerevisiae*. (a) *S. cerevisiae* hüceyrələrinin hüceyrə tsiklinin müxtəlif mərhələlərində skanerli-elektron mikrofotusu. G_1 fazanın sonunda yaranan tumurcuq nə qədər böyük olarsa hüceyrə tsikli boyu hüceyrə də bir o qədər uzaqda olur. (b) *S. cerevisiae* hüceyrə tsiklinin əsas hadisələri. Qız hüceyrələr ana hüceyrələrdən kiçik doğulurlar və onlar S fazaya keçmək üçün kifayət qədər böyük ölçünü almaq üçün G_1 fazada daha çox böyüməlidirlər.

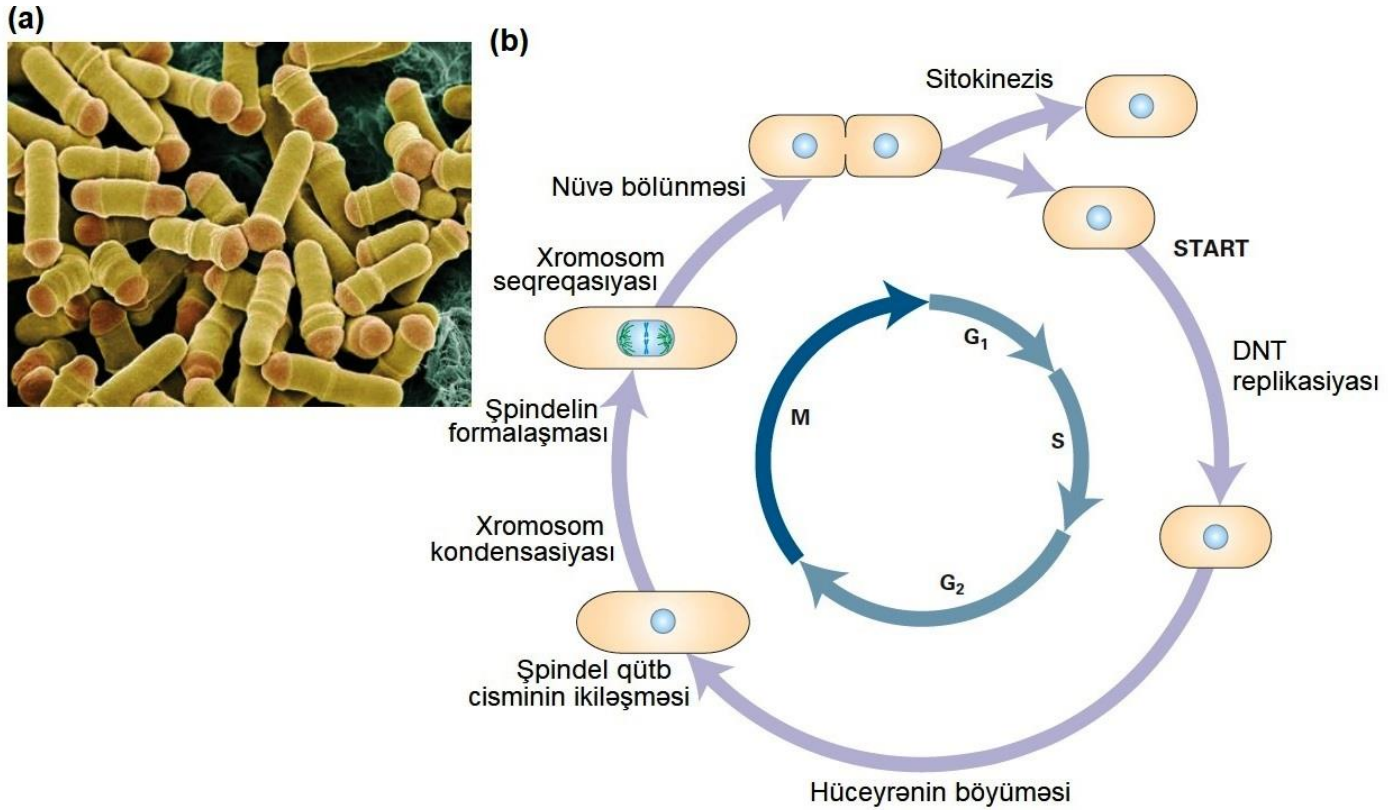
START hüceyrə tsiklində hüceyrələrin geriye dönməyən şəkildə hüceyrə tsiklinə daxil olduğu nöqtədir. Tumurcuqlayan mayalarda G_2 yaxşı müəyyən edilməmişdir, ona görə də hüceyrə tsiklində mötərəzədə göstərilir. Qeyd edək ki, *S. cerevisiae* mayada və başqa mayalarda nüvə qabığı mitoz zamanı dağılır. Kiçik *S. cerevisiae* xromosomları işıq mikroskopunda görünə bilmək üçün kifayət qədər kondensasiya olunurlar. [(a) hissəsi SCIMAT/Science Source.]

Tumurcuqlayan və Bölünən Mayalar Hüceyrə Tsiklinin Genetik Analizi Üçün Güclü Sistemlərdir

Tumurcuqlayan və bölünən mayalar hüceyrə tsiklinin öyrənilməsi üçün əhəmiyyətli sistem kimi qiymətləndirilmişlər. Baxmayaraq ki, onların hər ikisi göbələklər aləminə aiddi, amma onlar yalnız uzaq qohumdurlar. Hər iki orqanizm, hər xromosomdan yalnız bir nüsxə daşıyan haploid vəziyyətdə mövcud ola bilirlər. Bu mayaların haploid hüceyrələr kimi mövcud olması faktı onları güclü genetik sistem edir. Haploid orqanizmlərdə çox asanlıqla geni fəalsızlaşdıran mutasiya etmək mümkündür, çünki bir hər genin yalnız bir nüsxəsi vardır (diploidlər isə genin fəalliyətini qeyri funksional etmək üçün mutasiyanın genin hər iki nüsxəsində aparılmasını tələb edir). Haploid maya spesifik qüsurları, məsələn hüceyrə proliferasiyasında qüsurları olan mutantların ekranlaşdırılması və seçilməsində asanlıqla tətbiq oluna bilər. Bu iki sistemin əlavə üstünlükləri, fərdi genlərin ekspressiyasının nisbətən asanlıqla

manipulyasiya edilə bilməsidir, həmçinin maya kulturda əl asanlıqla yetişdirilə və manipulyasiya oluna bilər ki, kulturada hüceyrələr hüceyrə tsiklinə sinxron inkişaf etsin.

Tumurcuqlayan maya hüceyrələri formaca yumurtaşəkillidir və tumurcuqlama yolu ilə bölünürlər (Şəkil 18-3a). Gələcək qız hüceyrə olan tumurcuq DNT replikasiyası ilə eyni vaxtda yaranmağa başlayır və bütün hüceyrə tsikli boyu böyüyür (Şəkil 19-3b). Buna görə də hüceyrə tsiklinin mərhələsini tumurcuqların ölçüsünə görə demək olar, bu da *S. cerevisiae*-ni hüceyrə tsiklinin spesifik mərhələlərində blok olunmuş mutantların identifikasiyasında istifadə oluna bilən sistem edir. Həqiqətən də Lee Harwell və əməkdaşları ilk dəfə xüsusi heceyrə tsikli mərhələsinin gedişində qüsurlu olan mutantları bu orqanizmdə identifikasiya etdilər. Məməlilərin hüceyrələrində olduğu kimi, tumurcuqlayan maya hüceyrə tsiklinin uzun G_1 fazası vardır və tumurcuqlayan mayanın hüceyrə tsiklinin öyrənilməsi G_1 -S faza keçidinin necə nəzarət olunduğu barədə bizim anlayışlarımızı formalaşdırdı.



ŞƏKİL 19-4 Bölünən maya *S. pombe*. (a) *S. pombe* hüceyrələrinin hüceyrə tsiklinin müxtəlif mərhələlərində skanerli-elektron mikrofotusu. Uzun hüceyrələr mitoz daxil olmaq ərafındadır, qısa hüceyrələr sitokinezdən yenidən çıxmışlar. (b) *S. pombe* hüceyrə

tsiklinin əsas hadisələri. START hüceyrə tsiklinə hüceyrələrin geriye dönməyən vəziyyətdə hüceyrə tsiklinə daxil olduğu nöqtədir. *S. cerevisiae*-də olduğu kimi, nüvə qabığı mitoz zamanı dağılır. [(a) hissəsi Steve Gschmeissner/Science Source.]

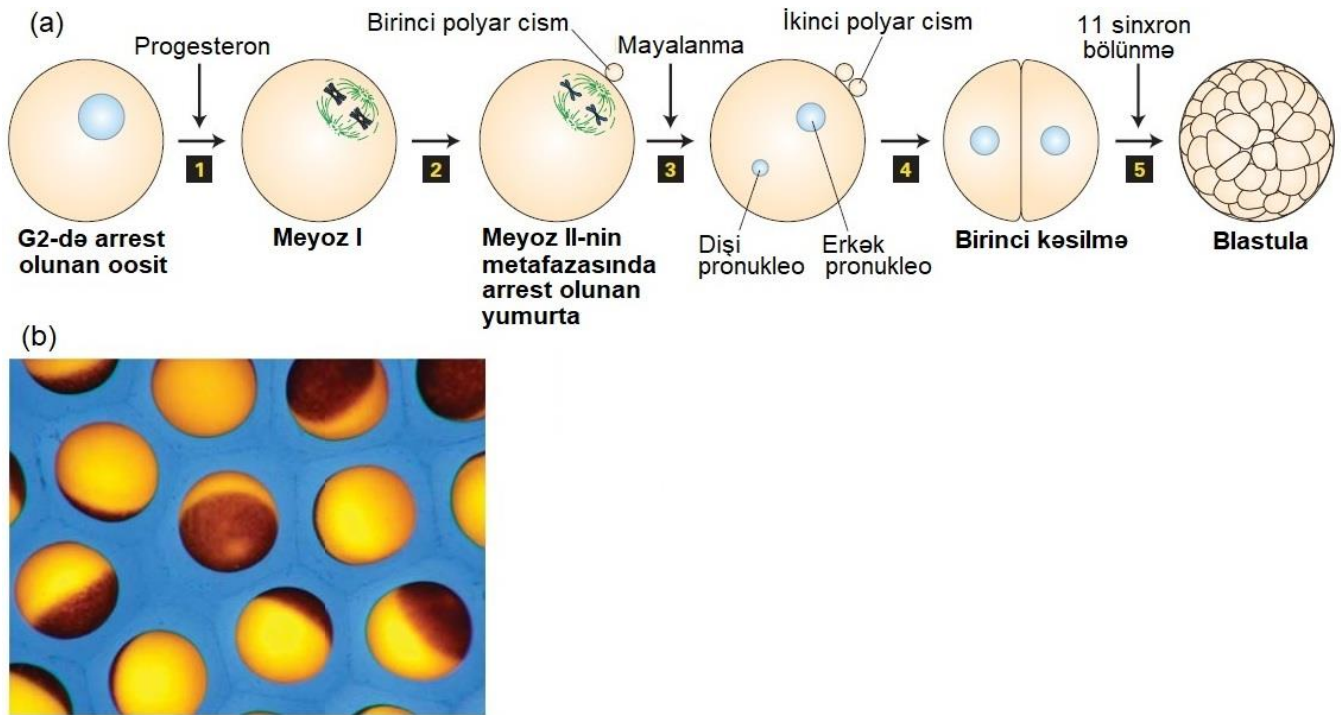
Bölünən maya hüceyrələri çöp-şəkillidirlər və tamamilə uclarından uzanma ilə böyüyürlər (Şəkil 19-4a). Mitoz tamamlandıqdan sonra, sitokinez arakəsmənin əmələ gəlməsi ilə baş verir (Şəkil 19-4b). G_2 -ni və mitoz daxil olmanı idarə edən mexanizmlər bölünən mayada və metazoan hüceyrələrdə çox oxşardır və bu orqanizmlərlə aparılan tədqiqatlar G_2 -M faza

keçidini əhatə edən molekulyar prosesləri aşkar etdilər. Tumurcuqlayan və bölünən mayalar hər ikisi hüceyrə tsiklinə spesifik pillədə blok olunan və ya tsiklin dəyişilmiş tənzimlənməsini nümayiş etdirən mutantların ayrılması üçün sərfəlidir. Hüceyrə tsiklinin inkişafı həyat qabliyyəti üçün əhəmiyyətli olduğundan, alimlər *şərti mutantları* ayırdılar, bu

genin kodladığı zülal yalnız bir temperatutda funksionaldır və başqa temperaturda, çox hallarda yüksək temperaturda (məsələn, qəbuləilməyən temperaturda zülalın səhv bükülməsinə görə) qeyri-fəal olur (bax Şəkil 6-6). Xüsusi bir hüceyrə tsikli mərhələsində arest olunan mutant adətən normal bölünən hüceyrələrdən mikroskopik tədqiqatlarda fərqlənirlər. Beləliklə, bu mayaların hər ikisində hüceyrə tsiklinin inkişafı üçün tələb olunan xüsusi zülallarda qüsurun yaranmasına səbəb olan temperatra-həssas mutasiyalı hüceyrələri asanlıqla ayırmaq mümkün oldu. Belə hüceyrələr *cdc* (hüceyrə bölünməsi tsikli - cell division cycle) mutant hüceyrələr adlandırıldı. Belə temperatru-həssas maya ştammlarında mutasiya olunmuş genlərin identifikasiyası hüceyrə bölünməsinin faktiki olaraq bütün aspektləri üçün kritik olan genlərin ətraflı bir siyahısını təqdim etdi.

Qurbağa Oositləri və Erkən Rüşüymələr Hüceyrə Tsikli Maşınının Biokimyəvi Xarakterizə Edilməsini Asanlaşdırır

Biokimyəvi tədqiqatlar çox hüceyrələrdən hüceyrə ekstraktlarını hazırlanmasını tələb edir. Hüceyrə tsiklinin biokimyəvi tədqiqatları üçün amfibiaların (suda-quruda yaşayanların) və dəniz onurğasızlarının yumurtaları və ilkin rüşeyimləri xüsusilə uyğun gəlir. Bu orqanizmlərin adətən böyük yumurtaları olur, mayalanmadan sonra çoxsaylı sinxron hüceyrə tsiklləri gəlir. Dişi fərdlərdən böyük miqdarda yumurtanın ayrılması və eyni zamanda spermanın əlavə edilməsi (və ya mimik mayalanma yolu ilə təsir etməklə) onların mayalandırılması ilə tədqiqatçılar zülalları və fermentativ fəallıqları analiz etmək üçün hüceyrə tsiklinin xüsusi bir nöqtəsində hüceyrədən ekstraktı əldə edə bilirlər.



ŞƏKİL 19-5 Progesteron *Xenopus* oositlərinin yetişməsini stimullaşdırır. (a) Pillə 1: Yetkin dişi *Xenopus* fərdin yumurtalığından cərrahi yolla çıxarılmış, G₁-də arest olunan oositlərin progesteronla işlənilməsi oositin mitoz I-ə daxil olmasına səbəb olur. Meyoz şpindel mikroborucuqları (yaşıl) ilə birləşmiş iki cüt sinaps olunmuş homoloji xromosomlar (mavi) hüceyrələri meyoza I-in metafazasında təsvir etmək üçün sxematik göstərilmişdir. Pillə 2: Homoloji xromosomların seqreşiyası və yüksək asimmetrik hüceyrə bölünməsi xromosomların yarısını sıxışdırıb *birinci polyar cism* adlanan kiçik hüceyrələrin daxilinə çıxarır. Oosit dərhal meyoza II-ə başlayır və yumurtanı almaq üçün metafaza II-də arest olunur. Şpindel mikroborucuqlarına birləşmiş iki xromosom, meyoza II-nin

metafazasında arest olunan yumurta hüceyrələrini təsvir etmək üçün sxematik verilmişdir. Pillə 3: Sperma ilə mayalanma yumurtaları metafaza arestindən buraxır, onlara meyoza II-nin anafazasından keçməyə və ikinci yüksək asimmetrik hüceyrə bölünməsinə getməyə imkan yaradır, nəticədə hər xromosomun bir xromotidi ikinci polyar cismə sıxışdırılır. Bunun nəticəsində əmələ gələn haploid dişi ilkin nüvə (pronukleus) diploid ziqotu əmələ gətirmək üçün sperma haploid ilkin nüvə ilə cütləşir. Pillə 4: Ziqot DNT replikasiyasına və ilk mitozu gətirir. Pillə 5: Birinci mitozun ardınca 11 sinxron bölünmə baş verərək blastulanı əmələ gətirir. (b) *Xenopus* yumurtasının mikrofotosu. [(b) hissəsi MICHEL DELARUE/ISM/Phototake.]

X. laevis oositlərinin və yumurtalarının hüceyrə tsiklinin inkişafında necə istifadə oluna biləcəyini anlamaq üçün, biz ilk

növbədə, in vitro təkrar oluna bilən oositlərin yetişməsi hadisələrini ortaya qoymalıyıq. Bu vaxta qədər biz mitoz

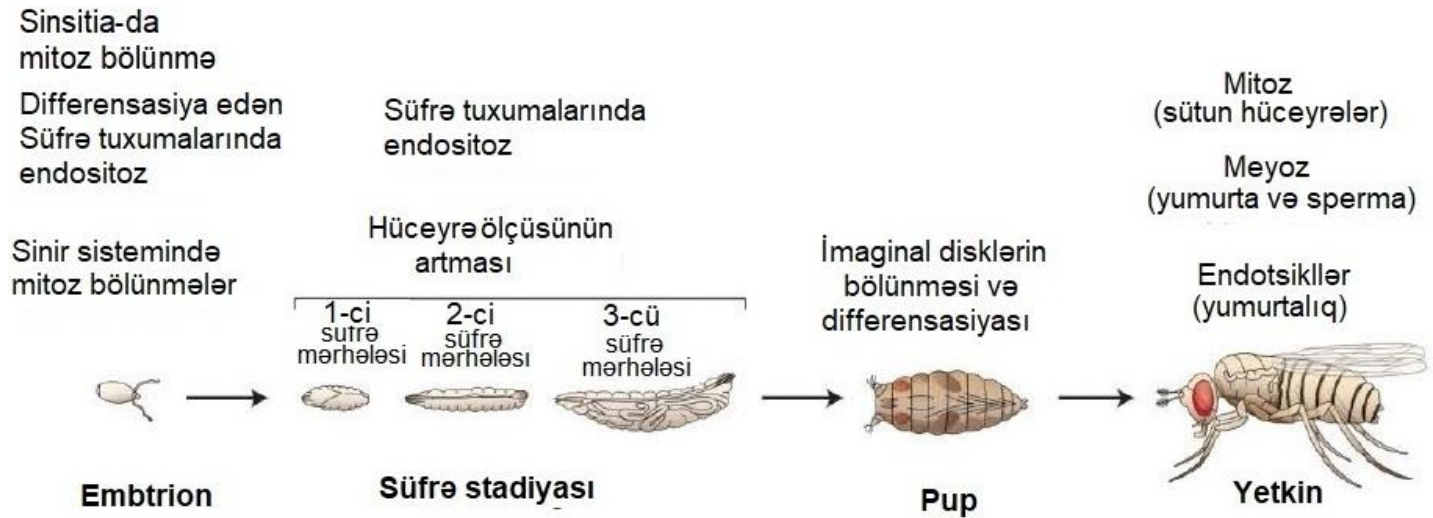
bölməni müzakirə edirdik. Amma, oositlər meyoza bölünməyə gedirlər (meyozun ümumi görünüşü üçün Şəkil 19-35 bax). Oositlər qurbağanın yumurtalığında inkişaf edərkən onlar öz DNT-sini replikasiya edir və G₂-də 8 ay müddətinə arrest olunurlar, bu müddətdə onlar 1 mm diametr ölçüyə görə böyüyürlər, ilkin rüşeyimdə çoxsaylı hüceyrə bölünməsi üçün lazım olan bütün materialları toplarlar. Erkək tərəfindən stimullaşanda yetkin dişinin yumurtalığı hüceyrələri, G₂-arrest olunmuş oositləri yetişmək və meyoza daxil olmaq üçün induksiya edən steroid hormonu progesteronu ifraz edirlər. Bizim 19.8 bölməsində görəyimiz kimi, meyoza, meyoza I və meyoza II kimi məlum olan iki ardıcıl xromosom seqrqqasiyası fazalarından ibarətdir. Progesteron oositlərin meyoza I-ə getməsinə və sonra ikinci meyoza metafazasına getməsinə induksiya edir, onlar burada arrest olunur və mayalanmanı gözləyirlər (Şəkil 19-5). Bu mərhələdən sonra, hüceyrələr yumurta adlanırlar. Sperm ilə mayalananda, yumurtaların nüvəsi metafaza II arrestindən azad olunur və meyoza tamamlayırlar. Nəticədə alınan haploid yumurta nüvəsi sonra haploid sperm nüvəsi ilə cütləşir (qovuşur) və diploid ziqot nüvəsi əmələ gətirir. DNT replikasiyasının ardınca birinci mitoz bölünməsi, embriogeneza başlayır. Nəticədə əmələ gələn rüşeyim hüceyrələri daha 11 sürətli sinxron hüceyrə tsiklindən keçirlər və hüceyrələrin *blastula* adlanan böyük küresini əmələ gətirirlər. Sonra hüceyrə bölünməsi zəifləyir, və ardınca gələn hüceyrə tsiklləri qeyri sinxron olur, blastulanın müxtəlif səviyyələrində hüceyrələr müxtəlif vaxtlarda bölünürlər.

Mitozda iştirak edən faktorları öyrənmək üçün *X. laevis*-dən istifadə etməyin üstünlüyü odur ki, böyük miqdarda oosit

və yumurtalar hazırlana bilər, bunların hamısı progesteronla işləmənin və mayalanmanın ardınca sinxron şəkildə hüceyrə tsikli hadisələrindən keçə bilər. Bu biokimyəvi eksperimentlər üçün hüceyrə tsiklində eyni mərhələdə (nöqtədə) olan hüceyrələrdən kifayət qədər ekstraktın alınmasına imkan verir. Mitozun başlanmasına təkan verən və onların fəaliyyətinə tərəddüdlük (oscillatory) təbiəti verən tsiklin-CDK kompleksləri də ilk dəfə bu sistemdə aşkar edilmişdir. G₂-arrest olunan oositlərə inyeksiya olunarkən mitoz və oosit yetkinliyinə daxil olmanı induksiya etmək qabiliyyətinə görə bu fəallıq, *yetişməni gücləndirən faktor* (*maturation-promoting factor - MPF*) kimi adlandırılmışdır

Meyvə Milçəyi İnkişafı Hüceyrə Tsikli Arasında Əlaqəni Aşkar Edir

Kompleks (mürəkkəb) toxumaların inkişafı çox zaman hüceyrə tsiklində spesifik modifikasiyaları tələb edir. Əgər biz mürəkkəb orqanizmlərin necə qurulduğunu anlamaq istəyiriksə inkişaf hüceyrə bölünməsi arasında qarşılıqlı əlaqənin başa düşülməsi kritik əhəmiyyət kəsb edir. *Drosophila melanogaster*, inkişaf hüceyrə tsikli arasındakı qarşılıqlı əlaqəni öyrənmək üçün özünü ilk model sistem olaraq təqdim etdi. Bu orqanizmin inkişafı yalnız bir sıra qeyri-adi hüceyrə tsiklini əhatə etmir, o həmçinin hüceyrə tsiklindəki inkişafa nəzarətdə iştirak edən genlərin aşkarlanmasına imkan yaradan meyvə milçəyinə tətbiq oluna bilən çox güclü genetik metodları da əhatə edir.



ŞƏKİL 19-6 *Drosophila melanogaster*-in həyat dövründə hüceyrə bölünməsi modeli. Mayalanmadan sonra, rüşeyimdə nüvə 13 sürətli S faza–M faza tsikllərinə uğrayır. Bu tsikllərin ardınca G₂ fazanın da daxil olduğu üç bölünmə gəlir. Bütün bu nüvə bölünmələri ümumi bir sitoplazma daxilində baş verir və ona görə də sinsital bölünmələr adlanır. Embriogenezin sonrakı mərhələlərinə və bütün süfrə inkişafı dövründə (sinir sistemi müstəsna olmaqla), hüceyrələr endotsiklə gedir. Bu tsikllər hüceyrə ploidiyinin və ölçüsünün artmasına, beləliklə süfrələrin böyüməsinə səbəb olur. Metamorfоз adlanan

proses zamanı pupda, yetkin orqanların əmələ gəlməsinin əsasını qoyan “imaginal” disklər mitoz bölünməyə uğrayırlar və sonra differensasiya edərək yetkin orqanların formalaşmasına səbəb olurlar. Bir neçə tip bölünmə yetkin milçəklərdə görünür. Sütun hüceyrələr mitoz bölünməyə gedirlər, meyoza spermanın və yumurtanın yaranmasına səbəb olur, endotsikllər isə yumurtalıqda poliploid hüceyrələri əmələ gətirirlər. Bax L. A. Lee and T. L. Orr-Weaver, 2003, *Ann. Rev. Genet.* 37:545–578.

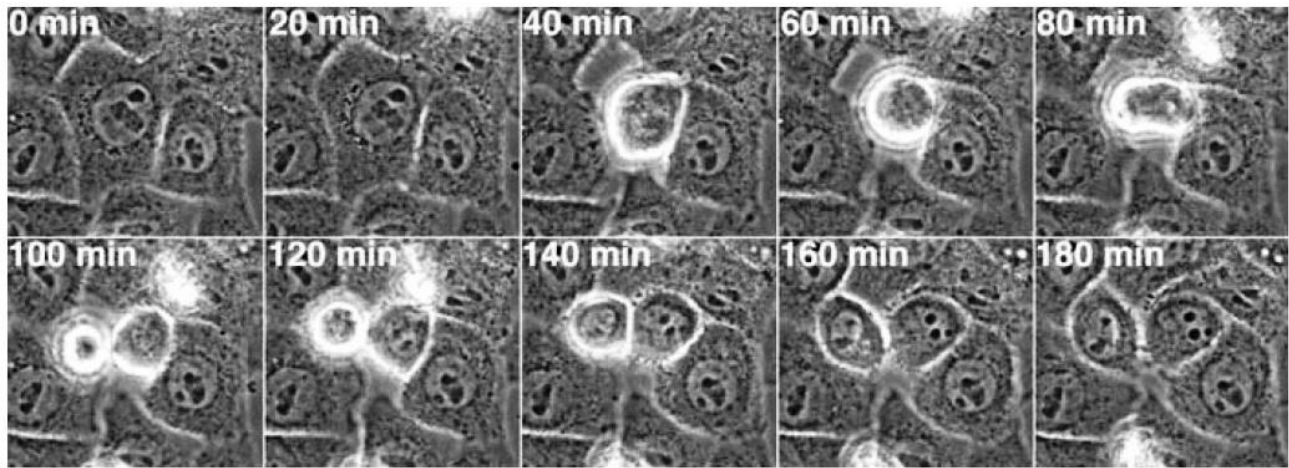
Mayalanmış *Drosophila*-nın rüşeyminin birinci 13 nüvə bölünməsi yumurta sitoplazması yetişərkən onda yığılmış əsas hüceyrə tsikli tənzimləyiciləri tərəfindən təmin edilən DNT replikasiyası və mitozun (arada boşluq fazası olmadan) sürətli tsiklləridir. Ümumi sitoplazmada baş verən bütün bu bölünmələr *sinsitial bölünmə* adlanır və unison (bir vaxtda) baş verir (Şəkil 19-6). Ehtiyat yığılmış materiallar qurtaran kimi, boşluq (gap) fazalar əmələ gəlir, birinci G_2 ardınca da G_1 gəlir. Rüşeyimdə əksər hüceyrələr bu anda bölünmək üçün dayanırlar, plazma membranını əmələ gətirirlər və *endotsikl* kimi məlum olan xüsusişmiş hüceyrə tsiklinə uğrayırlar. Endotsikldə hüceyrələr öz DNT-lərini replikasiya edirlər, amma mitozu uğramırlar. Bu replikasiya gen dozasının artmasına səbəb olur və makromolekulların yüksək biosintezini təmin edir, bu isə fərdi hüceyrələrin ölçüsünün artmasına imkan verir. Beləliklə, artıq sürünən süfrəyə çevrilmiş inkişaf edən rüşeyim hüceyrənin sayının artması hesabına deyil sadəcə olaraq hüceyrənin ölçüsünün artması hesabına böyüyür. Seçilmiş sayıda hüceyrələr bu taleyi bölüşürlər. Bu hüceyrələr, metamorfoz dövründə yetkin milçəyin toxumalarının əmələ gəlməsinə başlanğıc verən orqanda, imaginal diskdə yerləşirlər. Metamorfoz pup mərhələsində baş verir və süfrəni yetkin milçəyə çevirir. Yetkin milçəyin yaranmasına səbəb olan bölünmələr diploid orqanizmə gətirib çıxaran kanonik hüceyrə tsiklləridir.

Toxuma Kulturası Hüceyrələrinin Öyrənilməsi Məməlilərdə Hücre Tsiklinin Tənzimlənməsini Aşkar Edir

İnsan hüceyrələrində hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsi başqa qeyri-məməli hüceyrələrinə nisbətən daha mürəkkəbdir. Bu mürəkkəbliyin artan səviyyəsini anlamaq üçün və hüceyrə tsiklindeki dəyişikliklərin xərçəngin əmələ gəlməsinə səbəb olmasını anlamaq üçün hüceyrə tsiklini yalnız model orqanizmlərdə deyil həm də insan hüceyrələrində öyrənmək lazımdır. Tədqiqatçılar insan hüceyrə tsiklinin xüsusiyyətlərini

öyrənmək üçün plastik qablarda çoxalmış normal və ya şiş hüceyrələri istifadə edirlər, bu metod toxuma kulturası və ya hüceyrə kulturası adlanır. Amma bunu qeyd etmək əhəmiyyətlidir ki, insanın hüceyrə tsiklini öyrənmək üçün istifadə olunan hüceyrə tiplərinin çoxu onların kulturaya keçmələri zamanı baş verən genetik dəyişikliyə görə və ya ona görə ki, onlar insan şişlərindən ayrıldıqlarına görə hüceyrə tsikli xassələrini dəyişirlər. Bundan başqa, in vitro kultura şəraitləri orqanizmdə tapılmış şəraitə tam bənzəmir və bu da hüceyrənin davranışının dəyişməsi ilə nəticələnir. Baxmayaraq ki, məməlilərin hüceyrə bölünməsinin bəzi aspektləri hüceyrə kulturası şəraitində, məsələn toxmanın təşkilində və hüceyrə tsiklinin inkişaf siqnalları ilə idarə olunmasında təkrarlanmır, bununla belə hüceyrə kulturası sistemləri, hüceyrə bölünməsinin tənzimləyən məməli hüceyrəsinin daxili mexanizmlərində kritik anlayışları təmin edir. Tədqiqatçılar həmçinin toxumalardakı hüceyrə arxitekturasına daha çox yaxın olan hüceyrə kultura sisteminin təşkil edilməsi üzərində də çalışırlar. Məsələn, hazırda alimlər hüceyrənin toxuma daxilindəki düzülüşünə bənzərən üç-ölçülü kultura da çoxaldılmasına imkan verən polimer qəfəslərdən istifadəni inkişaf etdirirlər.

İlkin insan hüceyrələri və digər məməli hüceyrələri in vitro kultura da yetişdiriləndə məhdud həyat dövrünə malik olurlar. Məsələn, normal insan hüceyrələri 25-50 dəfə bölünə bilər, bundan sonra proliferasiya zəifləyir və tədricən sonda dayanır. Bu proses *replikativ qocalma* adlanır. Bəzi hüceyrələr bu prosedən yan keçə bilirlər və ölümsüzləşirlər və alimlərə hüceyrə xəttini yaratmağa imkan verirlər. Hərçənd ki, bu hüceyrə xətləri onların proliferasiyasının bəzi aspektlərinə təsir edən genetik dəyişikliyə malik olurlar, buna baxmayaraq onlar insan hüceyrələrində hüceyrə tsiklinin gedişini öyrənmək üçün çox səmərəli vasitələrdir. Bu hüceyrə xətləri, hüceyrələrin tükənməyən təchizatını təmin edir, bizim sonra görəcəyimiz kimi, hüceyrə tsiklinde sinxron şəkildə inkişaf etmək üçün manipulyasiya edilə bilər və hüceyrə tsiklinin müxtəlif mərhələlərində zülal səviyyəsinin və fermentativ fəallığın öyrənilməsinə imkan verir.



ŞƏKİL 18-7 Mitoza gedən insan hüceyrələri. Hela Kyoto hüceyrələri mitozu gedərkən lentə çəkilmişdir. Göstərilən hər bir təsvir hər 20 dəqiqədən bir çəkilmişdir. Hüceyrələr interfaza zamanı yastı

(müstəvi şəkilli) olurlar, amma mitozu gedən kimi, onlar yumurulanıb bölünürlər. Sonra onlar yenidən yastılaşırlar. [Nəzakətə, Sejal Vyas and Paul Chang, MIT-dən.]

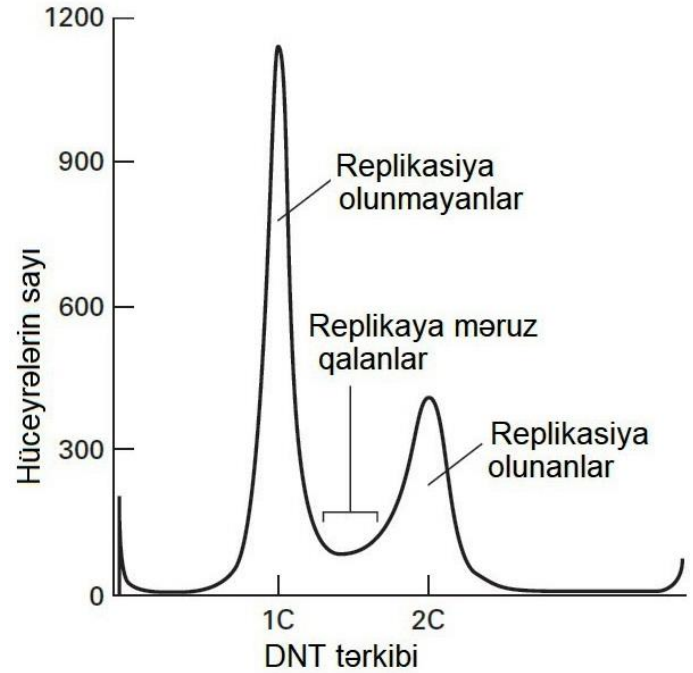
Tədqiqatçılar Hüceyrə Tsiklini Öyrənmək üçün Çoxsaylı Vasitələrdən İstifadə Edirlər

Hüceyrə tsiklinin xassələrinin eksperimental analizi tələb edir ki, biz hüceyrə tsikli mərhələlərini fərdi hüceyrələrdə təyin edə bilək. Işıq mikroskopiyası hüceyrə tsiklinin gedişi barədə bəzi hesablamalara imkan verir. Məsələn, işıq mikroskopu tədqiqatçılara kultura olunan məməli hüceyrəsinin interfazada (G_1 , S və G_2 fazalarda) və ya mitozda olmasının təyin edilməsinə imkan verir. Məməlilərin toxuma kulturası hüceyrələri interfaza zamanı yastı və bitdikləri səthə yapışqan olurlar, amma mitozda daxil olarkən onlar yumurulanıb kürə formasını alırlar (Şəkil 19-7). Hüceyrələrin quruluşunun fluoressent mikroskopiyası və ya yalnız müəyyən hüceyrə tsikli mərhələlərində mövcud olan zülallardan ibarət xüsusi hüceyrə tsikli markerlərinin analizi hüceyrə tsikli mərhələlərini daha dəqiq təyin etməyə imkan verir.

Mikroskopik vasitələrdən başqa, hüceyrə tsiklinin tədqiqatçıları hüceyrə populyasiyasının DNT tərkibinin təyin edilməsində axan sitometriyadan istifadə edirlər (Şəkil 19-8; həmçinin bax Şəkil 4-2). Hüceyrələr DNT-birləşdirən fluoressent boya ilə işlənir və hüceyrənin DNT tərkibinə birləşmiş boyanın miqdarı axan sitometriyadan istifadə etməklə təyin edilir. Sonra hüceyrələr onların DNT tərkibinə görə yazılır və hüceyrələrin G_1 , S və G_2 fazalardakı və ya mitozdakı faiz tərkibinə görə bu metodla hesablanır. G_1 -də hüceyrələr G_2 -dəki və ya mitozdakı hüceyrələrin yarısı qədər DNT-yə malik olurlar. S fazasında DNT sintezinə başlayan hüceyrələr DNT-nin aralıq miqdarına malik olurlar.

Müxtəlif hüceyrə tsikli hadisələrini xarakterizə etmək üçün hüceyrə tsiklini birlikdə keçən hüceyrə populyasiyalarını yoxlamaq çox zəruridir. Tədqiqatçılar belə populyasiyanı hüceyrələri xüsusi bir hüceyrə tsikli dövründə *geriyə dönəbilən arest etməklə* yarada bilirlər. Bu hüceyrə tsikli aresti adətən qida maddələrinin məhdudlaşdırılması ilə və ya G_1 -də hüceyrələrin arest olunmasına səbəb olan böyüməyə-qarşı faktorları əlavə etməklə həyata keçirirlər. Məsələn, tumurcuqlayan mayada, cütləşmə feromonu ilə təsir edilmiş hüceyrələr G_1 -də arest olunurlar (bax Şəkil 16-23 və 16-24). Feromon hüceyrələrdən uzaqlaşdırıldıqdan sonra (adətən onları çox yumaqla) hüceyrələr G_1 -dən çıxırlar və sinxron üsulda hüceyrə tsiklinə girirlər. Məməlilərin hüceyrələrində zərdabın kultura mühitində uzaqlaşdırılması (zərdab açlığı) ilə boy faktorunun uzaqlaşdırılması hüceyrələri G_0 -da arest edir. Zərdabın yenidən əlavə edilməsi hüceyrənin yenidən tsiklə daxil olmasına imkan verir. Başqa metodlar müəyyən hüceyrə tsikli mərhələlərinin kimyəvi maddələrlə blok olunmasına imkan verir. Hidroksiurea DNT replikasiyasını ingibirləşdirir və S fazada arest olunmasına səbəb olur. Dərmanın təsirinin aradan çıxarılması ilə, hüceyrələr yunison DNT sintezini davam etdirirlər. Nokodazol mitoz şpindelini qırır və hüceyrə tsiklini mitozda saxlayır. Dərman yuyularaq uzaqlaşdırıldıqda hüceyrə tsikli sinxronlaşmış vəziyyətdə davam edəcək. Tumurcuqlayan və bölünən mayalarda, əvvəldə təsvir edilmiş şərti cdc mutantlar sinxron kulturenin alınması üçün çox güclü vasitə kimi tanınmışdır. Temperatura-həssas cdc nutantları yolverilməyən temperaturda inkubasiya etdikdə onlar müəyyən hüceyrə tsikli zülallarının qüsurlu olmasına görə xüsusi hüceyrə tsikli mərhələsində arest olunurlar. Hüceyrələrin yelverilən

temperaturaya qaytarılması onlara hüceyrə tsiklini sinxronlaşmış formada başlamağa imkan verir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 19-8 DNT tərkibinin axan sitometriya ilə analizi. Haploid maya hüceyrələri kultura da yetişdirilmiş və DNT ilə birləşən fluoressent boya propidium yodla rənglənmişdir. x oxunda DNT-nin miqdarı, y oxunda isə hüceyrələrin sayı göstərilir. DNT miqdarının analizi hüceyrələrin iki əsas populyasiyasını göstərir: replikasiya olunmayan DNT-li (1C) və replikasiya olunan DNT-li (2C) hüceyrələr. İki pik arasındakı hüceyrələr DNT replikasiyasına qoşulmuş hüceyrələri təmsil edirlər.

19.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Model Orqanizmlər və Hüceyrə Tsiklinin Öyrənilməsi Metodları

- Mutantların ayrılma bilməsi imkanları və tumurcuqlayan və bölünən mayalardan ibarət çox güclü genetik vasitələr hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsi üçün əhəmiyyətli olan əsas genetik faktorların ayrılmasına imkan verdi.
- Hüceyrə tsikli hadisələrinin biokimyəvi tədqiqatları üçün ekstraktların əhəmiyyətli mənbəni təmin edən qurbağa yumurtaları və sinxronlaşmış mayalanan yumurtalardan alınmış ilkin rüseyim, tsiklin-CDK kompleksinin tərəddüdü (osillatory) təbiətini aşkar etməyə imkan verdi.
- Meyvə milçəkləri hüceyrə bölünməsi ilə çox hüceyrəli orqanizmlərin qurulmasına cavab verən iunkışaf proqramı arasındakı qarşılıqlı əlaqəni tədqiq etmək üçün güclü sistemdir.
- İnsanın toxuma kulturası hüceyrələri məməlilərin hüceyrə tsikli xassələrinin öyrənilməsində istifadə olunurlar.

- Hüceyrələrin xüsusi bir hüceyrə tsikli mərhələsində geriye dönəbilən arrest olunması yolu ilə sinxronlaşmış hüceyrə populyasiyalarının yaradılması tədqiqatçılara hüceyrə tsikli zamanı zülalların və hüceyrə proseslərinin davranışını öyrənməyə imkan verir.

19.3 CDK Fəallığının Tənzimlənməsi

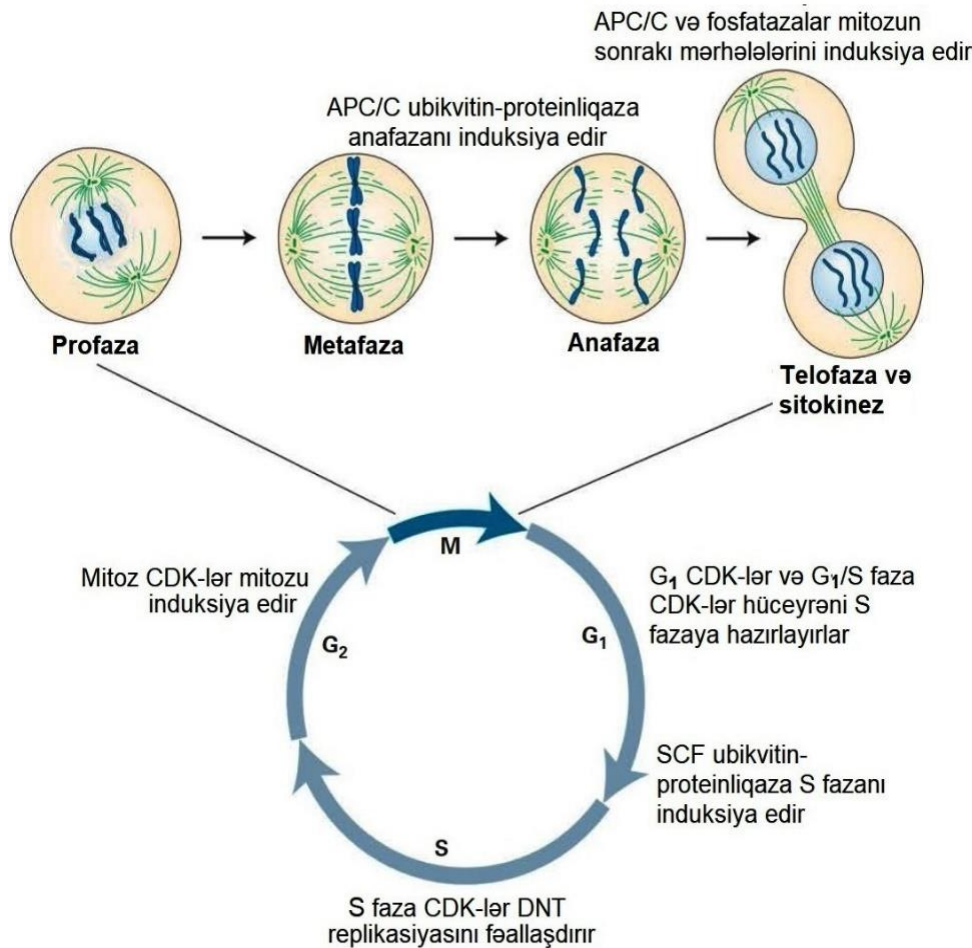
Növbəti bölmədə, biz eukariotik hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsinin Şəkil 19-9-da ümumiləşdirilmiş müasir modelini müzakirə edirik. Hüceyrə tsiklinin tədqiqatlarında əsas kəşf tsiklindən-qısıllı olan kinazaların hüceyrə tsikli gedişini idarə etməsi olmuşdur. Bu kinazaların üç əsas xüsusiyyətini bütün fəsil boyu yadda saxlamaq vacibdir:

- Tsiklindən-asıllı olan kinazalar (CDK-lər) yalnız tənzimləyici tsiklin subvahidi ilə birləşəndə fəal olurlar.
- Tsiklin-CDK komplekslərin müxtəlif tipləri müxtəlif hadisələri inisiyasiya edir. G_1 CDK-lər və G_1/S faza CDK-lər

hüceyrə tsiklinə girməyi təşviq edir, S faza CDK-lər və mitoz CDK-lər mitozda hadisələri inisiyasiya edirlər (Şəkil 19-10).

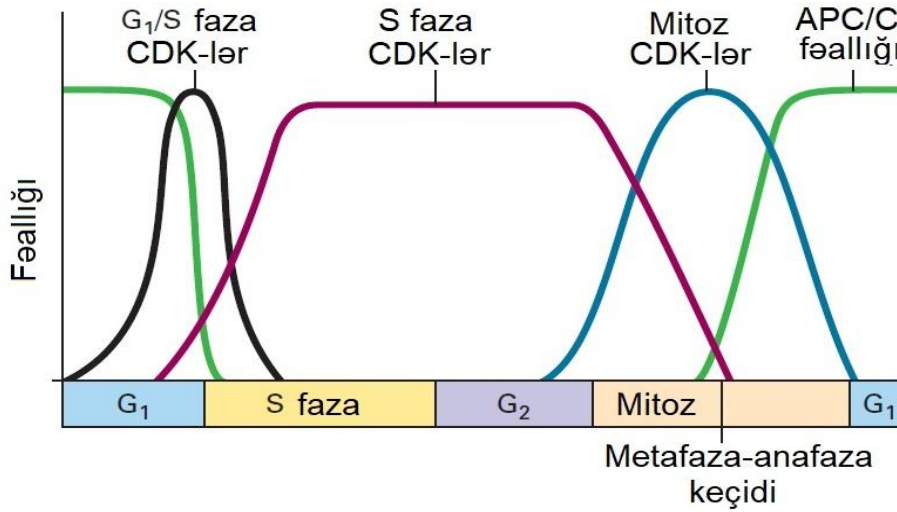
- Müxtəlif CDK-lərin onların yalnız hüceyrə tsiklinin işə saldıqları mərhələsində fəal olmalarını təmin edən çoxsaylı mexanizmlər vardır.

Bu bölmədə biz əvvəlcə CDK-lərin xassələrini müzakirə edirik və onların fəallaşmasının və ya tənzimlənməsinin quruluş əsaslarını tədqiq edirik. Sonra biz tsiklinin CK-ləri necə fəallaşdırdığını təsvir edirik və müxtəlif tsiklinləri müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsində məhdudlaşdırən çoxsaylı mexanizmləri tədqiq edirik. Biz görəəcəyik ki, zülal parçalanması bu prosesin əhmiyyətli bir hissəsini təşkil edir. Bundan başqa, biz CDK-lərin və tsiklin-CDK komplekslərə birbaşa birləşən inhibitor zülalların post-translyasiya modifikasiyalarının müxtəlif CDK fəaliyyətlərini müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsində məhdudlaşdırmaqla mühüm əlavə nəzarət mexanizmi kimi necə iştirak etdiyini görəəcəyik.



ŞƏKİL 19-9 Hüceyrə tsiklinin

tənzimlənməsi. Hüceyrə tsiklinin keçidləri tsiklin-CDK proteinkinazalarla, proteinfosfatazalarla və ubikvitin-proteinliqazalarla tənzimlənilir. Burada hüceyrə tsiklinin yuxarıda mitozun əsas mərhələləri ilə birlikdə diaqramı verilmişdir. Erkən G_1 -də, tsiklin-CDK fəal deyil. G_1 -in ortasında G_1/S faza CDK-lər DNT replikasiyası üçün tələb olunan genlərin transkripsiyasını fəallaşdırır. S faza, S faza CDK-lərin inhibitorlarını proteosomlarda parçalanmaq üçün ubikvitinləşdirən SCF ubikvitin-proteinliqaza vasitəsi ilə inisiyasiya olunur. S faza CDK-lər sonra DNT replikasiyasını fəallaşdırır və DNT sintezi başlayır. DNT replikasiyası tamamlandıqdan sonra hüceyrələr G_2 -ə daxil olurlar. G_2 -nin sonunda mitoz CDK-ləri mitozda daxil olmağı işə salır. Profazada, nüvə qabığı dağılır və xromosomlar mitoz şpindelində düzlənilir, amma onlar anafaza-təşviq edən kompleks (APC/C), ubikvitin-proteinliqaza anafaza inhibitoru zülalı sekurini ubikvitinləşdirinə və onu proteosomlarda parçalanmaq üçün hazır edənə qədər seqreasiya edə bilmirlər. Bu bacı xromatidləri bir yerə bağlayan zülal komplekslərinin parçalanması ilə və bacı xromatidlər ayrılan kimi anofazanın başlanması ilə nəticələnir. APC/C mitoz tsiklinlərini də ubikvitinləşdirərək onların proteosomlarda parçalanmasına səbəb olur. Nəticədə mitoz proteinfosfatazının təsiri ilə yanaşı CDK fəallığının azalması xromosomların dekondensasiyasına, qız hüceyrələrinin nüvəsi ətrafında nüvə membranının yenidən toplanmasına və sitokinezin baş verməsinə səbəb olur.



ŞƏKİL 19-10 CDK-lərin hüceyrə tsikli inkişafını necə tənzimləməsinə dair ümumi baxış. Hüceyrələr, hüceyrə tsiklindeki fərqli hadisələri inisiyasiya edən müxtəlif CDK növlərini saxlayırlar. CDK-lərin yalnız başlanğıc verdikləri hüceyrə tsiklinin mərhələlərində fəal olmaları vacibdir. G₁/S faza CDK-ləri, hüceyrə tsiklinə girişin başlanması üçün G₁-S fazının gedişində fəal olur. S faza CDK-lər S faza müddətində fəal olur və S fazanı inisiyasiya edirlər. Mitoz CDK-lər mitoz zamanı fəal olurlar və mitozu başlayırlar. Anafaza-təşviq edən kompleks və ya tsiklosom (APC/C) ubikvitin-proteinliqaza ubikvitinləşdirici zülallarla iki əsas hüceyrə tsikli keçidini kataliz edir və onları parçalanmaya hədəf edir. APC/C anafazanı və mitozdan çıxışı inisiyasiya edir.

Tsiklindən-Asılı Olan Kinazalar Kiçik Proteinkinazalardır və Fəaliyyəti üçün Tənzimləyici Tsiklin Subvahidini Tələb Edirlər

Tsiklindən-asılı olan kinazalar kiçik (30-40 kDa) serin/treonin kinazalar ailəsidir. Onlar monomer formada fəal deyillər, proteinkinazalar kimi fəal olmaq üçün fəallaşdırıcı subvahidin olmasını tələb edirlər. Tumurcuqlayan və bölünən mayalarda tək bir CDK bütün hüceyrə tsiklinin gedişinə nəzarət edir. Onun fəaliyyəti hüceyrə-tsiklin-mərhələsi-spesifik tsiklin subvahidinin birləşmələri ilə müəyyən edilir. Məməlilərin hüceyrəsi doqquza qədər çox sayda CDK-lərə malikdir, aydın şəkildə göstərilmişdir ki, onlardan dördü CDK1, CDK2, CDK4 və CDK6 hüceyrə tsiklinin gedişini tənzimləyir. Bunlar müxtəlif tipli tsiklinlərə birləşir və bu tsiklinlərlə birlikdə müxtəlif hüceyrə tsikli keçidlərini həyata keçirirlər. CDK4 və CDK6 G₁ CDK-lərdir və hüceyrə tsiklinə girişi həyata keçirirlər, CDK2 G₁/S faza və S faza CDK-lər kimi fəaliyyət göstərir və CDK1 mitoz CDK-dir. Tarixi səbəbdən mayada və onurğalılarda müxtəlif tsiklindən-asılı kinazaların adları fərqlənir. Mümkün olduqda, biz CDK-ləri təsvir etmək üçün növ-spesifik terminologiyadan istifadə etmək əvəzinə ümumi terminlərdən – G₁, G₁/S faza, S faza və mitotik CDK terminlərindən istifadə edəcəyik. Cədvəl 19-1-də müxtəlif CDK-lərin fərqli adları verilmişdir və onların hüceyrə tsiklinə nə zaman fəal olduqları göstərilir.

CDK-lər yalnız tsiklinlə birləşməklə deyil, həmçinin fəallaşdırıcı və ingibirləşdirici fosforlaşma ilə də tənzimlənirlər. Bu tənzimləyici hadisələr birlikdə CDK-lərin yalnız müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsində fəal olmalarını təmin edirlər. CDK-lərin üç-ölşülü quruluşu bu proteinkinazaların fəallığının necə tənzimlənməsi barədə baxışları təmin edir. Fosforlaşmamış qeyri fəal CDK, *T ilgəyi* və ya *fəallaşma ilgəyi* adlanan dəyişkən rayona malikdir, bu da proteinkinazalar arasında yüksək konservativliyə malikdir və Fəsil 16-da geniş müzakirə edilmişdir. Bu ilgək zülal substratların ATP birləşdirən fəal

sayta girişini (çatmasını) blok edir (Şəkil 19-11a), bu da tsiklinlə birləşməmiş sərbəst CDK-nin nəyə görə çox az proteinkinaza fəallığına malik olduğunu izah edir. Öz tsiklin tərəfdaşlarından birinə birləşən fosforlaşmamış CDK ən az (minimal), amma aşkar oluna bilən in vitro proteinkinaza fəallığına malik olur, hərçəndki bu, in vivo qeyri fəal ola bilər. Tsiklinlə T ilgək arasındakı geniş qarşılıqlı əlaqə T ilgəyin mövqeyində dramatik şəkildə sürüşməyə səbəb olur, bununla da CDK fəal mərkəzini açıq vəziyyətə gətirir (Şəkil 10-11b). Bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, tsiklin-CDK kompleksin yüksək fəallığı T ilgəkdə fəallaşdırıcı treoninin fosforlaşmasını tələb edir və tsiklin-CDK kompleksində onun zülal substratlara affiniyini güclü şəkildə artıran əlavə konformasiya dəyişikliyinə yaranmasına səbəb olur (Şəkil 19-11c). Nəticədə, fosforlaşmış kompleksin kinaza fəallığı fosforlaşmamış kompleksin fəallığına nisbətən yüz dəfə yüksək olur.

Tsiklinlər CDK-lərin Fəaliyyətini Müəyyən Edirlər

Tsiklinlər ona görə belə adlandırılmışdır ki, onların qatılığı hüceyrə tsikli zamanı dəyişilir. Onlar, üç əsas xüsusiyyəti ilə müəyyən olunan zülallar ailəsinə əmələ gəirlər:

- Tsiklinlər CDK-lərə birləşərək onları fəallaşdırırlar. İstənilən verilmiş CDK-in fəallığı və substrat spesifikliyi onun birləşdiyi xüsusi bir tsiklinlə müəyyən olunur.
- Tsiklinlər yalnız başlanmasına təkən verdikləri hüceyrə tsikli mərhələsində mövcud olurlar, başqa hüceyrə tsikli mərhələsində mövcud olmur.
- Tsiklinlər yalnız xüsusi bir hüceyrə tsikli mərhələsini tənzimləmir, onlar həmçinin növbəti hüceyrə tsikli mərhələsi üçün bir sıra hazırlıq tədbirlərini həyata keçirirlər. Beləliklə onlar hüceyrə tsiklini irəliyə aparırlar.

CƏDVƏL 19-1 Tsiklinlər və CDKlər: Nomenklaturası, Məməlilərin Hüceyrə Tsiklinə Rolu

CDK	Tsiklin	FGunksiyası	Əsas Adı
CDK1	Tsiklin A, Tsiklin B	Mitoz	Mitoz CDK-ləri
CDK2	Tsiklin E, Tsiklin B	Hüceyrə tsiklinin S fazasına keçid	G ₁ /S faza CDK-ləri S faza CDK-ləri
CDK4	Tsiklin D	G ₁ Hüceyrə tsiklinə keçid	G ₁ CDK-lər
CDK6	Tsiklin D	G ₁ Hüceyrə tsiklinə keçid	G ₁ CDKlər

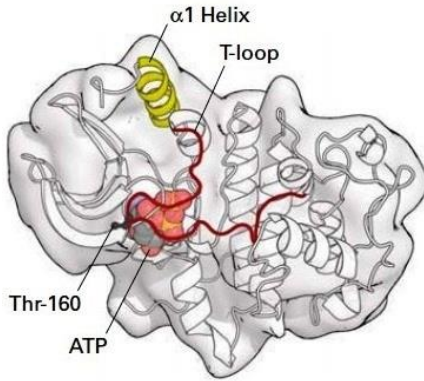
Tsiklinlər, hüceyrə tsiklinin spesifik fazalarındakı mövcud olmalarına və fəaliyyətinə görə dörd sinifə bölünürlər: G₁ tsiklinlər, G₁/S tsiklinlər, S faza tsiklinləri və mitoz tsiklinləri (bax Cədvəl 19-1). Müxtəlif tipli tsiklinlər zülaldakı ardıcılığına görə bir-birindən kifayət qədər fərqli olurlar, amma onların hamısı tsiklin boks kimi məlum olan konservativ 100-amin-turşu ardıcılığı rayonuna malikdirlər və oxşar üç ölçülü quruluşda olurlar.

G₁ tsiklinlər hüceyrə tsiklini hüceyrəxarici hadisələrə koordinasiya edən çüydür (**linchpin**). Onların fəallığı, boy faktorlarının və ya hüceyrə proliferasiyasının inhibitoru siqnallarının mövcud olmasını hiss edən siqnal ötürülməsi yolları ilə tənzimlənir. Metazoanlarda, G₁ tsiklin tsiklin D-lər kimi tanınır və onlar CDK4 və CDK6 ilə birləşirlər. G₁ tsiklinlər ona görə qeyri adidirlər ki, onların səviyyəsi güclü dəyişilmə (fluktasiya) göstərmir, halbuki başqa tsiklinlərininki göstərir. Əvəzində, makromolekul biosintezinə və hüceyrəxarici

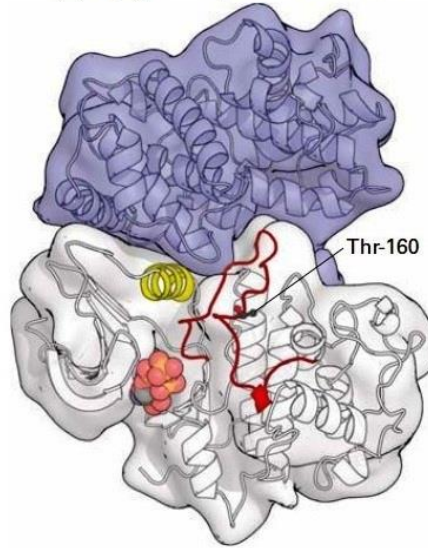
siqnallara cavab olaraq onların səviyyəsi bütün hüceyrə tsikli boyu tədricən artır.

G₁/S tsiklinləri gecikən G₁ zamanı toplanır, hüceyrələr S fazaya daxil olduqda pik səviyyəsinə çatır və S mərhələsi zamanı azalır (bax Şəkil 19-10). Onlar metazoanlarda tsiklin E kimi tanınır və CDK2-yə birləşirlər. Tsiklin-CDK2 kompleksinin əsas funksiyası tsiklin D-CDK4/6 kompleksi ilə birlikdə G₁-S faza keçidinə təkan verməkdir. Mayada START kimi və məməlilərin hüceyrələrində restriksiya nöqtəsi kimi məlum olan bu keçid hüceyrələrin geriye dönməz şəkildə hüceyrə bölünməsinə daxil olduğu və artıq geriye, G₁ dönə bilmədiyi nöqtə kimi təyin edilir. Bu molekulyar baxımdan göstərir ki, hüceyrələr DNT replikasiyasını və eləcə də öz xromosomlarının duplikasiyasını inisiyasiya edir, bu da mitoz zamanı istifadə olunacaq mioz şpindelinin yaranmasında ilk pillədir.

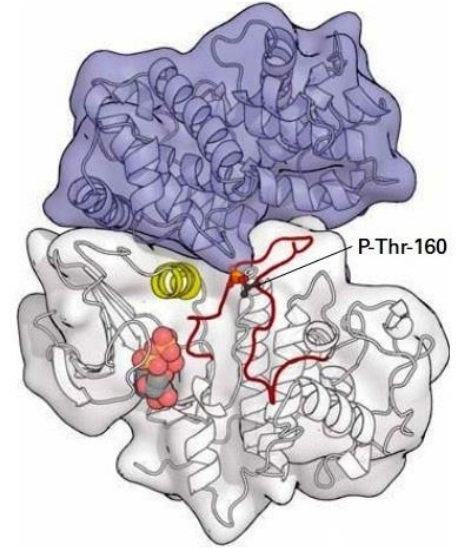
(a) Sərbəst CDK2



(b) Aşağı fəallıqlı tsiklin A-CDK2



(c) Yüksək fəallıqlı A-CDK2



ŞƏKİL 19-11 İnsanda CDK2-nin quruluş modeli. (a) Tsiklin subvahidi, tsiklin A ilə birləşməmiş qeyri fəal sərbəst CDK2. Sərbəst CDK2-də, T ilgək zülal substratların şar-və-çöp modeli kimi göstərilən birləşmiş ATP-dəki γ fosfora girişinə mane olur. T ilgək və sarı rənglə işıqlandırılmış rayonun (α 1 spiral) konformasiyası CDK tsiklin A ilə birləşəndə dəyişir. (b) Fosforlaşmamış aşağı-fəallıqlı tsiklin A-CDK2 kompleksi. Tsiklin A domeninin (mavi) birləşməsi ilə induksiya olunan konformasiya dəyişikliyi T ilgəyin CDK2-nin fəal mərkəzindən uzağa dartılmasına səbəb olur, beləliklə substrat zülal birləşə bilir. CDK2-in tsiklin A ilə intensiv əlaqə yaradan α 1 spiralı

katalitik yarıq daxilinə tərəf bir neçə anqstrom hərəkət edir, əsas katalitik yan zəncirlərin yerinin dəyişməsi fosfotransfer reaksiyası üçün tələb olunur. Qara şar, fosforlaşanda CDK-ləri fəallaşdıran treoninin (Thr-160) mövqeyini işarələyir. (c) Fosforlanmış, yüksək-fəallıqlı tsiklin A-CDK2 kompleksi. Fəallaşdırıcı treonin (qırmızı şar) qalığının fosforlaşması ilə induksiya olunan konformasiya dəyişikliyi substrat-birləşdirən səthin formasını dəyişir və zülal substratlara olan affinliyi güclü şəkildə artırır. Bax P.D. Jeffrey et al., 1995, *Nature* 1995, **376**:313-20. [Verilənlər A. A. Russo et al., 1996, *Nature Struc. Biol.* **3**:696, PDB ID 1jst-dən.]

S faza tsiklinlər G_1 tsiklinlərlə əlaqəli şəkildə sintez olunurlar, amma onların səviyyəsi bütün S faza boyu yüksək qalır və erkən mitoz qədər azalmır. Metazoanlarda iki tip S faza tsiklini S fazanın gəlməsinə təkan verir: birinci tsiklin E, hüceyrənin hüceyrə tsiklinə girməsinə təşviq edir və ona görə də G_1/S tsiklinidir, ikinci tsiklin A-dır. Hər iki tsiklin CDK2 ilə birləşir (bax Cədvəl 19-1) və DNT-nin sintezi üçün birbaşa cavabdehdir. Bizim 19.4 bölməsində görəcəyimiz kimi, bu proteinkinazalar DNT helikazaları fəallaşdırır və polimerazaları DNT üzərinə yükləyən zülalları fosforlaşdırır.

Mitoz tsiklinləri mitoz daxil olmaya və mitozun gedişinə kömək etmək üçün CDK1-ə birləşir. Metazoan mitoz tsiklinləri tsiklin A və tsiklin B-dirlər (geyd edək ki, tsiklin A CDK2 ilə birləşəndə S fazanın da işə salınmasına kömək edir). Mitoz tsiklin-CDK kompleksi S faza və G_2 dövründə sintez olunur, amma bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, onların fəallıqları DNT sintezi tamamlanana qədər saxlılır. Biz 19.5 bölməsində görəcəyik ki, fəallaşmış mitoz CDK-lər xromosom kondensasiyasını, nüvə qabığının dağılmasını, mitoz şpindelinin formalaşmasını və mitozun başqa aspektlərini həyata keçirən yüzlərlə zülalları fosforlaşdıraraq və fəallaşdıraraq mitoz daxil olmaya kömək edirlər. Anafaza zamanı onların inaktivasiyası hüceyrənin mitozdan çıxmasına səbəb olur ki, buraya mitoz şpindelinin dağılması, xromosomların dekonvensiyası, nüvə qabığının yenidən formalaşması və sonda sitokinez daxildir.

Mitoz tsiklinləri ilk aşkar edilən tsiklinlərdirlər və hüceyrə tsiklinin gedişini tənzimləyən, fəaliyyətlərinin dəyişkən təbiətinin (oscillatory nature) aşkar edilməsinə gətirib çıxaran məhz onların xarakteristikası olmuşdur (bax Klassik Eksperimentlər 19.1 və 19.2). Sonrakı tədqiqatlar göstərdi ki, G_1/S faza tsiklinləri oxşar xassəyə malikdirlər. Onların ekspresiyası hüceyrə tsiklinə girişi irəli aparmaq üçün

kifayətdir, buna görə də, hüceyrə tsiklinə giriş üçün lazım olan bütün başqa zülallar sonsuz dərəcədə çox olurlar. Beləliklə aydındır ki, tsiklinin səviyyəsinin tənzimlənməsi eukariotik hüceyrə tsiklinin vacib aspektlərindəndir. Növbəti bölmədə bizim görəcəyimiz kimi, hüceyrələr tsiklinləri müəyyən hüceyrə tsikli mərhələsində məhdudlaşdırmaq və onları düzgün qatılıqda saxlamaq üçün çoxsaylı mexanizmlərdən istifadə edirlər

Tsiklinin səviyyəsi Əsasən Zülal Parçalanması ilə Tənzimlənir

Çoxsaylı mexanizmlər CDK-lərin hüceyrə tsiklinin düzgün mərhələsində fəal olmasını təmin edir. Cədvəl 19-2-də CDK-lərin əsas tənzimləyiciləri verilmişdir. CDK-lərin zamana görə fəallaşması müəyyən qədər müvafiq tsiklinlərin onların lazım olduğu hüceyrə tsikli mərhələsində mövcud olmasından asılıdır. Bu bölmədə biz, tsiklin səviyyəsinin tənzimlənməsinin necə baş verdiyini müzakirə etdik. Tsiklin subvahidlərinin transkripsiya səviyyəsinə nəzarət olunması tsiklinin zaman görə düzgün ekspresiyasını təmin edən bir mexanizmdir. Somatik hüceyrələrdə və mayada transkripsiya faktoru fəallığının dalğaları tsiklin fəallığının dalğalarını müəyyən etməyə kömək edir. Burada əsas prinsip odur ki, transkripsiya fəallığının erkən (ilkin) dalğası sonrakı transkripsiya dalğalarının yaranması üçün tələb olunan faktorların yaradılmasına kömək edir. Bizim 19.4 bölməsində görəcəyimiz kimi, G_1/S faza tsiklinin transkripsiyası E2R transkripsiya faktoru kompleksi ilə təşviq olunur. Transkripsiyası E2F ilə təşviq olunan çoxsaylı başqa genlər arasında mitoz tsiklinini sintezini gücləndirən transkripsiya faktorlarını kodlaşdıran genlər də vardır.

ÇƏDVƏL 19-2 Tsiklin-CDK fəallığının Tənzimləyiciləri

Tənzimləyicinin Tipi	Fəaliyyəti
Kinazalar və fosfatazalar	
CAK kinaza	CDK-ləri fəallaşdırır
Wee1 kinaza	CDK-ləri ingibirləşdirir
Cdc25 fosfataza	CDK-ləri fəallaşdırır
Cdc14 fosfataza	Mitoz tsiklinləri dağıtmaq üçün Cdh1-i fəallaşdırır
Cdc25A fosfataza	Onurğalının S faza CDK-lərin fəallaşdırır
Cdc25C fosfataza	Onurğalının mitoz CDK-lərin fəallaşdırır
İngibirləşdirici zülallar	
Sic1	S faza CDK-lərə birləşərək onları ingibirləşdirir
p27 ^{KIP1} , p57 ^{KIP2} və p21 ^{CIP}	CKI-lar CDK-lərə birləşərək onları ingibirləşdirir
INK4	G_1 CDK-lərə birləşərək onları ingibirləşdirir
Rb	E2F-lərə birləşir, çoxsaylı hüceyrə tsikli genlərinin transkripsiyasına mane olur
Ubikvitin-zülal liqazalar	
SCF	S faza CDK-ləri fəallaşdırmaq üçün fosforlaşmış Sic1 və ya p27 ^{KIP1} -in parçalanması
APC/C ^{Cdc20}	Sekurinin parçalanması, anafazanın ingibirləşməsi. B tip tsiklinlərin parçalanmasını induksiya edir
APC/C ^{Cdh1}	G_1 -də B tip tsiklinlərin və geminin-in parçalanması metazoanlarda replikativ helikazaların DNT replikasiya origin-lərinə yüklənməsinə imkan verir

Tsiklinləri müvafiq hüceyrə tsikli səviyyəsində məhdudlaşdırən ən əhəmiyyətli tənzimləyici nəzarət ubikvitinləvasitələnən proteosomdan-asılı olan zülal parçalanmasıdır. Zülal parçalanması geriye dönməyən proses olduğundan, o mənada ki, zülalların yeri yalnız de nova zülal sintezi yolu ilə doldurulmalıdır, bu tənzimləyici mexanizm, hüceyrə tsikli motorunun yalnız irəliyə istiqamətə sürülməsinin və bu hüceyrələrin hüceyrə tsiklində “geriyə qayıda bilməməsinin” əmin edilməsi üçün idealdır. Başqa sözlə, xüsusi bir tsiklin parçalananda onun fəallaşdırdığı proses artıq baş verə bilmir.

Xatırladaq ki, ubikvitinləvasitələnən zülal parçalanması zamanı ubikvitin-proteinliqazalar substrat zülallarını ubikvitinləşdirir, onları proteosomlar vasitəsi ilə parçalamaq üçün işarələyir (bax Şəkil 3-31). Tsiklinlər iki müxtəlif ubikvitin-proteinliqazaların, SCF (tərkib hissələrinin baş hərflərinə görə adlandırılır: Skp1, Cullin, və F-boks zülalı) və anafaza-təşviq edən və ya tsiklosom (bu fəsilə qısaltması APC/C) təsiri ilə parçalanır. SCF G1/S faza tsiklinlərini və tezliklə bizim ətraflı görəyimiz kimi CDK ingibitor zülallarını parçalamaqla G₁-S faza keçidinə nəzarət edir. APC/C S faza və mitoz tsiklinlərini parçalayır, bununla da mitozdan çıxışı sürətləndirir. APC/C anafaza ingibitoru zülalını parçalamaqla metafaza-anafaza keçidində xromosom seqreqasiyasının başlanmasına da nəzarət edir (19.6 bölməsində müzakirə edildiyi kimi).

SCF və APC/C çoxsubvahidli ubikvitin-proteinliqazalar olub ubikvitin-proteinliqazaların RING barmaq ailəsinə aiddirlər. SCF və APC/C-nin eyni ubikvitin-proteinliqaza ailəsinə aid olmasına baxmayaraq, onların tənzimlənməsi olduqca fərqlidir. SCF öz substratlarını onlar yalnız fosforlaşan halda tanıyır. O bütün hüceyrə tsikli boyu fasiləsiz şəkildə fəaldır və onun substratının hüceyrə tsikli ilə tənzimlənməsinə əmin edir ki, onlar hüceyrə tsiklinin yalnız müəyyən mərhələlərində parçalanırlar. APC/C-dən-asılı olan zülal parçalanmasında tənzimləmə geriye dönəndir: substratlar bütün hüceyrə tsikli boyu tanınmağa bilir, amma APC/C-nin fəallığı tənzimlənir. APC/C metafaza-anafaza keçidində mitoz CDK-lər və başqa proteinkinazalar vasitəsi ilə fosforlaşmaqla fəallaşır. Sonra APC/C, tsiklinlərin parçalanmasını və digər mitoz tənzimləyicilərinin parçalanmasını həyata keçirmək üçün mitozun qalan bütün dövründə və G₁ fazada fəal qalır (bax Şəkil 19-10). Fosforlaşmış, fəal APC/C-nin substrat spesifikliyi qismən onun Cdc20 və Cdh1 kimi adlandırılan iki əlaqəli substrat hədəfləmə faktorlarından biri ilə assosiasiya etməsi ilə təyin olunur. Anafaza müddətində, Cdc20 ilə birləşmiş APC/C xromosom seqreqasiyasını ingibirləşdirən zülalları ubikvitinləşdirir, telofaza və G₁ zamanı isə Cdh1 ilə birləşmiş APC/C parçalanmaq üçün müxtəlif substratları hədəf edir.

APC/C-nin substratları tanınma motivinə malikdirlər. İlk müəyyən olunan parçalanma boks olmuştur. O əksər S faza və mitoz tsiklinlərində tapılmışdır və zülalları parçalanmağa hədəf etmək üçün həm lazımdır həm də kifayətdir. Tsiklin parçalanmasının əhəmiyyəti də yenidən ilk dəfə mitoz tsiklinləri üçün nümayiş etdirilmişdir. Mitoz tsiklinlərində parçalanma boksunun silinməsi (delesiya) hüceyrələrin mitozdan çıxmasına mane oldu və göstərdi ki, mitozdan çıxış mitoz tsiklininin parçalanmasını tələb edir (bax Klassik eksperiment 19-2). Sonrakı tədqiqatlar göstərdi ki, başqa tsiklinlərin parçalanmasını ingibirləşdirmək də hüceyrə tsiklinin gedişinə ciddi təsir

göstərmişdir, bu göstərir ki, tsiklinlərin ubikvirinləşmə ilə parçalanması eukariotik hüceyrə tsiklinin vacib aspektlərindəndir.

CDK-lər Fəallaşdırıcı və İngibirləşdirici Fosforlaşma ilə Tənzimlənirlər

Tsiklinlərin səviyyəsinin tənzimlənməsi CDK fəallığına yeganə nəzarət mexanizmi deyildir. CDK subvahidlərində fəallaşdırıcı və ingibirləşdirici fosforlaşma hadisələri özləri də tsiklin-CDK fəallığı üçün vacibdir. Fermentin fəal mərkəzi yaxınlığında treonin qalığının fosforlaşması CDK fəaliyyəti üçün tələb olunur. Bu fosforlaşma CDK-fəallaşdırıcı kinaza (CAK) vasitəsi ilə baş verir. Bəzi orqanizmlərdə, tsiklinin birləşməsi, CAK fosforlaşması üçün ilkin şərttdir, başqa orqanizmlərdə bu hadisə tsiklinin birləşməsindən öncə baş verir. Hərçənd ki, fəal CDK-lərin toplanmasının ardıcılığı orqanizmlər arasında fərqlidir, amma aydındır ki, CDK-lərin CAK-la fosforlaşması CDK-in fəallaşmasında sürət-məhdudlaşdırıcı pillə deyildir. CAK fəallığı hüceyrə tsikli boyunca fasiləsizdir və tsiklin-CDK kompleksi yaradılan kimi CDK-i fosforlaşdırır.

CDK-də iki ingibirləşdirici fosforlaşma da CDK fəaliyyətinə nəzarətdə əhəmiyyətli rol oynayır. CAK-la-induksiya olunan fəallaşdırıcı fosforlaşmadan fərqli olaraq, bu ingibirləşdirici fosforlaşmalar tənzimlənirlər. Yüksək konservativ tirozin (insan CDK-lərində Y15) və ona yaxın yerləşən treonin (insan CDK-də T14) tənzimlənməsinə fosforlaşmaya məruz qalırlar. Hər iki qalıq CDK-in ATP-birləşdirən cibində yerləşir və onların fosforlaşması böyük ehtimalla ATP-nin cibdə yerləşməsinə (mövqeyinə) mane olur. Bu mərkəzlərin fosforlaşmasındakı dəyişikliklər mitoz CDK-lərin tənzimlənməsi üçün vacibdir və eləcə də G₁/S və S faza CDK-lərin nəzarət olunmasında iştirak edirlər. 19.5 bölməsində biz görəyimiz ki, Wee1 adlanan yüksək konservativ kinaza təxminən bu ingibirləşdirici fosforlaşmanı aparır və Cdc25 adlanan yüksək dərəcədə konservativ fosfataza defosforlaşmanı həyata keçirir.

CDK İngibitorlar Tsiklin-CDK Fəaliyyətinə Nəzarət Edirlər

Biz bu vaxta qədər, tsiklin səviyyəsinin tənzimlənməsinin və CDK fəaliyyətinə nəzarətdə CDK fosforlaşmasının əhəmiyyətini müzakirə edirdik. CDK-lərin tənzimlənməsində kritik əhəmiyyətli olan son nəzarət təbəqəsi CDK ingibitorları və ya CKI-lər kimi tanınan zülallar ailəsi birbaşa tsiklin-CDK kompleksinə birləşib onun fəallığını ingibirləşdirir. Biz 19.4 bölməsində görəyimiz ki, bu zülallar G1/S faza keçidinin tənzimlənməsində və onun hüceyrəxarici siqnalla inteqrasiyasında xüsusən əhəmiyyətli rol oynayır.

Bütün eukariotlar S fazanı və CDK-ləri tənzimləyən CKI-ləri saxlayırlar. Bu ingibitorlar kiçik ardıcılıq oxşarlığını göstərsələr də, onların hamısı S faza və M faza CDK-lərin yetişməzdən əvvəl fəallaşmasına mane olmaq üçün vacibdirlər. G₁ CDK-lərin ingibitorları proliferasiya ingibitoru signalına qarşı G₁-in arrest olunmasında əhəmiyyətli rol oynayırlar. *INK4*-lər (kinaza 4 ingibitoru) adlanan klassik CKI-lər sinifinə bir neçə kiçik, çox yaxınlığı olan, yalnız G₁ CDK-lərlə qarşılıqlı əlaqədə

olan zülallar daxildir. INK4-lərin CDK4 və CDK6 ilə birləşməsi onların tsiklin D ilə qarşılıqlı əlaqəsini və bu yolla onların proteinkinaza fəallığını blok edir. CKI-lərin metazoan hüceyrələrində tapılmış ikinci sinifi üç zülaldan – p21^{CIP}, p27^{KIP1} və p57^{KIP2} ibarətdir. Bu CKI-lər G₁/S faza CDK-ləri və S faza CDK-ləri ingibirləşdirir və DNT replikasiyasının başlamasından öncə parçalanmalıdır. 19.7 bölməsində bizim müzakirə edəcəyimiz kimi, p21^{CIP} metazoan hüceyrələrində DNT zədələnməsinə qarşı cavabda əhəmiyyətli rol oynayır. G₁ CDK-ləri tənzimləyən CKI-lər şiş əmələ gəlməsinin qarşısını almaqda kritik rol oynayır. Məsələn, p16-nı kodlaşdıran INK4 genin hər iki nüsxəsi insan xərçənglərində inaktivasiya olunmuş şəkildə böyük miqdarda tapılmışdır (bax Fəsil 24).

Genetik Mühəndisliklə Yaradılmış CDK-lər CDK Funksiyalarının Aşkar Olunmasına Səbəb Oldu

Müxtəlif CDK-lər spesifik zülalları fosforlaşdırmaqla müxtəlif hüceyrə tsikli fazalarını inisiasiya edirlər. İndi aydındır ki, kiçik sayda zülalları fosforlaşdırmaqdan, hansiki öz növbəsində müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsini inisiasiya edirlər, CDK-lər saysız-hesabsız substratları fosforlaşdırır, bununla da verilmiş hüceyrə tsikli fazasının bütün aspektlərini birbaşa inisiasiya edirlər. Kiçik miqdarda substratın analizi, mitoz CDK-lərin fosforlaşmasının mitozun erkən baş verən hadisələrindən çoxunu: xromosom kondensasiyası, mitoz şpindelinin əmələ gəlməsi və nüvə qabığının dağılmasını necə həyata keçirdiyini göstərən nümunələri təmin etdi. Biz bu hadisələri növbəti bölmələrdə ətraflı müzakirə edəcəyik.

Son illər, bütün CDK substratlarını təyin etmək üçün sistematrik cəhdlər başlanmışdır. Xüsusi bir kinazanın substratlarının identifikasiyasındakı bir çağırış o kinazaların fosforlaşma hadisələrini başqa kinazaların apardıqları fosforlaşma hadisələrindən fərqləndirməkdir. Hansı zülalların CDK-lərin hədəfləri olduğunun dərk edilməsindəki nailiyyətlər, başqa kinazalara birləşə bilməyən ATP analoqundan istifadə edə bilən CDK mutantların yaradılması ilə asanlaşdırıldı. Bu ATP analoqunun N₆ adeninə birləşmiş çox böyük benzil qrupu vardır, bu da analoqu təbii forma proteinkinazaların ATP-birləşdirən cibinə yerləşə bilməsi üçün çox böyük edir. Amma, mutant CDK-in ATP-birləşdirən cibi N₆-benzil ATP analoqu yerləşdirmək üçün modifikasiya olunmuşdur. Buna uyğun olaraq, yalnız mutant CDK bu analoq ATP-ni substrat kimi istifadə edib onun γ -fosfatını zülalın yan zəncirinə keçirə bilir. Nişanlanmış γ -fosfatlı N₆-benzil ATP analoq, tərkibində ATP-birləşdirən cibi dəyişdirilmiş rekombinant mitoz CDK olan hüceyrə ekstraktı ilə inkubasiya olunanda çox zülallar nişanlandılar. Mayada, bu proses məlum olan əksər CDK substratlarını və üstə gəl 150-dən artıq əlavə maya zülallarını nişanladı. Məməlilərin hüceyrələrində CDK substratları təyin etmək üçün buna oxşar yanaşmalardan istifadə olundu. Məsələn, S faza tsiklin A-CDK2 kompleksinin substratının axtarışı 180 potensial substratı aşkar etdi. Bu substratlar hal hazırda hüceyrə tsikli prosesindəki funksiyalarına görə analiz olunurlar.

19.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

CDK Fəaliyyətinin Tənzimlənməsi

- Tsiklindən-asılı olan kinazalar tsiklin subvahidləri ilə fəallaşır. Onların fəaliyyətləri bir neçə səviyyədə nəzarət olunur.
- Müxtəlif tsiklin subvahidləri CDK-ləri müxtəlif hüceyrə tsikli mərhələsində fəallaşdırır. Tsiklinlər yalnız onların fəallaşdırdıqları hüceyrə tsikli mərhələsində mövcud olurlar.
- Tsiklinləri müvafiq hüceyrə tsikli mərhələsində məhdudlaşdırılmaq üçün zülal parçalanması əsas mexanizmdir. Bu parçalanma ubikvitin-proteosom sistemi və ubikvitin proteinliqazalar APC/C və SCF vasitəsi ilə həyata keçir.
- CDK subvahidlərinin fəallaşdırıcı və ingibirləşdirici fosforlaşması CDK fəallığının tənzimlənməsinə kömək edir.
- CDK ingibitorlar (CKI-lər) birbaşa tsiklin CDK kompleksinə birləşməklə CDK fəallığını ingibirləşdirirlər.
- CDK-lər çoxsaylı müxtəlif hədəf zülalları fosforlaşdırmaqla hər bir hüceyrə tsikli mərhələsinin hər bir aspektlərini inisiasiya edir. Yalnız modifikasiya olunmuş ATP formasını birləşdirmək üçün hazırlanmış proteinkinazalardan istifadə etməklə aparılan sistematrik cəhdlər çoxsaylı belə substratların aşkar edilməsinə yardım etdi.

19.4 Hüceyrə Tsiklinə Bağlılıq və DNT Replikasiyası

Əvvəlki bölmə, fərqli tsiklin-CDK komplekslərinə nəzarət edən çoxsaylı mexanizmləri təsvir etdi. Bu və növbəti iki bölmədə biz hər bir hüceyrə tsikli mərhələsini diqqətlə tədqiq edirik və onun necə induksiya olunduğunu və nəzarət olunduğunu müzakirə edirik. Biz hüceyrələrin DNT replikasiyasını və mitozu necə inisiasiya etdiyini və xromosomların necə seqreqasiya edildiyini araşdırırıq. Biz diqqətimizi tsiklin-CDK komplekslərinin və digər əsas hüceyrə tənzimləyicilərinin hər bir hüceyrə tsikli fazasına necə təsir etməsinə yönəldirik və onların fəaliyyətlərini əlaqələndirən mexanizmləri araşdırırıq.

Bu bölmə hüceyrələrin hüceyrə bölünməsinə getməsinə və ya getməməsinə və DNT replikasiyasının inisiasiya olunmasına necə qərar verməsinə tədqiq edir. Hüceyrə tsiklinə giriş prosesi tumurcuqlayan mayalarda yaxşı anlaşılmışdır və hüceyrə tsiklinə keçidin əsasında duran molekulyar mexanizmlər ilk dəfə bu orqanizmdə izah edilmişdir. Ona görə də biz tumurcuqlayan mayada hüceyrə tsiklinə girişi idarə edən molekulyar hadisələri araşdırmağa başlayırıq. Daha sonra biz maya hüceyrəsində və metazoan hüceyrələrində hüceyrə tsiklinə girişin idarə olunması yolları arasındakı çox diqqəti çəkən oxşarlığı tədqiq edirik və biz bu qərarə iştirak edən bir çox genin tez-tez hallarda mutasiya edilmiş vəziyyətdə xərçəngdə tapıldığını müzakirə edirik. Ardınca biz hüceyrənin hüceyrə tsiklinə daxil olmasına hüceyrəxarici hadisələrin necə təsir etməsinə baxırıq və bu xarici siqnalların hüceyrə tsikli maşınına necə ötürüldüyü siqnal mexanizmlərini öyrənirik. Sonda biz DNT replikasiyasının inisiasiyasını idarə edən molekulyar mexanizmləri müzakirə edirik. Biz, nəyə görə S faza CKI-lərin parçalanmasının bu proses üçün əhəmiyyətli olduğunu görürük, CDK-lərin DNT replikasiyasının yalnız S fazada baş verdiyini və yalnız bir dəfə

baş verdiyini necə təmin etməsini aşkar edirik və görürük ki, DNT replikasiyası zamanı DNT ilə assosiasiyada olan zülallar mitoz zamanı dəqiq xromsoma sequeqasiyasının əsasında durur.

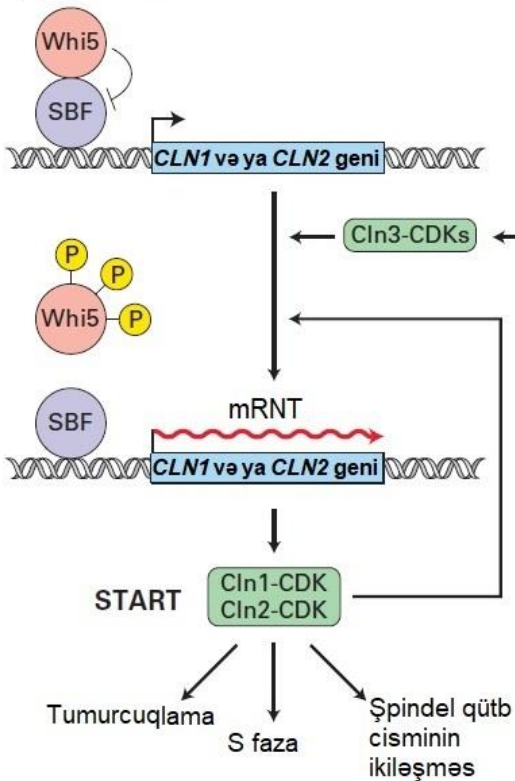
Hüceyrələr START və ya Replikasiya Nöqtəsi Adlanan Hüceyrə Tsikli Nöqtəsində Geridönməyən Şəklə Böldünməyə Gedirlər

Eukariot hüceyrələrin əksəriyyətində, hüceyrənin bölünməli olub olmamasını müəyyən edən əsas qərar onun S fazaya daxil olub olmamasıdır. Hüceyrə hüceyrə tsiklinə girmək üçün qərarlıdırsa o bunu tamamlamalıdır. *Saccharomyces cerevisiae* tumurcuqlayan maya öz proliferasiyasını bu üsulla tənzimləyir və hüceyrə tsiklinə daxil olmağa nəzarətin molekulyar mexanizmi barədə bizim müasir anlayışlarımızın çoxu *S. cerevisiae* ilə aparılan tədqiqatlardan alınmışdır.

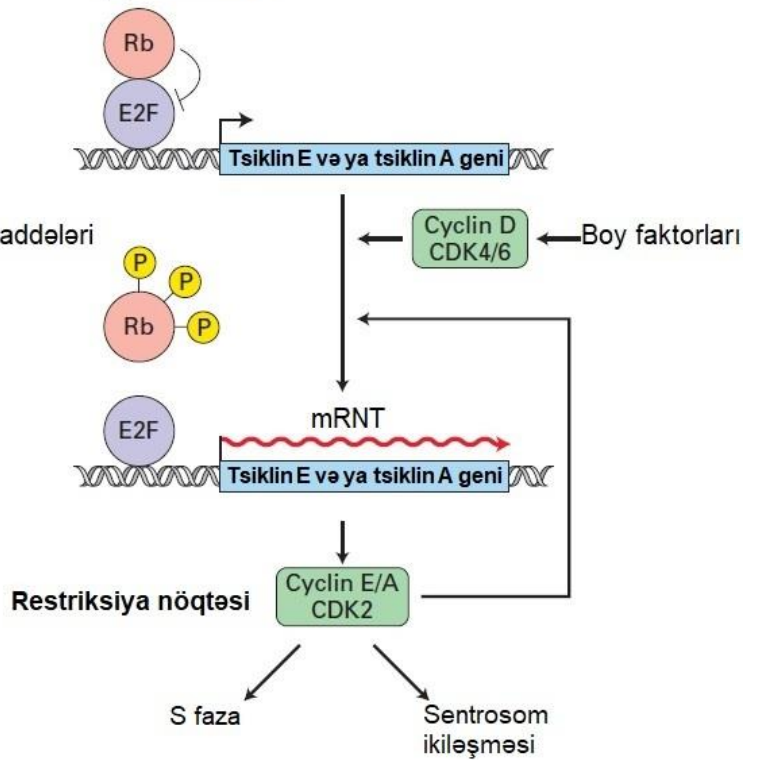
Xatırladaq ki, *S. cerevisiae* iki müxtəlif cütləşmə tipində α və α tiplərində mövcud olur (bax Şəkil 1-23). Bu iki haploid

hüceyrə tipi cütləşib a/a diploid hüceyrəni əmələ gətirirlər. Cütləmə ifraz olunan feromon vasitəsi ilə inisiyasiya olunur və sonda əks cütləşmə tipində olan iki hüceyrənin qovuşması ilə nəticələnir. Uğurlu cütləşmə üçün cütləşən hər iki tərəfin G_1 -də arrest olunması vacibdir. Beləliklə, cütləşmə üçün kritik əhəmiyyətli olan induksiya olunan genlərdən başqa, feromon hüceyrələrin G_1 -də arrest olunmasına səbəb olur. Əgər hüceyrələr G_1 -dəsə feromonun əlavə edilməsi hüceyrələri G_1 -də arrest vəsiyyətində saxlayacaq, amma hüceyrələr bölünmə qərarındadırsa o artıq feromonlarla yenidən G_1 -də arrest olunmaqdan öncə bütün hüceyrə tsiklini tamamlamalıdır. *S. cerevisiae* hüceyrələrinə geriye dönməyən şəkildə hüceyrə tsiklinə daxil olmaq və tam hüceyrə tsiklini keçmək qərarı verilsə G_1 dövrünün sonundakı nöqtə, hətta feromonlar mövcud olduqda belə, START adlanır. Restriksiya (məhdudiyat) nöqtəsi adlanan oxşar keçid nöqtəsi məməlilərin hüceyrələrində də mövcuddur və bu zaman hüceyrələr boy faktoru siqnallarına qarşı və proliferasiya inhibitoru siqnallarına qarşı itaətsiz olur.

(a) *S. cerevisiae*



(b) Metazoanlar



ŞƏKİL 19-12 G_1 -S faza keçidinə nəzarət. (a) Tumurcuqlayan mayada, Cln3-CDK fəallığı G_1 fazada yüksəlir və qida maddələrinin mövcudluğu ilə nəzarət olunur. Kinza kifayət qədər fəal olanda transkripsiya repressoru Whi5-i fosforlaşdırır, onun nüvədən eksportunu sürətləndirir. Bu, transkripsiya faktoru kompleksi SBF-in G_1/S faza tsiklin genləri *CLN1* və *CLN2*-nin, həmçinin, məhsulları DNT replikasiyası üçün lazım olan başqa genlərin transkripsiyasının induksiya edilməsinə səbəb olur. G_1 faza-CDK-lər daha sonra Whi5-i fosforlaşdırır və *CLN1* və *CLN2*-nin transkripsiyasının yüksəlməsinə səbəb olur. G_1 faza-CDK-ləri kifayət qədər yüksək səviyyədə istehsal olunanda, START keçilir. Hüceyrələr hüceyrə tsiklinə daxil olur: onlar DNT replikasiyasını, tumurcuq əmələ gəlməsini və şpindel qütb

cisminin ikiləşməsini inisiyasiya edir. (b) Onurğalılarda G_1 CDK fəallığı G_1 zamanı yüksəlir və boy faktorunun meydana gəlməsi ilə induksiya olunur. Boy faktorlarından siqnalın gəlməsi davam edəndə, nəticədə meydana gələn tsiklin D-CDK4/6 kompleksləri Rb-ni fosforlaşdırmağa başlayır, tsiklin E, CDK2 və E2F-in özünü kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır bəzi E2F-ləri buraxır. Tsiklin E-CDK komplekslər daha sonra Rb-ni fosforlaşdırır, nəticədə müsbət geriye əlaqəni əmələ gətirir və həm E2F həm də tsiklin E-CDK2-nin sürətli ekspresiyasına və fəallaşmasına səbəb olur. G_1/S faza-CDK-ləri kifayət qədər yüksək olanda, hüceyrələr restriksiya nöqtəsindən keçirlər. Onlar DNT replikasiyasına və sentrosomların ikiləşməsinə başlayırlar

CDK fəallığı S fazaya keçmək üçün vacibdir. Bu ilk dəfə tumurcuqlayan mayada həyata keçirildi, o, temperatura həssas CDK mutantlarda G₁-də arrest olunur, tumurcuq əmələ gəlməsi və DNT replikasiyası baş vermir (tumurcuqlayan mayada bütün hüceyrə tsikli keçidlərini həyata keçirən yalnız bir CDK olur və bu *CDK28* kimi məlumdur). Biz indi bilir ki, CDK kaskad hüceyrə tsiklinə girişi işə salır. G₁ tsiklin-CDK kompleksləri G₁/S faza tsiklin-CDK-lərin yaranmasını stimullaşdırır, o da sonra tumurcuq əmələ gəlməsini, sentromer ikiləşməsini və DNT replikasiyasını inisiyasiya edir. Mayada G₁ tsiklin geni *CLN3* adlanır (Şəkil 19-12a). Bütün hüceyrə tsikli boyu onun mRNT-si demək olar ki, konstant səviyyədə istehsal olunur, amma onun translyasiyası qidalanma səviyyəsinə cavab olaraq tənzimlənir və bizim tezləklə görəyimiz kimi, o hüceyrə tsiklinə girişin qidalanma siqnalları ilə cütləşməsində çüy (bağlayıcı) rolunu oynayır. mRNT-dən kifayət qədər Cln3 sintez olunduqdan sonra, Cln3-CDK kompleksləri transkripsiya repressoru Whi5-i fosforlaşdıraraq fəalsızlaşdırır. Whi5-in fosforlaşması onun nüvədən eksport olunmasını təşviq edir, SBF transkripsiya faktoru kompleksinin G₁/S faza tsiklin genləri CLN1 və CLN2-nin və eləcə də DNT replikasiyası üçün əhəmiyyətli olan başqa genlərin transkripsiyasını induksiya etməsinə imkan verir. Cln1/2-CDK-lər istehsal olunduqdan sonra, Whi5-in sonra daha da fosforlaşmasına yardım edir. Bu müsbət geriye əlaqə G₁/S faza tsiklin-CDK-lərin sürətlə toplanmasını təmin edir. Hüceyrə tsiklinə Whi5-in 50 faizinin nüvədən çıxdığı nöqtə hüceyrələrin geriye donməyən şəkildə hüceyrə bölünməsinə daxil olduğu nöqtədir. Bu START üçün molekulyar təyinədir. Cln1/2-CDK-lər sonra tumurcuq formalaşmasına, S fazaya girişə və sonra hüceyrə tsiklinə mitoz şpindelini əmələ gətirən sentrosomların ikiləşməsinə (bu həmçinin mayada şpindel qütb cismi kimi tanınır) səbəb olur.

E2F Transkripsiya Faktoru və Onun Tənzimləyicisi Rb Metazoanlarda G₁-S Faza Keçidində Nəzarət Edir

S fazaya keçidini idarə edən molekulyar hadisələr məməlilərdə və bütün metazoan hüceyrələrində tumurcuqlayan mayadakı molekulyar mexanizmlə kifayət qədər oxşardır (Şəkil 19-12b). G₁ tsiklin bütün G₁ boyu mövcud olur və çox hallarda boy faktorlarına cavab olaraq yüksək dərəcədə ekspressiya olunmuş vəziyyətdə tapılır. G₁ CDK-lər öz növbəsində, ümumilikdə E2F transkripsiya faktorları (E2F-lər) kimi adlandırılan oxşar transkripsiya faktorlarının kiçik ailəsinin nümayəndələrini fəallaşdırır. G₁ zamanı, E2F-lər retinoblastoma (Rb) zülalı ilə assosiasiya olunduğu müddətdə qeyri fəal saxlanılır, o vaxta qədər ki, G₁ CDK-lər Rb-ni fosforlaşdıraraq fəalsızlaşdırmaqla E2F-ləri fəallaşdırırlar. Sonra E2F-lər DNT sintezində iştirak edən çoxsaylı zülalları kodlaşdıran genləri fəallaşdırırlar. Onlar həmçinin, G₁/S faza tsiklinlərini və S faza tsiklinlərini kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırırlar. Beləliklə, E2F-lər G₁ fazanın sonunda funksiyaya malik olurlar, bu da *S. cerevisiae*-də SBF transkripsiya faktoru kompleksinə oxşardır.

E2F funksiyasının tənzimlənməsinin açarı Rb (retinoblastoma) zülalıdır. E2F-lər Rb ilə birləşəndə onlar transkripsiyanın repressorları kimi fəaliyyət göstərirlər. Bu ona

görə belə olar ki, Rb spesifik histon lizinlərinin deasetilləşməsini və ya metilləşməsini sürətləndirən xromatin-modifikasiya edən zülalları səfərbər edir, xromatinin kondensasiya olunmasına, transkripsiya üçün qeyri fəal forma almasına səbəb olur. *RB* ilk dəfə, uşaqlarda gözün torlu qişasının xərçəngi retinoblastomada mutasiya olunmuş gen kimi identifikasiya olunmuşdu. Sonrakı tədqiqatlar aşkar etdi ki, Rb çox xərçənglərdə ya *RB*-nin hər iki allelində baş verən mutasiya ilə, ya da Rb fosforlaşmasının anomal tənzimlənməsi ilə fəalsızlaşır.

Rb zülalının məməlilərin hüceyrələrindəki G₁ CDK-lərlə tənzimlənməsi mayadakı Whi5-in Cln3-CDK-lə tənzimlənməsinə amalojiddir. G₁ CDK-lərin çoxsaylı saytlarının fosforlaşması Rb-nin E2F ilə assosiasiya etməsinə mane olur və onun nüvədən kənara eksport olunmasını təşviq edir. Bu, S fazaya keçmək üçün tələb olunan genlərin transkripsiyasını fəallaşdırmaq üçün E2F-ə imkan verir. G₁/S tsiklin və CDK-ləri kodlaşdıran genlərin ekspressiyası bəzi Rb molekulyarının fosforlaşması ilə induksiya olunduqdan sonra əmələ gələn G₁/S faza CDK kompleksləri sonra G₁-in sonunda Rb-ni fosforlaşdırır. Bu restriksiya nöqtəsindən keçməyə məsul olan əsas (prinsipal) biokimyəvi hadisələrdən biridir. E2F öz ekspressiyasını və eləcə də G₁/S tsiklin CDK-in ekspressiyasını stimullaşdırdığından, E2F və G₁/S tsiklin-CDK-lərin müsbət qarşılıqlı tənzimlənməsi G₁-in sonunda hər iki fəaliyyətin sürətlə artmasını təmin edir.

Onlar toplandıqca, S faza CDK-lər və mitoz CDK-ləri Rb zülalını S, G₂ və erkən M fazalar müddətində fosforlaşmış vəziyyətdə saxlayırlar. Hüceyrələr anafazanı tamamladıqdan və və erkən G₁-ə və ya G₀-a daxil olduqdan sonra tsiklin-CDK fəallığının enməsi Rb-nin fosforlaşmasına səbəb olur. Nəticədə hiperfosforlaşmış Rb növbəti tsiklin erkən G₁ fazasında və G₀-da-arrest olunmuş hüceyrələrdə E2F fəallığını ingibirləşdirmək üçün hazırdır. Beləliklə, hüceyrələr yeni hüceyrə tsiklinə girməyə qərar verənə və G₁ CDK-lər Rb-nin E2F üzərində ingibitor kimi tutmasını qırana qədər G₁/S fazası CDK fəallığı aşağı qalır.

Hüceyrəxarici Siqnallar Hüceyrə Tsiklinə Girişi İdarə Edir

Hüceyrələrin hüceyrə tsiklinə daxil olub-olmamasına hüceyrəxarici siqnallarla olduğu kimi hüceyrədaxili siqnallar da təsir edir. Məsələn, maya kimi bir hüceyrəli orqanizmlər hüceyrə tsiklinə o zaman daxil olurlar ki, onlar kritik hüceyrə ölçüsü adlanan müəyyən ölçüyə çatırlar. Bu kritik ölçü öz növbəsində ətraf mühitdə mümkün olan qida maddələri ilə nəzarət olunur. Hüceyrənin ölçüsü ilə hüceyrənin hüceyrə tsiklinə daxil olması arasındakı əlaqələndirmə 19.7 bölməsində müzakirə olunacaq. Biz burada müzakirəmizi G₁ tsiklinin sintezinin zülal sintezinin sürətinə cavab verməsi faktı ilə məhdudlaşdırırıq, o isə da öz növbəsində ətraf mühitdəki qida maddələri ilə tənzimlənən yollarla nəzarət olunur. Makromolekul biosintezini mexanizmi ilə hüceyrə tsikli mexanizmi arasındakı bu əlaqə tumurcuqlayan mayada daha yaxşı anlaşılır. Bu orqanizmdə, G₁ tsiklin transkripti *GLN3*, qida azlığı zamanı translyasiyanın inisiyasiyasını ingibirləşdirən, yuxarıya istiqamətdə qısa açıq oxunan ramkaya malikdir. Bi ingibirləşdirmə qida maddələri bol

olanda azalır. Kifayət qədər bol qida maddələri mövcud olanda, qida maddələrinin və boy faktorlarının siqnallarını hiss edən TOR siqnal yolu fəal olur və translyasiyanın başlanmasını fəallaşdırır (bax Şəkil 10-32). Cln3 yüksək dərəcədə qeyri stabil zülal olduğundan, onun qatılığı onun mRNT translyasiyasının sürəti ilə dəyişir. Nəticədə, Cln3 zülalın qatılığından asılı olan Cln3-CDK kompleksin miqdarı və fəallığı qida maddələrinin səviyyəsi ilə tənzimlənir.

Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə, hüceyrələr qida maddələri ilə əhatə olunur və buna görə də hüceyrələrin proliferasiya dərəcəsini qida məhdudlaşdırır. Əksinə, hüceyrə proliferasiyası böyüməni yüksəldən faktorlarla (*mitogenlərlə*) və böyüməni ingibirləşdirən faktorlarla (*anti-mitogenlərlə*) nəzarət olunur. G₀-arrest olunmuş məməli hüceyrələrinə mitogenlərin əlavə edilməsi, Fəsil 16-da müzakirə edildiyi kimi, reseptor tirozin kinaza ilə əlaqəli siqnal ötürülməsi yolunu induksiya edir və siqnal ötürülməsi kaskadını inisiyasiya edir, o da sonda transkripsiyaya və hüceyrə tsikli nəzarətinə təsir edir. Onlar bunu çoxsaylı yollarla edirlər.

Mitogenlər çoxsaylı genlərin transkripsiyasını fəallaşdırırlar. Bu genlərin əksəriyyəti, onların kodlaşdırdığı mRNT-lərin meydana çıxma tezliyindən asılı olaraq iki sinifə ayrılır – *erkən cavab genləri* və *gecikən cavab genləri*. Erkən cavab genlərinin transkripsiyası, boy faktorlarının əlavə edilməsindən bir neçə dəqiqə sonra, sitozolda və ya nüvədə artıq mövcud olan transkripsiya faktorlarını fəallaşdıran siqnal ötürülməsi kaskadları (bax Fəsil 16) vasitəsi ilə induksiya olunur. Erkən cavab genlərinin çoxu, gecikən cavab genlərinin transkripsiyasını induksiya edən c-Fos və c-Jun kimi transkripsiya faktorlarını kodlaşdırırlar. Erkən cavab transkripsiya faktoru Myc G₁ tsiklin və CDK genlərinin transkripsiyasını induksiya edir. Transkripsiya ilə nəzarət olunmaqdan başqa, G₁ CDK-lər CKI-lər vasitəsi ilə tənzimlənirlər. CKI p15INK4b güclü CDK ingibitorudur. Bəzi toxumalarda, mitogenlər bu CKI-nin transkripsiyasını ingibirləşdirməklə onun istehsalını ingibirləşdirirlər.

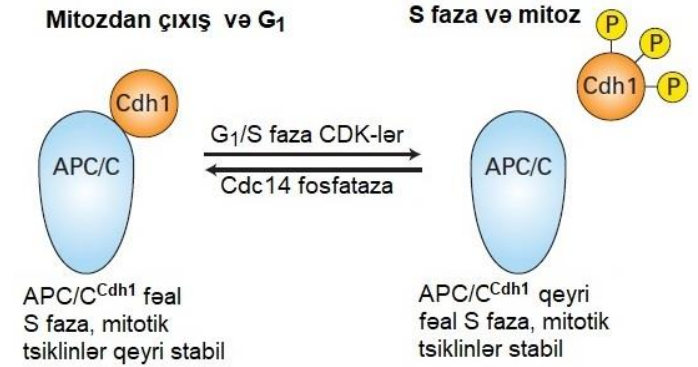
Hüceyrə ptoferasiyası çox toxumalarda yalnız proliferasiyanı-yüksəldən mitogenlərlə deyil həmçinin hüceyrə tsiklinə daxil olmağa mane olan anti-mitogenlərlə tənzimlənir. Eynilə, differensasiya zamanı hüceyrələr bölünməni dayandırır və G₀-a daxil olurlar. Bəzi differensasiya etmiş hüceyrələr (məsələn, fibroblastlar və limfositlər) stimullaşaraq yenidən hüceyrə tsiklinə daxil ola və replikasiya edə bilirlər. Amma, çox post-mitoz differensasiya etmiş hüceyrələr heç zaman yenidən bölünmək üçün heceyrə tsiklinə dönmürlər. Anti-mitogenlər və differensasiya yolları G₁ CDK-lərin toplanmasına mane olurlar. Onlar G₁ tsiklinlərin istehsalına əks təsir göstərirlər və CKI-lərin istehsalını induksiya edirlər. Transformasiya edən boy faktoru β (TGF-β) çox əhəmiyyətli antimitogendir. Bu hormon, p15INK4b-in ekspressiyasını induksiya etməklə G₁ arrestə aparan siqnal kaskadını induksiya edir. Fəsil 24-də biz görəəcəyik ki, G₁ CDK-ləri tənzimləyən siqnal yolu çox insan xərçənglərində mutasiya olunmuş halda tapılmışdır.

S faza CDK İngibitorun Parçalanması DNT Replikasiyasını İşə Salır

S fazaya keçid DNT replikasiyası mənşənin açılması ilə müəyyən olunur. Bu açılmaya səbəb olan molekulyar proseslər

S. cerevisiae-də çox yaxşı öyrənilmişdir. G₁/S faza CDK-lər bu prosesdə əhəmiyyətli rol oynayırlar. Onlar mitozdan çıxış zamanı və G₁-də S faza tsiklinlərini parçalayan mexanizmi söndürürlər və S faza CDK-ləri ingibirləşdirən CKI-lərin parçalanmasını induksiya edirlər.

G₁/S faza tsiklin-CDK komplekslərin əhəmiyyətli substratlarından biri Cdh1-dir. Anafazanın son dövründə, bu substrat hədəfləmə faktorun substrat zülallarını, o cümlədən S faza və mitoz tsiklinlərini ubiquitinləşdirmək üçün APC/C-ni



ŞƏKİL 19-13 Tumurcuqlayan mayada S faza və mitoz tsiklinlərinin tənzimlənməsi.

Anafazanın axırında, anafaza-gücləndirən kompleks (APC/C) S faza və mitoz tsiklinləri ubiquitinləşdirir. Bu ubiquitin-proteinliqazanın fəallığı Cdh1 adlanan spesifiklik faktoru ilə mitoz tsiklinlərinə doğru yönəldilir. Cdh1-in fəallığı fosforlaşmaqla tənzimlənir. Mitozdan və G₁-dən çıxış zamanı, Cdh1 defosforlaşır və APC/C-dən dissosiasiya edir, APC/C qeyri fəal olur. Özləri APC/C^{Cdh1}-in substratı olmayan G₁/S faza CDK-lər G₁-S faza keçidində Cdh1-i fosforlaşdırır. Cdc14 adlanan spesifik fosfataza anafazanın sonunda tənzimləyici fosfatı spesifiklik faktorundan uzaqlaşdırır.

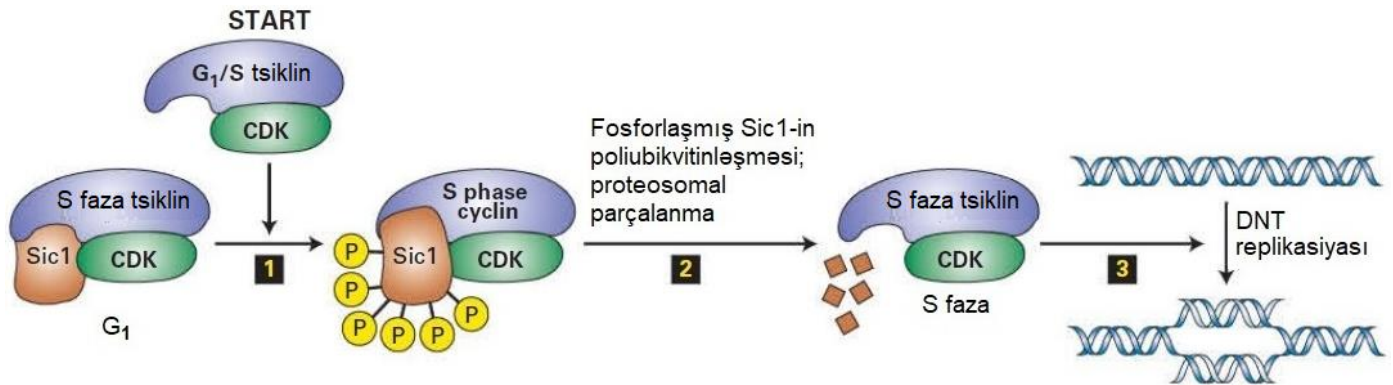
istiqamətləndirir, onları proteosomlarda proteoliz olunmaq üçün işarələyir. APC/C^{Cdh1} bütün G₁ dövründə fəal qalır, S faza və mitoz tsiklinlərinin yetişmədən toplanmasına mane olur. Cdh1-in G₁/S tsiklin-CDK-lər vasitəsi ilə fosforlaşması onun APC/C kompleksindən dissosiasiya olunmasına səbəb olur, G₁-in sonunda S faza və mitoz tsiklinlərinin daha da ubiquitinləşməsinə ingibirləşdirir (Şəkil 19-13). Bu ingibirləşmə S faza tsiklinin induksiya olunan transkripsiyası ilə birlikdə G₁-in sonunda G₁/S tsiklin-CDK-lərin səviyyəsi qalxan kimi, S faza tsiklinlərinin toplanmasına imkan verir. Hüceyrə tsikliünün daha sonrakı dövründə S faza və mitoz CDK-ləri Cdh1-i fosforlaşmış vəziyyətə gətirməkdə və bu yolla qeyri fəal vəziyyətdə saxlamaqda davam edirlər. Yalnız mitotik CDK-lərin azalması və Cdc14 kimi tanınan proteinfosfatazının fəallaşması ilə bu inhibitor fosfatlar Cdh1-dən buraxılır, bu da onun təkrar fəallaşmasına gətirib çıxarır. Oxşar mexanizmlər məməlilərin hüceyrələrində S faza və mitoz tsiklinlərinin stabilləşməsinə həyata keçirirlər, amma Cdh1-in defosforlaşmasında iştirak edən fosfataza(lar) aşkar edilməmişdir.

S. cerevisiae-də S faza tsiklin-CDK heterodimerlər G₁-in axırında APC/C^{Cdh1}-in inaktivasiyasının ardınca toplanan kimi, onlar, mitozun sonunda və erkən G₁-də ekspressiya olunan və *Sic1* adlanan CKI-nin birləşməsi ilə dərhal qeyri fəal olurlar

(Şəkil 19-14). Sic1 spesifik olaraq S faza və M faza CDK komplekslərini ingibirləşdirdiyindən, amma G₁ CDK və G₁/S faza CDK komplekslərə təsir etmədiyindən, o S faza ingibitoru kimi fəaliyyət göstərir. DNT replikasiyasının inisiyası o zaman baş verir ki, Sic1 ingibitor SCF ubikvitin-proteinliqaza ilə ubikvitinləşmədən sonra sürətlə parçalanır.

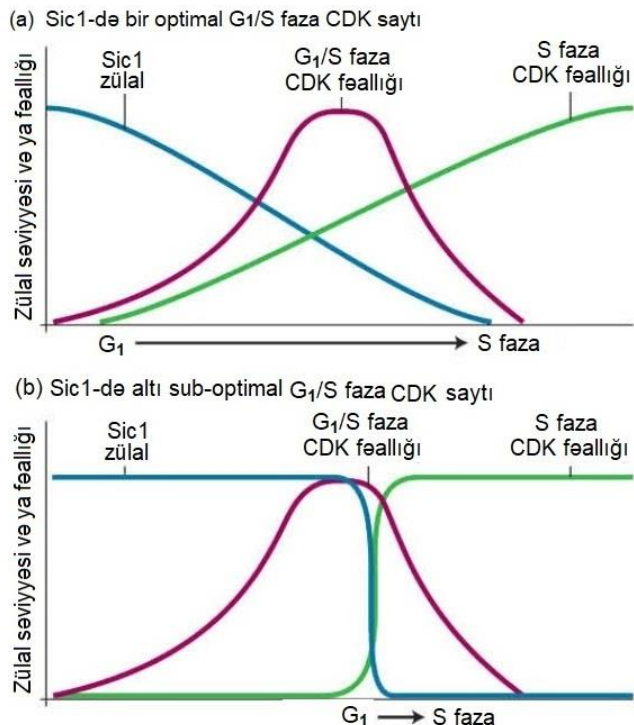
Sic1-in parçalanması onun G₁/S faza CDK-lərlə fosforlaşması ilə induksiya olunur (bax Şəkil 19-14). O, ubikvitinləşmək üçün SCF ilə kifayət qədər yaxşı birləşməzdən öncə, G₁/S faza CDK-lər üçün nisbətən zəif substratlar olan altıdan az olmayan sayda fosforlaşmalıdır. Bu çoxsaylı, zəif G₁/S faza CDK fosforlaşma saytları Sic1-in parçalanmasında ultrahəssas, keçiriciyə-bənzər cavab reaksiyasına və bununla da

S faza CDK-lərin kəskin fəallaşmasına səbəb olur (Şəkil 19-15). Əgər Sic1 tək bir saytdakı fosforlaşmadan sonra fəalsızlaşarsa, Sic1 molekulları G₁/S faza CDK fəallığı yüksələn kimi fosforlaşmağa başlamalıdır və tədricən Sic1 səviyyəsinin enməsinə səbəb olmalıdır. Əksinə, bir neçə saytlı fosforlaşması lazım olduğundan, G₁/S faza CDK fəallığının aşağı səviyyəsində yalnız bir neçə sayt fosforlaşır və Sic1 dağılır. Yalnız G₁/S fazanın CDK səviyyələri yüksək olduqda Sic1 parçalanmaya hədəf olunmaq üçün çoxsaylı saytlarda kifayət qədər fosforlaşır. Beləliklə, Sic1-in parçalanması yalnız o vaxt baş verir ki, G₁/S faza CDK fəallığı ən yüksək (pik) nöqtəsinə çatır və virtual olaraq bütün başqa G₁/S faza CDK substratlar fosforlaşmış olurlar.



ŞƏKİL 19-14 S. cerevisiae-də S fazının başlanğıcına S faza ingibitoru Sic1-in nizamlanan proteolizi ilə nəzarət. S faza tsiklin-CDK kompleksləri G₁-də toplanmağa başlayırlar, amma Sic1 ilə ingibirləşirlər. Bu ingibirləşmə, hüceyrələr G₁-in bütün proseslərini tamamlayana qədər, DNT replikasiyasının inisiyasına mane olur. G₁-in axırında toplanmış G₁/S faza CDK-lər Sic1-i çoxsaylı saytlardan

fosforlaşdırır (pillə 1), onu SCF ubikvitin-proteinliqaza ilə ubikvitinləşmək və ardınca da proteosomlarda parçalanmaq üçün işarələyir (pillə 2). Fəal S faza CDK-ləri sonra, DNT replikasiya mənşəinin aktivatorları MCM helikazaları fosforlaşdırmaq və səfərbər etməklə DNT sintezinin inisiyasına səbəb olurlar (pillə 3). Bzax R. W. King et al., 1996, *Science* **274**:1652.



ŞƏKİL 19-15 Sic1-də altı suboptimal fosforlaşma saytları keçiriciyə-bənzər hüceyrə tsikli girişlərini yaradır. (a) Sic1-də tək optimal G₁/S faza-CDK fosforlaşma saytı ləng G₁-S faza keçidi ilə nəticələnir. G₁/S faza-CDK-lər G₁ zamanı toplananda Sic1 progressiv şəkildə parçalanır. Nəticədə, S faza CDK-lər yavaş-yavaş artır və S fazanın inisiyası tədricən uzanmış bir hadisə olur. (b) Altı suboptimal fosforlaşma hadisələri, yalnız G₁/S faza CDK-lər yüksək səviyyəyə çatanda Sic1 tam fosforlaşmasını, ona görə də SCF-lə tanınmasını təmin edir. Bu da həmçinin, Sic1-in parçalanmasının sürətlə baş verməsini və G₁/S faza CDK-lərin bütün başqa G₁ faza vəzifələrini yerinə yetirdiyini təmin edir. Bax P. Nash et al., 2001, *Nature* **414**:514-521, və D. O. Morgan, 2006.

Tezliklə bizim görəcəyimiz kimi, Sic1 parçalandıqdan sonra, S faza tsiklin-CDK kompleksləri replikativ helikazaların fəallaşmasında iştirak edən bir sıra zülalları fosforlaşdıraraq DNT replikasiyasını induksiya edir. S faza tsiklin-CDK komplekslərini fəallaşdırmaq üçün bu mexanizm, yəni tsiklinlər sintez olunan kimi onu ingibirləşdirən və sonra ingibitoru tez parçalayan mexanizm replikasiyanın inisiyasının birdən-birə böyük sayda replikasiya mənşəindən başlanmasına imkan verir. Hüceyrə tsiklində bu kritik nöqtə vasitəsilə keçidin nəzarət olunmasında proteolizin açıq üstünlüyü odur ki, zülalların

parçalanması *geriyə dönməyən prosesdir* və hüceyrə tsiklində hüceyrələrin yalnız bir istiqamətdə davam etməsini təmin edir.

S fazaya keçid metazoan hüceyrələrində tumurcuqlayan mayadakı mexanizmə oxşar olan mexanizmlə tənzimlənir. Sic1 kimi, CKI p27 də G₁ zamanı S faza CDK-lərin yetişmədən fəallaşmasına mane olur. Amma, Sic1-dən fərqli olaraq CKI həm S faza CDK-ləri həm də G₁/S faza CDK-ləri ingibirləşdirir, o həmçinin əlavə hüceyrə tsikli funksiyalarına da malikdir. Məsələn, p27 G₁/S faza CDK-lərini və S faza CDK-lərini ingibirləşdirdiyi halda, G₁ CDK-lərin toplanmasına kömək edir, bununla da onları fəallaşdırır. Amma, mayadakı Sic1-ə oxşar olaraq, p27 tsiklin-CDK komplekslərindən ubikvitindən-asılı olan zülal parçalanması yolu ilə uzaqlaşdırılır. Onun parçalanmasına iki yol kömək edir. Mitogenlərlə stimullaşarkən, mitogenlə-fəallaşan proteinkinazalar p27-ni fosforlaşdırır və onun nüvədən, hüceyrənin ubikvitin-liqazalarından biri olan KPC-nin tapıldığı sitoplazma daxilinə eksportunu gücləndirir. Sic1-in fəaliyyət göstərdiyi yola anoloji olan ikinci yol p27-ni G₁-S faza keçidində fosforlaşdırmaq üçün hədəf edir. G₁/S faza CDK-lər və S faza CDK-lər G₁-in sonunda və erkən S fazada ən yüksək səviyyəyə çatdıqda, onlar p27-ni fosforlaşdırmağa başlayırlar, onu SCF ilə ubikvitinilləşməyə hədəf edirlər. p27-nin parçalanması G₁/S faza və S faza CDK-lərin fəallaşmasına səbəb olur. Bu kinazalar sonra, DNT replikasiyasının başlanması üçün əhəmiyyətli olan zülalları fosforlaşdırmaqla S fazanı inisiasiya edirlər.

Replikasiya Hər Bir Mənşədən Bir dəfə və Bütün Hüceyrə Tsikli Dövründə Yalnız Bir dəfə İnisiyasiya Olunur

Fəsil 5-də müzakirə olunduğu kimi, eukariotik xromosmlar çoxsaylı replikasiya mənşəindən replikasiya olunur. Bu mənşələrdən replikasiyanın inisiasiyası bütün S faza dövründə baş verir. Amma, heç bir eukariot replikasiya mənşəi hər S faza müddətində replikasiyanı bir dəfədən artıq inisiasiya etmir. Üstəlik, S faza hər bir xromosom boyu çoxsaylı mənşələrdən başlanan replikasiyanın bütün xromosomu tam replikasiya etməsinə qədər davam edir. Bu iki faktor əmin edir ki, hüceyrə proliferasiya edərkən düzgün gen nüsxəsi sayı saxlanılsın.

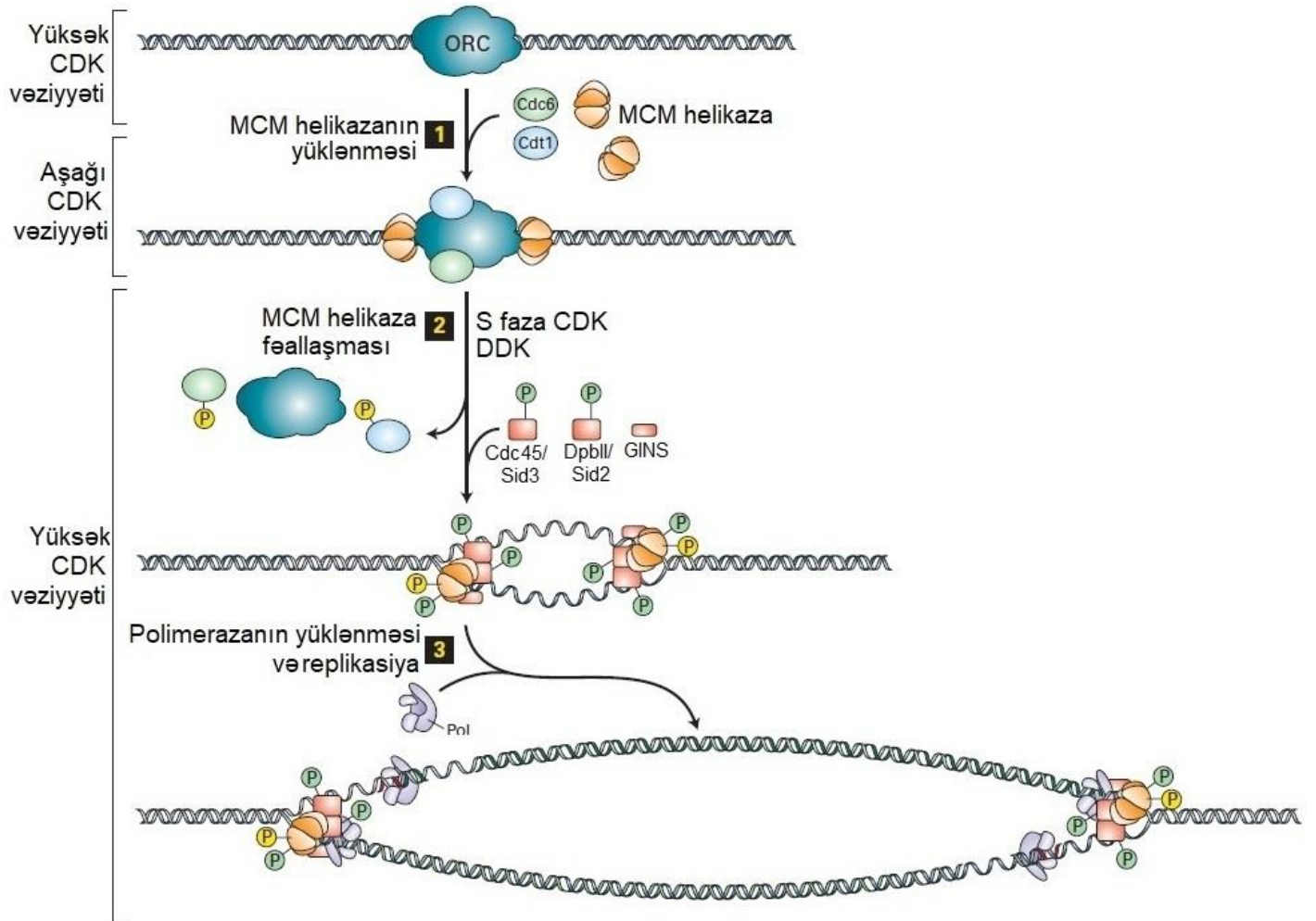
S faza CDK-lər DNT replikasiyasında çox vacib rol oynayırlar. Kinazalar DNT replikasiyasını yalnız G₁-S faza keçidində inisiasiya edir və artıq inisiasiya etmiş mənşədən yenidən-inisiasiyaya mane olurlar. Biz əvvəlcə bu kinazaların yenidən-inisiasiyaya mane olma mexanizminə keçməzdən öncə, DNT replikasiyasının inisiasiya olunmasının necə nəzarət olunduğunu və bu prosesdə S faza CDK-lərin rolunu müzakirə edirik.

DNT replikasiyasının inisiasiyasının əsasında duran mexanizmlər tumurcuqlayan mayada daha yaxşı başa düşülür, ona görə də biz diqqətimizi bu orqanizmlərdə müzakirəyə

yönəldirik. Amma, qeyd etmək vacibdir ki, DNT sintezinin inisiasiyasına nəzarət edən mexanizmlər və zülallar bütün eukariot növlərində əhəmiyyətli dərəcədə eynidir. *Mənşə tanıyan kompleks (origin-recognition complex - ORC)* kimi tanınan zülal kompleksi bütün DNT replikasiya mənşələri ilə birləşmişdir (assosiasiyadadır). Tumurcuqlayan mayada, replikasiya mənşəi 11-ə uzunluqda konservativ özək (əsas) ardıcılığa malikdir ki, buna da ORC birləşir. Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə DNT replikasiya mənşəində tanınan bilən konsensus ardıcılıq yoxdur. Əvəzində, xromatinlə-assosiasiya edən faktorlar ORC-ni DNT-yə hədəf edirlər. ORC və iki əlavə replikasiya inisiasiyası faktoru Cdc6 və Cdt1 MCM helikaza kompleksi kimi məlum olan replikativ helikazaları DNT-yə yükləmək üçün G₁ dövründə mənşədə ORC ilə assosiasiya edir (Şəkil 19-16, pillə 1). MCM helikazalar DNT replikasiyasının inisiasiyası zamanı DNT spiralını açmaq üçün fəaliyyət göstərir.

Replikasiya mənşəinin S fazanın başlanğıcında yalnız bir dəfə işə düşməsinə əmin olmaq üçün yüklənin MCM helikaza kompleksi və onun fəallaşması iki əks fosforlaşma saytlarında baş verir. MCM helikaza DNT-yə yalnız CDK-lərin mitozdan çıxarkən inaktivasiya olunduğu aşağı CDK fəallığı vəziyyətində və erkən G₁ dövründə yüklənə bilir. Başqa sözlə, MCM helikazalar yalnız fosforlaşmayan vəziyyətdə olanda DNT üzərinə yüklənə bilirlər. Əksinə, MCM helikazaların fəallaşması və DNT polimerazaların açılmamış DNT mənşəinə cəlb olunması S faza CDK-lərlə həyata keçir. Xatırladaq ki, S faza CDK-lər yalnız o zaman fəal olurlar ki, G₁/S faza CDK öz pik səviyyəsinə çatır və S faza CDK-lərin CKI-ləri parçalanır. Sonra S faza CDK-lərlə və ikinci heterodimer proteinkinaza DDK ilə fosforlaşma MCM helikazaları fəallaşdırır və DNT polimerazaları replikasiyanın inisiasiyası nəhiyyəsinə səfərbər edir (Şəkil 19-16, pillə 2 və 3).

Beləliklə, DNT replikasiyasını inisiasiya etmək üçün S faza CDK-lər və DDK necə əməkdaşlıq edirlər? ORC ilə iki başqa inisiasiya faktoru Cdc6 və Cdt1, G₁ müddətində CDK fəallığı aşağı olanda, MCM helikazaları replikasiyanın inisiasiyası saytına səfərbər edir (Şəkil 19-16, pillə 1). G₁-in sonunda DDK və S faza CDK-lər fəallaşanda DDK MCM helikazanın iki subvahidini fosforlaşdırır. S faza CDK-lər Sld2 və Sld3 adlanan iki zülalı fosforlaşdırır. Bu fosforlaşma hadisələri (Şəkil 19-16, pillə 2 və 3, yaşıl rəngdə göstərilir) fəallaşdırma təsirinə malikdir, MCM helikaza aktivatorlarının replikasiyanın inisiasiyası saytına səfərbər olunmasını təşviq edir. Helikaza aktivatorları *Cdc45-Sld3 kompleksi* və *GINS kompleksi* kimi adlanır. Onların MCM helikazaların fəallaşmasını necə həyata keçirmələri hələ tam aydın deyil. DNT spiralının açılması üçün MCM helikazaların fəallaşmasından başqa onlar polimerazaları da DNT-yə səfərbər edirlər: polimeraza ε aparıcı zənciri sintez etmək üçün, polimeraza δ isə gecikən zənciri sintez etmək üçün səfərbər olunurlar (bax Şəkil 19-16, pillə 3). Sonra replikasiya maşını DNT sintezini inisiasiya edir.



ŞƏKİL 19-16 DNT replikasiyasının inisiasiyasını idarə edən molekulyar mexanizmlər. Pilla 1: Mitozdan çıxan zaman və erkən G_1 -də, CDK fəallığı aşağı olanda MCM yükləmə faktorları ORC, Cdc6 və Cdt1 replikativ helikaza MCM kompleksini replikasiya mənsəində DNT üzərinə yükləyirlər. Pilla 2: S faza CDK-lərinin və DDK-in fəallaşması S fazanın başlanmasını işarələyir. Onlar, MCM helikaza aktivatorlarının – Cdc45-Sld3 və GINS komplekslərinin replikasiyanın inisiasiyası saytına yüklənməsini asanlaşdırmaq üçün MCM helikazanı, Sld2-ni və Sld3-ü (fosforlaşma hadisələri yaşıl göstərilmişdir) fosforlaşdırırlar. Bu aktivatorların yüklənməsi MCM

helikazanın DNT spiralını açmasına səbəb olur. S faza CDK-lər də həmçinin, Cdc6 və Cdt1-i (sarı fosforlaşma hadisəsi kimi göstərilmişdir) fosforlaşdırmaqla MCM helikazaların yenidən yüklənməsinə mane olur, onların replikasiya mənsəindən buraxılmasını və SCF vasitəsi ilə parçalanmasını təşviq edir. S faza CDK-lər MCM helikazaları da fosforlaşdırır, bu da replikasiya tamamlanarkən helikazalar DNT-dən ayrılarda onların nüvədən eksport olunmasına səbəb olur. Pilla 3: DNT polimerazalar DNT sintezinə səbəb olan mənsələrə səfərbər edirlər (bax Şəkil 5-30).

S faza CDK-lər yalnız DNT sintezinin inisiasiyası üçün vacib deyil, o həmçinin hər bir replikasiya mənsəinin S faza dövründə yalnız bir dəfə fəaliyyət göstərməsini təmin edir. S faza müddətində mənsəin ikinci dəfə işə düşməsinə MCM helikaza yükləyən maşının və MCM kompleksin özünün bir sıra komponentlərinin fosforlaşması ilə mane olunur. Bu fosforlaşma hadisələrini DNT replikasiyasının inisiasiyası üçün tələb olunanlardan fərqləndirmək üçün onlar Şəkil 19-16-da sarı rənglə verilmişdir. MCM helikazaların fəallaşması ilə müşayiət olunaraq, Cdc6 və Cdt1 DNT replikasiyasının inisiasiyası saytından dissosiasiya edir. Onlar belə etdikdən sonra, onların fosforlaşması SCF ubiquitin-proteinliqazanın təsiri ilə onların parçalanmasına səbəb olur. MCM helikazaların fosforlaşması, DNT replikasiyası başa çatanda bu zülalların DNT-dən dissosiasiyası edilməsindən sonra onların nüvədən eksport

olunmasına aparır. Beləliklə, mitozdan çıxış zamanı yalnız CDK fəallığının APC/ C^{dh1} ilə aşağı enməsi ilə MCM helikazalar DNT üzərinə yüklənə bilər. Nəticədə, helikazanın yüklənməsi mitozun sonrakı mərhələləri və erkən G_1 faza ilə məhdudlaşır (bax Şəkil 19-16, pilla 1).

Metazoan hüceyrələrində DNT replikasiyasının inisiasiyasını *S. cerevisiae* hüceyrəsindəkilərlə paralel ümumi mexanizmlər idarə edir, hərçənd ki, onurğalılarda kiçik fərqlər tapılmışdır. Helikazalar CDK fəallığı aşağı olanda G_1 -də yüklənilir. MCM helikaza aktivatorlarının G_1/S faza CDK-lərlə və S faza CDK-lərlə fosforlaşması helikazaları fəallaşdırır və polimerazanın yüklənməsini gücəndirir. Mayada olduğu kimi, MCM helikaza yükləmə faktorlarının fosforlaşması hüceyrələr mitozdan keçənə qədər müddətdə MCM helikazaların yenidən yüklənməsinə mane olur, bununla da əmin edir ki, hər bir

mənşədən replikasiya hər bir hüceyrə tsikli müddətində yalnız bir dəfə baş verir. Burada Cdt1-in müxtəlif proteinkinazalarla, o cümlədən CDK-lərlə fosforlaşması MCM helikazın ynidən yüklənməsinə mane olmaq üçün kritik əhəmiyyətlidir. Bundan başa, hüceyrələr tam hüceyrə tsiklini başa vurana qədər kiçik zülal **geminin** replikasiya mənşələrinin yenidən inisiasiyasını ingibirləşməsinə kömək edir. Geminin G₁-in sonunda ekspressiya olunur, S fazası zamanı DNT-nin replikasiyası inisiasiya olunduqdan sonra replikasiya mənşələrindən buraxıldıqları üçün MCM helikaza yükləmə faktorlarını bağlayır və ingibirləşdirir (bax Şəkil 19-16, pillə 2). Geminin özünün N sonluğunda dağılma boksna malikdir, bu APC/C^{dhl} ilə tanınır və onun anafazanın sonunda ubikvitinləşməsinə və proteosomlarla parçalanmasına səbəb olur. Onun parçalanması, növbəti G₁ fazada replikasiya mənşəində ORC ilə birləşmək və MCM helikazını yükləmək üçün, CDK fəaliyyəti azaldığına görə defosforlaşan MCM helikaza yükləmə faktorlarını azad edir.

İkiləşmiş DNT Zəncirləri Replikasiya Zamanı Bağlı Olurlar

S fazada bacı xromatidləri əmələ gətirmək üçün xromosomlar ikiləşən kimi, onlar zülal əlaqələri ilə bir-birinə bağlanırlar. S faza zamanı yaranan bacı xromatidlər arasındakı əlaqələr onların mitoz zamanı düzgün seqreqasiya etməsi üçün lazımdır.

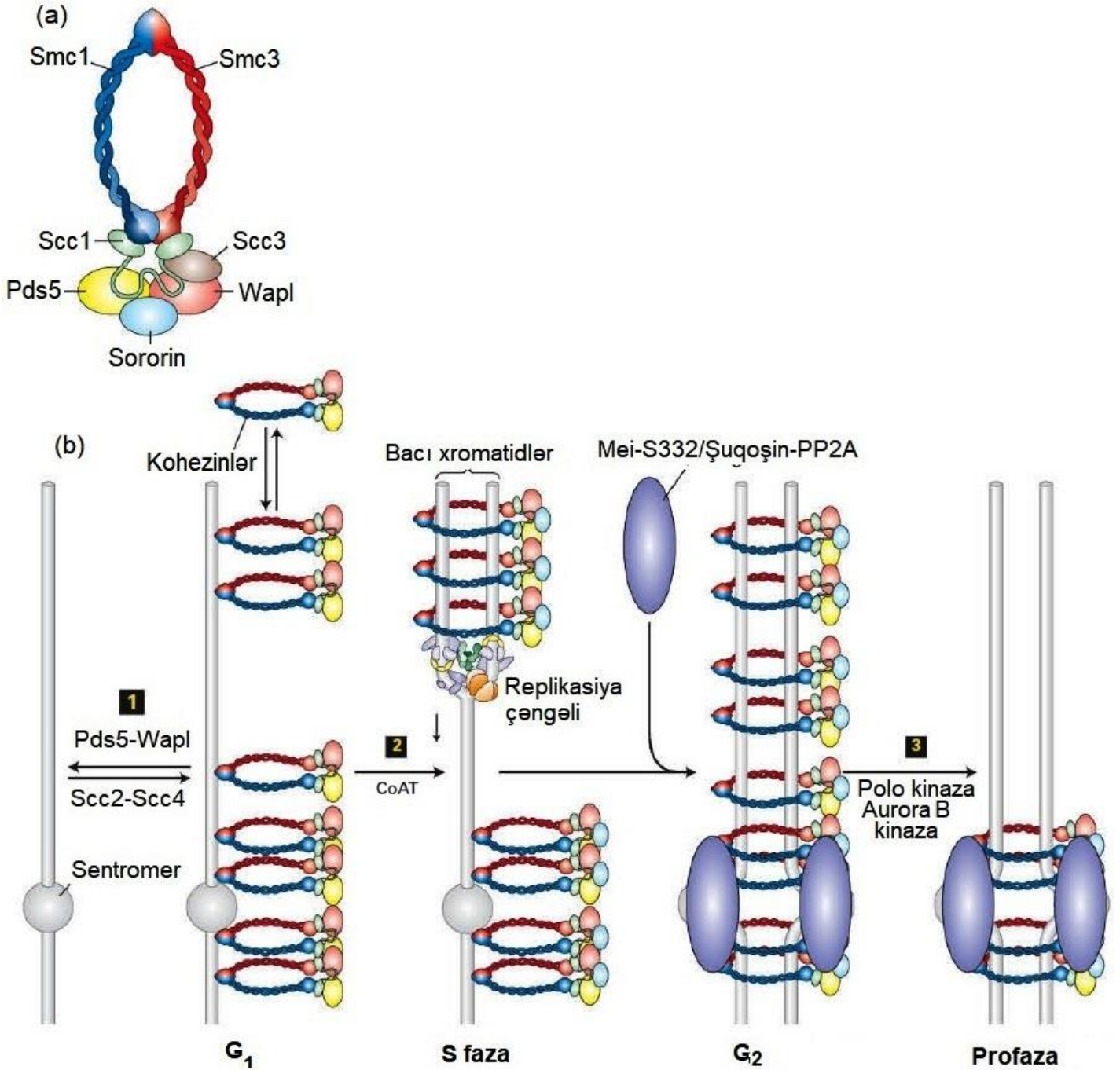
Bacı xromatidlər arasında bu əlaqələri əmələ gətirən zülal kompleksləri kohezinlər adlanır. Onlar dörd subvahiddən təşkil olunmuşlar: Smc1, Smc3, Scc1 (bəzi hallarda Rad21 adlandırılır) və Scc3 (Şəkil 19-17a). Smc1 və Smc3 SMC zülalları ailəsinin nümayəndələridir və cinahdan ATP-aza fəallığına malik olan qlobulyar domen yerləşən uzun spirallaşmış-spiral domenlərin olması ilə xarakterizə olunurlar. ATP-aza domeni Scc1 və Scc3 ilə əlaqəyə girir və birlikdə halqa quruluşunu əmələ gətirir. Kohezinlərin bu halqaları replikasiya olunmuş DNT-nin bir və ya hər iki nüsxəsini əhatə edir. Kohezinlər fəalsızlaşanda, bacı xromatidlər bir-biri ilə düzgün assosiasiya edə bilmirlər.

Bacı xromatidlər arasında kohezin-vasitəsilə ilişmələr iki mərhələli proseslə həyata keçir və DNT replikasiyası ilə sıx şəkildə bağlı olur. Kohezinlər G₁ müddətində xromosomlarla assosiasiyada olur, bu assosiasiya kohezin yükləmə faktorlarını, Scc2 və Scc4-ü tələb edir (Şəkil 19-17b, pillə 1). Hüceyrə tsiklinin bu fazasında, kohezinlər xromosomlar üzərində kifayət

qədər dinamik olurlar. Onlar fasiləsiz şəkildə Pds5 və Wapl zülallardan ibarət olan kohezin-assosiyalı kompleks vasitəsilə boşaldılırlar. Kohezinlərin bu interfaza dinamikliyi görünür ki, onların interfaza xromatin quruluşunu və gen ekspressiyasının tənzimləməsindəki rolu üçün çox əhəmiyyətlidir. Kohezinlər öz yapışqanlıq xüsusiyyətlərini DNT replikasiyası zamanı qazanırlar. Replikasiya çəngəli DNT-ni replikasiya etdikcə ikiləşmiş iki DNT zənciri kohezin həlqələr daxilində bükülmüş olurlar (Şəkil 19-17b, pillə 2). DNT-birləşmiş G₁ kohezinin ilişən kompleksə çevrilməsi Smc subvahidin kohezin asetil transferaza (CoAT) ilə asetilləşməsinə tələb edir. Bu asetilləşmə kohezinlərin Pds5-Wapl ilə boşaldılmasına mane olur və kohezinləri xromosomlarda stabilləşdirir. Kohezinlərin bu stabilləşməsi onurğalılarda kohezin-assosiyalı faktoru, soronini tələb edir (Şəkil 19-17b, pillə 2). Biz 19-6 bölməsində görərik ki, kohezinlər replikasiya olunmuş bacı xromatidlərin mitoz şpindelində dəqiq birləşməsi və mitozun gedində seqreqasiyası üçün vacibdir. Kohezinləri və ya onları xromosomlara yükləyən faktorları olmayan hüceyrələr xromosomları təsadüfi (nizamsız) seqreqasiya edirlər.



Kohezinlər yalnız replikasiya etmiş DNT molekulları arasında əlaqənin yaradılması və buradan da onların mitoz zamanı dəqiq seqreqasiyası üçün kritik əhəmiyyətli deyil, onlar həm də gen ekspressiyasını tənzimləyirlər. Görünür bu prosesdə kohezinlərin funksiyası müxtəlifdir. Bəzi hallarda kohezinlər gen ekspressiyasını təşviq edir, digər hallarda isə onu dayandırır. Amma, kohezinlərin gen ekspressiyasına nəzarəti həyata keçirdikləri mexanizm hər iki sinifdə eynidir: kohezinlər xromatin ilgəklərin əmələ gəlməsini gücləndirir və bununla da enhanser və ya repressor elementlərini transkripsiyanın start saytına yaxın gətirir. Kohezinin gen ekspressiyasındakı tənzimləmə funksiyasındakı qüsurlar ümumilikdə **kohezinopatiya** adlanan bir qrup xəstəliyin yaranmasına səbəb olur. Bu xəstəliklərdə, kohezin subvahidlərindəki və ya kohezin yükləmə faktorlarındakı mutasiyalar inkişaf üçün kritik əhəmiyyətli genlərin ekspressiyasını, uzların və kəllə-sifət (craniofacial) anormallıqlarına və intellektual çatışmazlıqlara səbəb olur. Amma bu xəstəliklərdə, kohezinlərin bacı xromatidlərdə ilişiklik funksiyası sağlam (dəyişməz) görünür. Əksinə, 19.8-ci bölmədə göstərdiyimiz kimi, meyoza zamanı kohezinlərin ilişiklik funksiyasındakı qüsurlar uşaqsalmaya və intellektual çatışmazlıqlara səbəb olur. ■



ŞƏKİL 19-17 Bacı xromatidlərin kohezin əlaqələrinin yaradılmasının modeli. Kohezin kompleksləri iki bacı DNT molekulunu əhatə edərək bacı xromatidləri əlaqələndirən halqanı əmələ gətirirlər. (a) Kohezin kompleksinin sxematik quruluşu. (b) Kohezinlərin DNT üzərinə yüklənməsi və ilişənlik xassəsini mənimsəməsi mexanizmləri. Pillo 1: Kohezinlər xromosomlar üzərinə G₁ zamanı kohezin yükləyən kompleks Scc2-Scc4 vasitəsi ilə yüklənilir, amma bunlar ilişənlik xassəsinə malik deyillər (bu göstərir ki, kohezinlər xromosomlarla lateral assosiasiya edirlər). Bu vəziyyətdə, kohezinlər dinamikdirlər və kohezinlərlə assosiasiyada olan Pds5-Wapl kompleksinin köməyi ilə DNT-dən dissosiasiya edə bilirlər. Pillo 2: Replikasiya çəngəlinin arxasınca ona çox yaxın, DNT replikasiyasını müşayiət edən kohezinlər, Smc3-ün kohezin asetiltransferazalarla (CoAT) asetilləşməsi yolu ilə bacı xromatidləri

bir yerdə saxlaya bilən ilişən molekullara çevrilirlər (replikasiya etmiş bacı xromatidləri əhatə edən kohezin həlqələri kimi göstətilmişdir). Asetilləşmə sororinin kohezinə birləşməsi ilə müşayiət olunur, bu da G₂ zamanı kohezinin xromosom üzərində stabiləşməsinə kömək edir, bacı xromatidlər replikasiya edirlər və bütün uzunluğu boyu kohezinlərlə əlaqələndirilirlər. Bu zaman, Mei-S332/Şuqoşin zülalları proteinfosfataza 2A-nı (PP2A) sentromer rayonlarına səfərbər edir. Pillo 3: Onurğalılarda kohezinlər profaza zamanı və erkən metafazada Pds5-Wapl kompleksinin təsiri ilə və kohezinlərin Polo kinaza və Aurora B kinazalarla fosforlaşması ilə xromosom çiyunlərindən buraxılırlar. Metafazanın başa çatması zamanı kohezinlər yalnız sentromer rayonlarda qalırlar, harada ki, Mei-S332/Şuqoşin zülalları kohezinin fosforlaşmasına və PP2A-nı səfərbər etməklə onun dissosiasiyasına mane olurlar.

19.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Tsiklinə Bağlılıq və DNT Replikasiyası

- Mayada, START G_1 -də hüceyrələrin geriye dönməyən şəkildə hüceyrə tsiklinə girdiyi mərhələ mənasını verir. Molekulyar baxımdan, bu Whi5-in 50 faizinin nüvədən çıxdığı nöqtə kimi müəyyən edilir.
- Hüceyrə tsiklinə daxil olmağı təşviq edən molekulyar hadisələr növlər arasında qorunub saxlanılmışdır (konservativdir). G_1 CDK-lər transkripsiya repressorunu ingibirləşdirir. Bu G_1/S faza tsiklin genlərinin və S faza üçün əhəmiyyətli olan başqa genlərin transkripsiyasına imkan verir.
- Qidalanma vəziyyəti kimi hüceyrəxarici siqnallar (mayada), və mitogenlərin və anti-mitogenlərin (onurğalılarda) mövcud olması hüceyrə tsiklinə girişi tənzimləyir
- Mitogenlər adlanan müxtəlif boy faktoru polipeptidləri kutura olunan məməli hüceyrələrini stimullaşdıraraq proliferasiya etmək üçün erkən cavab genlərinin ekspressiyasını induksiya edirlər. Bu genlərin çoxu, G_1/S faza tsiklinləri və E2F transkripsiya faktorlarını kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını stimullaşdıran transkripsiya faktorlarını kodlaşdırırlar.
- G_1/S faza CDK-lər, S faza və M faza tsiklinləri ubikvitinləşdirmək üçün anafaza-təşviq-edən kompleksi (APC/C) yönəldən spesifiklik faktoru Cdh1-i fosforlaşdıraraq ingibirləşdirir. Bu G_1 -in son dövründə S faza tsiklinlərin toplanmasına imkan verir.
- Mayada S faza CDK-lər əvvəlcə Sic1 ilə ingibirləşir. Fosforlaşma Sic1-i SCF ubikvitin-proteinliqaza ilə ubikvitinilləşmək və proteosomlarda parçalanmaq üçün işarələyir, S fazanın başlanmasına səbəb olan fəallaşmış S faza CDK-ləri azad edir (bax Şəkil 19-14).
- DNT replikasiyası replikasiya mənşəi kimi tanınan helikaza yüklənmə sayından inisiasiya olunur.
- MCM helikazaların yüklənməsi və fəallaşması hüceyrə tsiklinin qarşılıqlı eksklüziv vəziyyətlərində baş verir: MCM helikaza yüklənməsi yalnız o zaman baş verə bilər ki, CDK fəallığı aşağı olur (G_1 -in əvəlidə); MCM helikazalar CDK fəallığı yüksək olanda fəallaşırırlar.
- S faza CDK-lər və DDK MCM helikaza aktivatorlarını replikasiya mənşəinə səfərbər etməklə DNT replikasiyasının inisiasiyasını işə salırırlar (bax Şəkil 19-16).
- DNT replikasiyasının inisiasiyası hüceyrə tsikli müddətində hər bir mənşədən yalnız bir dəfə baş verir, çünki S faza CDK-lər helikazanı fəallaşdırır və eyni zamanda əlavə helikazaların DNT-yə yüklənməsinə mane olur.
- Kohezinlər replikasiya etmiş DNT molekulları arasında əlaqələri yaradır, bu da hüceyrə tsiklinin son mərhələlərində onların düzgün seqreqasiyası üçün vacibdir. Bu əlaqələrin yaranma mexanizmi DNT replikasiyası ilə bağlı olur.

19.5 Mitoza Giriş

S faza tamamlandıqdan sonra və bütün genom ikiləşdikdən sonra cütləşmiş DNT xromosomları – bacı xromatidlər – gələcək hüceyrələrə seqreqasiya edirlər. Bu proses yalnız bu

seqreqasiyanı asanlaşdıran aparatın – mitoz şpindelinin – əmələ gəlməsini tələb etmir, o həmçinin hüceyrənin tamamilə yenidən qurulmasını tələb edir. Xromosomlar kondensasiya edirlər və mitoz şpindelində birləşirlər, nüvə qabığı dağılır və demək olar ki, bütün orqanoidlər yenidən qurulur və ya modifikasiya olunurlar. Bütün bu hadisələr mitoz CDK-lərlə tənzimlənir. Bu bölmədə, əvvəlcə DNT replikasiyası tamamlandıqdan sonra CDK-lərin G_2 -də necə sürətlə fəallaşdığı müzakurə edilir. Sonra biz, metazoanlarda meydana gələn hadisələrə diqqət yetirməklə bu proteinkinazaların hüceyrədə anafaza zamanı bacı xromatidlərin seqreqasiyası üçün hüceyrəyə lazım olan dramatik dəyişiklikləri necə gətirdiyini təsvir edirik.

Mitoz CDK-lərin Sürətlə Fəallaşması Mitozu Inisiasiya Edir

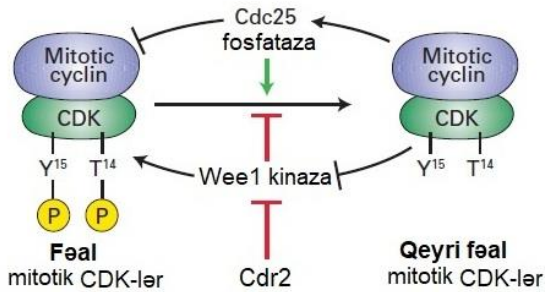
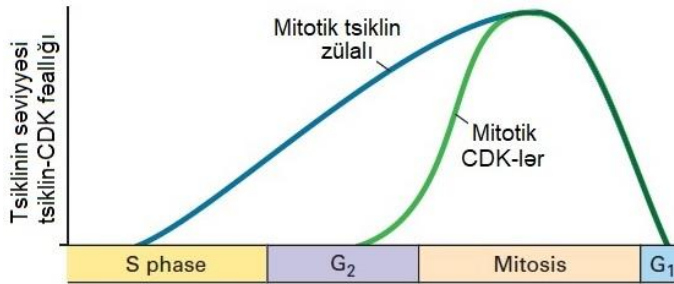
Mitotik tsiklin-CDK-lər mitozu inisiasiya edir. Halbuki katalitik CDK subvahidlərin səviyyəsi bütün hüceyrə tsikli boyu sabitdir, mitoz tsiklinləri S faza dövründə tədricən toplanır. Eukariotların əksəriyyəti çoxsaylı mitoz tsiklinlərinə malikdirlər, bunlar tarixi səbəbdən iki ailəyə tsiklin A və tsiklin B ailələrinə bölünürlər. Onlar yığılan kimi, mitoz CDK kompleksləri CDK subvahidlərin ingibirləşdirici fosforlaşması yolu ilə qeyri fəal vəziyyətdə saxlanılırlar. 19.3 bölmədən xatırladaq ki, iki yüksək konservativ tirozin və treonin qalıqları məməlilərin CDK-lərində tənzimlənən fosforlaşmaya məruz qalırlar. Mitoz CDK-in CDK1-də tirozin 15 və treonin 14-ün fosforlaşması mitoz tsiklin-CDK-i qeyri fəal vəziyyətdə saxlayır. T14 və Y15-in fosforlaşma vəziyyəti ikili spesifikliyi proteinkinaza Wee1 və ikili spesifikliyi fosfataza Cdc25 ilə nəzarət olunur (Şəkil 19-18). Bu cürə kinazalar və fosfatazalar həm serin/treoninləri həm də tirozinləri müvafiq olaraq fosforlaşdırır və defosforlaşdırır bilirlər. Mitotik CDK-lərin bu fəaliyyətlərlə tənzimlənməsi G_2 -M faza keçidində onların kinaza fəallıqlarının kəskin şəkildə fəallaşmasının əsasında durur və S faza və G_2 zamanı mitoz tsiklinlərinin tədricən toplanmalarına baxmayaraq, hüceyrələr mitozu daxil olana qədər mitoz CDK-lərin fəal olmadığı müşahidələri izah edir.

Bölünən maya *Schizosaccharomyces pombe*-də tədqiqatlar G_2 -zamanı mitoz CDK-lərin qəfil fəallaşmasına səbəb olan mexanizmləri aşkar etdi. İkiqat spesifikliyə malik olan proteinkinaza Wee1 ingibirləşdirici tirozin 15-də CDK-ləri fosforlaşdırır. (*S. pombe* CDK1-də Treonin 14 fosforlaşdırır.) Qısrulu *wee1⁺* geninə malik olan maya hüceyrələri mitoz CDK-lərini yetişməmiş fəallaşdırır və yetişmədən mitozu daxil olur. Bu *wee1* mutantlar nəinki yetişmədən mitozu daxil olur, onlar həm də kiçik olurlar. Bu ona görə belə olur ki, hüceyrə ölçüsü ilə hüceyrə bölünməsinə G_1 -də koordinasiya edən əksər eukariotlardan fərqli olaraq, bu koordinasiya bölünən mayalarda G_2 -də baş verir. Tirozin 15 qalığının fenilalaninlə (quruluşca tirozinə çox oxşar olan) əvəz edildiyi CDK mutasiyanı daşıyan bölünən maya hüceyrələri eyni, yetişməmiş mitotik CDK fəallaşmasını və mitozu daxil olmanı nümayiş etdirir. *cdc25⁺* genində mutasiyanı daşıyan bölünən maya G_2 -də arrest olunur, bu göstərir ki, Wee1-ə əks olan fosfataza mitozu daxil olmaq üçün vacibdir.

Onurğalılar çoxsaylı Wee1 proteinkinazalara və Cdc25 fosfatazalara malikdirlər, bunlar yalnız mitotik CDK fəallığına

deyil, həmçinin G_1/S faza CDK-lərin də fəallığına nəzarət etmək üçün qarşılıqlı işləyirlər. Cdc25 fosfatazalar ailəsinin bir nümayəndəsi Cdc25A G_1 -in sonunda fəallaşır. O kinazaları fəallaşdırmaq üçün G_1/S faza CDK və S faza CDK katalitik subvahidlərdə tirozin 15-də ingibirləşdirici fosforlaşmanı uzaqlaşdırır. Ailənin başqa bir nümayəndəsi, Cdc25C G_2 zamanı fəal olur və mitoz CDK-lərində ingibirləşdirici fosforlaşmanı uzaqlaşdırır.

Mitoz CDK-lərin fəallığı Wee1-in sürətli fəalsızlaşmasının və Cdc25-in fəallaşmasının nəticəsidir. Bu sürətli keçidin mərkəzində geriye əlaqə ilgəkləri durur, bununla da mitoz CDK-ləri CDC25-i fəallaşdırır və Wee1-i fəalsızlaşdırır (bax Şəkil 19-18). Cdc25-in mitoz CDK-lərlə fosforlaşması onun fosfataza fəallığını stimullaşdırır, Wee1-in mitoz CDK-lərlə fosforlaşması onun kinaza fəallığını ingibirləşdirir. Davam edən DNT replikasiyası Cdc25 fəallığını ingibirləşdirir. Bizim barəsində az bildiyimiz çox kritik əhəmiyyətli sual DNT-nin replikasiyası tamamlandıqdan sonra bu müsbət geriye əlaqənin necə başlanmasıdır. Belə hesab edilir ki, hüceyrə tsiklinin əvəlinə fəaliyyət göstərən CDK-lər müsbət geriye əlaqəyə start verir.



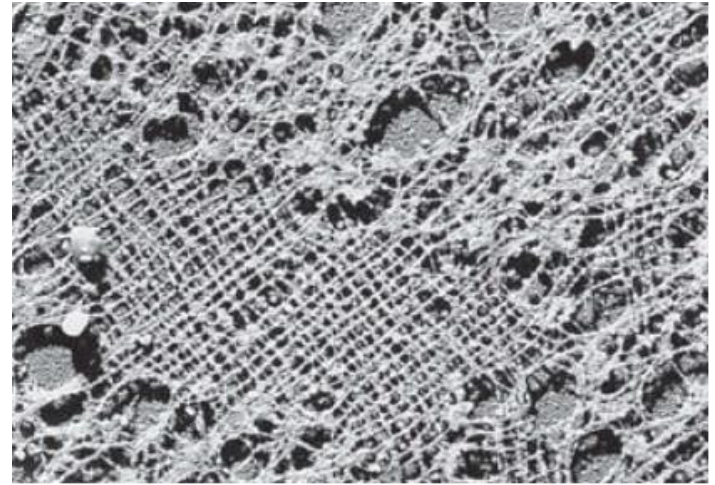
ŞƏKİL 19-18 CDK subvahidinin fosforlaşması S faza və G_2 müddətində mitoz CDK fəallığını məhdudlaşdırır. Mitotik tsiklinlər S faza və G_2 müddətində sintez olunur və CDK1 ilə birləşir. Amma, tsiklin-CDK kompleksi fəal deyildir, çünki CDK1 subvahidinin treonin 14 və tirozin 15 qalıqları proteinkinaza Wee1 vasitəsilə fosforlaşmışlar. DNT replikasiyası başa çatdıqdan sonra, proteinfosfataza Cdc25 fəallaşır və CDK1-i defosforlaşdırır. Fəal mitotik CDK-lər, sonra Cdc25-i stimullaşdırır. Eyni zamanda, mitotik CDK-lər ingibirləşdirici fosforlaşmanı CDK subvahidində edən proteinkinaza Wee1-i ingibirləşdirir. Davam edən DNT replikasiyası Cdc25 fəaliyyətinə maneə olur. DNT replikasiyası başa çatdıqdan sonra bu geriye-əlaqə ilgəyini hərəkətə gətirmək üçün Cdc25-in əvvəlcədən necə fəallaşdırıldığı hələ məlum deyil. Hüceyrənin ölçüsü də bu tənzimləmə ilgəyinə təsir göstərir. Hüceyrə müəyyən ölçüyə çatdıqdan sonra Cdr2 Wee1-i ingibirləşdirir, Cdc25-in mitotik CDK-ləri fəallaşdırmasına imkan verir.

Baxmayaraq ki, mitoz CDK-lərin qəfil fəallaşmasının necə başladığı hələ bu vaxta qədər məlum deyil, bu aydındır ki, fəal olanda bu proteinkinazalar hüceyrəni xromosom seqreçiyasına hazırlayarkən lazım olan bütün hadisələri hərəkətə gətirirlər. Mitoz CDK-lərin fəallaşması bu kinazaların hüceyrədəxili yerləşməsindəki dəyişikliklə bağlıdır. Mitoz CDK-lər başlanğıcda sentrosomlarla assosiasiyada olur və hesab edilir ki, onlar burada sentrosom yetişməsinə asanlaşdırır. Sonra onlar nüvəyə daxil olurlar və burada xromosom kondensasiyasına və nüvə qabığının dağılmasına səbəb olurlar. Bundan sonra biz, mitoz CDK-lərin mitozun icrasını necə həyata keçirəcəyini müzakirə edəcəyik.

DNT replikasiyasının inisiasiyası zamanı, MCM helikaza fəallığını yüksəltmək üçün S faza CDK-lər DDK ilə birlikdə işləyir. Oxşar qaydada, mitoz CDK-ləri mitoz hadisələrinin başlanması üçün başqa proteinkinazalarla birgə (əlbir) fəaliyyət göstərirlər. Polo kinaza ailəsi mitoz şpindelinin əmələ gəlməsi üçün və eləcə də xromosom seqreçiyası üçün kritik əhəmiyyətlidir. Aurora kinaza ailəsi mitoz şpindelinin yaranmasında əsas rol oynayır və xromosomların düzgün yolla mitoz şpindelində elə birləşməsinə təmin edir ki, onlar mitoz zamanı dəqiq seqreçiyaya edə bilsinlər. Onların müxtəlif mitotik hadisələrə töhfələri (koməyi) də müzakirə olunacaq.

Mitoz CDK-ləri Nüvə Qabığının Dağılmasını Təşviq Edir

İnterfaza zamanı, xromosomlar nüvə qabığı ilə əhatə olunurlar. Mitoz şpindelini nukleasiya edən sentrosomlar sitoplazmada yerləşirlər. Xromosomların sentrosomlar tərəfindən nukleasiya olunan mikroborucuqlarla əlaqəyə kirməsi üçün nüvə qabığının sökülməsi lazımdır.



ŞƏKİL 19-19 Xenopus oositində nüvə laminasının elektron mikrofotusu. Lamin aralıq filamentlərin adi tor-şəkilli şəbəkəsi daxili nüvə membranına çox yaxın (bitişik) yerləşmişdir (bax Şəkil 18-47). [Nature-nin razılığı ilə "Electron micrograph of the nuclear lamina from a Xenopus oocyte," U. Aebi et al., p. 323, 1986-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc.-dən alınmışdır.]

Nüvə qabığı endoplazmatik şəbəkənin çox sayda nüvə məsələləri kompleksinə malik olan iki membranlı uzanmasıdır (bax Şəkillər 1-12, 13-33, və 1-15). Daxili nüvə membranının lipid ikiqatlı nüvə laminası ilə, nüvə qabığının daxili səthinə çox yaxın (bitişik) olan lamin filamentlərinin şəbəkəsi ilə assosiasiyada olur (Şəkil 19-19, həmçinin bax Şəkil 1-15). Onurğalının hüceyrələrində mövcud olan üç nüvə lamini (A, B və C) sitoskelet zülalları sinifindən aralıq filamentlərə aiddirlər və hüveyrə membranının saxlanılmasında kritik əhəmiyyətliyərlər. G₂-nin sonunda mitoz CDK-ləri fəallaşdıqdan sonra, onların hər üçü nüvə laminasında spesifik serin qalıqlarını fosforlaşdırır. Bu fosforlaşma lamin aralıq filamentlərin depolimerləşməsinə (dağılmasına) səbəb olur. Nüvə laminalarının depolimerləşməsi nüvə laminasının dağılmasına səbəb olur və nüvə qabığının parçalanmasına kömək edir.

Mitoz CDK-lər başqa nüvə qabığı zülallarına da təsir edir. CDK-lər, profaza zamanı nüvə məsələləri komplekslərinin subkomplekslərə dissosiasiya etməsinə səbəb olan spesifik nüvə zülallarını da (nucleoproteins) fosforlaşdırırlar. Daxili nüvə membranında inteqral membran zülallarının fosforlaşması guman olunur ki, onların xromatinə olan affinliyini azaldır, sonra da nüvə qanığının dağılmasına kömək edir. Daxili membran zülalları ilə nüvə laminaları və xromatin arasındakı assosiasiyanın zəifləməsi daxili nüvə membranının vəərəqlərinin, xarici nüvə membranının davamı olan endoplazmatik şəbəkə daxilinə çəkilməsinə imkan verir.

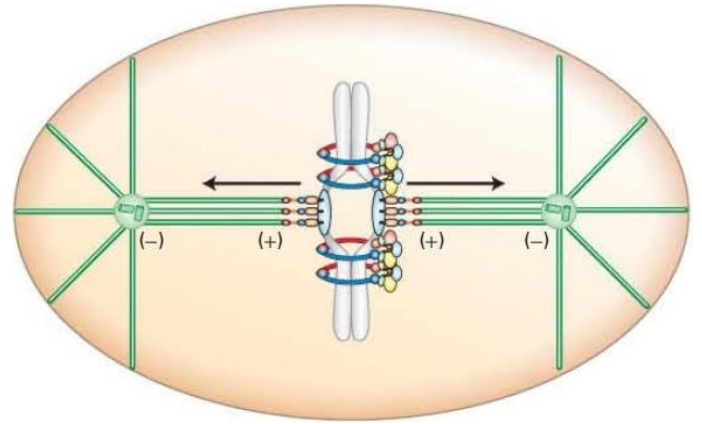
Mitoz CDK-lər Mitoz Şpindelini Formalaşmasını Təşviq Edir

Mitoz CDK-lərin əsas funksiyası, mitoz aparatı kimi məlum olan mitoz şpindelini yaranmasını induksiya etməkdir. Bizim Fəsil 18-də gördüyümüz kimi, mitoz şpindelini xromosomlarla assosiasiyada olan, kinetoxorlar kimi tanınan xüsusi zülal quruluşlarla xromosomlara birləşən mikrorucuqlardan qurulmuşdur. Əksər orqanizmlərdə mitoz şpindelini, bəzi hallarda **şpindel qütb cismləri** kimi adlandırılan **sentrosomlarla** təşkil olunur. Sentrosomlar xüsusi tubulina, γ -tubulina malik olurlar, bunlar da assosiasiyada olduğu başqa zülallarla mikrorucuqları nukleasiya edirlər. Bu sentrosom-əsaslı şpindel toplanması mexanizmində tez nəzərə çarpan istisnalar ali bitkilərdə və metazoan oositlərində olur. Bu hüceyrələrdə mikrorucuqların (-) sonluğu kəşifən-əlaqəlidirlər və mikrorucuqlar ozlərini şpindelə toplayırlar

Mitoz şpindelini funksiyası xromosomları seqreasiya etməkdir, belə ki, bacı xromatidlər bir-birindən ayrılısın və hüceyrənin əks qütblərinə çəkilsinlər (bax Şəkil 18-38). Buna nail olmaq üçün, mitoz şpindelini xromosoma elə yapışmalıdır ki, hər bir bacı xromatid cütünün bir kinetoxoru əks şpindel qütbündən çıxan mikrorucuğa birləşsin. Ona görə belə bacı xromatidlərə bi-orientasiyalı deyilir. Biz bunun ardınca mitoz şpindelini necə formalaşdığını, xromosomların ona necə birləşdiyini və hüceyrənin səhv qoşulmaları necə düzgün bərpə etdiyini təsvir edirik.

G₁ zamanı hüceyrələr, hüceyrənin əsas mikrorucuq nukleasiya edən mərkəzi kimi fəaliyyət göstərən tək sentrosoma malik olurlar. Mitoz şpindelini formalaşması G₁-S faza keçidində sentrosomların ikiləşməsi ilə başlayır. Bu ikiləşmənin baş verdiyi mexanizm tam anlaşılmayıb, amma bu prosesin

asasında, qısa mikrorucuqların bir-birinə ortoqonal düzülüşü olan cüt **sentriolların** ikiləşməsi durur. Fəsil 18-də müzakirə edildiyi kimi, G₁ hüceyrələr sentriolların tək cütünə mlik olurlar. S fazaya keçidlə əlaqədar və G₁/S faza CDK-lərin işə salması ilə iki sentriol bir-birindən uzaqlaşır və hər bir sentriol yeni qız sentriolunu inkişaf etdirməyə başlayır (bax Şəkil 18-36). Yeni sentriollar böyüyür və S faza müddətində yetkinləşirlər, hər bir sentriol cütü sentrosomal materialları toplamağa başlayır və G₂-də iki sentrosom formalaşmış olur. Sentrosom ikiləşməsində nəzarət edən bir neçə əlavə proteinkinaza identifikasiya olunmuşdur. Onlar arasında başda konservativ Polo kinaza ailəsinin nümayəndəsi Plk4 durur. G₁/S faza CDK-ləri və Plk4-ün sentrosom ikiləşməsinə necə təşviq etdiyi hələ tam anlaşılmır, amma guman olunur ki, buraya sentrosomların ikiləşməsinə və böyüməsinə asanlaşdırıcı bir çox sentrosom komponentlərinin fosforlanması daxildir. Biz görəyik ki, Polo kinazalar yalnız sentrosom ikiləşməsində aparıcı rol oynamır, onlar eyni zamanda mitozun bütün başqa aspektlərində də əhəmiyyətli iştirak edirlər.



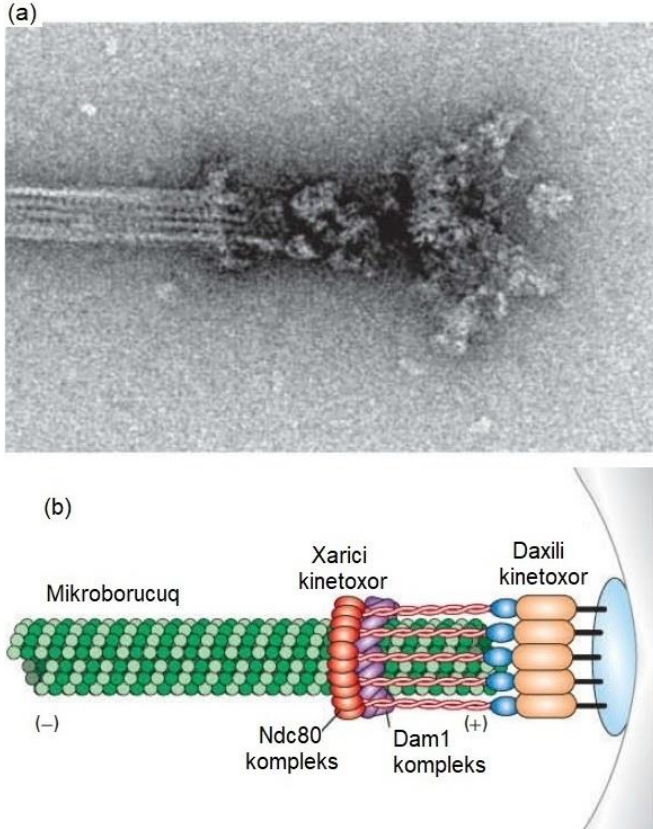
ŞƏKİL 19-20 Xromosomların mitoz şpindelini birləşməsi.

Xromosomlar mitoz şpindelini birləşir və şpindel mərkəzini toplayırlar. Sonra onlar kinetoxorlar vasitəsi ilə mikrorucuqların uclarına birləşirlər (ucdan-birləşmə kimi adlanır) və bu birləşilmələr əlavə mikrorucuqlarla stabilləşirlər. Mitoz şpindelində xromosomun stabil bi-orientasiyalı olduğu son xromosomun bağlanması göstərilir. “(-) uc” mikrorucuqların mənfi sonluğunu, “(+) uc” isə müsbət sonluğunu göstərir.

Mitoz şpindelini yaranmasını inisiasiya edən əsas pillə ikiləşmiş sentrosomları bir yerə gətirən əlaqələrin qırılmasıdır. Bu sentrosomların ayrılması G₂-də baş verir və mitoz CDK-lərlə həyata keçirilir (bax Şəkil 18-36). Bu ayrılma nə qədər tez baş verərsə, hər iki sentrosomdan uzanan mikrorucuqlar və iki sentrosom motor zülalı dineinlə dərhal bir-birindən uzaqlaşır. Mikrorucuq düzülüşünün formalaşması və mitoz şpindelini toplanmasının xüsusiyyətləri Fəsil 18-də müzakirə olunmuşdur. Biz burada xromosomların şpindelə necə birləşdiyini və prosesdəki səhvlərin necə düzəldildiyini qısaca nəzərdən keçiririk.

Mitoz zamanı xromosomların dəqiq bölünməsi üçün bacı xromatid cütləri mitoz şpindelində stabil şəkildə bi-orientasiya

olunmalıdır (Şəkil 19-20). Bu necə yerinə yetirilir? Xromosomlar bir-birindən uzaqlaşdıqdan sonra, mikroborucuqlar axtar-və-tut mexanizmində bacı xromatid cütlərinin kinetoxoru ilə qarşılıqlı əlaqəyə girirlər. Əvvəlcə xromosomlar motor zülalları ilə hərəkət edilən mikroborucuqların uzunluğu boyu sürüşürlər. Xromosom mikroborucuğun (+) ucuna çatanda kinetoxorlar ucdan qoşulmaqla mikroborucuqlara yapışırlar, son konfigurasiyada xromosomlar mitoz şpindelində birləşmiş olurlar (Şəkil 19-21, həmçinin bax Şəkil 18-41). Sonra bacı xromatidlərin kinetoxorları əks qütblərdən çıxan mikroborucuqlara birləşirlər.

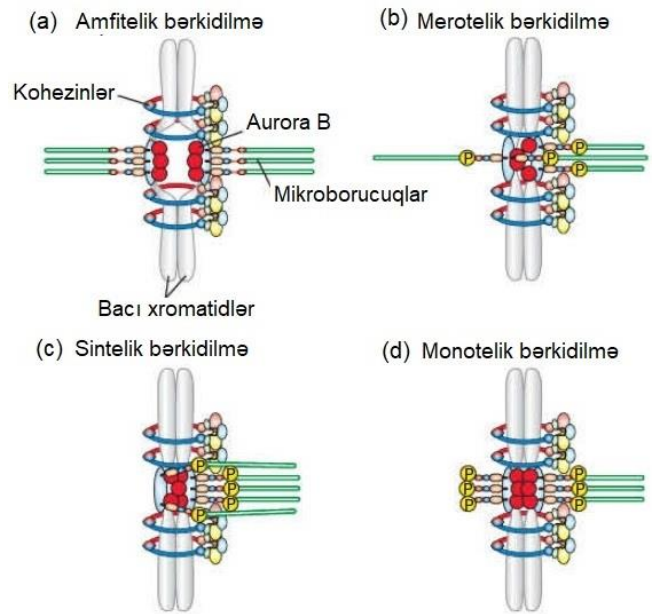


ŞƏKİL 19-21 Taksol ilə stabilləşən mikroborucuqlara birləşmiş təmizlənmiş maya kinetoxorlarının elektron mikrofotusu. (a) Maya kinetoxorlarının mikroborucuqlara ucdan qoşulması. (b) Təsvirin cizgilərlə sxemləşdirilmiş əsas xüsusiyyətləri. Mikroborucuğu əhatə edən halqa quruluşu çox güman ki, xarici kinetoxor Dam1 kompleksini və Ndc80 kompleksinin bir hissəsini, həmçinin xarici kinetoxor komponentini təmsil edir. Kompleksin sonunda qlobulyar quruluş böyük ehtimalla daxili kinetoxoru və daxili kinetoxorla xarici kinetoxoru əlaqələndirən zülal komplekslərini əks etdirir. [(a) hissəsi S. Gonen et al., 2012, *Nature Struct. Mol. Biol.* 19:925-929, Fig. 2d.]

Xromosomun mitoz şpindelində bağlanması son məqsədi odur ki, hər bir xromosom mitoz şpindelində bi-orientasiyalı şəkildə birləşmiş olsun (bu həmçinin amfipatik birləşmək kimi də başa düşülür, Şəkil 19-22a). Hüceyrə bunun baş verdiyini necə “bilir”? Xromosom birləşmələrinin mikroskopik analizləri göstərdi ki, ilkin olaraq çox xromosomlar mikroborucuqlara səhv yollarla birləşirlər. Kinetoxorlar hər iki qütblərdən çıxan

mikroborucuqlara birləşə bilirlər, belə vəziyyət **merotelik qoşulma** adlanır (Şəkil 19-22b). Bacı xromatid cütlərinin kinetoxorları eyni qütblərdən çıxan mikroborucuqlara birləşə bilirlər (**sintetik qoşulma**; Şəkil 19-22c), və ya yalnız bir kinetoxor mikroborucuğa birləşə bilər (**monotelik qoşulma**; Şəkil 19-22d). Aydın ki, bu qoşulmalardan heç biri dəqiq xromosom segregasiyası ilə nəticələnməz. Beləliklə, bu cür səhv qoşulmaların aşkar edilməsi və düzəldilməsi mexanizmləri mövcud olmalıdır.

Hüceyrələrin səhv qoşulmaları aşkar etmək üçün istifadə etdiyi hissetmə mexanizmi gərginliyə əsaslanır. Bacı xromatidlər mikroborucuqlara düzgün birləşəndə onların kinetoxorkarı gərginlik altında olur (bax Şəkil 19-22a). Kinetoxorlara birləşmiş mikroborucuqlar onları dartır və bacı xromatidləri bir yerdə saxlayan kohezin molekulları bu qüvvələrə qarşı olur və kinetoxorlarda gərginliyi əmələ gətirir. Merotelik, sintetik və ya monotelik qoşulmalar kinetoxorlarda kifayət qədər gərginliyi əmələ gətirə bilmirlər, hüceyrənin bu qoşulmaların səhv formalarını düzgün amfotelik formadan fərqləndirib aşkar etməsinə imkan verir.



ŞƏKİL 19-22 Stabil və qeyri stabil xromosom qoşulmaları. Bacı kinetoxorlar qarşı şpindel qütblərindən çıxan mikroborucuqlara birləşəndə onlar stabil birləşirlər. Bu konfigurasiya amfotel qoşulma adlanır. (a) Mikroborucuqlar (yaşıl) kinetoxorları dartır, kohezinlər bu dartma qüvvəsinə qarşı dururlar. Nəticədə alınan gərginlik xarici kinetoxor komponenti Ndc8-i (sarı) dartaraq daxili kinetoxorda yerləşən Aurora B (qırmızı) proteinkinazadan uzaqlaşdırılır. Nəticədə, Aurora B artıq Ndc80-i fosforlaşdırma bilmir və kinetoxor-mikroborucuq qoşulmaları stabil olur. Bir kinetoxor iki əks şpindel qütblərindən çıxan mikroborucuqlara birləşəndə (merotelik qoşulma, b), və ya hər iki bacı xromatid eyni şpindel qütblərindən çıxan mikroborucuqlara birləşəndə (sintetik qoşulma, c), və yaxud iki bacı kinetoxorlardan yalnız biri mikroborucuqlara birləşəndə (monotelik qoşulma, d) Ndc80 Aurora B-dən kənara dartılmır. Nəticədə, Aurora B Ndc80-i fosforlaşdırır və Ndc80 artıq mikroborucuqlara birləşə bilmir.

Hüceyrələr kinetoxorların gərginlik altında olmalarını necə hiss edirlər? Birlikdə *xromosomal sərnəşin kompleksi* (*chromosomal passenger complex – CPC*) kimi tanınan Aurora B proteinkinazası və onunla assosiasiyada olan tənzimləyici faktorlar kinetoxorların gərginlik altında olmalarını hiss edirlər və bu mikroborucuq qoşulmalarını məhv edirlər, hüceyrəyə düzgün qoşulmanı etmək üçün yeni imkan yaradırlar. Bu hissetmə mexanizminin molekulyar əsasları qismən anlaşılır. Yada salaq ki, xarici kinetoxor komponentləri, xüsusən Ndc80 kompleksi mikroborucuqlara birləşir (bax Şəkil 18-41). Aurora B Ndc80-ı fosforlaşdırır. Bu zülal fosforlaşanda mikroborucuq-birləşmə qabiliyyətini itirir. Aurora B daxili kinetoxorda yerləşir. Kinetoxorlar gərginlik altında olmayanda, Ndc80 Aurora B-nin çox yaxınlığında yerləşir və proteinkinaza zülalı fosforlaşdırma bilir, onun istənilən kinetoxor-mikroborucuq qoşulmalarının sabitliyini pozur (bax Şəkil 19-22b-d). Mikroborucuqlar kinetoxorlara düzgün birləşəndə, mikroborucuq qüvvəsi Ndc80-i dartaraq Aurora B-dən uzaqlaşdırır və kinaza artıq Ndc80-i fosforlaşdırma bilmir (bax Şəkil 19-22a). Proteinfosfataza 1 (PP1) xarici kinetoxorda yerləşir və fasiləsiz şəkildə Ndc80-i defosforlaşdırır. Beləliklə, kinetoxorlar gərginlik altında olanda və dartılaraq Aurora B-dən uzaqlaşdırılarda Ndc80 sürətlə PP1 vasitəsilə defosforlaşır və mikroborucuq-kinetoxor qoşulması stabilləşir.

Mikroborucuqlar fasiləsiz şəkildə xromosomları dartırlar. Bütün xromosomlar amfitelek şəkildə mikroborucuqlara birləşdikdən sonra, xromosomların qütblərə seqreqasiyasına maneə olan yeganə maneə, onları geridə, şpindelin ortasında saxlayan kohezinlərdir (bax Şəkil 19-22a). Bizim 19-6 bölməsindən görəcəyimiz kimi, anafazda xromosomların seqreqasiyasını inisiasiya edən məhz bu kohezinlərin kəsilməsidir.

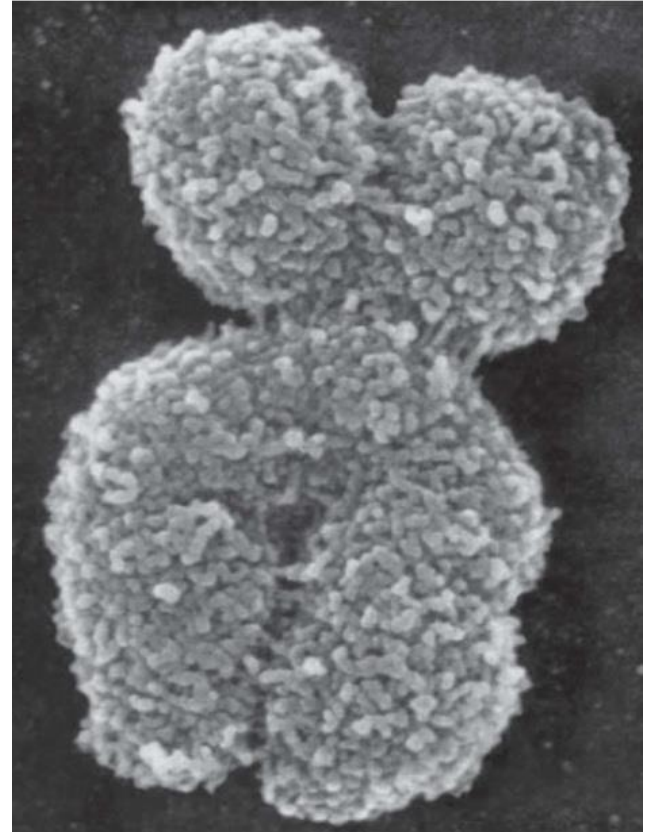
Xromosom Kondensasiyası Xromosom Seqreqasiyasını Asanlaşdırır

Xromosom seqreqasiyası yalnız xromosomları seqreqasiya edən aparatın qurulmasını tələb etmir, o həmçinin DNT-nin səyahət üçün yararlı quruluşda sıxılmasını tələb edir. İnterfazda mövcud olan uzun, birləşmiş DNT-zülal komplekslərini seqreqasiya etmək üçün edilən istənilən cəhd DNT-nin qırılması və bununla da genetik materialın itirilməsi ilə nəticələnməlidir. Belə müqəddaratın qarşısını almaq üçün, hüceyrələr profaza zamanı öz xromosomlarını, bizim işıq və ya elektron mikroskopu ilə əldə etdiyimiz yoğun quruluşda sıxırlar (Şəkil 19-23).

Xromosom kondensasiyası xromosomların uzunluğunun dramatik dərəcədə, onurğahlarda 10000 dəfə qısalmasına səbəb olur. Kompakt sıxma prosesinin ikinci əsas aspekti bir-birinə sarınmış bacı xromatidlərin açılmasıdır. Bacı xromatidlərin həllənməsi adlanan bu proses, qismən topoizomeraza II-nin dekatensasiya (tənəzzül) fəaliyyəti nəticəsində eyni zamanda kondensasiya prosesi ilə həyata keçirilir.

Son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, xromosom kompaktlaşması ardıcıl ilgəklərin yaranması və bu ilgəklər əsasında liflərin yaranması ilə baş verir (Şəkil 19-24a). Sonra bu liflər sıxılaraq daha sonrakı xromosom kompaktlaşmasına səbəb olurlar (Şəkil 19-24b). Xromosom kondensasiyası prosesinin mərkəzində kondensin kimi tanınan zülal kompleksi durur. DNT

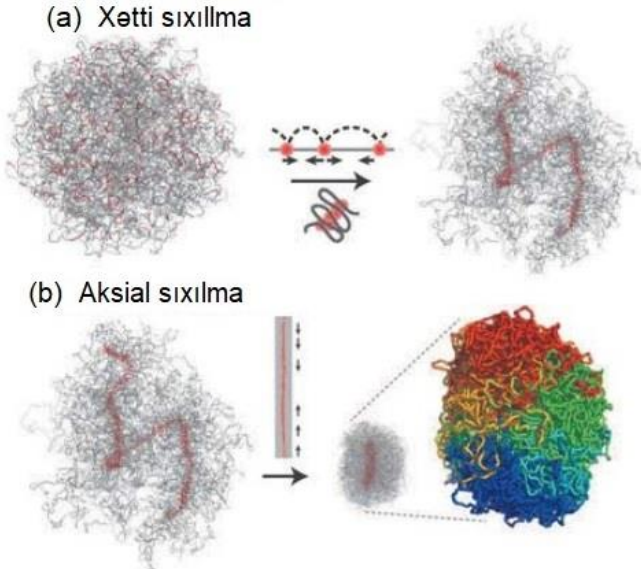
replikasiyasından sonra bacı xromatidləri bir yerdə saxlayan kohezinlərə yaxın olan bu zülal kompleksi, ilk dəfə qurbağa yumurtasında xromosom kondensasiyasını gücləndirə bilmək qabiliyyətinə əsasən identifikasiya olunmuşdur. Kohezinlər kimi, kondensinlər bir-birilə ATP-aza domenləri ilə və qeyri-SMC subvahidləri ilə assosiasiyada olan iki böyük spirallaşmış-spiral SMC zülal subvahidlərdən təşkil olunmuşlar. Kondensinlər hüceyrədə funksiyalarını itirəndə xromosomlar kondensasiya etmir və bacı xromatidlərin dolaşığı açılır. Görünür kondensinlər xromosomları ardıcıl ilgəklərdə bükən xromosom daxili əlaqələri yaradır. Onların xromosomlarla assosiasiyası mitoz CDK-ləri və Aurora B ilə asanlaşır. Bu iki proteinkinaza histon H2A-nı fosforlaşdıraraq kondensinin xromatinə birləşməsinə imkan yaradırlar.



ŞƏKİL 19-23 Metafaza xromosomunun skanerli elektron mikrofotusu. Metafaza zamanı xromosomlar tam kondensasiya edirlər və iki fərdi bacı xromatidlər görünür. [Biophoto Associates/Science Source.]

Nəhayət, kohezinlərin dissosiasiyası xromosomların daha da kompaktlaşmasına səbəb olur. Kohezinlərin böyük bir fraksiyası profaza zamanı xromosomlardan uzaqlaşdırılır (bax Şəkil 19-17, pillə 3). Bu proses kohezinlərin Polokinaza A və Auroar B kinaza ilə fosforlaşmasıyla həyata keçir. Əksər orqanizmlərdə, kohezinlər yalnız sentromerlər ətrafında saxlanılır. Kohezinlər sentromerlər ətrafında proteinfosfataza 2A (PP2A) vasitəsilə fosforlaşmadan-asılı olan uzaqlaşdırılmaqdan mühafizə olunurlar. Bu fosfataza sentromer rayonuna səfərəbr olunur. Bu fosfatazanı sentromer rayonuna Mei-S332/Şaqoşin ailəsi zülalları kimi məlum olan PP2A

hədəfləmə faktorunun nümayəndələri səfərbər edirlər. Kohezinlərin mühafizə olunan toplusu, bi-orientasiya olunmuş kinetoxorlarda gərginliyi yaratmaq üçün mikroborucuqların istifadə etdikləri dartılma gücünə davamlılığı təmin edir. Bizim 19.8 bölməsində görəcəyimiz kimi, bu mühafizə mexanizmi meyozun xromosom seqreçasiya profilinin yaradılmasında da əhəmiyyətli rol oynayır.



ŞƏKİL 19-24 Mitoz zamanı xromosom sıxılması modeli. (a) Xromosomların ardıcıl ilgəklərə bükülməsi ilgəklərin əsasında zülal liflərin əmələ gəlməsinə səbəb olur. (b) Bu xromosom sıxılmaları daha sonra sıxılaraq yüksək kondensasiya olunmuş xromosomları yaradır. İlgəklərin əmələ gəlməsi üçün cavabdeh olan zülalları yəqin ki, kondensinlərdir. [AAAS razılığı ilə Science, N. Naumova et al., 342, 6161, 2013-dən yenidən çap olunur. Razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

19.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mitoza Giriş

- Bütün eukariotlarda mitoz CDK-ləri mitoz girişini induksiya edirlər.
- Mitoz CDK-ləri DNT replikasiyası tamamlanana qədər CDK subvahidlərin ingibitoru fosforlaşması ilə qeyri fəal saxlanılır.
- Mitoz CDK-ləri müsbət geryə əlaqə ilə Wee1 kinazının sürətli fəalsızlaşması və Cdc25 fosfatazının fəallaşması yolu ilə öz fəallıqlarını yüksəldirlər.
- Mitoz CDK-ləri əksər eukariotlarda laminləri fosforlaşdırmaqla nüvə qabığının dağılmasını induksiya edirlər.
- Sentrosomların ikiləşməsi S faza dövründə baş verir. Mitoz CDK-ləri ikiləşmiş sentrosomların ayrılmasını induksiya edir və mitoz şpindelini əmələ gəlməsini inisiyasiya edirlər.
- Bacı xromatidlər kinetoxorlar vasitəsi ilə bi-orientasiyalı formada mitoz şpindelində birləşirlər, bir bacı kinetoxor bir şpindel qütübündən çıxan mikroborucuğa birləşir, digər

kinetoxor isə başqa şpindel qütübündən çıxan mikroborucuğa birləşir.

- Hüceyrələr bacı xromatidlərin bi-orientasiyasını gərginləşdirən mexanizmlə hiss edirlər. Kinetoxorlar gərginlik altında olmayanda Aurora B proteinkinaza kinetoxorların mikroborucuq-birləşdirən subvahidini fosforlaşdırır, nəticədə onların mikroborucuq-birləşdirmə affinliyi azalır.
- Xromosomlar seqreçasiya üçün kompakt sıxlaşdırılmalıdır.
- Kohezinlərə yaxın olan zülal kompleksləri kondensinlər xromosom kondensasiyasını asanlaşdırır və mitoz CDK-ləri ilə fəallaşdırılır.

19.6 Mitozun Tamamlanması: Xromosomların Seqreçasiyası və Mitozdan Çıxış

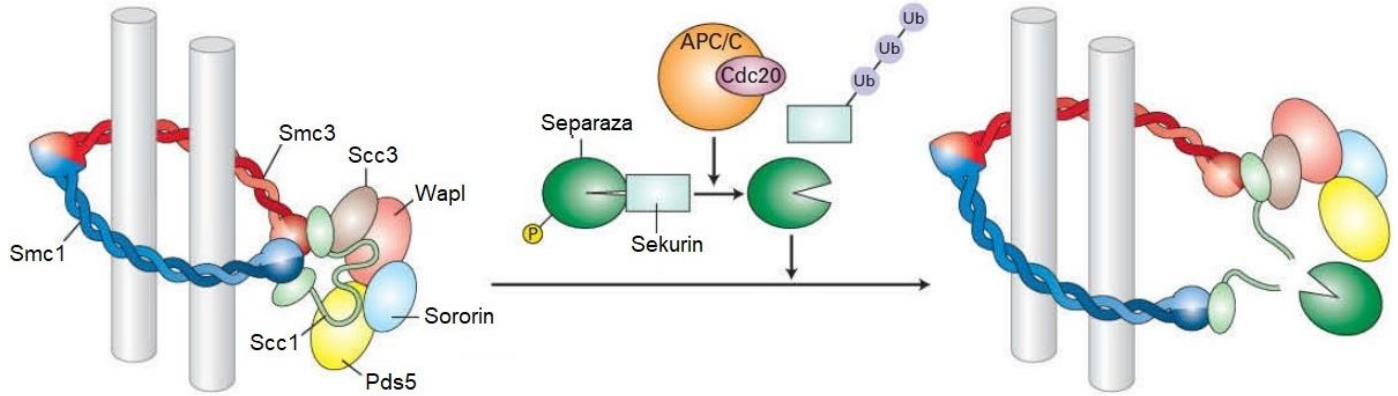
Bütün xromosomlar kondensasiya olunduqdan və mitoz şpindelində düzgün qoşulduqdan sonra, xromosom seqreçasiyası başlanır. Bu bölmədə, kohezinlərin separazalar kimi məlum olan proteazalarla doğranmasının anafaza xromosom hərəkətinə səbəb olmasını və bu doğranmanın necə tənzimlənməsini müzakirə edirik. Sonra biz metafaza-anafaza keçidində kohezinlərin doğranmasını inisiyasiya edən eyni mexanizmin, APC/C, həmçinin mitoz CDK-lərin inaktivasiyasını inisiyasiya etdiyini görürük. Daha sonra biz, mitozun sonunda fəallaşan fosfatazaların mitoz CDK-lərin fəalsızlaşmasında iştirak etdiyini, mitoz quruluşların pozulmasına gətirdiyini və hüceyrələrin G₁ fazasına keçirilməsini görürük. Biz bu bölməni, iki qız hüceyrəni əmələ gətirən proses olan sitokinezi müzakirə etməklə başa çatdırırıq.

Kohezinlərin Separaza Vasitəsilə Kəsilməsi Xromosom Seqreçasiyasını Inisiyasiya Edir

Əvvəlki bölmədə qeyd olunduğu kimi, metafaza xromosomun hər bir bacı xromatidi öz kinetoxoru vasitəsi ilə mikroborucuğa qoşulur (bax Şəkil 19-20). Metafazada, mitoz şpindel, iki kinetoxoru əks qütblərə doğru dartılmağa məcbur edən gərginlik vəziyyətində olur, amma bacı xromatidlər ayrılırlar, çünki onlar sentromerlərində kohezinlər vasitəsi ilə bir yerdə saxlanılırlar. Bu vaxta qədər analiz olunan bütün orqanizmlərdə, kohezinlərin xromosomlardan itirilməsi anafaza xromosom hərəkətinə səbəb olur. Kohezinlərin xromosomlardan belə itirilməsinə gətirib çıxaran mexanizm də konservativdir. Separaza kimi məlum olan proteaza kohezin subvahidi Scc1-i (Rad21) doğrayır, bacı xromatidləri əlaqələndirən zülal dairələri qırır (Şəkil 19-25). Bu əlaqə qırıldıqdan sonra, kinetoxorlara təsir edən qütblərə yönəlmiş qüvvə ayrılmış bacı xromatidləri əks qütblərə doğru hərəkət etdirdiyindən anafaza başlayır.

Kohezinin doğranması tumurcuqlayan mayada aşkar edilmişdir. Scc1 subvahidinin Western blot analizi göstərdi ki, G₁-dən metafazaya qədər zülal poliakrilamid elektroforez gelində onun ehtimal olunan molekulyar çəkisinə uyğun olaraq miqrasiya etmişdir, amma anafaza zamanı zülal gəldə əhəmiyyətli dərəcədə sürətlə miqrasiya edir bu göstərir ki, o necə kiçildir. Sonrakı tədqiqatlar göstərdilər ki, Scc1-in sürətlə miqrasiya edən forması əslində doğranmış məhsuldur. Kohezinlərin parçalanmasında cavabdeh olan zülal barədə

fikirler, əvvəllər identifikasiya olunmuş, anafaza zamanı xromosom seqreqasiyasından məhrum olan, maya mutantlarının analizindən gəlmişdir. Esp1 kodlaşdıran genin mutant forması – indi biz bilirik ki, bu separazadır – fraqmentlərə parçalanmanı yerinə yetirə bilmir. Sonrakı analizlər yalnız separazanın proteaza olmasını deyil, həmçinin kohezirlərin bu doğranmasının xromosom seqreqasiyası üçün çox vacib



ŞƏKİL 19-25 Kohezirlə parçalanmanın tənzimlənməsi. Kohezirlərin komplekslərinin Scc subvahidini parçalayan proteaza separaza anafazadan əvvəl sekurinlə birləşməklə ingibirləşir. Mitoz CDK-ləri də separazanı fosforlaşdıraraq onu ingibirləşdirirlər. Bütün kinetoxorlar şpindel mikroborucuqlarına birləşdikdə və şpindel aparatı düzgün toplandıqdan və istiqamətləndikdən sonra, APC/C ilə assosiasiya edən

olduğunu da göstərdi. Doğranma saytlarında mutasiya olunmuş Scc1 formasını ekspressiya edən hüceyrələr öz xromosomlarını seqreqasiya edə bilmirlər. Scc1 doğranmanın geriye dönməyən təbiətini nəzərə almaqla, separazanın fəaliyyətinin sıx şəkildə idarə edilməsi vacibdir. Buna görə də biz onun tənzimlənməsini müzakirə edirik.

APC/C Sekurin Ubikvitinilləşməsi Yolu ilə Separazanı Fəallaşdırır

Anafazadan əvvəl, sekurin kimi tanınan zülal separazaya birləşərək onu ingibirləşdirir (bax Şəkil 19-25). Bütün kinetoxorlar şpindel mikroborucuqlarına düzgün və bi-orientasiyalı şəkildə qoşulduqdan sonra, spesifiklik faktoru Cdc20 ilə yönəldilmiş APC/C ubikvitin-proteinliqaza (birlikdə APC/C^{Cdc20} kimi tanınır) sekurini ubikvitinilləşdirir (qeyd edək ki, bu spesifiklik faktoru, APC/C substratları mitozun sonunda və G₁-də parçalanmaya hədəf edən Cdh1-dən fərqlidir). Poliubikvitinilləşmiş sekurin proteosomlarda sürətlə parçalanır, bununla da separazanı azad edir.

APC/C^{Cdc20} profazada mərhələsində bir neçə APC/C subvahidinin mitoz CDK-lə fosforlaşması ilə fosforlaşır. Amma bu fosforlaşmış APC/C^{Cdc20} xromosomlar mitoz şpindelində bi-orientasiyalı olana qədər fəal olmur. Bizim 19.7 bölməsində görədiyimiz kimi, APC/C^{Cdc20}, bütün xromosomların mitoz aparatında düzgün birləşməsinə nail olmayana qədər anafazanın inisiasiya olunmadığını təmin edən yoxlama nəzarət məntəqəsi tərəfindən ingibirləşir. Cdc20 o vaxta qədər ingibirləşir ki, hər bir kinetoxor mikroborucuqlara qoşulsun və gərginlik bütün bacı xromatidlərin kinetoxorlarına təsir etsin, onları əks şpindel qütblərinə doğru çəksin. Onurğalılarda hüceyrələrində separaza da fosforlaşmaqla tənzimlənir. Mitoz CDK fəallığı profaza və metafaza dövründə separazanı ingibirləşdirir. Yalnız mitotik CDK fəallığı metafaza-anafaza keçidində APC/C^{Cdc20} vasitəsilə zülal parçalanması yolu ilə azalmağa başlayanda separaza fəallaşır və xromosom seqreqasiyasının başlanmasına səbəb olur.

Cdc20 spesifiklik faktoru onu sekurini və mitotik tsiklinləri ubikvitinilləşdirməyə yönəldir. Sekurinin parçalanmasından və mitoz CDK fəallığının enməsindən sonra azad olan və defosforlaşmış separaza Scc1 subvahidini doğrayır, kohezirlərin dairəsini qırır və bacı xromatidlə şpindel aparatı ilə dartılaraq bir-birindən uzaqlaşmağa, şpindelənin əks qütbləri istiqamətində çəkilmələrinə imkan verir.

Kohezirlər kəsildikdən sonra, anafaza xromosomları hərəkətə başlayır. Fəsil 18-də müzakirə edildiyi kimi, xromosom seqreqasiyası mikroborucuqların depolimerləşməsi və motor zülalları vasitəsi ilə şpindel qütblərinin bir-birindən kənara uzaqlaşmasıyla həyata keçir. Mitoz CDK-lərin fəallığının azalması bu anafaza xromosom hərəkətləri üçün çox vacibdir. Mitoz CDK-in inaktivasiyası ingibirləşəndə, anafaza baş verir, amma o anormal olur. Mikroborucuq dinamikasına təsir edən çox sayda mikroborucuq-assosiasiyalı zülalların defosforlaşması da bu proses üçün əhəmiyyətlidir. Tumurcuqlayan mayada, bu defosforlaşma, bizim tezliklə görədiyimiz kimi, hüceyrə tsiklinin son mərhələsində, mitozdan çıxışda mühüm rol oynayan proteinfosfataza Cdc14 ilə həyata keçirilir.

Mitoz CDK İnaktivasiyası Mitozdan Çıxmanı İşə Salır

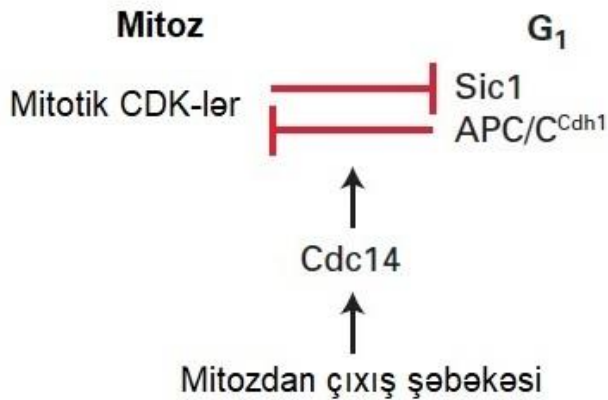
Anafaza şpindel elonqasiyası və mitozdan çıxışla əlaqəli olan hadisələr – mitoz şpindelinin dağılması, xromosom dekonkondensasiyası və nüvə qabığının yenidən formalaşması – CDK substratların defosforlaşması ilə baş verir. Başqa sözlə, mitozdan çıxışa mitoz girişin əksi kimi baxmaq olar. Müxtəlif mitoz hadisələrini işə salan fosforlaşma hadisələri hüceyrənin G₁ vəziyyətinə qayıtması üçün ləğv olunmalıdır.

Mitoz CDK substratların defosforlaşması mitoz CDK-lərin fəalsızlaşması nəticəsində baş verir. Əksər orqanizmlərdə mitoz CDK-lərin fəalsızlaşması mitotik tsiklinlərin APC/C^{Cdc20} vasitəsilə parçalanması ilə baş verir. Mitoz CDK-ləri APC/C^{Cdc20}-ni fəallaşdıran kimi, özlərinin məhv olmasını inisiasiya edirlər. Tumurcuqlayan mayada, təxminən 50 faizə

qədər mitoz tsiklinləri APC/C^{Cdc20} vasitəsi ilə parçalanır. 19.7 bölməsində bizim görəcəyimiz kimi, mitoz tsiklinlərinin toplusu APC/C^{Cdc20}-dən mühafizə olunaraq mitoz şpindelinin hüceyrə daxilində dəqiqliklə yerini tutmasına imkan verir. Mitoz tsiklinlərin fraksiyasının APC/C^{Cdc20}-dən necə mühafizə olunduqları hələ tam aydın deyil, amma aydındır ki, mitoz CDK fəalsızlaşmasının ikinci pilləsi mitozdan çıxmanın baş verməsi üçün lazımdır. Konservativ proteinfosfataza Cdc14 mitoz CDK ingibirləşməsinin ikinci pilləsini həyata keçirir.

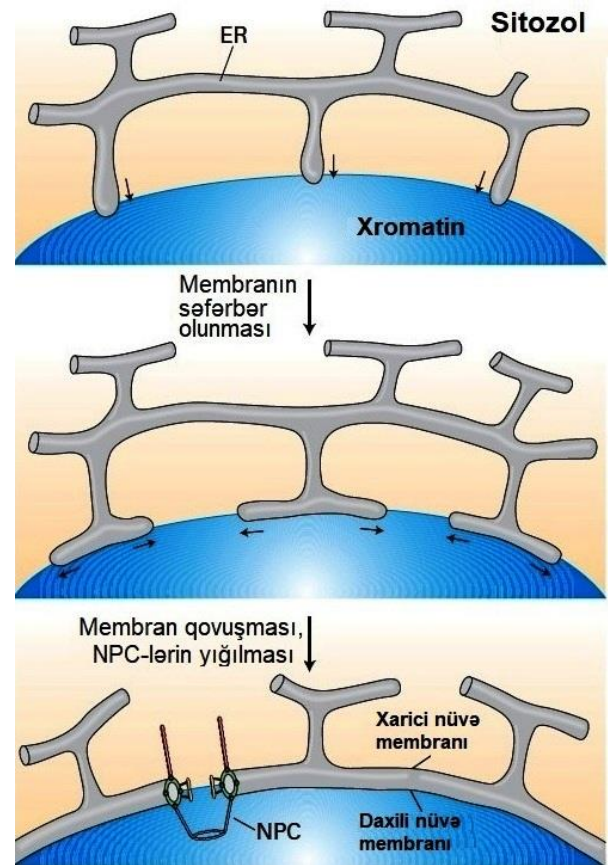
Tumurcuqlayan mayada, mitoz CDK-lərin tam fəalsızlaşması mitoz tsiklinlərinin APC/C^{Cdc20} vasitəsi ilə parçalanmasını və CDK ingibitoru Sic1-in toplanmasını tələb edir, hüceyrələrin hüceyrə tsiklinə daxil olmasına qədər S fazının CDK-lərini nəzarətdə saxlayır. Həm APC/C^{Cdh1} həm də Sic1 mitoz CDK-ləri tərəfindən ingibirləşir. Əksinə, APC/C^{Cdh1} və Sic1 mitoz CDK-ləri ingibirləşdirirlər (Şəkil 19-26). Proteinfosfataza Cdc14 anafaza zamanı bu iki qarşılıqlı antoqonist vəziyyətlər arasında keçirici (switch) əmələ gətirir. Cdc14 hüceyrə tsiklinin əksər hissəsində qeyri fəal saxlanılır, amma anafaza zaman, *mitozdan çıxış şəbəkəsi* kimi tanınan GTP-ə qoşulmuş siqnal yolu vasitəsi ilə fəallaşır. Bizim 19.7 bölməsində görəcəyimiz kimi, bu siqnal kaskadı şpindel mövqeyinə cavabdehdir və yalnız anafaza zamanı anafaza şpindel hüceyrə daxilində düzən yerləşərkən fəal olur. Anafaza zamanı fəallaşdıqdan sonra, Cdc14 mitotik tsiklinin parçalanmasını və CDK fəalsızlaşmasını həyata keçirmək üçün müvafiq olaraq APC/C^{Cdh1}-i və Sic1-i defosforlaşdırır. Bu proses mitozdan çıxışa aparır.

Fosfataza fəallığı da həmçinin mitozdan çıxmaq üçün vacibdir. Mitoz CDK-lərin sadə fəalsızlaşması mitozdan vaxtında çıxmağı işə salmaq üçün kifayət deyildir. Hələ məlum deyildir ki, hüceyrəni G₁ mərhələyə qaytarmaq üçün CDK substratlarını hansı fosfataza defosforlaşdırır. Həm proteinfosfataza 1 həm də proteinfosfataza 2A bu prosesdə iştirak edirlər.



ŞƏKİL 19-26 Proteinfosfataza Cdc14 tumurcuqlayan mayada mitozdan çıxışı işə salır. Mitoz zamanı mitoz CDK fəallığı öz ingibitoru APC/C^{Cdh1} və Sic1-i ingibirləşdirir. G₁ zamanı APC/C^{Cdh1} və Sic1 mitotik CDK-ləri ingibirləşdirir. Mitozdan çıxış zamanı, proteinfosfataza Cdc14 bu iki antoqonist vəziyyət arasında keçirici olur. Anafaza zamanı mitozdan çıxış şəbəkəsi fosfatazayı fəallaşdırır, onun APC/C^{Cdh1}-i defosforlaşdırmasına və bununla da fəallaşmasına imkan verir. Fosfataza həmçinin Sic1-in toplanmasını yüksəldir. Bundan başqa, Cdc14 mitozdan tez çıxmağa səbəb olan mitoz CDK substratları defosforlaşdırır.

Sonda mitoz CDK-lərin fosforlaşmasının bərpası bir çox zülalın fəaliyyətinin geriə interfaza vəziyyətinə dəyişməsinə aparır. Kondensinlərin, histon H1-in və başqa xromatin-assosiasiyalı zülalların defosforlaşması mitoz xromosomlarının telofazada dekonkondensasiyasına səbəb olur. Defosforlaşması mitoz şpindelinin dağılması üçün əhəmiyyətli olan CDK-lərin hədəfi məlum deyil, amma yaqın ki, çoxsaylı zülallar hədəfdir. Nüvə qabığının yenidən necə əmələ gəlməsi barədə çox şey məlumdur. Defosforlanmış daxili nüvə membran zülalları guman olunur ki, yenidən xromatinə birləşirlər. Nəticədə, bu zülallara malik olan ER membranı rayonlarının bir çox proeksiyaları (uzantıları), guman olunur ki, dekonkondensasiya edən xromosomların səthləri ilə assosiasiya edir və sonra bir-biri ilə qovuşaraq məlum olmayan bir mexanizmlə xromosomlar ətrafında davam edən ikiqat membranı əmələ gətirirlər (Şəkil 19-27). Nüvə məsələləri subkomplekslərinin defosforlaşması



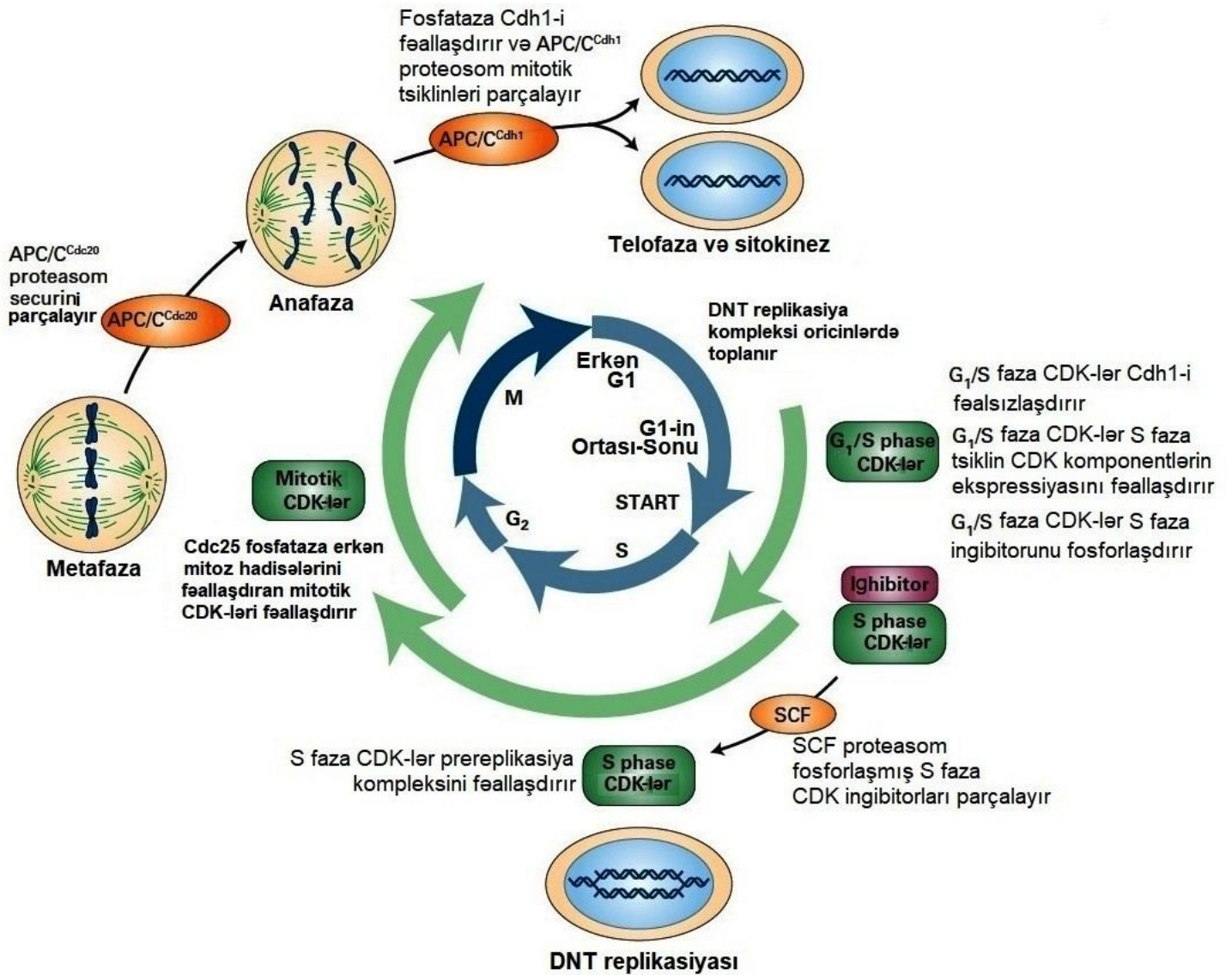
ŞƏKİL 19-27 Telofaza zamanı nüvə qabığının yenidən toplanması modeli. Endoplazmatik şəbəkənin (ER) uzanan çıxıntısı hər bir dekonkondensasiya edən xromosomla assosiasiya edir və sonra bir-biri ilə qovuşaraq xromosomlar ətrafında ikiqat membranı əmələ gətirir. Defosforlanmış nüvə məsələləri kompleksləri yeni nüvə məsələlərində toplanırlar və *karyomerlər* adlanan kiçik fərdi nüvələri əmələ gətirirlər. Örtülmüş xromosomlar sonra daha da dekonkondensasiya edirlər və ardınca da bütün karyomerlərin nüvə qabıqlarının qovuşması hər bir şpindel qütübündə tam xromosom dəstinə malik olan vahid bir nüvəni əmələ gətirirlər. NPC, nüvə məsələləri kompleksi. Bax B. Burke and J. Ellenberg, 2002, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3:487.

onlara ER uzantılarının qovuşmasından dərhal sonra daxili və xarici membranları kəsib keçən tamamlanmış NPC-lərdə toplanmağa imkan verir. Nüvə import və eksportlarını aparmaq üçün tələb olunan Ran-GTP (bax Fəsil 13) həm qız hüceyrələrin nüvə qabığına əmələ gətirmək üçün ER uzantılarının qovuşmasını, həm də NPC-lərin toplanmasını stimullaşdırır (bax Şəkil 19-27). Ran-quantin nukleotid-mübadiləsi faktoru (Ran-GEF) xromatinə birləşmiş olduğuna görə, dekondensasiya edən xromosomların mikroətrafında Ran-GTP qatılığı çox yüksək olur. Nəticədə, membran qovuşması dekondensasiya etmiş xromosomların səthində stimullaşır. Bütün xromosomlar ətrafında nüvə membranını əmələ gətirmək üçün NPC-lərin daxil olduğu nüvə membranı qatları sonra bir-biri ilə qovuşurlar.

Sitokinezs İki Qız Hüceyrəni Yaradır

Xromosom seqreşiyası tamamlandıqdan sonra, sitoplazma və orqanoidlər iki gələcək qız hüceyrələr arasında bölünürlər. Bu proses sitokinez adlanır. Ali bitkilər istisna olmaqla, hüceyrələrin bölünməsi aktindən və aktin motorlardan ibarət olan dartılan halqa ilə baş verir (bax Şəkil 17-35). Sitokinez zamanı halqa əzələ dartılması kimi dartılır, membranı daxilə çəkir və tədricən sonda dartılmanı iki qız hüceyrə arasında bağlayır.

Sitokinez zamanı və məkana görə başqa hüceyrə tsikli hadisələri ilə əlaqələndirilir (koordinasiya olunur). Sağ qalmaq üçün bütün komponentlərə malik olan iki qız hüceyrəni əmələ gətirmək üçün hüceyrə bölünməsində bölünmə müstəvisi elə yerləşməlidir ki, hər bir hüceyrə valideyin hüceyrənin sitoplazmatik tərkibinin təxminən yarısını, genetik materialın isə *dəqiq* yarısını almalıdır. Sitokinez mitozun tamamlanması ilə də koordinasiya olunmalıdır. Biz bundan sonra sitokinezin tənzimlənməsinin hər iki aspektini öyrənəcəyik.



ŞƏKİL 19-28 Eukariotik hüceyrə tsiklinin fundamenbtal prosesləri. Müzakirə üçün tekstə bax.

Heyvan hüceyrələrində dartılan halqalar anafaza zamanı yaranır və anafaza şpindelinin ortasında yerləşir. Bu yerləşmə, hər bir qız hüceyrənin genetik materialın yarısını almasını təmin edir. Qəribədir ki, bu koordinasiyanın əhəmiyyətinə baxmayaraq, onun haqqında çox az məlumdur. Bəzi eksperimentlər, *şpindel*in orta zonasından – anafaza şpindelini ilə seqreqasiya etmiş DNT kütlələri arasındakı sahədən hüceyrə qabığına göndərilən siqnalların sitokinez saytı ilə şpindelini mövqeyini koordinasiya etmək üçün çox əhəmiyyətli olması ideyasını dəstəkləyir. Başqa bir tədqiqat təklif edir ki, şpindelini mikroborucuqları hüceyrə qabığı ilə əlaqəyə girir, şpindel qütblərinin mövqeyinə müvafiq olaraq *parçalanma şırımının* mövqeyini müəyyən edir. Böyük ehtimalla, bu yolların kombinasiyası sitokinez zamanı parçalanma şırımının yaranmasını idarə edir.

Biz 19.7 bölməsində görəcəyik ki, hüceyrələr sitokinez saytının şpindelini mövqeyi ilə koordinasiya olunmasını təmin edən nəzarət mexanizmlərini yaradıb inkişaf etdirmişlər. Bu, müxtəlif ölçüdə və müqəddərdə hüceyrələri əmələ gətirən assimetrik hüceyrə bölünməsi zamanı xüsusən əhəmiyyətlidir. Belə hüceyrə bölünmələri inkişaf zamanı və sütun hüceyrələrin bölünməsi zamanı vacibdir (bax Fəsil 21). Sitokinez digər hüceyrə tsikli hadisələri ilə də koordinasiya olunmalıdır. Sitokinez üçün əsas siqnal mitoz CDK-lərin fəalsızlaşmasıdır. Mitoz tsiklinlərin stabilizəedici formalarını ekspressiya edərkən hüceyrələr anafaza boyu fəaliyyət göstərir, amma sitokineze getmirlər. Sitokinez mexanizmində CDK hədəfləri hələ aşkar edilməmişdir.

Bu hüceyrə bölünməsinin molekulyar hadisələri barədə bizim müzakirəmizi yekunlaşdırır. Biz artıq gördük ki, tsiklindən-asılı olan kinazalar və ubikvitin-vasitəsilə zülal parçalanması onun tənzimlənməsinin mərkəzində durur (Şəkil 19-28). Biz aşağıda, əvvəlki hüceyrə tsikli mərhələsi başa çatmadan yeni hüceyrə tsikli mərhələsinin başlanmadığını və hər bir hüceyrə tsikli mərhələsinin dəqiq şəkildə baş vedriyini təmin edən mexanizmləri müzakirə edirik.

19.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Mitozun Tamamlanması: Xromosomların Seqreqasiyası və Mitozdan Çıxış

- Kohezinlərin separaza ilə doğranması anafaza zamanı xromosom seqreqasiyasını induksiya edir.
- Anafazın başlanğıcında, APC/C sekurini ubikvitinilləşdirmək üçün Cdc20 ilə yönəldilir, ardınca da sekurin proteosomlarda parçalanır. Sekurinin parçalanması separazanı fəallaşdırır.
- Mitozdan çıxış əsasən mitoz tsiklinlərinin parçalanması ilə baş verən mitoz CDK-lərin fəalsızlaşması ilə işə salınır.
- Mitozdan çıxış Cdc14 kimi proteinfosfatazaların fəallığını tələb edir ki, mitoz şpindelini dağılmasına imkan verən, xromosomların dekondeksasiyasına və nüvə qabığının yenidən yığılmasına imkan verən, müxtəlif zülallardan mitoz fosfatlarını uzaqlaşdırsın.
- Sitokinez hüceyrə bölünməsinə tamamlayır və nüvə bölünməsi saytı ilə koordinasiya olunmalıdır. Bu

koordinasiya xüsusən assimetrik bölünməyə gedən hüceyrələrdə əhəmiyyətlidir.

19.7 Hüceyrə Tsiklinin Tənzimlənməsində Nəzarət Müşahidə Mexanizmi

Yoxlama nəzarət yolları kimi tanınan nəzarət mexanizmi növbəti hüceyrə tsikli hadisəsinin əvvəlki tamamlanmadan başlamasının qarşısının alınması üçün fəaliyyət göstərir. Yoxlama nəzarət yolları xüsusi bir hüceyrə hadisələrini monitor edən **sensorlardan**, hüceyrə cavabını inisiyasiya edən **siqnal kaskadından** və hüceyrə tsiklinin gedişini dayandıran və lazım olanda yolun bərpasını fəallaşdıran **effektordan** ibarətdir. Yoxlama nəzarət yolları ilə monitor olunan hüceyrə tsikli hadisələrinə DNT-nin replikasiyası, DNT-nin zədələnməsi, kinetoxorların mitoz şpindelini qoşulması və hüceyrə daxilində şpindel mövqeyinin müəyyən edilməsi daxildir. Bu yollar hüceyrə bölünməsinin qeyri-adi dərəcədə yüksək dəqiqliyini həyata keçirir və hər bir qız hüceyrənin düzgün sayda dəqiq replikasiya olunmuş xromosomları almasını əmin edir. Onlar müxtəlif mexanizmlərlə tsiklin-CDK-lərin proteinkinaza fəallığına nəzarət etməklə: tsiklinlərin sintezinin və parçalanmasının tənzimlənməsi, ingibirləşmə saytlarında CDK-ərin fosforlaşması, tsiklin-CDK komplekslərini fəalsızlaşdıran CDK ingibitorların (CKI) sintezinin və stabilliyinin tənzimlənməsi və APC/C ubikvitin-proteinliqazanın tənzimlənməsi ilə fəaliyyət göstərirlər.

Yoxlama Nəzarət Yolları Asılılıqları Yaradır və Hüceyrə Tsiklinə Səhvlərin Qarşısını Alır

Hüceyrə tsiklindən asılılıqlar yaradan nəzarət mexanizmləri və ya yoxlama nəzarət yolları ideyasına aparan eksperimentlər interpretasiyalarına görə sadə və gözəl idi (bax Klassik eksperiment 19-3). Xatırladaq ki, Lee Hartwell və həmkarları *S. cerevisiae*-nin temperatura həssas cdc mutantlarını ayırdılar. Bu mutantlardan birinin xarakterizə olunmasında Hartwell və həmkarları nəzarət yoxlama nöqtəsi konsepsiyasını yaratdılar: yoxlama nəzarət nöqtəsi əmin edir ki, hüceyrə tsikli fazası əvvəlki faza tamamlanmadan başlamır. Asılılığın təşkilindən başqa, yoxlama nəzarət yolları həmçinin, xromosom replikasiyasını və bölünmənin hər bir aspektinin dəqiqliklə baş verməsini təmin edir..

Bu gün biz bilirik ki, hüceyrələr çoxsaylı yoxlama nəzarət nöqtələrini istifadə edirlər və onların hər biri eyni şəkildə qurulmuşdur. Sensor xüsusi bir hüceyrə prosesində qüsuru aşkar edir və bu qüsura cavab olaraq siqnal yolunu fəallaşdırır. Siqnal yolu ilə fəallaşan effektorlar qüsurun bərpasını inisiyasiya edir və qüsür bərpa olunana qədər hüceyrə tsiklinin gedişini dayandırır. Əgər qüsür bərpa oluna bilmirsə, yoxlama nəzarət yolu apoptozu induksiya edir. Bundan sonra biz hüceyrə tsiklinin gedişini idarə edən əsas yoxlama nəzarət yollarını müzakirə edəcəyik.

Böyümənin Nəzarət Yoxlama Yolu Hüceyrələrin Hüceyrə Tsiklinə Daxil Olmasını Kifayət Qədər Makromolekul Biosintez Olunduqdan Sonra Təmin Edir.

Hüceyrənin proliferasiyası tələb edir ki, hüceyrələr hüceyrə bölünməsi yolu ilə artınsınlar və fərdi hüceyrələr makromolekulların biosintezi ilə böyüsunlər (inkişaf etsinlər). Hüceyrələrin inkışafı və hüceyrə bölünməsi ayrı-ayrı proseslərdir, amma hüceyrələr çoxalarkən sabit ölçülərini saxlamaq üçün hüceyrə inkışafı və hüceyrə bölünməsi sıx şəkildə koordinasiya olunmalıdır. Məsələn, qida məhdud olanda hüceyrələr inkışaf sürətini azaldır və uyğun olaraq hüceyrə bölünməsi də azalan istiqamətdə tənzimlənir. Hüceyrənin inkışafı və bölünməsi arasında bu cürə koordinasiya, təbii həyat tsiklinin bir hissəsi kimi qida maddələrinin mövcudluğunun dəyişməsi təcrübəsinə malik olan təkhüceyrəli orqanizmlərdə xüsusən əhəmiyyətlidir. Ona görə də təəccüblü deyildir ki, nəzarət mexanizmləri hüceyrə bölünməsinin sürətini böyümənin sürəti ilə nizamlamaq üçün mövcud olurlar.

Tumurcuqlayan mayada, hüceyrənin böyüməsi və bölünməsi G₁-də koordinasiya olunur. Hüceyrə tsiklinin bu mərhələsində böyümə və bölünmə tsiklləri G₁ CDK-lərin hüceyrə böyüməsindəki fəaliyyətləri ilə əlaqəlidir. Inkışafın hansı aspektləri hüceyrə tsikli ilə əlaqəlidir? Zülalların sintezinin ingibitorundan istifadə edilərək aparılan klassik eksperimentlər göstərdi ki, böyümənin sürəti və bununla əlaqədar hüceyrə tsiklinin inkışafına nəzarət olunması zülalların sintezi ilə müəyyən olunur. Zülalların sintezinin G₁ CDK fəaliyyətinə necə nəzarət etməsi fəal tədqiqat sahəsidir. Hazırki düşüncələr ondan ibarətdir ki, zənginliyi sıx şəkildə inkışaf sürəti ilə nəzarət olunan “sizer” zülallar hüceyrənin spesifik kompartimentində toplanırlar. Sizer zülallar xüsusi bir qatılığa çatanda, o hüceyrə tsiklinə daxil olmaq üçün müvafiq hüceyrə ölçüsünün çatdığını bildirən siqnal kimi xidmət edir. Hüceyrənin bu ölçüsü **“kritik hüceyrə ölçüsü”** kimi tanınır. Guman olunur ki, tumurcuqlayan mayada G₁ tsiklini Cln3 sizer zülaldır. Gln3 translyasiya səviyyəsində nəzarət olunur və yüksək dərəcədə qeyri stabildir, o, bu tsiklinin səviyyəsini xüsusən zülal sintezinin sürətinə həssas edir. Gln3 nüvədə yrləşir. Guman olunur ki, nüvədə zülalın qatılığı kritik səviyyəyə çatanda, Şəkil 19-12-də göstərilən hüceyrə tsiklinə giriş prosesi hərəkətə gətirilir. Əhəmiyyətlidir ki, ölçü nəzarəti yüksək dərəcədə plastiktir: G₁-in uzunluğu və kritik hüceyrə ölçüsü qida əlverişliliyi ilə dəyişir.

S. pombe çöp-şəkilli hüceyrə kimi inkışaf edir və uzununa böyüyür, sonra mitoz zamanı ortadan bölünərək iki bərabər ölçülü qız hüceyrələri əmələ gətirir (bax Şəkil 19-4). Əsasən G₁ fazada böyüyən tumurcuqlayan mayadan və əksər metazoan hüceyrələrdən fərqli olaraq, bu mayalar əsasən hüceyrə tsiklinin G₂ fazasında böyüyürlər və onun mitozda daxil olması diqqətə hüceyrə ölçüsünə cavab olaraq nizamlanır. Xatırladaq ki, mitozda daxil olmaq, CDK1-i tirozin 15 və treonin 14-də fosforlaşdırmaqla ingibirləşdirən proteinkinaza Wee1 ilə tənzimlənir. Qida maddələri məhdud olanda Wee1 CDK1-i fosforlaşdırır və hüceyrə mitozda daxil olmaq üçün kritik ölçüyə çatana qədər G₂-də qalırlar. Bu mayalarda Cdr2 sizer zülalı təmsil edir. Onun sintezi zamanı Cdr2 hüceyrənin ortasında hüceyrə qabığındakı yamaqlarda yerləşirlər. Cdr2 Wee1-in ingibitorudur (bax Şəkil 19-18). Hüceyrələr böyüyən kimi, Cdr2-nin lokal qatılığı hüceyrənin ortasında yüksəlir və Wee1-in ingibirləşməsi Cdr2-nin ətrafında baş verir. Həqiqətən də, G₂ zamanı CDK fəallığının başladığı sentrosom hüceyrənin ortasında hüceyrə qabığına yaxın yerləşir.

Adətən çoxhüceyrəli orqanizmlərdə qida məhdudlaşması olmur. Əvəzində, hüceyrənin inkışafı (böyüməsi), Ras, AMPK və TOR yolları kimi boy faktoru siqnal yolları ilə tənzimlənir (bax Fəsil 10 və 16). Bu yollar hüceyrə böyüməsi və bölünməsinin əlaqələndirilməsi üçün də əhəmiyyətlidir. Bu boy faktorları siqnal yollarının əsas komponentlərində, məsələn Myc-də mutasiyalar *Drosophila*-da hüceyrənin ölçüsündə dramatik dəyişikliyin yaranmasına səbəb olur. Myc makromolekulların sintezi üçün əhəmiyyətli olan çox genlərin transkripsiyasını tənzimləyir və daha dolay yolla G₁ CDK-ləri tənzimləyir. Beləliklə, bu transkripsiya faktoru hüceyrə böyüməsini və bölünməsinə inteqrasiya edir. Lakin bu koordinasiyanın detalları öz izahını gözləyir.

DNT Zədələnməsinə Cavab Sistemi DNT-nin Zədələndiyi Zaman Hüceyrə Tsiklinin Gedişini Dayandırır

Genetik materialın tam və dəqiq ikiləşməsi hüceyrənin bölünməsi üçün çox vacibdir. Əgər DNT natamam ikiləşən halda və ya zədələndə hüceyrələr mitozda daxil olurlarsa onda genetik dəyişikliklər baş verir. Bir çox hallarda bu dəyişikliklər hüceyrənin ölümünə səbəb olacaq, amma bizim Fəsil 24-də müzakirə edəcəyimiz kimi, o hüceyrənin böyüməsi və bölünməsi üzərində nəzarətin dəyişilməsi və sonda xərçənglə nəticələnən genetik dəyişikliyə də səbəb olur. Bu risk, DNT zədələnməsinin aşkar olunmasında və onun bərpasında iştirak edən bir çox zülalların mutasiya olunduğu insan xərçəngində tapılmışdır.

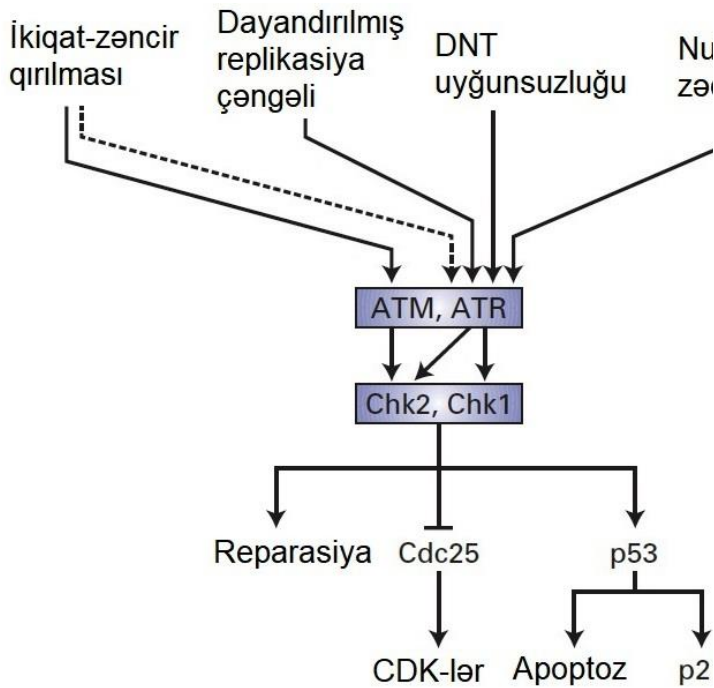
DNTni replikasiya edən fermentlər yüksək dərəcədə dəqiqdirlər, amma onların dəqiqliyi DNT sintezi zamanı tam doğruluğu (dürüslüyü) təmin etmək üçün kifayət deyil. Bundan əlavə, rentgen şüaları və UB işıq kimi ətraf mühitin dağıdıcı təsirləri DNT-ni zədələyə bilər və hüceyrə mitozda daxil olmadan öncə bu zədələnmələr bərpa olunmalıdır. Hüceyrələr DNT zədələnmələrinin çox müxtəlif növlərini hiss edən və bərpa yollarını fəallaşdıran, həmçinin zədələnmənin bərpa ediləcəyi müddətə qədər hüceyrə tsiklinin inkışafını dayandıraraq cavab verən DNT zədələnmələrinə cavab sistemində malikdirlər. Hüceyrə tsiklinin arrest olunması, DNT zədələnməsinin hüceyrə tsiklinə daxil olmazdan öncə və ya DNT replikasiyası zamanı baş verməsindən asılı olaraq G₁, S faza və ya G₂-də baş verə bilər. Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə xüsusən çox ağır DNT zədələnmələri ilə məşğul olmağın strategiyası fərqlidir. Bu zədələnmələri bərpa (reparasiya) etməkdənsə hüceyrələr Fəsil 21-də müzakirə olunan mexanizmlə *programlaşdırılmış hüceyrə ölümünə* və ya *apoptoz*a, gedir.

DNT zədələnməsi çox sayda müxtəlif formalarda və şiddətlik dərəcəsində mövcud olur. *İkifat zəncirin qırılması* kimi məlum olan DNT spiralının qırılması, yəqin ki, zədələnmənin ən mürəkkəb formasıdır, çünki belə bir yaralanma mitozun gediş zamanı baş verirsə demək olar ki, DNT-nin itirilməsi ilə nəticələnir. Daha incə zədələnmələrə bir-zəncirin qırılmaları, nukleotidlərdə quruluşun dəyişilməsi və DNT uyğunsuzluqları daxildirlər. Burada, bizim müzakirəmiz üçün qeyd etmək çox vacibdir ki, hüceyrələr bütün bu müxtəlif tip zədələnmələr üçün sensorlara malikdirlər. Bu sensorlar genomu skan edir və onlarda yaralanmanı aşkar edəndə siqnal

verilməsini təşkil edirlər və reparasiya faktorlarını yaranma saytına toplayırlar.

Bu müxtəlif tipli zədələnmələrin aşkar edilməsinin mərkəzində bir cüt homoloji proteinkinazalar – ATM (*ataksiya telangiastasiya mutasiyalı*) və ATR (*ataksiya telangiastasiya və Rad3-aid olan zülallar*) dururlar. Bu zülallar onları kodlaşdıran genlərdə müvafiq olaraq ataksiya telangiastasiya və Sekkel sindromuna səbəb olan mutasiyalara görə identifikasiya olunaraq xarakterizə edilmişdir. Hər iki proteinkinaza DNT zədələnməsi saytına səfərbər edilir. Sonra onlar adaptor zülalların və Chk1 və Chk2 adlanan başqa proteinkinazalar dəstinin ardıcıl səfərbər

olunmalarını inisiyasiya edir. Sonra bu kinazalar reparasiya mexanizmini fəallaşdırır və hüceyrə tsiklinin arrest olunmasına və ya heyvanlarda apoptoza səbəb olur (Şəkil 19-29). ATR və ATM fərqli DNT zədələnməsi tiplərini tanıyırlar. ATM yalnız ikiqat-zəncirin qırılması ilə olan zədələnmələrə cavab reaksiyasında çox ixtisaslaşmışdır. ATR daha geniş müxtəliflikdə DNT zədələnmələrini, məsələn replikasiya çəngəlinin qırılması, DNT-nin uyğunsuzluğu, zədələnmiş nukleotidlər və ikiqat zəncirin qırılmasını tanımağa qabildir. ATR belə geniş zədələnmə tiplərini ona görə tanıyır ki, bu



ŞƏKİL 19-29 DNT zədələnməsinə cavab sistemi. ATM və ATR proteinkinazalar zədələnmiş DNT ilə fəallaşır. ATR müxtəlif DNT zədələnmələrinə - xüsusən ya zədələnmə nəticəsində yaranan, ya da reparasiyanın məhsulu olan bir-zəncirli DNT-yə cavab verir. ATM xüsusi olaraq iki-qat zəncirin qırılması ilə fəallaşır. İki-zəncirli qırılma reparasiya prosesinin bir hissəsi kimi tək-zəncirli DNT-yə keçdiyindən onlarda həmçinin, hərçəndki dolayı yolla (qırıq xətlə göstəriləndiyi kimi), ATR-i fəallaşdırır. ATM və ATR DNT zədələnməsi ilə fəallaşdıqdan sonra, digər oxşar proteinkinaza cütünü – Chk1 və Chk2-ni fəallaşdırır. Bu kinazalar sonra DNT reparasiya mexanizmini indiksiya edirlər və Cdc25-i ingibirləşdirməklə hüceyrə tsiklinin arrest olunmasına səbəb olurlar. Metazoan hüceyrələrində, Chk1 və Chk2, CKI p21-in transkripsiyasını induksiya etməklə hüceyrə tsiklinin arrest olunmasını induksiya edən transkripsiya faktoru p53-ü də fəallaşdırır. DNT zədələnməsi şiddətli olanda p53 apoptozu induksiya edir.

zədələnmələrin hamısı müəyyən miqdarda ya zədələnmənin bir hissəsi kimi ya da reparasiya prosesinin bir hissəsi kimi reparasiya fermentlərinin yaratdığı *bir-qatlı DNT zəncirinə* malik olurlar. ATR-in bir-zəncirli DNT ilə assosiasiyası guman olunur ki, onun proteinkinaza xassəsini fəallaşdırır, Chk1 kinazanın səfərbər olunmasına və fəallaşmasına kömək edən adaptor zülalların səfərbər olunmasına səbəb olur. Fəal Chk1 sonra reparasiya yolunu induksiya edir və hüceyrə tsiklinin gedişini ingibirləşdirir.

Chk1 və Chk2 hüceyrə tsiklini dayandırır. Bu proteinkinazalar CDK-fəallaşdırıcı fosforlaşma saytlarından fərqli olan saytlarda həmin fosfatazanı fosforlaşdırmaqla Cdc25-i ingibirləşdirir (bax Şəkil 19-29). DNT zədələnməsi G₁-də baş verəndə Cdc25A-nın ingibirləşməsi G₁/S faza CDK-lərin və S faza CDK-lərin ingibirləşməsi ilə nəticələnir (Şəkil 19-30, həmçinin bax 19-18). Nəticədə bu kinazalar DNT replikasiyasını inisiyasiya edə bilmirlər. DNT zədələnməsi S fazada və ya G₂-də baş verəndə, Cdc25C-in Chk1/2 ilə ingibirləşməsi mitotik CDK-lərin ingibirləşməsi ilə və beləliklə G₂-də arrest olunmaqla nəticələnir. Fəal DNT replikasiyası mitozu girişini də ingibirləşdirir. Replikasiya çəngəli DNT replikasiyasını başa çatdırana və dağılana qədər ATR Chk1 vasitəsi ilə Cdc25C-ni

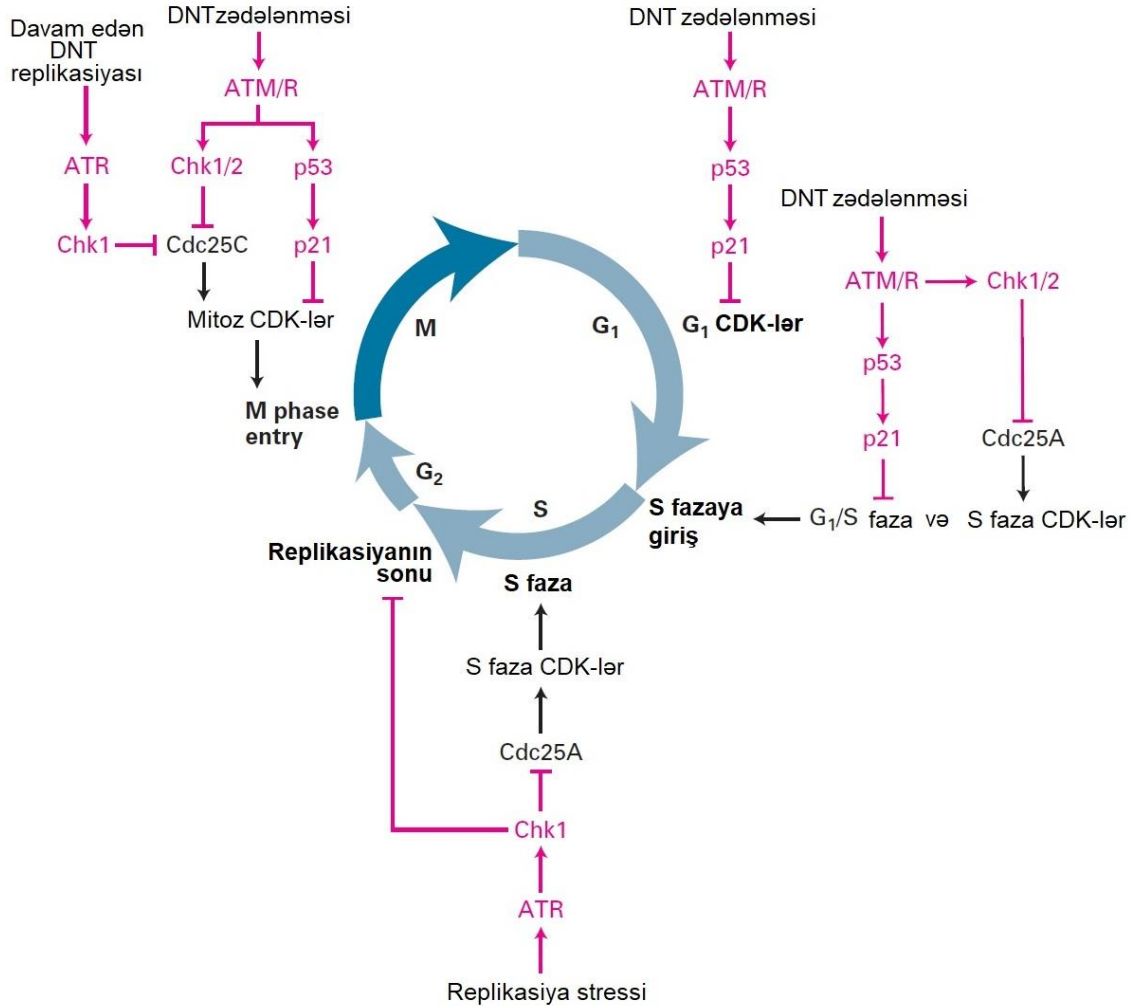
ingibirləşdirməkdə davam edir. Bu mexanizm mitozun inisiyasiyasını xromosom replikasiyasının tamamlanmasından asılıdır. Nəhayət, hüceyrələr replikasiya çəngəllərinin yavaşması və ya dayanması ilə nəticələnən DNT replikasiya stresini də hiss edirlər. Belə stress ATR-Chk1 yoxlama nəzarət yolunun fəallaşmasına səbəb olur və S faza CDK-lərin fəallığının azalması ilə nəticələnir və sonrakı-replikasiya çəngəlinin açılmasına mane olur.

Cdc25 ailəsi fosfatazalarının Chk1 vasitəsi ilə ingibirləşməsi, DNT zədələnməsinin və ya natamam replikasiyanın hüceyrə tsiklinin gedişini ingibirləşdirdiyi yeganə mexanizm deyildir. Biz aşağıda görəcəyik ki, DNT zədələnməsi CDK inhibitoru p21-i kodlaşdırıcı genin ekspresiyasını induksiya edən transkripsiya faktoru p53-ün fəallaşmasına səbəb olur. p21 bütün metazoanların tsiklin-CDK komplekslərinə birləşərək onları ingibirləşdirir. Nəticədə, hüceyrələr G₁-də və G₂-də arrest olunurlar (bax Şəkil 19-30).

Yuxarıda qeyd olunduğu kimi, ATM yalnız iki-zəncirli DNT qırılmasını tanıyır (bax Şəkil 19-29). Bu proteinkinaza, qırılmış uclara birləşən və onları bir yerdə saxlayan MRN kompleks kimi tanınan kompleks vasitəsi ilə burbaşa DNT uclarına səfərbər edilir. Sonra, fəallaşmış ATM Chk1-i

fosforlaşdırır və fəallaşdıraraq reparasiya zülallarını səfərbər edir. Bu reparasiya zülalları, Fəsil 5-də təsvir edilmiş kimi, *homoloji rekombinasiyanı* inisiyasiya edir. Bu proses bir-zəncirli çıxıntıların yaranmasını əhatə edir, onlar isə öz növbəsində ATR və onun effektorlarını səfərbər edərək fəallaşdırır, sonra da DNT zədələnməsinə qarşı cavabı gücləndirirlər. ATM həm də, reparasiya prosesində *qeyri-homoloji ucların birləşməsi* kimi

tanınan, iki iki-zəncirli qırıqların birbaşa bir-biri ilə qovuşduğu alternativ reparasiya yolunu da səfərbər edə bilər. ATR kimi, fəallaşmış ATM də Chk2 vasitəsilə Cdc25-in ingibirləşməsi ilə hüceyrə tsiklinin gedişini dayandırır, beləliklə CDK-lərin fəallaşmasına mane olur. Bu ingibirləşmə G₁-də və ya G₂-də baş verə bilər.



ŞƏKİL 19-30 Hüceyrə tsiklindeki DNT zədələnməsinə nəzarət nöqtələrinin ümumi icmalı. G₁ zamanı p53-p21 yolu G₁ CDK-ləri ingibirləşdirir. Davam edən DNT replikasiyası zamanı və replikasiya stresinə cavab zamanı (DNT replikasiya çəngəlinin yavaş hərəkəti və ya DNT replikasiyası çəngəlinin dağılması) ATR-Chk1 proteinkinaza kaskadı Cdc25-i fosforlaşdırır və fəalsızlaşdırır, bununla da mitoz

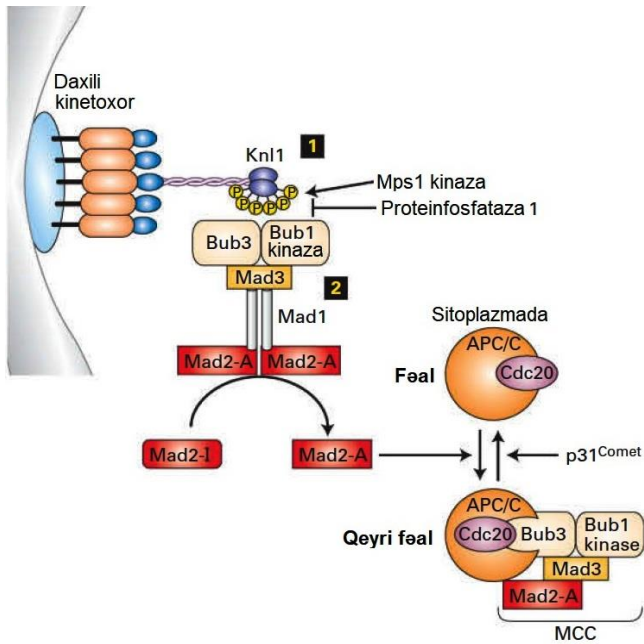
CDK-lərin fəallaşmasının qarşısını alır və mitozu girişi ingibirləşdirir. DNT zədələnməsinə cavab olaraq, ATM və ya ATR proteinkinazalar (ATM/R) Chk1 proteinkinazalar vasitəsi ilə Cdc25-i ingibirləşdirir. G₁ zamanı ATM/R və Chk1/2 Cdc25C-ni ingibirləşdirir. p53-p21 yolu da fəallaşır. Qırmızı işrələr hüceyrə tsiklinde irəliləyişi ingibirləşdirən yolları göstərir.

DNT zədələnməsinə cavabın əsas effektor metazoan hüceyrələrində p53 transkripsiya faktorudur (bax Şəkil 19-29). Onun normal funksiyası zədələnmiş DNT qarşısında hüceyrə proliferasiyasını məhdudlaşdırmaq olduğundan o şiş suppressoru kimi tanınır. Bu zülallar həddən ziyadə qeyri stabildirlər və transkripsiyanı normal şəraitdə stimullaşdırmaq üçün kifayət edən yüksək səviyyədə toplanırlar. p53-ün qeyri-stabilliyi onun *Mdm2* adlanan ubikvitin-proteinliqaza vasitəsilə ubikvitinilləşməsinin və ardınca da proteosomal parçalanmasının nəticəsidir. p53-ün sürətlə parçalanması, p53-

ün *Mdm2* ilə birləşməsinə mane olan saytdan fosforlaşdırılan ATM və ATR ilə ingibirləşir. DNT zədələnməsinə cavab olaraq p53-ün bu və digər modifikasiyaları hüceyrənin DNT zədələnməsi ilə mübarizə aparmasına kömək edən spesifik genlərin transkripsiyasını fəllaşdırmaq qabiliyyətini güclü surətdə artırır. Bu genlərdən biri CKI p21-i kodlaşdırır (bax Şəkil 19-29).

Bəzi şəraitlərdə, məsələn geniş şəkildə DNT zədələnməsi olanda, p53 həmçinin çoxhüceyrəli orqanizmlərdə inkişafın gedişi zamanı spesifik hüceyrələrdə baş verən

proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü prosesi olan apoptoza aparıcı genlərin ekspressiyasını fəallaşdırır. Metazoanlarda, p53 cavabı geniş DNT zədələnməsi qarşısında, çox ehtimal ki, normal bir hüceyrəni xərçəng hüceyrəsinə çevirə biləcək çoxsaylı mutasiyaların yığılmasının qarşısını almaq üçün apoptozu induksiya etmək üçün yaranmışdır (bax Fəsil 21). p53-ün həm hüceyrə tsiklinin arrest olunmasındakı, həm də apoptozun induksiya olunmasındakı belə ikili rolu, bütün xərçəng hüceyrələrinin demək olar ki, hamısında p53 genin hər iki allelində və ya DNT zədələnməsinə cavab olaraq p53-ü stabilləşdirən yollarda mutasiyaların olması müşahidələrini izah edə bilər (bax Fəsil 24). p53, ATM və Chk2-də mutasiyaların nəticələri hüceyrə tsiklinə nəzarət punktları yollarının çox hüceyrəli orqanizmin sağlamlığında əhəmiyyətinin dramatik nümunələrini təmin edir.



ŞƏKİL 19-31 Şpindel yığılmasının yoxlama nəzarət yolu. Şpindel yığılmasının yoxlama nəzarət yolu hər bir kinetoxorun şpindel mikroborucuqları ilə düzgün birləşməsinə qədər fəal olur. Kinetoxor ayrılarda, xarici kinetoxor komponenti Knl1-i yoxlama nəzarət kinazası Mps1-i fosforlaşdırır (pillə 1). Fosforlaşmış Knl1 sonra yoxlama nəzarət kinazası Bub1-Bub3 və yoxlama nəzarət zülalı Mad3-lə birləşir. Bu üç zülal, öz növbəsində Mad1-Mad2 kompleksi kinetoxorlara səfərbər edir. Kinetoxora birləşmiş Mad1-Mad2 kompleksi fəal formada olur (Mad2A kimi göstərilir, pillə 2) və sitoplazmada qeyri fəal Mad2-ni (Mad2-I) fəal Mad2-ə çevirmə qabiliyyətinə malik olur, Mad2 isə APC/C^{Cdc20} ilə birləşərək onu ingibirləşdirir. APC/C^{Cdc20}-in tam ingibirləşməsi yoxlama nəzarət faktorları Bub1-Bub3 və Mad3-ün bir kompleksdə səfərbər olunmasını tələb edir. Bu zülallar birlikdə, APC/C^{Cdc20}-nin öz substratını tanımasına və ubikvitinləşdirməsinə mane olan mitoz yoxlama-nəzarət kompleksini (MCC) əmələ gətirirlər. Şpindel toplanmasının yoxlama-nəzarət yollarının susması bütün kinetoxorların gərginlik-yaradan formada mikroborucuqlara birləşməsindən sonra baş verir. Sonra proteinfosfataza 1 Knl1-i defosforlaşdırır, bununla da kinetoxorlardan yoxlama nəzarət zülalının birləşmə saytını sıradan çıxarır. Bundan başqa, p31^{comet} MCC-ni pozur. Bax E. Foley and T. Kapoor, 2013, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 14:25.

Şpindel Yığılmasının Nəzarət Yoxlama Yolu Xromosomların Mitoz Şpindelində Dəqiqliklə Birləşməsinə Qədər Xromosom Seqreqasiyasına Mane Olur

Şpindel yığılmasının nəzarət yoxlama yolu hər bir xromatidin hər bir kinetoxorunun şpindel mikroborucuqlarına düzgün birləşməsinə qədər anafazaya keçidə mane olur. Əgər hətta bir kinetoxor birləşməmiş və ya gərginlik altında deyilsə anafaza ingibirləşdirilir, çünki belə bir qüsurla mitoz başlayarsa yəqin ki, xromosom itirilməsinə səbəb olacaqdır. Buna nail olmaq üçün, hüceyrələr gərginlik altında olmayan və ya birləşməyən kinetoxorlarla anafazaya girişə mane olan nəzarət mexanizmini yaratmışlar. Amma, bizim 19.5 bölməsində gördüyümüz kimi, bacı xromatidlərin kinetoxorları tez-tez hallarda eyni qütbədən çıxan mikroborucuğa birləşirlər (sintetik birləşmə), və ya eyni kinetoxor iki müxtəlif qütbədən gələn mikroborucuqlara birləşir (meritlik birləşmə). Belə səhv qoşulmalar necə tanınır? Kifayət qədər gərginlik altında olmayan mikroborucuq-kinetoxor qarşılıqlı əlaqə Aurora B vasitəsi ilə kinetoxorun mikroborucuq-birləşdirən komponenti Ndc80 kompleksin fosforlaşması yolu ilə destabilləşir. Bu sonra şpindel nəzarət yoxlama yolu ilə tanınan qoşulmamış kinetoxorların əmələ gəlməsinə səbəb olur. Bu üsulla, Aurora B və şpindel yığılmasının yoxlama nəzarət yolu hər bir hüceyrə tsikli zamanı hər bir bacı xromatid cütünün mitoz şpindelində düzgün iki-istiqlalətli üsulla dəqiq qoşulması üçün əlbir fəaliyyət göstərirlər.

Şpindel yığılmasının yoxlama nəzarət yolunun komponentləri kinetoxorda cütləşməmiş mikroborucuq birləşdirmə saytına birləşir və sonda APC/C^{Cdc20}-ni ingibirləşdirən anafaza ingibitor signalını yaradır. Xatırladaq ki, APC/C^{Cdc20} vasitəsi ilə sekurinin ubikvitinləşməsi və sonra da onun parçalanması separazanın fəallaşması və anafazaya daxil olması üçün tələb olunur (bax Şəkil 19-25). Kinetoxor mikroborucuğa birləşməyəndə xarici kinetoxor komponenti Knl1 şpindel toplanmasının yoxlama nəzarət yolu kinazası Mps1-lə fosforlaşır (Şəkil 19-31). Bu fosforlaşma, öz növbəsində, başqa yoxlama nəzarət yolu komponentlərini birləşməmiş kinetoxora səfərbər edir. APC/C^{Cdc20}-in dayandırılması üçün kritik vacib olan, birləşməmiş kinetoxorlarla Mad1-Mad2 kompleksin səfərbər olunması və fəallaşmasıdır. Əhəmiyyətlidir ki, fəallaşmış Mad1-Mad2 kompleksi sitoplazmada qeyri fəal Mad2 molekullarını fəal konformasiyaya çevirə bilər, o isə APC/C^{Cdc20} ilə birləşərək onu ingibirləşdirə bilər. Mad2 ilə birləşmiş APC/C^{Cdc20} əlavə yoxlama nəzarət faktorlarını kompleksə səfərbər edərək *mitoz yoxlama nəzarət kompleksini* (MCC) əmələ gətirir. MCC sonra APC/C^{Cdc20}-nin öz substratlarını yenidən təşkil etməsinə və ubikvitinləşdirməsinə mane olur. Şpindel yığılmasının yoxlama nəzarət yolu üçün bu incə model birləşməmiş tək kinetoxorun bütün hüceyrə Cdc20-lərini bütün kinetoxorların şpindel mikroborucuqları ilə düzgün birləşməsinə qədər ingibirləşdirməsi qabiliyyətini izah edə bilər.

Bütün xromosomlar düzgün amfitelek formada mitoz şpindelində birləşdikdən sonra, APC/C^{Cdc20}-nin sekurini parçalaması və anafazanı inisiyasiya etməsi üçün şpindel yığılmasının nəzarət yoxlama yolu susdurulmalıdır. Şpindel yığılmasının nəzarət yoxlama yolunun susdurulması çoxsaylı mexanizmlərlə baş verir. Proteinfosfataza 1 Knl1-i

defosforlaşdırır, bununla da kinetoxorlarda yoxlama nəzarət zülal birləşdirmə saytlarını sıradan çıxarır. Bundan başqa, p31^{comet} kimi məlum olan zülal MCC-ni dağıdaraq APC/C^{Cdc20}-ni fəallaşdırır (bax Şəkil 19-31).

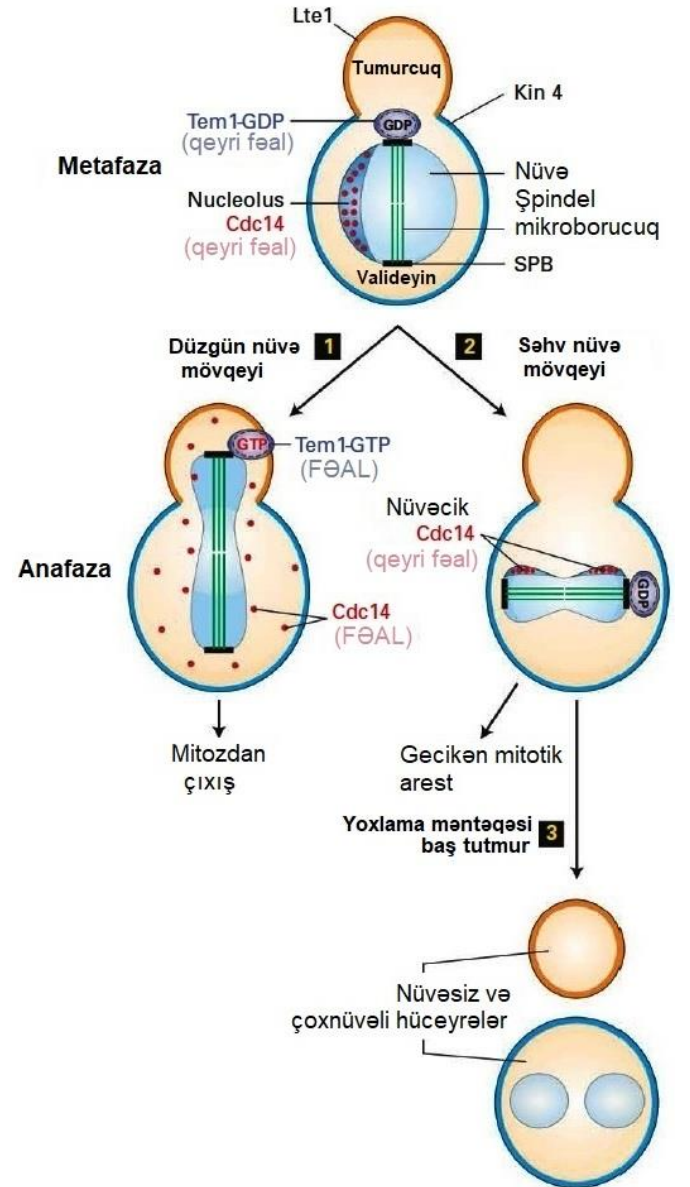


Şpindel yığılmasının nəzarət yoxlama yolu siçanlarda həyat qabliyyəti üçün çox vacibdir və bu keyfiyyət-nəzarəti yolunun əgəmiyyətini hər bir hüceyrə bölünməsi üçün xüsusilə vurğulayır. Əgər anafaza replikasiya olunmuş xromosomların hər iki kinetoxoru əks şpindel qütblərindən gələn mikrorucuqlara birləşməsindən öncə inisiyasiya olunursa xromosomlar “nondisjunction” (ayrılmayan) adlı proseslə yanlış segregasiya olunur. Hüceyrələrin tam xromosomu itirdiyi və ya qazandığı bu şərait **aneuploideya** adlanır. Aneuploideya insan sağlamlığında və gümrəhlığında dərin təsir göstərir. O genlərin səhv tənzimlənməsinə səbəb olur və xərcəngin əmələ gəlməsinə kömək edir. “Nondisjunction” insan spermasını və ya yumurtasını əmələ gətirən meyoz bölünməsi zamanı baş verirsə, trisoma (xromosomun qazanılması) və ya nonosomi (xromosomun itirilməsi) ilə nəticələnə bilər. Biz 19.8 bölməsində görəyik ki, meyoz xüsusilə “nondisjunction”-a meyilli olur və bu, spontan şəkildə abort və ya Daun sindromu ilə nəticələnə bilər. ■

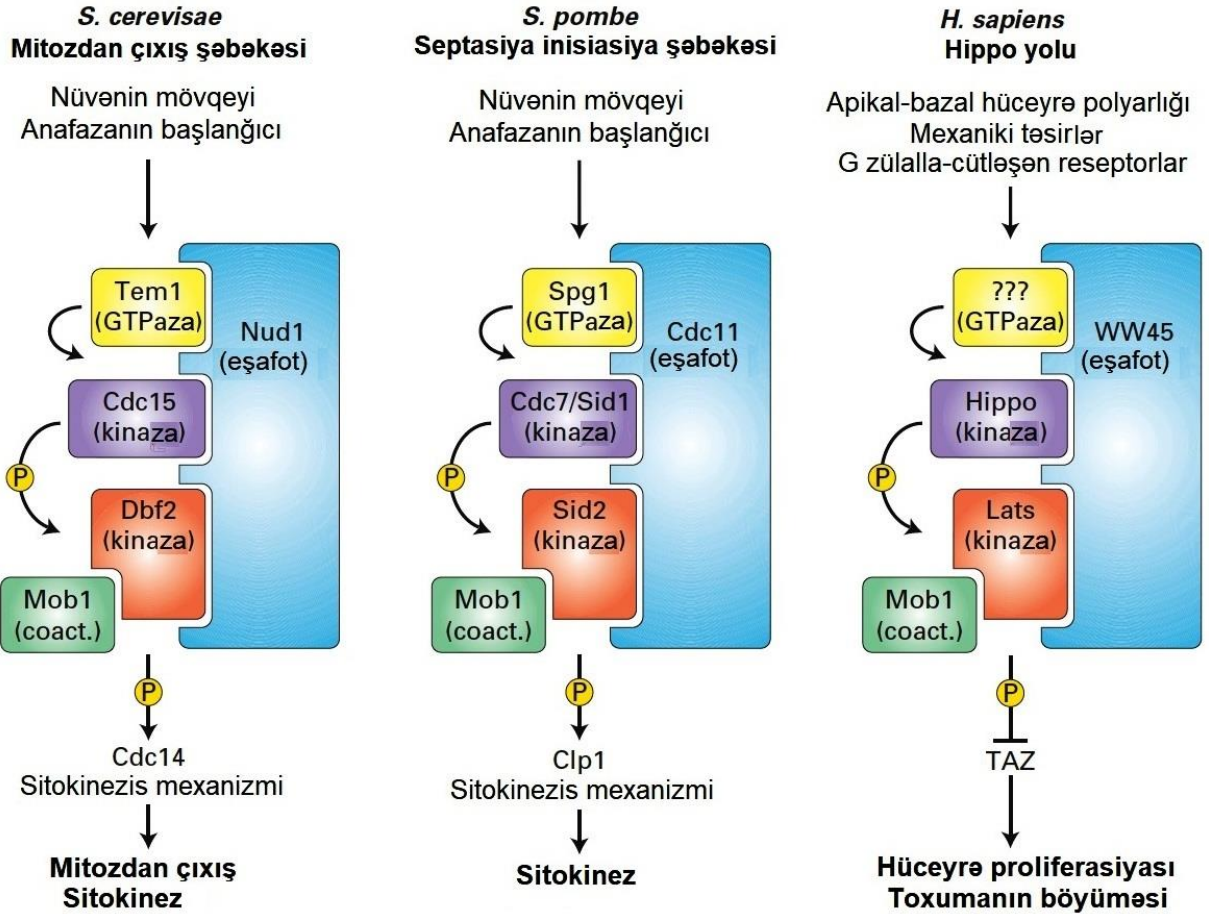
Spindle Mövqeyinin Yoxlama Nəzarət Yolu Nüvənin İki Qız Hüceyrə Arasında Düzgün Bölündüyünü Əmin Edir

Nüvə bölünməsi saytının sitokinez saytı ilə koordinasiyası iki eyni qız hüceyrənin yaradılması üçün çox vacibdir. Əgər sitokinez hər bir qız hüceyrənin tam genetik komplementi ala bilmədiyi yolla baş verirsə, xromosom itirilməsi və ya qazanılması əminliklə baş verəcəkdir. Mitoz şpindel hüceyrədə düzgün yerləşmədiyi halda sitokinezə mane olan nəzarət gözləmə mexanizmi çox model sistemlərdə təsvir edilmişdir. Şpindelin yerləşməsinin nəzarət yoxlama yolu kimi tanınan bu nəzarət gözləmə mexanizmi tumurcuqlayan mayada çox gözəl anlaşılmışdır. Bu orqanizmdə, tumurcuq əmələgəlmə saytı və buna görə də sitokinez saytı G₁ zamanı təyin edilir. Beləliklə, bölünmə oxu mitoz qədər müəyyən edilir və hər bir hüceyrə bölünməsində mitoz şpindel valideyin-tumurcuq oxu boyunca düzlənməlidir (Şəkil 19-32, pillə 1). Bu proses uğursuz olanda, şpindel mövqeyinin yoxlama nəzarət nöqtəsi mitotik CDK fəalsızlaşmasına mane olur, hüceyrəyə şpindelin dağılmasından və sitokinezdən öncə şpindelin mövqeyini dəyişməsinə imkan verir (Şəkil 19-32, pillə 2). Əgər şpindel mövqeyinin yoxlama nəzarəti uğursuz olarsa, şpindelləri səhv mövqeli olan hüceyrələr çox artıq və ya çox az nüvəyə malik olan mitoz məhsullarını əmələ gətirirlər (Şəkil 19-32, pillə 3).

Xatırladaq ki, tumurcuqlayan mayada, mitoz tsiklinlərinin toplusu bəzən anafaza şpindel elonqasiyası zamanı nüvənin yarısının çox kiçik tumurcuq boyundan sıxılaraq keçdiyi yolla mitoz şpindelinin düzlənməsinin çətin proseslərini asanlaşdırmaq üçün APC/C^{Cdc20} ilə parçalanmaqdan xilas olur. Daha sonra xatırladaq ki, mitoz tsiklin-CDK kompleksinin belə mühafizə olunan toplusunun fəalsızlaşması, mitozdan çıxış şəbəkəsi kimi tanınan siqnal yolu ilə fəallaşan proteinfosfataza Cdc14 vasitəsi



ŞƏKİL 19-32 Tumurcuqlayan mayada şpindel mövqeyinin yoxlama nəzarət yolu. Cdc14 fosfataza fəallığı mitozdan çıxmaq üçün tələb olunur. *Yuxarıda:* interfaza zamanı və erkən meyoz zamanı *S. cerevisiae*-də Cdc14 (qırmızı nöqtələr) nüvəcikdə tutularaq fəalsızlaşdırılır. Qeyri fəal Tem1-GDP (bənövşəyi) tumurcuq yaxınlığında mitoz şpindel yaranan kimi *şpindel polyar cismi* (SPB) ilə assosiasiya girir. Əgər xromosom seqreasiyası düzgün baş verərsə (pillə 1) şpindel mikrorucuqlarının uzunamması qız SPB-ni tumurcuq daxilində keçirir, Tem1-in məlum olmayan mexanizmlə fəallaşmasına səbəb olur. Tem1-GTP proteinkinaza kaskadını fəallaşdırır, o isə öz növbəsində fəal Cdc14-ün nüvəcikdən buraxılmasını və mitozdan çıxışı təşviq edir. Əgər şpindel aparatı qız SPB-ni (pillə 2-də) tumurcuqda yerləşdirə bilmərsə, Tem1-in inhibitoru Kin4-ü (abı-cyan) valideyin hüceyrəsi qabığından valideyin-hüceyrə-yerləşən SPB-yə səfərbər edir, Tem1-i GDP-birləşmiş formada saxlayır və mitozdan çıxış baş tutmur. Ltel1 (narıncı) Kin4-ün inhibitorudur və tumurcuqda yerləşir. Ltel1 (narıncı) Tem1-in inhibirləşdirməsindən tumurcuq daxilində sızan Kin4-ə mane olur. Əgər yoxlama nəzarət baş tutmazsa (pillə 3), şpindelləri yanlış mövqeli olan hüceyrələr mitozdan münasib olmayan şəkildə çıxırlar və nüvəsiz (anucleate) və çoxnüvəli (multinucleate) hüceyrələri əmələ gətirirlər.



ÇƏKİL 19-33 Hippo siqnal yolu ailəsi. Hippo siqnal yolunun əsas kinaza modulları növlər arasında qorunub saxlanmışdır (homoloji zülallar eyni rəngdə göstərilmişlər), amma giriş siqnalları, eləcə də siqnal yolu effektorları təkamül gedişində dəyişilmişdir. Tumurcuqlayan və bölünən mayalarda anafazanın başlanğıcı və nüvə mövqeyinin tənzimlənməsi kimi hüceyrə tsikli siqnalları proteinfosfataza Cdc14 (mayada Clp1) kimi effektor molekulları

vasitəsi ilə nüvədən çıxışı və sitokinezi tənzimləyir. Metazoanlarda, məsələn hüceyrə polyarlığını əməklə gətirən toxuma təşkili siqnal yolu, mexaniki təsir siqnalı və G zülallarla-cütləşən reseptorların siqnalları Hippo yolunu fəallaşdırır. Sonra, Hippo yolu hüceyrə proliferasiyasına və toxumanın böyüməsinə mane olmaq üçün transkripsiya faktoru TAZ-i ingibirləşdirir.

ilə baş verir (bax Şəkil 19-26). Mitozdan çıxış şəbəkəsi *Tem1* adlanan kiçik (monomer) GTP-aza ilə nəzarət olunur. Keçirici zülalların *GTP-aza superailəsinin* bu nümayəndəsi Ras-ın MAP kinaza yolunu tənzimlədiyinə oxşar yolla proteinkinaza kaskadının fəallığına nəzarət edir (bax Fəsil 16). Şpindel qütb cismi formalaşan kimi *Tem1* onlarla assosiasiya girir. GTP-azanın *Kin4* adlanan inhibitoru valideyin hüceyrədə yerləşir, amma tumurcuqda olmur (bax Şəkil 19-32). *Kin4*-ün *Ltel* adlanan inhibitoru tumurcuqda yerləşir, amma valideyin hüceyrədə olmur və tumurcuğa sızan istənilən *Kin4* qalığını ingibirləşdirir. Anafazanın sonunda şpindel mioborucuqlarının elonqasiyası seqreqasiya edən qız xromosomları tumurcuqda düzgün yerləşdirəndə *Tem1* *Kin4* vasitəsi ilə ingibirləşməkdən azad olur. Bunun nəticəsində, *Tem1* fəal GTP-birləşmiş formaya çevrilir və proteinkinaza siqnal kaskadını fəallaşdırır.

Kaskaddakı terminal (sonuncu) kinaza sonra *Cdc4*-ə birləşərək onu ingibirləşdirən nüvəciyə-bənzər lövbəri fosforlaşdırır, *Cdc14 fosfatazını* həm valideyin hüceyrədə həm də tumurcuqda sitoplazma və nüvə plazması daxilinə buraxır (bax Şəkil 19-32, pillə 1). Fəal *Cdc14* mövcud olanda, mitoz

CDK-lər qeyri fəal olur və hüceyrələr mitozdan çıxır. Şpindel düzgün mövqe tuta bilməyəndə *Tem1*-daşıyıcı şpindel qütb cismi tumurcuğa keçə bilmir mitozdan çıxma şəbəkəsi fəallaşma bilmir və hüceyrə anafazada arrest olunur. Beləliklə, siqnal ötürülməsi yollarının aktivatorlarının və ingibitorlarının məkanca məhdudlaşması hüceyrəyə imkan verir ki, məkan siqnalını, şpindel in mövqeyini hiss etsin və onu siqnal ötürülməsi yolunun tənzimlənməsinə çevirsin.

Şpindel qütb cismində yerləşən və fəaliyyəti şpindel in mövqeyi ilə tənzimlənən mitozdan çıxış şəbəkəsi metazoanlarda Hippo yolu kimi və bölünən mayalarda *arakəsmə (septasiya) inisiyasiya şəbəkəsi* kimi tanınan siqnal yolları ailəsinə aiddir (Şəkil 19-33). Bu yol yüksək dərəcədə konservativ olan özək əsas kinaza siqnal şəbəkəsindən ibarətdir, amma onun siqnal girişi və çıxışı təkamülün gedişində dəyişilmişdir. Hippo siqnal yolunun konservativ özəyi *Lats-Mob1* kinazını fəallaşdıran Hippo proteinkinazalardan təşkil olunub. Kinazalar skafolt molekullardan təşkil olunub və ən azı tumurcuqlayan və bölünən mayalarda kinaza kaskadını sentrosomlara hədəf edir. Bir çox kinaza siqnal kaskadlarında olduğu kimi, GTP-aza mitozdan

çıxış şəbəkəsinin və septasiya inisiyasiya şəbəkəsinin fəaliyyətinə nəzarət edir. Hippo yolunun GTP-aza ilə nəzarət olunması hələ məlum deyil.

Hippo yolu təkamül gedişində siqnal yollarının necə yenidən yönəldilməsinin gözəl nümunəsidir. Tumurcuqlayan və bölünən mayada bu yol anafaza və nüvə mövqeyi siqnallarına cavab olaraq CDK fəaliyyətini və sitokinezi tənzimləyir. Metazoanlarda, Hippo yolu G_1 faza zamanı hüceyrələrin proliferasiyasının qarşısını alır. Hippo yolunun fəalsızlaşması, hippo siqnalının olmaması səbəbindən, toxumanın həddən artıq böyüməsinə səbəb olur, TAZ (siçanlarda YAP kimi tanınan) transkripsiya aktivatoru böyüməni və hüceyrə proliferasiyasını təşviq edən genlərin transkripsiyasını fasiləsiz şəkildə fəallaşdırır. Hippo yoluna nəzarət edən siqnalların funksiyası çox müxtəlifdir. Hüceyrə-qovşağı komponentləri, G zülallarla-cütləşən reseptorlar və mexaniki qüvvələr vasitəsi ilə apikal bazal hüceyrə polyarlığı Hippo yolunu fəallaşdırır və G_1 -də arrest olunmağa səbəb olur. Apikal bazal polyarlıq differensial epitelial təbəqələr üçün xarakterikdir. Dəqiq mexanizm və buna görə də, Hippo yolunu tənzimləyən bu polyarlıq siqnalları faal tədqiqat sahəsidir və görünür aktin sitoskelet bu nəzarətdə mərkəzi nöqtədir (düyündür). Hüceyrə qovşaqları, mexaniki qüvvələr və G zülallarla-cütləşən reseptorlar hamısı aktin sitoskeleti və onların GTP-azalar kimi tənzimləyicilərinə nəzarət edir.

Proliferasiya nəzarətindəki mərkəzi rolunu nəzərə alsaq təəccüblü deyildir ki, Hippo yolu sütun hüceyrələrin saxlanılmasında və toxuma regenerasiyasında aparıcı rol oynayır. Faktiki olaraq, yol ilk dəfə *Drosophila*-da Hippo yolunda toxumanın həddən ziyadə böyüməsinə səbəb olan və yüksək üzv (orqan) çəkisi əmələ gətirən mutasiyaya əsasən aşkar edilmişdir. Böyümənin məhdudlaşdırılmasında onun əsas funksiyası da göstərir ki, bu yol şişlərin inkişafının qarşısını alınmasında da kritik əhəmiyyətlidir. Hippo yolunda mutasiyanı daşıyan siçanlar xərçəngə meyillidirlər, TAZ-ın yüksək səviyyəsi isə insan xərçənglərində tez-tez müşahidə olunur.

Bu hüceyrə tsiklinin inkişafının irəliyə doğru getməsi və səhvlər olmadan baş verməsi üzrə müşahidə nəzarət mexanizmi barədə bizim müzakirələrimizi yekunlaşdırır. Biz Fəsil 24-də görəəcəyik ki, xərçəng hüceyrə tsiklinin nəzarət müşahidə mexanizminin işləmədiyi xəstəlikdir. Dəqiq xromosom replikasiyasını, seqreqasiyasını və nüvə bölünməsinə təmin edən bu yolda mutasiyalar xərçəngə transformasiyanın əsas səbəbləridir.

19.7 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Tsiklinin Tənzimlənməsində Nəzarət Müşahidə Mexanizmi

- Yoxlama nəzarət yolu kimi məlum olan müşahidə nəzarət mexanizmləri hüceyrə tsikli hadisələri arasında asılılığı təşkil edir və əmin edir ki, növbəti hüceyrə tsikli hadisəsi davam etməkdə olan hadisə tamamlanmadan baş verməsin.
- Yoxlama nəzarət yolu xüsusi bir hüceyrə hadisəsini monitor edən sensorlardan, siqnal yolundan və hüceyrə tsiklinin gedişini dayandıran və lazım olanda reparasiya mexanizmini fəallaşdıran effektorlardan təşkil olunub.

- Böyümə və hüceyrə bölünməsi əksər orqanizmlərdə G_1 zamanı inteqrasiya edir. Makromolekulların biosintezinin məhdudlaşması hüceyrə tsiklinə girişi gecikdirir.
- Hüceyrələr geniş müxtəliflikdə DNT zədələnmələrini aşkar edə və ona cavab verə bilirlər və onların cavabı hüceyrənin daxilində olduğu hüceyrə tsikli mərhələsindən asılı olaraq dəyişilir.
- DNT zədələnməsinə cavab olaraq, iki oxşar olan proteinkinaza – ATM və ATR zədələnmə saytına səfərbər olunurlar, burada onlar hüceyrə tsiklinin arrest olunmasına, reparasiyaya və bəzi hallarda apoptoza aparən siqnal yollarını fəallaşdırırlar.
- Anafazanın vaxtından əvvəl inisiyasiyasına mane olan şpindel toplanmasının yoxlama nəzarət yolu, sekurin və mitoz tsiklinlərini ubikvitinilləşməyə hədəf edən APC/C^{Cdc20}-ni tənzimləmək üçün Mad2 və başqa zülalları istifadə edir.
- Şpindel mövqeyinin yoxlama nəzarət yolu, şpindel səhv nizamlanarkın mitotik CDK-lərin fəalsızlaşmasına mane olur. Bu yolda yerləşən aktivatorlar və inhibitorlar, həmçinin onlar arasında şatlı olan sensorlar hüceyrənin şpindelini mövqeyini hiss etməsinə imkan verir.
- Təkamül gedişində siqnal ötürülməsi yollarının Hippo ailəsi yenidən təyin edilmişdir. Göbəklərdə onun xromosom seqreqasiyası yolu ilə mitozdan çıxışı və sitokinezi koordinasiya etmə funksiyası metazoanlarda toxuma artması və toxuma təşkilinin koordinasiya olunması ilə əvəz edilmişdir.

19.8 Hüceyrə Bölünməsinin Xüsusi Tipi: Meyoz

Demək olar ki, bütün diploid eukariotlarda meyoza haploid rüşeym hüceyrələrini (yumurtanı və spermanı) əmələ gətirir, bunlar da başqa fərddəki rüşeyim hüceyrə ilə cütləşərək inkişaf edib yeni fərdi əmələ gətirən diploid zıqotu yaradırlar. Meyoz biologiyanın və bütün eukariotların təkamülünün fundamental aspektidir, çünki o, fərdin iki valideyindən alınmış xromosom dəstlərinin yenidən kompleksiyasının nəticəsidir. Meyoz zamanı valideyin DNT molekulaları arasında xromosom yenidənkompleksiyası və homoloji rekombinasiya yaranan hər haploid rüşeyim hüceyrənin hər bir valideyin fərddən və eləcə də hər bir digər haploid rüşeyim hüceyrədən alınan fərqli allellərin unikal kombinasiyasını almalarını təmin edir.

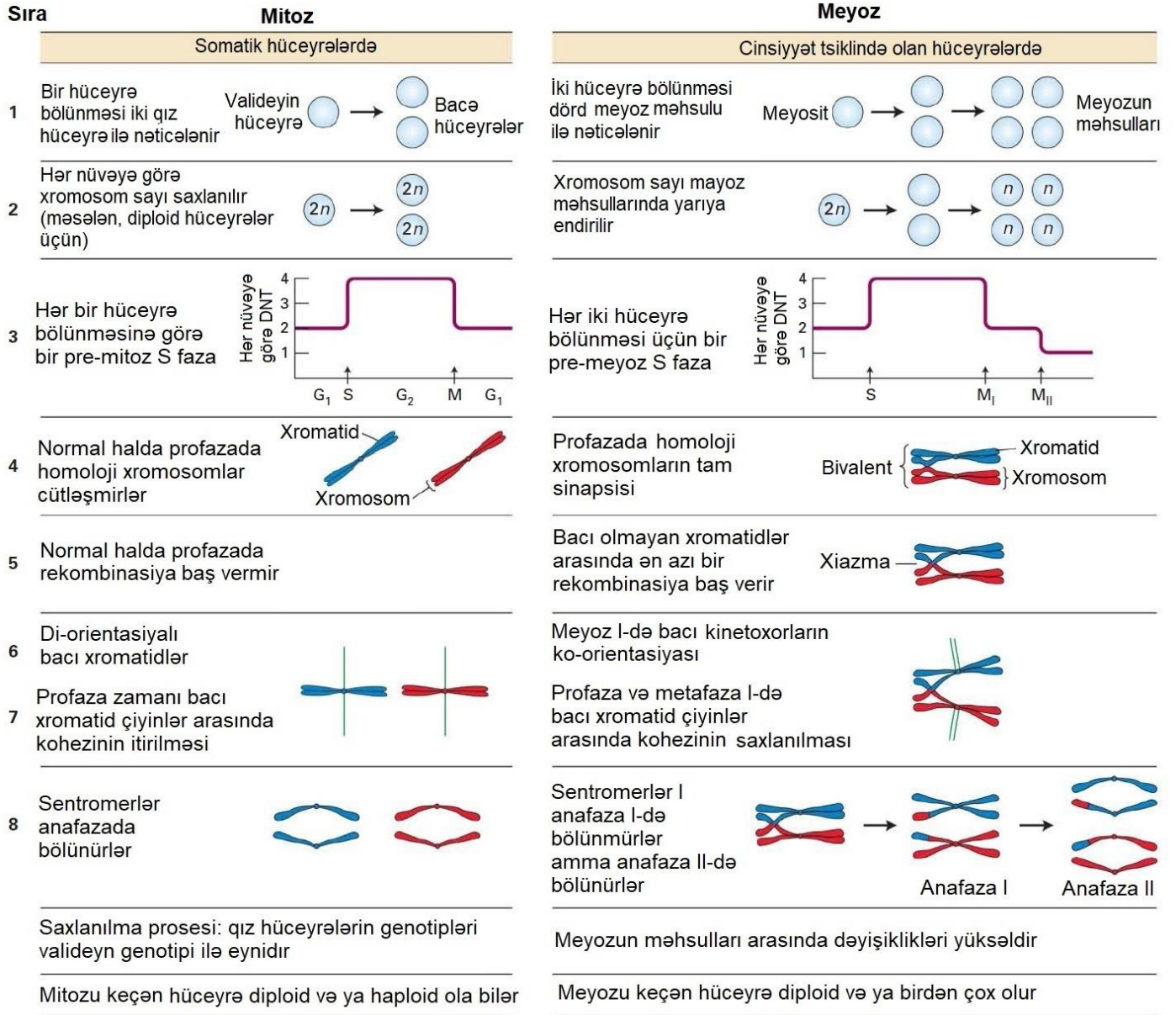
Meyozun mexanizmi mitozun mexanizminə analojidir. Amma, meyozun bir sıra əsas xüsusiyyətləri bu prosesə genetik cəhətdən müxtəlif haploid hüceyrələri yaratmağa imkan verir (bax Şəkil 6-3). Mitoz hüceyrə tsiklinə, hər bir S fazanın ardınca xromosom seqreqasiyası və hüceyrə bölünməsi gəlir. Bunun əksinə meyoza hüceyrə bölünməsində DNT replikasiyasının bir dövrəsinin ardınca *iki ardıcıl xromosom seqreqasiya fazası* gəlir. Bu proses diploid əvəzinə haploid qız hüceyrələrinin yaranmasına səbəb olur. İki bölünmə ərzində ana və ata xromosomlar elə qatışdırılır və bölünür ki, genetik quruluşuna görə valideyin hüceyrədən fərqlənir. Bu bölmədə, biz meyoza ilə mitoz arasında oxşarlığı və eləcə də, haploid qız hüceyrələrinin əmələ gəlməsinə səbəb olan qeyri adi hüceyrə bölünməsinə gətirən kanonik mitoz hüceyrə tsikli mexanizmini

transformasiya edən meyoza-spesifik mexanizmləri müzakirə edəcəyik.

Hüceyrəxarici və Hüceyrədaxili Sıqnallar Rüşeyim Hüceyrə Formalaşmasını Tənzimləyir

Metazoanlarda mitozu daxilolmanı işə salan sıqnal çox fəal tədqiq olunan sahədir və hələ də çox şey məlum deyil. Amma, eyni əsas prinsiplər bütün orqanizmlərdə meyoza qrogramına daxil olmaq qərarını idarə edir və bu keçid öyrənilmişdir. Hüceyrəxarici sıqnallar, qeyri adi meyoza hüceyrə bölünmələrini

əmələ gətirən meyoza-spesifik hüceyrə tsikli faktorlarını istehsal edən transkripsiya qrogramını induksiya edir. Hüceyrə tsiklinin modifikasiyası spermada qamçılardan inkişafı kimi və ya göbələklərdə spor əmələgəlmə zamanı stressə davamlı hüceyrə divarının inkişaf etməsi kimi qamətlərə xarakterik olan xüsusiyyətləri induksiya edən inkişaf qrogramı ilə birlikdə (əl-ələ) gedir. Hüceyrəxarici sıqnallardan məməlilərdə meyoza girişi induksiya edən ən azı biri, sıqnal molekulu olan retinoik turşudur ki, retinoik turşu reseptoru (RAR) transkripsiya faktoru ilə birləşərək çoxsaylı inkişaf proseslərində fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 9-43). Bu hormonun hüceyrə hədəfləri və onun meyoza necə spesifik fəaliyyət göstərməsi hələ açılmamışdır.



ŞƏKİL 19-34 Mitoz və meyoza əsas xüsusiyyətlərinin müqayisəsi.

Meyozu daxil olmaq qərarının əsasında duran molekulyar mexanizmlər *S. cerevisiae*-də yaxşı öyrənilmişdir. Meyoz

bölməyə daxil olunmaya qərar G₁-də verilir. Azotun və karbon mənbələrinin tükənməsi diploid hüceyrələrin mitoz

əvəzinə meyoza getməsinə induksiya edir və haploid sporları əmələ gətirir (bax Şəkil 1-23). Meyoz bölünmə zamanı, tumurcuqlama repressiya olunur. Meyoz qədər S faza və iki meyoza bölünmə ana hüceyrənin hüduqları daxilində baş verir. Sonra dörd meyoza məhsulu ətrafında sporların divarları yaranır. Xatırladaq ki, tumurcuqlama və DNT replikasiyasının inisiyasyonu G_1/S faza CDK-lər vasitəsi ilə induksiya olunur. Tumurcuqlamaya mane olmaq üçün ekspressiya ingibirləşməlidir. Qidalanma açlığı G_1/S faza tsiklinlərin ekspressiyasını pozur və beləliklə tumurcuqlamayı ingibirləşdirir. Amma, DNT replikasiyası da həmçinin G_1/S faza CDK-lərinə əsaslanır. Meyozdan-öncə DNT replikasiyası G_1/S faza CDK-ləri olmadan necə baş verə bilər? Sporlamaya-spesifik proteinkinaza *Ime2* DNT replikasiyasının təşviq olunmasında G_1/S faza CDK-lərin rolunu öz üzərinə götürür. *Ime2* təşviq edir: (1) APC/C spesifiklik faktoru *Cdh1*-in fosforlaşması onu fəalsızlaşdırır və S faza və M faza tsiklinlər toplanma bilirlər (bax Şəkil 19-13); (2) DNT polimerazalar və S faza tsiklinlər kimi kodlaşdırdığı məhsullar S fazada tələb olunan genlərin ekspressiyasını induksiya etmək üçün transkripsiya faktorlarının fosforlaşması (bax Şəkil 19-14); (3) S faza CDK inhibitoru *Sic1*-in fosforlaşması fəal S faza CDK-ləin buraxılmasına və meyoza-öncə replikasiyanın başlanmasına səbəb olur.

Bir Neçə Əsas Xüsusiyyət Meyozu Mitozdan Fərqləndirir

Meyoz bölünmə bir sıra fundamental aspektlərinə görə mitoz bölünmədən fərqlənir. Bu fərqlər Şəkil 19-34-də ümumiləşdirilir. Meyoz hüceyrə bölünməsi zamanı DNT replikasiyasının bir dövrəsinin ardınca hüceyrə bölünməsinin *meyoza I* və *meyoza II* kimi adlandırılan iki tsikli gəlir (Şəkil 19-35). Meyoz II mitozu xatırladır, belə ki, bacı xromatidlər seqreqasiya edirlər. Amma, meyoza I çox fərqlidir. Bu bölünmə zamanı homoloji xromosomlar – irsən anadan alınmış xromosomlar və irsən atadan alınmış eyni xromosomlar – seqreqasiya edirlər. Belə qeyri adi xromosom seqreqasiyası xromosom seqreqasiya məşinində üç meyoza-spesifik modifikasiyanı tələb edir. Bundan sonra biz bu modifikasiyaları və onların nə üçün lazım olduğunu müzakirə edirik.

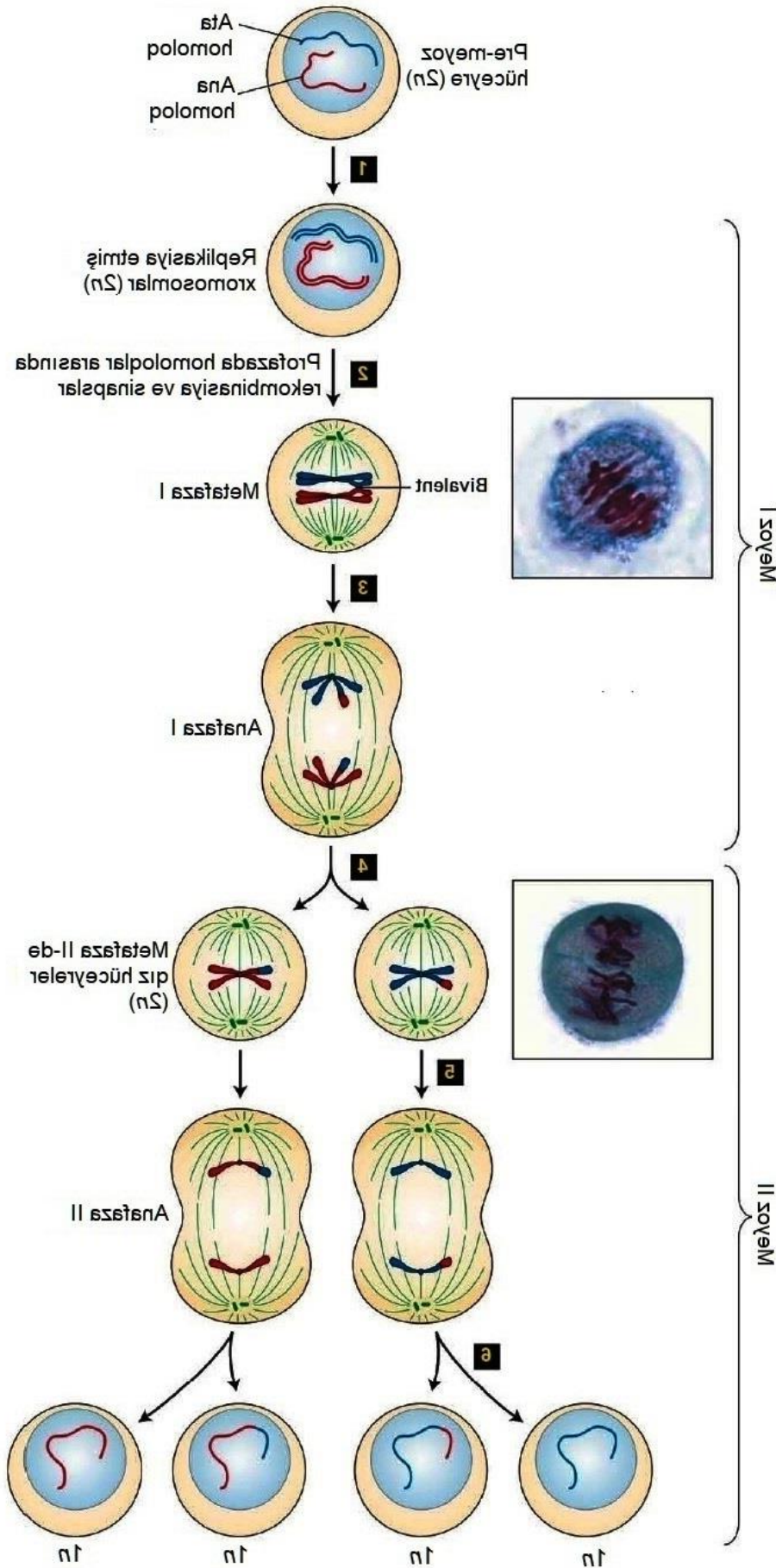
Mitoz zamanı xromosomların şpindelə düzgün qoşulmasını nizamlayan gərginliyə-əsaslanan hissetmə mexanizmi meyoza I zamanı da xromosomların seqreqasiyasını həyata keçirir. Beləliklə, homoloji xromosomlar elə əlaqələnməlidir ki, gərginliyə-əsaslanan bu mexanizm fəaliyyət göstərə bilsin. Homoloji xromosomlar arasında homoloji rekombinasiya bu əlaqələni yaradır (bax Şəkil 19-34). Homoloji rekombinasiyanın molekulyar mexanizmləri Fəsil 4-də ətraflı müzakirə olunur. Burada biz müzakirələrimizi uğurlu meyoza bölünməsində homoloji rekombinasiyanın əhəmiyyəti ilə məhdudlaşdırırıq.

G_2 -də və meyoza I-in profazasında hər bir xromosomun replikasiya olunan iki xromatidi kohezini kompleksləri ilə, mitoz hüceyrə tsiklinə olduğu kimi, DNT replikasiyasının ardınca xromosom çiyinlərinin bütün uzunluğu boyu bir yerə bağlanırlar. Meyoz I-in profazasında homoloji xromosomlar (başqa sözlə, ananın və atanın xromosom 1, ananın və atanın xromosom 2 və sair) bir-biri ilə cütləşir və homoloji

rekombinasiyaya uğrayırlar. Qeyd etmək lazımdır ki, ana və ata xromosomlar arasında ən azı bir rekombinasiya hadisəsi baş verir. Xromatidlərin rekombinasiya nəticəsində baş verən *krossinqoveri* birinci meyoza profazasında və metafazasında mikroskop altında müşahidə oluna bilər və bu quruluşlar *xiazma* (tək halda *xiazma*) adlanır. Əksinə, homoloji xromosomlar arasında cütləşmə mitozda müşahidə olunmur və qeyri bacı xromatidlər arasında rekombinasiya nadir hallarda rast gəlinir. Homoloji rekombinasiya ilə əlaqədar homoloji xromosomlar bir-biri ilə assosiasiya edir və bu proses *sinaps* adlanır. Orqanizmlərin əksəriyyətində, bu sinapslar **sinaptonemal kompleks (SC)** kimi tanınan zülal kompleksləri vasitəsi ilə baş verir. Xiazmalar vasitəsi ilə əlaqələnmən homoloji xromosomlar *bivalentlər* adlanır (bax Şəkil 19-34). Xiazmata və onlara distal olan kohezini molekulları indi metafaza I şpindelində mikroborucuqlar tərəfindən dərtilmə qüvvəsinə qarşı müqaviməti təmin edir (bax Şəkil 19-35).

Meyoz I-in metafazasında baş verən homoloji xromosomlar arasındakı rekombinasiyanın ən azı iki funksional nəticəsi var. Birincisi, o meyoza I metafazasında homoloji xromosomları birləşdirir. İkincisi, o müxtəlif fərdlərdə allellərin yeni kombinasiyasını təmin etməklə növün fərdləri arasında genetik müxtəlifliyə kömək edir. (Amma qeyd edək ki, genetik müxtəliflik əsasən meyoza bölünməsi zamanı ana və ata homoloqların sərbəst yenidən-çəşidlənməsindən meydana gəlir). İndi ən azı bir xiazma ilə birləşmiş homoloqlar meyoza I-in metafazasının şpindelində elə düzlənməlidirlər ki, ana və ata xromosomlar meyoza I-in anafazasında seqreqasiya edərək bir-birindən uzaqlaşsınlar. Bu tələb edir ki, bacı xromatidlərin kinetoxorları mitozdakı kimi əks şpindel qütblərindən deyil *eyni* şpindel qütblərindən uzanan mikroborucuqlara birləşsinsinlər (Şəkil 19-36). Bu yolla birləşmiş bacı xromatidlər *ko-orientasiyalı* adlanırlar. Amma, hər bir bivalentin ana və ata xromosomlarının kinetoxorları əks şpindel qütblərindən gələn şpindel mikroborucuqlarına birləşirlər, bunlara *bi-orientasiyalı* deyilir. Nəhayət iki ardıcıl xromosom seqreqasiyası fazasını asanlaşdırmaq üçün kohezini xromosomlardan mərhələli şəkildə itirilməlidirlər. Xatırladaq ki, mitoz zamanı bütün kohezini anafazanın başlanğıcında itirirlər (Şəkil 19-37a). Bunun əksinə, meyoza zamanı kohezini xromosom çiyinlərindən meyoza I-in sonunda itirilir, amma kinetoxorlar ətrafında kohezinilərin toplusu atılmaqdan mühafizə olunurlar (Şəkil 19-37b). Kohezinilərin toplusu bütün meyoza I boyu saxlanılaraq davam edir, amma anafaza II-nin başlanması ilə atılır. Biz növbəti paragrafda görəcəyik ki, xromosom çiyinlərindən olan kohezinilərin itirilməsi meyoza I zamanı homoloji xromosomların bir-birindən seqreqasiya edib uzaqlaşması üçün tələb olunur

Meyoz zamanı koheziniləri sıradan çıxaran mexanizmlər mitozdakı mexanizmlə eynidir. Sekurinin parçalanması separazanı azad edir, o isə sonra xromosom çiyinlərini bir yerdə saxlayan koheziniləri kəsir, amma sentromer ətrafında koheziniləri intakt saxlayır. Bu rekombinasiya olunmuş ana və ata xromosomların ayrılmasına imkan verir, amma hər bir xromatid cütü sentromerlə assosiasiya etmiş vəziyyətdə qalır. Metafaza II zamanı, bacı xromatidlər metafaza II şpindelində düzlənilirlər və separaza yenidən fəallaşır, sentromerlər ətrafında qalmış kohezini qalıqlarını doğrayaraq anafaza II-yə imkan yaradır (bax Şəkil 19-37b).

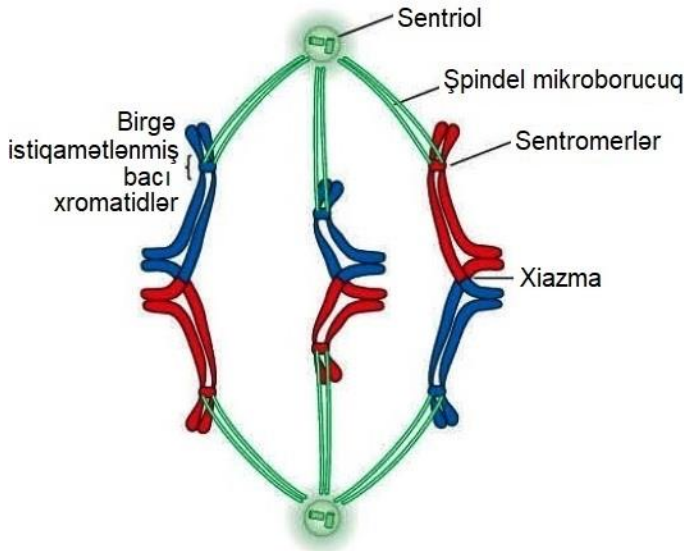


ŞƏKİL 19-35 Meyoz. Meyozdan-öncəki hüceyrələr hər xromosomun iki nüsxəsinə malikdirlər ($2n$), biri ata valideyindən digəri isə ana valideyindən törənmişdir. Sadəlik üçün diaqramda yalnız bir xromosomun ata və ana homoloqları verilmişdir. Piliə 1: Bütün xromosomlar, birinci meyoz bölünmədən öncə S faza zamanı replikasiya edirlər və $4n$ xromosom komplementarını əmələ gətirirlər. Kohezin kompleksləri (göstərilmir) hər bir replikasiya etmiş xromosomları təşkil edən bacı xromatidləri onların bütün uzunluğu boyu birləşdirir. Piliə 2: Birinci meyoz profazasında xromosomlar kondensasiya edən kimi, replikasiya edən homoloqlar cütləşir və homoloji rekombinasiyaya uğrayırlar və ən azı bir krossover hadisəsinə səbəb olurlar. Burada göstərilən metafaza I-də bir xromosomun hər iki xromatidi bir şpindel qütblərindən uzanan mikroborucuqlarla assosiasiya edir, amma homoloji xromosom cütünün hər bir üzvü əks qütblərdən uzanan mikroborucuqlarla assosiasiya edir. Piliə 3: Meyoz I-in anafazası zamanı hər biri iki xromatiddən ibarət olan homoloji xromosomlar əks şpindel qütblərinə doğru çəkilirlər. Piliə 4: Sitokinez iki qız hüceyrəni əmələ gətirir (indiki $2n$), onlar DNT replikasiyasına uğramadan meyoz II-yə daxil olurlar. Burada göstərilən meyoz II-nin metafazasında bacı xromatidlər mitozda olduğu kimi əks şpindel qütblərinin şpindel mikroborucuqları ilə assosiasiya edirlər. Piliə 5 və 6: Meyoz II-nin anafazasında bacı xromatidlərin əks şpindel qütblərinə seqreçiyasının ardınca gələn sitokinez hər xromosomun bir nüsxəsinə malik olan haploid qamətləri ($1n$) yaradır. Soldakı mikrofotolar *Lilium* (liliya) yumurtalıqlarında inkişaf edən qamətlərdə meyoz metafaza I və meyoz metafaza II-ni göstərir. Xromosomlar metafaza müstəvidində düzlənirlər. [Fotolar nəzakətli Ed Reschke/Peter Arnold, Inc./Photolibary/Getty Images-dən.]

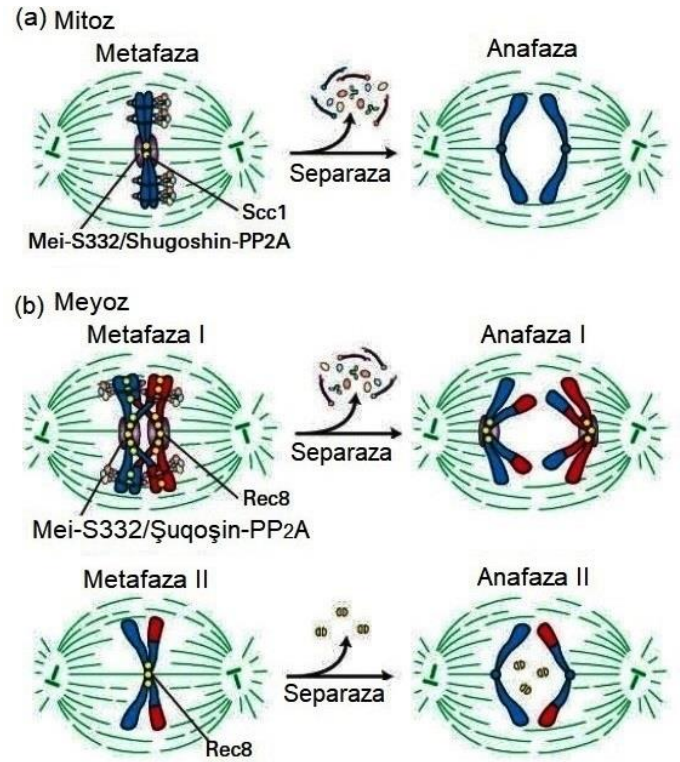
Rekombinasiya və Meyoz-Spesifik Kohezın Subvahidi Meyoz I-də Xüsusi Xromosom Seqreqasiyası üçün Lazımdır

Bizim meyoza I-in metafazasında gördüyümüz kimi, bir (replikasiya edən) xromosomda olan hər iki bacı xromatid, mitozda olduğu kimi əks şpindel qütblərindən çıxan mikroborucuqlarla deyil eyni şpindel qütbindən çıxaraq uzanan mikroborucuqlarla assosiasiya edirlər (bax Şəkil 19-36). Homoloji xromosomlar arasındakı iki fiziki əlaqə anafazaya qədər şpindel dartma qüvvəsinə qarşı müqavimət göstərir: (1) xromatidlər arasında krossinqover nəticəsində yaranan xiazmata və (b) crossover nöqtəsindən uzaqda olan kohezınlar (bax Şəkil 19-37b, *yuxarıda*). Meyoz zamanı rekombinasiyanın əlaqələndirici funksiyasının sübutu o müşahidələrdən gəlmişdir ki, proses üçün vacib olan zülallardakı mutasiyalarla rekombinasiya blok olunanda meyoza I zamanı xromosomlar təsadüfi seqreqasiya edirlər, yəni homoloji xromosomlar mütləq şəkildə əks şpindel qütblərinə seqreqasiya etmirlər.

Meyoz anafaza I-in başlanğıcında, xromosom çiyinləri arasındakı kohezınlar separaza vasitəsi ilə doğranır. Bu doğranma homoloji xromosomların seqreqasiya etməsi üçün tələb olunur. Əgər kohezınlar xromosom çiyinlərindən itirilməzsə rekombinasiya etmiş bacı xromatidlər anafaza I zamanı parçalanacaqdır. Sentromer kohezınlarının meyoza I zamanı saxlanması bacı xromatidlərin meyoza II zamanı düzgün seqreqasiyası üçün lazımdır.



ŞƏKİL 19-36 Xiazmata və onlara yaxın olan kohezınlar meyoza I-in metafazasında homoloji xromosomları bağlayır. Meyoz I zamanı xromosomlar arasında əlaqə çəyirtkə kimi akrosentrik sentromerlərə malik olan orqanizmlərdə daha asanlıqla vizuallaşdırıla bilər. Bacı xromatidlərin sentromerlərində kinetoxorlar, ana (qırmızı) və ata (mavi) xromosomların kinetoxorları əks şpindel qütblərindən çıxan şpindel mikroborucuqlara birləşməklə eyni şpindel qütbindən çıxıb uzanan şpindel mikroborucuqlarına birləşirlər. Ana və ata xromosomlar bir-biri ilə onlar arasındakı rekombinasiya nəticəsində yaranan xiazmata və bacı xromatid çiyinləri arasında metafaza I-ə qədər davam edən kohezınlar vasitəsilə birləşmişlər. Qeyd edək ki, anafazada homoloji xromosomların ayrılması üçün tələb olunan hər şey bacı xromatid çiyinləri arasından kohezınların atılmasıdır. Bax L. V. Paliulis and R. B. Nicklas, 2000, *J. Cell Biol.* **150**:1223.



ŞƏKİL 19-37 Mitoz və meyoza zamanı kohezın fəaliyyəti. (a) Mitoz zamanı S fazada DNT replikasiyası ilə yaranan bacı xromatidlər ilkin olaraq xromatidlərin uzunluğu boyu kohezın kompleksləri ilə bağlı olurlar. Xromosom kondensasiyası zamanı kohezın komplekslər (sarı) metafazada sentromer rayonu ilə məhdudlaşır. Mei-S332/Şuqoşin (bənövşəyi) PP2A-nı sentromerlərə səfərbər edir, burada onlar Polo kinaza ilə Aurora B-yə qarşı duraraq kondensinin sentromer rayonlarından ayrılmasına mane olur. Mei-S332/Şuqoşinin sentromerlərdən dissosiasiyası və separazanın fəallaşması sentromerlərdən kohezınların çıxarılmasına səbəb olur. İndi bacı xromatidlər ayrılır və anafazanın başlanğıcını yaradır. (b) Meyoz I-in profazasında, ana və ata xromatidlər bir-birinin arasında homoloji rekombinasiya ilə əlaqələri yaradırlar. Metafaza I-də hər bir replikasiya edən xromosomun xromatidləri tam uzunluğu boyunca kohezın kompleksləri ilə çarpaz əlaqələnilirlər. Scc1-in meyoza spesifik homoloji Rec8 xromosom çiyinləri boyu doğranır, amma sentromer ətrafında intakt qalır, homoloji xromosom cütlərinin qız hüceyrələrə seqreqasiya etməsinə imkan verir. Sentromer Rec8 PP2A tənzimləyicisi Mei-S332/Şuqoşin (bənövşəy rəngdə göstərilir) ilə sentromer rayonlara səfərbər olunan PP2A vasitəsi ilə doğranmaqdan mühafizə olunur. Metafaza II-də Mei-S332/Şuqoşin-PP2A kompleksi xromosomlardan dissosiasiya edir. İndi meyoza II zamanı kohezın kəsilməlidir və bacı xromatidlərə seqreqasiya etməyə imkan verilir. Bax F. Uhlmann, 2001, *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:754.

Çox orqanizmlərdə aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, xüsusi kohezın subvahidi, Rec8 meyoza zamanı xromosomlardan kohezınların mərhələli şəkildə itirilməsi üçün lazımdır. Yalnız meyoza zamanı ekspressiya olunan Rec8 mitoz hüceyrələrin kohezın kompleksinin kohezın halqasını qapayan kohezın subvahidi Scc1-ə homojidir (bax Şəkil 19-25). İmmunolokalizasiya eksperimentləri açar etdi ki, meyoza I-in erkən anafazasında Rec8 xromosom çiyinlərindən itirilir, amma sentromerlərdə saxlanılır. Lakin, meyoza II-nin erkən anafazasında sentromer Rec8 separaza ilə kəsilir, beləliklə bacı

xromatidlər mitozda etdikləri kimi seqreqasiya edə bilirlər (bax Şəkil 19-37b, *aşağıda*). Buna görə də, Rec8-kohezin kompleksin kəsilməsinin tənzimlənməsinin başa düşülməsi, meioz I-də xromosom seqreqasiyasını anlamaq üçün əsasdır.

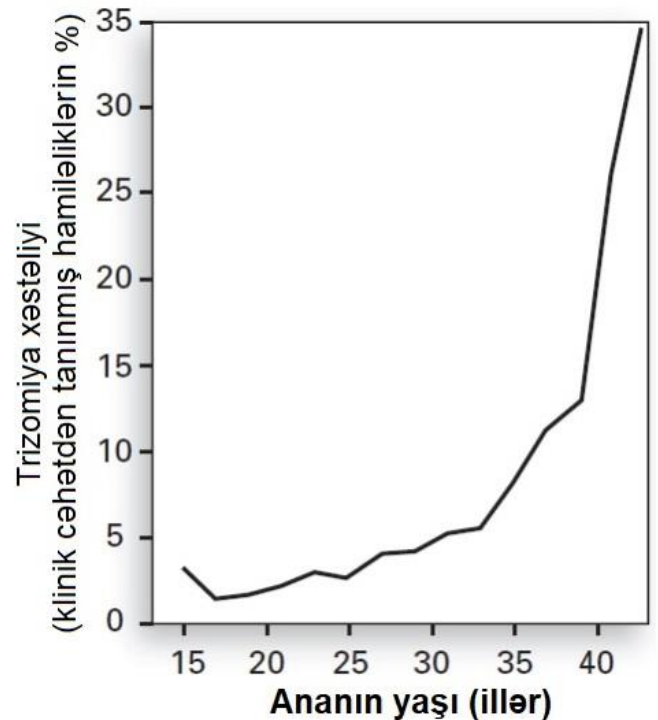
Meyoz I zamanı sentromerlərdə Rec8-i doğramaqdan qoruyub saxlayan mexanizm mitoz zamanı sentromerlərdə Scc1-i qoruyub saxlayan mexanizmə oxşardır. Xatırladaq ki, mitozun profazası zamanı proteinkinazalar, onlar arasında Polo kinaza başda olmaqla xromatid çiyinlərində kohezinləri fosforlaşdırırlar, onların metafazada dissosiasiya etməsinə və xromatid çiyinlərindən kohezinlərin uzaqlaşdırılmasına səbəb olurlar. Amma, kohezinlər sentromerlərdə saxlanılır, çünki proteinfosfataza 2A-nın (PP2A) spesifik izoforması Mei-S332/Şuqoşin kimi tanınan zülallar ailəsinin nümayəndələri tərəfindən sentromer xromatinində lokalizasiya olunur. PP2A kohezinləri meyoza II-yə qədər xromatindən dissosiasiya etməyən hiperfosforlanmış vəziyyətdə saxlayır (bax Şəkil 13-97a). Metafaza II zamanı Mei-S332/Şuqoşin xromosomlardan dissosiasiya edir. Bundan başqa, sonuncu kinetoxor spindel mikroborucuğu ilə düzgün assosiasiya etdikdə, APC/C^{de20} təzyiqdən azad olur və sekurinun ubiquitinilləşməsinə səbəb olur. Sekurinun fəalsızlaşması separazanın fəaliyyətini azad edir, o isə Scc1-i onun fosforlanmış olub olmamasından asılı olmayaraq doğrur, kohezinləri sentromerdən uzaqlaşdırır və anafazada xromatidləri ayrılmasına imkan verir (bax Şəkil 19-37a).

Kohezinin uzaqlaşdırılması Meyoz I-də fərqlənir, çünki Rec8 kohezin kompleksində Scc1-i əvəz edəndə kompleks profazada fosforlaşarkən dissosiasiya etmir. Meyozun kohezin kompleksi yalnız separazanın fəaliyyəti ilə xromatindən uzaqlaşdırıla bilər. Rec8 həmçinin Scc1-dən onunla fərqlənir ki, o separaza ilə doğrana bilmək üçün bir neçə proteinkinaza tərəfindən fosforlaşmalıdır. Meyoz I zamanı PP2A-nın Mei-S332/Şuqoşin vasitəsilə sentromer xromatinə hədəf olunan sentromer-spesifik izoforması bu fosforlaşmaya mane olur. Sonra PP2A hədəfləmə faktoru və PP2A metafaza II ilə xromosomlardan dissosiasiya edir, Rec8-i doğramaq üçün separazaya imkan verir.



Meyoz I mitozla nisbətən daha çox səhvlərə uğrayır. Belə hesab edilir ki, insanlarda bütün konsepsiyanın 10 faizi aneuploiddir. Bu aneuploidiyalar əsasən meyoza I zamanı xromosomların xromosom ayrılmasında kimi də tanınan səhv-seqreqasiyası nəticəsində baş verir. Homoloji xromosomlar arasında rekombinasiya baş tutmayanda və ya xiazmata xromosomların ucuna çox yaxın olanda, kinetoxor-mikroborucuq birləşmələrində gərginlik olmayanda və ya çox zəif gərginlik meydana gələndə və onlar destabilləşəndə ayrılmayan xromosom qovşaqlarına səbəb olurlar. Nəticədə, sperma və ya yumurta çox az və ya çox artıq xromosom alır. Bütün monosomiyalar (xromosomun olmaması) və əksər trisomalılar (artıq xromosom qazanılması) rüşeymin ölümü ilə və ya doğulduqdan qısa müddət sonra ölümü ilə nəticələnir. Yalnız Daun sindromu kimi də məlum olan trisoma 21, yaşaya bilən nəsil verir, amma inkişaf anormallığı və intellektual (əqli) çatışmazlıqla nəticələnir.

Meyoz I-də ayrılmayan xromosom qovşaqları ananın yaşından asılı olaraq dramatik artır. Belə ki, 30 yaşdan aşağı qadınların doğduğu uşaqların 0.1 faizdən azı Daun sindromla olduğu halda 45 yaşında bu rəqəm 3.5 faizə qalxır. Ananın yaşından asılı olaraq ayrılmayan xromosom qovşaqlarının belə artması xromosom 21 üçün spesifik deyildir. Trisomiya xəstəliyi kliniki baxımdan 30 yaşdan aşağı qadınların hamiləliyində 5 faizdən az rast gəlinir, amma 42 yaşa qədər qadınlarda 35 faizə qədər yüksələ bilər (Şəkil 19-38)! Ayrılmayan xromosom qovşaqların ananın yaşı ilə bağlı belə artmasına səbəb onurğalılarda dişi fərdin meyozunun biologiyası ilə bağlıdır. Bütün onurğalılarda meyoza qabaq DNT replikasiyası və rekombinasiyası dişi fərdin rüşeymində (embrionunda) baş verir. Sonra oosit meyoza I-n G₂-də dişi fərd cinsi yetişkənliyə çatana qədər müddətdə arrest olunmuş vəziyyətdə qalır, bu da insanlarda 12-16 yaş arasındadır. Məhz bu anda, birinci oosit meyoza daxil olur və ikinci meyoza yoluna gedir və burada arrest olunaraq mayalanmanı gözləyir (bax Şəkil 19-5). 40 yaşında qadında meyoza bölünməyə qoşulan oosit 40 il G₂-də arrest olunmuş vəziyyətdə qalır və bu müddət ərzində xromosomların ucuna yaxın yerləşən xiazmata sürüşə bilər və ya çox uzun olan bu G₂ faza müddətində homoloji xromosomları bir yerdə saxlayan kohezinlər korlana (pisləşə) bilər və homoloji xromosomların bir-birindən ayrılmasına səbəb olur. Hər iki hadisə homoloji xromosomların səhv-seqreqasiyasına səbəb ola və aneuploid yumurtanın yaranmasına gətirib çıxara bilər. ■



ŞƏKİL 19-38 Fetal aneuploidiya ananın yaşı ilə artır. Klinik olaraq tanınmış hamiləliklər arasında müəyyən edilən trizomiya rüşeymlərin faiz nisbəti ana yaşının funksiyası kimi göstərilir. [Verilənlər T. Hassold and P. Hunt, 2001, *Nature Rev. Genet.* 2:280-dən.]

Bacı Xromatidlərin Ko-orientasiyası Meyoz I Xromosomların Seqreqasiyası üçün Kritik Əhəmiyyətlidir

Əvvəllər mitozun və meyoza II-nin metafazasında müzakirə olunduğu kimi, bacı kinetoxorlar əks şpindel qütblərindən çıxıb uzanan şpindel mikroborucuqlarına birləşirlər, bu kinetoxorlara *bi-orientasiyalı* deyilir. Bacı xromatidlərin başqa qız hüceyrələrə seqreqasiya etməsi üçün bu çox vacibdir. Bunun əksinə, meyoza I-də bacı kinetoxorlar *eyni* şpindel qütblərindən çıxıb uzanan şpindel mikroborucuqlarına birləşirlər, bu bacı kinetoxorlara ko-orientasiya olunmuş deyilir (bax Şəkil 19-36). Aydın ki, meyoza I və II-də bacı kinetoxorların uyğun mikroborucuqlara bağlanması xromosomların düzgün meyotik seqreqasiyası üçün vacibdir.

Meyoz I bacı kinetoxorlarının ko-orientasiyası üçün tələb olunan zülallar ilk dəfə *S.cerevisiae*-də identifikasiya olunmuşdur. Bu orqanizmdə, tək bir mikroborucuq hər bir kinetoxora birləşir. Biz indi bilir ki, **monopolin kompleksi** kimi məlum olan zülal kompleksi meyoza I zamanı bacı kinetoxorlarla assosiasiya edərək onları tək kinetoxor vahidi kimi birləşdirir və buna da bir mikroborucuq birləşir. Bütün başqa orqanizmlərdə, kinetoxorlara çoxsaylı mikroborucuqlar birləşirlər. Bu orqanizmlərdə Rec8-ə malik olan kohezirlər bacı kinetoxorların ko-orientasiyası üçün vacibdir. Bu meyoza-spesifik kohezirlər sərt kinetoxor quruluşunu tətbiq edirlər, bacı kinetoxorların hərəkətini məhdudlaşdırırlar, bununla da onların eyni şpindel qütblərindən çıxıb uzanan mikroborucuqlara birləşməsinə üstünlük verirlər.

Meyoz I xromosomlarının düzgün qoşulması mitozda və meyoza II-də olduğu kimi, gərginliyə-əsaslanan mexanizmlə həyata keçir. Meyotik metafaza I zamanı kinetoxorlarla birləşmiş mikroborucuqlar gərginlik altında olur (hətta baxmayaraq ki, bacı xromatidlərin ko-orientasiyalı kinetoxorları eyni qütblərdən gələn mikroborucuqlara birləşir), çünki homoloji xromosomlar arasında rekombinasiya nəticəsində əmələ gələn xiazmata və xiazmatadan uzaqda olan kohezirlər onların qütblərə dartılmasına mane olurlar (bax Şəkil 19-36). Kinetoxor-mikroborucuq qoşulmaları gərginlik olmadan (Aurora B vasitəsilə fosforlaşmaya görə) qeyri stabil olduğundan, yanlış şpindel mikroborucuqlarına birləşmiş kinetoxorlar bu mikroborucuqları buraxırlar, bu da onların gərginlik yaradan mikroborucuqlarla yenidən birləşməsinə imkan verir. Mitozda olduğu kimi, gərginlik yarandıqdan sonra, mikroborucuğun kinetoxorlara birləşməsi stabilizasiya olunur.

DNT Replikasiyası İki Meyoz Bölünmə Arasında İnisiyasiya Olunur

DNT replikasiyasının meyoza I və meyoza II arasında supressiya olduğu mexanizm fəal tədqiq olunan sahədir, amma belə hesab edilir ki, CDK fəallığının tənzimlənməsindəki dəyişiklik bu supressiyada ən azı qismən də olsa rol oynayır. Mitozdan öncə DNT replikasiyasını təşviq edən eyni S faza CDK-ləri meyoza II-dən öncə DNT replikasiyası üçün də tələb olunur. Həmçinin mitozu təşviq edən eyni mitoz CDK-ləri meyoza II-dən öncə də təşviq edir, istisna odur ki, bu halda onlar mitoz

bölməni deyil meyoza II-dən öncə bölməni irəli apardığından biz mitotik CDK-ləri meyotik CDK-lər kimi adlandırırıq.

Beləliklə, iki meyoza bölünmə arasında DNT replikasiyasına necə mane olunur? Meyoz I-in anafazasının ardınca meyotik CDK fəallığı mitoz anafazasının ardınca olduğu qədər aşağı düşür. CDK fəallığının belə qismən aşağı düşməsi guman olunur ki, meyoza I şpindelinin dağılmasına kifayət edir, amma MCM helikazının yüklənməsinə təşviq etmək üçün kifayət etmir (xatırladaq ki, CDK fəallığının çox aşağı vəziyyəti və ya heç olmaması MCM helikazının yüklənməsi üçün tələb olunur). Meyoz II-nin profazası dövründə meyotik CDK fəallığı yenidən yüksəlir və meyoza II-nin şpindelini formalaşdır. Bütün bacı kinetoxorlar əks şpindel qütblərinin mikroborucuqlarına qoşulduqdan sonra, separaza fəallaşır və hüceyrələr meyoza II haploid rüşeyim hüceyrəni əmələ gətirmək üçün anafaza, telefaza və sitokinezdən keçir.

19.8 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Bölünməsinin Xüsusi Tipi: Meyoz

- Meyoz hüceyrə bölünməsinin xüsusi bir tipidir, bu zaman meyoza-spesifik gen məhsulları meyoza hüceyrə bölünməsi proqramını modullaşdırır (bax Şəkil 19-34).
- Meyoz bölünmə xromosom replikasiyasının bir dövrəsindən və meyoza II-dən öncəki diploid hüceyrədən haploid rüşeyim hüceyrəsinə əmələ gətirmək üçün ardınca gələn iki hüceyrə bölünməsi tsiklindən ibarətdir. Meyoz I zamanı homoloji xromosomlar seqreqasiya edirlər, meyoza II zamanı bacı xromatidlər ayrılırlar.
- Xüsusi ətraf mühit şəraitləri meyoza bölünməyə səbəb olan inkişaf proqramını induksiya edirlər.
- Meyoz I-in profazasında homoloji xromosomlar rekombinasiyaya uğrayırlar. Hər bir homoloji xromosom cütünün xromatidləri arasında ən azı bir rekombinasiya hadisəsi baş verir.
- Xiazmata və onlara uzaq olan kohezirlər meyoza I-in profazası və metafazasında homoloji xromosomların bir yerdə saxlanılmasını həyata keçirirlər.
- Meyoz I-in anafazasının başlanğıcında xromosom çiyinlərindəki kohezirlər fosforlaşır və nəticədə, separaza ilə doqranırlar, amma sentromer rayonundakı kohezirlər fosforlaşmaqdan və doqranmaqdan qorunurlar. Bu qorunma sentromerlərlə assosiasiyada olan meyoza-spesifik kohezirlər subvahidlərin və proteinfosfatazaların vasitəsi ilə həyata keçir. Nəticədə, bacı xromatidləri meyoza I-də seqreqasiya zamanı bir-biri ilə əlaqələnməmiş şəkildə qalırlar.
- Meyoz II-nin anafazası zamanı sentromer kohezirlərin doqranması fərdi xromatidlərin rüşeyim hüceyrələrinə seqreqasiya etməsinə imkan verir.
- Meyoz kohezirləri bacı kinetoxorların meyoza I zamanı eyni qütblərdən çıxıb uzanan mikroborucuqlara qoşulmasını asanlaşdırır.
- İki meyoza bölünmə arasında natamam CDK fəalsızlaşması DNT replikasiyasını ingibirləşdirir.

Açar Sözlər

anfazanı-yüksəldən kompleks/tsiklosom (APC/C)
aneuploidiya
ATM/ATR
Aurora B
Cdc14 fosfataza
Cdc25 fosfataza
CDK-fəallaşdırıcı kinaza (CAK)
G₁ CDK-lər
yetkinləşməni-təşviq-edən faktor (MPF)
meyoz
mitogen
mitoz
mitoz CDK-ləri
monopolin kompleks
p53 zülal
Polo kinazalar
CDK inhibitor

yoxlama nəzarət yolu
kohezin
kondensin
kritik hüceyrə ölçüsü
tsiklin
tsiklindən asılı olan kinaza (CDK)
E2F transkripsiya faktoru kompleksi
Rb zülalı
məhdudluq nöqtəsi
SCF (Skb, Kullin, F-boks zülalları)
sensor
baçı xromatidlər
S faza CDK-ləri
START
sinaptonemal kompleks
Wee1

Konsepsiyalara Baxış

1. Hansı hüceyrə mexanizmi (lər) hüceyrə tsiklindən keçidin bir istiqamətli və geriye donməyən olmasını təmin edir? Hansı molekulyar məşin bu mexanizmin əsasında dyurur?
2. Hüceyrə tsiklinin gedişini öyrənmək üçün tədqiqatçılar hansı tip eksperimental strategiyadan istifadə etdilər? Genetik və biokimyəvi yanaşmalar bu mövzunu necə fərqləndirdilər?
3. 2013-cü ildə Tim Hant yumurtalarda və embrionlarda tsiklin zülalların aşkar edilməsi və xarakterizə olunması üzrə öz işlərinə görə Fiziologiya və ya Tibb üzrə Npbel Mükafatını bölüşdülər (bax Klassik eksperiment 19-1). Onu tsiklinlərin aşkar edilməsinə aparıcı eksperimental mərhələləri təsvir et.
4. Hansı eksperimental sübut göstərir ki, tsiklin B hüceyrənin mitozda daxil olması üçün tələb olunur? Hansı sübut göstərir ki, hüceyrənin mitozdan çıxması üçün tsiklin B dağılmalıdır?
5. *S. pombe* və *S. cerevisiae* arasında hansı fizioloji fərqlər onları hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsinə və nəzarətinə daxil olan molekulyar mexanizmləri öyrənmək üçün faydalı, eləcə də tamamlayıcı alət kimi sərfəli edir?
6. *Xenopus*-da mitoz CDK-lərin substratlarından biri Cdc25 fosfatazadır. Mitoz CDK-lərlə fosforlaşarkən Cdc25 fəallaşır. Cdc25-in substratı nədir? Bu informasiya, hüceyrələr mitozda daxil olarkən mitoz CDK fəallığının kəskin artmasını izah etməyə necə kömək edir?
7. Aşağıdakı zülallarla CDK fəallığının necə modulyasiya olunduğunu izah et: (a) tsiklin; (b) CAK; (c) Wee1; (d) p21.
8. CDK inhibitorların rolunu izah et. Əgər tsiklin-CDK kompleksləri eukariot hüceyrə tsiklindən tənzimlənen şəkildə keçməyə imkan vermək üçün lazımdırlarsa CDK inhibitorlarının fizioloji əsasları nə olacaq?
9. Adətən xərçəng hüceyrələri hüceyrə tsiklinə giriş nəzarətini itirirlər. Bəzi xərçəng hüceyrələrində tapılmış, aşağıdakı mutasiyaların bu nəzarətdən keçməyə necə səbəb olmasını izah

edin: (a) tsiklin D-nin superekspressiyası; (b) Rb funksiyasının itirilməsi; (c) p16 funksiyasının itirilməsi; (d) E2F-in hiperfəallığı.

10. Rb zülal hüceyrə tsiklinin "master əyləci" adlandırıldı. Rb zülalın hüceyrə tsiklinin əyləci kimi necə fəaliyyət göstərməsini izah et. Hüceyrənin S fazaya davam etməsinə imkan vermək üçün G₁-in ortasından sonuna qədər əyləc necə buraxılır?

11. Hüceyrə tsikli tənzimlənməsinin ümumi xüsusiyyəti odur ki, bir fazanın hadisələri növbəti fazanın hadisələrinin gedişini təmin edir. *S. cerevisiae*-də G₁ və G₁/S faza CDK-lər S fazaya keçidi sürətləndirir. Onların S fazanın fəallaşmasını gücləndirdiyi iki yolu adlandırın.

12. Eukariot hüceyrələrində S fazanın vaxtında tamamlanması üçün DNT replikasiyası çoxsaylı replikasiya məşşələrindən inisiyasiya olunmalıdır. *S. cerevisiae*-də bütün genomun hər bir hüceyrə tsikli üçün bir dəfə və yalnız bir dəfə replikasiya olunduğunu təmin etmək üçün S faza CDK-ləri və DDK-ləri hansı rol oynayırlar?

13. 2001-ci ildə Fiziologiya və ya Tibb üzrə Nobel Mükafatı üç hüceyrə tsikli alimlərinə verilmişdir. Paul Nurse bölünən maya *S. pombe* ilə tədqiqatlarına görə, xüsusən də *wee1*⁺ genin açılmasına və xarakterizə olunmasına görə təltif olunmuşdur. *wee1*⁺ genin xarakterizə olunması bizə hüceyrə tsiklinin nəzarəti barədə nə deyir?

14. Bacı kinetoxorların mitoz şpindelində düzgün birləşməsinə hüceyrələrin necə bildiyini təsvir edin.

15. APC/C-nin anafazada bacı xromatidlərin ayrılmasını yüksəltməyi hadisələr sırasını təsvir edin.

16. 2011-ci ildə Fiziologiya və Tibb sahəsində üçüncü Nobel Mükafatını alan Leland Hartwell tumurcuqlayan *S. cerevisiae* mayada hüceyrə tsiklinin nəzarət yoxlama yollarını xarakterizə etdiyinə görə təltif edilmişdir. Hüceyrə tsiklinin yoxlama nəzarət

nöqtəsi yolu nə deməkdir? Hüceyrə tsiklinin yoxlama nəzarət yolu genomun qorunub saxlanmasına necə kömək edir?

17. p53 də daxil olmaqla şiş supressorları DNT zədələnməsinə malik olan hüceyrə tsiklinin arrest olunmasında hansı rolu oynayırlar?

18. Ataksiya teleangiektasiya irsi xəstəliyi olan fərdlər neyrodegenerasiyadan, immün çatışmazlığından və yüksək xərçəngə tutulma ehtimalından əziyyət çəkirlər. Ataksiya teleangietaksiyanın genetik əsası ATM (*ATM* – ataksiya telengestasiya mutasiyalı) kodlaşdıran gendə funksiyasının itirilməsi mutasiyasıdır. p53-dən başqa hansı substrat ATM ilə fosforlaşır? Bu substratın fosforlaşması CDK-lərin hüceyrə tsiklini arrest etmək üçün fəalsızlaşmasına necə səbəb olur?

19. Ümumilikdə meyoz və mitoz analogi proseslər olub çoxsaylı eyni zülallara malikdirlər. Amma, bəzi zülallar bu hüceyrə bölünməsinin formalarının hər birində unikal funksiyaya malikdirlər. Aşağıdakıların meyoz-spesifik funksiyalarını izah edin: (a) Ime2, (b) Rec8, (c) monopolin.

20. Daun sindrom xəstəliyinə tutulmanın ananın yaşından asılı olaraq niyə artmasını izah edin.

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Hüceyrə Tsiklinə və Onun Nəzarətinə Ümumi Baxış

Morgan, D. O. 2006. *The Cell Cycle: Principles of Control*. New Science Press.

CDK Fəallığının Tənzimlənməsi

Bloom, J., and F. R. Cross. 2007. Multiple levels of cyclin specificity in cell-cycle control. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **8**(2):149–160.

Ferrell, J. E. Jr, T. Y. Tsai, and Q. Yang. 2011. Modeling the cell cycle: why do certain circuits oscillate? *Cell* **144**(6):874–885.

Lim, S., and P. Kaldis. 2013. CDKs, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* **140**(15):3079–3093.

Hüceyrə Tsiklinə və DNT Replikasiyasına Bağlılıq

Costa, A., I. V. Hood, and J. M. Berger. 2013. Mechanisms for initiating cellular DNA replication. *Ann. Rev. Biochem.* **82**:25–54.

Johnson, A., and J. M. Skotheim. 2013. Start and the restriction point. *Curr. Opin. Cell Biol.* **25**(6):717–723.

Wood, A. J., A. F. Severson, and B. J. Meyer. 2010. Condensin and cohesin complexity: the expanding repertoire of functions. *Nature Rev. Genet.* **11**(6):391–404.

Mitoza Giriş

DeLuca, J. G., and A. Musacchio. 2012. Structural organization of the kinetochore-microtubule interface. *Curr. Opin. Cell Biol.* **24**(1):48–56.

Hirano, T. 2012. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions. *Genes & Dev.* **26**(15): 1659–1678.

Ohta, S., et al. 2011. Building mitotic chromosomes. *Curr. Opin. Cell Biol.* **23**(1):114–121.

Smoyer, C. J., and S. L. Jaspersen. 2014. Breaking down the wall: the nuclear envelope during mitosis. *Curr. Opin. Cell Biol.* **26**:1–9.

Mitozun Tamamlanması: Xromosom Seqrecaiyası və Mitozdan Çıxış

Craney, A., and M. Rape. 2013. Dynamic regulation of ubiquitin-dependent cell cycle control. *Curr. Opin. Cell Biol.* **25**(6):704–710.

Sullivan, M., and D. O. Morgan. 2007. Finishing mitosis, one step at a time. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **8**(11):894–903.

Wirth, K. G., et al. 2006. Separase: a universal trigger for sister chromatid disjunction but not chromosome cycle progression. *J. Cell Biol.* **172**:847–860.

Hüceyrə Tsikli Tənzimlənməsinin Nəzarət Mexanizmi

Aguilera, A., and T. Garcia-Muse. 2013. Causes of genome instability. *Ann. Rev. Genet.* **47**:1–32.

Burke, D. J. 2009. Interpreting spatial information and regulating mitosis in response to spindle orientation. *Genes & Dev.* **23**(14):1613–1618.

Davie, E., and J. Petersen. 2012. Environmental control of cell size at division. *Curr. Opin. Cell Biol.* **24**(6):838–844.

Foley, E. A., and T. M. Kapoor. 2013. Microtubule attachment and spindle assembly checkpoint signalling at the kinetochore. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **14**(1):25–37.

Shiloh, Y., and Y. Ziv. 2013. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **14**(4):197–210.

Hüceyrə Bölünməsinin Xüsusi Tipi: Meyoz

Lesch, B. J., and D. C. Page. 2012. Genetics of germ cell development. *Nature Rev. Genet.* **13**(11):781–794.

Lichten, M., and B. de Massy. 2011. The impressionistic landscape of meiotic recombination. *Cell* **147**(2):267–270.

Miller, M. P., A. Amon, and E. Ünal. 2013. Meiosis I: when chromosomes undergo extreme makeover. *Curr. Opin. Cell Biol.* **25**(6):687–696.

Zickler, D., and N. Kleckner. 1999. Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Ann. Rev. Genet.* **33**:603–754.

Dənizdən Çıxan Hüceyrə Biologiyası: Tsiklinlərin Aşkar Edilməsi

T. Evans və başqaları, 1983, Cell 33:391

Mayalanmadan sonra ilk hüceyrə bölünməsindən xərçəngdə baş verən aberrant bölünməyə qədər hüceyrələrin öz bölünmələrinə necə nəzarəti etməsi barədə bioloqlar uzun müddət maraqlanmışlar. Hüceyrə bölünməsi prosesi birlikdə *hüceyrə tsikli* kimi məlum olan mərhələlərə ayrılmışdır. 1980-ci illərin əvvəlində dəniz onurğalılarında erkən inkişaf dövrünü öyrənərkən Joan Ruderman və Tim Hunt hüceyrə tsiklinin əsas tənzimləyiciləri olan tsiklinləri aşkar etmişlər

Arxa Plan

Orqanizmlərin mayalanmış yumurtadan necə inkişaf etməsi sualı elmi tədqiqatların böyük bir hissəsini əhatə etməkdə davam edir. Belə tədqiqatların klassik olaraq embrioloqlara aid olduğu halda, 1980-ci illərdə gen ekspresiyasının anlaşılmasının inkişaf etdirilməsi bu sualı cavablandırmaq üçün yeni yanaşmanı meydana gətirdi. Belə bir yanaşma həm oositlərdə həm də mayalanmış yumurtada gen ekspresiya profilinin yoxlanılması oldu. Ruderman və Hunt erkən inkişafı öyrənmək üçün bu yanaşmanı tətbiq edən bioloqlar arasında idilər.

Bioloqlar bir sıra dəniz onurğasızları sistemində erkən inkişafı yaxşı xarakterizə etmişdilər. Onların yumurtası orqanizmdən xaricdə mayalandırılmış və tədqiqatçıya onun inkişafını plastik qablarda öyrənməyə imkan vermişdir. İnkişafın erkən dövründə embrional hüceyrə sinxron şəkildə bölünür, bu da hüceyrələrin bütöv bir populyasiyasının hüceyrə tsiklinin eyni mərhələsində öyrənilməsinə imkan verir. Tədqiqatçılar aşkar etdilər ki, mayalanmamış oositdə mRNTnin böyük bir hissəsi translyasiya olunmur. Mayalanmadan sonra bu ana mRNT-lər sürətlə translyasiya olunurlar. Əvvəlki tədqiqatlar göstərmişdi ki, mayalanmış yumurtalar zülal sintezini ingibirləşdirən dərmanla işləniləndə hüceyrə bölünməsi baş vermir. Bu göstərir ki, ana mRNT-lərdən zülal sintezinin ilkin partlayışı inkişafın erkən dövrlərində tələb olunur. Bu zaman Masaçusets Woods Hole-də Dəniz Biologiyası Laboratoriyasında fiziologiya kursunu öyrədən Ruderman və Hunt bu zaman ekspresiya olunan genləri aşkar etmək üçün, eləcə də zülal sintezinin nəzarət olunduğunu aşkar etmək üçün dizayn olunmuş eksperimentlər dəstinə başladılar.

Eksperiment

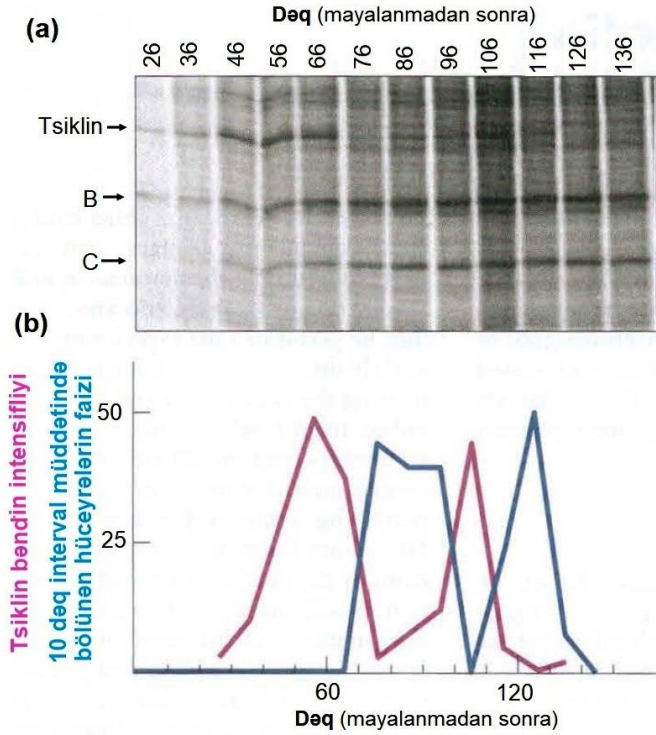
Əməkdaşlıq layihəsində Ruderman və Hunt *Spisula solidissima* dəniz molyuskunun mayalanmış yumurtasında gen ekspresiyasının tənzimlənməsini araşdırdılar. Ümumi zülal sintezinin mayalanmada sürətlə artdığını bildikləri halda, onlar inkişafın erkən dövründə bu zülalları iki-hüceyrəli embrionda

ekspresiyasının mayalanmamış yumurtada ekspresiyasından fərqli olub olmadığını öyrənmək istədilər. Molyuskun istər yumurtaları istərsə də iki-hüceyrəli embrionları radioaktiv nişanlanmış amin turşuları ilə işləniləndə, hüceyrələr daha sonra yeni sintez olunmuş zülallarda birləşən radioaktiv amin turşularını qəbul edirlər. Bu metoddan istifadə edərək, Ruderman və Hunt zülal sintezinin profilini hüceyrələri dağıtmaqla və SDS-poliakrilamid gel elektroforezindən (SDS-PAGE) istifadə edərək ayırmaqla və sonra da radiokativ nişanlanmış zülalları avtoradiografiya ilə vizuallaşdırmaqla yoxladılar. Onlar yumurtada zülal sintezi profilini iki-hüceyrəli embriondakı ilə müqayisə edərək gördülər ki, yumurtada ya ekspresiya olunmamış ya da həddən aşağı dərəcədə ekspresiya olunmuş üç müxtəlif zülal embrionda yüksək dərəcədə ekspresiya olunmuşlar. Sonrakı tədqiqatlarda Ruderman *Asterias forbesi* dəniz ulduzunun oositi yetişərkən onlarda zülal ekspresiyasının profilini yoxladı. O yenidən ölçüsünə görə Huntla birlikdə molyuskun embrionunda aşkar etdikləri zülallara oxşar olan üç zülalın ekspresiyasının yüksəlməsini müşahidə etdi.

Bundan sonra tezliklə, üçüncü tədqiqatlarda Hunt dəniz kirpisinin oositində yetkinləşmə və mayalanma zamanı zülal ekspresiyasındakı dəyişiklikləri yoxladı. Bu zaman o eksperimentləri bir az başqa üslubda apardı. Oositləri və embrionu seçilmiş zaman müddətində radioaktiv nişanlanmış amin turşuları ilə işləmək əvəzinə o, hüceyrələri iki saat müddətində fasiləsiz şəkildə nişanladı və hər 10 dəqiqə intervalında analiz üçün nümunə götürdü. İndi o inkişafın erkən mərhələsində zülal ekspresiyasındakı dəyişikliyi yoxlaya bildi. Başqa orqanizmlərdə göstərilirdi ki, dəniz kirpisinin oositi mayalandıqdan sonra onda da zülal sintezinin profili dəyişildi. Gelin avtoradiografiyasında üç bəndlə aydın şəkildə görünən üç zülal embrionda ekspresiya olunmuşdur, amma oositlərdə olunmamışdır. Maraqlıdır ki, bu bənddən birinin intensivliyi zamana görə dəyişildi: erkən dövrün nöqtələrində bənd daha intensiv olmuşdur 85 dəqiqə sonra çox zəif görünmə bilmişdir. Onun intensivliyi 95-105-ci dəqiqələrdə yenidən artmışdır. Hüceyrədə zülalın miqdarını əks etdirən bəndin intensivliyi zamanla dəyişilirdi (Şəkil 1a). Bu göstərir ki, zülal sürətlə parçalanırdı və yenidən sintez olunurdu.

Eksperimentin zaman çərçivəsi erkən embrion hüceyrələrinin bölünməsinə təsadüf etdiyinə görə Hunt sonra zülalın sintezinin və onun parçalanmasının hüceyrə tsiklinin gedişi ilə korelyasiya edib etməməsi sualını qoydu. O hər bir zaman nöqtəsində götürülmüş hüceyrələrin bir hissəsini mikroskop altında öyrənmiş, hər bir zaman nöqtəsində zülal analizi üçün götürülmüş nümunədə bölünən hüceyrələri saymışdır. Hunt sonra hüceyrədə mövcud olan zülalın miqdarını hər bir zaman nöqtəsindəki bölünən hüceyrələrin nisbəti ilə

korelyasiya etdi. O qeyd etdi ki, zülallardan birinin ekspressiya səviyyəsi hüceyrə bölünməzdən öncə çox yüksək olmuşdur və hüceyrə bölünməsi zamanı çox aşağı olmuşdur (Şəkil 1b), bu da hüceyrə tsiklinin mərhələləri ilə korelyasiyanı göstərir. Eyni eksperiment molyuskla aparılanda Hunt gördü ki, onun və Rudermanın əvəllər təsvir etdikləri zülallardan ikisi eyni sintez və parçalanma profilini nümayiş etdirirlər. Hunt bu zülalları onların hüceyrə tsikli boyu dəyişilən ekspressiyasını əks etdirmək üçün *tsiklinlər* adlandırdı.



Müzakirəsi

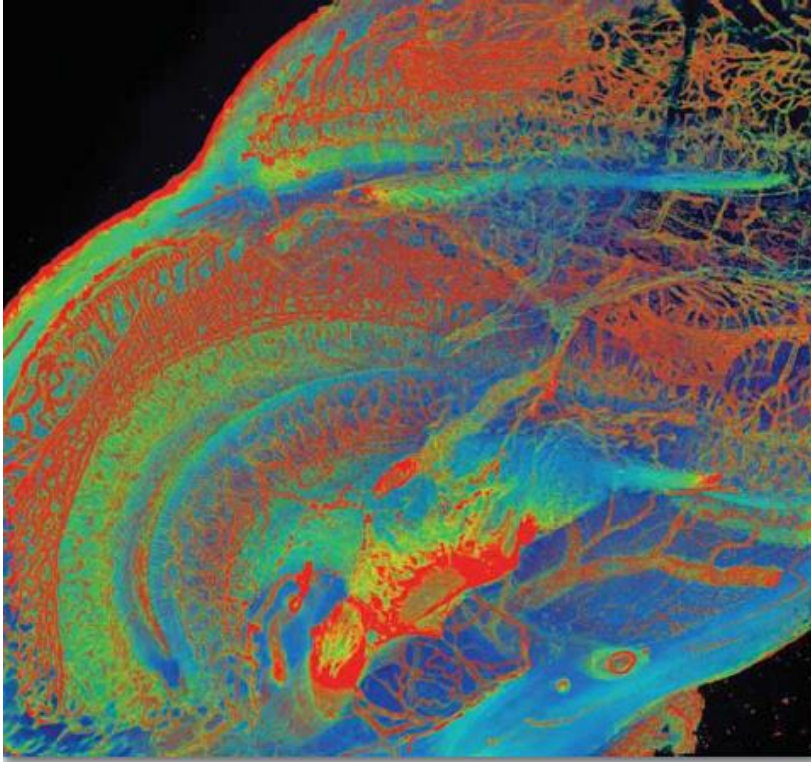
Tsiklinlərin aşkar edilməsi hüceyrə tsiklinin öyrənilməsi istiqamətində bir partlayış oldu. İndi məlumdur ki, bu zülallar tsiklindən-asılı olan kinazalarla assosiasiyə girərək hüceyrə

tsiklini tənzimləyirlər, tsiklindən-asılı olan kinazalar isə öz növbəsində çoxsaylı müxtəlif transkripsiya və replikasiya faktorlarının fəaliyyətinin və eləcə də mitoz zamanı baş verən hüceyrə arxitekturasında və xomosomların quruluşunda baş verən kompleks dəyişikliklərdə iştirak edən başqa zülalların fəaliyyətini tənzimləyir. Qısaqı, tsiklin-CDK kompleksləri hüceyrə tsikli vasitəsilə inkişafı istiqamətləndirir və tənzimləyir. Hüceyrə funksiyasının belə çoxsaylı tənzimləyiciləri tezliklə göstərdi ki, dəniz kirpilərində və molyuskalarda aşkar edilən tsiklinlər mayadan insana qədər bütün eukariotlarda qorunub saxlanılmışdır. İlk tsiklinin identifikasiya olunmasından bəri alimlər hüceyrə tsiklinin başqa bütün fazalarını tənzimləyən ən azı 15 başqa tsiklini də aşkar etmişlər. Bu zülalların əsas tədqiqat maraqlarından başqa, tsiklinlərin hüceyrə bölünməsindəki mərkəzi rolu onları xərçəng tədqiqatının diqqət mərkəzi etmişdir. Tsiklinlər şişin inkişaf etməsində mühüm rol oynayan bir sıra genlərin tənzimlənməsində də iştirak edirlər. Tədqiqatçılar göstərdilər ki, ən azı bir tsiklin, tsiklin D1 çox sayda müxtəlif şişlərdə superekspressiya olunur. Bu zülalların həm normal həm də anormal hüceyrə bölünməsindəki rolu bu gün də fəal və heyranedicə tədqiqat sahəsi olmaqda davam edir.

ŞƏKİL 1 Avtoradioqrafiya dəniz kirpisi embrionunda mitotik tsiklinin tsiklik sintezi və parçalanmasının aşkar edilməsinə imkan verir. Dəniz kirpisi yumurtalarının suspenziyası dəniz kirpisi separamasının əlavə edilməsi ilə sinxron şəkildə mayalandırılmış və ³⁵S-metionin əlavə edilmişdir. Mayalanmadan 26 dəqiqə sonra başlayaraq 10 dəqiqə interval ilə SDS-poliakrilamid gelində zülal analizi üçün və mikroskop altında hüceyrə parçalanması üçün nümunələr götürülməyə başlandı. (a) SDS gelin avtoradioqramı hər bir zaman nöqtəsində götürülmüş nümunələri göstərir. B və C kimi əksər zülalların intensivliyi fasiləsiz şəkildə artır. Əksinə, tsiklinin intensivliyi mayalanmadan sonra 76-cı dəqiqədə birdən-birə azalır və sonra 86-cı dəqiqədə yenidən artmağa başlayır. Tsiklin bəndi yenidən 106-cı dəqiqədə pikə qalxır və 126-cı dəqiqədə yenidən azalır. (b) Tsiklin bəndin intensivlik qrafiki (qırmızı xətt) və əvvəlki 10 dəqiqə intervalında döğranmağa məruz qoyulmuş hüceyrələrin fraksiyası (abi rəngli xətt – cyan line). Qeyd edək ki, tsiklinin miqdarı hüceyrə döğranmasından dərhal öncə sürətlə enir. [T. Evans et al., 1983, *Ce//* 33:389-dan; nəzakətlə R. Timothy Hunt, Imperial Cancer Research Fund.]

FƏSİL 20

Hüceyrələrin Toxumalara inteqrasiyası



Daxili qulaq ilbizi səs dalğalarının enerjisini neyron siqnallarına çevirmək üçün mexaniki ötürücülükdən (mexanotransduksiyadan) istifadə edir. Siçanda IV tip kollagenin ilbiz kanalının hüceyrəxarici matrisasında paylanması hüceyrələrin SDS detergentlə və kalsiumun EDTA xelata uzaqlaşdırılmasından sonra skanedici nazik-təbəqə lazer təsvirli mikroskopda vizuallaşdırılmışdır. Sonra nümunə əvvəlcə anti-IV tip kollagen anticismə və sonra fluorescent nişanlanmış ikinci anticismə rənglənmişdir. Təsvirdəki saxta rənglər (qırmızı> sarı> mavi) fluorensensiyanın nisbi intensivliklərini göstərir, beləliklə IV tip kollagenin nisbi yerli miqdarları qan damarlarının bazal laminasında (qırmızı), digər özül membranlarda (sarı), və ilbiz divarında (mavi) göstərilir. [Nəzakətlə Shane Johnson və Peter Santi, Minnesota Universiteti, tərəfindən.]

Bitkilər və heyvanlar kimi mürəkkəb çoxhüceyrəli orqanizmlərin **inkişafında** sələf hüceyrələr xarakterik xüsusiyyətlərə, tərkibə, quruluşa və funksiyaya malik olan “fərqli” tiplərə differensasiya edirlər. Verilmiş bir tipə aid olan hüceyrələr əksər hallarda *toxumalara* aqreqasiya edirlər, ümumi funksiyanı kooperativ yerinə yetirirlər: əzələ yığılır, neyron toxumaları elektrik impulsları ilə kontakt yaradırlar, bitkilərdə ksilema toxumaları suyu daşıyır. Müxtəlif toxumalar *üzvləri* (orqanları) təşkil edirlər və yenədə bir və ya daha artıq spesifik funksiyaları yerinə yetirirlər. Məsələn, ürəkdə əzələlər, klapanlar (qapaqlar) və qan damarları birlikdə qanı nasos kimi bədənə vürürlər. Çox hüceyrə tipləri və toxumalarının koordinasiya olunan (razılaşdırılmış) fəaliyyəti orqanizmə hərəkət etməyə, maddələr mübadiləsinə, reproduksiya etməsinə və digər vacib fəaliyyətləri yerinə yetirməsinə imkan verir. Həqiqətən də, bitkilərin və heyvanların mürəkkəb və müxtəlif morfoloqiyaları, bütövlüyün ayrı-ayrı hissələrin cəmindən daha böyük üstünlüyə malik olmasının gözəl nümunəsidir, mürəkkəb sistemin meydana gəlmiş xassələrinin daha çox texniki cəhətdən təsviridir.

İ C M A L

20.1 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziyası: Ümumi Baxış

Onurğalılar, leykositlər (ağ qan hüceyrələri) və eritrositlər (qırmızı qan hüceyrələri), retinada fotoreseptorlar, piy saxlayan adipositlər, birləşdirici toxumalarda fibroblastlar və neyronların insan beynində yüzlərlə müxtəlif subtipləri daxil olmaqla yüzlərlə müxtəlif hüceyrə tipinə malikdirlər. Hətta ən sadə heyvanlar belə mürəkkəb toxuma təşkilini nümayiş etdirirlər. *Cainorhabditis elegans* həlqəvi qurd cəmi 959 hüceyrəyə malikdir, və bu hüceyrələr 12 müxtəlif əsas hüceyrə tipinə və çox sayda fərqli yarım tiplərə ayrılırlar. Amma çox müxtəlif formalarına və funksiyalarına baxmayaraq bütün heyvan hüceyrələri beş əsas toxuma sinifində təsnifləşdirilirlər: *epiteli toxuması*, *birləşdirici toxuma*, *əzələ toxuması*, *sinir toxuması* və *qan*. Müxtəlif hüceyrə tipləri toxumaları və üzvləri (orqanları) əmələ gətirmək üçün heyrətləndirici dərəcədə mürəkkəb və dəqiq formada düzülüşlər. Belə mürəkkəbliyin dəyəri fərdi orqanizmin inkişafı zamanı informasiyaya, materiala, enerjiyə və zamana olan yüksək tələbləri əhatə edir. Baxmayaraq ki, mürəkkəb (kompleks) toxumaların və orqanların fizioloji xərcləri yüksəkdir, onlar müxtəlif və dəyişkən mühitlərdə inkişaf etmək bacarığını — əsas təkamül üstünlüklərini təmin edir.

20.2 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Qovşaqları və Onların Adgeziya Molekulları 20.3 Hüceyrəxarici Matrisa I: Bazal Lamina 20.4 Hüceyrəxarici Matrisa II: Birləşdirici Toxuma

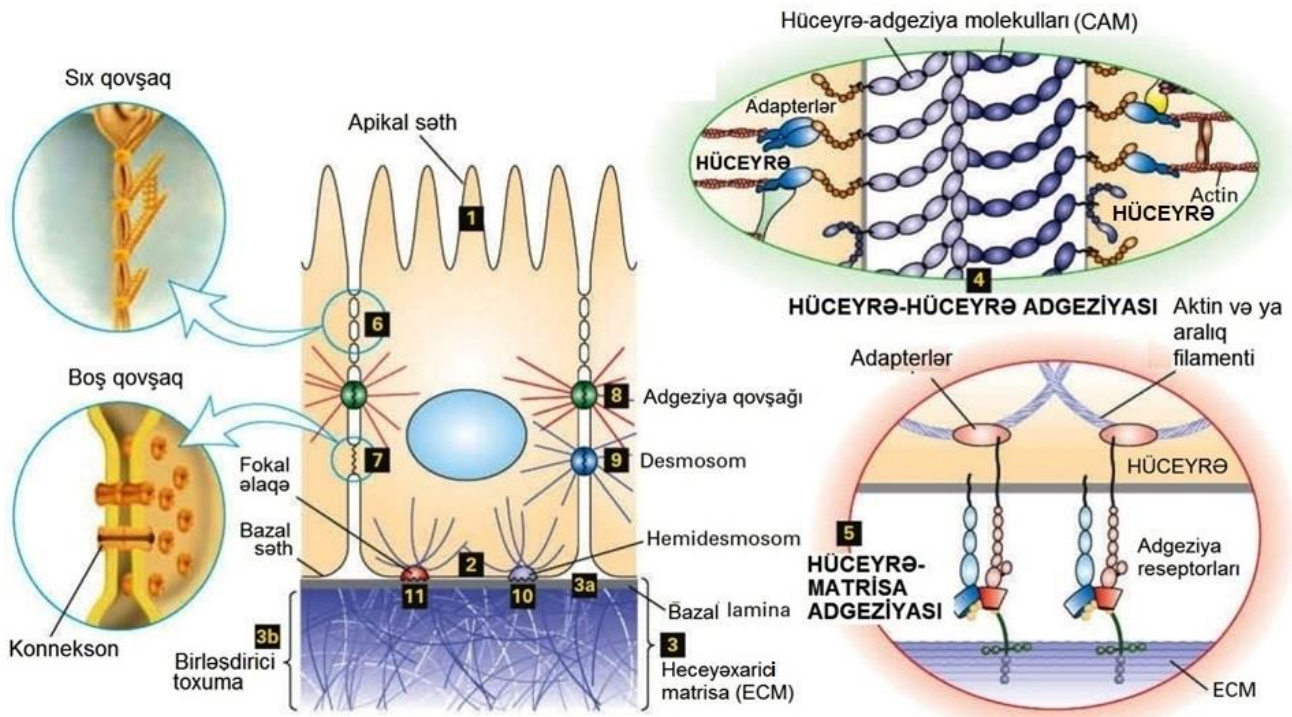
20.5 Hərəkətli və Hərəkətsiz Hüceyrələrdə Yapışqan Əlaqələr

Mürəkkəb toxuma və üzvlərlə malik olan bizim (metazoanlar) kimi, heyvanların xarakterik təyin edici xüsusiyyətlərindən biri odur ki, onların toxuma və orqanlarının əksəriyyətinin daxili və xarici səthi, həqiqətən də bütün orqanizmin xarici görünüşü **epiteli** kimi məlum olan hüceyrələrin, sıx qablaşdırılmış vərəqə-bənzər formasından qurulmuşdur. Epitelinin əmələ gəlməsi və onun sonra daha mürəkkəb epiteli və qeyri epiteli toxumalarının kolleksiyasında remodelinqi metazoanlarda inkişafın əyarıdır (hallmarkıdır). Sıx şəkildə birləşmiş epiteli hüceyrələrinin təbəqələri tənzimlənə bilən, selektiv keçiriciliyə malik olan baryer kimi fəaliyyət göstərərək, orqanizmdə kimyəvi cəhətdən və funksiyasına görə

20.6 Bitki Toxumaları

fərqli olan, məsələn mədə və qan axını kimi fərqli kompartimentlərin yaranmasına imkan verir. Nəticədə, fərqli və bəzən əks olan funksiyalar (məsələn həzım və sintez) orqanizmdə eyni zamanda səmərəli şəkildə davam edə bilər. Belə kompartimentalizasiya həmçinin geniş müxtəliflikdə bioloji funksiyaların daha mürəkkəb tənzimlənməsinə imkan verir. Çpx hallarda, orqanizmdə mürəkkəb toxumaların və üzvlərin rolu fərdi hüceyrədəki orqanoidlərin və membranların roluna analojidir.

Müxtəlif toxumaların toplanması və onların orqanizmin qurulmasında təşkili hüceyrə səviyyəsində molekulyar qarşılıqlı əlaqələrlə müəyyən edilir (Şəkil 20.1). Bu əlaqələr geniş müxtə-



ŞƏKİL 20.1 Hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa yapışqan əlaqələrin ümumi görünüşü. Bağırsağın daxili səthi tipik epiteli toxumasının sxematik kəsiyinin təsviri. Hər bir hüceyrənin apikal (yuxarı) səthi bağırsağ lümeninə çıxan barmaq şəkili mikrovillərlə doludur (1), bazal (aşağı) səthi isə (2) hüceyrəxarici matrisaya (ECM) oturur. Epitel hüceyrələri ilə assosiasiyada olan ECM (3) adətən bir-biri ilə əlaqəli olan bir neçə qatdan – bazal laminadan (3a), birləşdirici liflərdən (göstərilmiş) və birləşdirici toxumadan (3b) təşkil olunur ki, bunlar da böyük, öz aralarında yerini dəyişə bilən ECM makromolekulları biri-digərinə və hüceyrələrə (3) bağlanır. Hüceyrə-adgeziya molekulları (CAM) başqa hüceyrədəki CAM-larla bağlanaraq hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını (4) həyata keçirirlər və adgeziya reseptorları ECM-in müxtəlif komponentlərinə birləşir və hüceyrə-matrisa adgeziyasını (5) həyata keçirirlər. Hüceyrə-səth adgeziya molekullarının hər iki tipi adətən inteqral membran zülallarıdır və çox hallarda sitozol domenləri çoxsaylı hüceyrədaxili adapter zülallara birləşir. Bu adapterlər birbaşa və ya dolaylı yolla CAM-ı sitoskeletlə

(aktin və ya aralıq filamentlər) və hüceyrədaxili siqnal yolları ilə (Şəkil 20-8-də işıqlandırıldığı kimi) əlaqələndirir. Bunun nəticəsində, informasiya CAM-lar vasitəsilə və hüceyrə xaricindən onların birləşdiyi makromolekullar vasitəsi ilə hüceyrədaxili mühitə (xaricdən-daxilə) və əksinə (daxildən-xaricə) ötürülə bilər. Bəzi hallarda, CAM-ların, adapterlərin və assosiasiyada olan zülalların mürəkkəb aqreqatı toplanır. CAM-ların və ya adgeziya reseptorlarının spesifik yerləşmiş aqreqatları müxtəlif tipli hüceyrə qovşaqlarını əmələ gətirirlər, bu da hüceyrələrlə onları əhatə edən mühit arasında əhəmiyyətli rol oynayır. Birbaşa apikal səth altında yerləşən sıx qovşaqlar (6) çox maddələrin hüceyrələr arasındakı hüceyrəxarici boşluqla diffuziyaya etməsinə mane olur. Konnekson kanallarla, boş qovşaqlar (7) kiçik molekulların və ionların sitozolla yaxındakı hüceyrələr arasında hərəkətinə imkan verir. Qalan üç tip qovşaq (8 və 4) desmosomlar (9), hemidesmosomlar (10 və 5) və fokal əlaqələr (həmçinin fokal adgeziyalı adlanır; 11) hüceyrənin sitoskeletini başqa hüceyrələrlə və ya ECM ilə əlaqələndirir. Bax V. Vasioukhin and E. Fuchs, 2001, *Curr. Opin. Cell Biol.* 13:76–84.

liflikdə adgeziya molekullarının zamana, məkana və funksiyaya görə tənzimlənən ekspressiyası olmadan mümkün olmayacaqdır. Toxumada hüceyrələr, hüceyrə adgeziya molekulları (CAM) adlanan xüsusiləşmiş membran zülalları vasitəsilə birbaşa biri-biri ilə yapışır (*hüceyrə-hüceyrə adgeziyası*) və çox hallarda xüsusi hüceyrə qovşaqlarında toplanıb yığılırlar. *Drosophila melanogaster* meyvə milçəyində ən azı 500 gen (ümumi genlərin ~4 faizi) guman olunur ki, hüceyrə adgeziyasında iştirak edir, məməlilərin hüceyrələrində isə 1000-dən çox belə gen vardır. Heyvan toxumalarında hüceyrələr həmçinin dolaylı yolla (*hüceyrə-matrisa adgeziyası*), plazma membrandakı adgeziya reseptorunun ətrafdakı hüceyrəxarici matrisanın (ECM) komponentləri ilə, hüceyrələr tərəfindən onlar arasındakı boşluqlara ifraz olunan zülalların və polisaxaridlərin bir-birini örtən kompleks toru ilə birləşməsiylə yapışır. Bəzi adgeziya reseptorları hüceyrələr arasında birbaşa əlaqəni vasitələndirməklə CAM-lar kimi fəaliyyət göstərirlər.

Hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa adgeziyası yalnız hüceyrələrin müxtəlif toxumalara aqreqasiya etməsinə imkan vermir, o həmçinin hüceyrələrin daxili və xarici arasında iki istiqamətli informasiya ötürülməsi üçün vasitəni təmin edir. Biz görərik ki, hər iki adgeziya tipi daxilən hüceyrə sitoskeleti və hüceyrə siqnal yolları ilə assosiasiya etmişlər. Nəticədə hüceyrənin ətrafı onun formasına və funksional xassəsinə təsir edir (“xaricdən-daxilə” təsirlər), eyni zamanda hüceyrənin forması və funksiyası hüceyrənin ətraf mühitinə təsir edir (“daxildən-xaricə” təsir). Beləliklə, *əlaqəlilik* və *komunikasiya* (*connectivity and communication*) hüceyrələrin toxumalarda sıx əlaqəli xüsusiyyətləridir. İnformasiyanın ötürülməsi hüceyrənin sağ qalması, proliferasiya, differensasiya və miqrasiya kimi çox bioloji proseslər üçün əhəmiyyətlidir. Ona görə də, təəccüblü deyildir ki, yapışqan qarşılıqlı əlaqəyə və bununla bağlı olan informasiya axınına müdaxilə edən qüsurlar geniş müxtəliflikdə sinir-əzələ və skelet pozuntularına və xərcəng kimi xəstəliklərin yaranmasına səbəb olur və ya onun yaranmasına kömək edir.

Bu bəzidə, biz hüceyrələrin səthində və onları əhatə edən hüceyrəxarici matrisada tapılmış müxtəlif tipli adgeziya molekullarını öyrənirik. Bu molekullar arasındakı qarşılıqlı əlaqə hüceyrələrin toxumalarda təşkilinə imkan verir və toxumanın inkişafında, fəaliyyətində və patologiyasında böyük təsirə malikdir. Çox adgeziya molekulları oxşar zülallar ailəsinin və ya superailəsinin nümayəndələridirlər. Hər bir adgeziya molekulu tipi fərqli quruluş rolunu yerinə yetirdiyindən biz, onların quruluşunun və funksiyasının əsasında duran prinsipləri göstərmək üçün diqqətimizi bu ailələrin bəzi nümayəndələrinin bölüşdüyü ümumi xüsusiyyətlər üzərinə yönəldəcəyik. Sıx epitelini əmələ gətirən toxumadakı adgeziya molekullarının təbiəti xüsusən yaxşı anlaşıldığından və eləcə də onlar təkamülün çox erkən dövründə inkişaf etdiyindən biz ilkin olaraq bağırsağın divarı və dəri kimi epitel toxumalarına diqqət yetirəcəyik. Epiteli hüceyrələri normal halda hərəkətsizdirlər (sesildirlər), amma inkişaf zamanı, yarıların sağlamsa zamanı və bəzi patoloji vəziyyətlərdə (məsələn xərcəngdə) epitel hüceyrələri hərəkətli hüceyrələrə çevrilirlər. Adgeziya molekullarının ekspressiyasında və funksiyasındakı dəyişiklik onların ağı qan hüceyrələrinin yoluxmuş saytlara keçməsi zamanı hüceyrə hərəkətinin daxil olduğu normal bioloji proseslərdə etdikləri kimi, bu transformasiyada əsas rol oynayır.

Ona görə də biz, inkişafda olan və hərəkətli qeyri epitel toxumalarında adgeziyanın müzakirəsi ilə epitel toxumalarının müzakirəsini aparırıq.

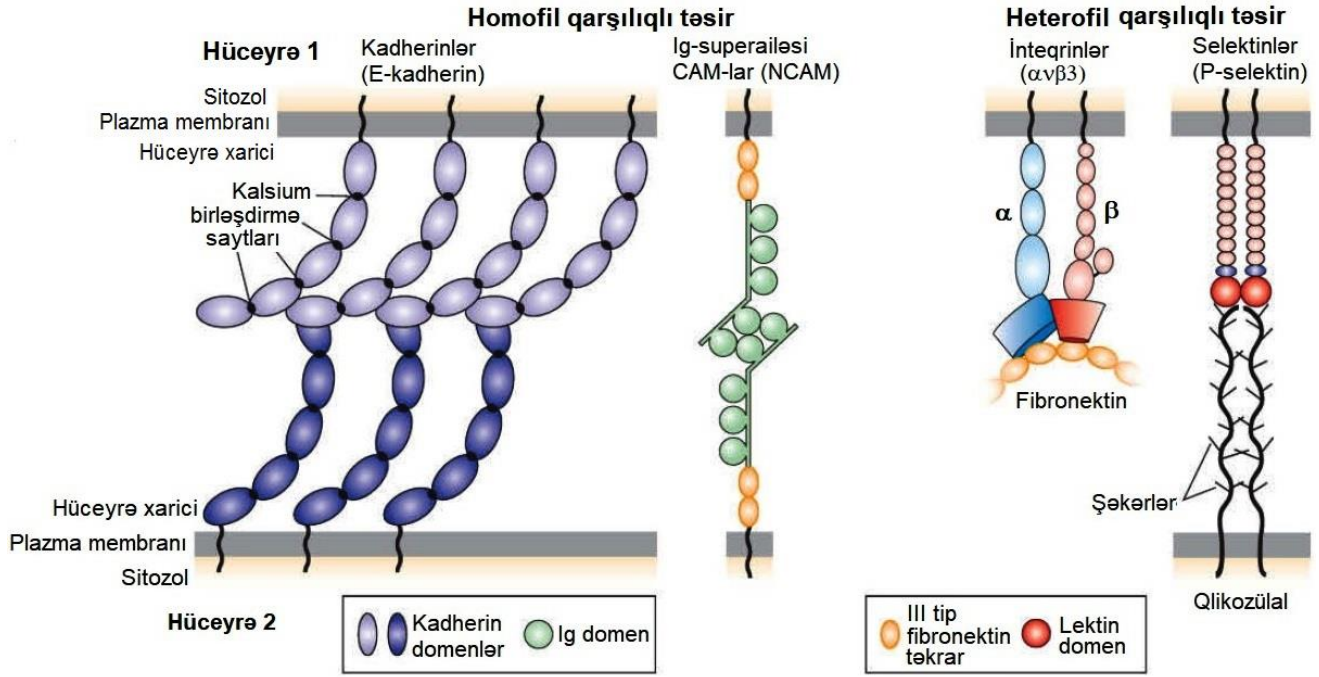
Bitkilərin və heyvanların nəsil xətləri çoxhüceyrəli orqanizmlər yaranmamışdan öncə ayrılmışdır. Beləliklə, çoxhüceyrəlilik və toxumaların və orqanların toplanmasının molekulyar vasitələri yəqin ki, təkamülün bitki və heyvan xətlərində bir-birindən asılı olmadan ayrılıqda meydana gəlmişdir. Ona görə də təəccüblü deyildir ki, heyvanlar və bitkilər toxumaların təşkilində və inkişafında çoxsaylı fərqləri nümayiş etdirirlər. Bu səbəbdən də biz toxumaların təşkilinə əvvəlcə heyvanlarda baxırıq sonra isə ayrılıqda bitkilərlə məşğul oluruq.

20.1 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziyası: Ümumi Baxış

Orqanizmdə bir-biri ilə saysız hesabsız yollarla dinamik qarşılıqlı təsirdə olan çox sayda müxtəlif tipli hüceyrələr vardır. Bu qarşılıqlı təsirlər adgeziya molekulları vasitəsi ilə baş verir və kompleks orqanizmdə toxumaların funksiyasını və quruluşunu düzgün təyin etmək üçün zamana və məkana görə dəqiqliklə tənzimlənmişdirlər. Ona görə də təəccüblü deyildir ki, hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-ECM adgeziya molekulları geniş müxtəliflikdə quruluşları nümayiş etdirirlər, və ya onların ekspressiya səviyyəsi müxtəlif toxumalarda və orqanizmlərdə fərqlənir. Nəticədə onlar toxumaları bir yerdə saxlayan, eləcə də hüceyrələrlə onları əhatə edən mühit arasında çox mühüm kommunikasiyaya imkan verən, çox spesifik və fərqli hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-ECM qarşılıqlı əlaqələrini həyata keçirirlər. Biz bu baxışa hüceyrədə və hüceyrəxarici matrisa daxilində mövcud olan müxtəlif tipli adgeziya molekullarının qısa orientasiyası ilə, onların orqanizmdə əsas funksiyaları və təkamül mənşəyi ilə başlayırıq. Sonrakı bölmələrdə, biz hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqələrinin müxtəlif iştirakçılarının unikal quruluşunu və xassələrini ətraflı öyrənəcəyik.

Hüceyrə-Adgeziya Molekulları Bir-Biri ilə və Hüceyrədaxili Zülallarla Birləşir

Hüceyrə-hüceyrə adgeziyası *hüceyrə-adgeziyası molekulları* (CAM) adlanan membran zülalları vasitəsi ilə həyata keçirilir. Çox CAM-lar dörd əsas ailəyə bölünürlər: kadherinlər, immunoqlobulin (Ig) superailəsi, integrinlər və selektinlər. Şəkil 20-2-də göstəriləni kimi, çox zaman CAM-lar çoxsaylı müxtəlif domenlərin mozaikasıdır və bunların çoxu birdən artıq zülal tipində tapılmışdırlar. Bu domenlərin funksiyası müxtəlifdir. Bəziləri spesifik olaraq qonşu hüceyrələrdəki öz partnyor CAM-larına və ya hətta eyni hüceyrədəki CAM-lara birləşdirmək qabiliyyətini verir. Bu domenlərdən bəziləri çox nüsxələrdə mövcud olur və CAM-ların uzunluğuna öz töhfəsini verir, beləliklə CAM-larla bir yerə birləşmiş hüceyrələrin plazma membranı arasındakı məsafənin təyin edilməsinə kömək edir. Quruluşları Şəkil 20-2-dəki əsas CAM-ların heç birinə aid olmayan digər membran zülalları da CAM-lardır və müxtəlif toxumalarda hüceyrə-hüceyrə adgeziyasında iştirak edirlər. Biz



ŞƏKİL 20-2 Hüceyrə adgeziya molekulalarının (CAM) və adgeziya reseptorlarının əsas ailələri. E-kadherinlər adətən eyni hüceyrədəki digər E-kadherinlərlə (homofil birləşmə) və ya yaxınlıqdakı hüceyrədəki E-kadherinlərlə çarpaz-körpüləri əmələ gətirirlər (bax Şəkil 20-3 və 20-14). CAM-ların immunoqlobulin (Ig) supraileisinin nümayəndələri adgeziya reseptoru kimi və ya homofil əlaqələr əmələ gətirən (burada NCAM üçün göstərilirdi kimi) və yaxud heterofil əlaqələri əmələ gətirən (başqa tip CAM-larla, burada göstərilir) CAM-lar kimi fəaliyyət göstərə bilirlər. Heterodimer inteqrinlər (məsələn α və β zəncirlər) CAM-lar kimi və ya adgeziya reseptorları kimi (burada göstərilən) fəaliyyət göstərilirlər, bunlar da, burada yalnız kiçik bir hissəsi göstərilən, fibronektin kimi çox böyük multi-adhesiv matrisa zülalları ilə birləşirlər. Dimer kimi göstərilmiş

selektinlər, qlikozülallarda (burada göstərilirdi kimi) və ya yaxınlıqdakı hüceyrədə qlikolipidlərdəki xüsusi şəkər quruluşları tanıyan karbohidrat-birləşdirən lektin domənə malikdir. Qeyd edək ki, CAM-lar çox hallarda plazma membranı müstəvisində yüksək-səviyyəli oliqomerləri əmələ gətirirlər. Çox adgeziya molekulaları çoxsaylı fərqli domənlərə malik olurlar və bunlardan bəziləri birdən daha artıq CAM növlərində tapılır. Bu zülalların sitoplazmatik domənləri çox hallarda adaptor zülallarla assosiasiya edir, bu da onları sitoskeletlə və ya siqnal yolları ilə əlaqələndirir. Bax R. O. Hynes, 1999, *Trends Cell Biol.* 9:M33, R. O. Hynes, 2002, *Cell* 110:673–687, və J. Brasch, O. J. Harrison, B. Honig, and L. Shapiro, 2012, *Trends Cell Biol.* 22:299–310.

sonra görəcəyik ki, inteqrinlər həm CAM-lar kimi, həm də Şəkil 20-2-də verilmiş, ECM komponentlərlə birləşən adgeziya reseptorları kimi fəaliyyət göstərilirlər. Bəzi Ig-superaileəsi CAM-lar da bu cürə ikili rol oynaya bilirlər.

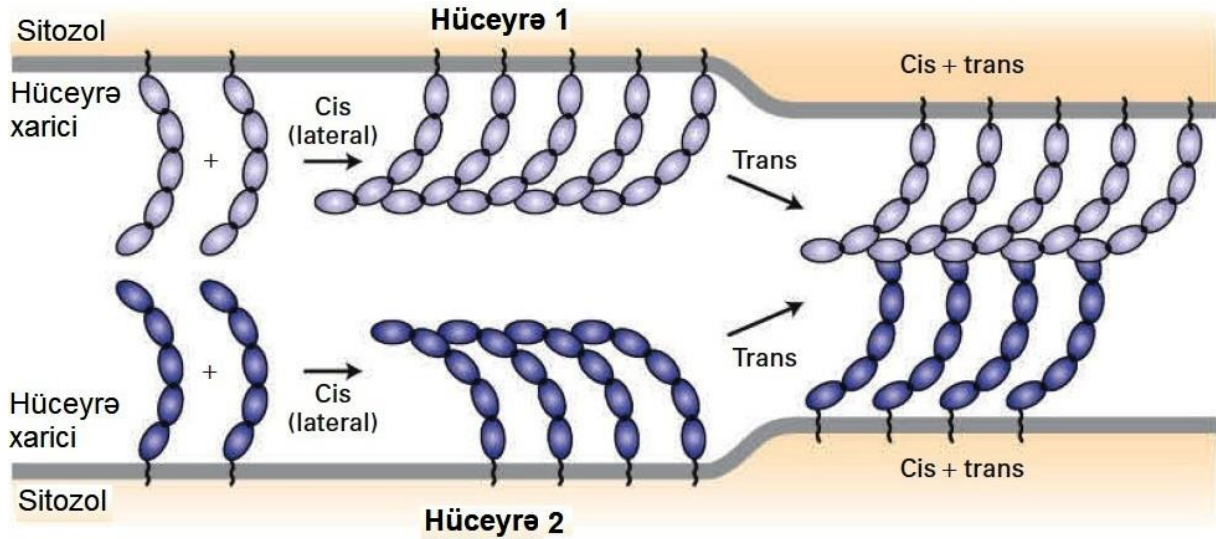
CAM-lar eyni tip hüceyrələr arasında (homotipik adgeziya) və ya müxtəlif tipli hüceyrələr arasında (heterotipik adgeziya) yapışqan qarşılıqlı əlaqəni öz hüceyrədaxili domənləri vasitəsi ilə həyata keçirirlər. Bir hüceyrə üzərindəki CAM yaxınlıqdakı hüceyrə üzərində olan eyni növ CAM ilə birbaşa birləşir (homofilik birləşmə) və ya başqa növ CAM ilə birləşir (heterofilik birləşmə). CAM-lar plazma membranlarının başqa hüceyrələrlə kontaktda olan rayonları və ya hüceyrə qovşaqları adlanan diskret yamaqları və ya ləkələr olan rayonları boyunca geniş şəkildə paylanırlar. Hüceyrə-hüceyrə adgeziyası sıx və uzunmüddətli və ya nisbətən zəif və keçici ola bilər. Məsələn, onurğa beynində neyronlar arasında və ya qara ciyərdə metabolik hüceyrələr arasında assosiasiya sıx adgeziyanı nümayiş etdirir. Bunun əksinə, qanda immun-sistemi hüceyrələri çox hallarda yalnız qısa zəif əlaqələri yaradırlar, bu da onlara toxumalarda yoluxma rayonlarında təkliddə hərəkət etməyə və qan damarları divarlarından asanlıqla keçməyə imkan verir.

CAM-ların sitozol domənləri çoxfunksiyalı adaptor zülallarını səfərbər edirlər (bax Şəkil 20-1) Bu adaptor zülallar, birbaşa və ya dolaylı yolla CAM-ları sitoskelet elementlərinə bağlayan linkerlər kimi fəaliyyət göstərilirlər (bax Fəsil 17 və 18), onlar həmçinin gen ekspressiyasının və CAM-ların özlərinin də daxil olduğu müxtəlif hüceyrədaxili zülalların fəaliyyətinin aid olduğu hüceyrə davranışını modifikasiya etmək üçün siqnal yollarında iştirak edən hüceyrədaxili molekulaları səfərbər edə bilirlər (bax Fəsil 15 və 16). Çox hallarda CAM-ların, adapter zülalların və assosiasiya edən başqa zülalların kompleks aqreqatları plazma membranının daxili səthində toplanırlar. Bu komplekslər hüceyrə ilə onu əhatə edən mühit arasında “xaricdən-daxilə” və “daxildən-xaricə” kommunikasiyanın iki yolunu asanlaşdırır.

Bir sıra hüceyrə-hüceyrə adgeziyalarının əmələ gəlməsində *trans* və *cis* birləşmə əlaqələri kimi adlanan iki tip molekulyar qarşılıqlı əlaqələr iştirak edir (Şəkil 20-3). *Trans* qarşılıqlı əlaqələrə həm də *hüceyrədaxili* və ya *adhesiv* əlaqələr deyilir. *Trans* əlaqələrdə bir hüceyrə üzərindəki CAM-lar yaxınlıqdakı hüceyrə üzərindəki CAM-larla birləşir. *Cis* qarşılıqlı əlaqədə, bir hüceyrə üzərindəki monomer CAM eyni hüceyrənin plazma membranındakı bir və ya daha artıq CAM-larla birləşir. Bir hüceyrədəki lateral qarşılıqlı əlaqə yaxınlıqdakı

hüceyrədəki CAM-ların klasteri ilə monomerdən-monomerə və ya oliqomerdən-oliqomerə trans qarşılıqlı əlaqə ehtimalını artırır. Bundan əlavə, monomerdən-monomerə trans qarşılıqlı

əlaqənin yaranması cis qarşılıqlı əlaqələri induksiya edə bilər ki, bu da sonra trans adhesiv (yapışqan) əlaqələri möhkəmləndirir. Görünür ki, trans və cis əlaqələr qarşılıqlı olaraq gücləndirilir.



ŞƏKİL 20-3 Hüceyrə-hüceyrə adgeziyalarının yaranması modeli. Hüceyrənin plazma membranı daxilində hüceyrə adgeziyası molekulları (CAM) arasında lateral qarşılıqlı əlaqələr monomerlərin klasterlərini yarada bilər (*solda*). Bu cis qarşılıqlı əlaqədə iştirak edən molekulların hissələri müxtəlif CAM-lar arasında dəyişir. Yaxın hüceyrələrdə CAM-ların domenləri arasında trans qarşılıqlı əlaqələr

hüceyrələr arasında yapışqana-bənzər möhkəm adgeziyanı yaradır. Burada göstərilən modellər kadherinlər adlanan CAM-lara əsaslanır. Bax M. S. Steinberg and P. M. McNutt, 1999, *Curr. Opin. Cell Biol.* 11:554 və J. Brasch, O. J. Harrison, B. Honig, and L. Shapiro, 2012, *Trends Cell Biol.* 22:299–310.

Hüceyrələr arasında yapışqan qarşılıqlı əlaqələr toxumadan və iştirak edən xüsusi CAM-lardan asılı olaraq əhəmiyyətli dərəcədə dəyişir. Çoxsaylı qarşılıqlı əlaqələr birləşəndə CAM-lar məhz yapışqan (Velcro) kimi çox sıx adgeziyanı əmələ gətirirlər, bu xüsusən də CAM-ların hüceyrə qovşaqları kimi yaxşı müəyyən olunmuş kiçik bir hissədə sıx şəkildə toplanması zamanı baş verir. Bəzi CAM-lar effektiv adgeziyanı yaratmaq üçün kalsium ionlarını tələb edirlər. Bundan başqa, hüceyrədaxili molekulların CAM-ların sitozol domeni ilə assosiasiyası CAM-ların molekullarası qarşılıqlı əlaqəsinə onların birlikdə klaster əmələ gətirməsini və cis assosiasiyasını gücləndirməklə və ya onların trans əlaqələrə affinliyini artıran konformasiyasını dəyişməklə dramatik təsir edə bilər. İki hüceyrə arasında adgeziyanın təbiətini müəyyən edən çoxsaylı dəyişilmələr sırasına qarşılıqlı təsirdə olan molekulların birləşmə affinliyi (termodinamik xassə), hər bir qarşılıqlı təsirdə olan molekulun assosiasiyasının və dissosiasiyasının “işəsalan” və “dayandıran” dərəcələri (kinetik xassə), adgeziya molekullarının fəza paylanması və ya sıxlığı (ansambl xassəsi), adgeziyaya münasibətdə fəal CAM-lara qarşı qeyri fəal CAM-lar (biokimyəvi xassələr) və əzələdə olduğu kimi və ya hüceyrələrin laminar və turbulent axını və dövredici sitemdə mühitdəki mayelərdə olduğu kimi hüceyrələridə dartılma və itələnmə kimi xarici qüvvələr (mexaniki xassələr) daxildirlər.

Hüceyrəxarici matrisa (ECM) zülalların və polisaxaridlərin mürəkkəb kombinasiyası olub hüceyrələr tərəfindən komponentləri bir-biri ilə birləşən şəbəkə daxilində ifraz olunur və toplanır. ECM tez-tez hallarda hüceyrələrin və toxumaların bir yerdə saxlanılmasında iştirak edir. ECM-in tərkibi, fiziki xassələri və funksiyası dəqiqliklə nizamlanır və toxuma tipindən, onun yerləşməsindən, fiziki vəziyyətindən və komponentlərinin kimyəvi modifikasiyasından asılı olaraq dəyişilə bilər. Bu modifikasiyalara fermentativ fosforlaşma, sulfatlaşma və desulfatlaşma, çarpaz kəşimə, və eləcə də qlükozanın qeyri fermentativ əlavə olunması (qlikasiya) daxildir.

ECM adətən hüceyrə tərəfindən plazmatik membranlarda *adgeziya reseptorlarına* birləşmənin nəticəsi kimi hiss olunur, hansıki bundan sonra, hüceyrəyə onu əhatə edən ətraf mühitə cavab olaraq müvafiq davranışı barədə təlimat verilir və ya ECM-in quruluşu və funksiyası hüceyrənin vəziyyətindən asılı olaraq modifikasiya edilir. Müxtəlif hüceyrələr öz adgeziya reseptorları vasitəsi ilə eyni ECM dəstinə birləşə bilər, beləliklə də dolayı yolla bir yerə birləşmiş olurlar. ECM komponentlərə qlikozülalların unikal forması (şəkərlərlə kovalent birləşmiş zülal) proteoqlikanlar, kollagen və çox zaman liflər əmələ gətirən başqa zülallar, həll ola bilən multi-adhesiv matrisa zülalları və başqaları (Cədvəl 20-1) daxildirlər. Fibronektin və laminin kimi çox-adgeziyalı matrisa zülalları uzun dəyişkən (flexible) molekullar olub müxtəlif domenlərə malikdirlər. Onlar müxtəlif tipli kollagenlərin, başqa matrisa zülallarının, polisaxaridlərin və hüceyrəxarici siqnal molekullarının və eləcə də adgeziya reseptorlarının birləşməsinə həyata keçirirlər. Bu zülallar hüceyrəxarici matrisanın əhəmiyyətli təşkilatçılarıdır.

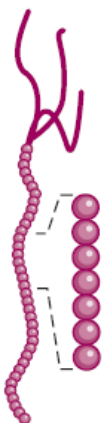

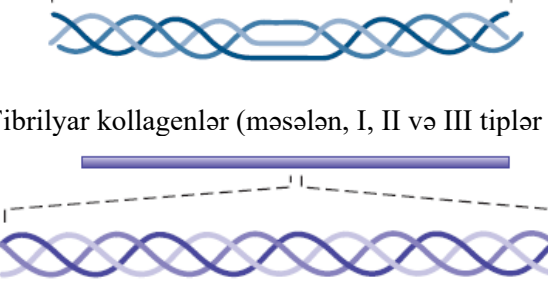
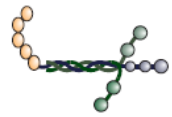
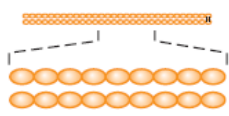
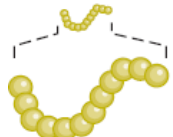
Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziyada, Siqnal Ötürülməsi və Başqa Funksiyalarda İştirak Edir

Onlar adgeziya reseptorları ilə qarşılıqlı əlaqələri vasitəsi ilə hüceyrə-matrisa adgeziyasını və beləliklə hüceyrə formasını və davranışını tənzimləyirlər.

Hüceyrələr ECM-in toplanmasına yardımı yalnız onun komponentlərini ifraz etməklə deyil, həmçinin bu komponentlərin böyük fibrillərə və amorf makromolekullara

malik olan kompleks quruluşlarda toplanmasında birbaşa iştirak etməklə edirlər. ECM toplanıldıqdan sonra çox zaman statik olmur, əksinə o yüksək dinamikliyə malik olur, hüceyrələrin hüceyrəxarici mühitə ifraz etdiyi proteazalar kimi fermentlər və digər molekullar nəticəsində kimyəvi, fiziki və bioloji xüsusiyyətləri kəmiyyət və keyfiyyət cəhətdən dəyişilə bilər.

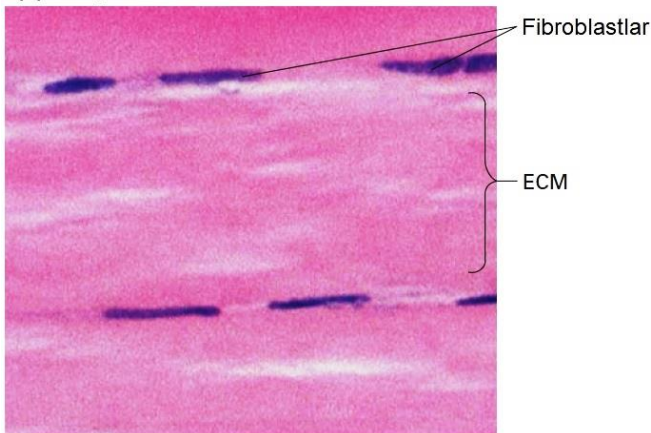
Cədvəl 20-1 Hüceyrəxarici matrisa zülalları

Proteoqikanlar	Kollagenlər	Çox-yapışqanlı matrisa zülalları
<p>Perlekan</p> 	<p>Təbəqə əmələ gəlməsi (məsələn, IV tip)</p>  <p>Fibrilyar kollagenlər (məsələn, I, II və III tiplər)</p> 	<p>Laminin</p>  <p>Fibronectin</p>  <p>Nidogen/entaktin</p> 

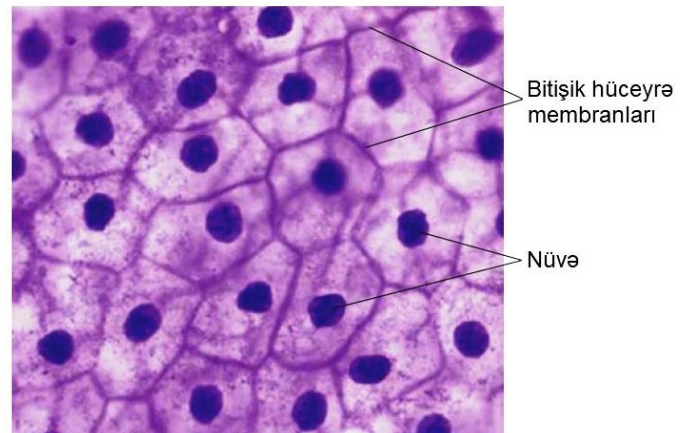
ECM-də, adətən “remodelinq” kimi adlandırılan bu cürə dəyişmələrə kovalent kimyəvi modifikasiyalar (o cümlədən, ECM molekullarının kimyəvi çarpaz-kəsişmələri), ECM komponentlərinin qismən və ya tam proteolitik doqranması, yeni sintez olunmuş ECM molekullarının əlavə edilməsi daxil ola bilər.

Hüceyrələrin və onları əhatə edən hüceyrəxarici mühitin tutduğu nisbi həcmələr müxtəlif heyvan toxumaları arasında güclü şəkildə fərqlənir. Məsələn, bəzi birləşdirici toxumalar nisbətən az hüceyrələrdən ibarət olan matrisa olduğu halda, epiteli kimi çox sayda başqa toxumalar, çox sıx yığılmış hüceyrələrdən təşkil olunmuş nisbətən kiçik matrisanı əmələ gətirirlər (Şəkil 20-4). Molekulların ECM daxilində qablaşdırılmasının sıxlığı da özlüyündə çox dəyişilə bilər.

(a) Birləşdirici toxuma



(b) Sıx yerləşmiş epiteli hüceyrələri



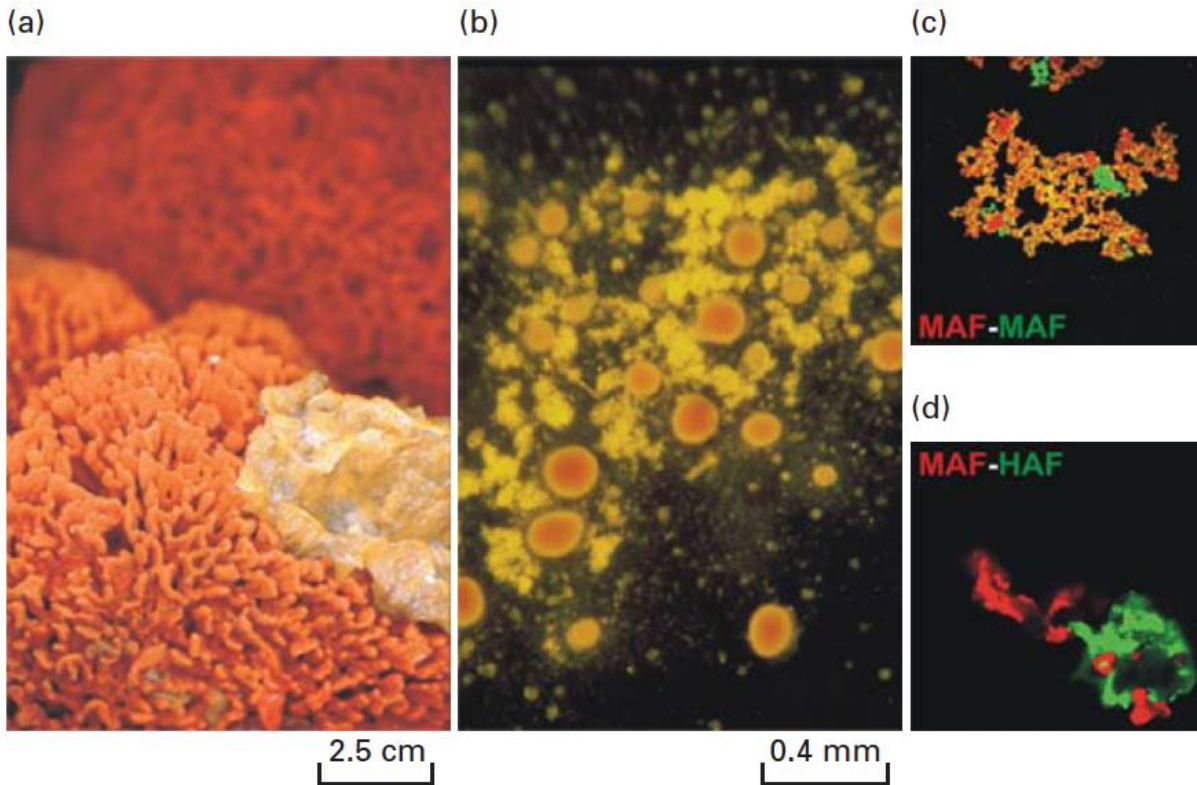
ŞƏKİL 20-4 Müxtəlif toxumalarda hüceyrələrin və ECM-in nisbi sıxlığında variasiyalar. (a) Sıx birləşdirici toxumalar əsasən sıx şəkildə qablaşdırılmış ECM liflərdən (çəhrayı) təşkil olunan, nisbətən seyrək fibroblast sıraların növbələşdiyi hüceyrəxarici matrisaya malik olan, bu ECM-i sintez edən hüceyrələr (bənövşəyi) göstərilir. (b) Yastı hüceyrəli epitelinin yuxarıdan görünüşündə yorğana-bənzər formada

sıx qablanmış epiteli hüceyrələri bir-birinə çox yaxın olan bitişik hüceyrələrin plazma membranları ilə və hüceyrələr arasındakı kiçik ECM ilə birlikdə görünürlər (Həmçinin bax Şəkil 20-10b). [(a) hissəsi Biophoto Associates/Science Source. (b) hissəsi Ray Simons/Science Source.]

H.V. Vilsonun dəniz süngərində adgeziya ilə bağlı klassik tədqiqatları qəti şəkildə göstərdi ki, ECM-in əsas funksiyalarından biri məhz toxumaları bir yerdə saxlamaqdır. Vilsonun klassik işlərinin 20-5a və 20-5b şəkillərində göstərilən yenidən təşkil edilməsi göstərdi ki, süngərlər mexaniki olaraq dissosiasiya ediləndə və iki süngər növündən fərdi hüceyrələr qatışdırılarda bir növün hüceyrələri biri-digərinə yapışır, amma başqa növünkünə yapışmayı. Bu spesifiklik hüceyrədə qismən ECM-də olan, adgeziya reseptorları vasitəsilə birləşən növ-spesifik adgeziya molekullarına görə olur. Bu yapışqan zülallar təmizləmə və rənglənmiş qranulları örtmək üçün istifadə oluna bilər, sonra isə bu qranullar qarışdırılarkən bir-biri ilə intakt süngər hüceyrələrində olduğu kimi spesifik olaraq aqreqasiya edirlər (Şəkil 20-5c, d).

ECM hüceyrə adgeziyasını asanlaşdırmaqla yanaşı çoxsaylı başqa rolları da oynayır (Cədvəl 20-2). Komponentlərin müxtəlif kombinasiyası ECM-i müxtəlif anatomik saytlarda spesifik məqsədlər üçün uyğunlaşdırır: vətərlərin möhkəmlənməsində, dişlərin və sümüklərin sərtliyində və möhkəmliyində, qığırdağın elastikliyində və göz almasında

şüşəbənzər şəffaflığın alınmasında. ECM-in tərkibi həmçinin hüceyrə üçün yerləşmə və siqnal məlumatlarını təmin edir, hüceyrəyə harada olmasını və nə edəcəyini müəyyən etməyə imkan verir. ECM-in yenidən qurulması (remodelinqi) hüceyrənin onu əhatə edən mühitlə əlaqəsini dəyişə bilər. Həmçinin, ECM hüceyrə böyüməsini və differensiasiyasını nizamlayan çox hüceyrəxarici siqnal molekullarının mənbəyi kimi də xidmət edə bilər. Bundan başqa, o, hüceyrələrin hərəkət edə biləcəyi və ya hüceyrə hərəkətinə mane olan, xüsusilə toxuma yığılmasının erkən mərhələsində, bir qəfəs rolunu oynayır. Toxumaların, orqanların və orqanizmin hissələrinin hüceyrə hərəkəti və yenidən düzülməsi ilə formalaşdığı embrional inkişaf dövrünün mərhələsi olan morfogenez hüceyrə-matrisa adgeziyasından və eləcə də hüceyrə-hüceyrə adgeziyasından asılıdır. Məsələn, hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqəsi, qan damarlarını, ağciyərlərdə hava kisələrini, süd və tüpürcək vəzlərini və başqa şaxələnmiş quruluşları əmələ gətirmək üçün şaxələnmə morfogenezində (şaxələnmə quruluşun formalaşması) tələb olunur (Şəkil 20-6).

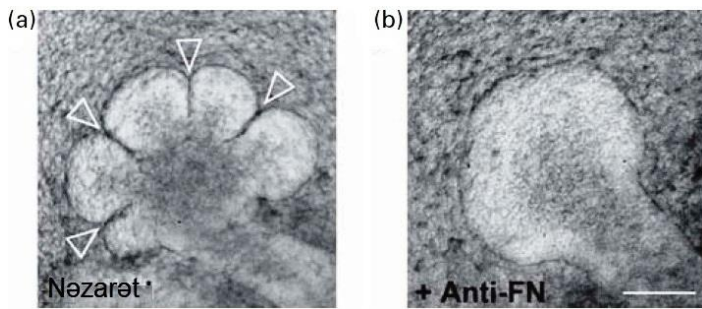


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-5 Mexaniki ayrılmış dəniz süngərləri növ-spesifik homotipik hüceyrə-adgeziyası yolu ilə yenidən toplanırlar. (a) Təbiətdə artan iki intakt süngər, *Microciona prolifera* (narıncı) və *Halichondria panicea* (sarı). (b) İki süngər növündə hüceyrələrin mexaniki dağıdılmasından və ayrılmış fərdi hüceyrələrin qatışdırılmasından sonra, onlara ehtiyatla qarışdırılmaqla yenidən yığılmaq üçün 30 dəqiqə imkan verildi. Hüceyrələr növ-spesifik homeotik adgeziya ilə aqreqasiya etdilər, *M. prolifera* hüceyrələrinin (narıncı) və *H. panicea* hüceyrələrinin (sarı) yığılmalarını əmələ gətirdilər. (c) və (d) Qırmızı və ya yaşıl fluorescent nişanlanmış dənəciklər ya *M. prolifera* (MAF) ya da *H. panicea* (MAF) ECM-in proteoqlikan aqreqasiya faktorları (AF) ilə örtüldülər. (c) Hər iki rəngin dənəcikləri MAF ilə örtüldükdə onlar

birlikdə aqreqasiya etdilər və sarı aqreqatları əmələ gətirdilər (qırmızı ilə yaşılın kombinasiyası). (d) MAF (qırmızı) və HAF (yaşıl) örtülü dənəciklər asanlıqla qatışıq aqreqatları əmələ gətirmədilər, əksinə homeotik adgeziya ilə birlikdə saxlanılan fərqli yığılmalarda toplandılar (Böyütmə 40×). [(a) və (b) hissələr Fernandez-Busquets X. & Burger, M. M., "Circular proteoglycans from sponges: first members of the spongican family," *Cell Mol. Life Sci.* 2003, **60**(1):88–112-dən, Springer razılığı ilə yenidən çap olundu; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə verildi. (c) və (d) hissələr Jarchow, J. and Burger, M., "Species-specific association of the cell-aggregation molecule mediates recognition in marine sponges," *Cell Commun. Adhes.* 1998, **6**:5, 405–414-dən, ©Taylor and Francis, www.tandfonline.com.]

CƏDVƏL 20-2 Hüceyrəxarici Matrisanın Funksiyası

1. Bərk toxumanın üçölçülü quruluş arxitekturasını və toxuma sərhədlərini təyin etmək üçün hüceyrələrin lövbər edilməsi və udulması
2. Hüceyrəxarici mühitin biokimyəvi xassələrinin təyini (sərtlilik/elasticlik, məsaməlik, forma)
3. Hüceyrə polyarlığının, sağ qalmasının, proliferasiyasının, differensiasiyasının və taleyinin (sütun hüceyrələrin assimetrik bölünməsi; bax Fəsil 21) nizamlanması və beləliklə, embrional və neonatal inkişaf və yetkin funksiya, və ətraf mühitə və xəstəliyə qarşı cavab reaksiyası.
4. Hüceyrə miqrasiyasının asanlaşdırılması və ya ingibirləşdirilməsi (məsələn, hərəkət etmək üçün baryer kimi və ya əksinə, uzunluğu boyunca hüceyrələrin və ya hüceyrə zülallarının hərəkət edə bildiyi “cığır” kimi fəaliyyət göstərmək).
5. Boy faktorlarına birləşərək onların rezervuarı kimi fəaliyyət göstərmək; bəzi hallarda, ECM (a) boy faktorlarının hüceyrəxarici qatılığının yaradılmasına kömək edir; (b) boy faktorları üçün ko-reseptor kimi fəaliyyət göstərir; (c) boy faktorunun reseptora düzgün birləşməsinə kömək edir (ECM komponenti və boy faktoru reseptorun birləşmiş ligandı kimi birgə xidmət edir).
6. Ya birbaşa ya da proteolitik doqranmadan sonra siqnal reseptorları üçün liqand kimi xidmət edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-6 İnkişafda olan siçan toxumalarında fibronektin anticismləri şaxələnmə morfogenezi blok edir. Qeyri yetkin tüpürək vəziləri siçan embrionundan ayrıldı və 10 saat müddətində, fibronektin molekuluna birləşərək onun ECM fəallığını blok edən anticismin iştirakı ilə (a) və iştirakı olmadan (b) in vitro şaxələnmə morfogenezinin getməsinə imkan verildi. Anti-fibronektin anticism (Anti-FN) ilə işlənilmə şaxələnmənin yaranmasını blok etdi (ox başlıqları). Fibronektin adgeziya reseptorunun (antigen) ingibirləşməsi də şaxələnmə əmələ gəlməsini blok edir (göstərilir). Miqyas barı 100µm. [Nature-nin razılığı ilə Sakai, T., et al., “Fibronectin requirement in branching morphogenesis,” *Nature*, 2003, **423**(6942):876–81-dən yenidən çap olunur; Razılıq Copyright Clearance Center, Inc. ilə alınmışdır.]

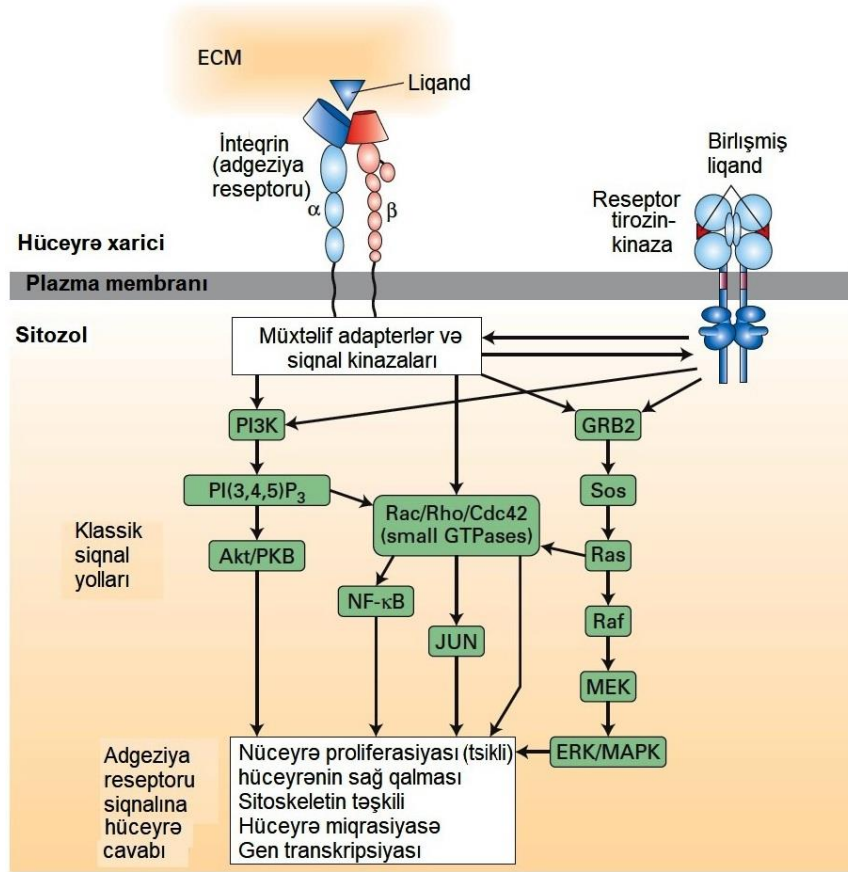
Hüceyrə-matrisa və hüceyrə-hüceyrə əlaqələrində paylanma toxumaların inkişafında dağıdıcı nəticələrə səbəb ola bilər. Şəkil 20-7, iki əsas ECM molekulunun, kollagen II-nin və perlekanın istənilən birinin geni fəalsızlaşan zaman embrional siçanın skelet sistemindəki dramatik dəyişiklikləri göstərir. Adgeziyada və ECM-in funksiyasında paylanmalar müxtəlif patalogiyalar üçün də, o cümlədən ürək-damar, skelet-əzələ, böyrək, dəri, göz, və sümük xəstəlikləri və eləcə də xərçəng hüceyrələrinin normal yerlərini tərk etdiyi və bədən boyu yayıldığı metastaz vermiş xərçəng üçün xarakterikdir.

Baxmayaraq ki, çox CAM-lar və adgeziya reseptorları ilkin olaraq onların adgeziya xüsusiyyətlərinə görə identifikasiya və xarakterizə olunmuşlar, onlar fəsil 15 və 16-da müzakirə olunmuş çoxsaylı siqnal yollarında da istifadə edilən əsas siqnal rolunu oynayırlar. Şəkil 20-8-də bir adgeziya reseptorun, integrinin hüceyrənin sağ qalması, gen

transkripsiyası, hüceyrənin hərəkətliyi və hüceyrənin proliferasiyası üçün, adaptorlardan və siqnal molekullarından istifadə edərək geniş sırada hüceyrədaxili siqnal yolları ilə necə fiziki və funksional əlaqə yaratdığını təsvir edir. Əksinə, hüceyrələr daxilində siqnal yollarının fəaliyyətindəki dəyişiklik CAM-ların quruluşuna və adgeziya reseptorlarına, məsələn adaptor zülalların CAM-ların sitozol hissəsinə birləşməsinə dəyişməklə, təsir edə bilər və bu yolla onların başqa hüceyrələrlə və ECM-lə qarşılıqlı əlaqə yaratmaq qabiliyyətində dəyişiklik edir. Beləliklə, xaricdən-daxilə və daxildən-xaricə siqnal ötürülməsi çoxsaylı bir-biri ilə əlaqəli yolları əhatə edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-7 Bəzi ECM zülalların genlərinin fəalsızlaşması siçanda qüsurlu skelet inkişafının baş verməsi ilə nəticələnir. Bu fotosəkillərdə normal (*solda*), kollagen II-çatışmayan (*ortada*) və perlekan-çatışmayan (*sağda*) siçan embrionlarından ayrılaraq, sümüyü (qırmızı) və qığırdağı (mavi) vizuallaşdırmaq üçün rənglənmiş skeletlər göstərilir. Bu əsas ECM komponentlərinin çatışmaması, skelet elementlərinin qısalması və eybəcərliyi ilə cırdanlıq yaranmasına səbəb olur. [John Wiley & Sons, Inc., razılığı ilə Gustafsson, E. et al., “Role of collagen type II and perlecan in skeletal development,” *Ann. NY Acad. Sci.*, 2003, May; **995**:140–50-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center tərəfindən alınmışdır.]



ŞƏKİL 20-8 İnteqrin addeziya reseptoru vasitəsi ilə siqnal yolları hüceyrənin müxtəlif funksiyalarını nizamlayır. İnteqrinlərin öz liqandlarına birləşməsi onların sitoplazmatik domenlərində konformasiya dəyişikliyinə induksiya edir, birləşməyə və ya dolayı yolla onların sitoplazmatik zülallarla qarşılıqlı əlaqəsini (xaricdən-daxilə siqnal) dəyişdirir. Bu sitoplazmatik zülallara adaptor zülalları (məsələn, talinlər, kindlinlər, paxlinlər, vinkulinlər) və siqnal kinazaları [Src-ailəsi kinazaları, fokal addeziya kinazası (FAK), inteqrinlə-əlaqəli kinaza (ILK)], daxilidirlər, bunlar çoxsaylı siqnal yollarından istifadə edərək siqnalı ötürürlər, bununla da hüceyrə proliferasiyasına, hüceyrənin sağ qalmasına, sitoskeletin təşkilinə, hüceyrə miqrasiyasına və gen transkripsiyasına təsir edirlər. Bir sıra siqnal yollarının komponentləri, hansı ki, bir hissəsi birləşmə plazma membranı ilə əlaqəlidir, yaşıl boksalarda göstərilir. Siqnal yollarının burada göstərilən çox komponentləri hüceyrə-səthi ilə fəallaşan digər siqnal yollarında da (məsələn, sağda göstərilən tirozinkinazalar reseptoru) iştirak edir və Fəsil 15 və 16 müzakirə olunurlar. Hüceyrədaxili siqnal yolları öz növbəsində, adaptor zülalları vasitəsi ilə inteqrinlərin onların hüceyrəxarici liqandlarına birləşmək qabiliyyətini modifikasiya edə bilirlər (daxildən-xaricə siqnal). Bax W. Guo and F. G. Giancotti, 2004, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5:816–826, və R. O. Hynes, 2002, *Cell* 110:673–687.

Çoxfunksiyalı Adeziya Molekullarının Təkamülü Müxtəlif Heyvan Toxumalarının Takamülünü Mümkün Etməlidir

Hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa addeziyaları heyvan toxumalarının yaranması, tərkibi, arxitekturası və funksiyasını həyata keçirirlər. Təəccüblü deyildir ki, bəzi addeziya molekulları təkamülcə qədimdirlər və çoxhüceyrəli orqanizmlərdə yüksək dərəcədə saxlanılmış konservativ zülallar sırasında dururlar. Ən sadə çoxhüceyrəli orqanizmlər olan süngərlər müəyyən CAM-ları və insandakı müvafiq zülalların quruluşuna son-dərəcə oxşar olan çox-addeziyalı ECM molekullarını ekspressiya edirlər. Metazoanların təkamülü ekspressiya səviyyəsi müxtəlif olan hüceyrə tiplərində fərqlənən, yeni xassələrə və geniş müxtəlifliyə malik olan addeziya molekullarının təkamülündən asılıdır. Bəzi CAM-lar və addeziya reseptorları (məsələn, kadherinlər, inteqrinlər və L1CAM kimi Ig-superailəsi CAM-lar) və bəzi ECM komponentlər (IV tip kollagen, laminin, nidogen/entaktin və perlekana-bənzər proteoqlikanlar) yüksək dərəcədə konservativdirlər, çünki onlar çox sayda müxtəlif orqanizmlərdə mühüm rol oynayırlar, halbuki başqa addeziya molekulları az konservativdirlər. Məsələn, məməlilərdə çox əhəmiyyətli rol oynayan kollagenin müəyyən tipləri və ya ECM fibronektin zülalı meyvə milçəklərində yoxdur. Addeziya molekullarının ümumi bir xüsusiyyəti onların, çox böyük zülalları təşkil edən (bəzən *təkrarlar* adlanan), təxminən identik domenlərdən ibarət olan təkrarlanmasıdır. Bu molekulların ümumi uzunluğu, onların fərqli funksional domenləri vasitəsilə müxtəlif liqandları

birləşdirmək qabiliyyəti ilə birlikdə yəqin ki, onların təkamülündə rol oynamışdır.

Addeziya molekullarının müxtəlifliyi əhəmiyyətli dərəcədə zülal ailəsini təşkil edən **izoformalar** adlanan çoxsaylı, bir-birinə yaxın əlaqəli olan zülalları yarada biləcək iki fenomendən meydana gəlir. Bəzi hallarda, zülal ailəsinin müxtəlif nümayəndələri gen duplikasiyası və divergent təkamül yolu ilə ümumi bir əcdaddan törəyən çoxsaylı genlər tərəfindən kodlaşdırılır (bax, Fəsil 8-də insanın β -bənzər qlöbin gen klasteri). Başqa hallarda, bir gen hər biri fərqli zülal izoformasını kodlaşdıran RNT transkriptlərini istehsal edir (bax Şəkil 8-3 və Bölmə 10.2). Hər iki fenomen kadherinlər kimi bəzi zülal ailələrinin müxtəlifliyinə öz töhfəsini verir. Yapışqan zülalların xüsusi izoformaları çox zaman bəzi hüceyrə tiplərində və toxumalarda ekspressiya olunur, amma digərlərində olunmur.

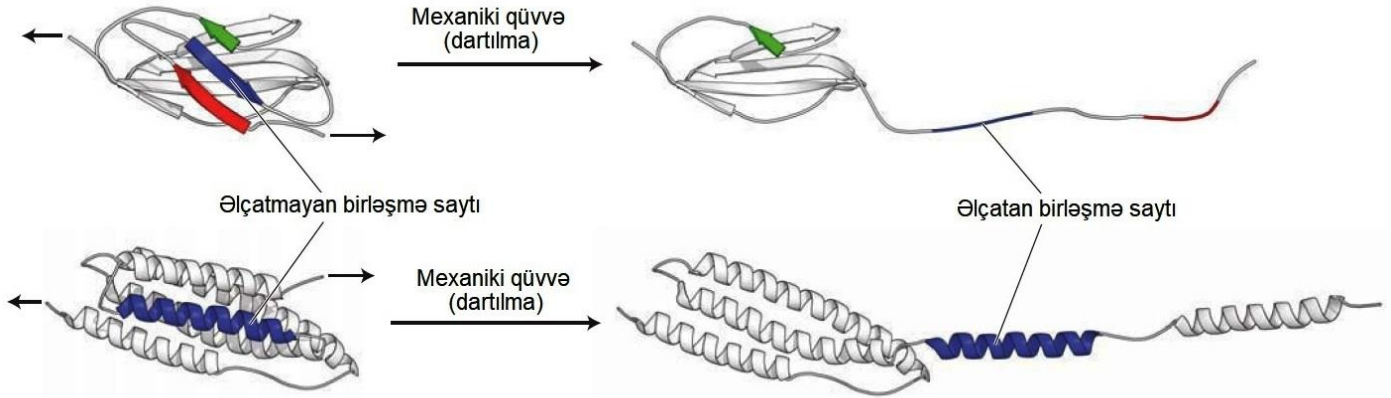
Hüceyrə-Addeziya Molekulları Mexanotransduksiyanı Həyata Keçirirlər

Mexanotransduksiya mexaniki qüvvənin resiprokal qarşılıqlı çevrilməsi və ya stimulu və biokimyəvi prosesidir. Bu qarşılıqlı çevrilmələr, siqnal ötürülməsi, tənzimlənən gen ekspressiyası, hüceyrə proliferasiyası, hüceyrə miqrasiyası və hüceyrələr arasında və hüceyrələrlə ECM arasında qarşılıqlı təsir kimi çox bioloji fəaliyyətlərin əsasında durur. Mexanotransduksiya hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqələrinin kontekstində adətən hüceyrə-səthi CAM-ı və ya plazma membranından mexaniki qüvvəni və ya biokimyəvi

informasiyanı keçirərək ötürən adgeziya reseptorlarını, həmçinin formanı və fəaliyyətini dəyişməklə mexaniki stimullara cavab verən bir və ya daha artıq hüceyrəxarici *mexanosensörləri* əhatə edir (həmçinin bax Fəsil 22). Məsələn, ECM zülalı fibronektin kimi və ya integrin adaptor zülalı talin kimi çoxdömenli mexanosensör zülalların uzunluğu boyu yaranan gərginlik sanki bir və ya daha artıq domeni ayıra bilir və bununla da bükülmüş domenlərdə örtülmüş vəziyyətdə olan (kriptik) birləşdirmə saytlarını açıq əldəolunan vəziyyətə gətirir (Şəkil 20-9). Açıq əldəolunan vəziyyətə gəlmiş bu yeni saytlar sonra

birləşmə tərəfdaşlarını, bəzi hallarda fosforlaşmadan sonra, səfərbər edir, hüceyrə və hüceyrəxarici funksiyaları dəyişir. Məsələn, integrinlər tərəfindən fibronektinlərin dartılması onların fibrillərdə toplanmasını induksiya edir, bu da bəzi hallarda kollagenin və bəzi başqa molekulların ECM-ə toplanmasında erkən mərhələ olur. Mexanotransduksiyada mexaniki qüvvələr, aktin filamentlərin myozinlə-idarə olunan hərəkəti (Fəsil 17) kimi hüceyrə daxilində yaradılmış qüvvələr, və ya qanın axması, yaxındakı (bitişik) hüceyrənin hərəkəti və ya ECM-in yığılması və genişlənməsi kimi qüvvələr ola bilər.

(a) III tip fibronektin domeni



(b) Talin beş-spirallıdüst domeni

ŞƏKİL 20-9 Mexaniki Gücə Cavab Verən Mexanosensör Zülallarda Domenlərin Modeli. (a) ECM fibronektin molekulunda zülal mexaniki qüvvəyə məruz qalanda, bükülməsi qismən açılmış III tip fibronektin domeninin hipotetik modeli. Aktin hərəkəti vasitəsi ilə hüceyrə daxilində yaranan və hüceyrəxarici dimer fibronektin ilə birləşmiş çoxsaylı integrin adgeziya reseptorları vasitəsilə mexanotransduksiya olunan mexaniki qüvvə fibronektinin bükülməsini qismən açır. Guman olunur ki, bükülmənin aşılması fibronektinin başqa fibronektin molekulları ilə β təbəqələr bəmələ gətirmək potensialına malik olan, ehtimal olunan, əvvəlcədən gizli olan (kriptik) birləşmə saytını (mavi seqment) açılmış vəziyyətə gətirir, onları fibronektin liflərinin əmələ gətirilməsinə cəlb edir və beləliklə ECM-in toplanmasına kömək edir. (b) Hüceyrədaxili integrin adaptor zülalı talinin mexaniki dartılma gücünə məruz qoyulması zamanı domen bükümünün (R1 beş spirallı büküm) qismən açılmasının fərz olunan modeli. Aktin vasitəsi ilə yaranan bu güc

talinin C-sonluğuna birləşərək onu darta bilir, halbuki talinin N-sonluğu integrinin β -subvahidinin sitoplazmatik quyruğuna birləşir. Guman olunur ki, bükümün açılması bu domenə əvvəlcədən kriptik olan α -spiral vinkulini birləşdirən saytını (mavi) açıq vəziyyətə gətirir. Aktin-birləşdirən zülal vinkulin (bax Şəkil 20-14d) sonra açıq qalmış saytı vasitəsi ilə integrin-talin kompleksinə birləşə bilər və öz növbəsində aktinə birləşir, beləliklə çoxsaylı aktin liflərin toplanmasını təşviq edir. Aktin liflərin adaptorlar vasitəsi ilə dolayı yolla integrinlərlə əlaqəli olan toplanması integrin-vasitəsilə adgeziyanı möhkəmləndirir və fokal adgeziyanın qurulmasına kömək edir. [(a) hissənin verilənləri E. P. Gee et al., 2013, *J. Biol. Chem.* **288**:21329–21340, və M. A. Schumacher et al., 2013, *J. Biol. Chem.* **288**:33738–33744-dən. (b) hissənin verilənləri Yao et al., 2014, *Sci. Rep.* **4**:4610, və E. Papagrigoriou et al., 2004, *EMBO J.* **23**:2942–2951-dən.]

20.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziyası: Ümumi Baxış

- Hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-hüceyrəxarici matrisa (ECM) qarşılıqlı əlaqələri hüceyrələrin toxumalarda toplanması, hüceyrə forması və funksiyasının nizamlanması və hüceyrələrin və toxumaların inkişaf tələbinin təyin olunması üçün kritik əhəmiyyətlidir. Adgeziya molekullarının quruluşunda və ekspressiyasındakı anormallıqlar nəticəsində xəstəliklər yarana bilər.

- Hüceyrə-adgeziyası molekulları (CAM) birbaşa hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını (homotipik və heterotipik) həyata keçirir, adgeziya reseptorları isə hüceyrə-matrisa adgeziyasını həyata keçirir (bax Şəkil 20-1). Bu qarşılıqlı əlaqələr hüceyrələri toxumalarda bağlayır və hüceyrələrlə onların ətraf mühiti arasındakı əlaqəni asanlaşdırır.
- CAM-ların sitozol domenləri və adgeziya reseptorları, sitoskelet liflərlə və hüceyrədaxili siqnal zülalları ilə əlaqəni həyata keçirən adaptor zülal birləşirlər.
- CAM-ların əsas ailələri kadherinlər, selektinlər, Ig-superailəsi CAM-ları və integrinlərdirlər (bax Şəkil 20-2).

İnteqrirlərin və Ig-CAM superailəsi nümayəndələri adgeziya reseptoru kimi də fəaliyyət göstərə bilirlər.

- Sıx hüceyrə-hüceyrə adgeziyasına oxşar (homofil) və ya fərqli (heterofil) CAM-lar arasında CAM-ların həm cis (lateral və ya hüceyrədaxili) oliqomerləşməsi həm də trans (yapışqan və ya hüceyrələr arası) qarşılıqlı əlaqəsi daxildir (bax Şəkil 20-3). cis və trans qarşılıqlı əlaqələrin kombinasiyası hüceyrələr arasında yapışqan-şəkilli adgeziyanı yaradır.
- Hüceyrəxarici matrisa (ECM) zülalların və polisaxaridlərin dinamik kompleks şəbəkəsidir və toxumaların quruluşuna və funksiyasına kömək edir (bax Cədvəl 20-2). ECM molekulların əsas sinifləri proteoqlikanlar, kollagenlər, və fibronektin və laminin kimi çox-yapışqanlı matrisa zülallarıdır.
- CAM-lar və adgeziya reseptorları öz sitoplazmatik adaptor zülalları ilə birlikdə “xaricdən-daxilə” və “daxildən-xarici” signal ötürülməsində, hüceyrələrlə onları əhatə edən mühit arasındakı kritik əhəmiyyətli kommunikasiyanın asanlaşmasında kritik əhəmiyyətli rol oynayırlar.
- Xüsusi quruluşa və funksiyaya malik olan adgeziya molekullarının təkamülü hüceyrələrə funksiyalarına görə fərqlənən çoxsaylı müxtəlif toxumalarda toplanmağa imkan verir.
- Mexaniki stimulun və ya qüvvənin qarşılıqlı çevrilməsi və biokimyəvi proseslər olan mexanotransduksiya CAM-lar, adgeziya reseptorları və mexanosensörlerle həyata keçirilir. Mexanotransduksiya hüceyrənin ətraf mühitdən gələn mexaniki qüvvələrə cavab verməsinə və ətraf mühitə mexaniki təsir etməsinə imkan yaradır.

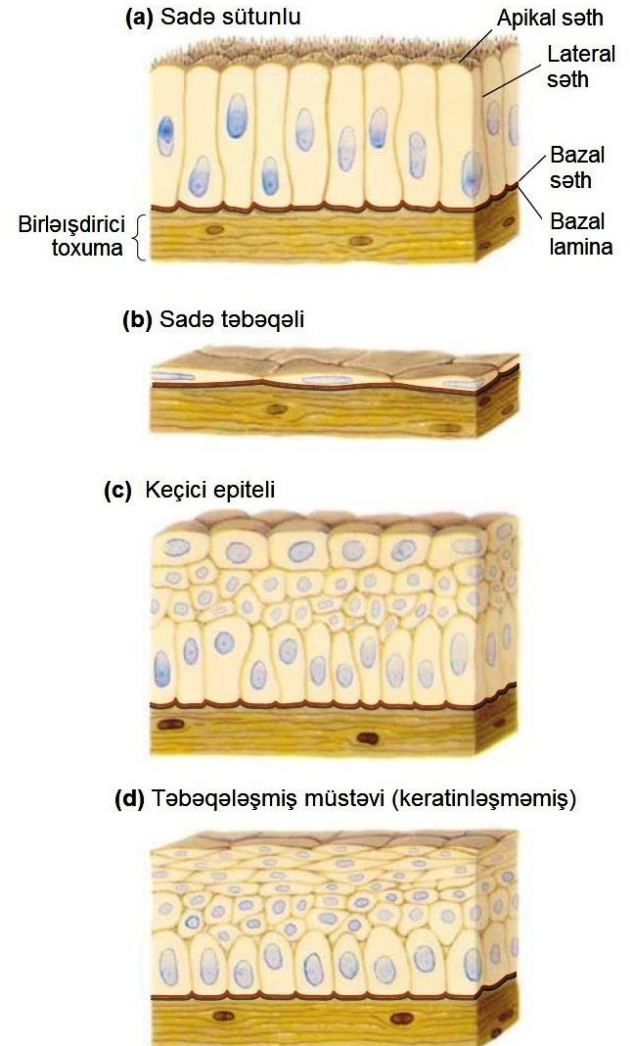
20.2 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Qovşaqları və Onların Adgeziya Molekulları

Epiteli və qeyri epiteli toxumalarında hüceyrələr eyni hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa molekullarının hamısını deyil, amma əksəriyyətini istifadə edirlər. Epitelinin nisbətən sadə təşkilinə görə və eləcə də onların təkamüldə və inkişafdakı fundamental roluna görə biz adgeziya barədə ətraflı müzakirələrimizi epiteli ilə başlayırıq. Bu bölmədə biz diqqətimizi hüceyrə səthinin adgeziya molekullarının, lövbər edən qovşaqlar, sıx qovşaqlar və boşluqlu qovşaqlar adlanan, diskret yamaqlar və ya ləkəklər şəkilində klasterlərinə malik olan rayonlarına yönəldirik. Lövbər edən və sıx qovşaqlar hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-ECM adgeziyasının həyata keçirilməsində kritik rol oynayırlar və hər üç tip qovşaq hüceyrələrarası və ya hüceyrə-ECM əlaqələrini həyata keçirirlər.

Epiteli Hüceyrələrinin Fərqli Apikal, Lateral və Bazal Səthləri Vardır

Epiteli toxumalarını əmələ gətirən hüceyrələrin plazma membranları diskret rayonlardan təşkil olunduğundan onlara polyarlaşmış deyilir. Adətən, polyarlaşmış epiteli hüceyrələrinin fərqli səthləri apikal (yuxarı), lateral (yan) və bazal (aşağı və ya

dib) səthlər adlandırılır (Şəkil 20-10; həmçinin bax 20-1). Apikal səthin sahəsi çox zaman mikrovillərin yaranması hesabına güclü şəkildə artır. Belə fərqli səthlərin yaranmasında və saxlanılmasında adgeziya molekulları əhəmiyyətli rol oynayırlar.



ŞƏKİL 20-10 Epitelinin əsas tipləri. Epitel hüceyrələri apikal, lateral və bazal səthlərin fərqli xüsusiyyətlərini nümayiş etdirə bilirlər. Çox hallarda, hüceyrələrin bazal və lateral tərəflərini fərqləndirmək olmur və ümumilikdə bazolateral səth adlandırılır. (a) Sadə dirəksəkilli epiteli uzanmış hüceyrələrdən, o cümlədən selik ifraz edən hüceyrələrdən (mədənin və qida borusunun divarları) və sorucu hüceyrələrdən (kiçik bağırsağın daxili divarı) təşkil olunmuşdur. Apikal səthdəki nazik çıxıntılar (protruziyalar) mikrovillərdirlər (bax Şəkil 20-11). (b) Nazik hüceyrələrdən təşkil olunmuş sadə saya epiteli toxuması, qan damarlarının divarını (endotelial hüceyrələr/endoteliya) və bir sıra bədən boşluqlarını örtür. (c) Keçici epiteli, bir neçə qat müxtəlif formalı hüceyrələrdən təşkil olunmuşdur və yığılmalara və dartılmalara məruz qalan müəyyən boşluqları (məsələn, sidik kisəsini) örtür. (d) Təbəqələşmiş müstəvi (keratinləşməmiş) epiteli ağız və uşaq yolumun səthini örtür, bu təbəqələr sürtünməyə qarşı davamlıdırlar, amma ümumilikdə materialın boşluqdan kənara və ya daxilə udulması və ya ifraz olunması prosesində iştirak etmirlər.

Kollagenin və ya başqa ECM komponentlərin incə lifli şəbəkəsi olan bazal lamina bütün epitelilərə onların altındaki birləşdirici toxuma ilə əlaqələndirilməsində kömək edir.

Müxtəlif bədən nahiyələrində epitelini xarakterik morfolojiyaya və funksiyaya malik olur (bax Şəkil 20-10; həmçinin bax Şəkil 1-4). Təbəqələşmiş (çoxqatlı) epitelini ümumilikdə baryer və mühafizə səthi (məsələn dəri) rolunu oynadığı halda, sadə (birqatlı) epitelini çox zaman ionların və kiçik molekulların epitelini toxumasının bir tərəfindən digər tərəfinə selektiv keçirilməsini həyata keçirir. Məsələn, mədə örtüyünü əmələ gətirən sadə sütunvari (silindirik) epitelini xlorid turşusunu lümen daxilinə ifraz edir; kiçik bağırsağın örtüyünü əmələ gətirən oxşar epitelini həzm məhsullarını hüceyrələrdən keçirərək bağırsağ lümenindən qana daşıyır (bax Şəkil 11-30).

Sadə sütunvari epitelidə lateral səthlər arasındakı yapışqan əlaqələr hüceyrələri iki-ölçülü səthdə bir yerdə saxlayır, amma bazal səthdə onlar hüceyrələri altda yerləşən, bazal lamina adlanan xüsusi hüceyrəxarici matrisa ilə bağlayır. Çox hallarda bazal və lateral səthlər tərkibinə görə oxşar olurlar və ümumilikdə bazolateral səth adlandırılırlar. Sadə epitelilərin əksəriyyətində bazolateral səthlər hüceyrələrin qan damarlarına yaxın (bitişik olan) tərəfində olurlar, apikal səth isə sabit deyildir, başqa hüceyrələrlə və ECM-lərlə birbaşa əlaqədə olurlar. Qapalı dövredici sistemlərə malik olan heyvanlarda qan daxili səthi *endotelial hüceyrələr* adlanan yastılaşmış epitelini hüceyrələrindən təşkil olunmuş damarlarla axır. Epitelini hüceyrələri ümumilikdə sesildirlər, hərəkətsiz hüceyrələrdirlər, adgeziya molekulları onları stabil və möhkəm şəkildə bir-birinə və onlarla assosiasiyada olan ECM ilə yapışdırır. Güclü davamlı adgeziyanı yaratmaq üçün əhəmiyyətli bir mexanizm bu molekulların yarımqruplarının hüceyrə qovşaqları adlanan klasrterlərdə toplanmasıdır.

Üç Tip Qovşaq Çox Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-ECM Qarşılıqlı Əlaqələrini Həyata Keçirir

Bir təbəqənin bütün epitelini hüceyrələri bir-biri ilə və ECM ilə xüsusi qovşaqlarla əlaqədirlər. Baxmayaraq ki, yüzlərlə fərdi səpələnmiş adgeziya molekulları vasitəsilə qarşılıqlı əlaqələr hüceyrələrin bir yerə yapışması üçün kifayətdir, hüceyrə qovşaqlarında adgeziya molekullarının klaster halındakı qruplaşmaları toxumaya möhkəmlik və güc verilməsində, hüceyrədaxili və hüceyrəxarici mühit arasında məlumatın ötürülməsində, ionların və molekulların hüceyrə təbəqəsindən keçərək ötürülməsinə nəzarətdə də xüsusi rol oynayırlar, həmçinin ionların və molekulların bir hüceyrənin sitoplazmasından dərhal yaxınlıqdakı qonşu hüceyrənin sitoplazmasına ötürülməsində boru kəməri kimi xidmət edirlər. Epitelini üçün xüsusi əhəmiyyət kəsb edən hüceyrələr arasında möhkəm sıxlaşmanın yaranmasına kömək edən sıx qovşaqların əmələ gəlməsidir, bu da epitelini təbəqəsinə molekulların təbəqənin bir tərəfindən digər tərəfinə axması üçün baryer rolunu oynamasına imkan verir.

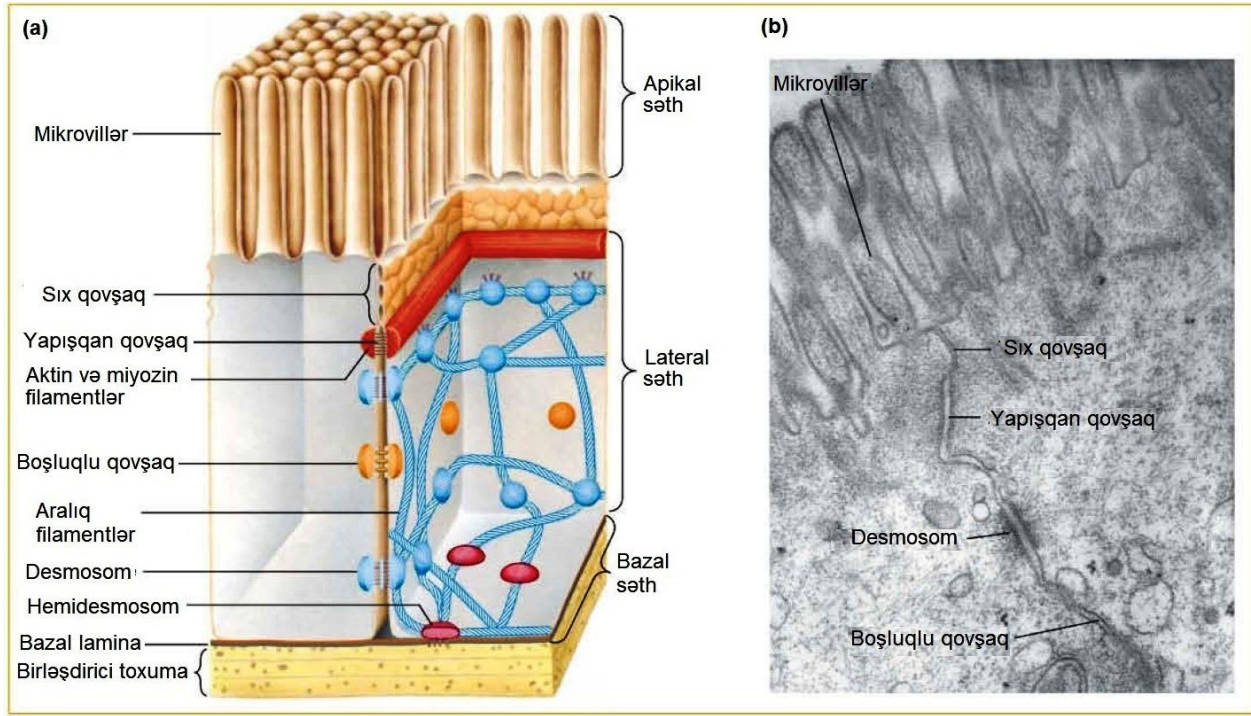
Heyvan-hüceyrə qovşağının üç əsas sinifi: lövbər edən qovşaqlar, sıx qovşaqlar və boşluqlu qovşaqlar sadə dirəkşəkilli epitelini üçün (Şəkil 20-11 və Cədvəl 20-3) xarakterik xüsusiyyətlərdir. Lövbər edən qovşaqlar və sıx qovşaqlar toxumanın bir yerdə saxlanılmasında əsas vəzifəni yerinə

yetirirlər. Biz görəcəyik ki, sıx qovşaqlar həmçinin epitelini təbəqəsinə əmələ gətirməklə məhlulların hüceyrələr arasındakı hüceyrəxarici boşluqla axmasını da nizamlayır. Sıx qovşaqlar əsasən epitelini hüceyrələrində tapıldığı halda lövbər edən qovşaqlar həm epitelini həm də qeyri epitelini hüceyrələrində tapılır. Lövbər edən qovşaqlar və sıx qovşaqlar epitelidə üç hissəyə bölünürlər: (1) plazma membranındakı bir hüceyrəni başqa bir hüceyrə ilə lateral səthləri vasitəsilə bağlayan yapışqan zülallar; (2) CAM-ları və ya adgeziya reseptorlarını sitoskelet filamentlərlə və siqnal molekulları ilə bağlayan adaptor zülallar; (3) sitoskelet filamentlərin özləri.

Üçüncü sinif qovşaqlar, boşluqlu qovşaqlar, kiçik suda-həllolan molekulların bitişik hüceyrələrin sitoplazmaları arasında tez diffuziya olunmasına imkan verir. Lövbər edən və sıx qovşaqlarla yanaşı boşluqlu qovşaqlar hüceyrəyə onun ətraf mühiti ilə əlaqə yaratmasına kömək edir. Amma, onlar quruluşuna görə lövbər edən qovşaqlardan və sıx qovşaqlardan çox fərqlidirlər və hüceyrə-hüceyrə, hüceyrə-ECM adgeziyasının möhkəmliyində mühüm rol oynayırlar. Həm epitelini həm də qeyri epitelini hüceyrələrdə tapılmış boşluqlu qovşaqlar bitkilərdəki plazmodesmata adlanan və bizim 20.6 bölməsində müzakirə edəcəyimiz fərqli hüceyrə qovşaqlarına bənzəyir.

Hüceyrələrdə dörd tip lövbər qovşaqları mövcuddur. Bunlardan ikisi hüceyrə-hüceyrə adgeziyasında iştirak edir, ikisi isə hüceyrə-matrisa adgeziyasında iştirak edir. *Adherent qovşaqlar* yaxın (bitişik) epitelini hüceyrələrin lateral membranlarını birləşdirir və adətən apikal səthə yaxın, sıx qovşağın düz altında yerləşir (bax Şəkil 20-11). Aktin və myozin filamentlərin adherent qovşaqlarla kompleksində dairəvi kəməri dartılma (gərginlik) şüuru kimi fəaliyyət göstərir, beləliklə hüceyrəni daxildən möhkəm bağlayaraq onun formasını nizamlayır. Epitelial və bəzi başqa tip, məsələn sayə əzələ və ürək əzələ hüceyrələri kimi hüceyrələr bəzən *desmosom ləkələri* adlanan təmas nöqtəsində *desmosomlarla* sıx şəkildə bir-birinə bağlanırlar. Əsasən epitelini hüceyrələrinin bazal səthində tapılmış *hemidesmosomlar*, həmçinin epitelidə altda yerləşən ECM komponentlərinə lövbər edən (bəzən *fokal adgeziya* adlanan) *fokal əlaqələr* daha çox asılmış xalçanı saxlayan mıxlara bənzəyir. Adherent qovşaqlar, desmosomlar və fokal adgeziyalar çoxsaylı müxtəlif tipli hüceyrələrdə tapılmışdır, hemidesmosomlar isə görünür epitelial hüceyrələri ilə məhdudurlar.

Hüceyrə səthinə paralel olaraq və ya hüceyrəyənin içərisindən uzanaraq keçən aralıq filament dəstləri desmosomları və hemidesmosomları birləşdirir, sitoskeleti fokal əlaqələr və adherens qovşaqlarla birləşdirən aktin filamentləri kimi hüceyrəyə onun forma və sərtliyini verir. Bu qovşaqlarla sitoskelet arasındakı sıx qarşılıqlı əlaqə kəsb keçmə qüvvələrinin hüceyrə təbəqəsinin bir rayonundan bütünlükdə epiteliniyə paylanmasına kömək edir və bütövlükdə bir epitelini hüceyrə təbəqəsinin sərtliyini və möhkəmliyini təmin edir. Desmosomlar və hemidesmosomlar dəri epitelisini bütövlüyünün saxlanmasında xüsusən əhəmiyyətlidir. Nəticə etibarilə, dəridə hemidesmosomal lövbərə mane olan mutasiya epitelinin onun altında yerləşən matrisadan ayrılmasına səbəb olur və hüceyrəxarici maye bazolateral səthdə toplanır, dərinin qabarmasına və suluqların (köpəşlərin) yaranmasına səbəb olur.



ŞƏKİL 20-11 Kiçik bağırsağın daxili səthini örtən dirəksəkili epitel hüceyrələrinin əlaqələndirən hüceyrə qovşaqlarının əsas tipləri. (a) Bağırsaq epitel hüceyrələrinin kəsiyinin sxematik görünüşü. Hüceyrələrin bazal səthi bazal lamina üzərində dayanır, apikal səth isə bağırsaq lümeninə tərəf uzanmış barmaq şəkilli mikrovillərlə örtülmüşdür. Mikrovillərin dərhal altında uzanan sıx qovşaqlar bağırsaq lümeni ilə daxili bədən mayesi (məsələn qan kimi) arasında çox maddələrin hüceyrələr arasındakı boşluğa diffuziya olunmasına mane olur. Boşluqlu qovşaqlar kiçik molekulların və ionların bir-birinə

yapışmış hüceyrələrin sitozolları arasında hərəkətinə imkan verir. Qalan üç tip qovşaqlar – adheren qovşaqlar, desmosomlar və hemidesmosomlar – hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa adgeziyasında və siqnal ötürülməsində kritik əhəmiyyətlidirlər. (b) Siçovulun bağırsağında epitel hüceyrələrinin nazik kəsiyinin elektron mikrofotosu müxtəlif qovşaqların yerləşməsinə göstərir. [(b) hissəsi 1963, Farquhar, M. G., and Palade, G. F., *J. Cell Biol.*, 17:375–412. doi:10.1083/jcb.17.2.375; Figure 1.]

Adheren Qovşaqlarda və Desmosomlarda Kadherinlər Hüceyrə-Hüceyrə Adgeziyasını Həyata Keçirirlər

Adheren qovşaqlarda və desmosomlarda əsas CAM-lar kadherin ailəsinə aiddirlər. Onurğalılarda yüzdən artıq nümayəndəsi olan bu zülal superailəsi bizim aşağıda müzakirə edəcəyimiz *klassik kadherinlər* və *desmosomal kadherinlər* də daxil olmaqla ən azı altı yarım ailədə qruplaşdırıla bilər. Kadherinlərin müxtəlifliyi çoxsaylı kadherin genlərinin mövcud olmasından və alternativ RNT splyasinindən meydana gəlir. Təccüblü deyildir ki, onurğalılarda bu qədər çox, müxtəlif tipli kadherinlər vardır. Bu heyvanların geniş müxtəliflikdə olan toxumalarında çoxsaylı müxtəlif tipli hüceyrələr adgeziya və kommunikasiyanı (əlaqəni) həyata keçirmək üçün kadherinlərdən istifadə edirlər və dəqiq (müfəssəl) tələblər müxtəlif növ hüceyrələr və toxumlar üçün fərqli ola bilər. Kadherin superailəsinin nümayəndələri, bəzi epitel hüceyrələrinin apikal səthində mikrovillərin toplanması və qablaşdırılması kimi hüceyrə morfologiyasına da nəzarət edirlər (bax Şəkil 20-10a və 20-11a). Beyin çox böyük sayda müxtəlif kadherinləri ekspressiya edir, ehtimal ki, bu kompleks kabellər modelini yaratmaq üçün çoxsaylı hüceyrə-hüceyrə kontaktlarının meydana gəlməsinin zəruriliyi ilə bağlıdır. Amma, onurğasızlar 20-dən az kadherinlə fəaliyyət göstərə bilirlər.

Klassik kadherinlər Klassik kadherinlərə onların ilk dəfə identifikasiya olunduqları toxumaların tiplərinə görə

adlandırılan E-, N- və P-kadherinlər (müvafiq olaraq epitel, nevroloji və plasantal toxumalar) daxildirlər. E- və N-kadherinlər daha geniş ekspressiya olunanlardır, xüsusən də erkən differensasiya zamanı. Qütbləşmiş epitel hüceyrələrinin təbəqələri, məsələn kiçik bağırsağın daxili səthini və ya böyrək borucuqlarının daxili səthini örtən hüceyrə təbəqələri lateral səthləri boyunca zəngin E-kadherinlərə malikdirlər. Hərçənd ki, E-kadherinlər adheren qovşaqlarda cəmləşmişlər, o bütün lateral səth boyu mövcuddur, guman olunur ki onlar burada bir yerdə olan hüceyrələrin membranlarını əlaqələndirir.

Siçan fibroblastlarından alınan kultura olunan hüceyrə xətti olan L hüceyrələrlə aparılan eksperimentlərin nəticələri göstərdi ki, E-kadherinlər daha böyük üstünlüklə homofilik əlaqələri həyata keçirir. L hüceyrələr kadherinləri ekspressiya etmir və bir-birinə və digər hüceyrə tiplərinə pis yapışırlar. E-kadherinlər L hüceyrələrin daxilinə keçiriləndə aşkar edilmişdir ki, hüceyrələr E-kadherinləri ekspressiya edən başqa hüceyrələrə daha üstünlüklə yapışırlar (Şəkil 20-12). Yaradılmış bu kadherin-ekspressiya edən L hüceyrələr bir-biri ilə və ağciyərdən ayrılmış başqa epitel hüceyrələri ilə epitel toxumasına-bənzər aqreqatları əmələ gətirirlər. Hərçənd ki, E-kadherinlərin əksəriyyəti əsasən homofilik birləşməni nümayiş etdirirlər, amma bəziləri heterofilik qarşılıqlı əlaqələri həyata keçirirlər.

Cədvəl 20-3 Hüceyrə Qovşaqları

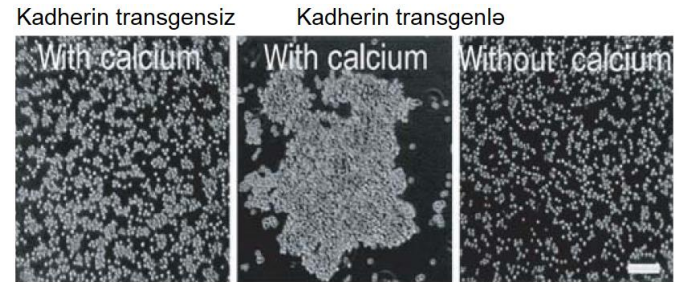
Qovşaqlar	Adgeziya tipləri	Əsas CAM-lar və ya adgeziya reseptorları	Sitoskelet qoşulma	Hüceyrədaxili adapterlər	Funksiyası
Lövbəredici qovşaqlar					
1. Adherent qovşaqlar	Hüceyrə-hüceyrə	Kadherinlər	Aktin filamentlər	Keteninlər, vinkulin	Forma, gərginlik, siqnal ötürülməsi, qüvvənin ötürülməsi
2. Desmosomlar	Hüceyrə-hüceyrə	Desmosomal kadherinlər	Aralıq filamentlər	Plakoqlobin, plakifilinlər, desmoplakinlər	Möhkəmlik, davamlılıq, siqnal ötürülməsi
3. Hemidesmosomlar	Hüceyrə-matrisa	İnteqrin ($\alpha\beta4$)	Aralıq filamentlər	Plektin, distonin/BPAG1	Forma, bərklik, siqnal ötürülməsi, Qüvvənin ötürülməsi, hüceyrənin hərəkəti
4. Fokal, fibrilyar və 3-D adhezivlər	Hüceyrə-matrisa	İnteqrinlər	Aktin filamentlər	Talin, kindlin, paksillin, vinkulin kinaza	Forma, bərklik, siqnal ötürülməsi, Qüvvənin ötürülməsi, hüceyrənin hərəkəti
Sıx qovşaqlar	Hüceyrə-hüceyrə	Okkludin, klauudinlər, JAM-lar	Aktin filamentlər	ZO-1,2,3, PAR3, sinqulin	Məhlul axmasının nizamlanması, siqnal verilməsi
Boşluqlu qovşaqlar	Hüceyrə-hüceyrə	Konneksinlər, inneksinlər, panneksinlər	Adaptorlarla başqa qovşaqlara	ZO-1, 2, 3	Əlaqələr, hüceyrələr arasında kiçik molekul daşınması
Plazmodesmata (yalnız bitkilərdə)	Hüceyrə-hüceyrə	Təyin edilməyib	Aktin filamentlər	NET1A	Əlaqələr, hüceyrələr arasında, molekul daşınması

Kadherinlərin yapışqanlılığı hüceyrəxarici Ca^{2+} mövcud olmasından asılıdır, onlara kadherin adının verilməsi də buradan götürülmüşdür (*kalsiumun yapışması - calcium adhering*). Məsələn, E-kadherin ekspresiyası edən L hüceyrələrin adgeziyasına hüceyrələrin aşağı qatılıqlı Ca^{2+} mühitində yuyulması mane olur (bax Şəkil 20-12). Bəzi adgeziya molekulları normal fəaliyyət göstərmək üçün hüceyrəxarici mühitdə minimal miqdarda Ca^{2+} olmasını tələb edir, IgCAM-lar kimi digərləri isə Ca^{2+} -dan asılı deyillər.

E-kadherinlərin adgeziyada rolu *Madin-Darby Kanine Böyrək (Madin-Darby Canine kidney – MDCK)* hüceyrələri ilə aparılan eksperimentlərlə də nümayiş etdirilə bilər (bax Şəkil 4-4). Bu hüceyrələrdə E-cadherin klasterlərinin hüceyrələrin ilkin bağlanmasını həyata keçirməsini və hüceyrələrin sonra hüceyrə təbəqələrində birləşməsinə göstərmək üçün E-kadherinin yaşıl fluoressent zülalla nişanlanmış forması istifadə olunmuşdur (Şəkil 20-13). Bu eksperimental sistemdə E-kadherinə birləşə bilən anticismın əlavə edilməsi onun homeofil qarşılıqlı əlaqəsinə mane olur, MDCK hüceyrələrin bir-birinə Ca^{2+} -dan asılı olan yapışmalarını və ardınca da hüceyrələrarası adherent qovşaqların formalaşmasını blok edir.

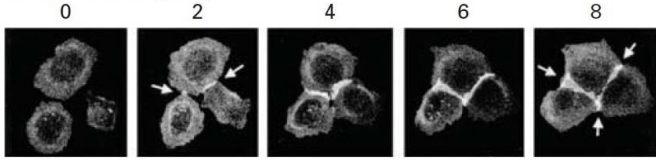
Hər bir klassik kadherin molekulu tək bir transmembran domenə, nisbətən qısa C-sonluq sitozol domeninə və beş hüceyrəxarici (EC1-EC5 adlanan) “kadherin” domenlərinə malikdir (bax Şəkil 20-2). Hüceyrəxarici domenlər Ca^{2+} birləşdirmək üçün və kadherinlə vasitələnən hüceyrə-hüceyrə

adgeziyası üçün lazımdır. Klassik kadherinlər vasitəsilə adgeziya həm cis lateral klaster əmələgəlməni (hüceyrədaxili) həm də trans adheziv (hüceyrələrarası) molekulyar qarşılıqlı əlaqələri əhatə edir (Bax Şəkillər 20-3 və 20-14a-c). Kadherin təkrarlar arasında yerləşən saytların hər birinə üç Ca^{2+} birləşməsi (bax Şəkil 20-2 və 20-14a) hüceyrəxarici domenin uzanmış və əyilmiş (burulmuş) quruluşunu stabilləşdirir. Biz tezliklə görə-



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-12 E-kadherin L hüceyrələrin Ca^{2+} -dan asılı olan adgeziyasını həyata keçirir. Standart hüceyrə kulturası şəraitlərində, hüceyrəxarici mayədə kalsiumun iştirakı ilə L hüceyrələr təbəqələrə aqreqasiya etmirlər (*solda*). E-kadherinin ekspresiyasına səbə olan genin bu hüceyrələrə daxil edilməsi kalsiumun iştirakı ilə onların epiteliyə bənzər təbəqələrdə aqreqasiya etməsinə səbə oldu (*ortada*), amma kalsium olmadan aqreqasiya etməyilər (*sağda*). Bar, 60 μm . [1998 Adams, C. L. et al., *J. Cell Biol.* 142:1105–119. doi: 10.1083/jcb.142.4.1105; Şəkil 1E.]

Hüceyrələr qarışdırıldıqdan
sonrakı zaman (saat):



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-13 E-kadherin kultura olunan MDCK epitel hüceyrələrində yapışqan əlaqəni həyata keçirir.

Yaşıl fluorescent zülal (GFP) birləşdirilmiş E-kadherin geni kultura olunan MDCK hüceyrələrinə keçirildi. Sonra hüceyrələr tərkibində kalsium olan mühitlə qatışdırıldı və fluorescent E-kadherinin hüceyrələrdə paylanması zaman müddətindən sonra (saatlarla göstərilir) vizuallaşdırıldı. E-kadherinlərin klasterləri ilkin birləşməni və sonra da epitel hüceyrələrin ciltkə kimi bağlanması və qovşaqların əmələ gəlməsini həyata keçirir (iki hüceyrəli qovşaqlar iki hüceyrənin qovuşduğu yerdədir və xəttlər kimi görünür, üç hüceyrəli qovşaqlar isə üç hüceyrənin kəsişməsidir). [©1998 Adams, C. L. et al., *J. Cell Biol.* 142:1105–119. doi: 10.1083/jcb.142.4.1105; Şəkil 2B.]

cəyik ki, kadherinlərin hüceyrəxarici domeninin əyilmiş quruluşu kadherin molekulları arasındakı cis və trans birləşməni sabitləşdirən düzgün molekulyar komplementarlıq üçün lazımdır. Kadherinlərin cis və trans qarşılıqlı əlaqələri onların sitoplazmatik adapter və sitoskelet molekulları ilə olan qarşılıqlı əlaqələri ilə birlikdə kadherinlərin adhesiv (yapışqan) sıralarda (array) bağlanmasına imkan verir. Bir kadherindəki EC1 domenin yaxın bitişik hüceyrədəki kadherininin EC1 domeni ilə birləşməsi trans birləşməni həyata keçirir (Şəkil 20-14; həmçinin bax Şəkil 20-3). Hərçənd ki, EC1-EC1 homofil birləşmənin dissosiasiya konstantı (K_d) onun məhlulda ayrılması domenlərində ölçülmüşdür, 10^{-5} dən 10^{-4} mol/L qədər (nisbətən zəif və ya aşağı affinitəli birləşmə) olmuşdur, hüceyrələrarası sıx adgeziyanın əmələ gəlməsi üçün bitişik hüceyrələrdəki intakt kadherin molekulları sırasında çoxsaylı aşağı affinitəli qarşılıqlı əlaqələr cəmlənilir.

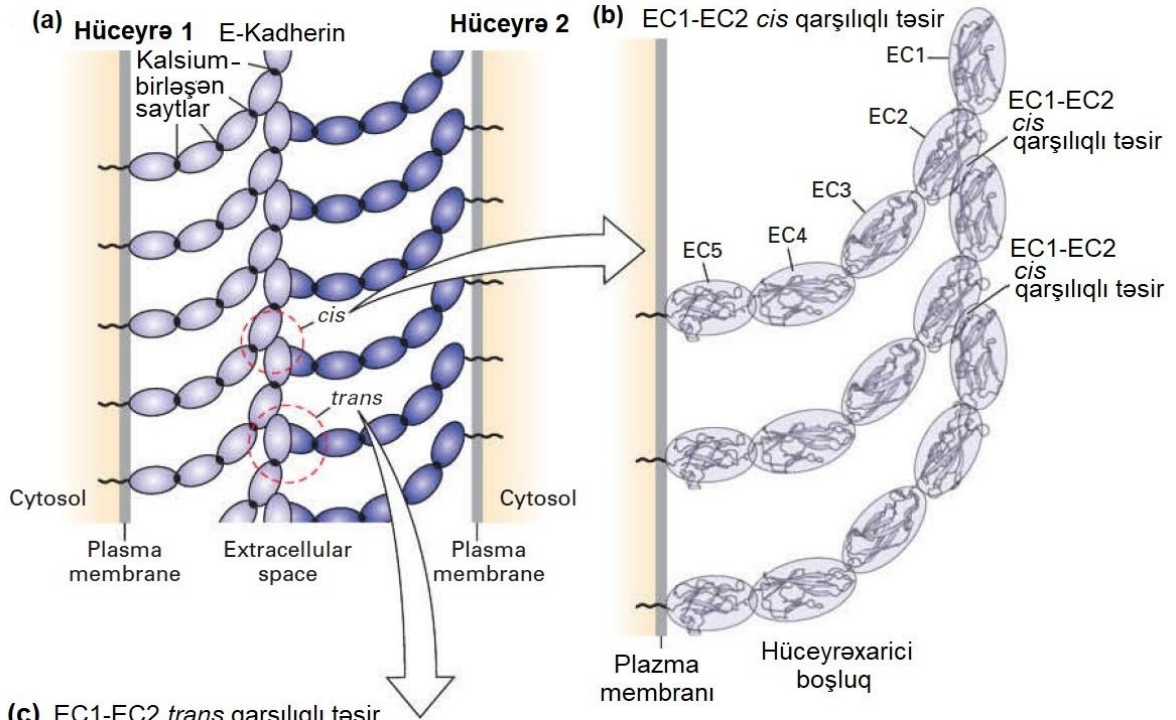
Kadherinlərin hüceyrəxarici domenlərinin quruluşlarının təyin edilməsi əsas birləşdirmə domenlərinin çoxsaylı mutantlarının quruluşlarının və birləşdirmə xassələrinin analizi ilə birlikdə kadherinlə-vasitələnən klassik hüceyrə adgeziyasının əsasında duran cis və trans adgeziyanın təmiz görünüşünü verdi. Kadherinlərin cis və trans birləşmə əlaqələrində əsas xüsusiyyətləri (1) beş hüceyrəxarici kadherin domenlərinin EC1 və EC2 domenlərə düzgün istiqamət verən kalsiumdan-asılı olan əyilməsi (bax Şəkillər 20-2 və 20-14); (2) cis qarşılıqlı əlaqə üçün EC1 domenin bir tərəfinin eyni membranda olan qonşu molekulun EC2 domenin komplementar səthinə birləşməsi (bax Şəkillər 20-2 və 20-14); (3) trans əlaqələr üçün EC1 domenin fərqli səthinin qonşu (bitişik) hüceyrədəki kadherin molekulunun EC1 domeni ilə birləşməsidir. Trans EC1-EC1 birləşmə iki EC1 domeninin hər birində zülalın N-sonluğundakı kiçik seqmenti sallanaraq birləşdiyi tərəfdəş zülalın ekvivalent seqmenti ilə əvəz ediləndə stabilləşir (əvəz olunma zənciri; bax Şəkil 20-14).

Klassik kadherinlərin C-sonluq sitozol domeni adaptor zülallar vasitəsi ilə aktin sitoskeletlə əlaqələnmişdir (bax Şəkil

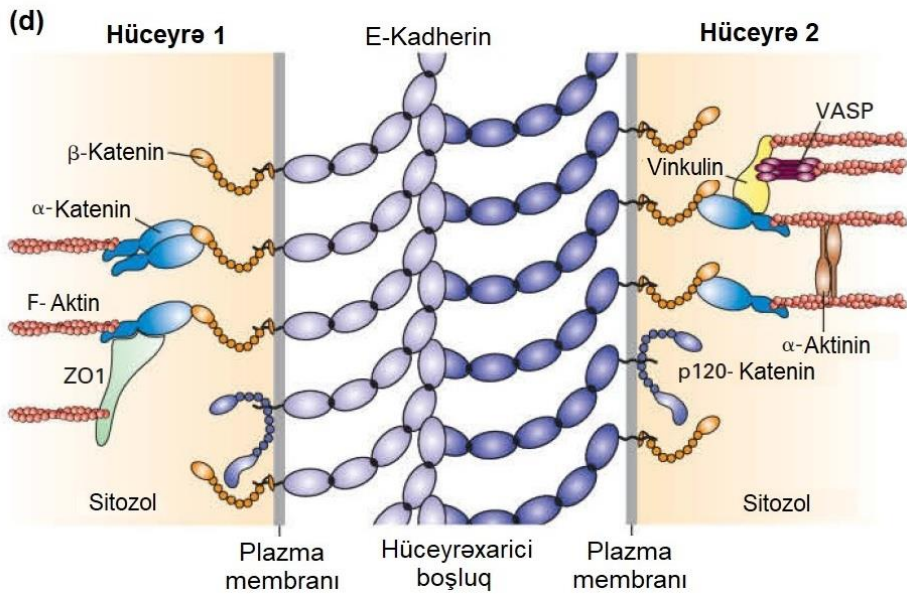
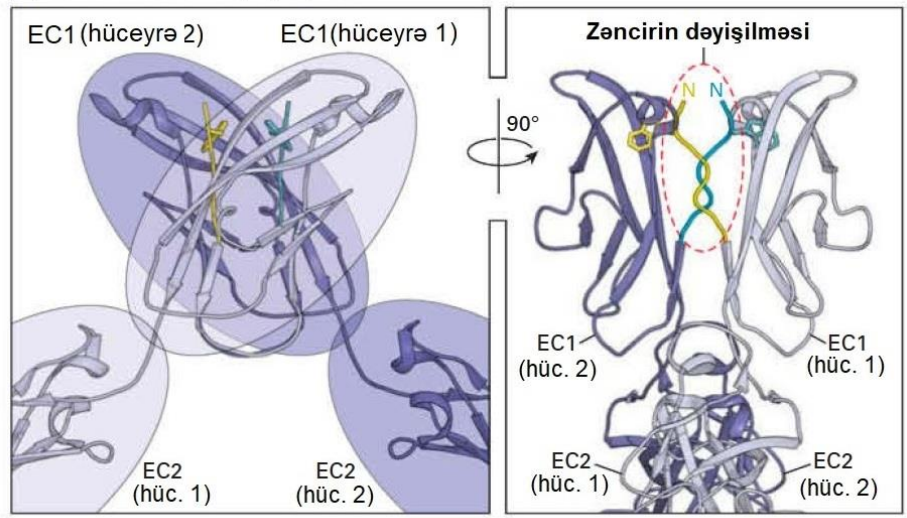
20-14b). Buy əlaqə adgeziyanın möhkəmliyi üçün vacibdir, aktin sitoskelet tərəfindən gərginliyin bir az artması kadherinlərin böyük klasterlərinin və daha möhkəm hüceyrədaxili adgeziyanın yaranmasına səbəb olur. Aktin sitoskeletin təbiiq etdiyi artan qüvvəni müşayət edilən bəzi yüksələn kadherinlə-vasitələnən adgeziya görünür adaptor zülallardan biri ilə, kadherini aktin filamentlərlə əlaqələndirən (bax Şəkil 20-14d) və qüvvəyə məruz qaldıqda formasını dəyişən (dartılan, uzanan) mexanosensor α -katenin ilə həyata keçir. Belə dartılma α -katenində digər adaptor molekullarının əlavə birləşmə saytlarını aşkara çıxarır. Klassik kadherinlərlə α -kadherin və ya klassik kadherinləri aktin filamentlərlə əlaqələndirən (bax Şəkil 20-14d) digər ümumi adaptor zülalı olan β -katenin arasında əlaqənin qırılması kadherinlə-vasitələnən hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını dramatik şəkildə azaldır. Bu qırılma, çox hallarda α -kateninin ekspressiya oluna bilmədiyi şiş hüceyrələrində spontan şəkildə baş verir və əldə olunabilən β -kateninin sitozol mənbəyinin tükənməsi yolu ilə eksperimental olaraq induksiya oluna bilir. Kadherinlərin sitozol domenləri p120-katenin kimi hüceyrədaxili siqnal molekulları ilə də qarşılıqlı əlaqəyə girə bilər. Maraqlıdır ki, β -katenin ikili rol oynayır: o yalnız sitoskeletə qoşulmanı yerinə yetirmək kimi xidmət etmir, həmçinin, nüvəyə translokasiya edərək və gen transkripsiyasını dəyişməklə Wnt siqnal yolunda siqnal molekulu kimi fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 16-30).

Klassik kadherinlər toxuma differensiasiyasında əhəmiyyətli rol oynayırlar. Hər bir klassik kadherin xarakterik toxuma paylanması malikdir. Differensiasiya zaman, hüceyrə-səth kadherinlərinin miqdarının və tipinin dəyişməsi hüceyrə-hüceyrə adgeziyasının, hüceyrə miqrasiyasının və hüceyrə bölünməsinin çox aspektinə təsir edir. Məsələn, morfogenin gedişi zamanı toxumaların normal təşkili tez-tez hallarda hərəkətsiz epitel hüceyrələrinin *mezenxima hüceyrələri* adlanan hərəkətli hüceyrələrə çevrilməsi ilə müşayət olunur, bu isə başqa toxumaların əmələ gəlməsi üçün sələf rolunu oynayır. Bu cür *epitelidən-mezenximaya keçid (EMT)* E-kadherinin ekspressiyasının azalması ilə sıx bağlıdır (Şəkil 20-15a, b). EMT həmçinin, epitel hüceyrələrinin bədən xassəli karsinoma hüceyrələrinə çevrilməsi kimi patologiya ilə əlaqəlidir. Məsələn, müəyyən süd vəzi axarlarının şişləri və irsi diffuz mədə xərçənginə (Şəkil 20-15c) xarakterik olaraq E-kadherin fəallığının itməsi daxildir. Çox yaxşı məlumdur ki, heyvanlarda hüceyrə-hüceyrə əlaqələri hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirir. Toxuma inkişafı gedişində, bölünən hüceyrələr yaxşı formalaşmış və sıx birləşmiş epitelini əmələ gətirdikdən sonra, onlarda zədələnmə baş verməzsə və ya EMT-dən keçid siqnalı almazsa, onlara artıq daha sonrakı hüceyrə bölünməsi lazım olmur. İndi aydın olmuşdur ki, epitel toxumalarında epitel hüceyrələrinin proliferasiyasını ingibirləşdirmək üçün istifadə olunan bir mexanizm hüceyrə proliferasiyasına nəzarət edən Hippo yolunun E-kadherin- və kateninlə-vasitələnən tənzimlənməsidir (bax Fəsil 19).

Adheren (yapışqan) qovşaqlarda kadherinlərlə həyata keçirilən möhkəm epitelial hüceyrə-hüceyrə adgeziyası epitelidə ikinci sinif hüceyrələrarası qovşaqların – bizim tezliklə müzakirə edəcəyimiz sıx qovşaqların yaranmasına imkan verir.




(c) EC1-EC2 trans qarşılıqlı təsir




ŞƏKİL 20-14 Tipik adherent qovşaqlarda klassik kadherinlərin hüceyrələrarası və hüceyrədaxili qarşılıqlı əlaqəsi. (a) E-kadherinlərin ektoplazmatik kadherin domenləri [EC1-EC5, (b) hissəsindəki ovallara bax] bitişik hüceyrələrin adherent qovşaqlarında homofil *cis* və *trans* qarşılıqlı əlaqələr vasitəsilə klaster əmələ gətirirlər. Kadherinlərin hüceyrəxarici domenlərinin Ca^{2+} -dan asılı olan uzanmış və burulmuş (əyilmiş) quruluşu stabil *cis* və *trans* qarşılıqlı əlaqə üçün lazımdır. Fərdi *cis* və *trans* qarşılıqlı əlaqələri təmsil edən saytlar qırıq dairələrlə işarələnmişdir. (b) EC1-EC2 *cis* qarşılıqlı əlaqə: Bir kadherinin EC1 domeninin eyni hüceyrədəki bitişik kadherininin EC2 domeni ilə birləşməsi *cis* qarşılıqlı əlaqə üçün vacibdir. (b) və (c) panellərində hər bir hüceyrəxarici kadherin domeninin quruluşu rentgen-kristalloqrafiya yolu ilə alınmış lent diaqramından istifadə etməklə təsvir edilir və oval işarələnmişdir. (c) EC1-RC1 *trans* qarşılıqlı əlaqə: bir kadherininin EC1 domeninin bitişik qonşu hüceyrədəki başqa bir kadherininin EC1 domeni ilə *trans* birləşməsinin 90° bucaq altında fırlanmış iki görünüşü. *Trans* qarşılıqlı əlaqədə olan kadherinlərin yalnız EC1 domeni və EC2 domenlərin bir hissəsi göstərilir. Sol görünüş oval formalı EC1 domenlərin əsas oxunun nisbi orientasiyasını göstərir. Sağ

görünüş iki EC1 domenlərin hər birinin [sarı (hüceyrə 1) və mavi (hüceyrə 2) rənglərdə göstərilir] N-sonluğunda polipeptidin kiçik seqmentinin necə sallandığını və birləşmə tərəfdaşındakı ekvivalent seqmenti əvəz etdiyini göstərir (zəncir dəyişdirmə, qırıq xətlərlə oval). Zəncirin dəyişilməsi seqmentlərin hər birində triptofan qalığının yan zəncirini yaxındakı bitişik EC1 domenin birləşmə cibinə yerləşdirir, bu qarşılıqlı əlaqə tədricən *trans* birləşməni əhəmiyyətli dərəcədə stabilləşdirir. (d) E-kadherinlərin sitozol domenləri birbaşa və ya dolaylı yolla çoxsaylı adapter zülallara (məsələn, β -katheninə) birləşir, bunların da hər ikisi sitoskeletonin aktin filamentlərinin (F-aktin) qovşağına bağlanır və hüceyrədaxili siqnal yolunda iştirak edirlər. Adherent qovşaqlarla fərqli adapterlərin qarşılıqlı əlaqə qura biləcəyini vurğulamaq üçün iki hüceyrədə adapter zülallarının bir qədər fərqli dəstləri təsvir edilmişdir. Bu adapterlərdən ZO-1 kimi bəziləri bir sıra müxtəlif CAM-larla əlaqəyə girə bilər. Bax V. Vasioukhin and E. Fuchs, 2001, *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:76 və J. Brasch, O. J. Harrison, B. Honig, and L. Shapiro, 2012, *Trends Cell Biol.* **22**:299. [Verilənlər O. J. Harrison et al., 2011, *Structure* **19**:244–256, PDB ID 3q2w-dən.]

 Rinoviruslarla (RV) yoluxma ümumi soyuqdəymənin ən çox rast gəlinən formasıdır və C rinovirusla (RV-C) yoluxma daha güclü xəstəliyə astma şiddətinin artmasına səbəb ola bilər. Hüceyrəyə daxil olmaq və replikasiya etmək üçün RV-C hüceyrə səth reseptorlarına birləşməlidir. Son zamanların tədqiqatlarında kadherin-ailəsinin CDHR3 adlandırılan və insanın hava (nəfəs) yollarında yüksək dərəcədə ekspressiya olunan RV-C üçün reseptoru kimi nümayəndəsi identifikasiya edildi. RV-C kimi patogenlər çox hallarda birgə fəaliyyət göstərən zülalları (co-opt proteins) yaradırlar ki, bu da onların hədəf (sahib) toxumasında normal fəaliyyət göstərir. Genetik tədqiqatlar göstərdi ki, insanlarda CDHR3-ün EC5 domenində sisteini tirozinə (C→Y) çevirən təbii baş verən mutasiya xırıldamaq kimi xəstəliklə əlaqəlidir və astmalı uşaq xəstəsinin xəstəxanaya yatırılmasına səbəb olur. Kultura olunan hüceyrələrdə C→Y mutasiyası CDHR3-ün hüceyrə-səth ekspressiyasını və RV-C-nin birləşməsinə və replikasiyasını gücləndirir. RV-C/kadherin (CDHR3) qarşılıqlı əlaqəsini qıran müalicə vasitəsi RV-C ilə əmələ gələn nəfəs yolu xəstəliyinə mane olur və ya onu müalicə edir. ■

Desmosomal Kadherinlər Desmosomlar (Şəkil 20-16) iki ixtisaslaşmış kadherinlərə malikdirlər: *desmogelin* və *desmokollin*, bunların sitoplazmatik domenləri klassik kadherinlərin sitoplazmatik domenlərindən fərqlidir. Desmosomla kadherinlərin sitoplazmatik domenləri plakoqləbin (quruluşuna görə β -katheninə oxşardır) kimi adaptor zülallara birləşirlər, bunlar isə desmoplakin adlanan plakin ailəsinə aid olan adaptorlara birləşirlər. Bu adaptorlar desmosomlara xarakterik olan qalın sitoplazmatik lövhələri (plaques) əmələ gətirirlər. Desmoplakinlər aralıq filamentlərə lövhənin (plaque) birbaşa birləşməsinə həyata keçirirlər.

 Desmogellin kadherini qeyri adı, amma *pemfigus vulgaris* adlı dəri xəstəliyini ortaya çıxaran bir avtoimmun xəstəliyinin tədqiqatları ilə identifikasiya olunmuşdur. Avtoimmun pozuntusu olan xəstə özünə-hücum edən və ya “avto” və orqanizmin normal zülallarına birləşən anticismləri sintez edir.

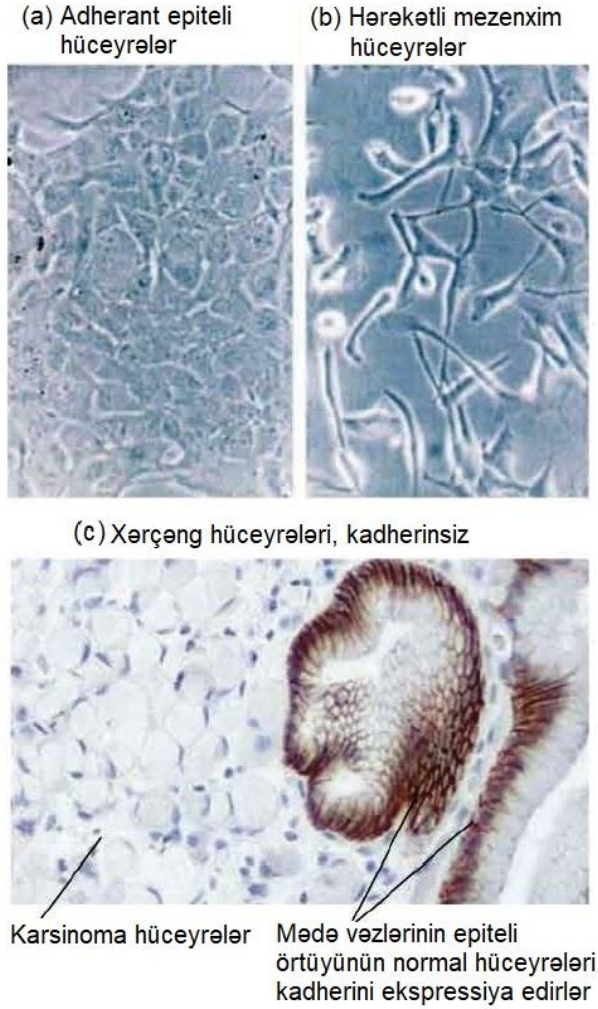
*Pemfigus vulgaris*də avto-anticismlər epitel hüceyrələri arasındakı adgeziyanı qırır dəri sudurlarının (uçuqlarının) və selikli membranın yaranmasına səbəb olur. Göstərilmişdir ki, xəstələrdə dominantlıq edən avto-anticismlər desmoqləinlərə spesifik olur, həqiqətəndə, belə anticismlərin normal dəriyə əlavə edilməsi dəridə sudurların (uçuqların) yaranmasına hüceyrə adgeziyasının qırılmasına səbəb olur. ■

İnteqrinlər Epitelial-Hüceyrə Desmosomları da Daxil Olmaqla Hüceyrə-ECM Adgeziyasını Həyata Keçirirlər

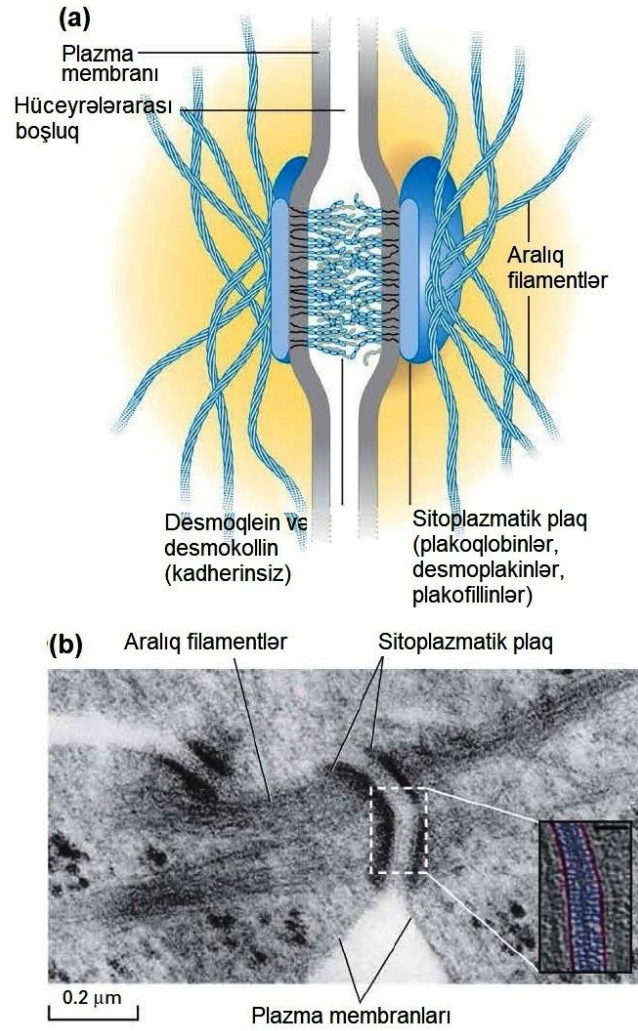
Bərk toxumalarda və orqanlarda stabil birləşmə qabliyyətinə malik olmaq üçün sadə sütunşəkilli epitel təbəqələri öz bazal səthləri ilə altıda yerləşən ECM-ə (bazal laminaya) möhkəm yapışmalıdırlar. Bu yapışma inteqrinlər adlanan adgeziya reseptorları vasitəsilə baş verir (bax Şəkil 20-2), bunlar da *hemidesmosomlar* adlanan qoşulma qovşaqları daxilində və xaricində yerləşirlər (bax Şəkil 20-11a). Hemidesmosomlar sitoplazmatik adaptor zülallarla (məsələn, plakinlər) vəbasitəsilə keratin-əsaslı aralıq filamentlərlə əlaqələnən inteqral membran zülallarından ibarətdirlər. Epiteli hemidesmosomlarında əsas ECM adgeziya reseptoru inteqrin $\alpha\beta4$ -dür.

İnteqrinlər çoxsaylı hüceyrə-matrisa və hüceyrə-hüceyrə qarşılıqlı əlaqələrini yerinə yetirməklə geniş müxtəliflikdə epitel ve qeyri epitel hüceyrələrində adgeziya reseptorları və CAM-lar kimi fəaliyyət göstərirlər (Cədvəl 20-4). Onurğalılarda $\alpha\beta$ heterodimer kombinasiyasında 18 tip α subvahiddən və 8 tip β subvahidlərdən təşkil olunmuş ən azı 24 inteqrinin mövcud olması məlumdur. Bir tip β zəncir istənilən bir neçə tip α zəncirlə əlaqə yarada bilib müxtəlif liqandlarla birləşən fərqli inteqrinləri əmələ gətirir. *Kombinasiyalı müxtəliflik* adlanan bu fenomen müqayisəli dərəcədə az komponentlərə böyük miqdarda müxtəlif funksiyaları yerinə yetirməyə imkan verir. Hərçənd ki, əksər hüceyrələr, eyni və ya müxtəlif liqandlara birləşən bir sıra fərqli inteqrinləri ekspressiya edirlər, çox inteqrinlər böyük üstünlüklə müəyyən hüceyrə tiplərində ekspressiya olunurlar. Yalnız çoxsaylı inteqrinlər deyil birdən artıq liqandla birləşən, bir sıra fərqli inteqrinlərin istənilən biri ilə birləşə bilən liqandlar da mövcuddur.

Görünür bütün inteqrinlər iki əsas əcdad subqrupdan törəmişlər: Agr-Gly-Asp ardıcılığında ibarət olan tripeptidə malik olan zülallara birləşənlər, bunlara adətən *RGD motif* deyilir (fibronektin belə zülallardan biridir), və lamininlərə birləşənlər. Bir sıra inteqrinin α subvahidləri fərqli insersiya olunmuş (daxil edilmiş) domenə malikdirlər, *I-domen* müəyyən inteqrinlərin ECM-də müxtəlif kollagenlərə birləşməsinə həyata



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-15 Epitelidən-mezenximaya keçid zamanı və xərçəngin inkişafı zamanı E-kadherin fəallığı itir. E-kadherinlərin ekspressiyasını supressiya edən Snail adlanan zülal epitelidən-mezenximaya keçid (EMT) ilə əlaqəlidir. (a) Kulturada bitmiş normal epitelial MDCK hüceyrələri. (c) İrsi yayılmış mədə xərçəngi xəstələrinin toxumalarının nazik kəsiyində E-kadherinlərin immunohistokimyəvi rənglənmə ilə aşkar edilmiş (tund qonur) paylanması. E-kadherinlər normal mədəaltı vəzin epitel hüceyrələrinin hüceyrələrarası sərhədlərində görünür (*sagda*); invaziv karsinoma hüceyrələrinin sərhədlərində E-kadherin görünür. [(a) və (b) panelləri Elsevierin razılığı ilə Martinez Arias, M., "Epithelial mesenchymal interactions in cancer and development," *Cell*, 2001, **105**:4, 425–431-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır; (c) paneli John Wiley & Sons, Inc. razılığı ilə Carneiro, F., et al., "Model of the early development of diffuse gastric cancer in E-cadherin mutation carriers and its implications for patient screening," *J. Pathol.*, 2004, **203**(2):681–7-dən yenidən çap olunur.]



ŞƏKİL 20-16 Desmosomlar. (a) Aralıq filamentlərlə yandan birləşmiş epitel hüceyrələri arasında desmosom modeli. Desmosomlarda əsas CAM-lar desmosomal kadherinlər desmoqlein və desmokollindirlər. Bu kadherinlərin sitoplazmatik domenlərinə birləşmiş adaptor zülallar plakoglobin, desmoplakinlər və plakofillinlərdirlər. Bax B.M. Gumbiner, 1993, *Neuron* **11**:551; D.Rş Garrod, 1993, *Curr. Opin. Cell Biol.* **5**:30. (b) İnsanın kultura olunan differensiasiya etmiş iki keratinositlərinə malik olan desmosomların nazik kəsiyinin elektron mikrofotusu. Aralıq filamentlərin dəstələri, yapışmış qonşu plazma membranının daxili səthinə uzanan iki tünd boyanmış sitoplazmik lövhələrdən (plaques) şüa kimi yayılır. *İnsert*: İnsanın iki epidermal hüceyrəsini (plazma membranlar, çəhrayı; desmosomal kadherinlər, mavi; miqyas 35 nm) bağlayan desmosomun elektron mikroskopik tomoqrafiyası. [(b) hissəsi Nature-nin razılığı ilə Al-Amoudi, A., et al., "The molecular architecture of cadherins in native epidermal desmosomes," *Nature*, 2007, **450**:832–837-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]

keçirə bilirlər. I-domeni olan bəzi inteqrinlər xüsusən leykositlərdə (ağ qan hüceyrələrində) və ağ qan və qırmızı qan sələf (hematopoietik) hüceyrələrində ekspressiya olunurlar. I-domenlər başqa hüceyrələrdəki CAM-ları, o cümlədən Ig superailəsini də (məsələn, ICAM-lər, VCAM-lər) tanıyırlar və beləliklə hüceyrə-hüceyrə adgeziyasında iştirak edirlər.

CƏDVƏL 20-4 Onurğalılarda seçilmiş inteqrinləri

Subvahid tərkibi	Əsas hüceyrə paylanması	Liqandları
$\alpha 1\beta 1$	Çox tiplər	Çox kollagenlər
$\alpha 2\beta 1$	Çox tiplər	Çox kollagenlər, həmçinin lamininlər
$\alpha 3\beta 1$	Çox tiplər	Lamininlər
$\alpha 4\beta 1$	Hematopoietik hüceyrələr	Fibronektin; VCAM-1
$\alpha 5\beta 1$	Fibroblastlar	Fibronektin
$\alpha 6\beta 1$	Çox tiplər	Lamininlər
$\alpha L\beta 2$	T limfositlər	ICAM-1; ICAM-2
$\alpha M\beta 2$	Monositlər	Zərdab zülalları (məsələn, C3b, fibrinogen, faktor X), ICAM-1
$\alpha IIb\beta 3$	Trombositlər	Zərdab zülalları (məsələn, fibrinogen, von Willebrand faktor, vitronektin), fibronektin
$\alpha 6\beta 4$	Epiteli hüceyrələr	Laminin

Qeyd: Inteqrinlər ümumi β subvahidə malik olan subailələrdə qruplaşır. Qırmızı rəngdə göstərilən liqandlar CAM-lar, qalanlar ECM və ya zərdab zülallarıdır. Bəzi subvahidlərin fərqli sitozol domenləri olan çoxsaylı splay olunmuş izoformaları vardır.

Mənbə: Verilənlər R.O. Hynes, 1992, Cell 69:11-dən

Inteqrinlər adətən öz liqandlarına aşağı affinitet nümayiş etdirirlər, dissosiasiya konstantı (K_d) 10^{-6} ilə 10^{-7} mol/L arasında olur. Amma, yüzlərlə və ya minlərlə çoxsaylı inteqrin molekullarının hüceyrədə və ya ECM-də öz liqandlarına birləşməsi nəticəsində yaranan zəif əlaqələr hüceyrəyə imkan verir ki, liqand-ekspresiya edən hədəfə möhkəm birləşsin.

Inteqrin molekullarının α və β subvahidlərinin hissələri əsas hüceyrəxarici liqand birləşdirmə mərkəzlərinə kömək edir (bax Şəkil 20-2). Inteqrinlərə liqandın birləşməsi eyni zamanda ikivalentli kationların da birləşməsinə tələb edir. Başqa adgeziya molekullarında olduğu kimi, inteqrinlərin sitozol rayonu adaptor zülallarla əlaqəyə girir, o da öz növbəsində sitoskeletə və hüceyrədaxili siqnal molekullarına birləşir (bax Şəkil 20-8). Əksər inteqrinlər, o cümlədən ECM molekulu laminin vasitəsi ilə epitel hüceyrələrinin bazal səthini bazal laminaya birləşdirən iki inteqrin də daxil olmaqla adaptor zülallar vasitəsi ilə aktin sitoskeletə bağlanırlar. Amma, bəzi inteqrinlər aralıq filamentlərlə əlaqəyə girirlər. Hemidesmosomlarda, digər inteqrin β subvahidlərin sitozol domenlərindən çox-çox uzun olan $\alpha 6\beta 4$ inteqrinə $\beta 4$ zəncirin sitozol domeni xüsusi adaptor zülallara birləşir, onlar isə öz növbəsində keratin-əsaslı aralıq filamentlərlə əlaqəyə girirlər (bax Cədvəl 20-4). Başqa inteqrinlər (məsələn, $\alpha 3\beta 1$) epitelial bazal laminanı aktin sitoskeletlə əlaqələndirən fokal kontaktlarda adgeziya reseptorlarıdır (bax Şəkil 20-1).

Biz görəyik ki, inteqrinlərin və onların ECM liqandlarının müxtəlifliyi inteqrinlərin iltihaba qarşı cavab və morfogeneza zamanı hüceyrənin öz düzgün yerləşmə nahiyyəsinə miqrasiyası kimi geniş miqyaslı bioloji proseslərdə iştirak etmələrinə imkan verir. Inteqrinlərin geniş müxtəliflikdə olan proseslərdəki əhəmiyyəti, müxtəlif inteqrin subvahidlərinin genində mutasiyalar etməklə yaradılmış nokaut siçanlarda nümayiş etdirilən qüsurlarla işıqlandırılır. Bu qüsurlara inkişafdakı anormallıq, qan damarlarının formalaşması, leykositlərin funksiyası, iltihablaşma, sümüklərin remodelinqi və qanın laxtalanması daxildir. Fərqlərinə baxmayaraq, bütün bu proseslər sitoskeletlə başqa hüceyrələrdəki ECM və ya CAM-lar arasındakı inteqrin-əsaslı qarşılıqlı əlaqədən asılıdır.

Inteqrinlər onların adgeziya funksiyasından başqa, xaricdən-daxilə və daxildən-xaricə siqnalın həyata keçirilməsində də iştirak edirlər (bax Şəkil 20-8). Inteqrinlərin

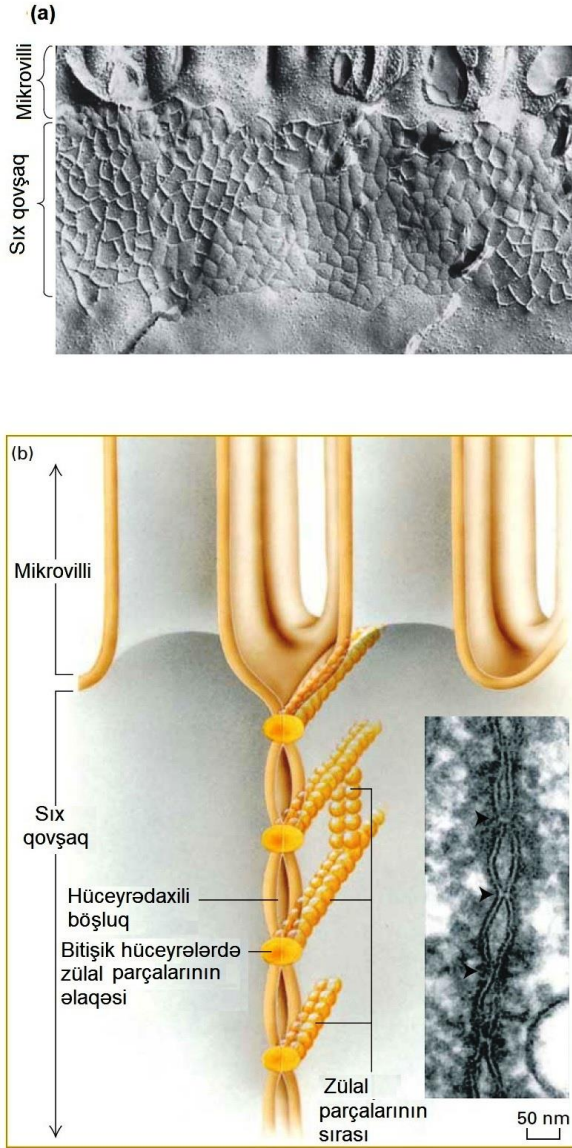
öz hüceyrəxarici liqandları ilə bağlanması inteqrinin sitozol rayonuna birləşmiş, sitoskeletə və hüceyrədaxili siqnal yollarına (xaricdən daxilə) təsir edən adaptor zülalları vasitəsi ilə ola bilər. Əksinə, hüceyrədaxili siqnal yolu inteqrinlərin quruluşunu dəyişə bilər və uyğun olaraq onların öz hüceyrəxarici liqandlarına yapışmaq və hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-ECM qarşılıqlı əlaqələrini (daxildən-xaricə siqnal) yaratmaq qabiliyyətini dəyişə bilər. Inteqrinlə-vasitələnən siqnal yolları, hüceyrənin sağ qalması, hüceyrə proliferasiyası, proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü (bax Fəsil 21) kimi geniş müxtəliflikdə proseslərə təsir edir.

Sıx Qovşaqlar Orqanizmin Boşluqlarını Bağlayır və Membran Komponentlərinin Diffuziyasını Məhdudlaşdırır

Polyarlaşmış epitel hüceyrələrinin selektiv transportun baryeri və mediatorları kimi fəaliyyət göstərməsi üçün onların bazolateral və apikal membranlarını əhatə edən hüceyrəxarici maye ayrıca saxlanılmalıdır. Bitişik (qonşu) epitel hüceyrələri arasında sıx qovşaqlar apikal səthdən aşağıda, hüceyrəni əhatə edən bəndlərdə yerləşir (Şəkil 20-17; həmçinin bax, Şəkil 20-11). Bu xüsusiləşmiş qovşaqlar, bağırsaqların lümenləri kimi bədən boşluqlarını qapayan baryer əmələ gətirirlər və qanı mərkəzi sinir sistemində onurğa beyini mayesindən ayırırlar (başqa sözlə qan-beyin baryeri).

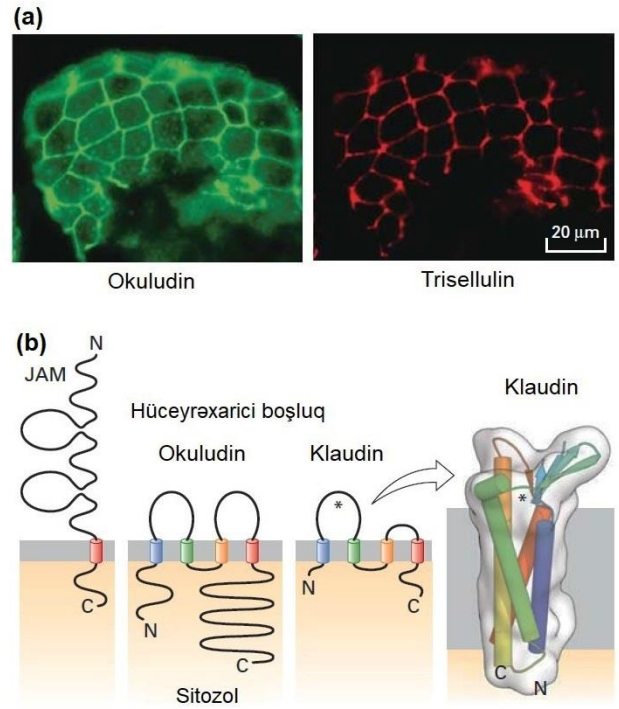
Sıx qovşaqlar makromolekulların diffuziya etməsinə və müxtəlif dərəcədə xırda suda həllolan molekulların epitel boyunca hüceyrələr arasındakı boşluqla yayılmasına mane olurlar. Onlar həmçinin, plazmatik membranın apikal və bazolateral rayonları arasında membran zülallarının qlikolipidlərin diffuziyasının qarşısını almaqla epitel hüceyrələrinin polyarlığının yaranması və saxlanmasına kömək edir və bu rayonların fərqli membran komponentlərinə malik olmalarını təmin edirlər. Həqiqətən də plazmatik membranın eqzoplazmatik qatının apikal və bazolateral rayonlarının tərkibi (bax Fəsil 7) fərqlidir. Əslində bütün hüceyrə səthinin qlikolipidləri, qlikozilfosfatidilinozitol (GPI) lövbərlə membrana bağlanan bütün zülallar kimi, apikal membranın eqzoplazmatik səthində məhduddur (bax Şəkil 7-19). Əksinə,

epitel hüceyrələrində plazmatik membranın sitozol qatının apikal və bazolateral rayonları vahid membran tərkibinə malikdirlər, onların lipidləri və zülalları lateral olaraq membranın bir rayonundan digərinə diffuziya edə bilirlər.



ŞƏKİL 20-17 Sıx qovşaqlar. (a) İki bağırsağ epitel hüceyrəsi arasında sıx qovşaq zonasının dondurulub-sındırılma preparatı. Sındırılma müstəvisi iki bitişik (qonşu) hüceyrədən birinin plazma membranından keçir (həmçinin Şəkil 20-11 bax). Mikrovillərin altında dik çıxmış arı pəyəinə-bənzər şəbəkə sıx qovşaq zonasını əmələ gətirir. (b) Sxematik cizgi bitişik hüceyrələrdə sıx qovşaqların zülal hissəciklərinin sıraları əlaqələri ilə necə formalaşsa bildiyini göstərir. Sıx qovşaqların ultranazik kəşiyinin görünüşünün daxiləki mikrofotosunda qonşu bitişik hüceyrələr zülalların qarşılıqlı təsirdə olduqları yerlərdə çox sıx əlaqədə görünür. Bax L. A. Staehelin and B. E. Hull, 1978, *Sci. Am.* **238**:140, və D. Goodenough, 1999, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:319. [(a) hissəsi nəzakətlə L. Andrew Staehelin tərəfindən. (b) hissəsindəki fotoqrafiya Nature-nin razılığı ilə Tsukita, S. et al., "Multifunctional strands in tight junctions," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, **2**(4):285–293- dan yenidən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc.-dən alınmışdır.]

Sıx qovşaqlar plazmatik membran zülallarının nazik bəndlərindən təşkil olunub hüceyrəni tamamilə əhatə edir və bitişik hüceyrələrdəki oxşar nazik bəndlərlə əlaqədə olurlar. Bitişik hüceyrələrdə sıx qovşaqların nazik kəsiklərinə elektron mikroskopu ilə baxdıqda bitişik hüceyrələrin lateral səthi bir-birinə fasilələrlə (intervalla) toxunmuş vəziyyətdə görünür və hətta apikal səthin altındakı zonada qovuşurlar (bax Şəkil 20-11b). Dondurulub kəsilmiş preparatlarda sıx qovşaqlar plazma membranında çıxıntıların və şırımların bir-birini qapayan şəbəkəsi kimi görünür (Şəkil 20-17a). Yüksək dərəcədə böyütmə aşkar edir ki, zülal zərrəciklərin sıraları sıx qovşaqların dondurulmuş kəsiklərinin mikrofotosunda görünən 3-4 nm diametrdə olan dik (silsilə) çıxıntıları əmələ gətirirlər. Şəkil 20-17b-də göstərilmiş modeldə sıx qovşaqlar bu zərrəciklərin ikiqat sırası ilə əmələ gəlir, hər bir hüceyrə tərəfindən bir sıra verilir. Epitelinin tripsin proteaza ilə işlənilməsi sıx qovşaqları dağıdır ki, bu da qovşaqların əmələ gəlməsində zülalların çox vacib komponent olması fikrini dəstəkləyir.



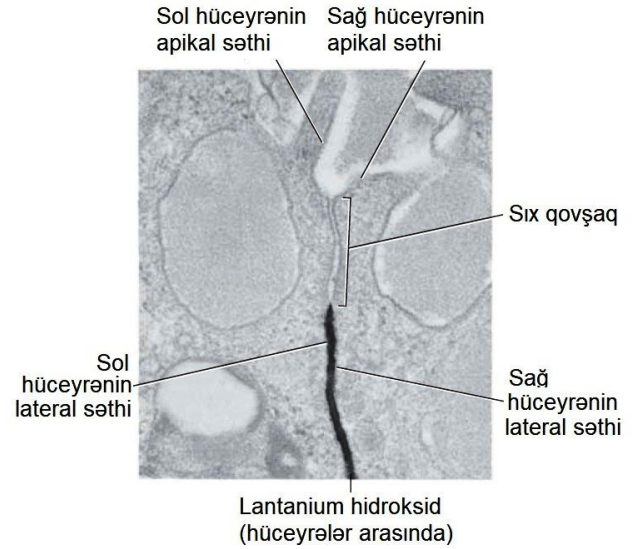
ŞƏKİL 20-18 sıx qovşaqları əmələ gətirən zülallar. (a) Şiçanın bağırsağ epitelisində okcludinin (yaşıl) və trisellulinin (qırmızı) immunofluoresensiya lokalizasiyası. Qeyd edək ki, trisellulin daha böyük üstünlüklə üçhüceyrəli qovşaqlarda qatılmış şəkildə toplanırlar. (b) Qovşaq adgeziya molekulu (JAM) tək bir transmembran domenə və iki immunoqlobulin spirala malikdir. Klaudinların ulduzla göstərilən böyük hüceyrəxarici ilgəyi, parasellular ion selektivliyinə malikdir. Klaudin-15-in kationların parasellular daşınmasına malik olan transmembran spiralları dörd spirdən ibarət olan dəsti əmələ gətirir, hüceyrəxarici ilgək isə beş-səncirli β təbəqələrə (bu görüntüdəndə görüldüyü kimi) malikdir. Bu β təbəqə guman olunur ki, ionların keçdiyi (ulduz yaxınlığında) məsələləri müəyyənləşdirməyə kömək edir. Bax S. Tsukita et al., 2001, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**:285. [(a) hissəsi 2005, Ikenouchi J., et al., *J. Cell Biol.* **171**(6):939–45. doi: 10.1083/jcb.200510043; Şəkil 3A. (b) hissəsi klaudin-15 quruluşu H. Suzuki et al., 2014, *Science* **344**:304–307, PDB ID 4p79-dan.]

Sıx qovşaqlarda tapılmış iki əsas inteqral membran zülalı *okkludin* və *klaudin*dir (Latin sözü *claudere* “çox yaxın” deməkdir). Tədqiqatçılar, sıx qovşaqların yaranmasında çox vacib olduğu guman olunan okkludin genini fəalsızlaşdıran mutasiyalı siçanı yaradanda çox təccüblü oldu ki, siçan yenə də morfoloji cəhətdən fərqli olan sıx qovşağa malik oldu. Daha sonra aparılan analizlər klaudini aşkar etdi. Bu zülalların hər biri membrana sarınan dörd α spirala malikdir (Şəkil 20-18). Məməlilərin klaudin gen ailəsi 27 homoloji zülalı kodlaşdırır, bunlar da fərqli toxumaspesifik formada ekspressiya olunurlar. Həmçinin aşkar edilmişdir ki, *qovşaq adgeziya molekuluları* (JAM) da homofilik adgeziyada və sıx qovşaqların digər funksiyalarında iştirak edirlər. JAM-lar və başqa qovşaq zülalı, *koksakievirus* və *adenovirus reseptoru* (CAR) tək bir transmembran α spirala malikdir və CAM-ların Ig superailəni daxildir. Bir hüceyrənin plazma membranında okkludin, klaudin və JAM-ların sıralarının hüceyrəxarici domeni, görünür ki, digər hüceyrədəki eyni zülalların oxşar sıralarının domenləri ilə sıx əlaqələri yaradaraq sıx yapışmanı əmələ gətirirlər. Ca^{2+} -dan asılı olan kadherinlə-vasitələnən adgeziya da sıx qovşaqların əmələ gəlməsində, stabilliyində və funksiyasında çox əhəmiyyətli rol oynayır.

Bir-biri ilə sıx qovşaqlarla birləşmiş üç hüceyrənin kəsişməsində (bax Şəkil 20-13 və Şəkil 20-18a), sıx qovşağa iki əlavə transmembran zülal qoşulmuşdur: okkludində və klaudinlərdə olduğu kimi dörd membrana-sarınan spirala malik olan *tricellulin* və tək bir transmembran spirala və hüceyrələrin qarşılıqlı təsirdə olduğu nahiyədə onların toplanması üçün tələb olunan hüceyrəxarici immunoqlobulin domenə malik olan *anqulinlər*.

Adheren qovşaqlarda və desmosomlarda olduğu kimi, sitozol adapter zülalları və onların sitoskeletonla əlaqələri sıx qovşaqların kritik komponentləridir. Məsələn, okkludinin uzun C-sonluq seqmenti bəzi böyük çoxdomenli adaptor zülallarında PDZ domeninə birləşir. PDZ domenlər təxminən 80-90 amin turşusu qalıqı uzunluqdadır və müxtəlif sitozol zülallarında tapılmışdır, onlar başqa sitozol zülallara və ya xüsusi-plazma membranı zülallarının C-sonluquna birləşməyə vasitəlik edirlər. PDZ domeninə malik olan sitozol zülalları çox zaman ikidən artıq belə domenə malik olurlar. İnsan genomunda yüzdən artıq zülalda 250 PDZ domeni vardır. Çoxsaylı PDZ domenləri olan zülallar zülalların çox böyük funksional komplekslərdə toplandığı skafoldlar kimi fəaliyyət göstərə bilirlər. Bir sıra çoxsaylı-PDZ-saxlayan-domenlərə malik olan adapter zülalları, okkludin, klaudin və digər adaptor və siqnal zülalları ilə qarşılıqlı əlaqədə olmaqla yanaşı, həm də aktin liflərlə assosiasiyaları həyata keçirən ZO-1, ZO-2 və ZO-3 kimi *Zonula okkluden* (ZO) zülalları da daxil olmaqla sıx qovşaqlarla assosiasiya edirlər. Bu qarşılıqlı əlaqələr sıx qovşaqların bütövlüyünü saxlamaq üçün vacib olan okkludin və klaudin molekuluları arasındakı əlaqəni stabilləşdirmək üçün meydana gəlir. ZO zülalları adherent qovşaqlar (bax Şəkil 20-14) və boşluqlu qovşaqlar üçün də adaptor kimi də fəaliyyət göstərə bilirlər.

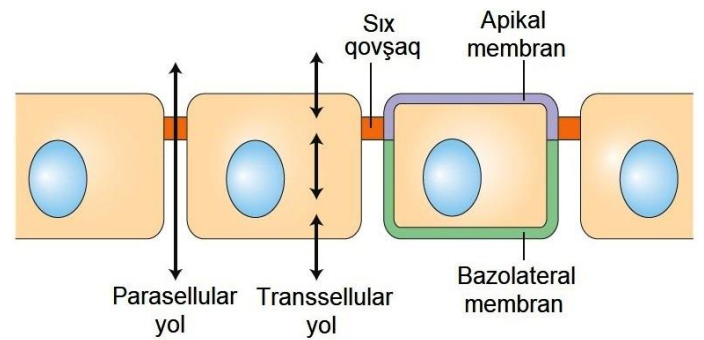
Sadə bir eksperimentdə sıx qovşaqların suda-həllolan maddələri keçirməzliyi nümayiş etdirildi. Bu eksperimentdə lantanium hidroksid (yüksək molekulyar çəkili elektron-sıx kolloid) təcrübə heyvanlarında mədəaltı vəzin qan damarlarına yeridildi;



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-19 Sıx qovşaqlar böyük molekulaların epitel hüceyrələr arasındakı hüceyrəxarici boşluqdan kəsb keçməsinə mane olur. Mədəaltı vəzdə sıx qovşaqlar epitelinin bazo-lateral tərəfində göstərilmiş, lantanium hidroksid kimi suda-həllolan böyük molekulalar (tünd boyanmış) üçün keçirici deyildir. [©1972, Friend, D. S. and Gilula, N. B., *J. Cell Biol.* 53(3):758–776.]

bir neçə dəqiqədən sonra mədəaltı vəzin epitelinin asinar hüceyrələri fiksasiya olunaraq mikroskopiya üçün hazırlandı. Şəkil 20-19-da göstəriləni kimi, lantanium hidroksid qandan qonşu bitişik asinar hüceyrələrin lateral səthlərini ayırın boşluğa diffuziya olunur, amma sıx qovşaqlardan keçə bilmir.

Sıx qovşaqların nəticəsi olaraq çox qida maddələri bağırsaqlar epitelini boyunca hüceyrələr arasında hərəkət edə bilmir, əvəzində onların daşınması əsasən xüsusi membrana-birləşmiş nəqliyyat zülalları vasitəsi ilə *transsellular yolla* həyata keçir (bax Şəkil 20-20; həmçinin bax Şəkil 11-30).



ŞƏKİL 20-20 Transepitelial daşınmanın transsellular və parasellular yolları. Transsellular daşınma molekulaların bir tərəfdən hüceyrəyə daxil olmasını və müvafiq olaraq əks tərəfdən Fəsil 11-də müzakirə olunan mexanizmlə hüceyrədən çıxmasını tələb edir. Parasellular daşınmada molekulalar, kiçik molekulalara keçiriciliyi qovşaq komponentlərinin tərkibindən və epitel hüceyrələrinin fizioloji vəziyyətindən asılı olan, sıx qovşaqların hissələri ilə hüceyrəxarici hərəkət edirlər. Bax S. Tsukita et al., 2001, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2:285.

Amma, sıx qovşaqların təmin etdiyi diffuziyaya baryeri (maneəsi) mütləq deyildir, çünki onlar ölçü- və ion-selpektiv keçiriciliyi nümayiş etdirirlər. Beləliklə müəyyən kiçik molekullar və ionlar *parasellular yol* vasitəsi ilə epitelinin bir tərəfindən digər tərəfinə keçə bilirlər (bax Şəkil 20-20). Selektiv keçiriciliyin əhəmiyyəti onu təşkil edən molekulların təkamüldə qorunub saxlanması ilə vurğulanır və onun dağılması zamanı xəstəliklər əmələ gəlir. Məsələn, əgər epitelinin hər iki tərəfində düzgün maye tarazlığının saxlanması bilməməsinə görə, selektiv keçiricilik dağılsa siçan embrionu düzgün inkişaf edə bilmir. Buna oxşar olaraq, böyrəklərin bədən mayesinin normal tənzimlənməsi və tullantıların çıxarılmasını həyata keçirmək üçün ion qradiyentini yaratması düzgün sıx qovşaq keçiriciliyindən asılıdır. Müxtəlif sıx qovşaqlarda yerləşmiş müxtəlif tipli klavdin molekullarının dəyişən xassələrinin ən azı bir hissəsinə malik olaraq sıx qovşaqların ionlara, kiçik molekullara və suya olan keçiriciliyi müxtəlif epitel toxumaları arasında güclü şəkildə fərqlənir. Guman olunur ki, klavdinlərdə böyük hüceyrədaxili ilgək (bax Şəkil 20-18) xüsusi klavdin izomerləri tərəfindən sıx qovşaqlarda yaranan selektiv keçiriciliyin müəyyən edilməsində əsas rolu oynayır.

Sıx qovşaqların keçiriciliyi hüceyrədaxili yollar vasitəsi ilə, xüsusən də G zülal və cAMP-ile cütləşən yollarla (bax Fəsil 15) dəyişilə bilər. Sıx qovşaqların keçiriciliyinin tənzimlənməsi çox zaman ion axınının (transepteli müqaviməti adlanan elektrik müqaviməti) ölçülməsi və ya radioaktiv və ya fluoressent molekulların MDCK birqatlısından keçərək və ya digər epitel hüceyrələrini kəşib keçərək hərəkət etməsi ilə tədqiq olunur.



Parasellular daşınmanın əhəmiyyəti bir sıra insan xəstəliklərində aydın görünür. İrsi hipomaqnezemiya xəstəliyində *klavdin 16* genindəki qüsurlu böyrəklərdə maqneziumun normal parasellular axınına mane olur. Bu qüsurun nəticəsində qanda maqneziumun səviyyəsi anormal dərəcədə aşağı olur, nəticədə kanvulsiya (qıcolma) baş verir. Bundan başqa, *klavdin 14* genində mutasiya, görünür daxili qulaq ilbizinin kirpikli epitel hüceyrələri ətrafında nəqliyyat dəyişməklə irsi karlığa səbəb olur.

Bəzi patogenlər sıx qovşaqlardakı molekulları istismar etmək üçün törəmişlər. Bəziləri hüceyrəyə yapışaraq onu yoluxdurmaq üçün qovşaq zülallarını “ko-reseptor” kimi istifadə edirlər (məsələn, hepatit C virusu qaraciyər hüceyrəsinə daxil olmaq üçün klavdin-1 və okkludini iki digər ko-reseptorla birlikdə istifadə edir). Başqaları sıx-qovşaq baryerlərini dağıdır və parasellular hərəkətlə epitelini keçir və yenə də digərləri baryer funksiyasını dəyişən toksinləri istehsal edir. Məsələn, xoleranın (vəbanın) yaranmasına səbəb olan bağırsağ bakteriyası *Vibrio cholerae* sıx qovşaqlarda bağırsağ epitelisinin keçiricilik baryerini dəyişir. *Vibrio cholerae* həmçinin okkludinin hüceyrəxarici domenlərini parçalayaraq sıx-qovşaqları qıran proteazaları buraxır. Başqa bakterial toksinlər bağırsağ epitel hüceyrələrində membran nəqliyyat zülallarının ion-nasos fəallığına təsir edə bilər. Sıx qovşaqların keçiriciliyində toksinlə-induksiya olunan dəyişiklik (parasellular daşınmanın artması) və zülalla həyata keçirilən nasosla ion-vurulması (transsellular daşınmanın artması) daxili bədən ionlarının və suyun kütləvi şəkildə mədə-bağırsağ traktına

itirilməsini kəskin artırır, o da öz növbəsində diarreya və güclü letal dehidrasiya ilə nəticələnir (bax Fəsil 11). ■

Connexinlərdən İbarət Olan Boş Qovşaqlar Bitişik Hüceyrələrin Sitozolu Arasında Kiçik Molekulların Birbaşa Keçməsinə İmkan Verir.

Toxumaların erkən dövrünün mikroqrafiyası (mikrofotolu) xarakterik hüceyrələrarası boşluqlar olan hüceyrə-hüceyrə əlaqələrinin olduğu saytları aşkar etdi (Şəkil 20-21a). Virtual olaraq, başqa hüceyrələrlə əlaqədə olan bütün heyvan hüceyrələrində tapılmış bu xüsusiyyət ilk morfoloqlara imkan verdi ki, bu rayonları boşluqlu qovşaqlar adlandırsınlar. Geriyə nəzər salsaq, bu qovşaqların ən əhəmiyyətli xüsusiyyəti onlarda olan 2-4 nm boşluğun olması deyildir, əksinə boşluqları kəşib keçən və bitişik hüceyrələrin sitozolları arasında əlaqəni yaradan məsamələri əmələ gətirən silindirik şəkili hissəciklərin yaxşı-müəyyən olunmuş dəstidir (Şəkil 20-21b, c). Sonra bu fəsilə görəyək ki, bitki hüceyrələri də bitişik hüceyrələrin sitozolları arasında əlaqə yaradan məsamələri yaradırlar, amma bu kanallar plazmodesmata adlanır və heyvan orqanizmində olan boşluqlu qovşaqların quruluşundan əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənirlər. Tunel nanoboruçuları, heyvan hüceyrələrinin sitoplazmalarını birləşdirən nisbətən son zamanlarda aşkar edilmiş membranla əlaqəli boruçulardır. Onlar boşluqlu qovşaqlardan daha çox plazmodesmatalara oxşar olduğundan plazmodesmatalara müzakirə olunacaq.

Çox heyvan toxumalarında, haradasa bir neçədən minə qədər boşluqlu qovşaq hissəcikləri (epitel hüceyrələrinin lateral səthləri boyu, bax Şəkil 20-11) topalar daxilində birlikdə klasterlər əmələ gətirirlər. Plazma membranı təmizlənməyə və sonra kiçik fraqmentlərə bölünəndə, əsasən boşluqlu qovşaqların topalarına malik olan bəzi hissəciklər yaranır. Bu fraqmentlər, onların nisbətən yüksək zülal tərkibinə görə, plazma membranı kütləsindən daha yüksək sıxlığa malikdirlər və onları tarazlıq sıxlıq-qradiyenti sentrifugalama yolu ilə təmizləmək olur (bax Şəkil 4-37). Bu preparata membrana perpendikulyar şəkildə baxdıqda boşluqlu qovşaqlar su ilə dolu kanalları örtən altıbucaqlı zərrəciklərin düzülüşü şəkildə görünür (bax Şəkil 20-21b).

Boşluq qovşaqların effektiv məsamə ölçüsü membran-ikiqatlısının keçirmədiyi müxtəlif ölçülü molekullara kovalent əbağlanmış fluoressent boyanı hüceyrəyə inyeksiya etməklə və boyanın qonşu hüceyrəyə keçə bilməsini fluoressent mikroskopla müşahidə etməklə ölçülə bilər. Məməlilərin hüceyrələri arasında boşluq qovşaqları 1.2 nm ölçüyə qədər diametrdə olan böyük molekulların keçməsinə imkan verir. Həşaratlarda, bu qovşaqlar 2 nm diametrə qədər böyük molekulların keçməsinə imkan verir. Ümumiyyətlə, 1200 Da-dan kiçik molekullar sərbəst keçirlər, amma 2000 Da-dan böyük olanlar keçə bilmirlər, ara ölçülü molekulların keçməsi dəyişən və məhduddur. Beləliklə ionlar, hüceyrə makromolekullarının çoxsaylı kiçik-molekul-çəkili törəmələri, metabolizmin aralıq məhsulları və kiçik hüceyrədaxili siqnal molekulları boşluqlu qovşaqlarla hüceyrədən hüceyrəyə keçə bilirlər.

Sinir toxumasında bəzi neyronlar boş qovşaqlarla birləşir və bunların vasitəsilə ionlar sürətlə kəşib keçirlər və beləliklə elektrik siqnallarının çox sürətlə ötürülməsinə imkan yaradırlar.

Bu əlaqələrlə impulsun ötürülməsi elektrik sinapsı adlanır və demək olar ki, kimyəvi sinapslardan min dəfəyə qədər sürətlə baş verir (bax Fəsil 22). Boş qovşaqlar bir çox qeyri-sinir toxumalarında da mövcuddur, burada onlar çox hüceyrələrin elektrik və metabolik fəaliyyətlərinin inteqrasiyasına kömək edirlər. Məsələn, ürəkdə boş qovşaqlar ion siqnallarını çox sürətlə, desmosomlar vasitəsi ilə sıx şəkildə bir yerə bağlanmış ürək əzələ hüceyrələri arasında keçirirlər. Beləliklə, boş qovşaqlar ürək döyünməsi zamanı elektrikle stimullaşmış ürək əzələ hüceyrələrinin koordinasiya olunmuş yığılmasına kömək edir. 15-ci fəsilə müzakirə olunduğu kimi, bəzi hüceyrəxarici hormonal siqnallar hüceyrə metabolizmini tənzimləyən, ikinci mesencerlər adlanan kiçik hüceyrədaxili siqnal molekullarının istehsalını və ya buraxılmasını induksiya edir (məsələn, tsiklik AMP, IP_3 və Ca^{2+}). Əksər ikinci mesencerlər boş qovşaqlarla hüceyrələr arasında ötürülə bildiyindən, bir hüceyrənin hormonal stimullaşmasının həmin hüceyrənin və eləcə də çoxsaylı qonşu hüceyrələrin koordinasiya olunmuş cavabını işə salmaq potensialına malik olur. Bu cürə boş-qovşaq-vasitəsilə siqnal verilməsi çox əhəmiyyətli rol oynayır, məsələn mədəaltı vəz tərəfindən həzm fermentlərinin ifraz olunmasında və bağırsaqlarda razılaşdırılmış əzələ yığılması dalğalarının (peristalsis) ötürülməsində olduğu kimi. Boş-qovşaqlarla-vasitələnən nəqliyyatın digər bir parlaq nümunəsi *metabolik bağlanmaq* və ya *metabolik kooperasiya* hadisəsidir ki, bu zaman hüceyrələr qida maddələrini və ya aralıq metabolitləri qonşu hüceyrəyə ötürür, hansı ki bu hüceyrə özü bunları sintez edə bilmir. Boş qovşaqlar yumurta əmələ gətirən sələf hüceyrələrin (oositlərin) inkişafında həm metabolitlərin həm də cGMP kimi siqnal molekullarının yumurtalıqda oosit və onu əhatə edən qranuloza hüceyrələri və eləcə də qranuloza hüceyrələrinin öz arasında və qonşu qranuloza hüceyrə arasında keçirməklə əhəmiyyətli rol oynayırlar.

Boş qovşaqların müasir modeli Şəkil 20-21c-d-də göstərilmişdir. Onurğalılarda boş qovşaqları, quruluşuna görə yaxın olan və molekul çəkiləri 26000-60000 arasında olan membran zülalları ailəsi konneksindən təşkil olunmuşdur. Hər bir onurğalı altıbucaqlı hissəcik oniki qeyrikovalent birləşmiş konneksin molekullarından təşkil olunmuşdur: altısı *konnekson* adlanan silindirik hemikanalları əmələ gətirir, bir plazma membrandakı konneksin bitişik hüceyrənin plazma membranındakı konneksinə birləşərək hüceyrələr arasında davam edən akvatik (su keçirən) kanalı əmələ gətirir (diametri ~14 Å). Hər bir fərdi konneksin molekulu topologiyasına görə klauzindəkinə oxşar olan membrana sarıyan dörd α spirala malikdir (bax Şəkil 20-18), nəticədə hər bir konneksin hemikanalında 24 transmembran α spiral olur.

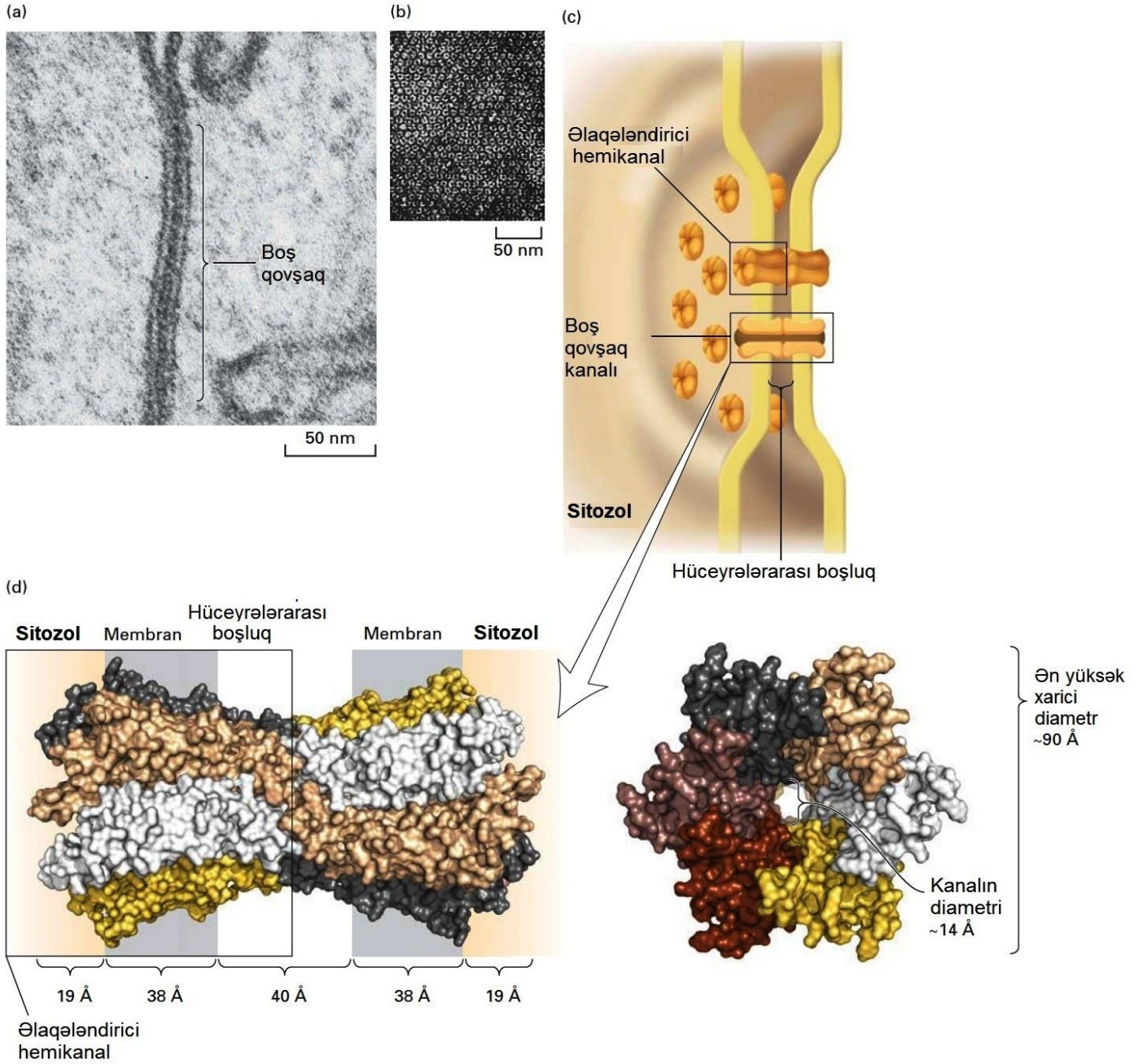
Tamamilə fərqli zülallar ailəsi olan *inneksinlər* onurğasızlarda boş qovşaqları əmələ gətirirlər. Inneksinə-bənzər zülalların *panneksinlər* adlanan üçüncü sinifi həm onurğalılarda həm də onurğasızlarda tapılmışdır. Pannexsinlər heksamer hemikanalları (panneksinləri) əmələ gətirirlər və bunların açılması mexaniki stress və ya membran potensialının dəyişilməsi ilə tənzimlənir. Hemikanallar açıq olarkən panneksinlər kiçik molekulların (məsələn, ATP kimi) və ionların hüceyrədaxili və hüceyrəxarici boşluqlar arasında birbaşa mübadiləsinə imkan verirlər. Guman olunur ki, panneksinlər ATP-nin hüceyrədən hüceyrəxarici boşluğa

buraxılmasında əsas rol oynayırlar. Hüceyrəxarici ATP (və eləcə də ADP və AMP) hədəf hüceyrələrdə purinergik hüceyrə-səth reseptorları P1, P2X və ya P2Y ilə birləşərək onları fəallaşdırmaqla hüceyrələrarası mesencer kimi və ya ötürücü (transmitter) kimi fəaliyyət göstərə bəvirlər.

İnsanlarda 21 müxtəlif konneksin geni vardır və müxtəlif hüceyrə tiplərində fərqli konneksin dəstləri ekspressiya olunurlar. Belə müxtəlifliyin mövcud olması, konneksin genlərindəki fəalsızlaşdırma mutasiyaları vasitəsilə mutant siçanın yaradılması ilə birlikdə konneksinlərin geniş müxtəliflikdə hüceyrə sistemlərində əhəmiyyətini vurğulayır. Bəzi hüceyrələr tək bir konneksini ekspressiya edir, bu da homotipik konneksionları əmələ gətirir. Amma, əksər hüceyrələr ən azı iki konneksini ekspressiya edir və bu müxtəlif zülallar heteromer konneksionlarda toplanma bilirlər, bunlar da öz növbəsində heterotipik boş-qovşaq kanallarını əmələ gətirirlər. Kanal tərkibinin müxtəlifliyi kanalın keçiriciliyindəki müxtəlifliyə səbəb olur. Məsələn, 43 kDa konneksin izoformasından əmələ gələn kanal Cx43 – ən geniş yayılmış ekspressiya olunan konneksin – ATP və ADP üçün keçiriciliyi Cx32 (32kDa) konneksinə nisbətən yüz dəfədən artıqdır.

Boş qovşaqların keçiriciliyi konneksinlərin posttranslyasiya modifikasiyası (məsələn, fosforlaşma) ilə tənzimlənir və ətraf mühitin hüceyrədaxili pH və Ca^{2+} qatılığı, membran potensialı və öz aralarında birləşmiş qonşu hüceyrələrdə hüceyrələrarası potensial (“gərginliklə açılıb qapanan”) kimi şəraitlərindəki dəyişikliklərə həssas olur. Görünür konneksinlərin N-sonluğu açılıb qapanma mexanizmində xüsusən mühümdür. Beləliklə, çox ion kanallında olduğu kimi (bax Fəsil 11), bəzi boş qovşaqlarda kanallar açılı və ya qapana bilir. Boş-qovşaqların fizioloji tənzimlənməsinin bir nümunəsi məməlilərin bala verməsi zamanı baş verir. Məməlilərin uşaqlığındakı sayə əzələ hüceyrələri doğuş zamanı güclü və sinxron şəkildə dartılmalıdır (yığılmalıdır) ki, dölü çıxarsın. Bu koordinasiya olunmuş fəaliyyəti dərhal doğuşdan öncə doğuş zamanı asanlaşdırmaq üçün bu hüceyrələrdə əsas konneksinin – Cx43 konneksinin miqdarı on-qat artır və boş qovşaqların ölçüsü və sayı artır və postratumdan (döl doğulduqdan) sonra sürətlə geriə qaydır.

Konneksinlərin toplanması, onların hüceyrə daxilində hərəkəti və funksional boş qovşaqların əmələ gəlməsi görünür ki, N-kadherindən və onun assosiasiyada olduğu adaptor zülallardan (məsələn, α - və β -kateninlər, ZO-1, ZO-2), eləcə də desmosomal zülallardan (plakoqlobin, desmoplakin və plakofilin-2) asılıdır. ZO-1 və ZO-2-də PDZ domenlər Cx43-ün C-sonluğuna birləşir və onların kateninlərlə və N-kadherinlərlə qarşılıqlı əlaqəsinə vasitəlik edir. Bu əlaqələrin vacibliyi ürəkdə xüsusilə aydın görünür, bu da ürəyin normal funksiyası üçün tələb olunan hüceyrələrarası elektrik fəaliyyətinin və hərəkətin inteqrasiyasına nail olmaq üçün, sürətli koordinasiya olunan elektrik birləşməsi üçün boşluq qovşaqlarından, kardiomyositlər arasında mexaniki birləşmə üçün isə qonşu adheren qovşaqlarından və desmosomlardan asılıdır. Bu diqqətəlayiqdir ki, ZO-1 adherenlər üçün (bax Şəkil 20-14), sıx və boş qovşaqlar üçün adapter rolunu oynayır, bu göstərir ki, bu və başqa adapterlər belə müxtəlif qovşaqların formalaşmasının və funksiyalarının inteqrasiyasına kömək edir.



ŞƏKİL 20-21 Boş qovşaqlar. (a) Bu nazik kəsikdə siçanın iki qaraciyər hüceyrəsini birləşdirən boş qovşaqlarla iki plazma membranı 2-3 nm “boşluqlara” ayrılmaqla bir neçə yüz nanometr məsafədə sıx assosasiya edirlər. (b) Boş qovşaqlarla zənginləşmiş plazma membranı rayonunun sitozol üzünün bu perpendikulyar görünüşündə çox sayda təxminən altıbucaqlı hissəciklər görünür. Hər bir altıbucaqlı hissəcik bitişik qonşu hüceyrədəki oxşar hissəciklə düzlənir və iki plazma membranını birləşdirən kanalı əmələ gətirir. (c) İki plazma membranını birləşdirən boş qovşağın sxematik modeli. Hər iki membran qantel-formalı konneksin molekullarından təşkil olunmuş silindirlərdən ibarət olan konneksion hemikanallara malikdir. Hüceyrələr arasındakı boşluqda iki konneksion birləşir, 1.4-2.0 nm diametrdə boş-qovşaq kanallarını əmələ gətirir və iki hüceyrənin sitozolunu birləşdirir. (d) İnsanın rekombinant Cx26 boş qovşağının rentgen-kristalloqrafiya ilə təyin edilmiş (3.5 Å rezolyusiyada)

qurunüşü. *Solda:* (c) hissəsində orientasiya olunmuş (yönəlmiş) iki bir-birinə yapışmış konneksionun fəza-dolduran modelinin yandan görünüşü. Bu konneksionları əmələ gətirən hər bir altı konneksinin dörd transmembran α spirali vardır və fərqli rənglərlə göstərilmişdir. Transmembran spiralları birləşdirən ilgəklərin quruluşu yaxşı müəyyən olunmamışdır, ona görə də göstərilmir. *Sağda:* Sitozoldan membran ikiqatlısına perpendikulyar, konneksiona onun mərkəzi məsəməsi ilə yuxarıdan baxmaqla görünüşü. Məsəmənin kanallarının diametri ~ 14 Å-dir və o çoxsaylı polyar/yüklənmiş amin turşuları ilə örtülmüşdür. Bax S. Nakagawa et al., 2010, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **20**(4):423–430. [(a) hissəsi nəzakətlə D. Goodenough tərəfindən verilmişdir. (b) hissəsi 1977 Caspar, D.L., *J. Cell Biol.*, 1977, **74**:605–628. doi:10.1083/jcb.74.2.605; Şəkil 2b. (d) hissəsindəki verilənlər S. Maeda et al., 2009, *Nature* **458**:597–602, PDB ID 2zw3-dən.]



Konneksin genlərində olan mutasiya insanda ən azı səkkiz xəstəliyin, neyrosensor karlılığı (Cx26 və Cx31), katarakt və ya ürək çatışmazlığı (Cx43, Cx46 və Cx50) və periferial sinir sisteminin degenerasiyasından ibarət olan Çarkot-Marie-Tooth xəstəliyinin (Cx32) yaranmasına əbəb olur. ■

20.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Qovşaqları və Onların Adgeziya Molekulları

- Epiteli hüceyrələri fərqli apikal, bazal və lateral səthlərə malik olurlar. Çox epiteli hüceyrələrinin apikal səthindən uzanan mikrovilli hüceyrənin sət sahəsini kifayət qədər artırır.
- Qovşaqların üç əsas sinifi – lövbər edən qovşaqlar, sıx qovşaqlar və boş qovşaqlar – epiteli hüceyrələrini təbəqələrdə toplayırlar və onlar arasında əlaqəni yerinə yetirirlər (bax Şəkillər 20-1 və 20-11). Lövbər edən qovşaqlar adherin qovşaqlara, fokal kontaktlara, desmosomlara və hemidesmosomlara ayrılırlar.
- Adherin qovşaqlar və desmosomlar kadherinə malik olan lövbər edən qovşaqlardır və bitişik hüceyrələrin membranlarına birləşirlər, bütün toxumalara güc və möhkəmlik verirlər.
- Kadherinlər hüceyrə adgeziya molekullarıdır (CAM) epiteli və başqa toxumalarda hüceyrələr arasında Ca^{2+} -dan asılı olan inteqrasiyaya cavab verirlər. Onlar həm lateral hüceyrədaxili (*cis*) həm də möhkəm hüceyrələrarası hüceyrə-hüceyrə (*trans*) adgeziyasını təşviq edirlər.
- Adherinlərin, başqa CAM-ların və adherin reseptorların sitozol domeninə birləşən adapter zülallar sitoskeletin və başqa siqnal zülallarının plazma embrabını ilə assosiasiyasını həyata keçirirlər (bax Şəkil 20-8 və 20-14). Möhkəm hüceyrə-hüceyrə adgeziyasının saxlanması CAM-ların sitoskeletlə qarşılıqlı əlaqəsindən asılıdır.
- Hemidesmosomlar inteqrinə malik olan lövbər qovşaqlardır və hüceyrələri altda yerləşən hüceyrəxarici matrisanın elementlərinə birləşdirirlər.
- İnteqrinlər $\alpha\beta$ heterodimer hüceyrə-səth reseptorlarının böyük bir ailəsi olub çoxsaylı toxumalarda hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-matrisa adgeziyasında, xaricdən-daxilə və daxildən-xaricə siqnal ötürülməsində iştirak edirlər.
- Sıx qovşaqlar plazma membranı müstəvisində zülalların və bəzi lipidlərin diffuziyasının qarşısını alır, və epiteli hüceyrələrinin polyarlılığına kömək edirlər. Onlar həmçinin suyun və məhlulların epitelinin bir tərəfindən digər tərəfinə hüceyrəxarici (parasellular) axınına məhdudlaşdırır və tənzimləyir (bax Şəkil 20-20). Sıx qovşaqlarda tapılmış iki əsas inteqral membran zülalı okkludin və klauindir.
- Boş qovşaqlar, iki bitişik hüceyrənin sitozollarını birləşdirən transmembran kanallarda toplanmış konneksin zülalların çoxsaylı nüsxələrindən qurulmuşdur (bax Şəkil 20-21). Kiçik molekullar və ionlar boş qovşaqlardan asanlıqla keçə bilirlər və bitişik hüceyrələrin metabolik və elektrik qovuşmasına imkan yaradırlar.

20.3 Hüceyrəxarici Matrisa I: Bazal Lamina

Heyvanlarda hüceyrəxarici matrisa (ECM) çoxsaylı funksiyalara malikdir (bax Cədvəl 20-2). ECM hüceyrələrin toxumalarda təşkil olunmasına kömək edir və hüceyrənin inkişafını, proliferasiyasını və gen ekspresiyasını nizamlayan hüceyrədaxili siqnal yollarını fəallaşdırmaqla onların hüceyrə funksiyalarını yerinə yetirmələrini koordinasiya edir. ECM hüceyrə və toxumaların quruluşuna və funksiyasına birbaşa təsir edə bilər. Bundan başqa, ECM proteazalar kimi hidroliazalarla dağılarkən və ya yenidən formalaşarkən, o fəaliyyət göstərmək üçün buraxılan qeyri fəal və ya əlçatmaz siqnal molekulları üçün (məsələn, boy faktorları) bir vasitə kimi fəaliyyət göstərə bilər. Həqiqətən də, ECM makromolekulların hidroliz olunan fraqmentləri özləri müstəqil bioloji fəallığa malik olurlar. ECM-in özünü təşkil edən və onunla assosiasiyada olan kovalent modifikasiya olunmuş (məsələn, kimyəvi çarpaz kəsişən), ona birləşərək və ya başqa yolla ECM-in tərkibini və ya quruluşunu tənzimləyən zülalların ansamblı *matrisom* adlanır. Proteoma (Fəsil 3) və genom analizləri göstərir ki, insanda və siçanda müvafiq olaraq 1030 və 1110 gen matrisomları kodlaşdırır. Matrisom komponentlərinin disfunksiyası (səhv fəaliyyəti) müxtəlif orqanlara və toxumalara təsir edən çoxsaylı müxtəlif xəstəliklərin yaranmasına səbəb olur. Qeyd edək ki, ECM komponentlərinin və eləcə də, plazma membranı zülallarının serin, treonin və tirozin yan zəncirlərindən fosforlaşan hüceyrəxarici domenləri vardır. İfrazat yolunun luminal komponentlərində mövcud olan kinazalar və hüceyrəxarici boşluğa ifraz olunan bəzi başqaları bu fosforlaşmaları kataliz edirlər.

ECM-in çox funksiyaları və həqiqətən də, ECM-in yığılmasının bir çox xüsusiyyətləri transmembran adgeziya reseptorlarını, o cümlədən birbaşa ECM komponentlərinə birləşən inteqrinləri və adapter zülalları vasitəsi ilə sitoskeletlə əlaqəli olan zülalları tələb edir. Adgeziya reseptorları bütün toxumaların ECM-də zəngin olan üç tip molekulla birləşir (bax Cədvəl 20-1):

- **Proteqlikanlar**, qlikozülalların bir sinifi olan bu zülallar hüceyrələrə yumuşaqlıq verir və geniş müxtəliflikdə hüceyrəxarici molekullarla birləşir.
- **Kollagen** liflər, quruluş bütövlüyünü, mexaniki gücü və möhkəmliyi təmin edir.
- Laminin və fibronektin kimi həllolan **çox-yapışqanlı matrisa zülalları**, adgeziya reseptorlarına birləşərək onları bir-biri ilə çarpaz və digər ECM komponentləri ilə əlaqələndirir.

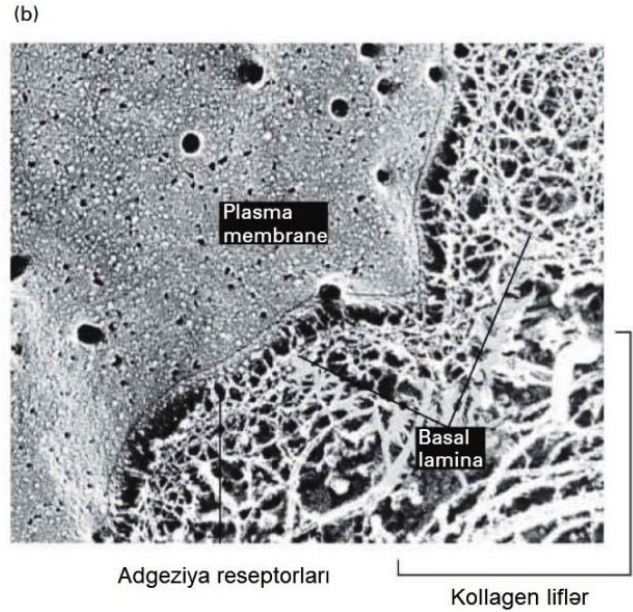
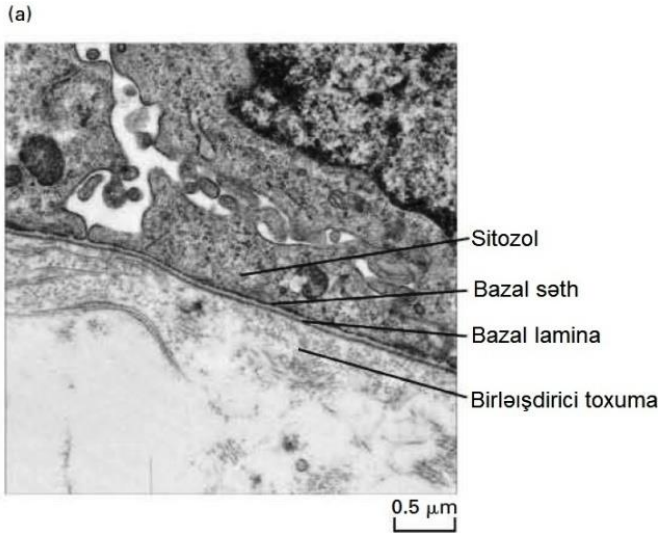
Biz bu əsas ECM komponentlərin təsvirini epiteli toxumalarının ümumi arxitekturasında və funksiyasında xüsusi rol oynayan ECM-lərin xüsusiləşmiş təbəqəsi olan bazal laminanın kontekstində başlayırıq. Növbəti bölmədə biz qeyri epiteli tixumalarında, o cümlədən birləşdirici toxumada yayılmış ECM molekullarını müzakirə edirik.

Bazal Lamina Hüceyrələrin Toxumada Toplanması üçün Əsası Təmin Edir

Heyvanlarda epiteli və qeyri epiteli toxumalarında hüceyrələrin ən mütəşəkkil qrupları, adətən ECM komponentlərinin 60-120 nm qalınlıqdan artıq olmayan təbəqə şəkilli şəbəkəsindən ibarət

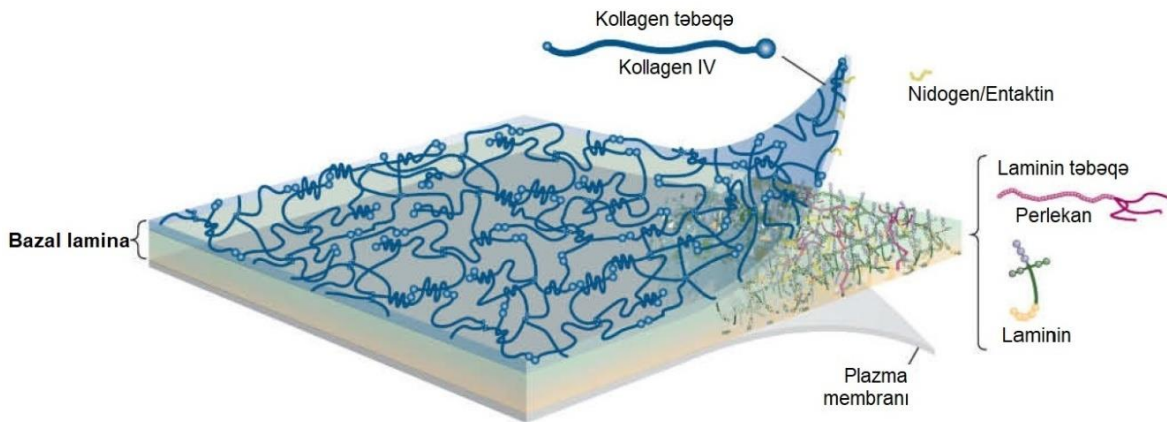
olan bazal lamina ilə örtülmüş və ya əhatə olunmuşdur (Şəkil 20-22). Bazal lamina müxtəlif toxumalarda fərqli quruluşa malik olurlar. O, dirəksəkilli epitelidə və bağırsağın daxili örtüyü və dəridəki kimi digər epitelilərdə hüceyrələrin yalnız bir səthinin yerləşdiyi təməldir. Digər toxumalarda, məsələn əzələ və ya piy toxumalarında bazal lamina hər bir hüceyrəni əhatə edir. Bazal lamina toxuma zədələnməsindən sonra və embrional inkişafda regenerasiya zamanı mühüm rol oynayır. Məsələn, bazal lamina dörd- və ya səkkiz-hüceyrəli rüşeymlərdə hüceyrələrin şar kimi bir yerə yapışmasına kömək edir. Sinir sisteminin inkişafında neyronlar bazal lamina komponentlərinə malik olan ECM yolu boyu miqrasiya edirlər. Ali heyvanlarda, qanla beyin arasında

molekulların diffuziyasının qarşısını almaq üçün sıx baryerin (qan-beyin baryeri) əmələ gəlməsində iki müxtəlif bazal laminadan istifadə olunur və böyrəklərdə xüsusi bazal lamina selektiv keçirici qan filtri kimi rol oynayır. Bazal lamina əzələlərdə dartılma və boşalma zamanı hüceyrə membranlarının dağılmaqdan mühafizə olunmasına kömək edir. Beləliklə bazal lamina hüceyrələrin toxumalarda və başqa fərqli kompartimlərdə təşkili, toxumaların reparasiyası, keçiricilik baryerinin yaradılması və inkişaf zamanı miqrasiya edən hüceyrələrin yönəldilməsi üçün çox əhəmiyyətlidir. Ona görə də təəccüblü deyildir ki, onun komponentləri təkamülün gedişi boyu qorunub saxlanılmışdır.



ŞƏKİL 20-22 Bazal lamina epitel hüceyrələrini və bəzi başqa hüceyrələri birləşdirici toxumalardan ayırır. (a) Hüceyrələrin nazik kəşiyinin transmissiyalı elektron mikrofotusu (*yuxarıda*) və ondan altda olan birləşdirici toxuma (*aşağıda*). Hüceyrələrin bazal səthlərinin dalğalanmasını izləmək üçün bazal laminanın elektron-sıx təbəqəsi müşahidə oluna bilər. (b) Skelet əzələsinin sürətlə-dondurulmuş və

dərin-kəşiyi preparatının elektron mikrofotusu plazma membranını, bazal laminanı və ətrafdakı birləşdirici-toxumanın kollagen liflərini göstərir. Bu preparatda bazal lamina plazma membranı ilə assosiasiyada olan filament (sapşəkilli) zülalların və birləşdirici toxumanın daha qalın kollagen liflərinin toru kimi aşkar edildi. [(a) hissəsi nəzakətlə Paul Fitzgerald-dən. (b) hissəsi Don W. Fawcett/Science Source.]



ŞƏKİL 20-23 Bazal laminanın əsas zülal komponentləri. IV tip kollagen və laminin hər biri nidogen/entaktin və perlekan molekulları ilə çarpaz kəşiyən və lamininlər vasitəsilə bitişik hüceyrələrin plazma membranı ilə əlaqəyə girən ikiözlü şəbəkəni əmələ gətirirlər (bax Şəkillər 20-24 və 20-26).

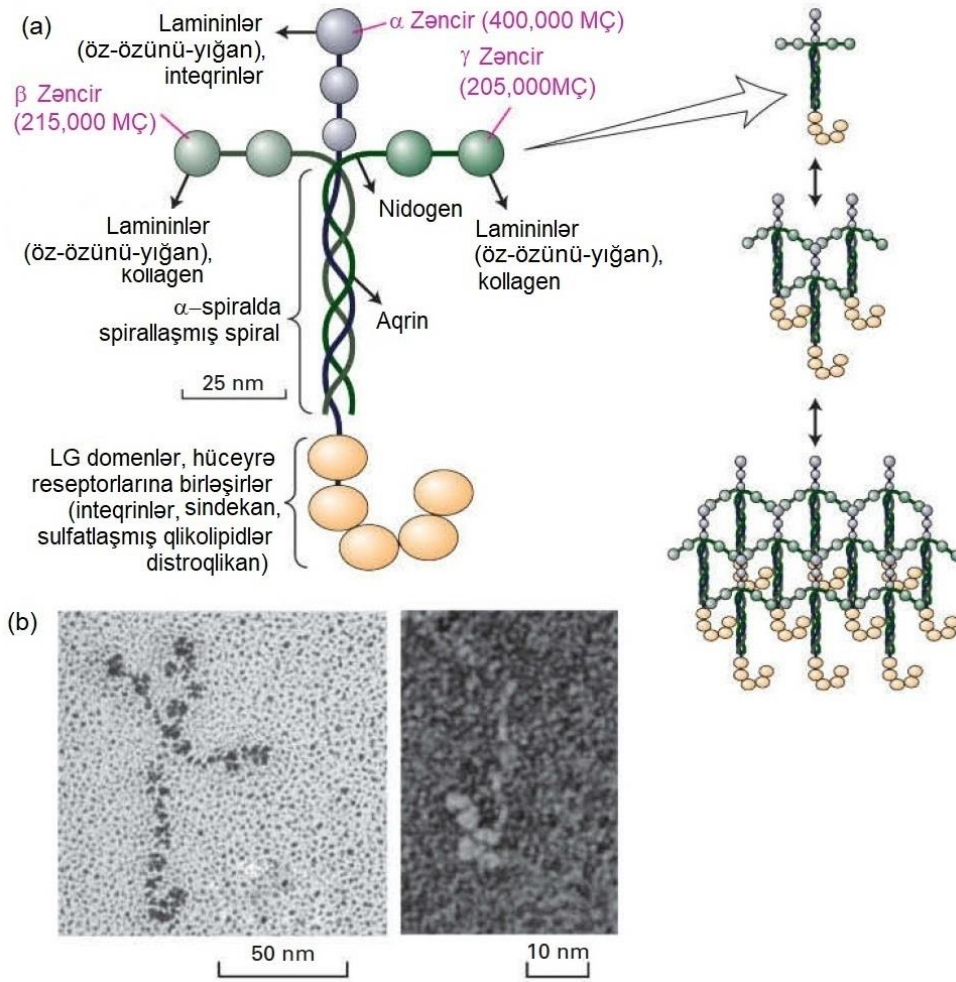
Bazal laminada ECM komponentlərin əksəriyyəti onun üzərində olan hüceyrələr tərəfindən sintez olunur. Hər biri çoxsaylı, fərqli təkrarlanan domenlərə malik olan, hər yerdə mövcud olan dörd zülal komponenti bazal laminada tapılmışdır (Şəkil 20-23):

- *IV tip kollagen*, iki-ölçülü şəbəkəni əmələ gətirən çöpşəkilli və qlobulyar domenlərə malik olan trimer molekullar;
- *Lamininlər*, IV tip kollagenlə lifli iki-ölçülü şəbəkəni əmələ gətirən, həmçinin inteqrinlərə və başqa adgeziya reseptorlarına birləşən, çarpaz-kəşişən-formalı çox-yapışqanlı zülallar ailəsi;
- *Perlekan*, çox ECM komponentlərini və hüceyrə-səth molekullarını çarpaz əlaqələndirən böyük çoxdomenli proteoqlikan;
- *Nidogen* (həmçinin *entaktin*), digər komponentlərin ECM-ə daxil edilməsinə kömək edən və həmçinin bazal laminin

stabiləşdirilməsinə kömək edən IV tip kollagen, perlekan və laminini şarpaz əlaqələndirən çöpşəkilli molekul.

Qlikozülalların təkamül cəhətdən daha gədim olan fibulinlər adlanan ailəsi kimi digər ECM molekulları, toxumadan və bazal laminanın xüsusi funksional tələbindən asılı olaraq müxtəlif bazal laminalara daxil olurlar.

Şəkil 20-1-də verildiği kimi, bazal laminanın bir tərəfi bazal laminada lamininə birləşmiş inteqrinlər və hemidesmosomlar kimi adgeziya reseptorları vasitəsi ilə hüceyrələrlə bağlı olur. Bazal laminanın digər tərəfi isə proteoqlikan ilə zəngin olan matrisaya batmış kollagen liflər vasitəsi ilə bitişik olan birləşdirici toxumaya lövbər etmişdir. Təbəqələşmiş yastı hüceyrəli epitelidə (məsələn, dəridə; bax Şəkil 20-10d) bu əlaqə VII tip kollagen liflərin bərkidilməsi ilə həyata keçirilir. Bazal lamina və bərkidilən kollagen liflər birlikdə *təməl membran* adlanan quruluşu əmələ gətirir.



ŞƏKİL 20-24 Laminin bazal laminada tapılmış çoxyapışqanlı heterotrimer zülaldir. (a) Kəşişən formalı laminin molekullarının sxematik modeli, qlobulyar domenlərin və lamininlərin üç zəncirinin bir sıra disulfid rabitələri ilə əlaqələndiyi spirallaşmış spiral rayonlarının əsas formasını və yerləşmələrini göstərir. Lamininin müxtəlif rayonları adgeziya reseptoruna və müxtəlif matrisa komponentlərinə birləşir (oxlarla göstərilir). *Sağda:* Lamininlər N-sonluqlu domenlər arasındakı qarşılıqlı əlaqə vasitəsilə qəfəsdə yığılırlar. Bax G.R. Martin and R. Timpl, 1987, *Annu. Rev. Cell Biol.*

3:57; M. Durbejj, 2010, *Cell Tissue Res.* **339**:259–268; və S. Meinen et al., 2007, *J. Cell Biol.* **176**:979–993. (b) İntakt laminin molekulların elektron mikrofotoları xarakterik kəşişən formanı (*solda*) və C-sonluq yaxınlığında karbohidrat birləşdirən domenləri (*sağda*) göstərir. [(b) issəsində fotoqrafiya Elsevier rəzilığı ilə Timpl, R. et al., "Structure and function of laminin LG modules," *Matrix Biol.* 2000, **19**(4):309–17-dən yenidən çap olunur; rəzilıq Copyright Clearance Center, Inc. Image on right courtesy Jürgen Engel tərəfindən alınır.]

Çox-Yapışqanlı Matrisa Zülalı Laminin Bazal Laminanın Komponentlərinin Əlaqələnməsinə Kömək Edir

Bazal laminadakı əsas çox-yapışqanlı matrisa zülalı laminin α , β və γ zəncirlərdən təşkil olunmuş heterotrimer zülaldır. Onurğalılarda ən azı 16 laminin izoformasını 5 α , 3 β və 3 γ zəncirlərdən toplanmışdır, və hər bir zəncir izoformanın zəncir tərkibini əks etdirmək üçün nömrələnmişdir: laminin-111 ($\alpha 1\beta 1\gamma 1$) və ya laminin-511 ($\alpha 5\beta 1\gamma 1$). Hər bir laminin izoformasını toxuma-spesifik və inkişaf mərhələsi-spesifik ekspresiyasının fəqli profilini nümayiş etdirir. Şəkil 20-24-də göstəriləndiyi kimi, çox lamininlər böyük, kəşşən-formalı zülallardır (molekul çəkili təxminən 820000 Da), hərçənd ki, bəziləri Y və ya çöp şəkillidirlər. Hər bir subvahidin N-sonluğundakı qlobulyar domen bir-biri ilə birləşir və beləliklə lamininlərin tora-bənzər şəbəkəsinin yaranmasını həyata keçirirlər. Laminin α subvahidin C-sonluğunda beş qlobulyar LG domeni, müəyyən inteqrinlər (bax Cədvəl 20-4), eləcə də, gələcəkdə 20.4 bölməsində müzakirə olunan sulfatlaşmış qlikolipidlər, sindekan və distroqlikan kimi hüceyrə səth laminin reseptorlarına Ca^{2+} -dan asılı olan birləşməni həyata keçirirlər. Bu qarşılıqlı əlaqələrin bəziləri reseptordakı mənfi yüklənmiş karbohidratların hesabına baş verir. LG domenlər geniş müxtəliflikdə olan başqa zülallarda tapılmışdır və reseptorlara və zülallara, eləcə də karbohidratlara birləşməni həyata keçirirlər. Laminin inteqrinlərin əsas bazal laminar liqandlarıdır.

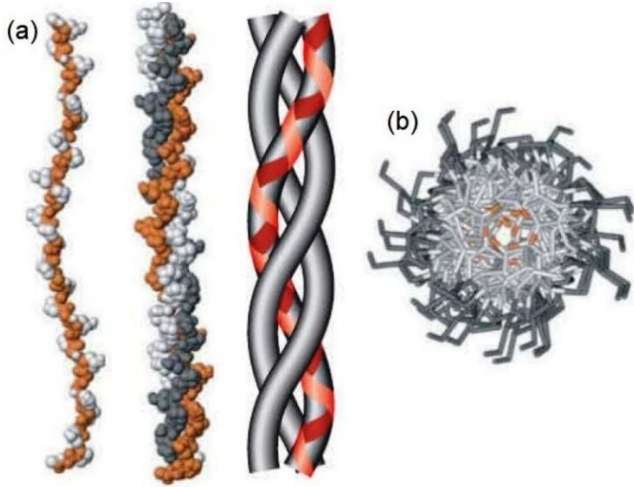
Təbəqə-Əmələgətirən IV Tip Kollagen Bazal Laminanın Əsas quruluş Komponentidir.

IV tip kollagen lamininlə birlikdə bütün bazal laminanın əsas quruluş komponentidir və bəzi inteqrinlər də daxil olmaqla adgeziya reseptoruna birləşə bilərlər. Kollagen IV insandakı müxtəlif toxumalarda fərqli ECM-lərin formalaşmasında iştirak edən ən azı 28 tip kollagenlərdən biridir (Çədvəl 20-5). Bundan əlavə ən azı 20 kollagenə-bənzər zülal (sahib orqanizmin müdafiə kollagenləri kimi) insan proteomasında mövcuddur. Baxmayaraq ki, kollagen izoformalar müəyyən quruluş xüsusiyyətlərinə görə və toxumalarda paylanmalarına görə fərqlənirlər, bütün kollagenlər üç polipeptiddən yaranmış trimer zülallardır və polipeptidin hər biri insanda adətən α kollagen zəncirlər adlandırılan ən azı 43 genin biri ilə kodlaşdırılır. Kollagen molekulunda üç α zəncir (homodimer əmələ gətirən) identik və ya (heterodimer əmələ gətirən) fərqli ola bilərlər. Üç-zəncirli kollagen molekulunun hamısı və ya bir hissəsi xüsusi üç-qat spiraldə bir yerə burula bilərlər və kollagen üçlü spiral adlandırılır. Bizim tezləklə IV tip kollagen üçün görəcəyimiz kimi, birdən artıq üç-spirallı seqment olarkən bu seqmentlər zülalın qeyri spiral rayonları ilə birləşirlər. Spiral seqmenti daxilində üç α zəncirin hər biri sola-burulan üçlü spiral daxilində burulurlar və sonra üç zəncir biri digərinin ətrafında dolanaraq sağa-burulan üçqat spirali əmələ gətirirlər (Şəkil 20-25).

Şədvəl 20-5 Seçilmiş kollagenlər

Tipi	Molekul tərkibi	Quruluş xüsusiyyətləri	Təmsil edilən toxumalar
FIBRILYAR KOLLAGENLƏR			
I	$[\alpha 1(I)]_2[\alpha 2(I)]$	300-nm-uzunluqda fibrillər	Dəri, vətər, sümük, ligamentlər, dentin, interstisial toxumalar
II	$[\alpha 1(II)]_3$	300-nm-uzunluqda fibrillər	Qığırdaq, şüşəvari hyumorlar
III	$[\alpha 1(III)]_3$	300-nm-uzunluqda fibrillər; çox zaman I tiplə	Dəri, əzələ, qan damarları
V	$[\alpha 1(V)]_2[\alpha 2(V)], [\alpha 1(V)]_3$	3900-nm-uzunluqda fibrillər qlobulyar N-sonluq uzanma ilə; çox zaman I tip	Kornea, diş, sümük, plasenta, dəri, sayə əzələ
FIBRIL-ASSOSASİYALI KOLLAGENLƏR			
VI	$[\alpha 1(VI)][\alpha 2(VI)][\alpha 3(VI)]$ $[\alpha 1(IX)][\alpha 2(IX)][\alpha 3(IX)]$	I tiplə lateral assosasiya; dövrü qlobulyar domenlər	İnterstisyevi toxumaların çoxu
IX		II tiplə lateral assosasiya; N-sonluq qlobulyar domen; birləşmiş GAG	Qığırdaq, vitroz hyumor
TƏBƏQƏ-ƏMƏLƏ GƏTİRƏN KOLLAGENLƏR			
IV	$[\alpha 1(IV)]_2[\alpha 2(IV)]$	İki-ölçülü şəbəkə	Bütün bazal laminalar
VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	Uzun liflər	Dəridə bazal aminanın altında
XV	$[\alpha 1(XVII)]_3$	Xondrotin sulfat protoqlikanın əsas zülalı	Geniş yayılmış; əzələdə bazal lamina yaxınlığında
TRANSMEMBRAN KOLLAGENLƏR			
XIII	$[\alpha 1(XIII)]_3$	İnteqral membran zülalı	Dəridə hemidesmosomlar
XVII	$[\alpha 1(XVII)]_3$	İnteqral membran zülalı	Dəridə hemidesmosomlar
SAHIB MÜHAFİZƏ KOLLAGENLƏRİ			
Kollektinlər		Üçlü spiralın oliqomerləri; lektin domenlər	Qan, alveolyar boşluq
C1q		Üçlü spiralın oliqomerləri;	Qan (əlavələr)
Klassik A skavencer reseptorlar		Homotrimer membran zülalları	Makrofaqlar

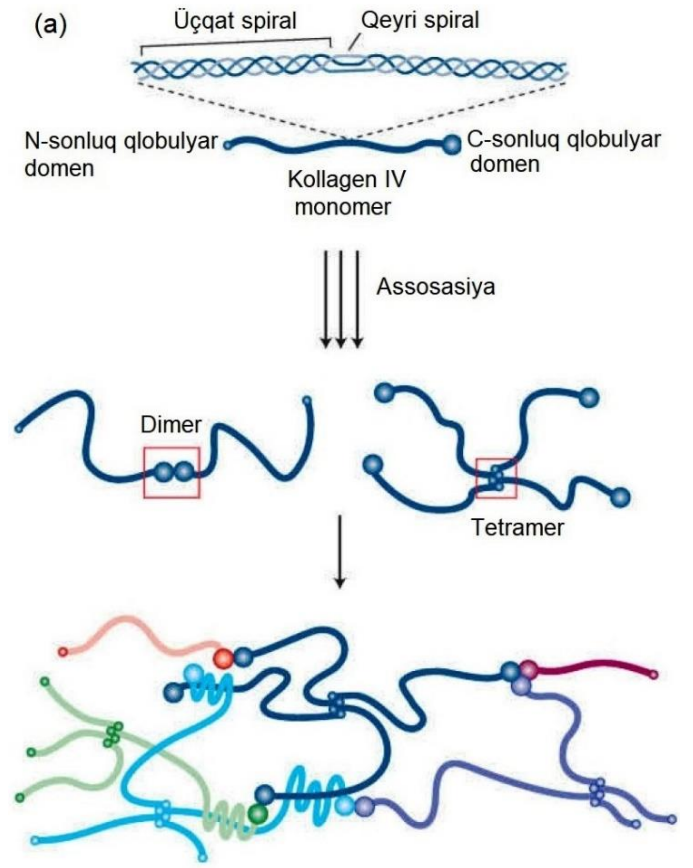
Mənbə: Verilənlər K. Kuhn, 1987, in R. Mayne and R. Burgeson, eds., *Structure and Function of Collagen Types*, Academic Press, p. 2, and M. van der Rest and R. Garrone, 1991, *FASEB J.* 5:2814.



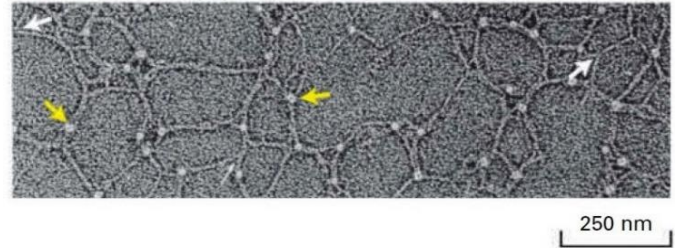
ŞƏKİL 20-25 Kollagen üçlü spiral. (a) Solda: Ardıcılığı kollagen α zəncirə xarakterik olan üç amin turşusunun, Gly-X-Y təkrarlanan dəstinə əsaslanan polipeptid fraqmentin kristal quruluşunun yandan görünüşü. Orta: Hər bir zəncir sola burulan spiralda burulmuşdur və üç zəncir bir-birinin ətrafında sağa burulan spiralı əmələ gətirirlər. Sxematik model (sağda) quruluşun üçlü-spiral təbiətini açıq şəkildə təsvir edir və fərdi kollagen α zəncirinin soladönən burulmalarını göstərir (qırmızı xətt). (b) Üçlü spiralın ox üzrə yuxarıdan aşağıya görünüşü. Qlisin qalıqlarının (narıncı) proton yan zəncirləri üçlü spiralın mərkəzində polipeptid zəncirlər arasındakı çox dar boşluğa yönəlmişdir. Qlisin başqa amin turşuları ilə əvz olunduğu kollagen mutasiyalarında qlisinin proton yan zənciri başqa böyük qruplarla əvəz olunmuşdur, hansı ki, zəncirlərin bükülməsini qırır və üçlü spiral quruluşun sabitliyini pozur. Verilənlər R. Z. Kramer et al., 2001, *J. Mol. Biol.* **311**:131, PDB ID 1bkv.

Kollagen üçlü spiral α zəncirdə üç amin turşusunun: qlisin, prolin və prolinin hidroksprolin adlanan modifikasiya olunmuş formasının (bax Şəkil 2-15) qeyri adi çoxluğuna görə yaranır. Onlar xarakterik təkrarlanan ardıcılıq motivi Gly-X-Y əmələ gətirirlər, burada X və Y istənilən amin turşusu ola bilər, amma çox zaman prolin X vəziyyətində və hidroksprolin Y vəziyyətində olur və daha az hallarda uyğun olaraq lizin və hidrosilizin olur. Qlisin ona görə vacibdir ki, onun kiçik yan zənciri hidrogen atomu üç-zəncirli spiralın mərkəzi daxilinə uyğun gələn yeganə yan zəncirdir (bax Şəkil 20-25). Hidrogen rabitələri üç zəncirin birlikdə saxlanılmasına kömək edir. Hərçənd ki, sərt peptidil-prolin və peptidil-hidroksprolin əlaqələr klassik bir-zəncirli α spiralın əmələ gəlməsi üçün uyğun deyildir, onlar fərqli kollagen üçlü spiralı stabilləşdirirlər. Hidroksprolində hidrosil qrupu Y vəziyyətində onun həlqəsini üç-zəncirli spiralı stabilləşdirən konformasiyada saxlamağa kömək edir.

Kollagen IV və başqa tip kollagenlər üçün (başqa kollagenlər növbəti bölmədə müzakirə olunur) bir sıra fərqli hüceyrə-səth reseptorları mövcuddur. Bu hüceyrə-səth reseptorlarına müəyyən inteqrinlər, diskoidin domenli reseptorlar 1 və 2 (bunlar tirozin kinaza reseptorlardır), qlizozülal VI (trombositlərdə), leykosit-assosiasiyalı Ig-bənzər reseptor-1, mannoza-reseptor ailəsinin nümayəndələri və CD44 zülalın modifikasiya olunmuş formaları daxildir. Onlar ECM-in toplanmasına və hüceyrə fəaliyyətinin ECM-lə inteqrasiya olunmasına kömək etməklə kritik rol oynaya bilərlər.




(b) IV tip şəbəkə



ŞƏKİL 20-26 IV tip kollagenin toplanması və quruluşu. (a) 400-nm-uzunluqda olan bu molekulun N-sonluğunda kiçik qeyri kollagen qlobulyar domeni, C-sonuğunda isə böyük qlobulyar domeni vardır. Kollagen üçlü spiral, molekul daxilində elastik ilgəkləri əmələ gətirən qeyri-spiral seqmentlərlə qırılır. Üçlü spiral seqmentlər arasında lateral qarşılıqlı əlaqələr, eləcə də qlobulyar domenlər arasında baş-baş və quyruq-quyruğa qarşılıqlı əlaqələr dimerləri, tetramerləri və vərəqəbənzər şəbəkəni əmələ gətirən daha yüksək səviyyəli kompleksləri əmələ gətirirlər. Hidrosilizinlərlə (və ya lizinlərlə) metionin qalıqları arasındakı çoxsaylı, qeyri adi sulfilimin (-S=N-) və ya tioefir rabitələr bir-birinə yaxın yerləşmiş C-sonluq domenlərini kovalent çarpaz-əlaqələndirir və şəbəkənin sabitliyinə kömək edir. Bax A. Boutaud, 2000, *J. Biol. Chem.* **275**:30716. (b) in vitro əmələ gəlmiş IV tip kollagen şəbəkənin electron mikrofotosu. Krujevalı görünüş molekulun elastikliyinə, üçlü-spiral seqmentləri (ağ oxlar) arasında yan-ba-yan birləşmənin və C-sonluqlu qlobulyar domenlər arasındakı qarşılıqlı təsirin (sarı oxlar) nəticəsidir. [(b) hissəsi ©1987 Yurchenco, P. D. and Ruben, G. C., *J. Cell Biol.*, **105** (6 Pt1):2559-68-dən. doi: 10.1083/jcb.105.6.2559; Şəkil 1c.]

Hər bir kollagen izoformanın unikal xassələri əsasən: (1) kollagen üçlü-spiral seqmentlərin uzunluğunda və sayında; (2) üçlü-spiral seqmentlərə cinah olan və ya onları qıran və başqa növ üç-ölçülü quruluşda qatlanan seqmentlərdə; (3) α zəncirin kovalent modifikasiyasında (məsələn, hidrksilləşmə, qlikozilləşmə, oksidləşmə, çarpaz əlaqələnmə) fərqlərə əsaslanır. Məsələn, IV tip kollagen zəncirlər IV α kimi işarələnir. Məməlilər, fərqli xassələrə malik olan üç müxtəlif heterotrimer IV tip kollagenlərdə toplanan altı homoloji IV α zənciri ekspressiyalı edirlər. Amma, IV tip kollagenlərin bütün subtipləri 400-nm-uzunluqda üçlü-spiralı əmələ gətirir (Şəkil 20-26), bu da qeyri spiral seqmentlərlə 24 dəfə qırılır və zəncirin C sonluğunda böyük qlobulyar domen, N sonluğunda isə kiçik qlobulyar domen asılır (yerləşir). Qeyri spiral rayon molekul daxilinə elastiklik verir. Həm lateral assosiasiya həm də qlobulyar N- və C-sonluqla bağlı olan qarşılıqlı əlaqə vasitəsilə IV tip kollagen molekulları şaxələnən, qeyri-müntəzəm iki-ölçülü fibrilyar şəbəkədə yığılırlar, laminin qəfəslə birlikdə bazal laminanın qurulduğu qəfəsi yaradırlar (bax Şəkillər 20-23 və 20-26).

 Böyrəkdə yumaqşəkili (glomerular) bazal membran adlanan ikiqat bazal lamina sidik boşluğunu örtən epitelini qanla dolu kapilyarları əhatə edən endotelidən ayırır. Qanın və ilkin sidiyin yaranmasında ultrafiltrənməyə məsul olan bu quruluşdakı qüsurlar böyrək çatışmazlığına səbəb olur. Məsələn, müəyyən IV α zəncirlərin C-sonluq qlobulyar domenini dəyişən mutasiyalar proqressiv böyrək çatışmazlığı ilə və eləcə də *Alport sindromu* kimi məlum olan, eşitmənin neyrosensor itməsi və görmənin pozulması ilə əlaqəlidir. Nisbətən az rast gəlinən avtoimmün xəstəliyi *Gudpastur sindromunda* anticismlər yumaqşəkili (glomerular) bazal membranında və ağ ciyərdə tapılmış IV tip kollagenin $\alpha 3$ zəncirinə birləşir. Bu birləşmə hüceyrə zədələnməsinə səbəb olan immün cavabını işə salır, nəticədə proqressiv böyrək çatışmazlığı və ağciyər qanaxması ilə nəticələnir. ■

Proteoqlikan Perlekan Bazal Laminanın Komponentlərini və Hüceyrə-Səth Reseptorlarını Çarpaz-Əlaqələndirir

Bazal laminada ən çox ifraz olunan proteoqlikan olan perlekan, polisaxaridlərin kovalent birləşdiyi çoxdomenli böyük (~470kDa) özək zülaldan ibarətdir. Özək zülal beş fərqli domenin çoxsaylı təkrarlarından ibarətdir, onlara laminin-bənzər LG domenlər (3 nüxsədə), EGF-bənzər domenlər (12 nüxsədə) və Ig domenləri (22 nüxsədə) daxildir. Çoxsaylı qlobulyar təkrarlar elektron mikroskopu ilə baxılarkən, təxminən 200-nm-uzunluqda sapa düzülmiş mirvari görünüşünü verir, buradan da onun adı *perlekan* (*perlecan* - *perl-mirvari*) yaranmışdır. Perlekan üç tip kovalent polisaxarid zəncirə malikdir: N-əlaqəli zəncir (bax Fəsil 14), O-əlaqəli zəncir və qlikozaminqlikanlar (GAG-lar) (O-əlaqəli şəklər və GAG-lar sonra, növbəti 20.4 bölməsində müzakirə olunur). GAG-lar təkrarlanan disaxaridlərin uzun, xətti polimerləridirlər. Kovalent birləşmiş GAG zəncirlərinə malik olan qlikozülallar *proteoqlikanlar* adlanırlar. Perlekanın həm zülal həm də GAG komponentləri onun bazal laminaya daxil olaraq onun

quruluşunu və funksiyasını müəyyən etmək qabiliyyətinə kömək edir. Onun çoxsaylı domenləri və polisaxarid zəncirləri fərqli birləşdirmə xassəsinə malik olduğundan perlekan ECM komponentlər (məsələn, laminin, nidogen, entaktin), hüceyrə-səth reseptorları və polipeptid boy faktorları daxil olmaqla onlarla başqa molekullarla birləşir. Bu molekulların eyni zamanda birləşməsi perlekan-vasitəsilə çarpaz əlaqələnmə ilə nəticələnir. Perlekan bazal lamina və qeyri-bazal lamina ECM-lərində tapıla bilər. Adgeziya reseptoru distroqlikan perlekanla onn LG domenləri vasitəsilə birbaşa və onun lamininə birləşməsi ilə dolayı yolla birləşə bilər. İnsanlarda, perlekan genində mutasiya ya dvorfizm (cırdanlığa) ya da əzələ anormallığına səbəb olur, görünür bu əzələ buraxılmalarını nizamlayan neyroəzələ qovşaqlarının disfunksiyası ilə bağlıdır.

20.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrəxarici Matrisa I: Bazal Lamina

- Matrisasom ECM-in özündən və ECM-lə assosiasiyada olan və onu kovalent modifikasiya edən (məsələn, kimyəvi çarpaz bağlayan, fosforlaşdırıcı, doğrayan) zülallardan ibarət olan zülallar ansamblidir
- ECM molekullarının nazik toru olan bazal lamina epitelini və hüceyrələrin başqa təşkil olunmuş qruplarını qonşu (bitişik) birləşdirici toxumadan ayırır. Bazal lamina və birbaşa ona bitişik olan kollagen şəbəkə birlikdə bazal membran adlanan quruluşu əmələ gətirirlər.
- Dörd ECM zülalı: laminin (çox-yapışqanlı matrisa zülalı), IV tip kollagen, perlekan (proteqlikan) və nidogen/entaktin bütün bazal laminalarda tapılmışdır (bax Şəkil 20-23).
- İnteqrin kimi adgeziya reseptorları hüceyrələri bazal laminaya bərkidir, o isə öz növbəsində başqa ECM komponentlərə bağlanır (bax Şəkil 20-1). Bazal laminada laminin $\alpha 6\beta 4$ inteqrinin əsas liqandıdır (bax Cədvəl 20-4).
- Laminin və başqa çox-yapışqanlı (multi-adhesive) matrisa zülalları çoxsaylı adgeziya reseptorlarının və ECM komponentlərinin birləşdiyi çoxdomenli molekullardır.
- IV tip kollagenin böyük, elastik molekulları uc-uc və lateral qarşılıqlı təsirdə olaraq, başqa ECM komponentlərin və adgeziya reseptorlarının birləşmə bildiyi tor-şəkili skafoldu əmələ gətirirlər (bax Şəkillər 20-23 və 26).
- IV tip kollagen ona üçlü spiral quruluşu verən Gly-X-Y təkrarlanan tripeptid ardıcılığın mövcud olması ilə fərqlənən kollagen zülallar ailəsinin nümayəndəsidir (bax Şəkil 20-25). Müxtəlif kollagenlər onlardakı α zəncirin uzunluqlarına və kimyəvi modifikasiyalarına görə və onların üçlü-spiral rayonlarını qıran və ya onlara cinah olan seqmentlərin mövcud olması və ya olmamasına görə fərqlənirlər.
- Böyük çoxdomenli, ifraz olunan proteoqlikan olan perlekan, əsasən bazal laminada mövcud olur, çoxsaylı ECM komponentlərinə və adgeziya reseptorlarına birləşir. Proteoqlikanlar bir və ya daha artıq qlikozaminoqlikanlar (GAG-lar) adlanan polisaxarid zəncirə kovalent birləşmiş membranla-assosiasiyalı və ya ifraz olunan özək (əsas) zülallardan ibarətdirlər.

20.4 Hüceyrəxarici Matrisa II: Birləşdirici toxuma

Vətar və qığırdaq kimi bağlayıcı toxuma digər bərk toxumalardan onunla fərqlənir ki, onun həciminin çox hissəsi hüceyrələrdən deyil hüceyrəxarici matrisadan ibarətdir. Bu ECM həllolmayan zülal lifləri ilə doludur. Birləşdirici toxumalarda ECM bir neçə əsas komponentə malikdir, bunlardan bəziləri başqa tip toxumalarda da tapılmışdır.

- *Kollagenlər*, trimer molekullar olub, çox zaman liflər şəkilində dəstlər əmələ gətirirlər (fibrilyar kollagenlər)
- *Qlikozaminoqlıkanlar (GAG)*, yüksək dərəcədə hidratasiya oluna bilən və müxtəlif birləşdirmə və fiziki (məsələn, dözümlülük və sıxılmaya) xassələrə malik olan, spesifik təkrarlanan disaxaridlərin ixtisaslaşmış xətti polisaxarid zəncirləri.
- *Proteoqlıkanlar*, bir və ya daha artıq kovalent birləşmiş GAG zəncirlərə malik olan qlikozülallər
- *Çox-yapışqanlı (multi-adhesive) zülallar*, böyük çox domenli zülallar, çox zaman bir neçə fərqli domenin çoxsaylı nüsxələrindən ("təkrarlardan") ibarət olur, müxtəlif adgeziya reseptorlarına və ECM komponentlərinə birləşərək çarpaz əlaqələndirir
- *Elastin*, elastik liflərin amorf özəyini əmələ gətirir

Kollagen birləşdirici toxumalarda olan ən bol zülal fibrilyar zülaldır. Rezinə bənzər elastin lifləri dartıla və boşala bilir, deformasiya olunan sahələrdə də (məsələn, dəridə, vətərdə, ürəkdə) mövcuddurlar. Çox-yapışqanlı matrisa zülallar ailəsi fibronektinlər əksər birləşdirici toxumaların ECM-də öz fərqli liflərini əmələ gətirirlər. Baxmayaraq ki, birləşdirici toxumalarda bir neçə tip hüceyrə tapılmışdır, müxtəlif ECM komponentlərini **fibroblastlar** adlanan hüceyrələr istehsal edirlər. Bu bölmədə biz birləşdirici toxumalarda müxtəlif ECM komponentlərinin quruluşunu və funksiyasını tədqiq edirik, və biz görürük ki, ECM müxtəlif xüsusi proteazalar vasitəsilə necə dağılır və yenidən modelləşir.

Fibrilyar Kollagenlər Birləşdirici Toxumanın ECM-dəki Əsas Lifli Zülallardır

Orqanizmdəki kollagenin təxminən 80-90 faizə qədər *fibrilyar kollagenlərdən* təşkil olunub (I, II və III tiplər) və əsasən birləşdirici toxumalarda yerləşirlər (bax Cədvəl 20-5). Siçovul quyruğu kimi vətərlə zəngin olan toxumalarda çox olmasına görə, I tip kollageni ayırmaq asan olmuşdur və bu ilk xarakterizə olunan kollagenidir. Onun fundamental quruluş vahidi çox uzun (300 nm), nazik (1.5 nm diametrdə) olduğundan üçqat spiral (bax Şəkil 20-25) iki $\alpha 1(I)$ zəncirdən və bir $\alpha 2(I)$ təşkil olunub, hər biri 1050 amin turşusu uzunluqdadır. Üç-zəncirli molekullar sıx şəkildə bir yerə bükülmüş və bir-biri ətrafında sarınmış, kollagen *fibrillər* adlanan yüksək dərəcəli polimerdə assosiasiya olunan *mikrofibrilləri* əmələ gətirmişlər, onlar da öz növbəsində

aqrəqasiya edərək *liflər* adlanan böyük bağları əmələ gətirirlər (Şəkil 20-27).

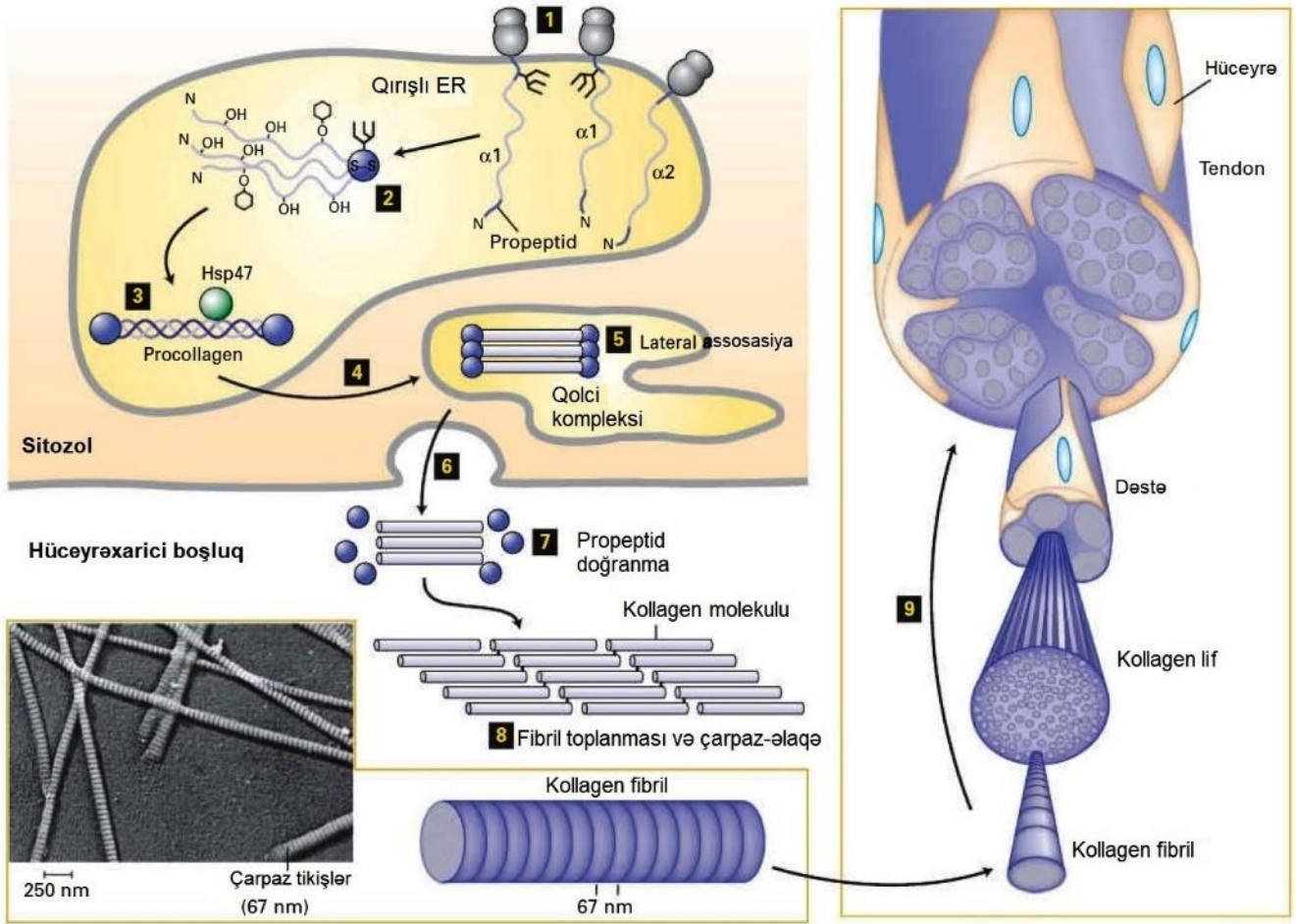
Kollagenlərin daha az yayılmış, amma bununla belə çox əhəmiyyətli olan siniflərinə daxildirlər: *fibril-assosiasiyalı kollagenlər*, bunlar fibrilyar kollagenləri bir-biri ilə və ya ECM ilə əlaqələndirirlər; *təbəqə-əmələ gətirən və lövbər edən kollagenlər* bazal laminada iki-ölçülü şəbəkəni yaradır (IV tip) və bazal laminanı dəridə altı yerləşən birləşdirici toxumaya bağlayır (VII tip); *transmembran kollagenlər* adgeziya reseptorları kimi fəaliyyət göstərir; *sahibi mühafizə edən kollagenlər* orqanizmə patogenləri tanıyıb onu uzaqlaşdırmaqda kömək edir. Maraqlıdır ki, bir sıra kollagenlər (məsələn, IX, XVIII və XV tip kollagenlər) həmçinin, onlara kovalent birləşmiş GAG-lara malik olan proteoqlıkanlardır (bax Cədvəl 20-5).

Fibrilyar Kollagenlər Hüceyrə Xaricində Fibrillərə İfraz Olunur və Toplanırlar

Fibrilyar kollagenlər ifraz olunan zülallardır, əsasən fibroblastlarla ECM-lərdə istehsal olunurlar. Kollagenin biosintezi və ifrazı, Fəsil 13 və 14-də ətraflı təsvir edilmiş, ifraz olunan zülallar üçün olan normal yolu keçir. Kollagen α zəncirlər, pro- α zəncirlər adlanan uzun sələflər kimi endoplazmatik şəbəkəyə (ER) qoşulmuş ribosomlarda sintez olunurlar. Pro- α zəncirlər hüceyrədən buraxılmamışdan öncə bir sıra kovalent modifikasiyalara uğrayırlar və üçqat-zəncirli *prokollagen* molekullarda bükülmürlər (bax Şəkil 20-27).

Prokollagen hüceyrədən ifraz olunduqdan sonra, hüceyrəxarici peptidazalar N-sonluq və C-sonluq propeptidləri kəsb ayırır. Nəticədə əmələ gələn, uzun xarakterik kollagen təkrarlanan Gly-X-Y ardıcılıq motifinə görə təxminən tam üçqat-zəncirli spiraldan ibarət olan molekullar, 50-200 nm diametri olan fibrilləri yaratmaq üçün lateral assosiasiya edirlər. Fibrillərdə bir-birinə yaxın (bitişik) olan kollagen molekulları bir-birindən 67 nm, təxminən uzunluqlarının dördüdə biri qədər məsafədə yerini dəyişir. Bu qərribə sıralar, kollagen liflərinin həm işıq həm də elektrən mikroskopundakı şəkilində görünə bilən zolaqlı təsviri yaradır (bax Şəkil 20-27, *əlavədə*). Fibrilyar kollagenlərin unikal xassəsi liflərin əmələ gəlməsinə görədir.

Fibrilyar kollagen α zəncirlərin istənilən ucunda təkrarlanan Gly-X-Y ardıcılıq motifində ibarət olmayan və beləliklə də üçqat-spirallı olmayan qısa seqment kollagen liflərin yaranmasında xüsusi əhəmiyyət kəcb edir. Bu seqmentlərdə lizin və hidrosilizin yan zəncirlər hüceyrəxarici lizil oksidazalarla kovalent modifikasiya olunaraq yan zəncirin sonunda amin qrupunun yerində aldehidləri yaradırlar. Bu reaktiv aldehid qrupları bitişik molekullarda lizin, hidrosilizin və histidin qalıqlarında kovalent çarpaz-kəşiməni əmələ gətirirlər. Çarpaz-kəşimələr kollagen molekulların yan-ba-yana yerləşdirilərək qablaşdırılmasını və çox möhkəm fibrilləri (lifləri) əmələ gətirməsini təmin edirlər. Terminal propeptidlərin və kovalent çarpaz-kəşimənin uzaqlaşdırılması hüceyrəxarici boşluqda baş verir və hüceyrə daxilində potensial katastrofik (təhlükəli) çox böyük fibrillərin toplanmasına mane olur.



ŞƏKİL 20-27 Fibrilyar kollagenlərin biosintezi. Pıllə 1:

Prokollagen α -zəncirlər endoplazmatik şəbəkəyə (ER) qoşulmuş ribosomlarda sintez olunur, və ER-də asparagin-əlaqəli oliqosaxaridlər C-sonluq propeptidə əlavə edilir. Pıllə 2: Propeptidlər trimerləri əmələ gətirmək üçün assosasiya edərlər və disulfid rabitələri ilə kovalent əlaqələnirlər, Gly-X-Y triplet təkrarlarda seçilmiş qalıqlar kovalent modifikasiya olunurlar [müəyyən prolinlər və lizinlər hidrosilləşirlər, qalaktoza və ya qalaktoza-qlükoza (heksaqonlar) bəzi hidrosilizinlərə qoşulurlar, prolinlər cis→trans izomerləşirlər]. Pıllə 3: Modifikasiyalar üçqat spiralin cilidkə-şəkilli forma əmələgəlməsinə və stabilləşməsinə, Hsp47 çaperon zülalı ilə birləşməyə imkan yaradırlar, bu isə spiralların stabilləşməsinə imkan verir və ya trimerlərin yetişməmiş aqreqasiyasına mane olur və ya hər ikisinə səbə olur. Pıllə 4 və 5: Bükülmüş prokollagenlər Qolci kompleksinə və oradan

keçərək daşınırlar, bu zaman dəstələr əmələ gətirən bəzi lateral assosasiyalar baş verir. Sonra zəncirlər ifraz olunurlar (pıllə 6), N- və C-sonluq propeptidləri atılır (pıllə 7), sonra trimerlər fibrillərdə toplanırlar və kovalent çarpaz-əlaqələnirlər (pıllə 8). Trimerlərin 67-nm-lik qəribə səpələnməsi liflərə (fibrillərə) elektron mikrofotosunda zolaqlı görünüş verir (əlavədə). Pıllə 9: Fibrillər getdikcə böyük dəstələrdə toplanma bilirlər, bəziləri əzələləri sümüyə birləşdirən vətərləri əmələ gətirirlər. Bax A. V. Persikov and B. Brodsky, 2002, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**:1101–1103. [Əlavə: John Wiley & Sons, Inc., razılığı ilə Gross, J., "Evaluation of structural and chemical changes in connective tissue," *Ann. NY Acad. Sci.*, 1953, **56**(4):674–83-dən yenidən çap olunur; razılı Copyright Clearance Center, Inc.vasitəsilə alınır.]



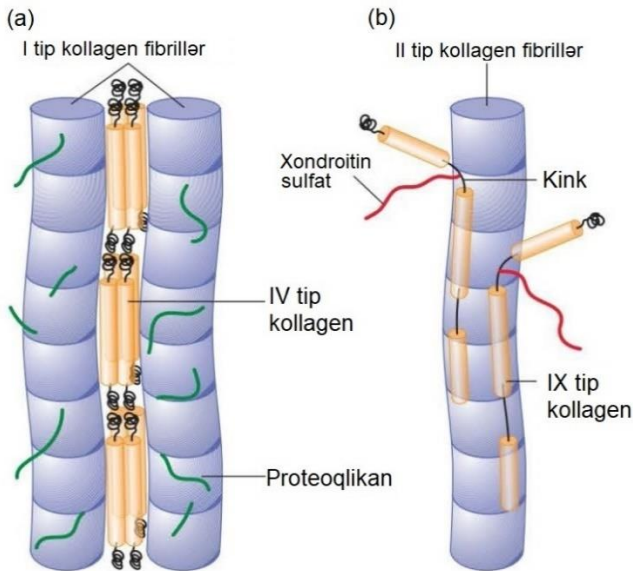
Pro- α -zəncirlərin posttranslyasiya modifikasiyaları yetişmiş kollagen molekullarının yaranması və onların liflərdə toplanması üçün çox mühümdür. Bu modifikasiyalardakı qüsurlar ciddi nəticələrə səbəb olur, qədim dənizçilərdə bu tez-tez rast gəlinirdi. Məsələn, askorbin turşusu (C vitamini) pro- α -zəncirində prolin və lizin qalıqlarına hidrosil qruplarını əlavə edən hidrosilazalar üçün çox vacib kofaktordur. Sinqa xəstəliyində olduğu kimi, askorbatdan məhrum edilmiş hüceyrələrdə pro- α -zəncirlər normal bədən temperaturunda stabil üçqat-zəncirli prokollagenləri əmələ gətirmək üçün kifayət qədər hidrosilləşməmiş və əmələ gəlmiş prokollagenlər normal liflərdə (fibrillərdə) toplanma bilmirlər. Kollagenin

quruluş təminatı olmadan qan damarları vətərlər və dəri davamsız olur. Qidalanma dietasında təzə meyvə normal kollagenin əmələ gəlməsi üçün kifayət qədər C vitaminini təmin edə bilər. Tarixən, İngilis dənizçilərinə sinqadan mühafizə olunmaq üçün limon (limes) verilərdi ki, buna da "limeys" deyilərdi. Lizil hidrosilaza genlərindəki mutasiyalar da birləşdirici toxumalarda qüsurların yaranmasına səbəb ola bilər.

I və II Tip Kollagenlər Müxtəlif Quruluşları Yaratmaq üçün Qeyrifibrilyar Kollagenlərlə Assosasiya Edirlər

Kollagenlər əmələ gətirdiyi liflərin (fibers) quruluşuna görə və onların şəbəkələrdə necə təşkil olunmasına görə fərqlənirlər. Kollagenin birləşdirici toxumalarda tapılmış dominantlıq edən tiplərindən I tip kollagen uzun lifləri əmələ gətirdiyi halda II tip kollagen daha çox torşəkilli olur. Məsələn, vətərlərdə uzun I tip kollagen liflər əzələləri sümüklərə birləşdirir və həddən artıq güclü qüvvəyə davam gətirirlər. I tip kollagen liflər çox böyük gərginlik gücünə malik olduğundan vətərlər adətən qırılmadan dartıla bilirlər. Həqiqətən də qrama-qram götürülmüş vətər poladdan möhkəmdir. Miqdarca az olan iki fibrilyar kollagen, V tip və XI tip kollagenlər liflərdə I tip kollagenlərlə birgə toplanırlar və bununla da liflərin quruluşunu və xassələrini tənzimləyirlər. Məsələn, V tip kollagenin inkorporasiyası kiçik diametrlili liflərin əmələ gəlməsi ilə nəticələnir.

I tip kollagen liflər də sümüklərin qurulmasında gücləndirici çubuqlar kimi istifadə olunurlar. Sümüklər və dişlər böyük miqdarda kristal kalsium və fosfat tərkibli minerala olan **dahlitə** malik olduğundan onlar güclü və möhkəm olurlar. Sümüklərin əksəriyyəti təxminən 70 faiz minerallardan, 30 faiz zülallardan və bunların da böyük əksəriyyəti I tip kollagenə ibarətdir. Müəyyən hüceyrələr (xondrositlər və osteoblastlar) kollagen ifraz edəndə və onlar da kiçik dahlit kristallarını yerləşdirilməsi ilə mineralaşanda sümüklər əmələ gəlir.



ŞƏKİL 20-28 Fibrilyar kollagenlərin fibrill-assosiasiyalı kollagenlərlə qarşılıqlı əlaqəsi. (a) Vətərlərdə I tip fibrillər hamısı vətərə yönəlmiş stress istiqamətində olurlar. Proteoqlikanlar və VI tip kollagenlər I tip fibrillərə qeyri kovalent birləşərək səthi örtürlər. Qlobulyar və üçqat-spiral seqmentlərinə malik olan VI tip kollagenlərin mikro fibrilləri I tip fibrillərə birləşir və onları daha qalın liflərdə bir yerə bağlayır. Bax R. R. Bruns et al., 1986, *J. Cell Biol.* 103:393. (b) Qığırdaqda IX tip kollagen molekulaları II tip fibrillər boyu müntəzəm intervalda birləşir. Dəyişkən ilgəkdə $\alpha 2(IX)$ zəncirə kovalent bağlanan xondroitin sulfat zənciri, qlobulyar N-sonluq rayonunda olduğu kimi, fibrildən kənara uzanır. Bax L. M. Shaw and B. Olson, 1991, *Trends Biochem. Sci.* 18:191.

Əksər birləşdirici toxumalarda, xüsusən də skelet əzələlərində proteoqlikanlar və VI tip kollagen kimi adlandırılan

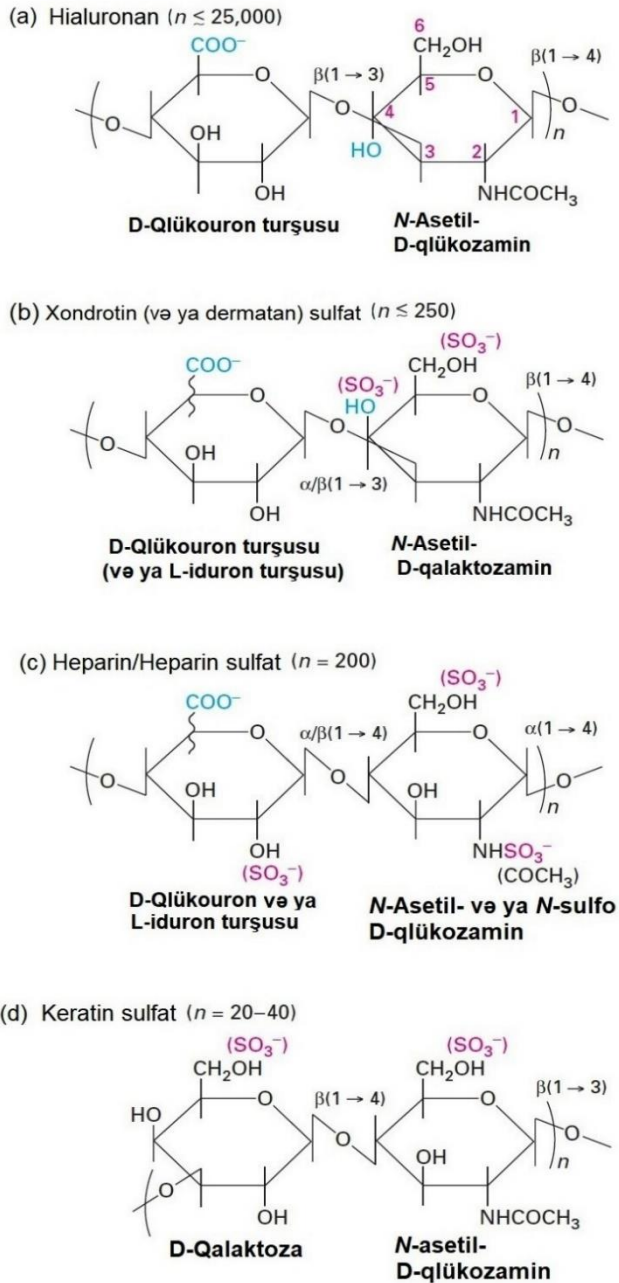
fibril-assosiasiyalı kollagen yan tərəfdən I tip fibrillərə qeyri kovalent birləşir və fibrilləri bir yerə bağlayaraq birlikdə qalın kollagen liflərini (fibrillərini) əmələ gətirirlər (Şəkil 20-28a). IV tip kollagen molekulu nisbətən qısa üçqat spiraldan təşkil olunduğuna və hər iki ucunda qlobulyar domen olduğuna görə qeyri adidir. İki VI tip monomerin assosiasiyası “antiparallel” dimeri əmələ gətirir. Bu dimerlərin öz qlobulyar domenləri vasitəsilə uc-uca assosiasiyası VI “mikrofibrilləri” əmələ gətirir. Bu mikrofibrillərin, təxminən 60 nm uzunluqda üçqat-spiral rayonlarının 40 nm-uzunluqda qlobulyar domenlərlə ayrılmış sapa-düzülmüş-muncuq görünüşü vardır.

Qığırdağın əsas kollageni olan II tip kollagenin fibrilləri diametrinə görə I fibrillərdən kiçikdir və viskoz proteoqlikan matrisada nizamsız yönəlmişdir. Sərt kollagen liflər matrisaya sərtlik verir və böyük deformasiyalara dözümlülüyü artırır. II tip fibrillər digər fibril-assosiasiyalı kollagen olan IX tip kollagenlər vasitəsi ilə matrisa proteoqlikanlara çarpaz bağlanır. IX tip kollagen və başqa bir sıra oxşar tiplər dəyişkən ilgəklər və qlobulyar N-sonluq seqment ilə bağlanmış iki və ya üç üçqat-spirallı seqmentlərə malikdirlər (Şəkil 20-28b). IX tip kollagenin qlobulyar N-terminal seqmenti, bəzən IX tip zəncirlərin biri ilə əlaqəli olan xondroitin sulfat GAG zənciri (xondroitin sulfat aşağıda təsvir edilmişdir) kimi, II tip fibrilin spiral seqmentlərinin birinin ucundan uzanır. Qeyri spiral quruluşun belə çıxıntısı guman olunur ki, II tip fibrili proteoqlikanlara və matrisanın başqa komponentlərinə bərkidir. IX tip və buna yaxın olan başqa kollagenlərin qırılmış (interrupted) üçqat-spiral quruluşları onların fibrillər daxilində toplanmasına mane olur, hərçənd ki, onlar başqa tip kollagenlərdən əmələ gəlmiş fibrillərlə assosiasiya edə bilirlər və onlarla kovalent çarpaz əlaqə əmələ gətirirlər.



I tip kollagenə və onunla assosiasiyada olan zülallara təsir edən mutasiya insanlarda müxtəlif xəstəliklərin yaranmasına səbəb olur. I tip kollagen $\alpha 1(I)$ və ya $\alpha 2(I)$ zəncirləri kodlaşdıran genlərdə baş verən müəyyən mutasiyalar *tamamlanmamış osteogenez (osteogenesis imperfecta)* və ya gövrək sümük xəstəliyiünin yaranmasına səbəb olur. Kollagen α zəncirində üçqat-spiralın formalaşması üçün hər üçüncü vəziyyətdə qlisinin olması vacib olduğundan (bax Şəkil 20-25) qlisinin istənilən başqa amin turşusuna mutasiyası zərərli və zəif formalaşmış qeyri stabil spiralın yaranmasına səbəb olur. Kollagen molekulunda üç α zəncirdən yalnız birinin qüsurlu olması bütün molekulun üçqat-spiral quruluşunu və funksiyasını qıra bilər. Hər ikisi autosomlarda yerləşən bir nüsxə (allel) $\alpha 1(I)$ və ya $\alpha 2(I)$ genin istənilən birinin mutasiyası bu pozuntulara səbəb ola bilər. Beləliklə, o normal halda autosomal-dominant irsilik göstərir (bax Fəsil 6).

Əzələ toxumalarında fibril assosiasiyalı kollagenin funksiyasının VI tip kollagen genindəki mutasiya ilə bağlı itirilməsi və ya düzgün işləməməsi (multifunctioning) ümumiləşdirilmiş əzələ zəifliyi, tənəffüs çatışmazlığı, əzələlərin israf olunması və əzələ ilə bağlı oynaq anormallığı kimi dominant və ya resesiv anadangəlmə əzələ distrofiyasına səbəb olur. VI tip kollagen xəstəliyi kimi dəri anormallığının da olması göstərilmişdir. ■



ŞƏKİL 20-29 Qlükozaminqlikanların (GAG) təkrarlanan disaxaridləri. GAG-ların dörd sinifinin hər biri monomer vahidlərin xüsusi bir disaxaridin təkrarları daxilində polimerləşməsi və ardınca da modifikasiyası, o cümlədən sulfat qruplarının əlavə edilməsi və L-iduron turşusunun əmələ gəlməsi üçün D-qlükouron turşusunda 5-ci karbondə karboksil qruplarının inversiyası (epimerizasiya) nəticəsində formalaşır. Dalğalı əyilmiş xətlər hələqədən yuxarıya (D-qlükouron turşusu) və ya aşağıya (L-iduron turşusu) istiqamətlənmiş kovalent rabitələri təmsil edir. Heparin heparin sulfatın hipersulfatlaşması ilə yaranır, hiyaluronan isə sulfatlaşmır.

Proteoqlikanlar və Onları Təşkil Edən GAG-lar ECM-də Müxtəlif Rol Oynayırlar

Bizim bazal laminada perlekanla gördüyümüz kimi, proteoqlikanlar hüceyrə ECM adgeziyasında əhəmiyyətli rol oynayırlar. Proteoqlikanlar ifraz olunan hüceyrə-səth

qlikozülallarının qlikoamionoqlikanlar (GAG-lar) adlanan kovalent əlaqəli xüsusi polisaxarid zəncirlərə malik olan bir yarımqrupdur. GAG-lar spesifik təkrarlanan disaxaridlərin uzun xətti polimerləridir. Adətən bir şəkər ya uron turşusu (D-

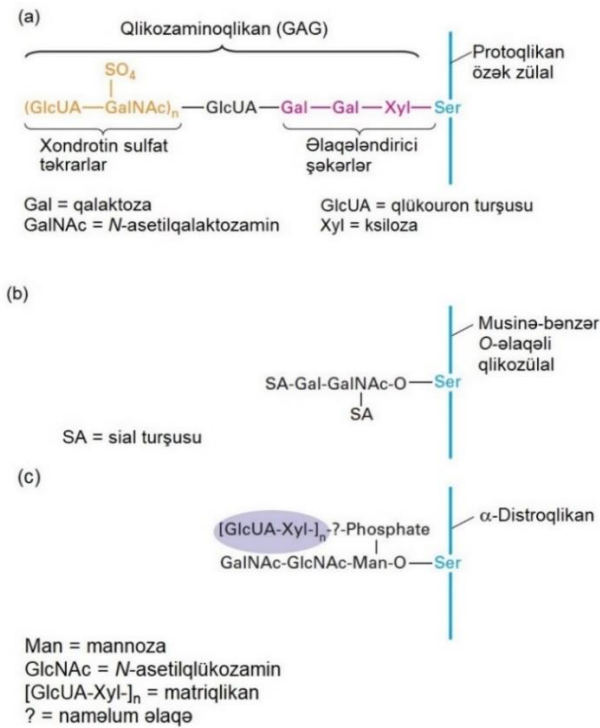
qlikouron turşusu və ya L-iduron turşusu) ya da D-qalaktoza olur; digər şəkər isə N-asetilqlükozamin və ya N-asetilqalaktozamin olur (Şəkil 20-29). Şəkərlərin biri və ya hər ikisi ən azı bir anion qrupuna malik olur (karboksil və ya sulfat). Beləliklə hər bir GAG zəncir çoxsaylı mənfi yüklər yaradır. GAG-lar təkrarlanan disaxarid vahidin təbiətinə görə bir neçə əsas tipdə təsnifləşdirilir: heparan sulfat, xondroitin sulfat, dermatan sulfat, keratan sulfat və hiyaluronan (Şəkil 20-29). Heparan sulfatın *heparin* adlanan hipersulfatlaşmış forması əksər hüceyrələr tərəfindən istehsal olunur və allergik reaksiyalarda əsas rol oynayır. O həmçinin antitrombin III adlanan təbii laxtalanma ingibitorunu fəallaşdırma bilmək xassəsinə malik olduğuna görə təbabətdə qan laxtalanmasına qarşı dərman kimi də istifadə olunur.

Aşağıda müzakirə edilən hiyaluronan istisna olmaqla bütün əsas GAG-lar proteoqlikanların təbii komponentləri kimi mövcud oplurlar. Digər ifraz olunan və transmembran qlikozülallar kimi proteoqlikan özək zülallar endoplazmatik şəbəkədə sintez olunurlar və Qolci kompleksində GAG zəncirlər bu özək zülalda toplanaraq kovalent birləşirlər. Heparan və ya xondroitin sulfat zəncirlərini yaratmaq üçün üç-şəkərli "linker" əvvəlcə özək zülaldakı müəyyən serin qalıqlarının hidroksil yan zəncirlərinə qoşulur, beləliklə, bu GAG-lar O-əlaqəli oliqosaxaridlər olur (Şəkil 20-30). Əksinə, keratan sulfat zəncirlərini əlavə etmək üçün linkerlər asparagin qalıqlarına qoşulmuş oliqosaxarid zəncirləridir; bu cürə N-əlaqəli oliqosaxaridlər çox qlikozülallarda mövcuddurlar (bax Fəsil 14), hərçənd ki, bunların kiçik bir yarımqrupdakılar GAG zəncirlərini daşıyırlar. Bütün GAG zəncirləri GAG üçün xarakterik disaxarid təkrarları əmələ gətirmək üçün şəkər monomerlərinin alternativ əlavə olunması ilə uzanır; zəncirlər çox zaman sulfatlar kimi kiçik molekulların kovalent əlaqələri vasitəsilə sonradan modifikasiya olunurlar. Hansı zülalların GAG-larla modifikasiya olunmasını, əlavə olunan disaxaridlərin ardıcılığını, sulfatlaşma saytlarını və GAG zəncirlərinin uzunluğunu təyin edən mexanizm hələ məlum deyil. Bütün proteoqlikanlarda polisaxaridin zülalə nisbəti digər qlikozülallardan daha çoxdur.

GAG Zəncirin Modifikasiyalarının Funksiyası Zülallarda amin turşularının ardıcılığına oxşar olaraq şəkər qalıqlarının GAG zəncirlərdə düzülüşü və bu zəncirlərdə spesifik şəkərlərin modifikasiyası onların funksiyasını və onlara malik olan proteoqlikanların funksiyasını təyin edir. Məsələn, heparin sulfat proteoqlikanların GAG zəncirlərində müəyyən şəkər qalıqlarının qruplaşması boy faktorlarının müəyyən reseptorlara birləşməsinə və ya qan-laxtalanması kaskadında zülalların fəaliyyətinə nəzarət edə bilər.

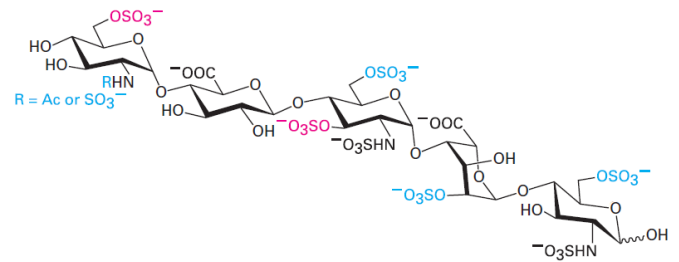
Əvvəllər proteoqlikanların kimyəvi və quruluş müxtəlifliyi onların quruluşunu və çoxsaylı funksiyasını analiz etmək üçün çətin maneə yaratmışdır. Son illər, tədqiqatçılar klassik və ən müasir biokimyəvi metodlardan, mass spektrometriyadan və genetikadan istifadə edərək hər yerdə mövcud olan ECM molekullarının dəqiq quruluşunu və funksiyasını izah etməyə başladılar. Davam edən tədqiqatların nəticələri göstərdi ki, tək

unikal ardıcılığın deyil, ümumi modifikasiyaya malik olan şəkər qalığı ardıcılıqlarının dəsti fərqli GAG funksiyalarının həyata keçirilməsini yerinə yetirir. Buna misal, əsas qan laxtalanması proteazası trombinin ingibitoru, antitrombin III (ATIII) fəaliyyətinə nəzarət edən heparin GAG-lar yarımqrupunda tapılmış beş-qalıqlı (pentasaxaridlərin) ardıcılıq dəstinə göstərmək olar. Bu pentasaxarid ardıcılıqlar heparində iki spesifik mövqedə sulfatlananda (Şəkil 20-31) heparin ATIII-ü fəallaşdırır və bununla da qan laxtalanmasını ingibirləşdirir. Bir sıra başqa sulfatlar fəal pentasaxariddə müxtəlif kombinasiyalarda mövcud ola bilər, amma onlar heparinin laxtalanmaya qarşı olan fəaliyyəti üçün əhəmiyyətli deyildirlər. Tək bir unikal ardıcılığın deyil, oxşar fəal ardıcılıqlar dəstinin yaradılması üçün məntiqli dəlil hələ tam anlaşılır.



ŞƏKİL 20-30 Hidroksil (O-) əlaqəli oliqosaxaridlər. (a) Qlikozaminoqlikanın, indiki halda xondroitin sulfatın sintezi, böyük ehtimalla Qolci kompleksində ksiloza (Xyl) qalığının əsas (özək) zülaldakı serin qalığına keçirilməsi ilə inisiyasiya olunur, ardınca da iki qalaktoza (Gal) qalığı ardıcıl əlavə edilir. Sonra, qlükouron turşusu (GlcUA) və N-asetilqalaktozamin (GalNAc) qalıqları ardıcıl olaraq bu bağlayıcı şəkərlərə əlavə edilir və bu GalNAc monomerlərin bəziləri sulfatlaşır və xondroitin sulfat zəncirini yaradır. Heparin sulfat zəncirləri eyni üç-şəkərli linkerlə özək zülalə bağlanırlar. Keratan sulfat GAG-lar O-əlaqəli deyil, N-əlaqəli bağlanma ilə zülallara kovalent birləşirlər. (b) Musinə-bənzər O-əlaqəli zəncirlər, müxtəlif başqa şəkərlərin və çox zaman salsil turşusunun (SA) kovalent birləşdiyi N-asetilqlükozamin (GalNAc) monosaxarid vasitəsi ilə qlikozülallara kovalent birləşirlər. (c) Müəyyən ixtisaslaşmış O-əlaqəli oliqosaxaridlər, məsələn, adgeziya reseptoru distroqlikanlarda tapılanlar kimi, zülalə mannoza (Man) monosaxaridləri vasitəsilə birləşirlər. GlcUA-Xyl disaxaridin (kəlgələnmiş) polimeri matriqlikanın fosfat vasitəsi ilə mannozaya birləşməsi və məlum olmayan başqa əlaqələr (?) distroqlikanda laminin və perlekan kimi ECM molekulları üçün birləşmə mərkəzlərini təmin edirlər.

Proteqlikanların Müxtəlifliyi Proteqlikanlar bütün heyvan toxumalarında ECM-lərdə zəngin olan və hüceyrə səthində ekspressiya olunan molekulların geniş müxtəlifliyə malik olan bir qrupunu təşkil edirlər. Məsələn, heparin sulfat proteqlikanların beş əsas sinifinin üçü (perlekan, aqrin və XVIII tip kollagen) ECM-lərdə yerləşir, ikisi isə hüceyrə səth zülallarıdır. Sonunculara inteqral membran zülalları (sindekanlar) və GPI-qoşulmuş zülallar (qlipikanlar) daxildirlər; hüceyrə-səth proteqlikanlarının iki tipində GAG zəncirlər hüceyrəxarici boşluğa uzanır. Proteqlikan özək zülalın ardıcılığı və uzunluğu kifayət qədər fərqlənirlər və qoşulmuş GAG zəncirlərin sayı bir neçə dənədən 100-dən artığa qədər dəyişilə bilər. Bundan başqa, özək zülal çox zaman iki müxtəlif tipli GAG zəncirlə əlaqəli olub “hibrid” proteqlikanları əmələ gətirirlər. Bazal lamina proteqlikanı perlekan ilkin olaraq üç və ya dörd GAG zəncirə malik olan heparin sulfat proteqlikandır, hərçənd ki, onun hərdən ona birləşmiş xondroitin sulfat zənciri də olur. Proteqlikanlardakı əlavə müxtəliflik eyni özək zülalə birləşmiş əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənə bilən GAG zəncirlərin sayına, tərkibinə və ardıcılığına görə baş verir. *Drosophila melanogaster*, *C. elegans* və siçanda proteqlikan istehsalında qüsurlu mutanların laboratoriyada yaradılması və analizi aydın şəkildə tə göstərdi ki, proteqlikanlar inkişafda kritik əhəmiyyətli rol oynayırlar, məsələn, müxtəlif siqnal yollarında iştirak edirlər (nümunə üçün, Fəsil 16-da TGF- β , Wnt yolları bax).



ŞƏKİL 20-31 III antitrombinin (ATIII) fəallığını tənzimləyən pentasaxarid GAG ardıcılıq. Çox uzun GAG-da heparin adlanan modifikasiya olunmuş beş-qalıqlı ardıcılıqlar dəsti burada göstərilmiş kompozisiya (tərkib) ilə ATIII-ə birləşir və onu fəallaşdırır, beləliklə, qan laxtalanmasını ingibirləşdirir. Qırmızı tiptəki sulfat qruplar bu heparinin fəaliyyəti üçün vacibdir; mavi tiptəki modifikasiyalar mövcud ola bilər, amma vacib deyildir. Guman olunur ki, modifikasiya olunmuş GAG-ardıcılıqların başqa dəstləri başqa hədəf zülalların fəallığını tənzimləyir.

Sindekanlar epiteli və qeyri epiteli hüceyrələr tərəfindən ekspressiya olunan hüceyrə-səth proteqlikanlarıdır, kollagenlərə və fibronektin kimi çox-yapışqanlı matrisə zülallarına birləşərək hüceyrələri ECM-ə bərkidir. Çox inteqral membran zülallarında olduğu kimi, sindekanların sitozol domenləri aktin sitoskeletlə və bəzi hallarda hüceyrədaxili tənzimləyici molekullarla qarşılıqlı əlaqədə olur. Bundan başqa, sindekan kimi hüceyrə-səth proteqlikanları çox zülal boy faktorları ilə və başqa xarici siqnal molekulları ilə birləşir, beləliklə hüceyrə metabolizminin və funksiyasının tənzimlənməsinə kömək edir. Məsələn, beyinin hipotalamus rayonunda sindekan, ərzaq çatışmazlığına cavab olaraq qidalanma davranışını modullaşdırır. Onlar bunu, qidalanma davranışını nizamlayan antiseptik peptidlərin

hüceyrə-səth reseptorlarına birləşməsində iştirak etməklə yerinə yetirirlər. Qidalanmış (doymuş) vəziyyətdə sindekanın heparan sulfat GAG zəncirləri ilə bəzədilmiş (dekorasiya olunmuş) hüceyrəxarici domeni proteoliz olunmaqla hüceyrə səthindən buraxılır, beləliklə antiseptik peptidlərin fəallığını və qidalanma davranışını supressiya edir. Beyinin hipotalamus rayonunda və başqa toxumalarda sindekan-1 genini superekspressiya etmək üçün yaradılmış siçanda antiseptik peptidlərlə qidalanmanın normal nizamlanması qırılır və heyvan həddən artıq yeyir və şişman (obese) olur.

Hialuronan Sıxılmaya Müqavimət Göstərir, Hüceyrə Miqrasiyasına Kömək Edir və Qığırdağa Gelə-Oxşar Xassə Verir

Hialuron turşusu (HA) və ya hialuronat kimi də adlandırılan **hialuronan** sulfatlaşmamış GAG-dır (baxz Şəkil 20-29), plazma-membranına-bağlanmış HA-sintaza adlanan fermentlə istehsal olunur və sintez olunan kimi birbaşa hüceyrəxarici boşluğa ifraz olunur. (Oxşar yanaşma bitki hüceyrələri tərəfindən əsas ECM komponenti sellülozanı istehsal etmək üçün istifadə olunur.) Hialuronan miqrasiya edən və ya proliferasiya edən, xüsusən embrional toxuma hüceyrələrini əhatə edən əsas ECM komponentidir. Bundan başqa o, çox ECM-lərdə, xüsusəndə qığırdağ ECM-lərdə tapılmış kompleks proteoqlikan aqreqatların özülünü təşkil edir. Hialuronan qəribə fiziki xassələrinə görə oynaqlar kimi çox toxuma tiplərinə sərtlik və davamlılığı, eləcə də sürtünmə keyfiyyətini verir.

Hialuronan molekulları uzunluğuna görə bir neçə disaxarid təkrardan 25000 təkrara qədər ola bilər. Dirsək kimi oynaqlarda tipik hialuronanın ümumi çəkisi 4×10^6 Da və uzunluğu 10 μm (təxminən kiçik hüceyrənin diametri qədər) olan 10000 qədər təkrara malik olur. Hialuronan molekulunun fərdi seqmentləri şəkərlər arasında β qalaktozid əlaqələrinə və geniş zəncirdaxili hidrogen rabitələrinə görə çəpşəkili konformasiyada bükülməklər. Müntəzəm intervalla xaricə uzanan mənfə yüklənmiş karboksilat qrupları arasında qarşılıqlı itələmə də onlara lokal sərt quruluşun yaranmasında kömək edir. Amma, hialuronan ümumilikdə uzun, sərt çəpşəkili fibrilyar kollagen deyildir, əksinə o məhlulda çox dəyişkəndir, brularaq və əyilərək çox konformasiyalara keçir və nizamsız spirali əmələ gətirir.

Səthində böyük miqdarda anion qalıqları olduğuna görə, hialuronan molekulu adətən böyük miqdarda su ilə birləşir və özünü təxminən 500 nm ölçülü böyük hidratlaşmış kürə kimi aparır. Hialuronanın qatılığı artdıqca uzun zəncirləri bir-birinə dolaşaraq qatılışdırılmış özlü gel formasını alır. Hətta, aşağı qatılıqda hialuronan hidratlaşmış geli əmələ gətirir, iki hüceyrə arası kimi məhdud məkanda yerləşdirdikdə, uzun hialuronan molekulları xaricə doğru basılmağa meyilli olurlar. Bu xaricə basılma hüceyrəxarici boşluqda *şişməni* və ya *turqor təzyiqini* əmələ gətirir. Bundan başqa kationların hialuronan səthində karboksilat (COO^-) qruplara birləşməsi ionların qatılığını artırır və bu yolla gəldə osmotik təzyiqi artırır. Bu şişmə qüvvəsi birləşdirici toxumaya, güclü dartılma qüvvəsinə dözmə qabiliyyətinə malik olan kollagen liflərdən fərqli olaraq, sıxılma qüvvəsinə qarşı dözümlülük də verir. Başqa yüksək dərəcədə yüklü olan GAG zəncirlər oxşar şəkildə hidratlaşır.

Hialuronan, hər biri oxşar üç-ölçülü konformasiyada olan hialuronan-birləşdirən domenlərə malik olan CD44 adlanan reseptor kimi çox sayda adgeziya reseptorları vasitəsi ilə çoxsaylı miqrasiya edən hüceyrələrin səthinə birləşir. Onun boş, hidratlaşmış və məsaməli təbiətinə görə hüceyrələrə birləşmiş hialuronan “qabıq” görünür onları bir-birindən uzaqda saxlayır, onlara hərəkət etmək və profefarasiya etmək üçün sərbəstlik verir. Hüceyrənin hərəkətinin dayandırılması və hüceyrə-hüceyrə yapışmalarının inisiasiyası tez-tez hallarda hialuronanın azalması, hialuronan reseptorun azalması və hüceyrəxarici matrisada hialuronanı dağıdan hüceyrəxarici ferment hialuronidazanın artması ilə korelyasiya edir. Hialuronandakı bu dəyişmələr əksər hüceyrə miqrasiyaları zamanı xüsusən əhəmiyyətlidir, belə ki, məməlilərdə ovulyasiyadan sonra yumurta hüceyrələrinin differensiasiyasını və onu əhatə edən mühitdən ayrılmasını asanlaşdırır.

Qığırdaqda dominantlıq edən *aqrekan* adlanan proteoqlikan hialuronanla, bəzən proteoqlikanların əmələ gətirdiyi kompleks quruluşları təsvir edən çox böyük aqreqatlarda toplanırlar. Bu proteoqlikan aqreqatların özülü çoxsaylı aqrekan molekullarının çox sıx, amma qeyri kovalent birləşdiyi uzun hialuronan moekuludur (Şəkil 20-32). Tək bir hialuronan-aqrekan aqreqatı, məlum olan ən böyük makromolekullar kompleksinin biri, 4 μm uzunluqdan artıq olur və həcmi bakteriya hüceyrəsinin tutduğu həcimdən böyük olur. Bu aqreqatlar qığırdağa onun unikal gelə-bənzər xassəsini və onun deformasiyalara davamlılığını verir, bu da ağırlığın yükdaşıyan oynaqlar (qovşaqlar) arasında paylanması üçün əhəmiyyətlidir.

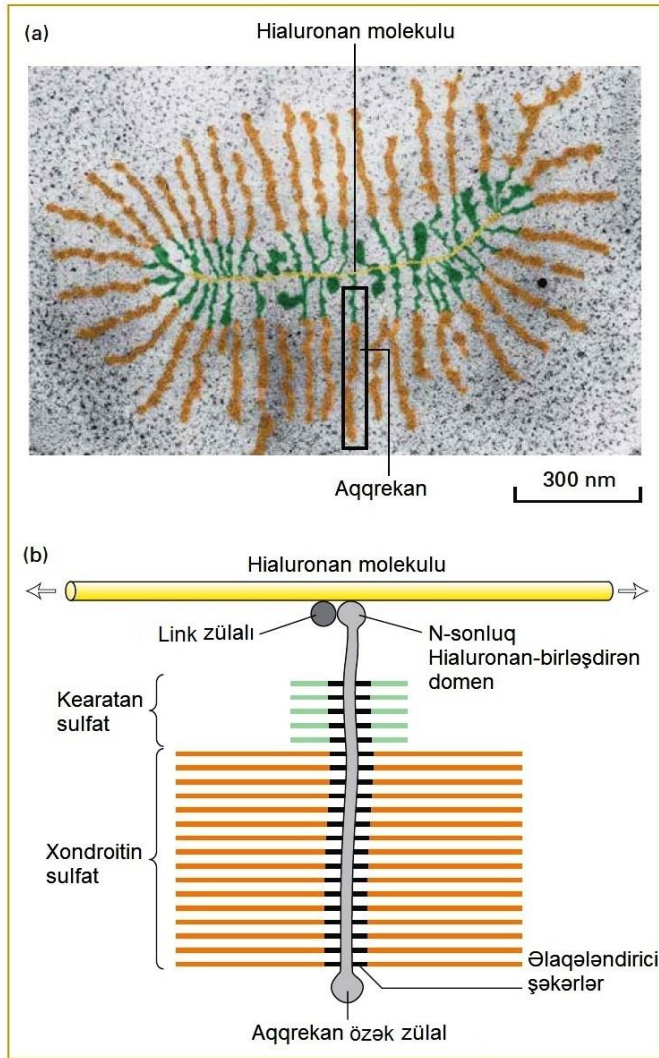
Aqrekan özk zülal (~250000 MW) hialuronan daxilində yüksək affinliklə spesifik disaxarid ardıcılığa birləşən bir N-sonluq qlobulyar domeninə malikdir. Bu spesifik ardıcılıq hialuronan zəncirində təkrarlanan disaxaridlərin bəzilərinin kovalent modifikasiya olunması ilə yaradılır. Aqrekanla hialuronan arasında qarşılıqlı əlaqə həm aqrekan özk zülalə həm də hialuronana birləşən link (əlaqə) zülalə ilə asanlaşır (Şəkil 20-32b). Aqrekan və link zülalə təxminən 100 amin turşusu uzunluqda ümumi “link” domenə malikdir və bu domen həm qığırdağ həm də qeyri qığırdağ toxumalarda çox sayda ECM-lərdə və hüceyrə-səth hialuronan birləşdirən zülallarda tapılmışdır. Bu zülallar demək olar ki, təkamülün gedişi zamanı məhz bu domeni kodlaşdıran vahid bir əcdad gəndən meydana gəlmişdir.

Fibronektinlər Hüceyrələri və ECM-i Birləşdirir, Hüceyrənin Formasına, Differensiasiyasına və Hərəkətinə Təsir Edir

Çoxsaylı müxtəlif hüceyrə tipləri, bütün onurğalılarda tapılmış çox-yapışqanlı zəngin matrisa zülalə **fibronektini** sintez edirlər. Fibronektinin adgeziya molekulu kimi fəaliyyət göstərməsinin aşkar edilməsi onların normal fubroblastların səthində mövcud olması müşahidələrindən meydana gəlmişdir, hansı ki, laboratoriya eksperimentlərində hüceyrələri möhkəm şəkildə petri qablarının divarına yapışdırmışdır, amma çox zəif yapışqan şiş (yəni, xərçəng) hüceyrələrin səthində tapılmamışdır. Fibronektinin 20 və ya buna yaxın izoforması tək bir gəndən istehsal olunan RNT transkriptin alternativ splaysinqi vasitəsilə yaranır (bax Şəkil 5-16). Fibronektinlər embriogeneza zamanı

çox hüceyrə tiplərinin miqrasiyası və differensiasiyası üçün vacibdirlər. Bu zülallar, qan laxtalanmasını sürətləndirdiklərinə və makrofaqların və başqa immun hüceyrələrinin zədələnməmiş sahəyə miqrasiya etməsinə şərait yaratdıqlarına görə yaranmanın sağlanması üçün də əhəmiyyətliyədirlər.

Fibronektinlər başqa ECM komponentlərinə, xüsusən fibrilyar kollagenlərə və heparin sulfat proteoqlikanlara, inteqrinlər kimi adgeziya reseptorlarına birləşmək yolu ilə hüceyrələrin ECM-ə birləşməsinə kömək edirlər (bax Şəkil 20-2). Onların adgeziya reseptorları ilə qarşılıqlı əlaqələri vasitəsilə fibronektin hüceyrənin formasına və hərəkətinə, həmçinin sitoskeleton təşkilinə təsir edir. Əksinə, onların fibronektinə və başqa ECM komponentlərə reseptorla-vasitələnən birləşməsinə tənzimləməklə hüceyrələr ECM mühitini dərhal onların ehtiyaclarına uyğun olaraq təşkil edə bilirlər.



Fibronektin C-sonluqlarında iki di-sulfid rabitəsi ilə bir-birinə bağlanan iki oxşar polipeptidin dimeridir, hər bir zəncir təxminən 60-70 nm uzunluqda olub 2-3 nm qalınlıqdadır. Fibronektinin kiçik miqdarda proteazalarla qismən doğranması və fraqmentlərin analizi göstərdi ki, hər bir zəncir fərqli liqand-birləşdirən spesifikliyə malik olan bir neçə funksional hissədən

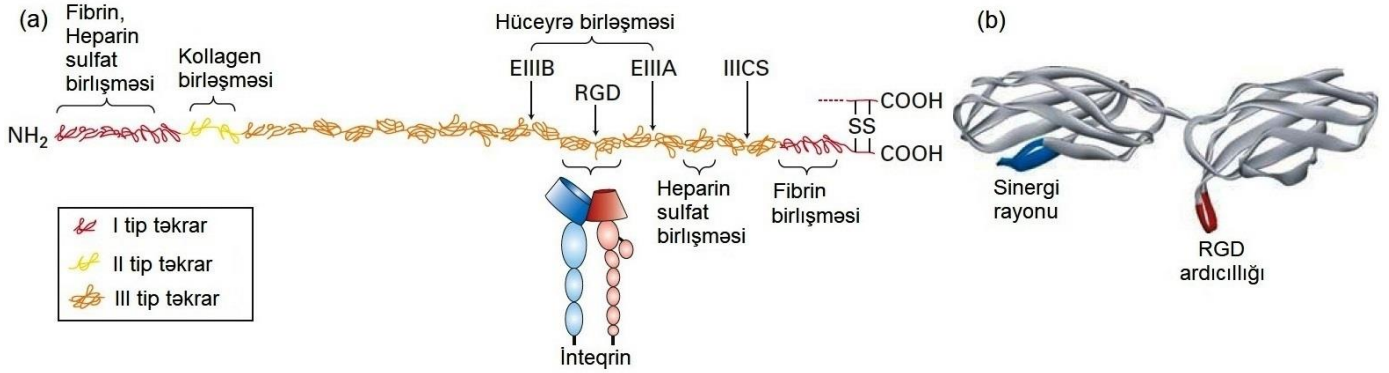
təşkil olunmuşdur (Şəkil 20-33). Hər bir rayon, öz növbəsində, müəyyən domeni kodlaşdıran və üç tipdən birində klassifikasiya oluna bilən ardıcılıqların çoxsaylı nüsxələrinə malikdir. Bu domenlər amin turşusu ardıcılığında oxşarlığına görə I, II və III tip fibronektin təkrarları kimi işarələnirlər, hərçənd ki, verilmiş bir tipdə istənilən iki təkrarın ardıcılığı identik deyildir. Əlaqəli olan bu təkrarlar molekula sapa düzülmiş muncuq görünüşü verir. Rayonu təşkil edən müxtəlif təkrarların kombinasiyası fibronektinə çoxsaylı liqandları birləşdirmək qabiliyyətini verir.

Fibronektinin hüceyrə-birləşdirən rayonunda III tip təkrarlardan biri müəyyən bir inteqrinə birləşməni həyata keçirir. Bu təkrarların bir hissəsinə uyğun olan sintetik peptidlə aparılan tədqiqatların nəticələri, inteqrinlər tərəfindən tanınmaq üçün bu təkrarlar daxilində tələb olunan minimal ardıcılıq kimi, RGD motif adlandırılan Arg-Gly-Asp tripeptid ardıcılığını identifikasiya etdi. Tədqiqatların birində, RGD motifə malik olan və olmayan heptapeptidlər onların siçovulun böyrək hüceyrələrini kultura qablarına yapışdırmaq qabiliyyətinə görə sınaqdan keçirilmişdir. Nəticələr göstərdi ki, RGD motivi olan heptapeptidlər intakt fibronektinin inteqrinlə-vasitələnən adgeziya qabiliyyətini yamsıladığı (mimik etdiyi), halda heptapeptidlərin RGD ardıcılığına malik olmayan variantı təsirsiz olmuşdur (Şəkil 20-34).

ŞƏKİL 20-32 Qıvrıqda qıvrıqda proteoqlikan aqreqatlarının quruluşu. (a) İribuynuzlu heyvan embrionunun epifiz qıvrıqdağında aqreqan aqreqatların elektron mikrofotusu. Aqreqan özək zülallar ~40 nm intervalda hialuronan molekuluna birləşirlər. (b) Hialuronana birləşmiş aqreqan monomerlərin sxematik təsviri (sarı). Aqreqanda həm keratinsulfat (yaşıl) həm də xondroitin sulfat (narıncı) zəncirlər özək zülalına birləşirlər. Özək zülalın N-sonluq domeni hialuronan molekuluna kovalent birləşir. Bu birləşmə həm hialuronan molekuluna həm də aqreqan özək zülalına birləşmiş linker zülalla asanlaşdırılır. Aqreqan özək zülalın hər birinin 127-ci Ser-Gly ardıcılığı var və buna GAG ardıcılığı əlavə oluna bilər. Aqreqan monomerin molekul çəkisi orta hesabla 2×10^6 -dir. 100-dən artıq aqreqan monomerlərinə malik olan tam aqreqat 2×10^8 -dən artıq və təxminən *E. coli* bakteriyası ölçüdə olur. [(a) hissəsi Buckwalter, J. A., et al., "Structural changes during development in bovine fetal epiphyseal cartilage," *Collagen Rel. Res.*, 1983, 3(6):489-504, © Elsevier-dən.]

Fibronektinin inteqrinə birləşməsinin üç-ölçülü modeli qismən həm fibronektinin həm də inteqrinin quruluşuna əsaslanaraq qurulmuşdur. İnteqrin-birləşdirən fibronektin III tip təkrarın və ona qonşu olan III tip domenin yüksək rezolyusiyalı quruluşunda RGD motivi molekuldan onun inteqrinə birləşməsinə asanlaşdıran vəziyyətdə kənara tərəf uzanıb çıxan ilgəyinin ən yüksək hissəsində yerləşir (Şəkil 20-33b). Hərçənd ki, RGD motif bir sıra inteqrinlərə birləşmək üçün tələb olunur, amma onun inteqrinə olan affiniyi intakt fibronektinə və ya fibronektində bütöv hüceyrə-birləşdirən rayona olan affiniyə nisbətən əhəmiyyətli dərəcədə aşağıdır. Beləliklə fibronektində və digər RGD-saxlayan zülallarda RGD motifə yaxın rayonun (məsələn, sinergetik rayonu kimi təkrarlara bitişik sahənin; bax Şəkil 20-33b) quruluş xüsusiyyətləri onların müəyyən inteqrinlərə birləşməsinə gücləndirməlidir. Bundan əlavə, qaraciyər və ya fibroblastlar tərəfindən istehsal edilən, fibronektinin suda həllolan sadə dimer formaları, RGD motivi

asanlıqla əldə edilə bilmədiyindən ilkin olaraq integrinlərə zəif birləşən qeyri funksional konformasiyada olurlar. Fibronektinin kollagen matrisaya və ya bazal laminaya, və yaxud eksperimental plastik toxuma kulturası qabına adsorbsiyası fibronektinin hüceyrələrə birləşməsinə gücləndirən konformasiyaya dəyişməsinə səbəb olur. Mümkündür ki, bu konformasiya dəyişməsi RGD motifin integrinlərlə birləşməsinin mümkünlüyünü artırır.

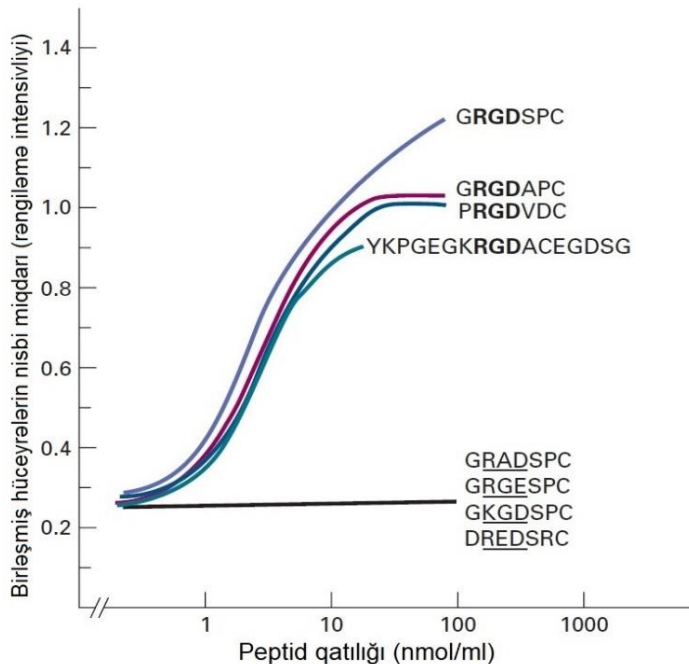


ŞƏKİL 20-33 Fibronektinin təşkili və onun integrinlə birləşməsi.

(a) Fibronektinin miqyas modeli iki III tip təkrarlarla integrinin hüceyrəxarici domeninə qoşulmuş şəkildə göstərilir. Dimer fibronektin molekulunda C-sonluqlarında disulfid rabitələri ilə əlaqəli olan iki oxşar zəncirdən yalnız biri göstərilir. Hər bir zəncir 2446-ya yaxın amin turşusuna malikdir və üç tip təkrarlanan amin turşu ardıcılıqlarından (I, II və III tip ardıcılıqlar) və ya domenlərdən təşkil olunublar. III tip təkrarların hər ikisi – EIIIA, EIIIB – və IIICS domen oxlarla göstərilən yerlərdə bu quruluşa dəyişkən şəkildə daxil edilmişdir (splays olunmuşdur). Dövrə edən fibronektində EIIIA və ya EIIIB ya da hər ikisi olmur. Alternativ spaysinq nəticəsində IIICS rayonunda ən azı beş müxtəlif ardıcılıq mövcud ola bilər (bax Şəkil 5-

Mikroskopiya və digər eksperimental yanaşmalar (məsələn, biokimyəvi birləşmə reaksiyaları) fibronektinlərin və digər ECM komponentlərin sitoskeletlə çarpaz əlaqənməsində integrinlərin rolunu nümayiş etdirdilər. Məsələn, sitoskelet aktin filamentlərin və integrinlərin hüceyrədə birgə lokalizasiyası fluorescent mikroskopiya ilə baxıla bilər (Şəkil 20-35a).

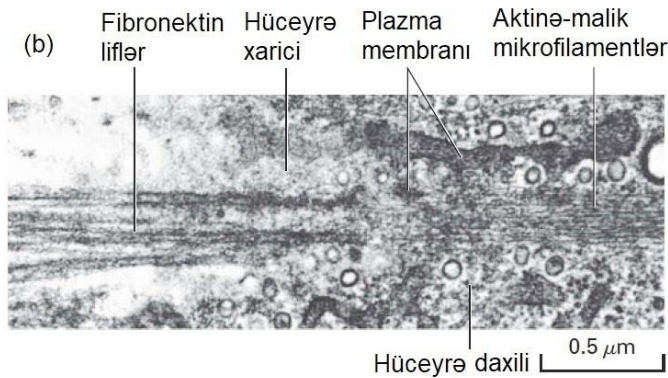
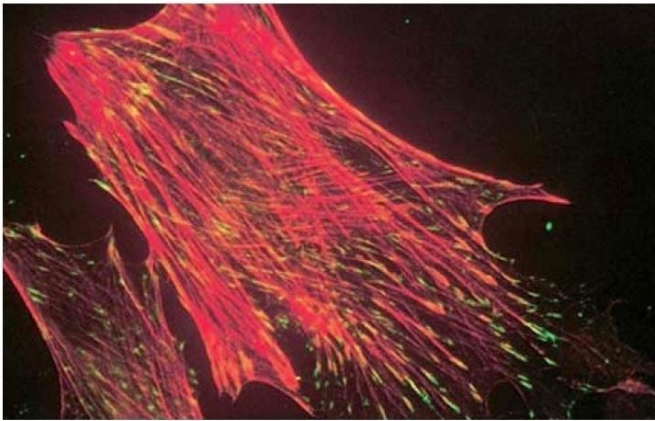
16). Hər bir zəncirin çox-təkrarlara-malik olan rayonu vardır, bunlardan bəziləri heparin sulfat, fibrin (qan laxtalanmasının əsas tərkib hissəsi), kollagen və hüceyrə-səth integrinləri üçün spesifik birləşdirmə saytlarına malikdir. İntegrin-birləşdirən domen həmçinin hüceyrə-birləşdirən domen kimi də məlumdur. Fibronektinin domenlərinin quruluşu molekulun fraqmentlərindən təyin edilmişdir. (b) Yüksək-rezolyusiyalı quruluş göstərir ki, RGD motif (qırmızı), ilgəyin xaricində özünün yığcam III tip domenindən sinergetik rayon (mavi) kimi, fibronektinin eyni tərəfindən kənara uzanır, bu da yüksək affinliklə integrinlərə birləşməyə kömək edir. Verilənlər D. J. Leahy et al., 1996, *Cell* **84**:155, PDB ID 1fnf-dən.]



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-34 Fibronektinin hüceyrə-birləşdirən rayonunda spesifik tripeptid ardıcılıq hüceyrələrin adgeziyası üçün tələb olunur. Fibronektinin hüceyrə-birləşdirən rayonunu integrin-birləşdirən heksapeptid ardıcılığı, bir həffli amin turşu işarələnməsi ilə GRGDSP ardıcılığına malikdir. Əlavə C-sonluq sistein (C) qalığı ilə birlikdə bu heptapeptid və bir sıra variantlar kimyəvi sintez olundular. Sintetik peptidlərin hər birinin müxtəlif qatılıqları içərisində qabın səthinə immunoqlobulin G (IgG) zülal ailəsi bərkidilmiş polistren qablara əlavə edildi; sonra peptidlər kimyəvi yolla IgG ilə birləşdirildi. Bunun ardınca, siçovulun kultura olunan normal böyrək hüceyrələri qablara əlavə edildi və adgeziya olunmaq üçün 30 dəqiqə inkubasiya olundu. Birləşməmiş hüceyrələr yuyularaq uzaqlaşdırıldıqdan sonra, möhkəm yapışmış hüceyrələrin nisbi miqdarı birləşmiş hüceyrələrin boya ilə rənglənməsi və rənglənmə intensivliyinin spektrofotometrə ölçülməsi ilə təyin edildi. Burada verilmiş nəticələr göstərir ki, RGD motivə malik olan peptidlərin olduğu peptid qatılığının artması ilə hüceyrə adgeziyası fon səviyyəsindən yuxarıya qədər yüksəldi, amma bu ardıcılığa malik olmayan (modifikasiya altından xətlə işarələnilir) variantlarda yüksəlmir. [Verilənlər M. D. Pierschbacher and E. Ruoslahti, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**:5985-dən.]

Hüceyrə-səth inteqrinlərinin ECM-də fibronektinə birləşməsi bəzi inteqrin molekullarının plazma membranı müstəvisində aktin sitoskeletdən-asılı olan hərəkətini induksiya edir. Tək bir fibronektin dimerinə birləşmiş müxtəlif inteqrinlərin nisbi hərəkətinə görə əmələ gələn mexaniki gərginlik fibronektini (bax Şəkil 20-9), mexanosensoru uzadır və fibronektinin multimer fibrillərdə öz-özünə assosiasiyasını təşviq edir. Fibronektində funksional öz-özünü assosiasiya saytlarını açmaq və üzə çıxarmaq üçün lazım olan qüvvə fibronektin-inteqrin bağlanmasını pozmaq üçün tələb olunan qüvvədən azdır. Beləliklə, hüceyrə tərəfindən yaradılan mexaniki qüvvə fibril əmələ gəlməsini induksiya edərkən fibronektin molekulları inteqrinə birləşmiş vəziyyətdə qalırlar. Əslində, inteqrinlər, adapter zülalları vasitəsilə aktin sitoskelet tərəfindən yaradılmış hüceyrədaxili qüvvəni hüceyrəxarici fibronektinə ötürürlər (mexanotransduksiya vasitəsilə daxildən xaricə signal).

(a)



Tədricən, ilk əvvəl yaranmış fibronektin fibrillər kovalent çarpaz kəsişmə ilə yetişərək yüksək stabilliyə malik matrisə komponentlərinə çevrilirlər. Bəzi elektron mikrofotolarında xarici fibronektin lifləri hüceyrə daxilində aktin liflərinin bağları ilə zahirən davam edən xətti kim düzlənmiş şəkildə görünür (Şəkil 20-35b). Bu müşahidələr və başqa tədqiqatların nəticələri hüceyrədaxili sitoskeletlə ECM komponentləri arasında körpü yaradan yaxşı-təyin edilmiş molekulyar adgeziya reseptorunun ilk nümunəsini təqdim etdi, indi bu geniş yayılmış hadisə kimi məlumdur.

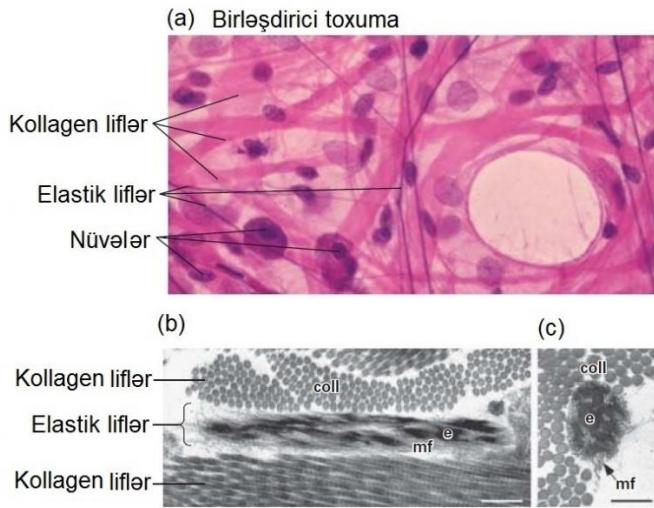
Elastik Fibrillər Çox Toxumalarda Təkrarlanan Uzanmaya və Yenidəspirallaşmaya İmkan Verir

Elastik liflər mexaniki dartılmaya və ya deformasiyaya məruz qalan geniş müxtəliflikdə toxumaların ECM-də, məsələn tənəffüs zamanı dartılan və genişlənən ağ ciyərlərdə (Şəkil 20-36a), ürək döyünməsi nəticəsində qanın axması ilə nəbzın baş verdiyi qan damarlarında, dəridə və uzana və yığıla bilən çoxsaylı digər toxumalarda tapılmışdır. Elastik liflər toxumaların rezinşəkilli geriye dönə bilən elastik uzanmasına və yenidən spirallaşmasına imkan verir.

Bir neçə yüz nanometrdən bir neçə min nanometrə qədər uzunluqda olan elastik lifin əsas komponenti *elastin* zülalından təşkil olunmuş həll olmayan amorf özəkdir. Elastin monomer, kollagenə olduğu kimi lizil-oksida ilə aparılan proseslə kovalent çarpaz əlaqələnmiş *tropoelastin* molekullarının aqreqatlarından ibarətdir. Təkrarlanan prolin- və qlisinlə-zəngin hidrofob ardıcılıq motivi tropoelastinlərin öz-özü ilə assosiasiya etmə qabiliyyətini, stress altında uzunamasına və dartıldıqdan sonra səmərəli şəkildə yenidən geüri çəkilmək qabiliyyətinə kömək edir. Elastin özək fibrillin, fibulin və onlarla assosiasiyada olan LTBP-lər kimi zülallardan əmələ gəlmiş 10-12-nm-diametrlilik mikrofilamentlərin toplusu ilə əhatə olunur (Şəkil 20-36b). Mikrofilamentlər elastik liflərin özəyinin toplanmasında skafold kimi fəaliyyət göstərirlər. Elastinsiz mikrofilamentlər gözdə tapılmışdır, burada onlar diqqəti cəmləmək üçün linzanın formasının dəyişməsi zamanı əzələ qüvvəsini ötürürlər və buynuz təbəqəsinin quruluşunun təmin edilməsinə kömək edirlər.

EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-35 İnteqrinlər ECM-də fibronektinlə sitoskelet arasında əlaqəni həyata keçirirlər. (a)

Fiksə olunmuş fibroblast hüceyrələrin immunofluoresensiyası mikrofotolu $\alpha 5 \beta 1$ inteqrin (yaşıl) və aktinə-malik olan stress liflərin (qırmızı) birgə lokalizasiyasını göstərir. Hüceyrələr iki tip monoklonal anticismə inkubasiya olunur: yaşıl fluoressent boya ilə əlaqəli olan inteqrin-spesifik anticism və qırmızı fluoressent boya ilə əlaqəli aktin-spesifik anticism. Stress liflər aktin mikrofilamentlərin hüceyrənin substratla əlaqədə olduğu nöqtədən içəriyə tərəf radial uzanan uzun bağlar şəklindədir. Bu liflərin distal (uzaq) ucunda, plazma membranı yaxınlığında, aktin (qırmızı) və fibronektin-bağlayan inteqrin (yaşıl) rastlaşmaları (təsədüfləri) sarı fluoressensiyanı yaradır. (b) Kultura olunan fibroblastlarda fibronektin və aktin liflərin qovşaqlarının elektron mikrofotolu. Fərdi aktinə-malik olan 7 nm-lik mikrofilamentlər, stress liflərin komponentləri, çap kəsilmiş hüceyrə membranında qurtarırlar. Mikrofilamentlər hüceyrənin yaxınlığında qalın, sıx rənglənmiş fibronektin fibrilləri ilə çox yaxın və birlikdə düzlənmiş halda görünür. [(a) hissə ©1988 Duband, J. et al., *J. Cell Biol.*, **107**:1385–1396. doi: 10.1083/jcb.107.4.1385-dən; Qabığında. (b) hissə Elsevier-in razılığı ilə Singer, II, “The fibronexus: a transmembrane association of fibronectin-containing fibers and bundles of 5 nm microfilaments in hamster and human fibroblasts,” *Cell*, 1979, **16**(3), 675–85-dən yenidən çap edilir; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]



ŞƏKİL 20-36 Birləşdirici toxumalarda elastik və kollagen liflər.
 (a) Ağciyərdə boş birləşdirici toxumanın işıq mikroskopunda təsviri. Elastik liflər bənövşəyi rənglənmiş nazik liflərdir, kollagen liflər (kollagen liflərin dəstələri) çəhrayı rənglənmiş, hüceyrə nüvəsi isə bənövşəyi rənglənmişdir. Siçanın dərisində elastik liflərin və kollagen liflərin (spiral) elektron mikroskopunda çəkilməsi (b) uzununa və (c) çarpaz-kəşiyinin təsviri. Elastik liflər bərk elastin özəyə malikdir (e) və mikrofilamentlərə (mf) inteqrasiya edərək onların dəstələri ilə əhatə olunmuşdur. Miqyas bar, 0.25 nm. [(a) hissə Biophoto Associates/Science Photo Library-dən. (b) və (c) hissələri Elsevier-in razılığı ilə Choi, J., et al., "Analysis of dermal elastic fibers in the absence of fibulin-5 reveals potential roles for fibulin-5 in elastic fiber assembly," *Matrix Biol.*, 2009, **28** (4):211–20-dən çap olunmuşdur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

ECM-in başqa komponentlərində olduğu kimi, mikrofilamentlər hüceyrənin siqnal ötürməsində iştirak edirlər. İfrazat yolunda LTBP-lər birlikdə ifraz olunmaqdan və mikrofilamentlərə inteqrasiya etməkdən (daxil olmaqdan) öncə transformasiya boy faktoru β -nın (TGF- β , bax Fəsil 16) qeyri fəal formasına birləşir (həqiqətən də LTBP latent TGF- β -birləşdirən zülalın qısaldılmış adıdır). Hüceyrə-səth inteqrinlərinin LTBP/TGF- β kompleksə birləşməsi və onu dartması vasitəsilə yaranan biomexaniki stress və ya proteolitik doğranma, guman olunur ki, fəal TGF- β -nın ECM-dən buraxılmasına və sonrakı siqnal ötürülməsinə burbaşa səbəb olur (bax Şəkil 16-3).



Ürək damar və skelet anomaliyalarına daxil olan müxtəlif xəstəliklər, elastik liflərin quruluş zülallarını və ya onların yığılmasına kömək edən zülalları kodlaşdıran genlərdəki mutasiyaların nəticəsidir. Məsələn, *fibrillin-1* genində mutasiyalar Marafan sindromunun yaranmasına səbəb olur, nəticədə müxtəlif sindromlar sümüyün həddən artıq böyüməsinə, oynaqların itməsinə, ətrafların və sifətin anormal dərəcədə uzun olmasına, aortada və başqa qan damarlarında divarların zəifliyi ilə əlaqədar olan ürək damar qüsurlarına səbəb olur. Prezident Abraham Linkolnün qeyri-adi uzunluğunun əhəmiyyətli bir spekulyasiyası səbəb olmuşdur ki, onun bədəninin belə uzunluğu ola bilsin ki, Marafan sindromu idi.



Məməlilərdə əksər tropoelastin sintezi embrional və postembrional dövrlərdə doğuşdan dərhal öncə və dərhal sonra baş verir. Beləliklə, bədəndə elastinin əksər hissəsi möhkəm olmalıdır və bütün həyatı boyu davam etməlidir. Elastinin yüksək dərəcədə stabilliyi müxtəlif yollarla ölçülmüşdür. Radioaktiv amin turşularından istifadə edilməsi ilə aparılan puls-uzlənə eksperimentləri (bax Fəsil 3) heyvanlarda elastinin bütün həyat boyu davam etməsini ölçmək üçün istifadə edilə bilər. İnsanlarda elastinin uzunmüddətliyini ölçmək üçün istifadə olunan iki başqa metod aşkar etdi ki, insanın ağ ciyərinə elastinin davam edən həyat müddəti təxminən 70 ildir. Birinci metod təbii baş verən hadisədən istifadə edir: zülalın sintezi zamanı ona inteqrasiya olunan L-aspartat turşusunun zaman boyu D izomerə təbii zəif çevrilmə sürətidir. Belə ki, L-aspartat turşusunun zülalın sintezindən keçən zaman müddətində D-izomerə çevrilmiş fraksiyasının kimyəvi analizindən istifadə etməklə uzun yaşayan zülalın yaşını və eləcə də onun ayrıldığı toxumanın yaşı ilə birlikdə təyin edilə bilər. İkinci metod isə laboratoriyada istifadə edilən klassik puls-izləmə metodunun variasiyasıdır. 1950-1960-cı illərdə nüvə silahlarının sınaqdan keçirilməsinin nəticəsi olaraq ¹⁴C atmosferə daxil olmuş və beləliklə də qida zəncirində keçmişdir. Ətraf mühitin ¹⁴C-ü radioaktiv "puls" kimi istifadə edilərək maraqlı zülalların stabilliyinin təyini üçün əhəmiyyətli puls-izləmə eksperimentlərinə çevrilmişdir.

Metalloproteazalar Hüceyrəxarici Matrisanı Yenidən Formalaşdırır və Parçalayırlar

Əsas fizioloji proseslərin əksəriyyəti, o cümlədən inkişafın gedişindəki morfogenet, hüceyrə proliferasiyasına və hərəkətiliyinə nəzarət, yaralanmaya cavab və hətta sağ qalma yalnız ECM-in istehsalını deyil həmçinin onun remodelinqini və ya parçalanmasını da tələb edir. Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə hüceyrəxarici mühitdə əsas element kimi çox böyük əhəmiyyətinə görə ECM-in remodelinqi və parçalanması diqqətlə nəzarət olunmalıdır. ECM-in parçalanması çox hallarda sinkdən-asılı olan ECM metalloproteazalarla həyata keçir. ECM komponentlərinin geniş sırasında, təccüblü deyildir ki, müxtəlif substrat spesifikliyi ilə və ekspressiya sayları ilə fərqlənən bu cürə çoxsaylı metalloproteazalar mövcuddur. Çox hallarda onların adları onların substratlarının adı ilə birləşir, belə ki, metalloproteazalar kollagenazalar, jeltinazalar, elastazalar və aqreqanazalar adlandırılır. Bəziləri hüceyrəxarici mayeyə ifraz olunur, digərləri isə hüceyrənin plazma membranı ilə yaxın əsasasiyada olur, ya qeyri kovalent əlaqə ilə plazma membranına sıx bağlı olur, ya da inteqral membran zülalları olurlar. İlkin olaraq çoxu qeyri fəal sələf zülallar kimi sintez olunurlar və fəaliyyət göstərmək üçün xüsusi fəallaşmalıdırlar.

ECM metalloproteazalar fermentin quruluşundan asılı olaraq üç əsas subqrupa bölünürlər: **matrisa metalloproteazalar** (MMP-lər, bunlar insanda 23 qədərdirlər), **disinteqrin və metalloproteinazalar** (ADAM-lar) və **trombospondin motifə malik olan ADAM-lar** (ADAMTS-lər). Bu proteazalar ECM komponentlərini və eləcə də, adgeziya reseptorları kimi qeyri-ECM komponentlərini dağıdır. Həqiqətən də, ADAM-ların əsas funksiyası inteqral membran zülallarından hüceyrəxarici domenlərin kəsilməsidir. Bu proteazaların fəaliyyətinə nəzarət üçün istifadə olunan bir

mexanizm TIMP-lər (*metalloproteinazaların toxuma ingibitoru*) və RECK-lər (geriyə-induksiya edən-sistein-zəngin kinaza motifli zülal – *reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs*) adlanan zülal ingibitorların istehsalıdır. Bu ingibitorlardan bəzisi özünün hüceyrə-səth reseptoruna malikdirlər və metalloproteinazaları ingibirləşdirmək qabiliyyətindən asılı olmayaraq fəaliyyət göstərir. ECM-parçalayan proteazalar müxtəlif xəstəliklərlə əlaqəli olurlar, bunlardan ən yaxşı məlum olanı metastaz verən xərçəngdir (bax Fəsil 24).

20.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrəxarici Matrisa II: Birləşdirici toxuma

- Vətər və qığırdaq kimi birləşdirici toxuma başqa bərk toxumalardan onlarda hüceyrəxarici matrisanın (ECM) hüceyrəyə nisbətən daha böyük həcmində olması ilə fərqlənir.
- Fibrilyar kollagenin (I, II və III tiplər) sintezi yeni istehsal olunmuş α zəncirin kimyəvi modifikasiyaları ilə və onların endoplazmatik şəbəkə daxilində üçqat-spiral prokollagenə yığılması ilə başlayır. İfraz olunduqdan sonra prokollagen molekulaları doqranır, lateral assosiasiya edir və fibrillər adlanan dəstlərdə kovalent çarpaz birləşirlər, bunlar isə liflər adlanan çox böyük yığılmaları əmələ gətirirlər (bax Şəkil 20-27).
- Müxtəlif kollagenlər təbəqələri yaratmaq üçün onların spiral və qeyri spiral rayonlarının fibrillərdə yığılmaq və başqa kollagen tipləri ilə çarpaz-kəsişmək qabiliyyətinə görə fərqlənirlər (bax Cədvəl 30-5).
- Proteoqlikan, çox zaman sulfatlaşma ilə modifikasiya olunan duxaxaridlərin xətti polimeri olan bir və ya daha artıq qlikozamin (GAG) molekulaları ilə çarpaz əlaqələnməmiş membran-assosiasiyalı və ya ifraz olunan özək zülallardan təşkil olunub.
- Sindekanlar kimi hüceyrə-səth proteoqlikanları hüceyrə-ECM qarşılıqlı əlaqəsini asanlaşdırır və bəzi xarici siqnal molekulalarının öz hüceyrə-səth reseptorlarına təqdim edilməsinə kömək edir.
- Yüksək hidratlaşmış GAG hialuronan miqrasiya edən və proliferasiya edən hüceyrələrdə ECM-lərin əsas komponentidir. Müəyyən adgeziya reseptorları hialuronanı hüceyrəyə bağlayır.
- Proteoqlikan molekulalarının özək zülalına qeyri-kovalent birləşmiş mərkəzi hialuronan molekuluna malik olan böyük proteoqlikan aqreqatları (məsələn, aqrekan) matrisanın sıxılma qüvvəsinə davam gətirmək qabiliyyətinə kömək edir (bax Şəkil 20-32).
- Fibronektinlər zəngin çox-yapışqanlı matrisa zülalları olub hüceyrə miqrasiyasında və differensiasiyasında həlledici rol oynayırlar. Onlar inteqrinləri və ECM komponentləri (kollagenlər, proteoqlikanlar) birləşdirmə saytlarına mlikdirlər, beləliklə hüceyrəni ECM-ə bərkidirlər (bax Şəkil 20-33).
- Fibronektinlərdə və bəzi başqa matrisa zülallarında tapılmış tripeptid RGD motif Arg-Gly-Asp bir sıra inteqrinlər tərəfindən tanınır.

- Elastik liflər, liflərin toplanmasına kömək edən və TGF- β vasitəsilə siqnal ötürülməsini tənzimləyən mikrofibrillər şəbəkəsi ilə əhatə olunan, çarpaz əlaqələnməmiş amorf elastinin yüksək dərəcədə elastik özəyinin olmasına görə toxumaların dartılmasını və təkrarən geri qayıtmasını təmin edir.
- ECM-in remodelinqi və ya parçalanması çox saylı ifraz olunan və hüceyrə-membranı-assosiasiyalı, bir neçə ailəyə bölünən (MMP-lər, ADAM-lar, ADAMTS-lər) və fəallıqları zülal ingibitorlarla (TIMP-lər, RECK) tənzimlənən sink-metallo proteazalar vasitəsilə baş verir.

20.5 Hərəkətli və Hərəkətsiz Hüceyrələrdə Yapışqan Əlaqələr

Differensiasiya zamanı epitelidə yapışqan (adhesiv) əlaqələr əmələ gəldikdən sonra, onlar çox zaman stabil olurlar və hüceyrənin ömrü boyu və ya epitelinin növbəti differensiasiyaya getməsinə qədər davam edirlər. Hərçənd ki, belə uzunmüddətli davam edən (hərəkətsiz, həmçinin *sessil* adlanır) adgeziya qeyri epiteli hüceyrələrində də mövcuddur, bəzi qeyri epiteli hüceyrələri ECM və ya digər hüceyrələr təbəqəsi boyunca sürünməyə qabil olurlar. Bundan başqa, inkişaf zamanı və ya yaralanmanın sağalması zamanı və müəyyən patoloji vəziyyətlərdə (məsələn, xərçəngdə) epiteli hüceyrələri daha çox hərəkətli hüceyrələrə transformasiya edilə bilirlər (epitelidən-mezenximaya-keçid). Adgeziya molekulalarının ekspressiyasında dəyişiklik hüceyrənin hərəkətində iştirak edən başqa bioloji proseslərdə olduğu kimi, məsələn ağ qan hüceyrələrinin sürünərək toxumanın yoluxmuş hissələrinə girdiyi kimi, transformasiyada aparıcı rol oynayır. Bu bölmədə biz keçici yapışqan qarşılıqlı əlaqələri həyata keçirən, xüsusən hüceyrənin hərəkəti üçün uyğunlaşan və eləcə də uzun-müddətli adgeziyada vasitəçilik edən müxtəlif hüceyrə-səth quruluşlarını təsvir edirik Hüceyrələri hərəkətə gətirən və onların formalarını dəyişdirən mexaniki qüvvələri yaratmaq üçün istifadə olunan hüceyrə mexanizmləri 17 və 18-ci fəsillərdə əhatə olunur.

İnteqrinlər Adgeziyaya Vasitəçilik Edir və Siqnalları Hüceyrələrlə Onların Üç-Ölçülü Əhatəsi Arasında Ötürür

Artıq müzakirə olunduğu kimi, inteqrinlər epitelial hüceyrələri bazal laminaya birləşdirir və adaptor zülallar vasitəsilə sitoskeletin aralıq filamentləri ilə birləşdirir (bax Şəkil 20-1). Ona görə də inteqrinlər sitoskeletlə ECM arasında körpü əmələ gətirirlər, onlar eyni şeyi qeyri epiteli hüceyrələrində də edirlər. Epiteli və qeyri epiteli hüceyrələrində inteqrinlər plazma membranında müxtəlif fokal kontaktlarda (fokal adgeziyalar) və *fokal komplekslər*, *3-D adgeziyalar* və *fibrilyar adgeziyalar* adlanan fokal kontaktlara-bənzər yapışqan quruluşlarda və eləcə də *podosomlar* adlanan dairəvi adgeziyadakı başqa molekulalarla da klasterlər əmələ gətirirlər. Bu quruluşlar çoxzülallı komplekslər olub, (1) hüceyrələrin ECM-lərə yapışmasını – məsələn, inteqrinin fibronektinə (bax Şəkil 20-35) və ya lamininə birləşməsi vasitəsi ilə, (2) inteqrinin aktin sitoskeletə assosiasiyasını, (3) adgeziyadan-asılı olan daxildən-xaricə və xaricdən-daxilə siqnal ötürülməsini (bax Şəkil 20-8) və (4)

hüceyrə ilə onu əhatə edən mühit artasında mexanosensor birləşməni həyata keçirirlər. Bu komplekslər inteqrinləri və ya onlarla kompleksdə olan başqa molekulları tanıyan anticisimlərdən istifadə etməklə fluoressensiya mikroskopunda asanlıqla müşahidə edilə bilər (Şəkil 20-37).

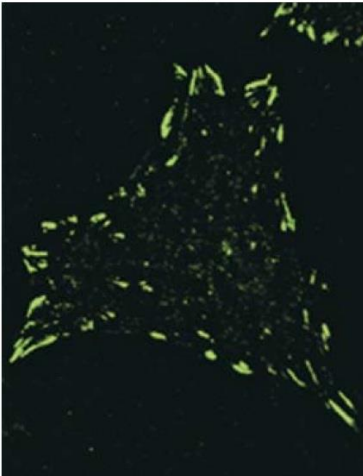
İnteqrinə-malik olan yapışqan quruluşlar davam edən eksport və importa və ya onlardakı komponentlərin kovalent modifikasiyasına görə dinamikdirlər və hər biri onlarla hüceyrədaxili adaptor zülallara və assosiasiyada olan zülallara malikdirlər. Bu vaxta qədər identifikasiya olunan yüzrlərlə belə zülallar tənzimləməyə məruzə qala bilən yüzrlərlə fərqli zülal-zülal qarşılıqlı əlaqələrinə sahib olmaq potensialına malikdirlər. Məsələn, inteqrinlərin və onlarla assosiasiyada olan zülalların fosforlaşması yolu ilə əmələ gələn birləşmə mərkəzləri və eləcə də, qonşu bitişik membranda fosfatidilinozitolun fosforlaşmış törəmələrinin əmələ gəlməsi əlavə zülalları daxilə səfərbər edir, həmçinin bəzi zülalların belə çoxzülallı komplekslərdən buraxılmasına səbəb olur. Daxili siqnalların yüksək dərəcədə nəzarət olunan xoreoqrafiyası, reseptor tirozinkinazalar kimi başqa siqnal yollarının yardımı (bax Şəkil 20-8) və xarici siqnallar (ECM-in tərkibi və sərtliyi kimi) bu kompleksləri tənzimləyir. Onlar birlikdə inteqrin çoxzülallı komplekslərin dəqiq tərkibini və fəallığını, onun hüceyrə quruluşundakı və fəaliyyətindəki müvafiq təsirini (xaricdən-daxilə təsir), eləcə də hüceyrənin aktin sitoskeletoninin ECM-ə təsirini (daxildən-xaricə təsir) təyin etməyə kömək edir.

Baxmayaraq ki, inteqrinə-malik olan yapışqan quruluşlar çoxsaylı qeyri-epiteli hüceyrələrində tapılmışdır, onlar daha tez-tez hallarda substrat adlanan düz yastı şüşə və ya plastik səthlərdə yetişdirilmiş fibroblast hüceyrə kulturasında öyrənilmişdir. Bu şərait normal halda hüceyrələri in vivo əhatə edən üç-ölçülü ECM mühitinə çox az oxşayır. Fibroblastlar toxumalardan və ya hüceyrələrdən alınmış üç-ölçülü ECM-lərdə kultura olunarkən onlar üç-ölçülü ECM substratda 3-D

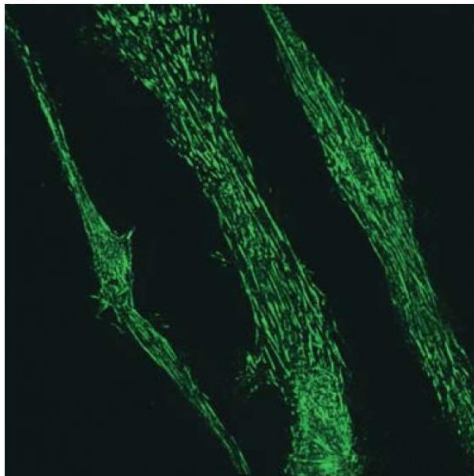
adgeziyalar adlanan adgeziyaları əmələ gətirirlər. Bu quruluşlar tərkibinə, formasına, paylanmasına və fəaliyyətinə görə adətən hüceyrə kulturası eksperimentlərində istifadə olunan düz yastı substratlarda böyüyən hüceyrələrdə görünən fokal və ya fibrilyar adgeziyadan bir qədər fərqlənirlər (bax Şəkil 20-37). “Daha təbii” lövbər edən qovşaqları olan kultura olunan fibroblastlar daha yüksək adgeziyanı və hərəkətliliyi nümayiş etdirirlər, hüceyrə proliferasiyasının yüksək sürətinə və fibroblast hüceyrələrin bərk yastı səthlərdə kultura olunan hüceyrələrin yaratdığından daha çox toxumalarda yaratdığı şpindel-formalı morfolojiyaya malik olurlar. Bu və başqa müşahidələr göstərir ki, ECM-in topoloji, tərkib və mexaniki xassələri hamısı hüceyrənin fəaliyyətinin və formasının nəzarət olunmasında rol oynayırlar. ECM xarakterinin toxuma-spesifik fərqləri yəqin ki, hüceyrələrin toxuma spesifik xassələrinə öz töhfəsini verir.

Hüceyrələrin üç-ölçülü mühitinin əhəmiyyəti xüsusi süd istehsal edən vəzi (mammary epiteli hüceyrələrinin və onların xərçəngə transformasiya olunmuş hüceyrələrinin morfogenezinin, fəaliyyətinin və stabilliyinin hüceyrə kulturası vasitəsi ilə aparılan tədqiqatlarda işıqlandırılmışdır. Məsələn, inteqrinlər vasitəsilə üç-ölçülü ECM-dən asılı olan xaricdən-daxilə siqnal ötürülməsi epidermal boy faktoru-tirozinkinaza reseptoru siqnal sistemində və əksinə təsir edir. Üç-ölçülü ECM həmçinin süd vəzi (mammary epiteli hüceyrələrinə, südün əsas zülal tərkibini ifraz edən asini adlanan in vivo-ya bənzər dairəvi epiteli quruluşlarını yaratmağa imkan verir. Belə üç-ölçülü ECM hüceyrə kulturası sisteminin istifadə olunması normal və xərçəng hüceyrələrinin kemoterapiya agentlərinə cavablarının daha real müqayisəsini aparmağa imkan verir. Qaraciyər kimi başqa daha mürəkkəb toxumaların və orqanların öyrənilməsində həm sintetik həm də təbii üç-ölçülü ECM-ləri istifadə edən anoloji sistemlər daha çox in vivo-ya bənzər şəraitlərin yaradılması üçün inkişaf etdirilir.

(a) Fokal adgeziya



(b) 3-D adgeziya



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-37 İnteqrinlər qeyri-epiteli hüceyrələrində müxtəlif morfolojiyaları olan yapışqan quruluşda klaster əmələ gətirirlər.

Kultura olunan hüceyrələrdə inteqrinə-malik yapışqan quruluşları (yaşıl) aşkar etmək üçün immuno-fluoressensiya metodu istifadə edilmişdir. Burada göstərilənlər insan fibroblastının səthindəki (a) fokal adgeziya və (b) 3-D adgeziyadır. Hüceyrələr kultura qabının (a) birbaşa müstəvi səthində və ya (b) ECM komponentin üç-ölçülü matrisasında bitmişdir. Hüceyrələr tərəfindən yaradılmış inteqrin-əsaslı adgeziyaların forması, paylanması və tərkibi hüceyrənin ətraf mühitindən asılı olaraq dəyişir. [(a) hissəsi Nature-nin razılığı ilə Geiger, B. et al., “Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix–cytoskeleton crosstalk,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, 2(11):793–805-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center Inc.-dən alınmışdır. (b) hissə Kenneth Yamada dan Edna Cukierman-dan.]

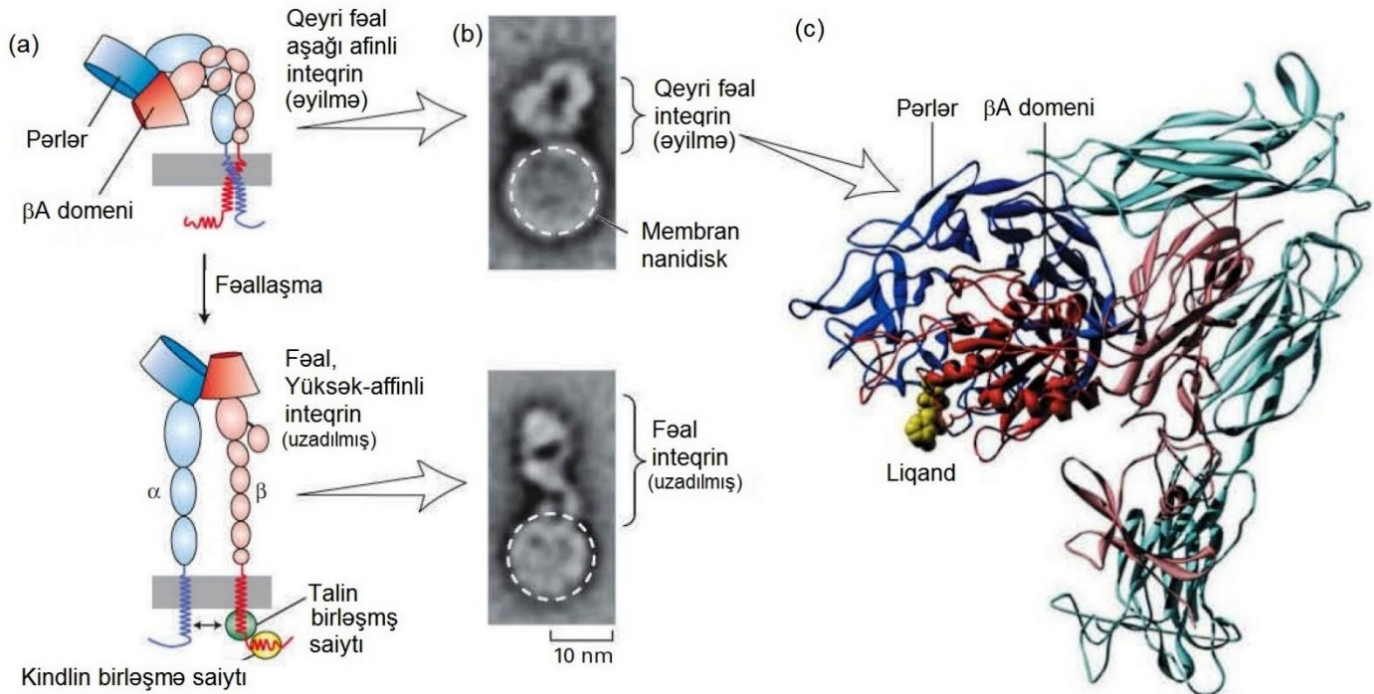
İnteqrinlə-Vasitələnən Adgeziyanın Tənzimlənməsi və Hüceyrə Hərəkətinə Nəzarət Edən Siqnal

Hüceyrələr inteqrinin ekspressiya səviyyələrini, yaxud ligand bağlama fəaliyyətlərini və ya hər ikisini tənzimləyərək, inteqrin-vasitəsilə gedən hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqəsinin gücünə

incə nəzarəti həyata keçirir. Bu cürə tənzimləmə belə qarşılıqlı əlaqələrin hüceyrə miqراسiyasında və hüceyrə hərəkətlərində iştirak edən digər funksiyalarda rolu üçün çox vacibdir.

Inteqrinin Birləşməsi Çox inteqrinlər, bəlkə də hamısı, ən azı iki konformasiyada mövcud olur: aşağı affinlikli (qeyri fəal) forma və yüksək affinlikli (fəal) forma (Şəkil 20-38a). Quruluş tədqiqatlarının nəticələri və liqandın inteqrinlər tərəfindən birləşməsi üzrə aparılan tədqiqatlardakı eksperimentlər inteqrin fəallaşarkən baş verən dəyişikliklərin modelini verdi. Qeyri fəal vəziyyətində $\alpha\beta$ heterodimer əyilir (Şəkil 20-38a, *yuxarıda* və

20-38c), hüceyrəxarici domenin ucunda liqand-birləşdirən saytın konformasiyası yalnız aşağı affinlikli liqand birləşməsinə imkan verir və iki subvahidin transmembran domenləri və sitoplazmatik C-sonluq quyruqları sıx şəkildə bir yerə bağlanmışdır. Fəal vəziyyətdə, birləşdirmə saytının konformasiyasındakı incə quruluş dəyişikliyi sıx (yüksək affinlikli) liqand birləşməsinə imkan verir və heterodimerin transmembran və sitoplazmatik domenlərinin ayrılması ilə müşayiət olunur (Şəkil 20-38a, *aşağıda*). Fəallaşma həmçinin, molekulun daha geniş xətti formada düzlənməsi ilə davam edir, bu formada liqand birləşdirən sayt membran səthindən daha uzaqlara uzanır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-38 Inteqrinin fəallaşması modeli.

(a) Guman olunur ki, inteqrinin fəallaşması, molekulun öz liqandlarına affinliyini artıran, pər (propeller) və βA domenlərin yaxınlığında əsas hərəkətləri əhatə edən konformasiya dəyişikliyi nəticəsində baş verir. Bu konformasiya dəyişiklikləri molekulun qeyri-fəal, aşağı affinlikli, "əyilmiş" konformasiyasından (*yuxarıda*) fəal, yüksək-affinlikli "genişləndirilmiş" konformasiyasına doğru (*aşağıda*) düzlənməsi ilə müşayiət olunur. Fəallaşmaya həmçinin talin və kindlin adapter zülalları ilə induksiya olunan və ya dəyişilmiş qarşılıqlı əlaqələrə malik olan transmembran və sitoplazmatik domenlərin ayrılması (ikibaşlı oxla işarə olunur, *aşağıda*) daxildir, β -zəncirin sitoplazmatik quyruğuna birləşmə saytları müvafiq olaraq yaşıl və sarı ovala göstərilir. (b) Tək qeyri fəal (əyilmiş) inteqrin $\alpha 1 \beta 3$ molekulunu (*yuxarı paneldə*) fosfolipid nanodisklərə (inteqrinin hüceyrəxarici və sitoplazmatik domenlərinin buferə çıxdığı kiçik ikiqatlıya) daxil olurlar və talin adaptor zülalın inteqrin birləşdirən və fəallaşdırıcı "baş"

domeni bu preparatların bəzilərinə əlavə edilmişdir (*aşağı panel*). Fərdi nanodisklərin elektron mikroskopunda çoxsaylı təsvirləri toplanmış və ortalanmışdır. Fosfolipid nanodisklər qırıq ağız dairələrlə qeyd olunur, nanodisklərdən yuxarıya uzanmış inteqrin hüceyrəxarici rayonların yüksəklikləri isə mötərizələrdə göstərilir. (c) $\alpha\beta 3$ inteqrinin hüceyrəxarici rayonunun qeyri fəal aşağı affinlikli ("əyilmiş") formasında, mavi çalardakı α subvahidlə və qırmızı çalardakı β subvahidlə rentgen kristalloqrafiyasına əsaslanmış molekulyar modeli. Əsas liqand-birləşdirən saytlar molekulun ucundadır, burada α subvahidin propeller domeni (tünd mavi) və βA domeni (tünd qırmızı) əlaqədədir. RGD peptid liqand sarı rəngdə göstərilmişdir. Bax M. Arnaout et al., 2002, Curr. Opin. Cell Biol. 14:641; R. O. Hynes, 2002, Cell 110:673; F. Ye et al., 2010, J. Cell Biol. 188:157–173; və M. Moser et al., 2009, Science 324:895–899. [(b) hissə ©2010, Ye, F. et al., J. Cell Biol., 188(1):157–173-dən. doi:10.1083/jcb.200908045; Figure 7. (c) hissə verilənləri J. P. Xiong et al., 2001, Science 294:339–345-dən, PDB ID 1jv2.]

Bu quruluş modelləri inteqrinlərin xaricdən-daxilə və daxilədən-xaricə siqnallara vasitəçilik etməsi qabiliyyətinin gözəl izahını verir. Müəyyən ECM molekulunun və ya başqa hüceyrələrdəki CAM-ların inteqrinlərin hüceyrəxarici liqand birləşdirmə saytlarına birləşməsi inteqrini ayrılmış sitoplazmatik quyruqlarla fəal vəziyyətdə saxlayır.

Hüceyrədaxili adapter zülallar quyruqların ayrılmasını "hiss" edə bilər və nəticədə quyruğa ya birləşir ya da ondan dissosiasiya edir. Bu adapterlərdəki dəyişiklik sonra sitoskeleti dəyişə bilər və hüceyrədaxili siqnal yollarını ya ingibirləşdirir ya da fəallaşdırır. Əksinə, hüceyrələrin metabolik və ya siqnal vəziyyətindəki dəyişiklik hüceyrədaxili adapterlərin

inteqrinlərin sitoplazmatik quyruğuna birləşməsinə və ya ondan dissosiasiya etməsinə səbəb olur və beləliklə quyruğun ayrılmasına və ya assosiasiya etməsinə məcbur edir (bax Şəkil 20-38a). Nəticədə, inteqrin ya əyilməli (fəalsızlaşmalı) ya da düz vəziyyət almalıdır (fəallaşmalıdır), bununla da onun ECM-lə və ya başqa hüceyrələrlə qarşılıqlı təsiri dəyişməlidir. Həqiqətən də, ayrıca lipid ikiqatlısı “nanodisklər”ə keçirilmiş təmizlənmiş inteqrinlərin *in vitro* tədqiqatları göstərdi ki, adapter/mexanosensor zülal *talin* zülalının qlobulyar “baş” domeninin (bax Şəkil 20-9b) inteqrinlərin β zəncirinin sitoplazmatik quyruğuna birləşməsi inteqrini fəallaşdırmaq üçün kifayətdir, bu da göstərir ki, əyilmiş konformasiyanın uzadılmış fəal formada düzlənməsinə səbəb olur (bax Şəkil 20-38a, *aşağıda* və 20-38b, *aşağıda*). Başqa tədqiqatlar göstərir ki, intakt hüceyrələrdə inteqrinlərin səmərəli fəallaşması, inteqrinlərin β zəncirinin sitoplazmatik quyruğunda müxtəlif saytlara birləşən kindlinlər adlanan başqa adapter zülalların da iştirakını tələb edə bilər (Bax Şəkil 20-38a, *aşağıda*). Kindlin TFG- β -nin inteqrin- və mikrofilamentlə-vasitələnən fəallaşmasında (daxildən-xaricə siqnala əvvəllər müzakirə olunan elastik liflər və onların mikrofilament-assosiasiyalı zülalı LTBP daxildir) və inteqrinlə-vasitələnən başqa siqnal yollarında aparıcı rol oynayır.

Aşağıda ətraflı müzakirə olunan trombositin funksiyası inteqrin birləşdirmə fəallığını nizamlamaqla hüceyrə-matrisa qarşılıqlı əlaqəsinin necə modullaşması barədə yaxşı nümunədir. Trombositlər hüceyrə fraqmentləri olub qanda dövr edirlər və ECM molekulları ilə bir yerə yapışaraq qan laxtasını əmələ gətirirlər. Inteqrin α IIb β 3 öz bazal vəziyyətində trombositin plazma membranında mövcud olur və özünün qan laxtalanmasında iştirak edən zülal liqandlarına (o cümlədən fibrinogenə və fibronektinə) möhkəm birləşə bilmir, çünki o qeyri fəal (əyilmiş) konformasiyadadır. Laxta əmələgəlmə zamanı trombositlər kollagen kimi ECM zülalları ilə və reseptorlara birləşərək hüceyrədaxili siqnalları əmələ gətirən von Willibrand faktoru adlanan çox böyük zülalla birləşərək fəallaşır.

Trombositlər həmçinin ADP və ya laxtalanma fermenti trombin tərəfindən fəallaşdırıla bilər. Bu siqnallar trombosit daxilində siqnal yollarında dəyişiklikləri induksiya edir, nəticədə trombositin α IIb β 3 inteqrinində konformasiya dəyişikliyi fəallaşır. Nəticədə bu inteqrin hüceyrəxarici laxtalanma zülallarına möhkəm şəkildə birləşə bilər və laxtalanmanın baş verməsində iştirak edir. β 3 inteqrinin subvahidində genetik qüsurları olan insanlar həddindən artıq qanaxmaya meyli olurlar, bu da qan laxtalanmasının formalaşmasında α IIb β 3 inteqrinin rolunu təsdiq edir (bax Cədvəl 20-4).

Inteqrinin Ekspressiyası Hüceyrələrin ECM komponentlərinə qoşulmasını hüceyrə səthində açıq vəziyyətdə qalan inteqrin molekullarının sayını dəyişməklə modullaşdırmaq olar. Çoxsaylı hematopoietik hüceyrələrdə tapılmış α 4 β 1 inteqrini bu tənzimləyici mexanizmin nümunəsidir. Bu hematopoietik hüceyrələrin proliferasiya və differensiasiya etməsi üçün onlar köməkçi (stroma) hüceyrələr və sümük iliği tərəfindən sintez olunmuş fibronektinə qoşulmalıdırlar. Hematopoietik hüceyrələrin α 4 β 1 inteqrini ECM-də fibronektinin Glu-Ile-Leu-Asp-Val (EILDV)

ardıcılığına birləşir, bununla da hüceyrələri matrisaya lövbər edir. Bu inteqrin həmçinin, sümük iliyinin stromal hüceyrələrində mövcud olan CAM-da vazikulyar CAM-1 (VCAM-1) adlanan ardıcılığa birləşir. Beləliklə hematopoietik hüceyrələr birbaşa stromal hüceyrələrlə və eləcə də ECM-lə əlaqədə olur. Onların differensiasiyasının sonunda, hematopoietik hüceyrələr bu inteqrinin ekspressiyasını azaldır, nəticədə guman olunur ki, hüceyrə səthində α 4 β 1 inteqrin molekullarının sayının azalması sümük iliyində yetişmiş qan hüceyrələrinin ECM-dən və stromal hüceyrələrdən qopub ayrılmasına və qan dövranına qoşulmasına imkan verir.

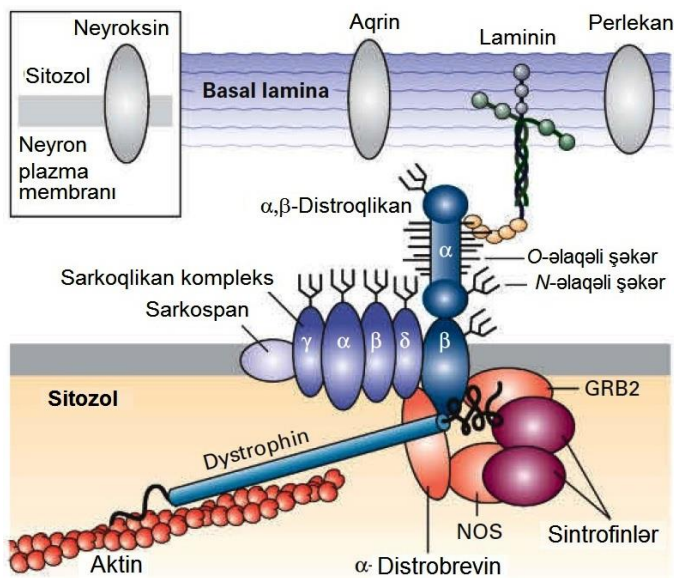
ECM-lə Sitoskelet Arasındakı Əlaqə Əzələ Distrofiyasında Qüsurlu Olur



ECM komponentləri və sitoskelet arasında adgeziya reseptoru-vasitəsi ilə əlaqənin əhəmiyyəti ümumilikdə əzələ distrofiyası adlandırılan irsi əzələ-israfı xəstəlikləri ilə vurğulanmışdır. Daha geniş yayılmış tip olan Duşenne əzələ distrofiyası (DMD) cinsiyyətlə əlaqəli pozuntudur, hər 3300 oğlandan birində rast gəlinir, adətən yeniyetməliyin sonunda və ya erkən 20-ci illər ərəfəsində rast gəlinir və ürək və ya tənəffüs çatışmazlığına səbəb olur. Bu xəstəliyin molekulyar əsaslarını anlamağın ilk ipuçuları DMD xəstəliyi olan insanların *distrofin* adlanan zülalı kodlaşdıran genində mutasiyanın aşkar edilməsindən irəli gəlmişdi. Aşkar edildi ki, çox böyük olan bu zülal aktin filamentlərə və *distroqlikan* adlanan adgeziya reseptorlarına birləşən sitozol adapter zülaldır (Şəkil 20-39).

Distroqlikan böyük qlikozülal sələfi kimi sintez olunur, sintez olunduqdan dərhal sonra hüceyrə səthinə keçməkdən öncə proteolitik yolla iki subvahidə bölünür. α subvahid hüceyrəxarici periferial membran zülalıdır, β subvahid isə transmembran zülal olub hüceyrəxarici domeni α subvahidlə assosiasiyada olur (bax Şəkil 29-39). Çoxsaylı *O*-əlaqəli oliqosaxaridlər α subvahidin serin və treonin qalıqlarının yan-zəncir hidroksil qruplarına kovalent birləşirlər. Bu əlaqələrdən bəziləri daha çox bol olan *O*-əlaqəli oliqosaxaridlərdə (bunlara musin-bənzər oliqosaxaridlər də deyilir) olan əlaqələrə oxşamır, fərqlənir, bunlarda birinci N-asetilqalaktozamin (GaNac) serin və ya treonin yan-zəncirlərinin hidroksil qrupuna bağlanan (bax Şəkil 20-30b) və ya proteoqlikanlardakı əlaqələndirici şəkər zəncirdəki (bax Şəkil 20-30b) birinci şəkərdir. Bunun əvəzində, distroqlikandakı 20-dən çox *O*-əlaqəli zəncirlərdən bəziləri mannoza şəkəri ilə hidroksil qrupuna birbaşa bağlıdır (bax Şəkil 20-30c). Bu *O*-mannoza-əlaqəli zəncirlərdən birinin mannoza birləşmiş fosfat qrupu vardır. Sonra fosfat məlum olmayan əlaqə ilə ksiloza-qlükuron turşusu disaxaridinin *matriqlikan* adlanan GAG-bənzər polimerinə qoşulur (birləşir). Matriqlikanın Qolci kompleksində LARGE adlanan fermentlə kataliz olunaraq distroqlikana əlavə edilməsi Şəkil 20-30c-də göstərilirdi kimi, fosforlanmış *O*-mannoza əlaqəli trisaxaridən əvvəlcədən əlavə edilməsini tələb edir.

O-əlaqəli matriqlikan çox-yapışqanlı matrisa zülalı laminin LG domenləri və perlekan və aqrin (bax Şəkil 20-24) daxil olmaqla bazal laminanın müxtəlif komponentlərinə birləşir. Neyronlarda ekspressiya olunan adgeziya molekulları neureksinlər də *O*-mannoza-əlaqəli şəkərlərə birləşirlər.



ŞƏKİL 20-39 Skelet əzələ hüceyrələrində distrofin qlikozülal kompleksi (DGC). Sxematik model göstərir ki, DGC kompleks üç subkompleksdən təşkil olunmuşdur: α , β distroqlikan subkompleksi; integral membran zülallarının sarkoqlikan/sarkospan subkompleksi; distrofin, başqa adapter zülalları və siqnal molekullarından ibarət olan sitozol adapter subkompleksi. α -distroqlikan özünün *O*-əlaqəli matriqlikan şəkərləri vasitəsi ilə (bax Şəkil 20-30c) bazal laminanın laminan və perlekan kimi komponentlərinə və neyronlardakı neyrekxin kimi hüceyrə-səth zülallarına birləşir. Distrofin – Duşenne əzələ distrofiyasında qüsurlu olan zülal – β -distroqlikanı aktin sitoskeletlə əlaqələndirir, α -distrobrevin isə distrofini sarkoqlikan/sarkospan subkomplekslə əlaqələndirir. Nitrat-oksidsintaza (NOS) suda həllolan siqnal molekulu nitrat oksidini istehsal edir, GRB2 isə müəyyən hüceyrə-səth reseptoru tərəfindən fəallaşan siqnal yolunun komponentidir (bax Fəsil 15). Bax S. J. Winder, 2001, *Trends Biochem. Sci.* **26**:118; D. E. Michele and K. P. Campbell, 2003, *J. Biol. Chem.* **278** (18):15457–15460; və T. Yoshida-Moriguchi and K. P. Campbell, 2015, *Glycobiology* **25**:702–713.

Distroqlikanın β subvahidinin transmembran seqmenti integral membran zülalı kompleksi ilə assosiasiyada olur, onun sitozol domeni distrofinə və başqa adaptor zülallarına və eləcə də müxtəlif hüceyrədaxili siqnal zülallarına birləşir (bax Şəkil 20-39). Nəticədə əmələ gələn böyük heteromer yığılma olan *distrofin qlikozülal kompleksi* (DGC) ECM-i aktin sitoskeletə və əzələ daxilində, həmçinin başqa hüceyrələrdə siqnal yoluna birləşdirir. Məsələn, siqnal fermenti nitrat-oksidsintaza (NOS) sintrofin vasitəsilə skelet əzələlərində DGC ilə assosiasiya edir. Əzələ dartılması zamanı, hüceyrədaxili Ca^{2+} artması, yaxınlıqdakı qan damarlarını əhatə edən sayə əzələ hüceyrələrinə diffuziya edən siqnal molekulu azot oksidini (NO) istehsal etmək üçün NOS-u fəallaşdırır. NO sayə əzələ boşalmasını gücləndirir, skelet əzələlərinə oksigeni və qida maddələrini təmin edən qanın lokal axmasının yüksəlməsinə səbəb olur. NOS-sintrofin qarşılıqlı əlaqəsi ürək (kardiak) əzələ yığılmasına da təsir edə bilər.

Distrofində və ya başqa DGC komponentlərdə, laminində və ya matriqlikanın distroqlikana əlavə edilməsinə təsir edən çoxsaylı fermentlərdə mutasiyalar hamısı əzələ hüceyrələrinin

daxili ilə xarici arasındakı DGC-vasitəsilə olan əlaqəni qırır və əzələ distrofiyasına səbəb olur. Bundan başqa, göstərilmişdir ki, distroqlikan mutasiyaları neyro-əzələ qovşaqların hüceyrələrində asetilxolin reseptorun klaster əmələ gətirməsini güclü şəkildə azaldır, bu klaster əmələ gəlmə eyni zamanda bazal lamina zülalları laminin və aqrindən də asılıdır. DGC-nin bu və mümkün olan başqa təsirləri görünür əzələ hüceyrələri dartılmaya və boşalmaya başlayarkən onlarda mexaniki stabilliyin kumulyativ itirilməsinə səbəb olur, nəticədə hüceyrələrin korlanması (pisləşməsi) və əzələ distrofiyası baş verir.

Distroqlikan hüceyrə biologiyasında zərif və tibbi baxımdan aktual olan, mürəkkəb bağlanma şəbəkələrinin nümunəsini təqdim edir. Distroqlikan ilkin olaraq əzələ distrofiyasının öyrənilməsi zamanı aşkar edilmişdir. Amma sonralar göstərilmişdir ki, o qeyri əzələ hüceyrələrində də ekspressiya olunur və o lamininə birləşməklə ən azı bəzi əsas (təməl) membranların yığılmasında və stabilliyində aparıcı rol oynayır. Beləliklə o, normal inkişaf üçün çox vacibdir. Əlavə tədqiqatlar, onun çox hallarda ağır insan xəstəliyinə səbəb olan Lassa hərərətini əmələ gətirən virus və digər əlaqədar viruslar üçün hüceyrə-səth reseptoru kimi identifikasiya olunmasına gətirib çıxardı və bu virusların hamısı distroqlikanın üzərində olan və onun lamininə birləşməsinə həyata keçirən oliqosaxarid matriqlikan vasitəsilə birləşirlər. Bundan başqa, distroqlikan sinir sistemində xüsusi hüceyrələrdə – Şvann hüceyrələrində – cüzam xəstəliyini əmələ gətirən patogen bakteriya *Mycobacterium leprae*-nin birləşdiyi reseptordur ■

IgCAM-lar Sinir və Başqa Toxumalarda Hüceyrə-Hüceyrə Adgeziyasını Həyata Keçirirlər

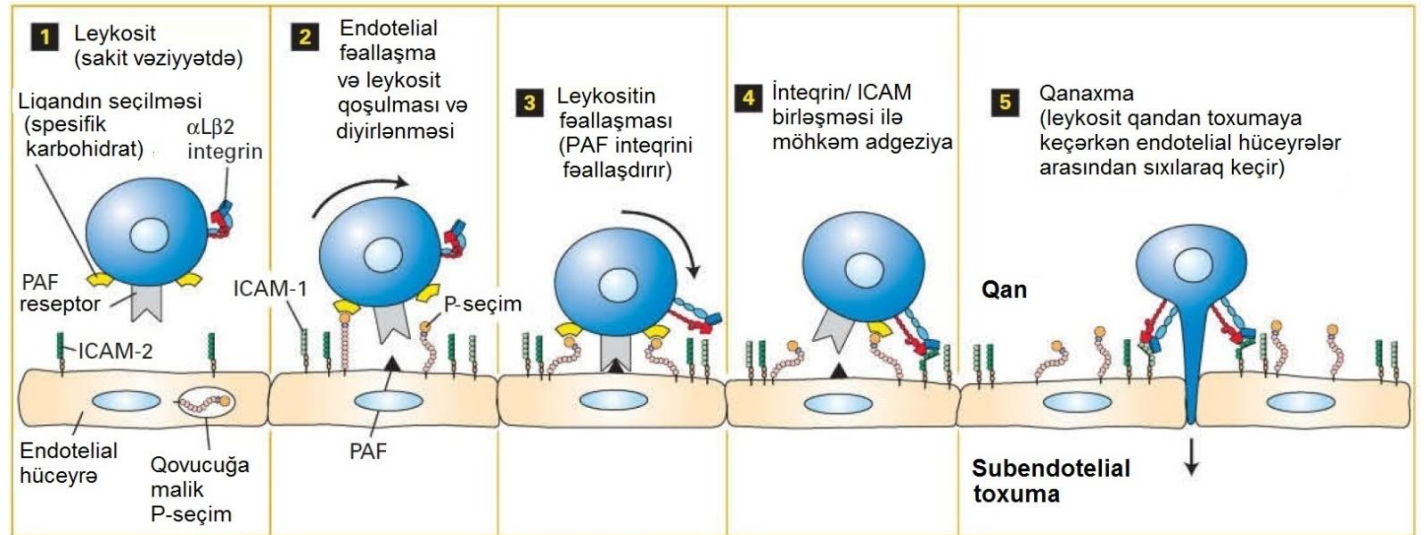
Hüceyrəxarici rayonlarda çoxsaylı immunoqlibulin domenlərinin olması ilə xarakterizə olunan çoxsaylı transmembran zülallar CAM-lar və ya IgCAM-ların immunoqlibulin (Ig) superailəsinə təşkil edirlər (məcələn, Şəkil 20-2-də NCAM-a bax). Ig domeni ümumi zülal domenidir, 70-110 qalığa malikdir, ilk dəfə antigen-birləşdirən immunoqlibulinlərdə – anticislərdə identifikasiya olunmuşdur (bax Fəsil 23), amma CAM-larda daha qədim təkamül mənşəyinə malikdirlər. İnsanın, *D. melanogaster*-in, və *C. elegans*-in genomlarında müvafiq olaraq 765, 150 və 64 gen Ig domenlərinə malik olan zülalları kodlaşdırır. İmmunoqlibulin domenləri geniş müxtəliflikdə hüceyrə-səth reseptorlarında, o cümlədən limfositlərin istehsal etdiyi T-hüceyrə reseptorlarında və yapışqan qarşılıqlı əlaqələrdə iştirak edən çox zülallarda tapılmışdır. IgCAM-lara neyronal CAM-lar, leykositlərin toxuma daxilində hərəkətində fəaliyyət göstərən hüceyrədaxili CAM-lar (ICAM), və sıx qovşaqlarda mövcud olan qovşaq adgeziya molekulları (junction adhesion molecule – JAM) daxildirlər (bax Şəkil 20-18).

Adlarından görüldüyü kimi, CAM-lar sinir toxumalarında xüsusi əhəmiyyət kəsb edirlər. Bunlardan bir tip, NCAM-lar ilk növbədə homofil qarşılıqlı əlaqələrdə iştirak edirlər. İlk dəfə morfogeneza zamanı ekspressiya olunan NCAM-lar əzələ hüceyrələrinin, qlial hüceyrələrin və neyronların differensiasiyasında əhəmiyyətli rol oynayır. Onların hüceyrə adgeziyasında rolu adgeziyanın anti-NCAM anticislərlə

ingibirləşdirilməsi ilə birbaşa nümayiş etdirilmişdir. Vahid bir genlə kodlaşdırılan çoxsaylı NCAM izoformalar alternativ RNT splyasinqi yolu ilə və qlikozilləşmədəki fərqlərlə yaradılır. Başqa neyronal CAM-lar (məsələn, L1-CAM) başqa genlərlə kodlaşdırılır. İnsanlarda L1-CAM geninin müxtəlif hissələrində müxtəlif mutasiyalar müxtəlif neyropatologiyaların (məsələn, əqli inkişafın gecikməsi, anadangəlmə hidrocefaliya və spastikliyin) əmələ gəlməsinə səbəb olur.

NSCAM beş Ig domendən və iki III tip fibronektindən ibarət olan hüceyrəxarici rayondan, membranı kəsib keçən bir seqməndən və sitoskeletlə əlaqəyə girən sitozol seqmentindən təşkil olunmuşdur (bax Şəkil 20-2). Əksinə, L1-CAM-ın hüceyrəxarici rayonunun altı Ig domeni və dörd III tip fibronektini var. Kadherinlərdə olduğu kimi, *cis* (hüceyrədaxili) qarşılıqlı təsirlər IgCAM vasitəsilə adgeziyada aparıcı rol oynayır (bax Şəkil 20-3), amma IgCAM-la vasitələnmən adgeziya Ca^{2+} -dan asılıdır.

Leykositlərin Toxuma Daxilinə Hərəkəti Yapışqan Qarşılıqlı Əlaqələrin Dəqiq Nizamlanmış Ardıcılığı ilə Təyin Edilir



ŞƏKİL 20-40 Endotelial-leykosit qarşılıqlı əlaqəsi: fəallaşma, birləşmə və ekstravazasiya. Pilla 1: Yoluxma və ya iltihab olmayanda leykositlər və qan damarlarını örtən endotelial hüceyrələr sakit vəziyyətdə olurlar və qarşılıqlı təsirdə olurlar. Pilla 2: Yalnız iltihab və ya yoluxma zonalarının ya da bunların hər ikisinin buraxdığı iltihab siqnalları istirahətdə olan endotelial hüceyrələri fəallaşdırır, nəticədə qovucuqdan buraxılmış selektinlər hüceyrə səthinə çıxır. Açıq vəziyyətə gəlmiş selektinlər leykositlərdəki karbohidrat liqandları ilə əlaqəyə girərək leykositlərin zəif birləşməsinə həyata keçirirlər. Qanın axması zəif birləşmiş leykositləri qan damarlarının endotelial səthi üzərində digirlənməyə məcbur edir

ekspressiya edirlər, fəallaşmış trombositlər *P-selektini* və leykositlər *L-selektini* ekspressiya edirlər. Bütün selektinlər Ca^{2+} -dan asılı olan *lektin domenə* malikdirlər ki, bu domenlər molekulun hüceyrəxarici rayonunun distal ucunda yerləşirlər və qlikozülallarda və ya qlikolipidlərdə xüsusi şəkilləri tanıyırlar (bax Şəkil 20-2). Məsələn, P- və E-selektinlərin əsas liqandı

Yaşlı orqanizmlərdə bir neçə tip ağ qan hüceyrələri (leykositlər) bakteriya və viruslar tərəfindən törədilən yoluxmaya qarşı mühafizədə iştirak edir, iltihab və ya toxuma zədələnməsinə cavab verirlər. Yoluxmaya qarşı mübarizə aparmaq üçün və zədələnmiş toxumaları təmizləyib atmaq üçün bu hüceyrələr dövrə vurduqları qandan sakitlikdə olan hüceyrələrə nisbətən sürətlə yoluxma, iltihab və ya zədələnmə nahiyyəsində olan toxuma daxilinə keçməlidirlər. Biz dörd tip leukositin toxuma daxilinə *ekstravazasiya* adlanan keçməsi haqqında çox şey bilirik: bir sıra antibakterial zülalları buraxan neytrofillər; makrofaqların əcdadı olan, yad cismləri udaraq məhv edən monositlər; immun sisteminin antigen-tanıyan hüceyrələri olan T və B limfositlər (bax Fəsil 23).

Ekstravazasiya qanda leykositlərlə qan damarlarını örtən endotelial hüceyrələr arasında hüceyrə-hüceyrə əlaqələrinin ardıcıl yaranmasını tələb edir. Bu əlaqələrdən bəziləri leykosit-vazikulyar endoteli qarşılıqlı əlaqələrini həyata keçirən CAM-lar ailəsi selektinlər vasitəsi ilə həyata keçirilir. Endotelial hüceyrələr qanla təmasda olan səthlərində *P-* və *E-selektinləri*

(burulmuş ox). Endotelinin fəallaşması həmçinin trombosit fəallaşdıran faktorun (PAF) və ICAM-1-in sintezinə səbəb olur, bunların hər ikisi endotelial hüceyrə səthində ekspressiya olunurlar. PAF və adətən ifraz olunan başqa aktivatorlar, o cümlədən kemokinlər sonra leykositlərin formasının dəyişilməsini və T hüceyrələrdə ekspressiya olunan $\alpha L\beta 2$ kimi leykosit inteqrinlərinin (pilla 3) fəallaşmasını induksiya edirlər. Sonra leykositlər üzərindəki fəallaşmış inteqrinlə endotelial üzərindəki CAM-ların (məsələn, ICAM-2 və ICAM-1) sıx birləşməsi möhkəm adgeziyaya (pilla 4) və sonra altda yerləşən toxuma daxilinə keçməsinə (ekstravazasiya) (pilla 5) səbəb olur. Bax R.O. Hynes and A. Lander, 1992, *Cell* 68:303.

sialil Levis-x antigen adlanan oliqosaxariddir, bunlar leykosit qlikozülallarını və qlikolipidlərinin zəngin olduğu oliqosaxaridlərin bir hissəsidir.

Şəkil 20-40 leykositlərin ekstravazasiyasına səbəb olan hüceyrə-hüceyrə qarşılıqlı əlaqələrinin əsas ardıcılığını işıqlandırır. Yoluxma və ya iltihab sahələrinin verdiyi iltihab

siqnalları əvvəlcə vazikulyar endotelinin fəallaşmasına səbəb olur. Fəallaşmış endoteli hüceyrələrinin səthində açıq vəziyyətdə qalmış P-selektin keçib gedən leykositlərin zəif adgeziyasını həyata keçirirlər. Qanın axma qüvvəsinə və P-selektinin öz liqandlarına birləşmə tezliyi dərəcəsinin “işləyən” (“on”) və “sönən” (“off”) vəziyyətlərində olmalarına görə bu “tələyə düşmüş” leykositlər ləngiyirlər, amma dayanırlar və sanki endoteli səthində diyirlənirlər. Endotelinin fəallaşmasını induksiya edən siqnallar arasında, endoteli hüceyrələri və leykositlər də daxil olmaqla çoxsaylı müxtəlif hüceyrələr tərəfindən istehsal edilən kiçik (8-12 kDa) ifraz olunan zülallar – kemokinlər vardır.

Fəallaşmış endotelial hüceyrələrlə leykositlər arasında sıx adgeziyanın əmələ gəlməsi üçün leykositlərin səthində olan $\beta 2$ -yə malik olan inteqrinlər dolayı yolla kemokinlər və ya *trombosit-fəallaşdırıcı faktor* (*platelet-activating factor – PAF*) kimi başqa fəallaşma siqnalları ilə fəallaşmalıdır. Trombosit-fəallaşdırıcı faktor onunla qeyri adidir ki, o zülal deyil fosfolipiddir, o fəallaşmış endotelial hüceyrələrinin səthində P-selektinlə eyni zamanda açıq vəziyyətdə qalır. PAF və ya başqa fəallaşdırıcının leykositlərdə G zülalla-cütləşən reseptorlara birləşməsi leykosit inteqrinlərinin fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 20-38). Fəallaşmış bu inteqrinlər endotelial hüceyrələrinin səthindəki fərqli IgCAM-lara birləşirlər. Bu IgCAM-lara konstitutiv ekspressiya olunan IgCAM-2, sintezi fəallaşma ilə induksiya olunan IgCAM-1 daxildir. Adətən IgCAM-1 fəallaşmadan dərhal sonra leykositlərin endotelial hüceyrələrə yapışmasına (adgeziyasına) əhəmiyyətli dərəcədə kömək etmir, əksinə sonrakı vaxtlarda, xroniki iltihablaşma zamanı iştirak edir. Ca^{2+} -dan asılı olmayan sıx adgeziya leykositlərin diyirlənməsinin dayandırılmasına və leykositlərin endoteli səthində səpilməsinə (yayılmasına) səbəb olur, tezliklə yapışan hüceyrələr qonşu endotelial hüceyrələr arasından altadakı toxuma daxilinə hərəkət edərək keçirlər. Ekstravazasiya mərhələsi (buna həmçinin *transmiqrasiya* və ya *diapedezis* da deyilir; bax Şəkil 20-40, pillə 5) özü, başqa vaxtı endotelial hüceyrələr arasında əsasən CAM VE-kadherinlə vasitələnmə stabil yapışqan qarşılıqlı əlaqənin dissosiasiyasını tələb edir. CAM-ların vasitəçilik etdiyi endotelial hüceyrələr ilə leykositlərin qarşılıqlı əlaqəsi, fosforlaşma, kiçik GTP-azaların fəallaşması və sitozol kalsium qatılığının artması ilə müşayiət olunan endoteli hüceyrələrində xaricdən-daxilə siqnalın verilməsinə başlanması barədə ümumi bir qanunauyğunluq mövcuddur. Bu siqnal VE-kadherinlə vasitələnmə endotelial-hüceyrələr-arası adheren qovşaqları zəiflədir və ya qırır və aktin myozinlərin dartılmasını artıraraq endotelial hüceyrələri bir-birindən kənara itələyir, beləliklə də leykositlərin əksər ekstravazasiyaya cavab verən bitişik endotelial hüceyrələr arasından parasellülar ameboid hərəkətlə keçməsinə imkan verir.

Beləliklə, leykositlərin yoluxma və ya iltihab sahəsi yaxınlığında endoteliyə selektiv adgeziyası qarşılıqlı təsirdə olan hüceyrələrinin səthindəki bir sıra fərqli CAM-ların ardıcıl meydana gəlməsi və fəallaşmasından asılıdır. Müxtəlif tipli leykositlər müxtəlif inteqrinləri ekspressiya edirlər, hərçənd ki, onlar hamısı $\beta 2$ subvahidə malikdirlər. Bununla belə, bütün leykositlər toxuma daxilinə Şəkil 20-40-da təsvir edilmiş ümumi bir mexanizmlə keçirlər.

Birbaşa leykosit adgeziyasında istifadə olunan CAM-ların çoxu müxtəlif tipli leykositlər və hədəf toxumalar arasında paylaşılır. Amma çox zaman, yalnız xüsusi tip leykosit xüsusi bir toxumaya yönəldilir. Belə bir spesifikasiyaya necə əldə olunur? Leykosit-endoteli qarşılıqlı təsirinin bu cürə hüceyrə tipi spesifikasiyalarının üç mərhələli bir modeli irəli sürülmüşdür. Birincisi, endotelial fəallaşma ilkin, nisbətən zəif keçici və geriye dönmə birləşməni inisiyaya edir (məsələn, selektinlərin və onların karbohidrat liqandlarının qarşılıqlı təsiri). Əlavə lokal fəallaşma siqnalları olmadan leykositlər sürətlə hərəkət edəcəkdir. İkincisi, yoluxma və ya iltihab sahəsinin birbaşa yaxınlığında olan hüceyrələr kemokinlər və PAF-lar kimi kimyəvi siqnalları buraxır və ya ekspressiya edirlər, bunlar isə leykositlərin ekspressiya etdiyi kemokin reseptorlarının tipindən asılı olaraq keçici (müvəqqəti) yapışmış bu leykositlərin yalnız xüsusi bir hissəsini fəallaşdırırlar. Üçüncüsü, əlavə fəallaşdırmadan-asılı olan CAM-lar (məsələn, inteqrinlər) öz tərəfdaşlarını cəlb edirlər və davamlı adgeziyanın yaranmasına səbəb olurlar. Yalnız CAM-ların, birləşmə tərəfdaşlarının və fəallaşma siqnallarının düzgün kombinasiyası xüsusi bir saytda müvafiq bir zamanla bir yerə toplanarsa leykosit möhkəm birləşəcəkdir. Bu cürə kombinasiyalı müxtəliflik və çarpaz əlaqə bioloji varlığın çox yaxşı nümunəsinə – CAM-ların kiçik bir dəstinin bütün orqanizm boyu çox müxtəlif funksiyaları yerinə yetirməsinə imkan verir.



Leykosit adgeziya çatışmazlığı inteqrinin $\beta 2$ subvahidinin sintezindəki genetik qüsurlar nəticəsində baş verir. Bu pozuntulara malik olan insanlar təkrar-təkrar bakterial yoluxmaya tutulmağa həssasdırlar, çünki onlar leykositləri toxumaya düzgün ekstravazasiya edə bilmirlər, ona görə də toxuma daxilində yoluxmaya qarşı səmərəli mübarizə apara bilmirlər.

Bəzi patogen viruslar iltihaba qarşı normal cavab zamanı iştirak edən hüceyrə-səth zülallarını istifadə etmək mexanizmini yaradıb inkişaf etdirmişlər. Məsələn, ümumi soyuqdəyməyə səbəb olan çox RNT viruslar (rinoviruslar) CAM-1-ə birləşərək hüceyrəyə daxil olurlar, kemokin reseptorlar isə QİÇS əmələ gətirən insanın immun çatışmazlığı virusu (QİÇ – HIV) üçün hüceyrəyə əhəmiyyətli giriş saytıdır. Görünür ki, inteqrinlər geniş müxtəliflikdə virusların, o cümlədən renovirusların (yüksək temperatura və qastroenteritə səbəb olan), adenovirusların (konjonktivit və kəskin tənəffüs xəstəliyinə səbəb olan) və qida-və-ağız xəstəliyi virusunun (qaramalda və donuzlarda yüksək temperatura səbəb olan) birləşməsində və ya hüceyrə daxilinə keçməsinə iştirak edirlər.



20.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hərəkətli və Hərəkətsiz Hüceyrələrdə Yapışqan Əlaqələr

- Çox hüceyrələrin zülallarında hüceyrələri ECM-lərə fiziki və funksional birləşdirən və daxildən-xaricə və xaricdən-daxilə siqnal ötürülməsinə imkan yaradan inteqrinə-malik olan

klasterlər vardır (məsələn, fokal adgeziya, 3-D adgeziya, podosomlar).

- Bu integrinlərin qarşılıqlı əlaqəsi hesabına hüceyrəni əhatə edən ECM-in üç-ölçülü quruluşu hüceyrənin davranışına dərindən təsir edə bilər.
- Integrinlər ən azı iki konformasiyada mövcud olurlar (əyilmiş/qeyri fəl, düz/fəal) və bunlar liqandlara olan affinliyi ilə və sitozol adapter zülallarla qarşılıqlı əlaqələrinə görə fərqlənirlər (bax Şəkil 20-38), bu iki konformasiya arasında dəyişilmək hüceyrə adgeziyasının və hərəkətlərinin nəzarət olunması üçün əhəmiyyətli olan integrin fəallığının tənzimlənməsinə imkan verir.
- Adgeziya reseptoru distroqlikan distrofin, başqa adaptor zülalları və siqnal molekulları ilə böyük kompleks əmələ gətirir (bax Şəkil 20-39). Bu kompleks aktin sitoskeleti hüceyrəni əhatə edən ECM-lə əlaqələndirir, əzələlərə mexaniki stabillik verir. Bu kompleksin müxtəlif komponentlərindəki mutasiyalar müxtəlif tipli əzələ distrofiyalarının yaranmasına səbəb olur.
- CAM-ların immunoqlobulin (Ig) ailəsinə aid olan sinir hüceyrə-adgeziya molekulları sinir və başqa toxumalarda Ca^{2+} -dan asılı olan hüceyrə-hüceyrə adgeziyasının yaranmasında vasitəçilik edirlər.
- Bir sıra CAM tiplərinin kombinatorial və ardıcıl qarşılıqlı əlaqələri (məsələn, selektinlər, integrinlər, və ICAM-lar) yoluxma və ya iltihab tərəfindən induksiya olunan lokal siqnallara qarşı cavab olaraq müxtəlif tipli leykositlərin endotelial hüceyrələrə spesifik adgeziyası üçün kritik əhəmiyyətlidir (bax Şəkil 20-40).

20.6 Bitki Toxumaları

Biz indi bitki hüceyrələrinin toxumalarda yığılmasına keçirik. Bitkilərin quruluşunun ümumi təşkili heyvanlarla müqayisədə daha sadədir. Məsələn, bitkilər yalnız dörd geniş yayılmış hüceyrə tipinə malikdirlər və bunlar yetkin bitkilərdə dörd müxtəlif tipli toxumaları əmələ gətirirlər: *dermal* (*qabıq*) *toxuma*, ətraf mühitlə qarşılıqlı əlaqədə olur; *vazikulyar* (*borulu*) *toxuma*, suyu və şəkərlərlə ionlar kimi suda həll olan maddələri daşıyırlar; boşluqları dolduran *əsas* (*ground*) *toxuma*, metabolizmin baş verdiyi əsas sahələri təşkil edir; *sporogen* *toxumalar*, çoxalma (reproduktiv) orqanları təşkil edir. Bitki toxumaları dörd əsas orqanlarda birləşmişlər: *sütun* (*gövdə*) orqanizmə dəstək vermək və nəqliyyat funksiyalarını yerinə yetirir; *köklər* lövbər etmək və qida maddələrini sorub saxlamaq funksiyasını təmin edir; *yarpaqlar* fotosintezin baş verdiyi sahələrdir; çiçəklər reproduktiv quruluşu təşkil edir. Beləliklə, hüceyrədə, toxuma və orqan səviyyələrində, bitkilərin əksəriyyəti heyvanlardan daha az mürəkkəbdir.

Bundan başqa, heyvanlardan fərqli olaraq, bitkilər qocalmış və ya zədələnmiş hüceyrələri və ya toxumaları əvəz etmir və ya bərpa etmirlər, onlar sadəcə olaraq yeni orqanları inkişaf etdirirlər. Həqiqətən də, verilmiş istənilən bitki hüceyrəsinin inkişaf taleyi onun hüceyrə xəttinə (mənsəyinə) deyil orqanizmdə yerləşmə vəziyyətinə əsaslanmışdır, halbuki heyvanlarda bunun hər ikisi çox əhəmiyyətlidir (bax Fəsil 21).

Həm bitkilərdə həm də heyvanlarda hüceyrələrin öz qonşu hüceyrələrilə birbaşa kommunikasiyası çox əhəmiyyətlidir. Bu fəsil üçün ən əhəmiyyətli və heyvanlardan fərqli olan odur ki, bitkilərdə çox az hüceyrələr bir-biri ilə onların plazma membranına daxil olan zülallar vasitəsilə birbaşa əlaqədə olurlar. Əslində, bitki hüceyrələri adətən sərt hüceyrə divarı ilə əhatə olunur və başqa hüceyrələrin hüceyrə divarı ilə bağlı olur (Şəkil 20-41a). Həmçinin heyvanlardan fərqli olaraq bitki hüceyrələri orqanizmdə öz yerləşmə vəziyyətini başqa hüceyrələrlə nisbətə çox nadir hallarda dəyişir. Bitkilərin və onların təşkil olunmasının bu xüsusiyyəti bitki hüceyrələrinin toxumalara qoşulduğu və bir-biri ilə əlaqədə olduğu fərqli molekulyar mexanizmləri müəyyən edir.

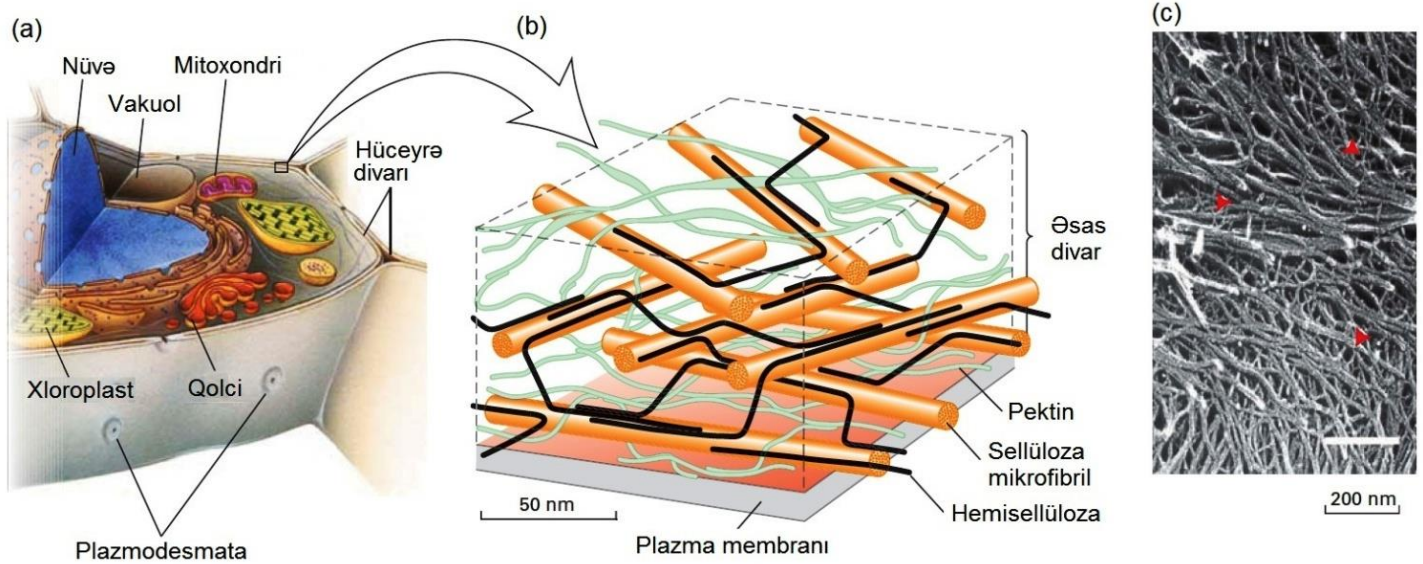
Bitki Hüceyrə Divarı Qlikozülallar Matrisasında Selluloza Liflərinin Laminatıdır

Əsasən polisaxaridlərdən ibarət olan və 0.2 μm qalınlıqda olan hüceyrəxarici matrisa, bitki hüceyrə divarı bitki hüceyrəsinin plazma membranını xaricdən tamamilə örtür. Bu quruluş heyvan hüceyrələrinin istehsal etdiyi ECM-lə eyni funksiyaları yerinə yetirir, hərçənd ki, bu iki quruluş tamamilə başqa makromolekullardan əmələ gəlmişdir və fərqli təşkil olunmaya malikdirlər. Kiçik çiçəkli bitki olan, və “thale cress” (“thale vəzəri”) kimi adlandırılan *Arabidopsis* bitkisinin (bax İsil 1 və 8) 1000 yaxın gen, o cümlədən 414 qlikoziltransferaza geni və 316-dan artıq qlikozil transferaza geni hüceyrə divarının sintezində və funksiyasında iştirak edir. Heyvan ECM-lərində olduğu kimi, bitkilərin hüceyrə divarı hüceyrələrin toxumalarda birləşməsinə təşkil edir, bitki hüceyrələrinin böyüyərək bölünməsi siqnalını verir və bitki orqanlarının formasının əmələ gəlməsinə nəzarət edir. O embriogeneza və böyümə zamanı bitki hüceyrələrinin differensiasiyasına nəzarət edilməsində əhəmiyyətli rol oynayan dinamik strukturdur və bitkilərdə patogen yoluxmalara qarşı baryeri təmin edir. Məhz ECM-lər heyvan hüceyrələrinin formasının təyin edilməsinə kömək etdiyi kimi, hüceyrə divarı da bitki hüceyrəsinin formalarını müəyyən edir. Hüceyrə divarı hidrolitik fermentlərlə parçalanaraq bitkidən uzaqlaşdırıldıqda plazma membranı ilə əhatə olunmuş sferik hüceyrələr qalır.

Bitki hüceyrə divarının əsas funksiyası hüceyrənin turqor təzyiqinin saxlanması olduğuna görə (hər kvadrat düyümə 14.5 və 435 pound arasında; bax Fəsil 11) hüceyrə divarı yana (lateral) davamlılıqda qurulmuşdur. O selluloza mikroborucuqlarının qatları şəklində düzülmüşdür: geniş şəkildə hidrogen əlaqələri ilə bağlanmış 30-36 paralel zəncirin dəstləri qlükozanın qlikozid əlaqələrində uzun (7 μm və ya daha artıq), xətti polimerləridirlər. Selluloza mikrofibrilləri D-qalakturon turşusunun və başqa monosaxaridlərin mənfi yüklənmiş polimeri *pektin*dən və bir sıra beş- və altı-karbonlu monosaxaridlərin qısa, yüksək dərəcədə şaxələnmiş polimeri *hemiselluloz*adan ibarət olan matrisada yerləşdirilmişdir. Hüceyrə divarının mexaniki möhkəmliyi mikrofibrillərin hemiselluloza zəncirləri ilə çarpaz əlaqələnməsindən asılıdır (Şəkil 20-41b, c). Mikrofibrillərin təbəqələri hüceyrə divarının yanlara (lateral) dartılmasına mane olur. Selluloza mikrofibrilləri plazmatik membranın eqzoplazmatik səthində sitozolda əmələ gəlmiş UDP-qlükozadan və ADP-qlükozadan sintez olunur. *Selluloza sintaza* adlanan polimerləşdirmə

fermenti sellüloza əmələ gəldikcə plazma membranı müstəvisində hüceyrədaxili mikroborucuqların izləri boyunca hərəkət edir, hüceyrədaxili-hüceyrəxarici kommunikasiya (ünsiyyət) üçün fərqli bir mexanizmi təmin edir və sellüloza

mikrofibrillərinin hüceyrə divarının və beləliklə də tam hüceyrənin böyüməsinə imkan verilməsi üçün düzğün yönəlməsini təmin edir.



ŞƏKİL 20-41 Bitki hüceyrə divarının quruluşu. (a) Tipik bitki hüceyrəsinin təşkilinin ümumi görünüşündə orqanoidlə-dolu hüceyrə öz plazma membranı ilə birlikdə hüceyrə divarı adlanan yaxşı formalaşmış xarici matrisə ilə əhatə olunur. (b) Soğanın hüceyrə divarının sxematik təsviri. Sellüloza və hemisellüloza pektin matrisasında ən azı üç qatda düzlənmişlər. Polimerlərin ölçüsü və onların ayrılması miqyasda çəkilmişdir. Diaqramı sadələşdirmək üçün hemisellülozanın kəsişmələrinin əksər hissəsi və matrisanın başqa tərkib hissələri (məsələn, ekstensin, liqnin) burada göstərilmişdir. See M. McCann and K. R. Roberts, 1991, in C. Lloyd, ed., *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form*, Academic Press, p. 126. (c) Baxça

noxudunun (nut) hüceyrə divarının tez-dondurulmuş dərin-kəsiklərinin mikrofotosunda bəzi pektin molekulları kimyəvi işləmə ilə uzaqlaşdırılmışdır. Zəngin qalın liflər sellüloza mikrofibrilləridir, nazik fibrillər isə hemisellüloza çarpaz əlaqələridir (qırmızı ox başları). [(b) hissə nəzakətlə Maureen C. McCann-dan. (c) hissə Oxford University Press, razılığı ilə Fujino, T., et al., "Characterization of cross-links between cellulose microfibrils, and their occurrence during elongation growth in pea epicotyl," *Plant Cell Physiol.* 2000, **41**(4):486–94-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

Sellülozadan fərqli olaraq, pektin və hemisellüloza Qolci kompleksində sintez olunurlar və hüceyrə səthinə daşınırlar, burada onlar qonşu hüceyrələrin hüceyrə divarının bir-biri ilə birləşməsinə və onları yasılaşdırmağa kömək edən, qarşılıqlı əlaqələnmiş şəbəkəni əmələ gətirirlər. Pektin təmizləndikdə, o su ilə birləşir və Ca^{2+} və borat ionlarının iştirakı ilə gel əmələ gətirir, ona görə də bir çox emal edilmiş qidalarda pektinlərdən istifadə olunur. Hüceyrə divarının 15 faizə qədər bir hissəsi zəngin serin və hidroksprolin qalıqlarına malik olan *ekstensin*dən ibarətdir. Hidroksprolin qalıqlarının çoxu arabinozanın (beşkarbonlu monosaxarid) qısa zəncirləri ilə əlaqəlidir, serin qalıqları isə qalaktoza ilə əlaqəlidir. Karbohidratlar çəkiyə görə ekstensinin təxminən 65 faizini təşkil edir, onun zülal özü isə hidrosil və ya *O*-əlaqəli karbohidratların xaricə tərəf dik uzandığı çöpşəkili spirali əmələ gətirir. *Liqninlər* – fenol qalıqlarının həllolmayan polimeri – sellüloza ilə assosasiya edir və möhkəmləndirici materialdırlar. Qıvrıdaq proteoqlikanlarında olduğu kimi, təzyiqlə güclərinə qarşı müqaviməti yaradır.

Hüceyrə divarı selektiv filtirdir və onun keçiriciliyi əsasən pektinlərlə tənzimlənir. Buna görə də su və ionlar hüceyrə

divarından asanlıqla diffuziya edirlər, böyük molekulların, o cümlədən molekul çəkisi 20 kDa-dan çox olan zülalların diffuziyası isə məhdudlaşdırılır. Bu cür məhdudlaşma nəyə görə çox bitki hormonlarının kiçik və sda həllolan molekullardan ibarət olmasını və onların asanlıqla hüceyrə divarından diffuziyaya edərək keçməsinə və bitki hüceyrəsinin plazma membranında olan reseptorlarla qarşılıqlı əlaqəyə girməsini izah edə bilər.

Hüceyrə Divarının İtirilməsi Bitki Hüceyrəsinin Böyüməsinə İmkan Verir

Bitki hüceyrəsinə əhatə edən hüceyrə divarı onun genişlənməsinə mane olduğundan, hüceyrə böyüyəndə onun hüceyrə divarı itirilməlidir. Bitki-hüceyrəsinin böyüməsinin miqdarı, tipi və istiqaməti *auksinlər* adlanan kiçik molekullu hormonlarla tənzimlənir. Hüceyrə divarının auksinlə-induksiya olunan zəifləməsi suyun daxilə sorulması ilə hüceyrədaxili vakuolun böyüməsinə imkan verir (bax Şəkil 20-41a) və hüceyrənin uzanmasına səbəb olur. Bu fenomenin böyüklüyünü (miqyasını) anlamaq üçün biz nəzərə alaq ki, qırmızı-ağac

bitkisində bütün hüceyrələr kiçilərk tipik qaraciyər hüceyrəsi ölçüsündə olarsa, o zaman bu ağac bitkisinin hündürlüyü maksimum bir metr olacaqdır, yəni normal haldan təxminən yüz dəfə az.

Hüceyrə divarı özünün ən böyük dəyişilmələrinə kök və gövdə ucunda meristem hüceyrələrində məruz qalır. Fəsil 21-də müzakirə olunduğu kimi, meristemlər hüceyrələrin bölünərək böyüdüyü nahiyədir. Cavan meristem hüceyrələri *ilkin hüceyrə divarı* ilə əlaqəlidirlər və hüceyrənin elonqasiyası üçün onlar burada itirilə və dartıla bilirlər. Hüceyrənin elonqasiyası kəsildikdən sonra, hüceyrə divarı ümumiyyətlə qalınlaşır, bu ya əlavə makromolekulların ilkin hüceyrə divarına ifraz olunması yolu ilə ya da daha ənənəvi olaraq bir neçə qatdan təşkil olunan *ikinci hüceyrə divarının* formalaşması ilə baş verir. Yetkin toxumalarda, məsələn suyu və duzları gövdə vasitəsilə köklərdən yarpaqlara ötürən borulardan ibarət oolan ksilemada hüceyrələrin əksəriyyəti sonda degenerasiya edir və yalnız hüceyrə divarı qalır. Oduncağın və pambıq kimi bitki liflərinin unikal xassələri toxumalarda və orqanlarda hüceyrə divarının molekulyar xassələrinə görədir.

Plazmodesmata Bitişik Hüceyrələrin Sotozolunu Birbaşa Birləşdirir

Bitkilərdə hüceyrələri bir-birindən ayıran hüceyrə divarının olması, hüceyrə-hüceyrə kommunikasiyasına (ünsiyyətinə) və bu yolla hüceyrə differensiasiyasına heyvanlarda rast gəlinməyən $\epsilon\kappa\alpha\upsilon$ mane olur. Bitki hüceyrələri tərəfindən birbaşa kommunikasiya (ünsiyyət) üçün istifadə olunan fərqli bir mexanizm **plazmodesmata** adlanan və hüceyrə divarından keçərək uzanan xüsusi bir hüceyrə-hüceyrə qovşağıdır (Şəkil 20-42). Boş qovşaqlarda olduğu kimi, plazmodesmatalar bitişik qonşu hüceyrələrin sitozolunu birləşdirən kanallardır. Kanalların diametri 30-60 nm-ə yaxındır və onun uzunluğu dəyişilə bilər, amma 1 μm -dən böyük ola bilmir. Plazmodesmataların sıxlığı bitki və hüceyrə tipindən asılı olaraq dəyişilə bilər, hətta ən kiçik meristem hüceyrələrinin qonşu hüceyrələrlə mindən artıq əlaqəli vardır. NET1A adlanan adapter zülalı, guman olunur ki, plazmodesmatanı aktin sitoskeletə bağlayır. Baxmayaraq ki, fiziki və funksional cəhətdən plazmodesmatalarla əlaqəli olan bir sıra müxtəlif zülallar və polisaxaridlər aşkar edilmişdir, plazmodesmatanın əsas quruluş zülal komponentləri və onların biogenezinin əsasında duran ətraflı mexanizmlər tam aşkar edilməmiş vəziyyətdə qalmışdır.

1000 Daltondan kiçik olan molekullar, o cümlədən müxtəlif metabolik və siqnal komponentləri (ionlar, şəkərlər, amin turşuları) əsasən plazmodesmatadan diffuziya edərək keçə bilirlər. Amma, molekulların keçib getdiyi kanalların ölçüsü yüksək dərəcədə tənzimlənir. Bəzi hallarda, kanal qapanır, digər hallarda isə o 10000 Daltondan böyük molekulların rahat keçməsinə imkan vermək üçün kifayət qədər genişlənir. Qlükoza polimerinin hüceyrəxarici böşluqda kanalların daxil olduğu nahiyədə (bax Şəkil 20-42a) kalloza adlanan ehtiyat toplanması və parçalanması, guman olunur ki, kanalın müvafiq olaraq bağlanması və açılmasını tənzimləyir. Plazmodesmatanın keçiriciliyinə təsir edən faktorlardan biri Ca^{2+} qatılığıdır: sitozolda Ca^{2+} qatılığının artması molekulların

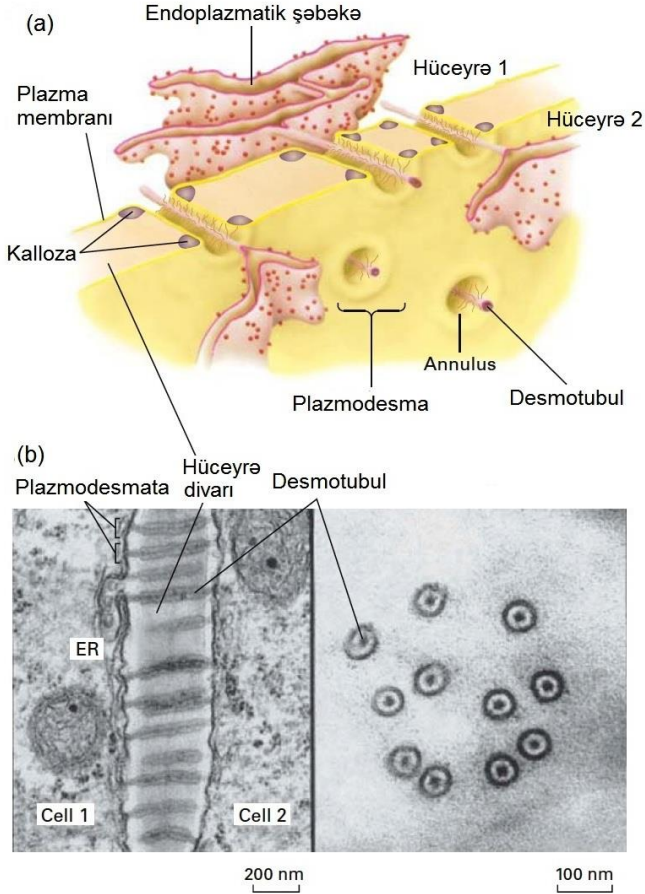
bu kanal vasitəsilə hərəkətini geriye dönən şəkildə ingibirləşdirir.

Baxmayaraq ki, plazmodesmata və boş qovşaqlar kiçik-molekulların diffuziyası üçün funksiyalarına görə bir-birinə oxşayırlar onların quruluşları iki əhəmiyyətli yolla dramatik şəkildə fərqlənir (bax Şəkil 20-42). Plazmodesmatada qonşu (bitişik) bitki hüceyrələrinin plazma membranları *annulus* adlanan fasiləsiz davam edən uzun kanalı əmələ gətirmək üçün birləşirlər, amma heyvan hüceyrələrində boş qovşaqlarda plazma membranı biri obirinin davamı deyil. Sadə plazmodesmatalar (Şəkil 20-42-dəki kimi tək məsələli) və çoxsaylı kanallara şaxələnən mürəkkəb plazmodesmatalar mövcuddur. Bundan başqa, plazmodesmata əlavə çoxsaylı quruluş və funksional xassələri nümayiş etdirir. Məsələn, onlar kanal daxilində endoplazmatik şəbəkənin annulusdan keçən, *desmotyubul* adlanan uzanmasına malikdirlər. Onlar həmçinin kanalın girişində və kanalın uzunluğu boyu uzanan çoxsaylı ixtisaslaşmış zülallara, o cümlədən kanaldan keçən molekulların ölçüsünü və tipini tənzimləyən sitoskelet, motor və dokinq zülallarına da malikdirlər. Bəzi transkripsiya faktorları, nuklein turşusu/zülal kompleksi metabolik məhsullar və bitki virusları kimi çox molekul tipləri plazmodesmata vasitəsi ilə hüceyrədən hüceyrəyə yayılırlar. Görünür ki, bunlardan bəziləri nəqliyyatı təmin etmək üçün xüsusi çaperonları tələb edir. Xüsusi kinazalar plazmodesma komponentlərinin fəaliyyətini (məsələn, kanalların açılmasını) tənzimləmək üçün onları fosforlaşdırma bilər. Həllolan molekullar plazma membranı ilə desmotyubullar arasında yerləşən 3-4 nm diametrdə olan sitozol annulusundan keçir, halbuki membrana birləşmiş molekullar və ya ER lümeni daxilində müəyyən zülallar hüceyrədən-hüceyrəyə desmotyubullarla keçə bilirlər. Görünür plazmodesmata patogenlərlə yoluxmaya qarşı mühafizədə və bitki hüceyrələrinin və toxumalarının inkişafının tənzimlənməsində xüsusi əhəmiyyətli rol oynayır, bunu onların transkripsiya faktorlarının ribonukleo-zülal kompleksinin hüceyrədaxili hərəkətini həyata keçirmək qabiliyyəti sübut edir.

Tunel Əmələgətirən Nanoborucuqlar Plazmodesmataya Oxşayır Molekulları və Orqanoidləri Heyvan Hüceyrələri Arasında Ötürür

Tuneləmələgətirən nanoborucuqlar plazma membranının borucuq şəkilli çıxıntıları olub heyvan hüceyrələrinin sitozollarını birləşdirən fasiləsiz davamedən kanalları əmələ gətirirlər (Şəkil 20-43) və bitkilərdəki plazmodesmataya anoloji üsulla kimyəvi və elektrik siqnallarını hüceyrələr arasında ötürürlər. Tuneləmələgətirən nanoborucuqlar adətən şaxələnmir, düz borucuqlardır və geniş müxtəliflikdə diametrə (50-300 nm qədər) və uzunluğa (hüceyrələr arasında <10 μm -dən >100 μm qədər) uzana bilər, beləliklə onlar hüceyrənin diametrindən bir neçə dəfə uzun ola bilirlər) malik ola bilirlər. Bütün tuneləmələgətirən nanoborucuqlar mərkəzi tuneldən keçən aktin filamentə malikdirlər, onlar bəzi hüceyrə tiplərində mikroborucuqlara da malik olurlar. Tuneləmələgətirən nanoborucuqlardan, plazmodesmatadakı kimi, endoplazmatik şəbəkənin keçməsi haqqında sübut edici məlumat yoxdur. Maraqlıdır ki, funksional mitoxondriolər tunel nanoborucuqlarından hüceyrə kulturasında (bax Şəkil 20-43) və in vivo keçərək hüceyrələr arasında hərəkət edə bilirlər, beləliklə

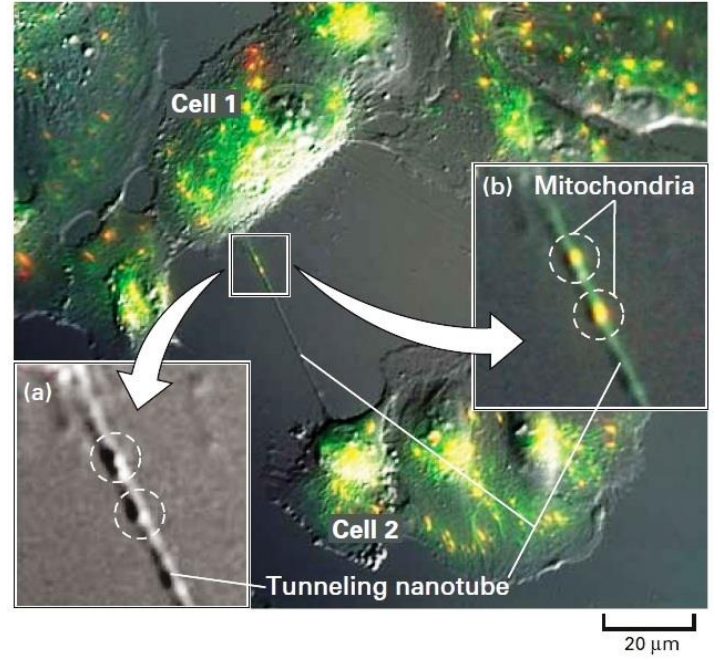
qüsurlu mitoxondriləri və ya mitoxondri çatışmazlıqları olan qəbul edən hüceyrələri xilas edirlər. Beləliklə bu fəslin 20-2 bölməsində müzakirə olunan metabolik birləşmə konsepsiyası tunel nanoboruçular vasitəsilə kiçik molekulların və organoidlərin hərəkətini daxil etməklə genişləndirilə bilər. Patogenlər də həmçinin, tuneləmələgətirən nanoboruçulardan istifadə edərək hüceyrələr arasında yayıla bilər.



ŞƏKİL 20-42 Plazmodesmata. (a) Plazmodesmatanın sxematik modeli endoplazmatik şəbəkənin (ER) uzunaması olan desmotubulları (desmoboruçuları) və qonşu bitişik hüceyrələrin sitozolunu qarşılıqlı birləşdirən sitozolla dolu plazma-membranı-qatlı kanal annulusu (halqanı) göstərir. Qlükoza polimerinin tənzimlənən şəkildə hüceyrə divarında kanalın daxil olduğu nahiyədə hüceyrəxarici boşluqda kolloza (sianid) adlanan ehtiyat toplanması, görünür annulusun daralması ilə kanalın bağlanmasını məcbur etməklə plazmodesmatalarla hüceyrə daxili daşınmaya mane olmaq potensialına malikdir. (b) Şəkər qamışı yarpağının nazik kəsiyinin elektron mikrofotoları (mötərizə fərdi plazmodesmataları göstərir). *Solda:* Uzununa görünüş hər bir annulusdan keçən ER və desmotubulları göstərir. *Sağda:* Plazmodesmatanın perpendikulyar çarpaz kəsiklərinin görünüşü, bunların bəzilərində plazma membranını desmotubullarla birləşdirən iy-şəkilli quruluş görünür. [(b) hissəsi Springer-in razılığı ilə Robinson-Beers, K. and Evert, R.F., "Fine structure of plasmodesmata in mature leaves of sugarcane," *Planta*, 1991, **184**(3):307–18-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

Bitkilərdə Çox Az Adgeziya Molekulu Aşkar Edilmişdir

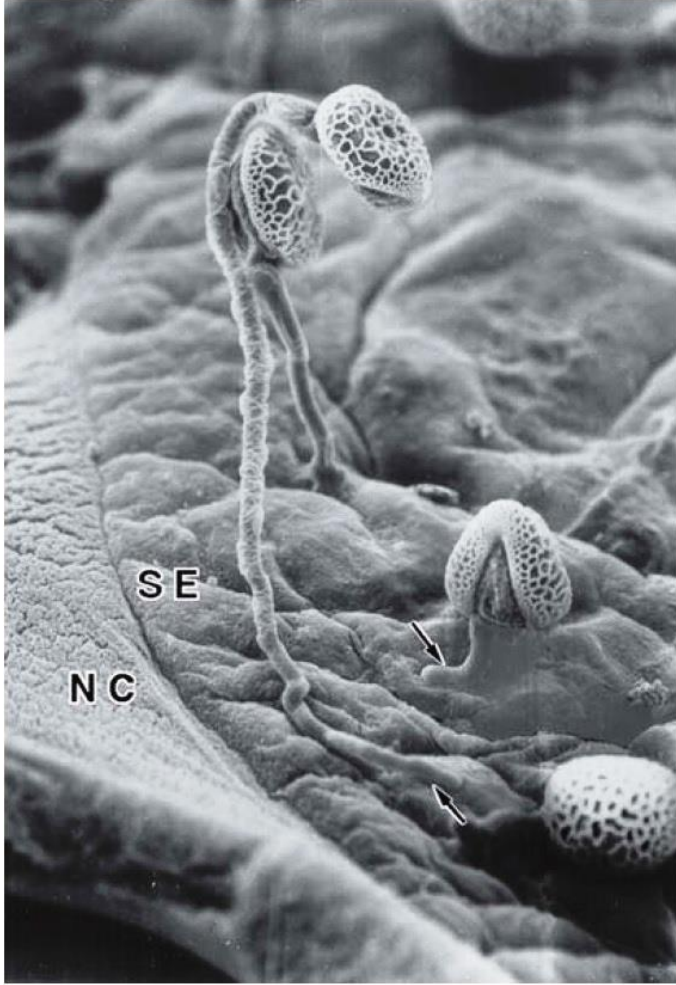
Arabidopsis genomunun sistematik analizləri və başqa bitki növlərinin biokimyəvi analizləri əksər heyvan hüceyrələrindəki CAM-ların, adgeziya reseptorlarının və ECM komponentlərinin bitkilərdəki analoqlarının mövcud olması barədə heç bir sübutu tapa bilmədi. Bu kəşf heyvanlarda və bitkilərdəki hüceyrə-hüceyrə və hüceyrə-ECM qarşılıqlı əlaqəsinin çox böyük müxtəlif təbiəti fonunda təccübləndirici deyildir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-43 Kultura olunan insan hüceyrəsində mitoxondrinin və tunel nanoboruçunun mikroskopik vizuallaşdırılması. İnsanın kultura olunan retinal pigment epiteli hüceyrələri (ARPE-19 hüceyrə xətti) mitoxondrinə xüsusi rəngləyən fluoressent boya (JC-1) ilə inkubasiya olundu, sonra hüceyrələri vizuallaşdırmaq üçün şərti (adi) parlaq-sahə mikroskopiyası ilə (bax Fəsil 4) və mitoxondrinə vizuallaşdırmaq üçün (yaşıl hüceyrə daxili fluoressensiya) fluoressent mikroskopiyaya ilə kombinasiyada öyrənilirdi. 1-ci və 2-ci hüceyrələri birləşdirən tipik tunel əmələgətirən nanoboruçuları görmək olur. Əlavə (a)-da, parıldayan dairələrlə vurğulanan tunel nanoboruçusundakı iki qabarıq olan ilə parlaq sahəyə məxsus olan görüntünün daha yüksək böyüdülməsi göstərilir. Əlavə (b)-də tunel nanoboruçusunda bu qabarıqların yerləşdiyi vəziyyətdə iki mitoxondrinə göstərən kombinasiya olunmuş təsvirin eyni rayonunun daha yüksək böyüdülməsi göstərilir. [Wittig, D., Xiang, W., Walter, C. Hans-Herrmann, G., Fun, R. H. W., Roehlecke, C. (2012) "Multi-level communication of human retinal pigment epithelial cells via tunneling nanotubes," *PLoS One* **7**(3): e33195. doi:10.1371/journal.pone.0033195.]

Adgeziya zülalları arasında bitkilərdə unikal olan beş hüceyrə divarı-əssosiasiyalı kinazalar (wall-associated kinases – WAK) və *Arabidopsis* hüceyrəsinin plazma membranında ekspressiya olunan WAK-bənzər zülallardır. Bu transmembran zülallar sitoplazmatik serin/treonin kinaza domeninə malikdirlər

və onların hüceyrəxarici rayonları, heyvan hüceyrə-səth reseptorlarında rast gəlinən çoxsaylı epidermal boy faktorları (EGF) təkrarlarına malikdirlər. Bəzi WAK-lər hüceyrəxarici zülal-birləşdirən domenə malikdirlər və bu domen pektini və pektinin parçalanma fraqmentlərini tanıyır və onlara birləşirlər. Ehtimal olunur ki, belə birləşmə hüceyrə divarının zədələnməsi (yaralanma) və patogenlərlə yoluxma zamanı hüceyrə divarının statusunu monitor etmək və ona cavab vermək üçün hüceyrəyə kömək edir. Beləliklə, bitki hüceyrələrindəki bəzi WAK-lər görünür heyvan hüceyrələrindəki adgeziya reseptorlarına, ECM-in birləşməsi və hiss olunmasına və xaricdən-daxilə siqnalın ötürülməsinə analojidirlər.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 20-44 Tozcuq borucuqlarının stilyar ECM-lərə bağlanması üçün tələb olunan molekulların identifikasiyası üçün in vitro sınaqdan istifadə edilmişdir. Bu sınaq zamanı zambaqdan toplanmış ECM (SE) və ya süni ECM nitrosellüloza (NC) membranı üzərində qurudulmuşdur. Sonra sperma tozcuğuna malik olan tozcuq borusu əlavə edilmiş və onların qurudulmuş ECM-ə bağlanması yoxlanıldı. Bu skanedici elektron mikrofotosunda tozcuq borucuqları uclarının (oxlar) stilyar ECM-ə birləşdiyini görünə bilər. Bu tip eksperiment göstərdi ki, tozcuq bağlanması dişicik ağızciğının/stilyar sistein-zəngin adgeziyasından (SCA) və SCA-ə birləşən pektindən asılıdır. [Springer-in razılığı ilə Guang Yuh, J., et al., “Adhesion of lily pollen tubes on an artificial matrix,” *Sex. Plant Reprod.*, 1997, **10**:3, pp. 173–180-dan yenidən çap edilmişdir.]

In vitro birləşmə sınağının nəticələri in vivo tədqiqatlarla və bitki mutantlarının analizləri ilə birlikdə, ECM-də adgeziya üçün əhəmiyyətli olan bir sıra makromolekulları identifikasiya etdi. Məsələn, sperma hüceyrələrinə malik olan tozcuğun Paxsa zambağının diş reproduktiv orqanlarının dişicik ağızciğına normal adgeziyası və ya “dişicik-ağzı formalı sisteinlə zəngin adgeziya” (stigma/stylar cysteine-rich adhesin – SCA) adlanan, sisteinlə zəngin zülalı və SCA-ya birləşə bilən xüsusi pektini tələb edir (Şəkil 20-44). Kiçik, ehtimal olunan ECM-ə yüklənmiş kimosianin adlanan 10 kDa zülal spermaya malik olan tozcuq borucuğunu (kemotaksis) yumurtalığa yönəltmək üçün SCA ilə birlikdə fəaliyyət göstərir.

Pektin biosintezinin əsas fermenti olan qlükouroniltransferaza 1-i kodlaşdıran genin dağılması bitki meristemlərində hüceyrələrarası adgeziyada pektinlərin əhəmiyyətini parlaq şəkildə təsvir etdi. Normal halda, xüsusi pektin molekulları meristemdə hüceyrələri sıx şəkildə bir yerdə saxlamağa kömək edir. Kulturada nisbətən differensasiya etməmiş hüceyrələrin kallus adlanan klasteri kimi, bitərkən normal meristem hüceyrələri sıx şəkildə yapışırlar və xlorofil istehsal edən hüceyrələrə differensasiya edərək kallusa yaşıl rəng verirlir. Tədricən kallus gövdəni əmələ gətirəcək. Əksinə, qlükouronil 1 genində mutasiya olan hüceyrələr böyük olurlar, bir-biri ilə çox zəif assosiasiya edirlər və normal differensasiya etmirlər, sarı kallus əmələ gətirirlər. Normal qlükouroniltransferaza 1 genin mutant hüceyrəyə keçirilməsi onların yapışmaq və normal differensasiya etmək qabiliyyətini bərpə edir.

Çoxsaylı yaxşı-müəyyən edilmiş heyvan hüceyrələrinin adgeziya molekullarının əksinə, bitki adgeziya molekullarının bugün identifikasiya olunmuş azlığı ola bilsin ki, bitkilərdə ECM/hüceyrə divarı ilə işləməyin texniki çətinliyindəndir. Yapışqan qarşılıqlı təsirlər bitki və heyvan biologiyasında görünür fərqli rol oynayır, ən azından bitkilər və heyvanlar arasında inkişafın və fiziologiyasının fərqlərinə görə.

20.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Bitki Toxumaları

- Bitkilərdə hüceyrələrin toxumaya inteqrasiyası heyvan toxumalarının toplanmasından fundamental (əsaslı) şəkildə fərqlənir, hər şeydən əvvəl ona görə ki, hər bir bitki hüceyrəsi nisbətən sərt bitki divarı ilə əhatə olunur.
- Bitki hüceyrə divarı hemisellüloza, pektin, ekstensin və az miqdarda olan başqa molekullardan təşkil olunan matrisa daxilində batmış sellüloza mikrofibrillərinin təbəqələrindən ibarətdir.
- Böyük xətti qlükoza polimeri sellüloza spontan şəkildə hidrogen əlaqələri ilə stabilləşən mikrofibrillərdə toplanırlar.
- Hüceyrə divarı bitki hüceyrələrinin formasını müəyyən edir və onların elonqasiyasını məhdudlaşdırır. Hüceyrə divarının auksinlə-induksiya olunan itirilməsi hüceyrənin elonqasiyasına imkan verir.
- Qonşu bitki hüceyrələri molekulların bitişik hüceyrələrin sitozollarını əlaqələndirən mürəkkəb kanallardan keçməsinə

- imkan verən, plazmodesmata adlanan qovşaqlar vasitəsi ilə ünsiyyətdə ola bilirlər (bax Şəkil 20-42).
- Heyvan hüceyrələrində tunel əmələgətirən nanoborucuqlar bitkilərdəki plazmodesmataya müəyyən qədər onunla oxşardır ki, onlar yaxınlıqdakı hüceyrələrin sitozollarını birləşdirən fasiləsiz davam edən kanalı təşkil edən plazma membranlarının boruşəkilli çıxıntılarıdır (bax Şəkil 20-43).

- Birkilər heyvanlarda tapılmış ümumi adgeziya molekullarının homoloqlarını istehsal etmirlər. Bu vaxta qədər bitkilərdə yalnız bir neçə adgeziya molekulu aşkar edilib sənədləşdirilmişdir.

Açar sözlər

adapтер zülalları
adgeziya reseptoru
adheren qovşaqlar
bazal lamina
boş qovşaqlar
çox-yapışqanlı matrisa zülalı
desmosom
elastin
epiteli
epitelidən-mezenximaya keçid
fibrilyar kollagen
fibronektin
hialuronan
hüceyrə divarı
hüceyrə-adgeziya molekulları (CAM)
hüceyrəxarici matrisa (ECM)

immunoqlobulin hüceyrə-adgeziya molekulları (IgCAM)
inteqrin
kadherin
kollagen
konneksin
qlikozaminqlikan (GAG)
laminin
lövbər edən qovşaqlar
matrisa metalloproteaza
parasellular yol
plazmodesmata
proteoqlikan
RGD motif
selektin
sıx qovşaq
sindekan

Konsepsiyalara baxış

1. Kadherin kimi adgeziya molekullarında müxtəlifliyin yaranmasına səbəb olan iki fenomeni təsvir et. Hansı əlavə fenomen inteqrinlərdə müxtəlifliyin yaranmasına səbəb olur?
2. Məlumdur ki, kadherinlər hüceyrələr arasında homofil qarşılıqlı təsirləri həyata keçirirlər. Homofil qarşılıqlı əlaqələr nədir və o E-kadherinlər üçün eksperimental olaraq necə nümayiş etdirilə bilər? Kadherinlərlə vasitələnməyən homofil qarşılıqlı təsirlər üçün hgüceyrəxarici mühitin hansı komponenti tələb olunur və bu tələb necə nümayiş etdirilə bilər?
3. Adheren qovşaqlar onların bitişik epitel hüceyrələrində lateral membranları birləşdirmək rolları ilə birlikdə, hüceyrə formasına nəzarət rolunu da oynayırlar. Assosiasiyada olan hansı hüceyrədaxili quruluşlar və zülalları bu rolda iştirak edirlər?
4. Sıx qovşaqların normal funksiyası nədən ibarətdir? Sıx qovşaqlar düzgün fəaliyyət göstərməyəndə toxumalarda nə baş verir?
5. Ürək əzələ hüceyrələri arasındakı boş qovşaqlar və uşaqlıq saya əzələ hüceyrələri arasındakı boş qovşaqlar sürətli ünsiyyət (kommunikasiya) üçün əlaqə yaradırlar. Bu fenomenə nə deyilir? Uşaqlıq saya əzələ hüceyrələri arasındakı bu kommunikasiya (ünsiyyət) doğuş (uşağın anadan olması) üçün necə artan-istiqləmətdə tənzimlənir?

6. Kollagen nədir və o necə sintez olunur? Kollagenin toxumanın bütövlüyü üçün tələb olduğunu biz necə bilirik?
7. İnteqrinin quruluşundakı dəyişikliyin xaricdən-daxilə və daxildən-xaricə siqnalları necə həyata keçirdiyini izah edin.
8. Bütün toxumalardakı ECM-də zəngin olan üç tip makromolekulun hər birinin xassəsini və funksiyasını müqayisə edin.
9. Çox proteoqlikanların siqnal ötürmə rolları vardır. Beyinin hipotalamus rayonunda sindekanlar vasitəsilə qidalanma davranışının tənzimlənməsi buna bir misaldır. Bu tənzimləmə necə həyata keçirilir?
10. Siz başqa amin turşuları ilə əhatə olunmuş RGD motifə malik olan oliqopeptidi sintez etmisiniz. Bu peptid fibronektin çökdürülmüş toxuma kulturası qablarında yetişdirilən fibroblast hüceyrə kulturasına əlavə edilərkən necə təsir edəcək? Niyə bu baş verir?
11. Fizioloji və ya patoloji toxuma remodelinqində ECM-i yenidən quran və ya parçalayan zülalların üç əsas subqrupunun əsas fəaliyyətini və mümkün olan lokalizasiyasını təsvir et. Bu zülalların əsas rol oynadığı patoloji şəraiti müəyyən et.
12. Məməlilərin sağ qalmasında qanın laxtalanması çox vacib bir funksiyadır. Fibronektinin çox-yapışqanlı xassəsi trombositləri qan laxtalanmasına necə səfərbər edir?
13. ECM ilə sitoskelet arasındakı molekulyar əlaqələrin dəyişməsi Duşenn əzələ distrofiyasının yaranmasına necə səbəb olur?

14. Yoluxmaya qarşı mübarizə üçün leykositlər qandan sürətlə toxumada yoluxma nahiyəsinə keçirlər. Bu proses necə adlanır? Adgeziya molekulaları bu prosədə necə iştirak edirlər?
15. Hüceyrənin böyüməsi üçün bitki hüceyrə divarının quruluşunun itirilməsi tələb olunur. Bu prosədə hansı siqnal molekulu nəzarət edir?
16. Bitki hüceyrələrindəki plazmodesmata ilə heyvan hüceyrələrindəki boş qovşaqları və tuneləmələgətirən nanoborucuqları müqayisə et.

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziya: Ümumi Baxış

- Humphrey, J. D., E. R. Dufresne, and M. A. Schwartz. 2014. Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:802–812.
- Jansen, K. A., et al. 2015. A guide to mechanobiology: where biology and physics meet. *Biochim. Biophys. Acta* **1853**: 3043–3052.
- The Matrisome Project website (<http://matrisomeproject.mit.edu>). A compilation of datasets and information about the genes and proteins of the matrisome.
- Naba, A., et al. The extracellular matrix: tools and insights for the "omics" era. *Matrix Biol.* 2015 Jul 8. pii: S0945-053X(15)00121-3. [Epub ahead of print]
- Nieto, M. A. 2013. Epithelial plasticity: a common theme in embryonic and cancer cells. *Science* **342**:1234850.
- Padmanabhan, A., et al. 2015. Jack of all trades: functional modularity in the adherens junction. *Curr. Opin. Cell Biol.* **36**:32–40.

Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Qovşaqları və Onların Adgeziya Molekulları

- Anderson, J. M., and C. M. Van Itallie. 2009. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **1**(2):a002584.
- Conrad, M. P., et al. 2016. Molecular basis of claudin-17 anion selectivity. *Cell. Mol. Life Sci.* **73**:185–200.
- Gershon, E., V. Plaks, and N. Dekel. 2008. Gap junctions in the ovary: expression, localization and function. *Mol. Cell. Endocrinol.* **282**:18–25.
- Glentis, A., V. Gurchenkov, and D. Matic Vignjevic. 2014. Assembly, heterogeneity, and breaching of the basement membranes. *Cell Adh. Migr.* **8**(3):236–245.
- Lee, J. M., et al. 2006. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J. Cell Biol.* **172**(7):973–981.
- McMillen, P., and S. A. Holley. 2015. Integration of cell-cell and cell-ECM adhesion in vertebrate morphogenesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* **36**:48–53.
- Oda, H., and M. Takeichi. 2011. Structural and functional diversity of cadherin at the adherens junction. *J. Cell Biol.* **193**(7):1137–1146.
- Walko, G., M. J. Castanon, and G. Wiche. 2015. Molecular architecture and function of the hemidesmosome. *Cell Tissue Res.* **360**:529–544.
- Wu, Y., P. Kanchanawong, and R. Zaidel-Bar. 2015. Actin-delimited adhesion-independent clustering of E-cadherin forms the nanoscale building blocks of adherens junctions. *Dev. Cell* **32**:139–154.
- Yang, C. C., et al. 2015. Differential regulation of the Hippo pathway by adherens junctions and apical-basal cell polarity modules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**:1785–1790.
- Zaidel-Bar, R., and B. Geiger. 2010. The switchable integrin adhesome. *J. Cell Sci.* **123**(pt. 9):1385–1388.

Hüceyrəxarici Matrisa II: Bazal Lamina

- Bonnans, C., J. Chou, and Z. Werb. 2014. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:786–801.
- Hohenester, E., and P. D. Yurchenco. 2013. Laminins in basement membrane assembly. *Cell Adh. Migr.* **7**:56–63.
- Hynes, R. O. 2014. Stretching the boundaries of extracellular matrix research. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:761–763.
- Robertson, W. E., et al. 2014. Supramolecular organization of the α 121- α 565 collagen IV network. *J. Biol. Chem.* **289**:25601–25610.
- Sarrazin, S., W. C. Lamanna, and J. D. Esko. 2011. Heparan sulfate proteoglycans. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**. pii: a004952.

Hüceyrəxarici Matrisa II: Birləşdirici Toxumalar

- Canty, E. G., and K. E. Kadler. 2005. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J. Cell Sci.* **118**:1341–1353.
- Robertson, I. B., et al. 2015. Latent TGF- β -binding proteins. *Matrix Biol.* **47**:44–53.
- Shaw, L. M., and B. R. Olsen. 1991. FACIT collagens: diverse molecular bridges in extracellular matrices. *Trends Biochem. Sci.* **16**(5):191–194.
- Shoulders, M. D., and R. T. Raines. 2011. Interstrand dipole-dipole interactions can stabilize the collagen triple helix. *J. Biol. Chem.* **286**:22905–22912.
- Yoshida-Moriguchi, T., and K. P. Campbell. 2015. Matriglycan: a novel polysaccharide that links dystroglycan to the basement membrane. *Glycobiology* **25**:702–713.

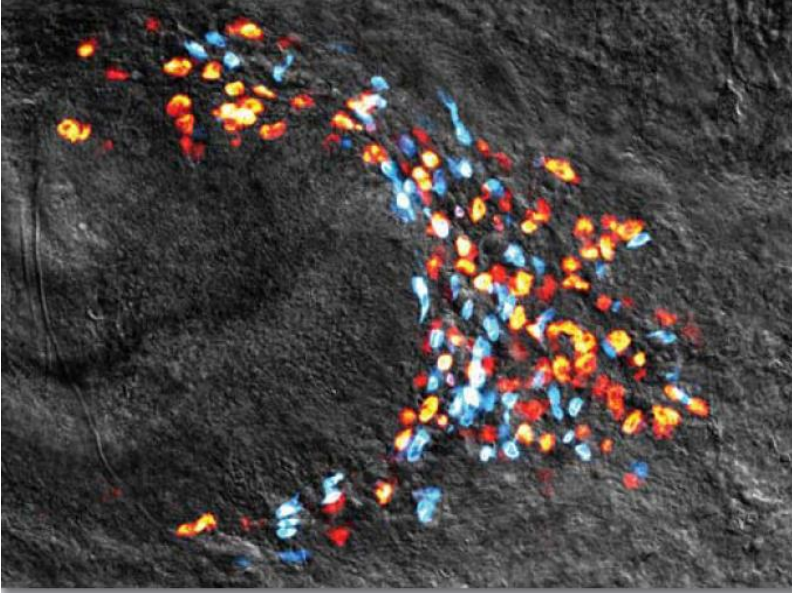
Hərəkətli və Hərəkətsiz Hüceyrələrdə Adhesiv Qarşılıqlı Əlaqələr

- Carraher, C. L., and J. E. Schwarzbauer. 2013. Regulation of matrix assembly through rigidity-dependent fibronectin conformational changes. *J. Biol. Chem.* **288**:14805–14814.
- Collins, C., and W. J. Nelson. 2015. Running with neighbors: coordinating cell migration and cell-cell adhesion. *Curr. Opin. Cell Biol.* **36**:62–70.
- Fruh, S. M., et al. 2015. Molecular architecture of native fibronectin fibrils. *Nat. Commun.* **6**:7275.
- Griffith, L. G., and M. A. Swartz. 2006. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**(3):211–224.
- Iwamoto, D. V., and D. A. Calderwood. 2015. Regulation of integrin-mediated adhesions. *Curr. Opin. Cell Biol.* **36**:41–47.
- Nourshargh, S., and R. Alon. 2014. Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity* **41**:694–707.
- Springer, T. A., and M. L. Dustin. 2012. Integrin inside-out signaling and the immunological synapse. *Curr. Opin. Cell Biol.* **24**:107–115.
- Xiong, J. P., et al. 2001. Crystal structure of the extracellular segment of integrin α V β 3. *Science* **294**:339–345.

Bitki Toxumaları

- Austefjord, M. W., H. H. Gerdes, and X. Wang. 2014. Tunneling nanotubes: diversity in morphology and structure. *Commun. Integr. Biol.* **7**:e27934.
- Chae, K., and E. M. Lord. 2011. Pollen tube growth and guidance: roles of small, secreted proteins. *Ann. Bot.* **108**:627–636.
- Sevilem, I., S. R. Yadav, and Y. Helariutta. 2015. Plasmodesmata: channels for intercellular signaling during plant growth and development. *Methods Mol. Biol.* **1217**:3–24.
- Tan, A. S., et al. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab.* **21**:81–94.

FƏSİL 21



Sütun Hüceyrələr, Hüceyrə Assimetriyası, Hüceyrə Ölümü

Neoblastlar adlanan pluripotent sütun hüceyrələr planariyanın regenerasiyasının hüceyrə əsasını təmin edir. Göstərilənlər neoblastların koloniyalarıdır (qırmızı), hamısı quyruğun amputasiyası ilə inisiyasiya olunan regenerasiyasından 14 gün sonra tək bir neoblastdan törənmişlər; differensiasiya edən hüceyrələr də göstərilir (mavi). [Nəzakətlə Daniel E. Wagner and Peter W. Reddien, MIT, Whitehead Institute.]

Hüceyrə bölünməsinin bir çox təsviri göstərir ki, valideyin hüceyrə onun (valideyin hüceyrə) kimi görünən və fəaliyyət göstərən iki qız hüceyrəni yaradır. Başqa sözlə, onlar göstərir ki, hüceyrə bölünməsi simmetrikdir və yenin nəsil hüceyrələr valideyin hüceyrəyə oxşar xassələrə malikdirlər (Şəkil 21-1a). Bir çox mayalar, göbələklər və başqa bir-hüceyrəli eukariotlar həqiqətən də bu yolla bölünürlər. Yetkin qaraciyər hüceyrəsi hepatositlər də həmçinin simmetrik bölünürlər və hər biri iki qız hepatositin yaranmasına səbəb olur.

Amma bu həmişə belə olsaydı, o zaman yüzlərlə differensiasiya etmiş hüceyrə tipinin və mürəkkəb (kompleks) çoxhüceyrəli bitkilərdə və heyvanlarda fəaliyyət göstərən mövcud toxumaların heç biri əmələ gəlməzdi. Hüceyrələr arasındakı fərqlər başlanğıcda identik olan iki qız hüceyrənin fərqli ətraf mühit və inkişaf siqnallarını aldığı zaman divergensiya etməsi ilə yarana bilər. Alternativ olaraq iki qız hüceyrə, hər biri valideyinin fərqli hissəsini irsən almaqla “doğum” anından etibarən fərqlənə bilər (Şəkil 21-1b). Belə asimmetrik hüceyrə bölünməsi ilə əmələ gələn qız hüceyrələr ölçüsünə, formasına, zülal tərkibinə görə fərqlənə bilərlər və ya onların genləri müxtəlif fəaliyyət vəziyyətində və ya potensial fəaliyyət vəziyyətlərində ola bilər. Daxili siqnallardakı bu fərqlər iki hüceyrəyə fərqli müqəddarətə nəsb edir. Müəyyən asimmetrik hüceyrə bölünmələrində qız hüceyrələrdən biri valideyin hüceyrəyə oxşar olur digəri isə başqa tip hüceyrəni əmələ gətirir.

İ C M A L

21.1 Məməlilərin İnkişafının Erkən Dövrü

21.2 Embryon Sütun Hüceyrələri və İnduksiya Olunmuş Pluripotent Sütun Hüceyrələr

21.3 Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə Sütun Hüceyrələr və Nişə

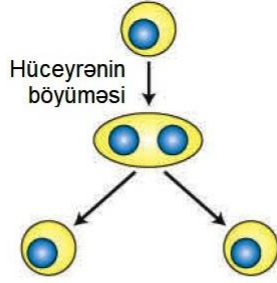
Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə fəaliyyət göstərən toxumaların və orqanların əmələ gəlməsi həm inkişaf həm də hüceyrə əvəzlənməsi zamanı mitoz hüceyrə bölünməsinin xüsusi formasından asılı olur. Nəsəl ağacına oxşar olan belə hüceyrə bölünməsinin seriyaları *hüceyrə xətti* adlanır. Hüceyrə xətti hüceyrələrin inkişaf potensialına görə daha çox məhdudlaşdıqda və dəri hüceyrələri, neyronlar və əzələ hüceyrələri kimi xüsusilaşmış hüceyrə tiplərinə differensiasiya etdikdə hüceyrələrin doğum ardıcılığını izləyir (Şəkil 21-1c).

Yeni metazoan orqanizmin inkişafı yumurta ilə və ya ananın xromosomları dəstini daşıyan **oosit** və atanın xromosomları dəstini daşıyan **sperma** ilə başlayır. Bu **qametlər** və ya cinsiyyət hüceyrələri haploidirlər, çünki onlar meyoza yolunu keçmişlər (bax Fəsil 19). Mayalanma adlanan prosedə ilkən tək hüceyrəni əmələ gətirmək üçün onlar birləşirlər (kombinasiya edirlər), yaranan ziqot iki xromosom dəstinə malik olur, ona görə də o diploiddir. Embriogeneza zamanı, ziqot çoxsaylı simmetrik və asimmetrik hüceyrə bölünmələrinə gedir, sonda tam orqanizmi əmələ gətirir. Sonra bu fəsildə biz görəcəyik ki, (bax Şəkil 21-25 aşağıda) *Caenorhabditis elegans* nematodunda erkən bölünmənin əksəriyyəti *mozaik inkişaf* strategiyası kimi davam edir və bu zaman bütün erkən hüceyrə bölünməsi asimmetrik olur və hər bir qız hüceyrə differensiasiya etmiş hüceyrə tiplərinin diskret dəstini əmələ gətirir, çünki sitoplazmatik qranulalarda yerləşmiş tənzimləyici zülallar qız hüceyrələrə qeyru bərabər paylanır.

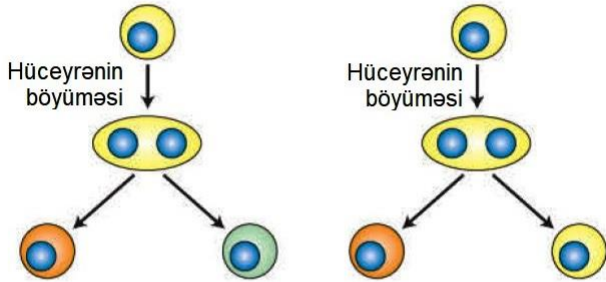
21.4 Hüceyrə Polyarlılığının Mexanizmləri və Asimmetrik Hüceyrə Bölünməsi

21.5 Hüceyrənin Ölümü və Onun Tənzimlənməsi

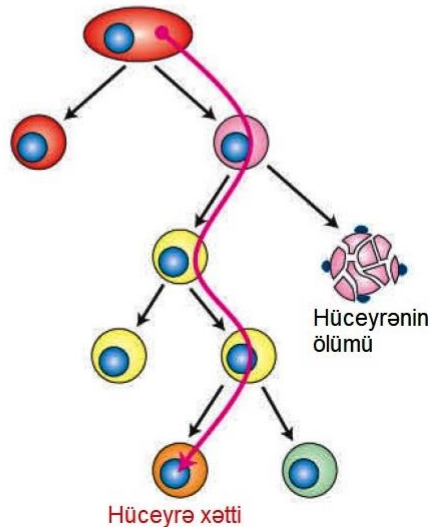
(a) **Simmetrik hüceyrə bölünməsi**



(b) **Asimmetrik hüceyrə bölünməsi**



(c)



Bu fəsilin birinci bölməsinin diqqət mərkəzində məməlilərin erkən inkişafı və onun hüceyrə-hüceyrə qarşılıqlı əlaqələri ilə tənzimlənməsi durur. Həm siçanın həm də insanın embrionu səkkiz-hüceyrəli mərhələdən keçir, hansı ki, bu zaman hər bir hüceyrə hələ də hər bir toxuma (embryonal və ekstraembryonal) tipini əmələ gətirə bilər, belə ki, bu səkkiz hüceyrənin hamısı *totipotent*dir. Bu hal, onaltı-hüceyrə mərhələsi üçün artıq doğru olur: hüceyrələrdən bəziləri artıq differensiasiya etmək yoluna keçməlidirlər. Tənzimləyici inkişafda, morfogənlərin seqreşiyası deyil, verilmiş bir hüceyrənin tutduğu mövqe bu hüceyrənin taleyinin yaradılması üçün vacibdir. Daxili hüceyrə kütləsi adlanan hüceyrələr qrupu sonda rüşeyimin bütün toxumalarının yaranmasının əsasını qoyacaq, başqa hüceyrələr dəsti isə plasenta toxumasını əmələ

gətirəcəkdir. Bütün embrion toxumasını yarada bilən, amma ekstraembryon toxumalarını yarada bilməyən daxili kütlənin hüceyrələri *pluripotent* adlanırlar.

ŞƏKİL 21-1. Hüceyrə doğulmasına, xəttinə və ölümünə ümumi baxış. Böyümənin ardınca, qız hüceyrələr asimmetrik və simmetrik hüceyrə bölünməsi nəticəsində doğulur. (a) Simmetrik bölünmə nəticəsində doğulan iki qız hüceyrə mahiyyətə biri-birinə və valideyin hüceyrəyə identikdirlər. Bu cürə qız hüceyrələr əgər sonralar başqa siqnallara məruz qoyularsa fərqli hüceyrə taleyinə mənsub ola bilərlər. (b) Asimmetrik hüceyrə bölünməsindən meydana gələn iki qız hüceyrə doğulduğu andan fərqlənir və uyğun olaraq fərqli taleyə malik olacaqlar. Bəzi hallarda (*solda*) hər iki qız hüceyrə bir-birindən və valideyin hüceyrədən fərqlənirlər. Digər hallarda (*sağda*) bir qız hüceyrə mahiyyətə ana hüceyrəyə identikdir, digəri isə başqa taleyə mənsub olur. Valideyin hüceyrə sütun hüceyrə olanda asimmetrik bölünmə ümumi hal olur, bu bir sıra sütun hüceyrələrə imkan verir ki (sarı), onlar bir və ya bir sıra differensiasiya etmiş başqa hüceyrə tiplərini yaratdıqları zaman (narıncı) sabit qalsınlar. (c), Simmetrik və asimmetrik hüceyrə bölünmələrinin hüceyrə xətti adlanan sırası çoxhüceyrəli orqanizmlərdə tapılmış ixtisaslaşmış hüceyrə tiplərinin doğulmasına başlanğıc verir. Hüceyrə xətti sıx genetik nəzarət altında olur. Proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü normal inkişaf zamanı (məsələn, barmaqlar ilkin inkişaf edərək onlar arasında olan nazik pərdə) və yoluxmaya və ya toksinlərə cavab zamanı baş verir.

Sütun hüceyrələr həm metazoanların inkişafında, həm də yetkin həyatda əhəmiyyətliyədirlər. Onlar, özlərini istehsal edə bilən və daha çox ixtisaslaşmış hüceyrələrin spesifik tiplərini istehsal edən bilən ixtisaslaşmamış hüceyrələrdir (bax Şəkil 21-1b). Onların adı yuxarıya doğru inkişaf edib böyüyən, daha çox gövdə əmələ gətirməyə davam edən, eyni zamanda yarpaqlarını və budaqlarını yan tərəfə paylayan bitki gövdəsinin (sütunun) təsvirindən gəlir. Bu fəslin ikinci və üçüncü bölmələrində müxtəlif tipli ixtisaslaşmış hüceyrə tiplərini əmələ gətirə bilən bir neçə tip sütun hüceyrələrini müzakirə edirik. Sütun hüceyrələr simmetrik bölünməyə gedə bilər və bu zaman əmələ gələn hər iki hüceyrə sütun hüceyrə olur. Beləliklə orqanizmin həyatı boyu sütun hüceyrələrin sayı sabit saxlanıla bilər və ya arta bilər. Ziqot totipotentdir, ona görə ki, onun bədəndə olan bütün hüceyrə tiplərini və eləcə də embrionun inkişafı üçün lazım olan dəstəkləyici plasental hüceyrələri əmələ gətirmək qabiliyyəti vardır, amma ziqot özünü-yeniləyən (özünün yenilərini əmələ gətirən) olmadığından o sütun hüceyrə hesab edilmir.

21.2 bölməsində bir öyrənəcəyik ki, daxili hüceyrə kütləsinin hüceyrələri müəyyən mühitlərdə kultura olunaraq embrion sütun (ES) hüceyrələrini əmələ gətirə bilər. ES hüceyrələr kulturada sonsuz qədər çoxala bilərlər və burada onlar simmetrik bölünürlər, belə ki, hər bir qız hüceyrə pluropotent qalır və potensial olaraq heyvan orqanizmindəki bütün toxumaları yarada bilərlər. Biz pluropotentliyin əsasında duran gen ekspressiyasının transkripsiya şəbəkəsinin açılmasında, eləcə də tədqiqat məqsədi ilə və ya potensial olaraq, xəstələrdə xəstə hüceyrələrin və sıradan çıxmış hüceyrələrin “əvəzedici hissəsi” kimi spesifik tip differensiasiya etmiş hüceyrələrin alınmasında ES hüceyrələrin istifadə olunmasını müzakirə edəcəyik.

Uzun illər boyu guman olunurdu ki, heyvan hüceyrələrinin differensiasiyası bir istiqamətli, amma son zamanların tədqiqatlarının nəticələri aşkar etdi ki, differensiasiya

eksperimental olaraq geriye dönə bilər. Spesifik transkripsiya faktorlarının rekombinant ekspressiyası yolu ilə ixtisaslaşmış bir tip differensasiya etmiş hüceyrə başqa tip differensasiya etmiş hüceyrəyə çevrilə bilər. Çox maraqlıdır ki, məhz ES hüceyrələrdə pluripotentiyyə nəzarət edən az sayda transkripsiya faktorlarını differensasiya etmiş hüceyrələrin çoxsaylı tiplərinə daxil etdikdə bu *somatik hüceyrələrdən* ən azı bir neçəsi **induksiya olunmuş pluripotent sütun (iPS)** hüceyrələrə çevrilir və bu hüceyrələr ES hüceyrələrdən fərqləndirilə bilməyən xüsusiyyətlərə malik olur. 21.2 bölməsində biz görəəcəyik ki, iPS hüceyrələr eksperimental biologiya və təbabət üçün dərin istifadəyə malikdir.

Çox hüceyrə tiplərinin həyat dövrü orqanizmin bütövlükdə həyat dövründən çox qısa, ona görə də daima dəyişilməlidir (əvəz olunmalıdır). Məsələn, məməlilərdə bağırsağın daxilini örtən hüceyrələr və faqositik makrofaqlar yalnız bir neçə gün yaşaya bilərlər. Ona görə də sütun hüceyrələr yalnız inkişaf dövründə deyil həmçinin yaşlı orqanizmlərdə köhnəlmiş hüceyrələrin də əvəz olunması üçün vacibdir. ES hüceyrələrdən fərqli olaraq yaşlılardakı sütun hüceyrələr *multipotent*dir: onlar orqanizmdə tapılmış differensasiya etmiş hüceyrələrin hamısını deyil, bəzi tiplərini yarada bilərlər. Bu fəsilin üçüncü bölməsində, multipotent sütun hüceyrələrin bir neçə nümunəsini, o cümlədən cinsiyyət hüceyrələrini, bağırsaq hüceyrələrini və qanda tapılmış müxtəlif hüceyrə tiplərini əmələ gətirən nümunələri müzakirə edirik.

Biz artıq qeyd etdik ki, heyvanlarda hüceyrə tiplərinin geniş müxtəlifliyi, iki qız hüceyrənin taleyinin fərqli olduğu asimmetrik hüceyrə bölünməsinə tələb edir. Bu proses valideyin hüceyrənin bölünməzdən öncə asimmetrik olmasını və ya polyarlaşmasını tələb edir, belə ki, hüceyrənin tərkib hissəsi iki qız hüceyrə arasında qeyri bərabər paylanmalıdır. Bu cürə qütbləşmə prosesi yalnız inkişafın gedişi üçün deyil, həm də bütün hüceyrələrin tam funksiyası üçün kritik əhəmiyyətlidir. Məsələn, bağırsağın daxili qatını əmələ gətirən daşıyıcı epitel hüceyrələri, qidamı adsorbsiya etmək üçün sərbəst apikal səthləri bağırsaq lümeninə tərəf baxmaqla qütbləşmişlər, onların bazolateral səthləri isə qida maddələrini qana ötürmək üçün hüceyrəxarici matrisaya bağlanır (bax Şəkil 11-30 və 20-1). Başqa nümunələrə kemitaktik qradientlə yuxarıya miqrasiya edən hüceyrələr (bax Şəkil 18-53) və hüceyrənin siqnal qəbul edən bir tərəfindən çıxaraq uzanan çoxsaylı dentritləri olan və siqnalı hədəf hüceyrələrə ötürən digər tərəfindən çıxaraq uzanan tək bir aksonu (bax Fəsil 22) olan neyronlar daxildir. Beləliklə hüceyrələrin polyarlaşmaq üçün istifadə etdiyi mexanizmlər onların funksiyasının çox əhəmiyyətli və əsas aspektidir. Təccüblü deyildir ki, bu mexanizmlər hüceyrənin siqnal yollarının elementlərini (bax Fəsil 15 və 16), sitoskeletin qurulmasını (bax Fəsil 17 və 18) və membran daşınmalarını (bax Fəsil 14) birləşdirir (inteqrasiya edir). Bu fəsilin dördüncü bölməsində biz hüceyrələrin necə qütbləşdiklərini, eləcə də, sütun hüceyrələrin saxlanılması və differensasiya etmiş hüceyrələrin yaranması üçün asimmetrik hüceyrə bölünməsinin əhəmiyyətini müzakirə edirik.

Adətən biz hüceyrə müqəddaratına onların əmələ gətirdiyi differensasiya olunmuş hüceyrələr nəzərindən baxırıq. Kifayət qədər fərqli hüceyrə müqəddəratı olan **proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü** də həmçinin çox toxumaların formalaşması və saxlanması üçün tamamilə kritik əhəmiyyətlidir. Dəqiq genetik

tənzimləmə sistemi yoxlamalar və tarazlaşdırmalarla, hüceyrə bölünməsinə və differensasiyasına nəzarət edən digər genetik sistemlər kimi hüceyrə ölümünə nəzarət edir. Biz bu fəsilin sonuncu bölməsində hüceyrə ölümünün mexanizmlərinə və onların tənzimlənməsinə baxırıq.

Hüceyrə biologiyasının bu aspektləri – hüceyrənin doğulması, qütbliliyin yaranması, və proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü inkişafın biologiyası ilə kəşif və onlar, əvvəlki fəsillərdə müzakirə olunmuş siqnal yolları ilə tənzimlənen, daha əhəmiyyətli proseslərdəndir.

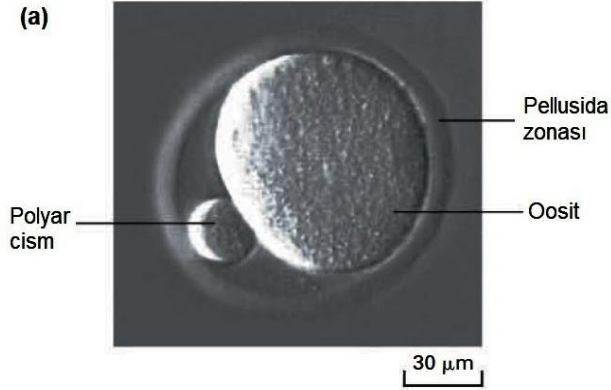
21.1 Məməlilərin İnkişafının Erkən Dövrü

Bu bölmənin əsas diqqəti məməlilərin inkişafının erkən dövründə ilkin hüceyrə bölünməsi üzərinə yönəlmişdir; növbəti bölmədə iPS hüceyrələrdə embryonal sütun hüceyrələrin xüsusiyyətləri müzakirə olunur. Biz tək bir spermanın yumurta hüceyrə ilə qovuşmasına necə icazə verilməsinin, və bu iki haploid cinsiyyət hüceyrəsinin genomundan əmələ gələn diploid genoma malik olan ziqotun əmələ gəlməsinin izahı ilə başlayırıq.

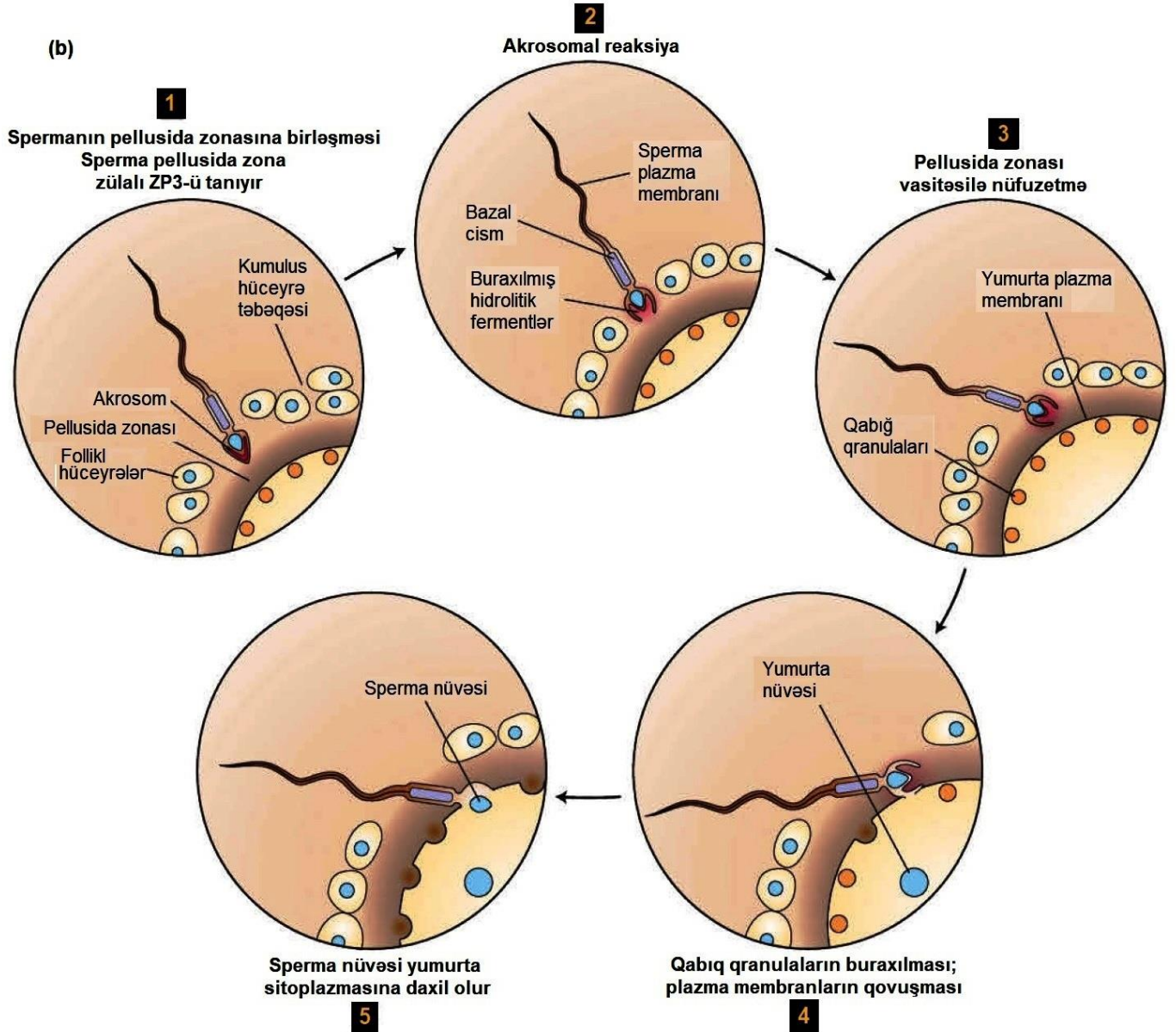
Mayalanma Genomu birləşdirir

Maraqlıdır ki, məməlilərin sperması həmişə yumurtaya çatır və ona nüfuz edə bilər. Qeyd edək ki, insanlarda hər bir sperma bir yumurta üçün 100 milyondan artıq başqa spermalarla rəqabətdə olur. Bundan başqa sperma yumurtaya çatmaq üçün inanılmaz dərəcədə böyük bir məsafəni üzməlidir (əgər hesab etsək ki, sperma insan ölçüsündədir, onun qət etdiyi məsafə bir neçə milə bərabər olardı). Sperma oraya çatdıqda, o öz yolu boyu yumurtanı əhatə edən və onun yumurtaya daxil olmasına əngəl olan bir neçə qat maneələrlə mübarizə aparmalı olur (Şəkil 21-2a). Sperma onun rahat hərəkət etməsi və üzməsi üçün optimal quruluşdadır. İnsanın sperma qamçısı (vax Fəsil 18) 50 µm-ə yaxın məsafədə mikroborucuqları əyən 9000 qədər dinein motora nmalikdir. Bununla belə, yalnız bir neçə sperma yumurtaya çata bilər.

Şəkil 21-2-də göstərilirdiyi kimi, sperma yumurtaya çatdıqdan sonra, o əvvəlcə oositə əhatə edən kumulus hüceyrələr qatını keçməlidir, sonra isə əsasən ZP1, ZP2 və ZP3 adlanan qlikozülallardan ibarət olan jelatinəbənzər *pellusida zonası* adlanan hüceyrəxarici matrisanı keçməlidir. Spermanın aparıcı ucunda tapılmış akrosom membrana birləşmiş kompartiment olub oositlə qarşılıqlı əlaqə yaratmaq üçün ixtisaslaşmışdır. Akrosomal membranın bir tərəfi spermanın başında plazma membranının altında yerləşir, akrosomal membranın əks tərəfi isə nüvə membranına yapışır. Akrosomun daxilində hidrolazalar və proteazalar daxil olmaqla həllolan fermentlər yerləşir. Oosit yaxınlığında akrosom eqzositoz olunduqdan sonra öz daxilindəki tərkib hissəsini oositin səthi üzərinə buraxır (Şəkil 21-2b, pillə 2). Spermanın yumurtaya daxil olma prosesini başlamaq üçün fermentlər yumurta səthinin çoxsaylı təbəqələrini dağıtmağa başlayır. Bu bir yarışdır, uğurlu olan birinci sperma, başqa bir spermanın daxil olması ilə normadan artıq xromosomun meydana gəlməsinə səbəb olan *polispermaya* mane olmaq üçün oositin güclü cavab reaksiyasını işə salır.



ŞƏKİL 21-2 Mayalanma zamanı qametın qovuşması. (a) Burada göstərilən siçan oositi kimi, məməlilərin yumurtaları şəffaf materiallardan ibarət həlqə ilə əhatə olunmuşdur, buna zona pellusida deyilir və sperma üçün birləşmə matrisasını təmsil edir. Siçan yumurtasının diametri ~70 μm-dir, zona pellusida isə 6μm qalınlıqdadır. Polyar bədən hissəsi meyozun qeyri funksional məhsuludur. (b) Mayalanmanın ilkin mərhələsində (pillə 1) sperma pellusida zonasına çatmaq üçün yumurtanı əhatə edən kumulus hüceyrələrindən ibarət olan təbəqəyə daxil olub keçməlidir. Sperma səthindəki GalT zülalları pellusida zonasındaki ZP3 zülalları arasındakı qarşılıqlı təsir akrosomal reaksiyanı işə salır (pillə 2), fermentlər akrosomdan buraxılır. Akrosomal reaksiya nəticəsində buraxılan hidrolazalar və proteazalarla pellusida zonasının parçalanması spermaya imkan verir ki, yumurtaya daxil olmağa başlasın (pillə 3). Sperma və yumurta səthindəki spesifik tanıma zülalları onların plazma membranlarının qovuşmasını asanlaşdırır. Membran qovuşması və sonra da sperma nüvəsinin yumurta sitoplazmasına daxil olması (pillə 4 və 5) oosit daxilində Ca^{2+} buraxılmasını işə salır. Kortikal (qabıq) qranulalar (narıncı) Ca^{2+} -un artmasına cavab olaraq oosit membranı ilə qovuşur və əlavə spermanın oositə birləşməsinə mane olmaq üçün pellusida zonasına təsir edən fermentlər buraxır. [(a) hissəsi Douglas Kline.]



Birinci sperma oosit membranı ilə qovuşduqdan sonra, kalsiumun axını oosit sitozoluna axır, spermanın girişindən kənarlara doğru yayılır. Başqa tənzimlənenən ifrazat yollarında olduğu kimi, kalsiumun artmasının təsirlərindən biri, yumurtanın plazma membranı altında yerləşən, *kortikal (qabıq) granullar* adlanan qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasını işə salmaq, onların daxilindəkiləri plazma membranı xaricinə buraxaraq başqa spermaların daxil olmasına mane olan qoruyucu mayalanma membranını yaratmaqdır. Nəhayət sperma nüvəsi yumurta sitoplazmasına daxil olur və tezliklə yumurta və sperma nüvələri qovuşaraq diploid ziqot nüvəsini əmələ gətirirlər.

Oositlər özləri ilə bu birliyə hüceyrə üçün lazım olan çox qabliyyəti gətirirlər. Onlar, yalnız ana xətti ilə irsən ötürülən mitoxondrial DNT ilə birlikdə çoxsaylı mitoxondrilərə malik olurlar, məməlilərdə və əksər başqa növlərdə oositə sperma ilə mitoxondrial DNT gəlmir (bax Fəsil 12). Dışı fərd-spesifik mitoxondrial DNT irsiliyi insan tarixində ana irsiliyinin öyrənilməsində istifadə edilmişdir, məsələn öyrənilmişdir ki, ilk insan öz mənşəini Afrikadan götürmüşdür. Yumurtanın sitoplazması həmçinin ananın mRNT-si ilə, məhsulları inkişafın ən erkən mərhələləri üçün vacib olan genlərin transkriptləri ilə doldurulmuşdur. Oosit meyozu zamanı və ilk embryon xırdalanması (doğranması) zamanı transkripsiya çox az baş verir və ya tamam baş vermir, ona görə də bu müddətdə oositin mRNT-si kritik əhəmiyyət kəsb edir.

Məməlilərin Embryonunun Doğranması İlk Differensiasiyaya Səbəb Olur

Mayalanmış yumurta və ya ziqot uzun müddət tək hüceyrə kimi qalmır. Mayalanmadan dərhal sonra doğranma (parçalanma) başlanır, hər biri bir gün çəkən ardıcıl hüceyrə bölünmələri baş verir (Şəkil 21-3), by bölünmələr rüşeymin uşaqlıq divarına keçməsindən öncə baş verir. İlk əvvəl hüceyrələr az sferik olub bir-biri ilə çox zəif birləşirlər. Qoyunlarda eksperimental yolla nümayiş etdirildiyi kimi, 8-hüceyrə mərhələsində hər bir hüceyrə totipotentdir və hər biri yalançı hamilə heyvanın (hormonla işlənilərək uşaqlığın rüşeymə həssas edilməsi)

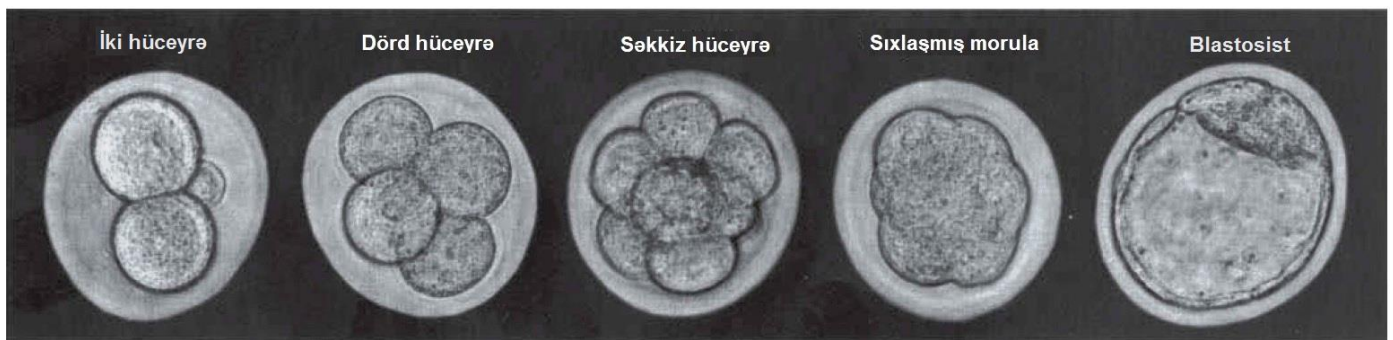
uşaqlığına keçirilərsə tam bir yetkin heyvanı əmələ gətirmək potensialına malikdir.

Mayalanmadan üç gün sonra, 8-hüceyrəli rüşeyim yenidən bölünərək 16 hüceyrəli *morula*-nı (Yunan sözü olub “moruq” deməkdir) əmələ gətirir, bundan sonra hər bir hüceyrənin digərinə affinliyi güclü surətdə artır və rüşeyimdə *kompaktlaşma* baş verir, bu proses müəyyən qədər hüceyrə-səthinin homotipik hüceyrə-adgeziya zülalı E-kadherindən asılıdır (bax Şəkil 20-14). Artan hüceyrə-hüceyrə adgeziyası yolu ilə idarə olunan kompaktlaşma hüceyrələrin daha bərk kütləsinin *kompaktlaşmış morulanın* alınması ilə nəticələnir və *blastekoil* adlanan maye daxili boşluğa axmağa başlayır. Əlavə bölünmələr blastosisti əmələ gətirir (bax Şəkil 21-3).

Blastosist iki hüceyrə tipinə ayrılmış, təxminən 64 hüceyrədən təşkil olunmuşdur: **trofektoderm (TE)** placentə kimi rüşeyimxarici toxumaları əmələ gətirəcək və **daxili hüceyrə kütləsi (inner cell mass -ICM)** (siçanlarda məhz 10-15 hüceyrədən ibarət), rüşeymin özünü əmələ gətirəcək (Şəkil 21-4a). Blastosistlərdə, ICM blastokoelin bir tərəfində yerləşir, TE hüceyrələr isə ICM və blastokoel ətrafında boş kürəni əmələ gətirir. Bu nöqtədə, TE hüceyrələr epitelə təbəqəsindədirlər, ICM hüceyrələri isə mezenxima kimi təsvir edilə bilən boş bir kütlədir. Mezenxima daha geniş yayılmış mezoderma törəməli hüceyrələrə aid edilir, asanlıqla ayrılabilir və asanlıqla yenidən təşkil oluna bilən hüceyrələr hesab edilirlər.

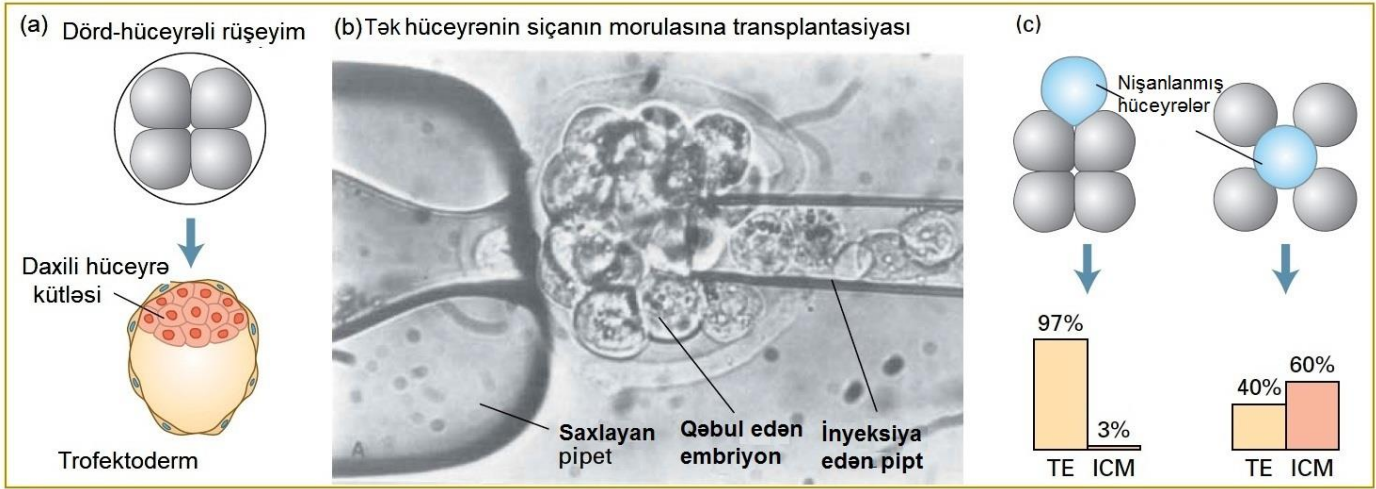
Erkən embryonda hüceyrənin—TE və ya ICM— taleyi hüceyrənin yerləşdiyi mövqe ilə təyin edilir. Əgər nişanlanmış hüceyrələr çox erkən rüşeym xaricində yerləşirsə, çox ehtimal ki, rüşeyimxarici toxumaları əmələ gətirəcək, halbuki, eyni anda rüşeyim daxilində yerləşən hüceyrələr rüşeyim toxumasını əmələ gətirəcək (Şəkil 21-4b). Erkən inkişafın hər bir mərhələsində gen ekspressiyası ölçülmələri genlərin ekspressiyasında dramatik dəyişikliklərin olduğunu göstərir. Hətta bu çox erkən embryonlar gen ekspressiyasının tənzimlənməsində Wnt, Notch, və TGF-β kimi siqnalları istifadə edirlər (bax Fəsil 16).

Həm ICM həm də TE hüceyrələr sütun hüceyrələrdir: hər biri öz fərqli hüceyrə xəttini başlayır və geniş hüceyrə populyasiyasını əmələ gətirmək üçün məhsuldar bölünürlər. Biz növbəti bölmədə diqqətimizi ICM sütun hüceyrələrə yönəldəcəyik.



ŞƏKİL 21-3 Siçanın rüşeymində doğranma ilə bölünmələr. Bu erkən bölünmə zamanı hüceyrələrin böyüməsi az olur, beləliklə

hüceyrələr getdikci kiçik olurlar. Müzakirə üçün tekstə bax. [Nəzakətə Tom P. Fleming.]



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-4 Rüşeyimdə hüceyrənin yerləşməsi onun müqəddaratını təyin edir. (a) Normal halda blastosistləri əmələ gətirən dörd hüceyrəli rüşeyim xarici tərəfdə **trofektoderm** hüceyrələrindən (TE) və daxildə olan **daxili hüceyrə kütləsi** (ICM) hüceyrələrindən ibarətdir. (b) Hüceyrənin yerləşməsinin onun müqəddəratına təsirini öyrənmək üçün siçan rüşeymi üzərində transplantasiya eksperimentindən istifadə edildi. Birinci, implant hüceyrələrə yer düzəltmək üçün morula-mərhələsi hüceyrələri çıxarılaraq uzaqlaşdırıldı. Sonra, donor morula-mərhələsində olan (onaltı-hüceyrə) rüşeym, hüceyrələr arasında ötürülməyən boyada isladıldı. Nəhayət, sonda donor rüşeymin nişanlanmış hüceyrələri, mikrofotoda göstəriləndiyi kimi, qəbul edən rüşeymin daxili və ya xarici rayonlarına inyeksiya olundu. Qəbul edən

rüşeyim pipetka ilə tutmaqla zəif vakum altında saxlandı. (c) Transplantasiya edilmiş nişanlanmış hüceyrələrin nəslinin sonrakı taleyi izləndi. Sadəlik üçün dörd-hüceyrəli qəbul edici rüşeyim göstərilir, hərçənd ki, həm donor həm də qəbuledici kimi morula-mərhələli rüşeyimlər istifadə edilmişdir. Qrafikdə ümumiləşdirilmiş nəticələr göstərir ki, xarici hüceyrələr əsasən trofektodermə əmələ gətirilə, daxili hüceyrələr isə əsasən ICM-i, həm də əhəmiyyətli dərəcədə trofektodermə yaradırlar. [(b) hissəsi R. L. Gardner & J. Nichols, "An investigation of the fate of cells transplanted orthotopically between morulae/nascent blastocysts in the mouse," 1991, *Human Reproduction* 6(1):25–35, Oxford University Press razılığı ilə.]

21.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Məməlilərin İnkişafının Erken Dövrü

- Asimmetrik hüceyrə bölünməsində bir valideyin hüceyrədən iki müxtəlif tipli qız hüceyrə əmələ gəlir. Əksinə, simmetrik hüceyrə bölünməsində əmələ gələn iki qız hüceyrə identik olur, amma onlar fərqli xarici siqnallara məruz qalırsa fərqli müqəddərata malik olurlar (bax Şəkil 21-1).
- Xüsusi bir sperma və yumurtanın səth zülalları məməlilərin tək bir sperma nüvəsinin yumurtanın sitoplazmasına daxil olmasına imkan verir. Haploid spermanın və haploid yumurta nüvəsinin qovuşması diploid ziqotu əmələ gətirir (bax Şəkil 21-2).
- Məməlilərin rüşeyminin ilkin bölünmələri ekvivalent totipotent hüceyrələri əmələ gətirir, amma sonrakı bölünmələrdə ilk differensasiya hadisələri baş verir, daxili hüceyrə kütləsindən trofektodermə ayrılması baş verir (bax Şəkillər 21-3 və 21-4).

21.2 Embryon Sütun Hüceyrələri və İnduksiya Olunan Pluripotent Sütun Hüceyrələr

Bu bölmədə biz məməlilərin iki tip pluripotent hüceyrələrini müzakirə edirik: rüşeyim (embryon) sütun (ES) hüceyrələri və induksiya olunan pluripotent sütun (iPS) hüceyrələr. Bizim

diqqətimiz bu hüceyrələrin pluripotent vəziyyətini tənzimləyən və uyğun olaraq sonra müxtəlif tipli differensasiya olunmuş hüceyrələrin yaranmasına səbəb olan genlər və zülallar şəbəkəsinə yönəlmişdir. Kulturada, bu iki tip pluripotent hüceyrələr tədqiqat məqsədi ilə differensasiya etmiş spesifik tip hüceyrələri və ya potensial olaraq xəstələrdə yaralanmış və ya israf olunmuş hüceyrələrin "əvəzedicisi hissəsi" kimi almaq üçün istifadə oluna bilər. iPS hüceyrələr xəstələrdə müxtəlif xəstəliklər nəticəsində əmələ gələn və sonra bu xəstəliyin təsir etdiyi müxtəlif hüceyrə tiplərinə differensasiya edə bilər; burada biz, belə hüceyrələrin öyrənilməsinin spesifik bir fərdin xəstəliyinin yaranma səbəblərini necə işıqlandıracağına görə diqqətli olmalıyıq.

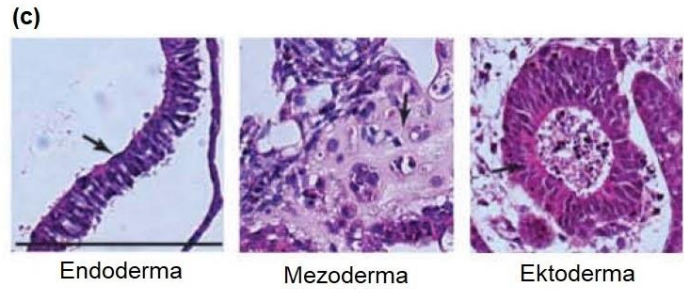
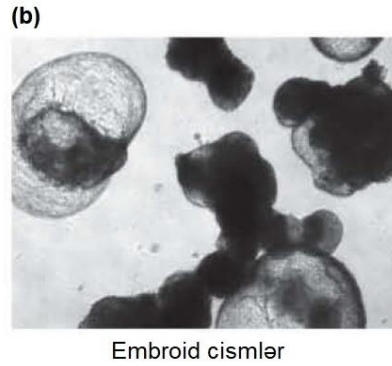
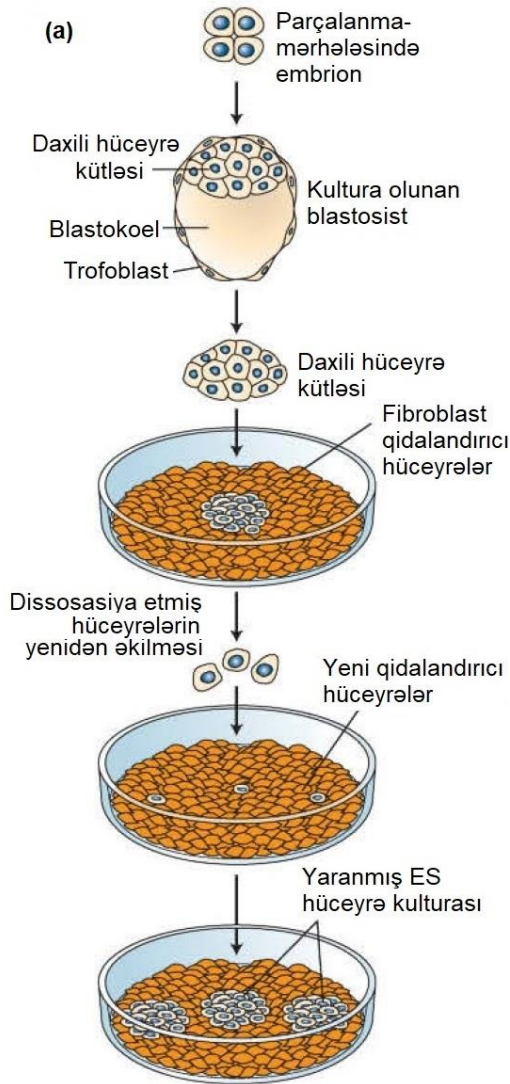
Daxili Hüceyrə Kütləsi ES Hüceyrələrin Mənbəyidir

Rüşeyim (embryon) sütun hüceyrələr məməlilərin erkən rüşeyminin daxili hüceyrə kütləsindən ayrılabilir və müəyyən əhəmiyyətli boy faktorlarının təmin edən qidalandırıcı-hüceyrə təbəqəsində kultura olunmaqla sonsuzluğa qədər arta bilər (Şəkil 21-5a). Fəslin girişində qeyd ediləndiyi kimi, kultura olunan ES hüceyrələr pluripotentdirlər: onlar ya kulturada, ya da sahib rüşeymə keçirildikdə ilkin rüşeyim qatlarının geniş hüceyrə tiplərinə differensasiya edə bilərlər. Daha spesifik olaraq, siçanın ES hüceyrələri erkən siçan embrionunun blastokolinə inyeksiya edilə bilər, hüceyrə aqrəqatı isə cərrahi yolla yalançı-hamilə dişi fərdin uşaqlığına keçirilə bilər. İnyeksiya olunmuş

ES hüceyrələr ximer siçanda əksər toxumaların, bəlkə də bütün toxumaların əmələ gəlməsində iştirak edəcəklər (bax Şəkil 6-38). Bundan başqa, inyeksiya olunmuş ES hüceyrələr tez-tez hallarda funksional spermanı və yumurtanı əmələ gətirəcəklər, onlar isə öz növbəsində normal canlı siçanı yarada biləcəklər.

Bu eksperimentlərin daha son zamanlardakı variasiyalarında sahib blastosist mitozu müvəqqəti olaraq blok edən dərmanla işlənmişdir, beləliklə onun hüceyrələri blastosistlərə inyeksiya olunmuş diploid ES hüceyrələrdən fərqli olaraq tetraploid (differensasiya etmiş hüceyrələri və toxumaları

yaratmaq qabiliyyətində olmayan, hər bir xromosomun dörd nüsxəsi) olmuşlar. Bu zaman canlı siçanda blastosist aqreqatın transplantasiyadan sonra yaranmış olan bütün hüceyrələr donor ES hüceyrələrdən törəmişlər. Bu kəşf, siçanın tək bir ES hüceyrəsinin həqiqətən də pluripotent olması barədə çox güclü sübutdur. Etik mülahizələr baxımından və bir çox ölkələrdə qanuni məhdudiyyətlərə görə insanın ES hüceyrələri ilə oxşar transplantasiya eksperimentlərinin aparılmasına maneə olduğundan onların pluripotent olmasına dair rəsmi sübut yoxdur.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-5 Embryonal sütun (ES) hüceyrələr kulturada saxlanıla bilər və differensasiya etmiş hüceyrə tiplərini əmələ gətirə bilərlər. (a) İnsanın və ya siçanın blastosistləri in vitro mayalanma yolu ilə alınmış parçalanma-mərhələli rüşeyimdən inkişaf etmişdir. ICM onu əhatə edən rüşeyimxarici toxumalardan ayrılmış və fibroblast hüceyrələri təbəqəsinin üzərinə keçirilmişdi, bu da spesifik zülal hormonlarının təmin edilməsi ilə sütun hüceyrələrin qidalandırılmasına imkan vermişdir. Fərdi hüceyrələr yenidən əkildikdə, onlar çox nəsillər boyu saxlanıla bilən və dondurulub ehtiyat saxlanılma qabiliyyətli ES hüceyrələrin koloniyasını əmələ gətirirlər. Spesifik sitokinlər əlavə edilərsə ES hüceyrələr fibroblast qidalandırıcı hüceyrələr olmadan da

kultura oluna bilər; məsələn, leykomiya ingibitor faktoru (LIF) Stat3 transkripsiya faktorunu fəallaşdırmaqla siçanın ES hüceyrələrinin böyüməsini (artmasını) təmin edir; bax J. S. Odorico et al., 2001, *Stem Cells* 19:193. (b) Kultura suspenziyasında differensasiya etməyə imkan verilmiş embryonal sütun hüceyrələr embryoid cismələr adlanan çoxhüceyrəli aqreqatlara çevrilirlər. (c) Hər üç rüşeyim təbəqəsinə malik olan embryoid cismələrin hematoksilin- və eozin-boyanmış kəsikləri embryogenез zamanı ICM-dən əmələ gəlmişlər. Təsvirdəki oxlar aşağıdakı toxuma tiplərini göstərir: (solda) bağırsağ epitelisi (endoderma), (ortada) qığırdaq (mezoderma) və (sağda) neyroepitelial rozetlər (ektoderma). Qara bar = 100 μm. [(b) və (c) hissələri nəzakətlə Dr. Lauren Surface və Dr. Laurie Boyer tərəfindən.]

Qeyd etmək vacibdir ki, həm insanın həm də siçanın ES hüceyrələri kulturada geniş hüceyrə tiplərinə differensiasiya edə bilirlər. Suspenziyada kultura olunarkən ES hüceyrələr *embryoid cismilər* adlanan çoxhüceyrəli aqreqatları əmələ gətirirlər (Şəkil 21-5b), bu da müxtəlif embrionlarda onların əmələ gətirdikləri fərqli toxumalara bənzəyir. Embryoid cismilər boy faktorlarının müxtəlif kombinasiyaları ilə işlənildikdə və ya bərk səthə keçirildikdə onlar differensiasiya olunmuş müxtəlif tipli hüceyrələri, o cümlədən bağırsağ epitelisi, qığırdaq və neyronal (sinir) hüceyrələrini əmələ gətirirlər (Şəkil 21-5c). Başqa şəraitlərdə, ES hüceyrələr kulturada qan hüceyrələri və piqment epitelisi kimi müxtəlif spesifik hüceyrə tiplərinin sələflərinə differensiasiya etmək üçün induksiya olunurlar; bu səbəbdən ES hüceyrələr pluripotent hüceyrələrin müəyyən bir hüceyrə xəttinə differensiasiya etməsi üçün lazım olan faktorların təyin edilməsində son dərəcə faydalıdırlar.

Erkən embrionun bu hüceyrələrinə onların belə əhəmiyyətli dərəcədə plastikliyini verən hansı xassəsidir? Növbəti bölmədə bizim görcəyimiz kimi, burada müxtəlif faktorlar rol oynayır: DNT metilləşməsi, transkripsiya faktorları, xromatin tənzimləyiciləri və mikro-RNT-lər hamısı hansı genin fəal olacağına təsir edirlər.

Çoxsaylı Faktorlar ES Hüceyrələrin Pluripotentiylini Nizamlayır

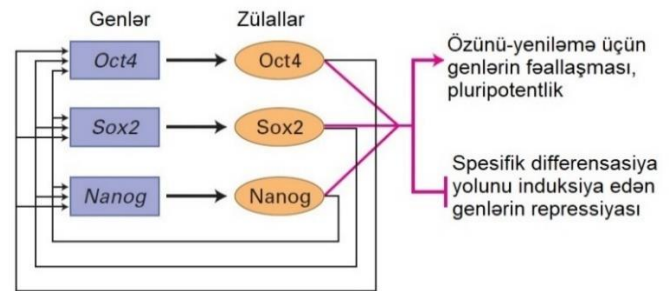
Embryogenezin erkən mərhələsində, ziqot bölünməyə başlayan kimi, həm ana həm də ata DNT demetilləşir (Fəsil 9-da DNT metilləşməsinin müzakirəsinə bax). Bu müəyyən qədər ona görə baş verir ki, metil transferazanın əsas saxlayıcısı, Dnmt1 müvəqqəti olaraq nüvədən çıxarılır, həm də müəyyən qədər ona görə ki, inkişafın erkən dövründə demetilaza fermentləri metilləşmə nişanlarını 5-metil sitozin qalıqlarından fəal şəkildə uzaqlaşdırır və ya “pozur”. Nəticədə, DNT metilləşməsinin forması ilk bir-neçə hüceyrə bölünməsində əvvəlki vəziyyətinə qaytarılır, DNT-də erkən epigenetik nişanlar pozulur və inkişafın geniş yolları üçün hüceyrənin böyük potensiala malik olduğu şəraitlər yaradılır. Dnmt1-dən məhrum edilmiş siçan kəskin dərəcədə metilləşməmiş DNT-nin olmasına görə rüşeymin erkən inkişafı dövründə məhv olur. Belə rüşeyimdən hazırlanmış ES hüceyrələr kulturada bölünmə qabiliyyətinə malikdirlər, amma, normal ES hüceyrələrdən fərqli olaraq in vitro differensiasiyaya gedə bilmirlər.

ES hüceyrə xüsusiyyətləri mayalanmadan dərhal sonra istehsal olunan master transkripsiya faktorlarının fəaliyyətindən asılıdır. Transkripsiya faktorları Oct4, Sox2 və Nanog inkişafın erkən dövründə çox əhəmiyyətli rol oynayır və ICM hüceyrələrin rüşeyimdə spesifikliyi üçün, eləcə də ES hüceyrələrin kulturada spesifikliyi üçün tələb olunurlar. Oct4 və Nanog-un ekspresiyası ICM və kultura olunan ES hüceyrələr kimi pluripotent hüceyrələr üçün xüsusən lazımdır. Sox2 pluripotent hüceyrələrdə tapılmışdır, amma onun ekspresiyası neyronal və qlial tipli hüceyrələrin yaranmasına aparır (Fəsil 22-də müzakirə olunur) multipotent sinir sütun hüceyrələri üçün də lazımdır. Siçanda aparılan genetik tədqiqatlar göstərir ki, bu üç tənzimləyici fərqli rollara malikdirlər, amma oxşar yollarda iştirak edə bilirlər. Məsələn, Oct4 və ya Sox2-nin dağılması ICM və ES hüceyrələrin trofektodermaya qeyri müvafiq differensiasiyasına səbəb olur. Amma, Oct4-ün ES

hüceyrələrdə məcburi ekspresiyası Nanog funksiyasının itirilməsi ilə əmələ gələn fenotipə oxşar fenotipi əmələ gətirir. Beləliklə, bu transkripsiya faktorları ilə tənzimlənən genlər dəsti bəzindəki biliklər onların inkişaf prosesindəki vacib rolunu aşkar edə bilər.

Bu üç transkripsiya faktoru ilə bağlı olan genlər xromatin-immun-çökdürmə eksperimentləri (bax Fəsil 9) ilə identifikasiya olunmuşlar, bu zülalların hər biri mindən artıq xromosom nahiyəsində tapılmışdır. Hədəf genlər müxtəlif zülalları, o cümlədən Oct4, Nanog və Sox2 zülallarının özləri də daxil olmaqla kodlaşdırırlar və öz-özünü tənzimləyən ilgəyi əmələ gətirməklə bu transkripsiya faktorlarının hər biri özlərinin ekspresiyasını və eləcə də başqalarının ekspresiyasını induksiya edirlər (Şəkil 21-6). Bu transkripsiya faktorları həmçinin ES hüceyrələrin proliferasiyası və özünü-yeniləşdirməsi üçün vacib olan zülalları və mikro-RNT-ləri kodlaşdıran genlərin transkripsiya-nəzarət rayonuna da birləşirlər.

ES hüceyrələrin differensiasiyasına mane olmaq üçün bir sıra zülal hormonlar qidalandırıcı hüceyrələr tərəfindən təmin edilmiş və ya kultura mühitinə əlavə edilmişdir. Bu hormonlara, Stat3-ü fəallaşdıran leykomiya inhibitor faktoru (LIF), β-katenin transkripsiya faktorunu fəallaşdıran Wnt, Smad1 transkripsiya faktorunu fəallaşdırın (bax Fəsil 16) sümük morfogenetik zülal 4 (BMP4) daxildir. ES hüceyrələrdə, bu üç transkripsiya faktoru Oct4, Nanog və Sox2 zülallarının birgə-zəbt etdikləri çoxsaylı genom saytlarına birləşirlər. Beləliklə, hüceyrə-səth reseptorları tərəfindən fəallaşdırılan siqnal yolları birbaşa əsas pluripotentiyl dövründəki genlərin tənzimlənməsi ilə birləşir, bu müşahidələr fəsil 16-da verilmiş bir nöqtəni—hüceyrə-səth reseptorları tərəfindən fəallaşdırılan transkripsiya faktorlarının çox hallarda bu hüceyrə tipi üçün spesifik olan master transkripsiya faktorları tərəfindən tutulmuş genom saytlarına birləşməsi fikrini gücləndirir.



ŞƏKİL 21-6 ES hüceyrələrin pluripotentiylini tənzimləyən transkripsiya şəbəkəsi. Master transkripsiya faktorunun hər biri, Oct4, Sox2 və Nanog öz promotoruna və eləcə də iki başqa (qara xətlər) promotora birləşir, bu genlərin hər birinin transkripsiyasını fəallaşdırır müsbət avtotənzimləyici ilgəyi əmələ gətirirlər. Bu transkripsiya faktorları həmçinin ES hüceyrələrin proliferasiyası və özünü-yeniləşdirməsi üçün vacib olan zülalları və mikro-RNT-ləri kodlaşdırın çoxsaylı fəal genlərin transkripsiya-nəzarət rayonuna, eləcə də differensiasiya olunmamış ES hüceyrələrdə susmuş vəziyyətdə qalan çox genlərin və çoxsaylı differensiasiy etmiş hüceyrə tiplərinin əmələ gəlməsi üçün lazım olan zülalları və mikro-RNT-ləri kodlaşdırın müxtəlif genlərin (al qırmızı) transkripsiya-nəzarət rayonuna birləşirlər. Bax L. A. Boyer et al., 2006, *Curr. Opin. Genet. Devel.* 16:455–462.

Gen transkripsiyasına nəzarət edən xromatin tənzimləyiciləri də (bax Fəsil 9) ES hüceyrələr üçün vacibdir. *Drosophila*-da Polikomb zülallar qrupu genin əvvəllər DNT-birləşdirən transkripsiya faktorları tərəfindən yaradılmış repressiya olunmuş vəziyyətlərini saxlamaq üçün kompleksini əmələ gətirirlər. Məməlilərdə milçəklərin Polikomb zülal kompleksinə yaxın olan iki zülal kompleksləri, PRC1 və PRC2 (bax Şəkil 9-48) ES hüceyrədə zəngin olurlar. PRC2 komponentlərindən məhrum olmuş siçanın erkən rüşeymi inkişafın erkən dövründə qüsurlar nümayiş etdirir. PRC2 kompleksi H3 histonda 27-ci lizin qalığına metil qrupunu əlavə etməklə fəaliyyət göstərir, beləliklə geni repressiya etmək üçün xromatin quruluşunu dəyişir. (Qeyd edək ki, burada metilləşmə zülaldakı amin turşusunda baş verir və bu DNT molekulundakı sitozin qalığında baş verən metilləşmə ilə tənzimləmədən fərqlənir.) Həm PRC1 həm də PRC2 ES hüceyrələrdə kodlaşdırdığı zülallar və mikro-RNT-lər (miRNT-lər) xüsusi hüceyrə tiplərinə differensiasiyayı induksiya edən genləri susdurur, Polikomb zülallar da bu genləri epigenetik “fəallaşmadan öncəki” vəziyyətdə saxlayırlar ki, onlar daha sonra inkişafın spesifik gen ekspressiyası proqramlarının düzgün icra olunması prosesinin bir hissəsi kimi fəallaşmaya hazır olsunlar. Beləliklə, PRC2 funksiyasını itirmiş ES hüceyrələr düzgün differensiasiya edə bilmirlər.

İnkişafın çox erkən dövründə pluripotentiyyəti saxlamaq üçün və gen ekspressiyasını tənzimləmək üçün çox sayda başqa tənzimləyicilər əhəmiyyətli rol oynayırlar. Məsələn, *let-7* miRNT-ni kodlaşdıran gen ES hüceyrələrdə transkripsiya olunur, amma sələf RNT transkripti yetkin funksional miRNT-ni əmələ gətirmək üçün kəsilir. ES hüceyrələr inkişafa görə tənzimlənən Lin28 adlanan və *let-7* sələf RNT-yə birləşən və onun doğranmasına mane olan RNT-birləşdirən zülalı ekspressiya edirlər. Yetkin *let-7* miRNT-nin ES hüceyrələrdə eksperimental ekspressiyası onların özünü-yeniləmək qabiliyyətini blok edir, beləliklə Lin28-in *let-7* prosesinin repressiya etməsi pluripotentiyyət üçün vacibdir.

Bizim sonra görəcəyimiz kimi, zədələnmiş toxumaları əvəz etmək və ya bərpa etmək üçün embrion sütun hüceyrələrinin müalicə məqsədi ilə istifadə olunmasının mümkünlüyü, onların spesifik hüceyrə tipinə differensiasiya etməsini induksiya etmək üçün daha çox tədqiqat işinə təkan verəcəkdir. ES hüceyrələrinin xəstəliyin müalicə işində mümkün olan faydasından başqa, çoxsaylı xəstəliklərin, inkişaf mexanizmlərinin, davranışın və fiziologiyanın tədqiq olunmasında istifadə edilən siçan mütantrlarının alınması üçün də son dərəcədə qiymətli olduğu sübut edilmişdir. Fəsil 6-da müzakirə olunan rekombinant DNT texnologiyasından istifadə edərək ES hüceyrələrində spesifik genin funksiyası modifikasiya edilə və ya uzaqlaşdırıla bilər (bax Şəkil 6-38). Sonra mutant ES hüceyrələr gen nok-aut siçanı istehsal etmək üçün istifadə oluna bilər (bax Şəkil 6-39). Genlərin delesiya olunmasının və ya modifikasiya olunmasının təsirinin analiz olunması çox zaman bu yolla genin və ya onun kodlaşdırdığı zülal məhsulunun normal funksiyası barədə ipuçuları verir.

Heyvanların Klonlaşdırılması Göstərir ki, Differensiasiya Dönə Bilər

Baxmayaraq ki, müxtəlif hüceyrə tipləri genomun müxtəlif hissələrini transkripsiya edə bilər, genomun əksər hissəsi bütün hüceyrələrdə identikdir. Genomun seqmentləri immun sisteminin T və B hüceyrələrinin inkişafı zamanı hematopoietik sələflərdə ya itirilir ya da yenidən qurulur (bax Fəsil 23), amma əksər somatik hüceyrələr öz rüşeyim xətdəkilərə ekvivalent olan intakt genoma malikdirlər. Ən azı bəzi somatik hüceyrələrin tam və funksional genoma malik olmasının sübutu nüvə keçirilməsi ilə klonlaşdırılmış heyvanların müvəffəqiyyətlə yaradılmasından gəlir. Çox zaman **somatik-hüceyrə nüvəsinin keçirilməsi (somatic-cell nuclear transfer – SCNT)** kimi adlanan bu prosedə yetkin somatik hüceyrənin nüvəsi əvvəlcədən nüvəsi çıxarılmış yumurta hüceyrəsi daxilinə keçirilir, diploid sayda xromosoma malik olan və ziqota ekvivalent olan, üzərində işlənmiş bu yumurta sonra qəbul edilmiş anaya (foster mother) implantasiya edilir. Embryonun inkişafını idarə edən genetik informasiyanın yeganə mənbəyi donor somatik hüceyrənin nüvə genomudur. Amma, SCNT ilə klonlaşdırılmış heyvanın yaradılmasının aşağı effektivliyi, klonlaşdırılmış heyvanda şişmanlıq kimi xəstəliklərin yüksək tezliyi ilə kombinasiyada yetkin somatik hüceyrənin faktiki olaraq nə qədərini tam funksional genoma malik olması sualını və onların hamısının differensiasiya olunmamış pluripotentiyyətdə proqramlaşdırıla bilərmi sualını meydana gətirir. Hətta məşhur klonlaşdırılmış qoyun “Dolly” kimi uğurlu olan halın da bəzi tibbi problemləri meydana çıxır. Hətta differensiasiya etmiş hüceyrələr fiziki olaraq tam genoma malik olsalar da onlardan yalnız bir hissəsi transkripsiyaya görə fəal olurlar (bax Fəsil 9). Məsələn, hüceyrə intakt genoma malik ola bilər, amma xromatinin irsən qazanılmış epigenetik vəziyyətinə görə spesifik genləri düzgün fəallaşdırma bilmir.

Differensiasiya etmiş hüceyrənin genomunun ES hüceyrələrə xarakterik olan tam inkişaf potensialına dönə bilməsinin sübutları, normal halda yenidən bölünməyən post-mitoz hüceyrələrin qoxubilmə sensor neyronlarının yaşıl fluoressent zülalla (GFP) genetik nişanlandığı və sonra da nüvə donoru kimi istifadə olunduğu eksperimentlərdən gəlir (Şəkil 21-7). Differensiasiya etmiş qoxubilmə sensor neyronların nüvəsi nüvəsizləşdirilmiş siçan oositinə implantasiya olunanda (keçiriləndə) onların kiçik bir fraksiyası inkişaf edərək GFP istehsal edən blastosistlərə çevrildi. Blastosistlər ES hüceyrə xətlərini törətmək üçün istifadə olundular, hansıki onlar da sonra siçan embrionlarının yaradılmasında istifadə edildilər. Bütünlüklə qoxubilmə sensor neyronların genomundan törənmiş bu embrionlar sağlam yaşıl-fluoressensiya edən siçanı yaratdırlar. Beləliklə, ən azı bəzi hallarda, siçanın bütün toxumalarını əmələ gətirmək üçün, differensiasiya etmiş hüceyrənin genomu tamamilə yenidən proqramlaşdırıla bilər.

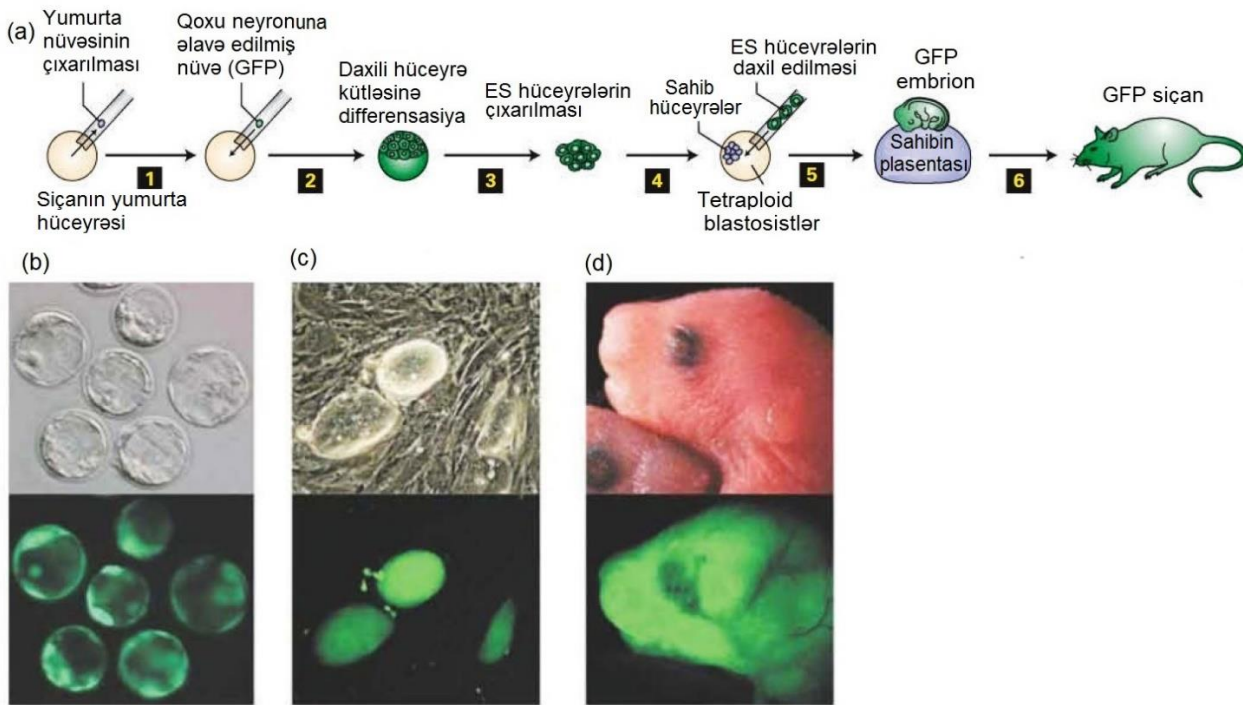
Somatik Hüceyrələr iPS Hüceyrələri Yarada Bilirlər

Somatik-hüceyrə nüvəsinin keçirilməsinin səmərəli olmamasına görə, məməlilərin bütün somatik hüceyrə tipləri intakt genoma malik olaraq qalırlar, onlar ES hüceyrəyə-bənzər vəziyyətdə induksiya oluna bilirlərmi, aydın deyildir. Şinya Yamanaka retrovirus vektorlardan istifadə edərək geniş müxtəliflikdə transkripsiya faktorlarını tək və kombinasiya olunmuş halda kultura olunan fibroblast hüceyrələrdə ekspressiya etdi. Maraqlıdır ki, o yalnız dörd zülalı, KLF4, Sox2, Oct4 və Myc

zülallarını kodlaşdırən retroviruslarla transformasiya etməklə həm insanın həm də siçanın fibroblastlarının embryonal sütun hüceyrələrdə olduğu kimi, induksiya olunan pluripotent sütun hüceyrə vəziyyəti adlanan pluripotent vəziyyətə yenidən proqramlaşdırıla bildiyini aşkar etdi. Qeyd edək ki, bu zülallardan ikisi, Sox2 və Oct4 əvəllər müzakirə olunduğu kimi, ES hüceyrələrdə ekspressiya olunan master transkripsiya faktorlarındanıdır. Fibroblastlardan başqa keratinositlər (dəri əməklə gətirən hüceyrələr) və başqa tip differensasiya etmiş hüceyrəsi də iPS hüceyrələrə reproqramlaşdırıldılar. ES hüceyrələr kimi, siçanın tək bir iPS hüceyrələri eksperimental olaraq blastosistlərə keçirilə bilər və siçanın bütün toxumalarını, o cümlədən rüseyim hüceyrələrini əmələ gətirə bilər, bu somatik hüceyrələrin həqiqətən embryon pluripotent vəziyyətə reproqramlaşdırılmasını təsdiq edir.

Bir sıra başqa transkripsiya faktorları və hətta kiçik üzvi molekullar Yamanakinin reproqramlaşdırma “koktelində” Oct4 genini əvəz edə bilər. Sonrakı analizlər bu faktorların hər birinin

endogen (hüceyrədaxili) Oct4 geninin transkripsiyasını birbaşa fəallaşdırdığını və pluripotentliyin induksiya olunmasına səbəb olduğunu aşkar etməyə gətirib çıxardı. Beləliklə, belə bir fərziyə irəli sürüldü ki, zaman keçdikcə transkripsiya faktoru genlərinin məcburi ekspressiyası çox hüceyrə genlərinin, o cümlədən Oct4-ü və başqa pluripotentlik zülallarını kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını fəallaşdırır, bu fəallaşma bir neçə həftədən artıq bir müddətdə somatik hüceyrələri ES-ə-bənzər vəziyyətə reproqramlaşdırır. Endogen genlərin fəallaşmasının ES-ə-bənzər hüceyrələrə reproqramlaşdırmanı induksiya etməsini eksperimental təşkil etmək üçün kultura olunan keratinositlər təkrar-təkrar kanonik Yamanaki transkripsiya faktorları KLF4, Sox2, Oct4 və Mye-ni kodlaşdırən sintetik mRNT ilə transfeksiya olundular. Bu kultura olunan hüceyrələr istənilən eqzogen əlavə edilmiş mRNT-nin izinin olmadığı nofmal iPS hüceyrələri əmələ gətirdilər, bu da keratinositlərin yalnız normal hüceyrə genlərini induksiya etməklə iPS hüceyrələrə reproqramlaşdırıldığını təsdiq edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-7 Qoxu neyronlarından somatik hüceyrənin nüvə ötürülməsi yolu ilə siçan klonlaşdırıla bilər. (a) Klonlaşdırılmış ES hüceyrə xəttinin qoxu sensor neyronlarının nüvəsindən istifadə edərək yaradılması və ondan da istifadə edərək klonlaşdırılmış siçanın yaradılması prosesi. Pilla 1: Yalnız öz qoxubilmə neyronlarında yaşıl fluorescent zülal (GFP) ekspressiya edən siçandan ayrılmış qoxubilmə sensor neyronun nüvəsi siçanın yumurtasının nüvəsini əvəz etmək üçün istifadə edilmişdir, nəticədə yaranan ziqot blastosist mərhələsinə qədər kultura olunmuşdur (pilla 2). Hamısı orijinal qoxubilmə sensor neyronlarının klonları olan və hamısı GFP ekspressiya edən ICM hüceyrələr olan ES hüceyrə xətlərini yaratmaq üçün istifadə olundular (pilla 3). Pilla 4: Bu ES hüceyrələr tetraploid blastosistlərə ineksiya olundular. Pilla 5: Blastosist psevd-

(yalançı-) boğaz siçanın uşaqlığına keçiriləndə sahib blastosistdən tetraploid hüceyrələr plasentanı (boz) əmələ gətirə bildilər, amma düzgün embryonu yara da bilmədilər, ona görə də düzgün embryondakı bütün hüceyrələr və ondan əmələ gələn siçan GFP ekspressiya etdilər (pilla 6). (b-c) (b) Nüvə-ötürücü blastosistlərin və (c) ICM hüceyrələrdən ayrılmış ES hüceyrələrin parlaq sahə (yuxarıda) və fluorescent (aşağıda) təsvirləri. (d) 12-saatlıq yaşda olan nəzarət siçan (yuxarıda) və qoxubilmə sensor neyronundan klonlaşdırılmış və bütün hüceyrələri GFP ekspressiya edən siçan (aşağıda). [(b-d) hissələr Macmillan Publishers Lt. razılığı ilə from Eggen, K., et al., “Mice cloned from olfactory sensory neurons,” *Nature*, 2004, **428**(6978):44–9-dan yenidən çap olunur.]

Fibroblastlarda pluripotentliklə əlaqəli olan əksər genlərin xromatini, repressiv histon H3 lizin 9 trimetiləşmə (H3K9Me) işarələnməsi səbəbindən transkripsiya faktorunun birləşməsi

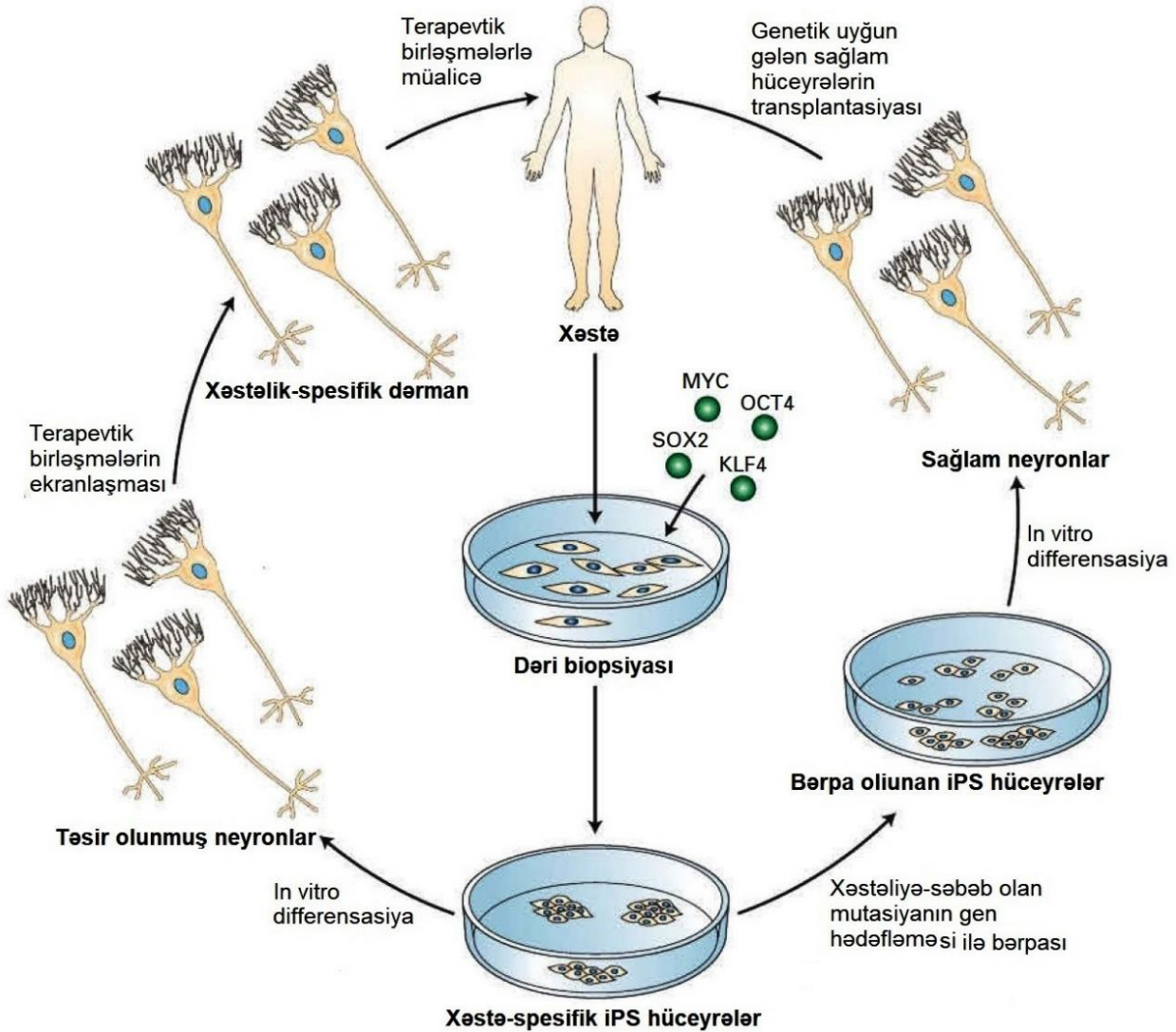
üçün əlçatamazdır. Oct4-lə fəallaşan genlər arasında repressiv xromatin nişanlarını itirən H3K9 demetilazaları kodlaşdırən iki gen zaman keçdikcə pluripotentlik genlərinin fəallaşmasına

səbəb olur. Bu anlayışa uyğun olaraq, H3K9 demetilazaların ekspressiyası reproqramlaşdırma zamanı artır, onların nökdəunu isə effektiv iPS-hüceyrə yaranmasını ingibirləşdirir. Həqiqətən də, reproqramlaşdırmaya əsas epigenetik modifikasiyalar, o cümlədən DNT metilləşməsi və yüzrlə genin repressiyasında fəaliyyət göstərən və ya potensial fəallaşmasına imkan yaradan bir sıra başqa tipli histon modifikasiyaları daxildir.



iPS hüceyrələr çətin başa düşülən (çətin müalicə olunan) xəstəlikləri olan xəstələrin somatik hüceyrələrindən törəyə

bildiyindən, onlar artıq bir sıra bəlalərin molekulyar-hüceyrə əsaslarının açılması üçün əvəzolunmaz olduqlarını sübut etdilər (Şəkil 21-8). Çox hallarda *Lou Gebriq xəstəliyi* kimi adlandırılan **amiotrofik lateral skleroz (ALS)** xəstəliyinə nəzər salsaq, çox təhlükəli olan bu xəstəlikdə onurğa beynini bədən əzələləri ilə birləşdirən motor neyronların tədricən ölməsini, əzələ zəifliyi və ölümünü, əzələlərin paralizini və sonda tənəffüs çatışmazlığından ölümlə nəticələndiyini görürük. Bunun müalicəsi mümkün deyil.



ŞƏKİL 21-8 iPS hüceyrələrin tibbi tətbiqləri. Bu nümunədə, xəstədə müəyyən sinir hüceyrələrinin (neyronların) anormallığı nəticəsində yaranan neurodegenerativ pozuntular vardır. Xəstə-spesifik iPS hüceyrələr, indiki halda dəri-biopsiyasından ayrılmış hüceyrələrdə transkripsiya faktorlarının rekombinant ekspressiyası yolu ilə alınmış hüceyrələr, iki yolun birində istifadə oluna bilər. Xəstəyə səbəb olan mutasiya (məsələn, ailə Parkinson xəstəliyi) məlum olduğu hallarda, DNT ardıcılığını (*sağda*) bərpa etmək üçün gen hədəflənməsi istifadə edilə bilər. Genlə-redaktə olunmuş xəstə-spesifik iPS hüceyrələr, sonra

təsirə məruz qalan neyronal sub-tipə yönəldilmiş differensasiya etməli (məsələn, orta-beyin dopaminergik neyronlara) və xəstənin beyninə (niqrostriatal oxu bitişdirmək üçün) transplantasiya olunmalıdır. Alternativ olaraq, xəstə-spesifik iPS hüceyrələrin təsirə məruz qalmış neyronal sub-tipə (*solda*) yönəldilmiş differensasiyası xəstələrin xəstəliyinin in vitro modelləşməsinə imkan verəcək və potensial dərmanlar yeni terapevtik birləşmələrin aşkarlanmasına kömək üçün ekranlaşdırıla bilər. Bax D. A. Robinton and G. Q. Daley, 2012, *Nature* 481:295.

Xəstələrin təxminən 10 faizində xəstəlik dominant olaraq irsən keçir (ailə ALS), xəstələrin 90 faizində isə aydın genetik əlaqə yoxdur (sporadik ALS). Bu xəstəliyin səbəblərinin molekulyar və hüceyrə səviyyəsində analizi uzun illər mümkün olmamışdır, çünki neyronları və ya onları əhatə edən qlial hüceyrələri canlı insandan ayıraraq analiz etmək və ya kultura etmək mümkün olmamışdır.

Ailə ALS xəstələrin təxminən 20 faizində Cu/Zn superoksid doismutaza-1-i kodlaşdıran SOD1 genində nöqtəvi mutasiya baş verir, mutant *SOD1* zülalı hüceyrəni zədələyə bilən aqreqatları əmələ gətirir. Ailə ALS xəstələrin təxminən 40 faizində və qeyri irsi formada olan xəstələrin 10 faizində *C9ORF72* genində (naməlum funksiyalı; 9-cu xromosomda 72-ci açıq oxunan çərçivə – ORF) mutasiya baş verir. Çox zaman bu mutasiya Alzheimer xəstəliklərində ikinci çox rast gəlinən dimensiya formasının, alın-gicgah dimensiyasının (frontotemporal dementia) olduğu insanlarda baş verir və nəyə görə bəzi insanlarda hər iki xəstəliyin eyni zamanda baş verdiyini izah edir. İnsanın normal *C9ORF72* genlərindən transkripsiya olunan mRNT heksanukleotid GGGGCC ardıcılığının 30-a qədər təkrarına malik olur, amma mutant ALS-yaradan genlərdə belə təkrarlar minə qədər ola bilər.

Bir neçə tədqiqatda, xəstəliyin bu və başqa ailə və sporadik forması olan yaşlı xəstələrin dəri hüceyrələrindən ayrılmış iPS hüceyrələr kulturada uğurla differensiasiya edərək motor neyronları əmələ gətirdilər, bu müvəffəqiyyət, xüsusi olaraq ALS ilə təsir edilən hüceyrələrin potensial olaraq sonsuz təchizatını təmin etmək üçün iPS hüceyrələrinin özünü yeniləşdirməsindən yararlanmanın mümkünlüyünü nümayiş etdirdi. Aparılmış bir tədqiqat göstərdi ki, bir sıra ALS mutasiyalarını əmələ gətirən motor neyronlar hiperhəyacanlanmış olurlar, normala hala nisbətən daha çox təsir potensialı adlanan elektrik siqnallarını yaradırlar (bax Fəsil 22). Həyacanlanmanın belə artıqlığı zülal bükülməsində neyronların çox səhlər etməsinə və səhv bükülmüş zülalların daha çox toplanmasına səbəb olur, aberrant (yolunu azan) hüceyrə funksiyasına gətirib çıxarır. *C9ORF72* mutasiyalı xəstələrin iPS-lə törənmiş neyronlarında böyük sayda GGGGCC ardıcılığın təkrarlarına malik olan RNT-lər, normal hüceyrə funksiyası üçün əhəmiyyətli olan çoxsaylı RNT-birləşdirən zülallarla birləşmiş aqreqatda olurlar. Bu cürə birləşmə, bu zülalların başqa hüceyrə mRNT-lərinin sintezinin əsas mərhələsini kataliz etməsinə mane olur. Ümumilikdə, *C9ORF72* mutasiyası motor neyronlarının bir çox başqa hüceyrə RNT-lərini anormal miqdarda istehsal etməsinə səbəb olur və hüceyrəni stressə daha çox həssas edir.

Ayrı bir tədqiqatda, ALS-in molekulyar əsaslarını öyrənmək üçün motor neyronlar insanın ES və ya iPS hüceyrələrindən yaradılmış, insan neyronlarını əhatə edən və onların bir sıra funksiyasını tənzimləyən (bax Şəkil 22-17) qlial hüceyrə tipi olan, insanın əsas astrositləri ilə kultura olunmuşdur. Əgər astrositlər *SOD1*-in mutant formasını ekspressiya edərsə motor neyronların çoxu ölür, amma onlar təbii-formalını ekspressiya edərsə ölmürlər, bu da göstərir ki, ən azı ALS-in bu ailə formasında qüsurlu olan hüceyrələr həm astrositlər həm də motor neyronlardır. Həqiqətən də, ifraz olunan mutant formalı *SOD1* zülal faktorunu ekspressiya edən astrositlər yaxınlıqdakı (bitişik) motor neyronlar üçün zəhərli (toksik) olmuşlar.

Bu və bir sıra başqa tədqiqatlarda, tədqiqatçılar minlərlə kiçik üzvi maddələri, o cümlədən bir çoxu başqa xəstəliklərin müalicəsində dərman kimi istifadə edilməsi qəbul olunmuş maddələri ALS iPS hüceyrələrindən törənmiş motor neyronların anormallığını geri qaytara bilməsi ehtimalına görə sınaqdan keçirdilər. Bunlardan bəziləri identifikasiya olunmuş və onların ALS-in dağıdıcı təsirlərini dayandıra və ya zəiflədə bilirmiş xassəsi kliniki sınaqdan keçirilir. İstənilən halda, bu eksperimentlər iPS və ES hüceyrələrin çətin-öyrənilən insan xəstəliklərinin çox tiplərinin hüceyrə kulturası modellərinin yaradılmasında əhəmiyyətini işıqlandırır, bu da bir çox müalicə edilə bilməyən xəstəlikləri müalicə edə bilən dərmanların skriningi üçün istifadə edilə bilər. ■

ES və iPS Hüceyrələr Differensiasiya Etmiş Funksional İnsan Hüceyrələrini Yarada Bilirlər

Neyronlar və qlial hüceyrələr, eləcə də insanın iPS hüceyrələrindən törənmiş başqa hüceyrə tipləri bəzi ümüdverici nəticələrlə siçana implantasiya olunmuşdur. Sütun hüceyrə ilə törənmiş kardiomyositlər (ürək əzələ hüceyrəsi) ürək aritmiyalarını düzəldə (birpa edə) bilər, bəzi qlial hüceyrələr – oliqodentrositlər – eksperimental onurğa zədələnməsində bərpaedici kömək etmək vədi verir, retinal epitel hüceyrələri isə siçan modelində korluq qüsurlu qismən bərpa edir.

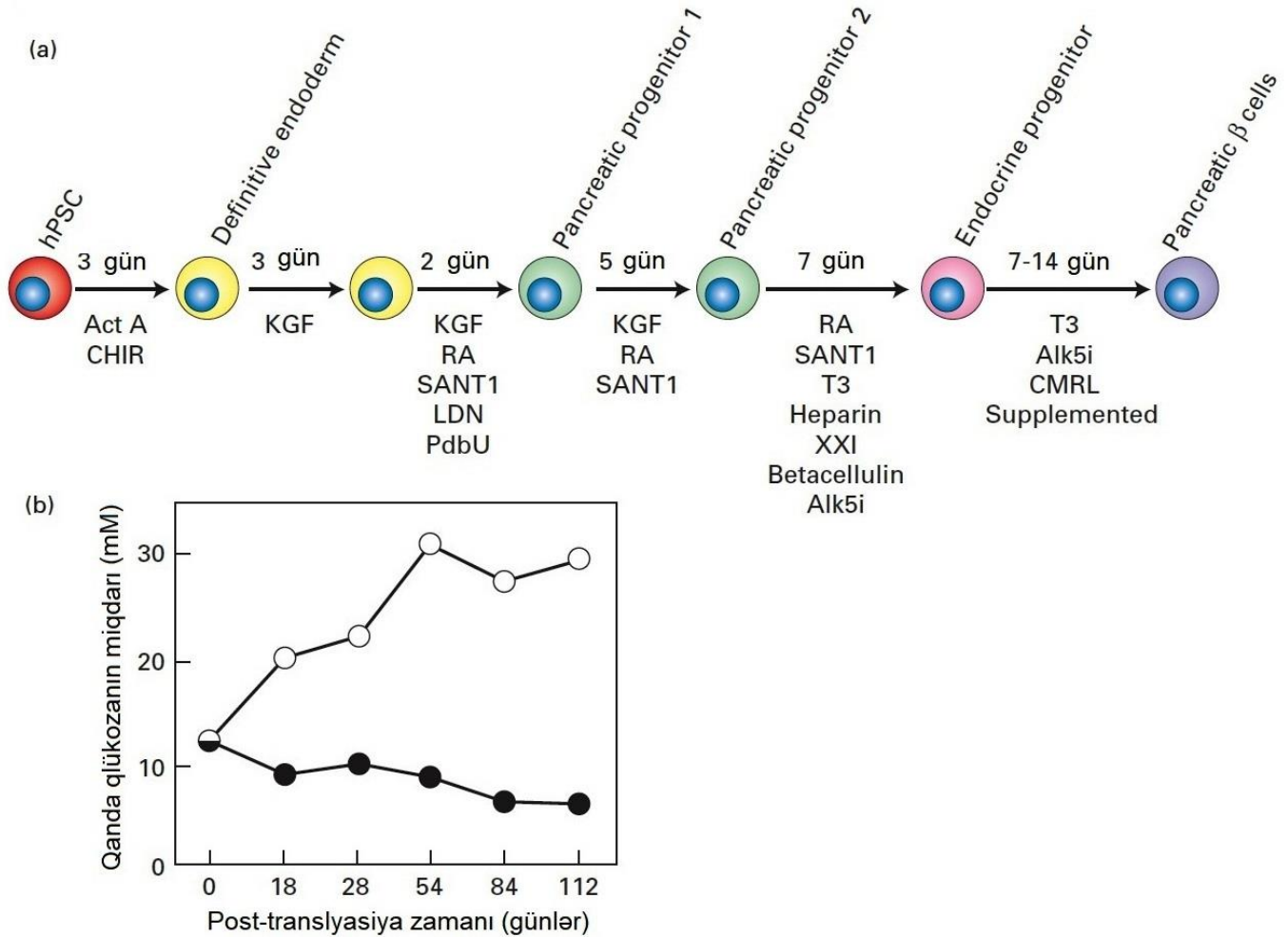
Son zamanların tədqiqatlarında bir irəliləyiş – normal insulin-İfraz edən β adacıq hüceyrələrin insanın iPS və ES hüceyrələri ilə bərpası – I və II tip diabetlərin müalicəsinə ümüd verir. I diabet β hüceyrələrin avtoimmun parçalanması nəticəsində baş verir, halbuki daha mürəkkəb olan II tip diabetlər qaraciyər və əzələlərin insulinə rezistentliyi nəticəsində baş verir (bax Şəkil 16-40) və sonda β hüceyrələrin disfunksiyasına və ölümünə səbəb olur. Meyidlərdən alınmış insanın β hüceyrələri transplantasiya olunmuş xəstələr 5 ilə qədər və ya daha artıq müddətdə insulindən asılı olmadan yaşaya bilər, amma bu yanaşma donor adacıq hüceyrələrinin çatışmazlığı və keyfiyyəti üzündən məhduddur; beləliklə insanın β hüceyrələrinin sütun hüceyrələrindən qeyri məhdud dərəcədə təmin olunmasının mümkün olması müalicə işinin milyonlarla yeni xəstələr arasında potensial genişlənməsinə imkan verə bilər.

Belə uğurlu β hüceyrələri nəslinin yaradılmasının bir açarı, normal embryonal inkişaf ardıcılığını keçmək üçün iPS və ES hüceyrələrini stimullaşdıran boy faktorlarının müxtəlif kombinasiyası ilə ardıcıl təsir etmənin tətbiq edilməsidir, bu zaman differensiasiya etməmiş ICM hüceyrələrin yeni nəslə β hüceyrələri əmələ gətirir (Şəkil 21-9a). SC-β hüceyrələr kimi adlandırılan bu hüceyrələr β adacıq hüceyrələrinə oxşar olan quruluşa malik olurlar, beləki ifrazat qranulaları demək olar ki, kristal insulinlə dolu olur (bax Şəkil 14-23), onlar həmçinin kultura mühitində qlükozanın səviyyəsinin artmasına cavab olaraq normal miqdarda insulin ifraz edirlər. Onların siçanlara transplantasiya olunmasından qısa zaman sonra, bu hüceyrələr qlükoza-İlə-tənzimlənən üsulda qana insan insulinini ifraz edirlər. Ən əhəmiyyətlisi odur ki, bu hüceyrələrin immuno çatışmazlığı olan diabet siçanlara transplantasiyasından sonra siçanlarda qlükozanın yüksək səviyyəsi normal səviyyəyə qədər enmişdir (Şəkil 21-9b), bu da kulturada qeyri məhdud dərəcədə istehsal oluna bilən bu adacıq hüceyrələrinin diabetlərin müalicəsində potensial istifadə oluna bilməsini göstərir. β

hüceyrələrin funksiyasını, sağ qalmasını, proliferasiyasını yaxşılaşdırən yeni dərmanları identifikasiya etmək üçün tətbiq edilən skrining sütun hüceyrələrdən törənmiş β hüceyrələrin təchizatı üçün də istifadə edilə bilər.

Bu SC- β hüceyrələri şübhəsiz ki, mütləq gələcəkdə olan bir hadisənin müjdəçisidir. Şübhəsiz ki, gələcə yaxın illərdə insanın iPS hüceyrələrindən müxtəlif xəstəliklər üçün “ehtiyat hissələri” kimi istifadə oluna bilən bir çox başqa tipli differensasiya olunmuş hüceyrələrin inkişaf etdirilməsini görə bilərik. Amma, insanın ES və iPS hüceyrələrinin müalicə məqsədi ilə adekvat qəbul edilməsi üçün öncə bir sıra

əhəmiyyətli suallara cavab verilməlidir. Məsələn, insanın və ya siçanın differensasiya etməmiş ES və ya iPS hüceyrələri eksperimental siçana transplantasiya olunarkən onlar teratomaları, qismən differensasiya olunmuş hüceyrə tiplərinin kütləsindən ibarət olan şişləri əmələ gətirirlər. Beləliklə, implant əmələ gətirmək üçün istifadə olunan *bütün* ES və iPS hüceyrələrin həqiqətən də differensasiya etməsinə və hamısının öz pluripotentlik qabiliyyətini və teratomaları induksiya etmək və ya başqa problemləri əmələ gətirmək qabiliyyətini itirməsinə əmin olmaq çox vacibdir.



ŞƏKİL 21-9 İnsan ES və iPS hüceyrələrindən normal insulin-iraz edən β adacıq hüceyrələrin istehsalı. (a) İnsanın ES və iPS hüceyrələrinin insulin idfraz üdədən β adacıq hüceyrələrinə yndilmiş differensasiyasının sxemi. İnsanın ES və iPS hüceyrələrinin bir-neçə yüz klasteri, əvvəlcə dəqiq endoderma hüceyrələrini, sonra bir sıra mədəaltı vəzin nəsil (progenitor) hüceyrələrini, daha sonra mədəaltı endokrin hüceyrələrini və nəhayət sonda sütun hüceyrələrindən-törənən insulin-istehsal dən β adacıq hüceyrələrini (SC- β hüceyrələr adlandırılır) istehsal etmək üçün ardıcıl olaraq qeyd olunan boy faktorlarına malik olan mühitdə qeyd olunan günlərin sayı müddətində kultura olundular. Act-A, aktivin A; CHIR, GSK3 inhibitor; KGF, keratinosit boy faktoru; RA, retinoid turşusu; SANT1, Sonic-Hedgehog (Sonic Hedgehog) yolun antaqonisti; LDN, tip 1 BMP reseptorun inhibitoru; PdbU, proteinkinaza C aktivatoru; Alk5i, Alk5 reseptorun inhibitoru II; T3, tiroid hormon triyod-tironin; XXI, γ -sekretraza inhibitoru; EGF ailəsinin nümayəndəsi betasellulin. (b) SC- β

hüceyrələr siçanlarda diabeti müalicə etmək üçün istifadə oluna bilər. Bu eksperimentlərdə insulin genində və eləcə də heyvanın transplantasiya olunan insan toxumasını rədd etməməsi üçün bir sıra immun-sistemi genlərində mutasiya olunan diabet siçan ştamından istifadə edilmişdir. Əvvəlki işlər göstərdi ki, qlükozanın səviyyəsinin artması bu siçanda insanın mədəaltı vəzinin transplantasiyası ilə normal hala bərpa oluna bilər. Bu eksperimentdə siçana insanın SC- β hüceyrələri (qara dairələr) və ya eyni sayda nəzarət (kontrol) mədəaltı vəzin sələf hüceyrələri (ağ dairələr) transplantasiya edildi. Eksperimentin başlanğıcında bu siçanda qanın ümumi qlükoza səviyyəsi normal 5 mM səviyyəsindən yüksək, 11 mM yaxın olmuşdur. Qanda orta qlükoza səviyyəsi nəzarət siçanında fasiləsiz şəkildə yüksəlmiş, 30 mM qədər çatmışdır, bu da kəskin diabeti göstərir, amma insanın SC- β hüceyrələri transplantasiya olunmuş siçanda qlükozanın səviyyəsi normal hala, 5 mM qədər enmişdir. [(b) hissəsində verilənlər F. Pagliuca et al., 2014, *Cell* **159**:4280-dən.]

21.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Embryon Sütun Hüceyrələr və İnduksiya Olunan Pluripotent Sütun Hüceyrələr

- Daxili hüceyrə kütləsi embryonun, eləcə də embryonal sütun hüceyrələrinin mənbəyidir.
- Kultura olunan embryonal sütun hüceyrələr (ES hüceyrələr) pluripotentdir, embrionxarici toxumadan başqa orqanizmin bütün differensasiya etmiş hüceyrə tiplərini əmələ gətirə bilirlər. Onlar genetik dəyişdirilmiş siçanın yaradılmasında və potensial gələcək müalicə məqsədi ilə istifadə oluna bilərlər.
- ES hüceyrələrin pluripotentliyi çoxsaylı faktorlarla, o cümlədən DNT metilləşməsi, xromatin tənzimləyiciləri, müəyyən mikro-RNT-lər və transkripsiya faktorları Oct4, Sox2 və Nanog-la nəzarət olunur.
- Heyvanların klonlaşdırılması aşkar etdi ki, differensasiya geri dönmə bilər.
- İnduksiya olunmuş pluripotent sütun (iPS) hüceyrələr KLF4, Sox2, Oct4 və Myc transkripsiya faktorlarının kombinasiyalarının ekspressiyası yolu ilə somatik hüceyrələrdən əmələ gələ bilər.
- ALS nümunəsi ilə göstərilirdi ki, insanın iPS hüceyrələrinin kulturasında istehsal olunan differensasiya etmiş hüceyrələri mövcud olan xəstəliyin səbəblərini anlamaq üçün və eləcə də bu xəstəliyin müalicəsi üçün istifadə oluna bilən dərmanların nümayiş etdirilməsində istifadə etmək olar.
- İnsanın iPS hüceyrələrinin kulturasında istehsal edilən β adacıq hüceyrələr normal olaraq mühtdə qlükozanın miqdarının artmasına cavab kimi insulin ifraz edirlər və diabet siçanda qlükozanın yüksəlmiş səviyyəsini geri, normala qaytarırlar.

21.3 Çoxhüceyrəli Orqanizmlərdə Sütun Hüceyrələr və Nişə

Bir çox differensasiya etmiş hüceyrə tipləri bədəndən sıxışdırılıb çıxarılır və ya onların həyat dövrü orqanizmin həyat dövründən qısa olur. Xəstəliklər və zədələnmələr (travma) da differensasiya olunmuş hüceyrələrin itirilməsinə səbəb olur. Differensasiya etmiş hüceyrələrin əksəriyyəti bölünmədiyindən onlar yaxınlıqdakı somatik sütun-hüceyrə populyasiyasından bərpa olunmalıdırlar. Onurğalılarda və əksər onurğasızlarda belə sütun hüceyrələr pluripotent ES hüceyrələrdən fərqli olaraq *multipotentdir* və orqanizmdə olan bütün hüceyrə tiplərinin deyil yalnız bəzilərinin yaranmasına başlanğıc verə bilirlər. Postnatal (yetkin) onurğalı heyvanların çox toxumaları, o cümlədən qan, bağırsağ, dəri, yumurtalıq və əzələ toxumaları sütun hüceyrələrinə malikdirlər. Hətta yetkin fərdin beyнинin çox az da olsa hüceyrə bölünməsi baş verən bəzi hissələrində sütun hüceyrələrin populyasiyası vardır (bax Fəsil 22). Eninəzolaqlı əzələlərdə sağalmalar üçün sütun hüceyrələr daha çox vacibdir, çünki onlarda başqa vaxtlarda nisbətən az hüceyrə bölünməsi baş verir. Qaraciyər (hepatopsitlər) kimi bəzi başqa hüceyrə tipləri və insulin istehsal edən β adacıq hüceyrələri artıq differensasiya etmiş hüceyrələrin bölünməsi ilə özünü bərpa edir, buna misal olaraq qaraciyərin böyük bir hissəsinin cərrahi

yolla kəsilməsindən sonra özünü bərpa etməsini göstərmək olar. Bu toxumalarda bu tip differensasiya etmiş hüceyrələri yarada bilən sütun hüceyrələrin olub-olmaması mübahisəlidir.

Yetkin Planari Pluripotent Sütun Hüceyrəyə Malikdir

Fəsil 1-də biz qeyd etdik ki, planarının kiçik bədən seqmenti bütöv heyvanı regenerasiya edə bilər. Məlumdur ki, regenerasiya yetkin heyvanın bütün bədənini boyu yayılmış proliferasiya edən sütun hüceyrələrinə-bənzər **neoblastlar** adlanan hüceyrələrin populyasiyasını tələb edir, amma əsas məsələ odur ki, regenerasiya bütün heyvanlarda olduğu kimi bu qabliyyətə malik olan hüceyrə xətti ilə məhdudlaşan çoxsaylı sütun və ya əcdad (sələf) hüceyrələrin kollektiv fəaliyyəti iləmi baş verir, yoxsa buraya pluripotent sütun hüceyrələr cəlb olunur. Son zamanların eksperimentləri göstərdi ki, yetkin planari hüceyrə-xətti-ile-məhdudlaşan neoblastlara və cNeoblastlar adlanan pluripotent sütun hüceyrələrə malikdir.

Əsas eksperimentlərdə yetkin planaridə hüceyrə bölünməsinin əksəriyyətinə və ya hamısına mane olmaq üçün qamma-şüalanımdan istifadə edildi; təsir olunmuş heyvanlar regenerasiya oluna bilmədilər və qocalmış differensasiya etmiş hüceyrələri bərpa edə bilmədiklərinə kütləvi toxuma itirilməsindən əziyyət çəkildilər. Şüalandırmadan sonra qalmış çox az funksional differensasiya edən neoblast hüceyrələr *smewi-1* adlanan marker genlə identifikasiya oluna bildilər. Şüalanmadan bir neçə gün sonra, fərdi neoblastlar müxtəlif tipli differensasiya etmiş bədən hüceyrələrinə malik olan *smewi-1*-müsbət hüceyrələrin çoxsaylı koloniyalarını əmələ gətirdilər (Fəsilin girişindəki şəkilə bax), belə fərz edildi ki, neoblastların bu *smewi-1*-müsbət subpopulyasiyaları pluripotentdir. Bu fərziyyəni sınaqdan keçirmək üçün, tək neoblastlar letal şüalandırılmış və özünün bütün neoblastlarını itirmiş planariyə transplantasiya olundu. Maraqlıdır ki, transplantasiya olunanlardan bir neçəsi 7 həftə yaşadıqdan sonra tək bir transplant hüceyrədən sinir, bağırsağ və bütün bədən boyu paylanmış başqa differensasiya etmiş hüceyrə tiplərini regenerasiya etdilər. Tədqiqatçı sonda heyvan qidalanma davranışını bərpa etdi və fotoreseptorlar da daxil olmaqla kompleks toxumaları regenerasiya etdi. Bu eksperimentlər göstərdi ki, yaşlı planaridə ən azı neoblast sütun hüceyrələrin bəzisi həqiqətən pluripotentdir və planarının çox əhəmiyyətli regenerasiya etmə qabiliyyətinin hüceyrə əsasını təmin edir. Çoxsaylı cəhdlərə baxmayaraq, heç bir yetkin onurğalı orqanizmdə inandırıcı pluripotent sütun hüceyrələr identifikasiya olunmamışdır.

Multipotent Somatik Sütun Hüceyrələr Həm Sütun Hüceyrələrə Həm Də Differensasiya Etmiş Hüceyrələrə Başlanğıc Verir

Yetkin metazoan orqanizmlərində sütun hüceyrələrin ən çox rast gəlinən forması, multipotent somatik sütun hüceyrələr bədən toxumasını əmələ gətirən xüsusi hüceyrələri yaradırlar. Multipotent somatik sütun hüceyrələr üç əsas xassəyə malikdirlər (Şəkil 21-10):

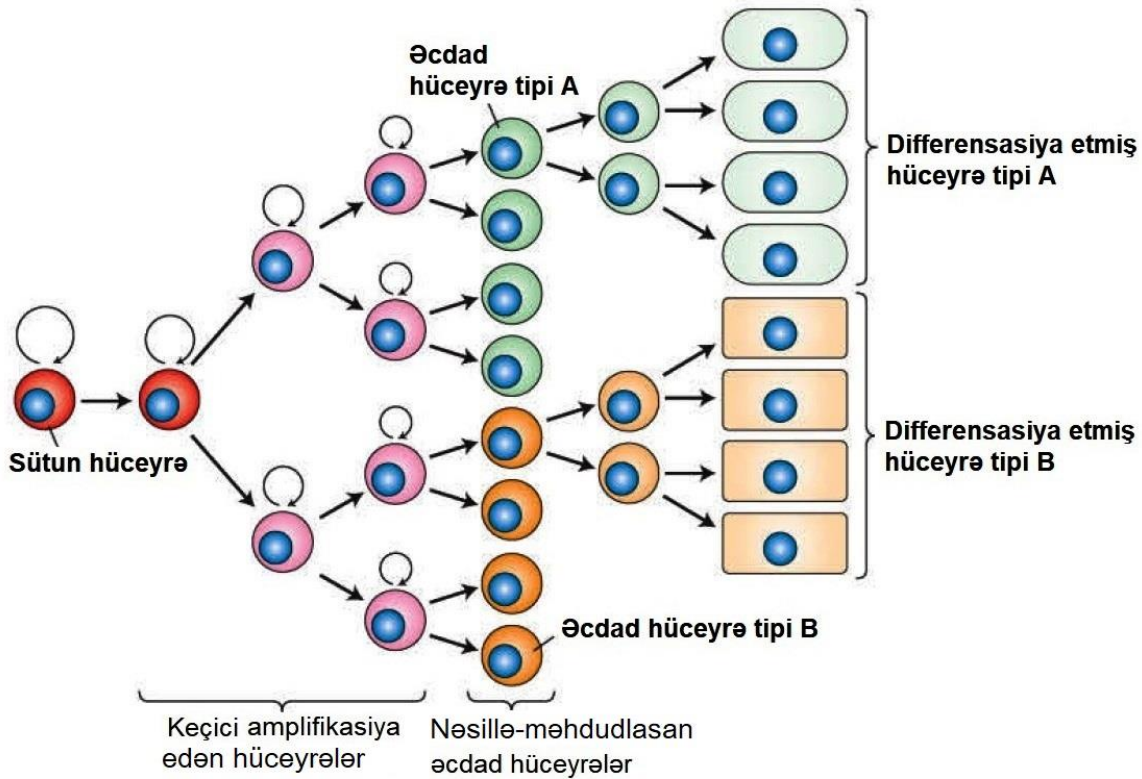
1. Onlar çoxsaylı müxtəlif tipli differensasiya etmiş hüceyrələrin yaranmasına səbəb olurlar, buna görə də onlar multipotentdir. Bu mənada onlar, yalnız bir tip differensasiya etmiş hüceyrələrin yaranmasına səbəb olan əcdad hüceyrədən (həmçinin *saləif hüceyrələr* adlandırılır) fərqlənilirlər. Sütun hüceyrə bütün hüceyrə tiplərini deyil bir çox müxtəlif differensasiya etmiş hüceyrə tiplərini yaratmaq qabiliyyətinə malikdir. Buna görə də o, ES hüceyrə kimi pluripotent sütun hüceyrə deyildir. Məsələn, multipotent qan sütun hüceyrəsi özünü və bir neçə başqa tip qan hüceyrələrini əmələ gətirəcək, amma heç vaxt dəri və ya qaraciyər hüceyrələrini əmələ gətirməyəcək.

2. Onlar ona görə sütun hüceyrələrdirlər ki, onlar differensasiya olunmamışlar, ümumiyyətlə onlar, onların nəsilərindən əmələ gəlmiş differensasiya etmiş hüceyrə tiplərinə xass olan zülalları ekspressiya etmirlər.

3. Xüsusi tip sütun hüceyrələrin sayı ümumiyyətlə embryonal inkişaf zamanı yüksəlir və sonra fərdin qalan həyatı boyu nisbətən sabit qalır. Bu mənada, çox zaman sütun hüceyrələrə ölümsüz deyilir, hərçənd ki, heç bir sütun hüceyrə heyvanın bütün həyatı boyu sağ qalmır. Həqiqətən də, xroniki toxuma yaralanması, təkrarlanan kimyəvi terapiya, və ya genetik bütövlüyü pozan genetik qüsurlarla normal haldan daha tez-tez bölünməyə məcbur ediləndə sütun hüceyrələr məhdud replikativ qabiliyyəti nümayiş etdirirlər.

Sütun hüceyrələrin iki kritik xassəsi, çoxsaylı hüceyrə bölünmələri zamanı özlərini çoxaltmaq (özünü-yeniləmə) bacarığı və daha məhdud potensialı nəslə yaratmaq qabiliyyəti birlikdə onları bütün başqa hüceyrələrdən fərqləndirir. Sütun hüceyrələrin çox tipi yetkin orqanizmdə daha seyrək, nadir hallarda bölünürlər; onlar istənilən anda differensasiya etmiş müəyyən hüceyrələrin tələb olunması üçün "ehtiyatda" saxlanılırlar. Əksinə, onların qeyri-sütun-hüceyrə qızları tez-tez hallarda sürətli hüceyrə bölünməsinin çoxsaylı təkararlarına məruz qalırlar. Çox zaman *keçici artan hüceyrələr* (*transient amplifying cells*) adlanan (bax Şəkil 21-10) belə hüceyrələr məhdud dərəcədə özünü yeniləmə qabiliyyətinə malik olurlar, amma sonda onların bir çox nəsiləri hüceyrə xətti kimi məhdudlaşan əcdad hüceyrələri əmələ gətirirlər. Öz növbəsində bu hüceyrələr bölünə və sonda çox spesifik differensasiya etmiş hüceyrələri əmələ gətirirlər.

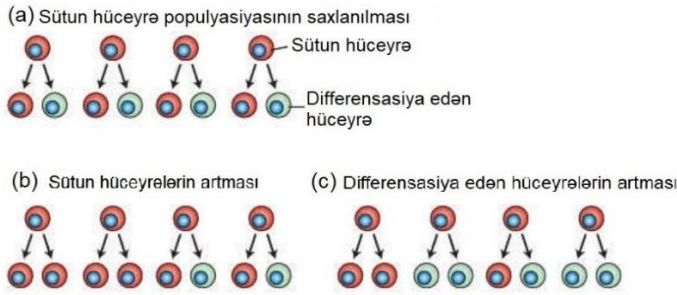
Sütun hüceyrələr hüceyrə bölünməsinin bir neçə formasını nümayiş etdirirlər. Bəzi tip sütun hüceyrələr həmişə asimmetrik bölünərək bir nüsxə valideyin hüceyrəni əmələ gətirir və bir nüsxə daha məhdud qabiliyyətə malik olan, məsələn daha az sayda bölünə bilən və ya valideyin sütun hüceyrə ilə müqayisədə daha az nəsil verə bilən qız sütun hüceyrəni əmələ gətirirlər (Şəkil 21-11a). Bu tip sütun-hüceyrə bölünməsi, aşağıda müzakirə edilən *Drosophila* kimi onurğasızlarda tapılmışdır.



ŞƏKİL 21-10 Sütun hüceyrələrdən nəsil-məhdudlaşan əcdad hüceyrələrə və differensasiya etmiş hüceyrələrə doğru yol. Orta hesabla, multipotent somatik sütun hüceyrənin hər bölünməsi zamanı qız hüceyrələrdən ən azı biri valideyin hüceyrə kimi sütun hüceyrə olur. Beləliklə sütun hüceyrə özünü-yeniləmə bölünməsinə elə məruz qalır ki, xüsusi tip sütun hüceyrələrin sayı sabit qalır və ya orqanizmin

həyatı boyu artır. Keçici artan hüceyrələr adlanan başqa qız hüceyrələr sürətlə bölünür və məhdud sayda özünü-yeniləmə bölünməsinə məruz qalır, amma sonda nəsil verməklə məhdud olan əcdad hüceyrələri əmələ gətirir. Bu hüceyrələr özünü yeniləmə bölünməsinə uğraya bilmir, amma bölünərək xüsusi tip differensasiya etmiş hüceyrəni əmələ gətirirlər.

Onurğalılarda tapılmış sütun hüceyrə bölünməsinin çox rast gəlinən başqa formalrı, heyvanın təlabatından asılı olaraq sütun hüceyrələrin və ya differensasiya etmiş hüceyrələrin sayının artmasına və ya azalmasına imkan verir (Şəkil 21-11b, c). Yaxınlıqdakı hüceyrə tərəfindən buraxılmış horman çox zaman sütun-hüceyrə bölünməsinin bu formalarını tənzimləyir. Məsələn, sütun hüceyrə simmetrik bölünə bilər, bu zaman fərqli müqəddarata məruz qalan iki qız hüceyrə əmələ gəlir: başqa hüceyrələr tərəfindən göndərilmiş xarici siqnallardan asılı olaraq biri sütun hüceyrə kimi qala bilər, digəri isə differensasiya etmiş nəslə əmələ gətirə bilər. Biz tezliklə böyük detalları ilə görəcəyik ki, bu kiçik bağırsaqda baş verir: çox zaman bu qız hüceyrələrdən biri öz valideyininə identik olaraq sütun hüceyrə kimi qalır, digər qız hüceyrə isə sürətlə bölünərək dörd tip differensasiya etmiş bağırsaq hüceyrələrini əmələ gətirir. Başqa sütun-hüceyrə bölünmələri simmetrikdirlər, iki sütun hüceyrəni əmələ gətirərək xüsusi tip sütun hüceyrələrin sayını artırır. Sütun hüceyrəsinin bölünməsinin bu forması inkişaf zamanı geniş yayılmışdır. Beləliklə sütun hüceyrələrin mitoz bölünmələri ya sütun hüceyrələrin populyasiyasını genişləndirəcək ya da davamlı şəkildə differensasiya etmiş hüceyrələri istehsal etməklə sütun hüceyrələrin populyasiyasını qoruyub saxlayacaq.



ŞƏKİL 21-11 Sütun hüceyrə differensasiyasının formaları. Sütun hüceyrə bölünməsinin müxtəlif formaları müxtəlif nisbətə sütun hüceyrələri (qırmızı) və differensasiya edən hüceyrələri (yaşıl) istehsal edir. Sütun-hüceyrə bölünməsi üç məqsədə cavab verməlidir: onlar sütun-hüceyrə populyasiyasını qoruyub saxlamalıdır; onlar bəzən sütun-hüceyrələrin sayını artırmalıdır; onlar lazım olan zamanda differensasiya edən hüceyrələri istehsal etməlidirlər. (a) Sütun hüceyrələr bir sütun hüceyrəni və bir differensasiya edən hüceyrəni istehsal etməklə asimmetrik bölünməyə uğraya bilərlər. Bu bölünmə forması sütun hüceyrələrin populyasiyasını genişləndirmir. (b) Bəzi sütun hüceyrələr asimmetrik bölünərək öz populyasiyalarını genişləndirə bilərlər, bu da inkişaf zamanı və ya yaralanmalardan sonra bərpa olunma zamanı əhəmiyyətlidir, eyni zamanda başqaları eyni populyasiyada (a)-da olduğu kimi asimmetrik bölünə bilərlər. (c) Bəzi sütun hüceyrələr (b)-də olduğu kimi bölündükləri halda, başqa sütun hüceyrələr iki differensasiya edən nəsil hüceyrəni əmələ gətirirlər. Bax S. J. Morrison and J. Kimble, 2006, *Nature* **441**:1068–1074.

Müxtəlif Toxumaların Sütun Hüceyrələri Davamlı Şəkildə Nişaları Tuturlar

Sütun hüceyrələr multipotent qalmaq üçün və öz bölünmələrinin forma və zamanını tənzimləmək üçün düzgün mikromühitünü

olmasını tələb edirlər. Sütun hüceyrələr öz sütun-hüceyrə statusunu qoruyub saxlamaq üçün müəyyən transkripsiya faktorları və başqa tənzimləyici zülallar kimi *daxili* tənzimləyici siqnallardan başqa, onları əhatə edən hüceyrələrin *xarici* hormonal və başqa tənzimləyici siqnallarını da istifadə edirlər. Sütun hüceyrə müqəddaratının qorunub saxlanıla biləcəyi yer müəyyən bir orqanizmin mövcudluğunu və rəqabət üstünlüyünü təmin edən yerləşdiyi *ekoloji nişaya* uyğun olaraq *sütun-hüceyrə nişası* adlanır. Nişa tərəfindən təmin edilən daxili və xarici tənzimləmənin düzgün kombinasiyası sütun hüceyrələrin populyasiyasını yaradacaq və saxlayacaq.

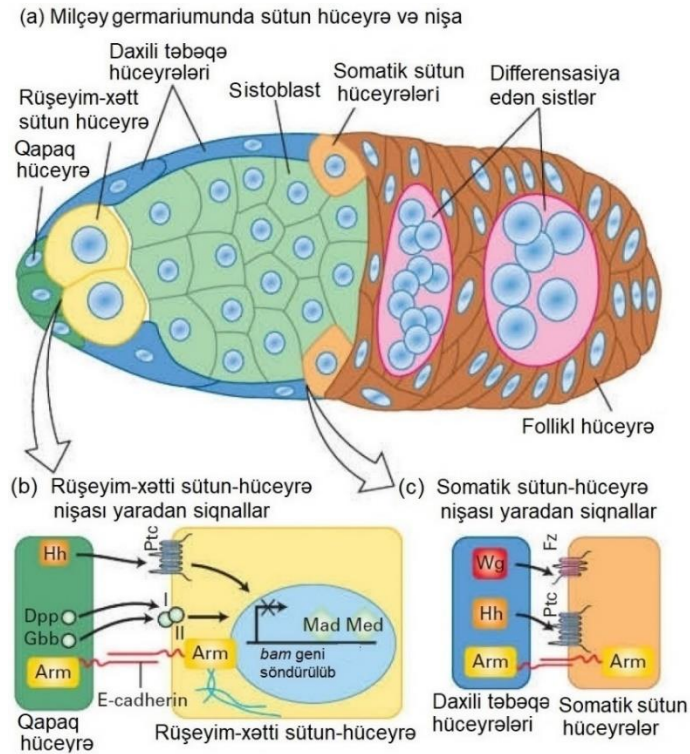
Sütun hüceyrələri tədqiq etmək və ya istifadə etmək üçün biz onu tapmalı və xarakterizə etməliyik. Çox zaman sütun hüceyrələri tapıb düzgün təsvir etmək çətin olur, onlar hüceyrələr arasında çox seyrək olurlar və əsasən fərqli formaya malik olurlar. Əksər sütun hüceyrələr bölünmələr də çox nadir hallarda bölünürlər, yalnız yeni hüceyrələr lazım olarkən stimullaşana qədər bölünmürlər. Məsələn, kifayət qədər oksigen təminatının olmaması qan sütun hüceyrələrini bölünmə üçün stimullaşdırır, dəridə yaralanma isə sütun hüceyrələrin fəallaşdırılması ilə regenerativ hüceyrə bölünməsinə stimullaşdırır. Bəzi sütun hüceyrələr, o cümlədən davam edən şəkildə bağırsaqda epitelini qırıb atanlar, bir qayda olaraq davamlı şəkildə aşağı sürətlə bölünürlər. Bu bölmənin qalan hissəsində biz diqqətimizi bitkilərdəki və heyvanlardakı yaxşı xarakterizə olunmuş dörd tip sütun hüceyrələrə yönəldəcəyik; gələcək illərdə başqa tip sütun hüceyrələr də böyük dəqiqliklə anlaşılacaqdır.

Rüşeyim-xətli Sütun Hüceyrələr Sperma və Yumurtanı Yaradır

Rüşeyim (döl)-xətli yumurta və spermanı istehsal edən hüceyrə xəttidir. O bütün başqa toxumaları əmələ gətirən somatik hüceyrələrdən fərqlənir, amma nəsilə ötürülmür. Rüşeyim xətti somatik-hüceyrə xətti kimi, sütun hüceyrələrlə başlayır, amma bu hüceyrələr unipotentdirlər, yalnız rüşeyim hüceyrələrini əmələ gətirirlər. Sütun-hüceyrə nişaları *Drosophila* və *C. elegans*-da rüşeyim-xətli sütun hüceyrələrin (GSC) tədqiq olunması zamanı yetkin milçəklərdə və qurdlarda xüsusən yaxşı identifikasiya olunmuşdur.

Milçəklərdə, oosit sələfin əmələ gəldiyi və differensasiya etməyə başladığı nişa yumurtalıqda yumurtanın formalaşdığı bir hissə olan *germarium* ucunun yaxınlığında yerləşir (Şəkil 21-12a). Bu yerdə TGF- β ailəsindən iki zülalı, Dpp və Gbb, habelə Hedgehog (Hh) zülallarını ifraz etməklə nişa yaradan bir neçə qapaq hüceyrəsinin yanında iki və ya üç sütun hüceyrəsi vardır (Şəkil 21-12b). (Bu ifraz olunan zülal siqnallar Fəsil 16-da verilmişdir.) Qapaq hüceyrələr nişanı yaradır ona görə ki, onların göndərdiyi TGF- β -sınıf zülalları qonşuluqda olan rüşeyim-xətli sütun hüceyrələrində əsas differensasiya faktorlarının, *Mərmər kisəsi* (*Bag of marbles* - *BAM*) zülallarının transkripsiyasını repressiya edir. *Bam* genin repressiyası rüşeyim-xətli sütun hüceyrələrinə onların özünü-yeniləmə bölünmələrinə getməsinə imkan verdiyi halda, *bam* genin fəallaşması differensasiyanı gücləndirir. Rüşeyim-xətli sütun hüceyrələri bölünəndə əmələ gələn qız hüceyrələrdən biri qapaq hüceyrələrə bitişik vəziyyətdə qalır, ona görə də valideyin hüceyrəyə oxşar olan sütun hüceyrə kimi saxlanılır. Digər qız

hüceyrə qapaq-hüceyrə ilə-törənən siqnalları Dpp və Gbb-ni ala bilmək üçün qapaq hüceyrələrdən çox uzaqda olur. Nəticədə Bam ekspressiyası işə düşür və bu, qız hüceyrənin differensiasiya proqramına qoşulmasına səbəb olur. İştirak edən siqnallar qismən *Drosophila* genetikasının güc vasitəsi ilə identifikasiya edilmişdir: Dpp və Gbb reseptorlarında və ya aşağıya istiqamətdə siqnal ötürən zülallarda qüsurlu olan mutant rüşeyim-xətti sütun hüceyrələr yetişmədən itirilir. Əksinə, qapaq hüceyrələr vasitəsilə Dpp-nin ekspressiyası rüşeyim-xətti-sütun hüceyrələrin differensiasiyasına mane olur və şışəbənzer hüceyrə kütləsinin yaranmasına səbəb olur.



Bağırsağ Sütun Hüceyrələri Fasiləsiz Şəkildə Bağırsağ Epitelinin Bütün Hüceyrələrini Yaradırlar

Nazik barsağın epitelı örtüyü bir hüceyrə qalınlıqdadır (bax Şəkil 20-11) və dörd tip differensiasiya olunmuş hüceyrədən təşkil olunmuşdur. Daha zəngin olan epitelı hüceyrələri adsorsiyaedici enterositlər yaşamaq üçün vacib qida maddələrini bağırsağ lümenindən qana daşıyırlar (bax Şəkil 11-30). Bağırsağ epitelisi yetkin məməlilərdə daha sürətlə özünü-yeniləyən toxumadır, hər beş gündən bir tam yenilmə baş verir, insanda hər gün ümumi çəkisi təxminən 1 qrama qədər olan 300000000 bağırsağ epitelı hüceyrəsi iririlir.

Bağırsağ epitelisinin hüceyrələri davam edən (fasiləsiz) şəkildə bağırsağ divarının dərinliklərində *kriptlər* adlanan çuxurlarda yerləşən sütun-hüceyrə populyasiyalarından regenerasiya olunur (Şəkil 21-13). Radioaktiv nişəlanmış timidindən istifadə edərək aparılan puls-izləmə eksperimentləri göstərdi ki, bağırsağ sütun hüceyrələri sələf hüceyrələri istehsal edirlər, onlar isə daha sürətlə bölünürlər və sonra differensiasiya edərək səth təbəqəsini əmələ gətirmək üçün kriptlərin qırağına

çıxıb *xov* (*villi*) adlanan barmaq şəkilli bağırsağ çıxıntılarını əmələ gətirirlər, bu çıxıntılardan bağırsağ sorulmaları baş verir. Kriptlərdə hüceyrənin yaranmasından xovun ucunda ölmüş hüceyrələrin itirilməsinə qədər olan zaman yalnız 3-5 günə qədər olur (Şəkil 21-14). Yeni hüceyrələrin istehsalı dəqiq şəkildə nəzarət olunur: həddən az bölünmə xovun yox olmasına və bağırsağ səthinin qırılmasına səbəb olacaq, həddən artıq bölünmə həddən artıq böyük epitelinin yaranmasına və ola bilsin xərcəngin yaranmasına doğru addımın atılmasına səbəb olacaq.

ŞƏKİL 21-12 *Drosophila* germariumu. (a) Germariumun eninə kəsiyi dişi fərdin rüşeyim-xətti sütun hüceyrəsini (sarı) və öz nişəsində yerləşmiş bəzi somatik sütun hüceyrələri (qızıl) və onlardan törənmiş nəsil hüceyrələri göstərir. Rüşeyim-xətti sütun hüceyrələr sistoblastları (yaşıl) əmələ gətirir, onlar da dörd dəfə mitoz bölünməyə gedərək öz aralarında birləşmiş 16 hüceyrəni yaradır, bunlardan biri oositi əmələ gətirir. Somatik sütun hüceyrələr gələcəkdə yumurta qabığını əmələ gətirən follikul hüceyrələri yaradırlar (qonur). Qapaq hüceyrələr (tünd yaşıl) rüşeyim-xətti sütun hüceyrələr üçün nişanı yaradaraq onu qoruyub saxlayırlar, daxili örtük təbəqə hüceyrələri (mavi) isə somatik sütun hüceyrələri üçün nişanı yaradırlar. (b) Rüşeyim-xətti sütun hüceyrələrin xassələrini nizamlayan siqnal yolları. Siqnal molekullarının – TGF- β -ailəsi zülalları Dpp və Gbb, eləcə də hedgehog (Hh) – qapaq hüceyrələrdə istehsal olunurlar. Bu liqandların rüşeyim-xətti sütun hüceyrələrdə reseptorlara, müvafiq olaraq I və II TGF- β və Ptc reseptorlara birləşməsi, *bam* genin iki transkripsiya faktoru, Mad və Med ilə repressiyasına səbəb olur. *bam* geninin repressiyası rüşeyim-xətti sütun hüceyrələrinə özünü yeniləməyə imkan verir, halbuki *bam* genin fəallaşması differensiasiyayı gücləndirir. Transmembran hüceyrə-ədgəziyə zülalı E-kadherin rüşeyim-xətti sütun hüceyrələrlə qapaq hüceyrələr arasında homotipik yapışqan (adherent) qovşaqları əmələ gətirir. Milçəyin β -katenini Arm (Armadillo) E-kadherinin sitoplazmatik quyruğunu aktin sitoskeletə birləşdirir. Həm E-kadherin həm də Arm sütun-hüceyrə nişasının saxlanması üçün çox vacibdir. (c) Somatik sütun hüceyrələrin xassələrini nizamlayan siqnal yolları. Wnt siqnal Wingless (Wg) daxili örtük təbəqə hüceyrələr tərəfindən istehsal olunur və somatik hüceyrələrin səthindəki Frizzled reseptorlar (Fz) tərəfindən qəbul olunur. Hh oxşar şəkildə istehsal olunur və Ptc reseptorlar tərəfindən qəbul olunur. Bu siqnalların hər ikisi somatik sütun hüceyrələrin özünü-yeniləməsi ilə nəticələnir. Bax L. Li and T. Xie, 2005, *Annu. Rev. Cell Devel. Biol.* **21**:605və T. Xie, 2013, *WIREs Dev. Biol.* **2**:261.

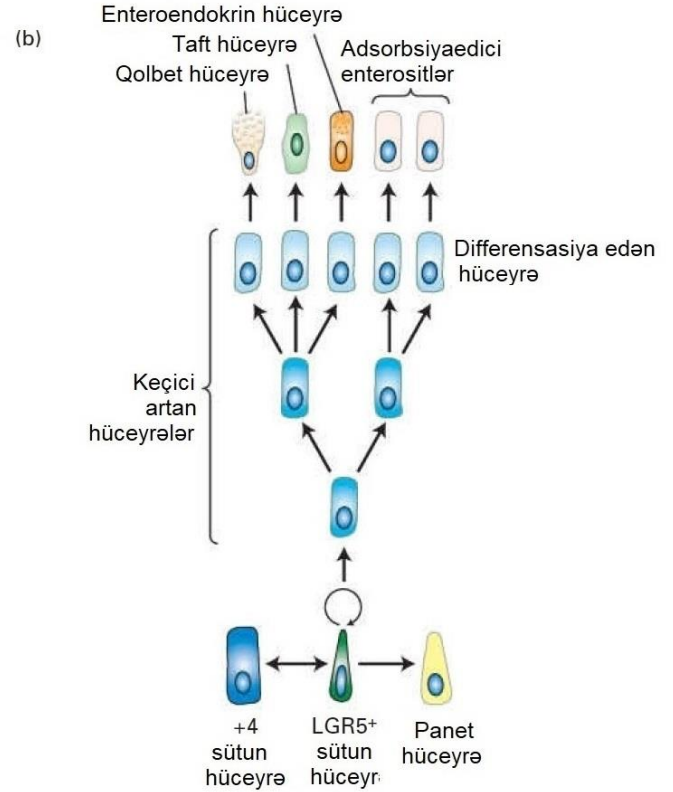
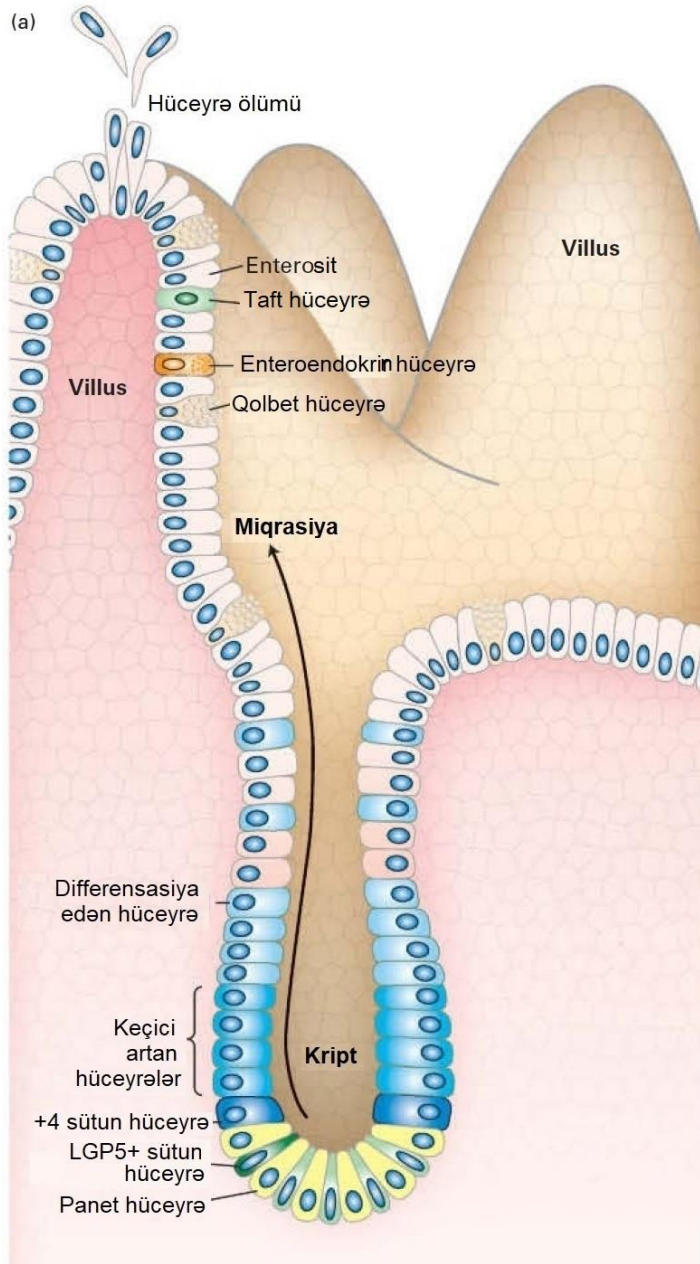
Sütun hüceyrələr nişada transmembran hüceyrə-səth zülalı E-kadherin vasitəsilə saxlanılır (bax Fəsil 20), qapaq hüceyrələrdəki oxşar E-kadherin molekulları ilə homotipik qarşılıqlı əlaqələrə girərək adherant qovşaqları əmələ gətirirlər. Bu adherant qovşaqlar rüşeyim-xətti-sütun hüceyrələrin mitoz şpindelini elə istiqamətləndirir ki, bizim sonra müzakirə edəcəyimiz *Drosophila*-nın başqa bir inkişaf mərhələsində baş verən asimmetrik sütun hüceyrə bölünməsində olduğu kimi (bax Şəkillər 21-30 və 21-31 aşağıda), qız hüceyrələrdən biri qapaq hüceyrələrə birləşmiş şəkildə qalır digərinin isə yeri nişadan dəyişdirilir. Milçəyin β -katenini *Armadillo* (Arm) E-kadherin molekullarının sitoplazmatik quyruğunu aktin sitoskeletə birləşdirir; E-kadherin kimi, Arm da sütun-hüceyrə-nişasının saxlanması üçün vacibdir.

Germariumdakı ayrı-ayrı somatik sütun hüceyrələr yumurta qabığını əmələ gətirən follikul hüceyrələrini yaradır. Somatik sütun hüceyrələrin də, milçəlin Wnt siqnal zülalı

Wingless (Wg) zülalını və Hh zülalını istehsal edən daxili hüceyrə təbəqələri tərəfindən yaradılmış nişası olur (Şəkil 21-12c). Qapaq hüceyrələri tərəfindən istehsal edilən Hedgehog zülalını da roluna bilər. Beləliklə yumurtanın müxtəlif hissələrinin istehsal edilməsində sütun hüceyrələrinin iki müxtəlif populyasiyası sıx əlaqəli şəkildə işləyə bilər.

Şəkil 21-14-də verilmiş eksperimentlər göstərir ki, bağırsağın sütun hüceyrələri haradansa kriptlərin dibinə yaxın,

Panet hüceyrələr adlanan differensasiya etmiş bağırsağ hüceyrələri yaxınlığında yerləşirlər. Amma guman olunan bu sütun hüceyrələr onların diqqət cəlb edən qabiliyyətlərini aşkar edən xüsusi morfoloji xüsusiyyətə malik deyillər, bəzən hansı hüceyrələr əsil bağırsağın sütun hüceyrələridir və hansılar nişanı əmələ gətirən yardımçı hüceyrələridir.



ŞƏKİL 21-13 Bağırsağın sütun hüceyrələri və onların nişası. (a) Bağırsağın kripti və xovlarının sxematik çəkilişi xovda Lgr5-ekspressiya edən (Lgr5⁺) bağırsağın sütun hüceyrələrini (tünd yaşıl), onların mitoz nəslini, transplant amplifikasiya edən hüceyrələri (orta mavi), terminal differensasiya edən hüceyrələri (açıq mavi) və bir neçə tip differensasiya olunmuş hüceyrələri göstərir. Kriptin əsasında sütun-hüceyrə nişasını əsas hissəsini təmin edən və antimikrob müdafiə zülallarını ifraz edən Panes hüceyrələr (sarı) yerləşir. +4

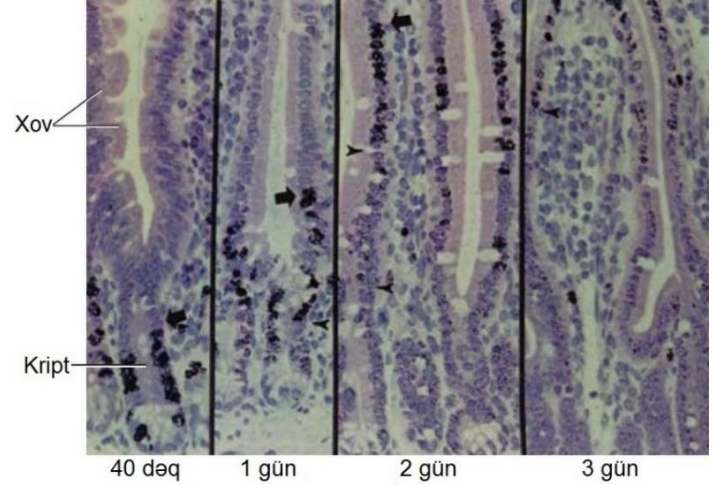
“ehtiyat” sütun hüceyrələr (kript əsasında dördüncü mövqeyi tutur, tünd göy) yaranmadan sonra Lgr5⁺ sütun hüceyrə kompartimentini bərpa edirlər, və bu sütun hüceyrələrdən yarana bilirlər. (b) Kiçik bağırsağda hüceyrə xətləri. Epiteli dövrə etmə (yenidən bərpa) hər 3-5 gündən bir baş verir. Yeni Panet hüceyrələr hər 3-6 həftə ərzində keçici amplifikasiya edən hüceyrələrdən təmin olunurlar. Bax N. Barker, 2014, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15:19.

Əvvəlki genetik eksperimentlər göstərdi ki, Wnt siqnallar bağırsağ sütun hüceyrələrin saxlanması üçün vacibdir. Bu siqnalların əhəmiyyəti barədə sübut kimi fəal β -kateninin (normal halda Wnt siqnal yolu vasitəsilə fəallaşan, bax Şəkil 16-30) bağırsağ hüceyrələrində həddən artıq istehsal olunması bağırsağ epitelisinin həddən artıq proliferasiyasına səbəb olur. Əksinə, mutasiya etməklə və ya Wnt ilə fəallaşan TCF transkripsiya faktorunun ingibirləşməsi ilə β -kateninin blok olunması bağırsağda sütun hüceyrələri yox edir, tədricən bağırsağın degenerasiyasına və sonda ölümə səbəb olur. Beləliklə Wnt siqnalı dəridə, qanda və başqa orqanlarda olduğu kimi, bağırsağ sütun-hüceyrə nişasında da kritik əhəmiyyətli rol oynayır. Həqiqətən də, Wnt siqnal yolunu uyğun olmayan dərəcədə fəallaşdıran mutasiyalar, Fəsil 24-də müzakirə olunduğu kimi, yoğun bağırsağ xərçənginin əmələ gəlməsinin əsas səbəbidir.

Bağırsağda ekspresiyası Wnt siqnalları ilə induksiya olunan genlər panelini analiz etməklə tədqiqatçılar G zülallı-cütləşən reseptoru kodlaşdıran *Lgr5* geni sifra endirdilər, çünki onlar kriplərin tam dibində olan hüceyrələrin çox kiçik dəsti ilə ekspresiya olunurlar. *Lgr5* R-spondinlər adlanan ifraz olunan hormonlar sinifi ilə birləşir və Wnt signalını gücləndirən hüceyrədaxili siqnal yolunu fəallaşdırır. Hüceyrə xətti-izlənməsi tədqiqatları göstərdi ki, *Lgr5*-ekspresiya edən bu hüceyrələrin nəsilləri həqiqətən bütün differensiasiya etmiş bağırsağ epitel hüceyrələrini yaradırlar (Şəkil 21-15). Bu tədqiqatlarda, *Lgr5* promotorun nəzarəti altında yerləşdirilmiş estrogen reseptor (ER)-Cre rekombinazanın ximeri olan Cre rekombinasiya zülalının (bax Şəkil 6-39) bir versiyasının olduğu genetik dəyişdirilmiş siçandan istifadə edilmişdir; beləliklə, ER-Cre rekombinasiya ximeri yalnız ehtimal olunan *Lgr5*-ekspresiya edən çox az sütun hüceyrələrdə kriplərin dibində istehsal olunmuşdu. Tədqiqatda istifadə olunan Cre rekombinazanın versiyası elə dəyişdirilmişdir ki, o sitozolda qeyri fəal vəziyyətdə yerləşmişdir və yalnız estrogen analoq əlavə edildikdən sonra (Şəkil 21-15a) nüvəyə keçirilmişdir. Cre orada DNT seqmentini kəsir, β -qalaktozidaza reporter genin ekspresiyasını fəallaşdırır. Çox əhəmiyyətlidir ki, bu hüceyrələrdən törəmiş bütün nəsillər də β -qalaktozidazanı ekspresiya edəcəklər. Estrogen analoq əlavə edildikdən dərhal sonra, β -qalaktozidazanı ekspresiya edən yalnız kriplərdəki sütun hüceyrələr olur. Amma, bir neçə gündən sonra bütün nəsil epitel hüceyrələr də β -qalaktozidazanı ekspresiya etdilər (Şəkil 21-15b), bu göstərir ki, *Lgr5*-in ekspresiyası həqiqətən də bağırsağ sütun hüceyrələrinin markeridir.

Sonrakı tədqiqatlarda tək *Lgr5*-ekspresiya edən sütun hüceyrələr bağırsağ kriplərindən ayrıldı və normal halda bağırsağ epitelisinin altında yerləşən və ona kömək edən normal matrisa kimi, tərkibində IV tip kollagen və laminin olan hüceyrəxarici matrisada kultura olundu (bax Şəkil 20-23). Bu hüceyrələr, yetkin bağırsağ epitelində tapılmış bütün dörd müxtəlif differensiasiya etmiş hüceyrə tipindən ibarət olan xova-bənzər quruluşları yaratdılar (Şəkil 21-16). Birlikdə, aparılan bu eksperimentlər, *Lgr5* genin ekspresiyasının bağırsağ sütun hüceyrəni təyin etdiyini aşkar etdi və göstərdi ki, bu hüceyrələr bağırsağ kriplərinin əsasında (bazasında) terminal differensiasiya etmiş Panet hüceyrələr arasında yerləşirlər (bax Şəkil 21-13). *Lgr5* ekspresiya edən hüceyrələr həmçinin, kiçik bağırsağ kimi embryonal endodermadan formalaşmış mədədə,

yoğun bağırsağda və mədəaltı vəzidə tapılmışdır və guman olunur ki, onlar bu toxumalar üçün sütun hüceyrələrdir. Həqiqətən də, bu toxumalardan *Lgr5* ekspresiya edən hüceyrələrin Wnt, R-spondin və başqa hormonların iştirakı ilə kultura olunması bu toxumalara xarakterik olan differensiasiya etmiş hüceyrələrə malik olan mini-orqanoidləri yaradırlar.

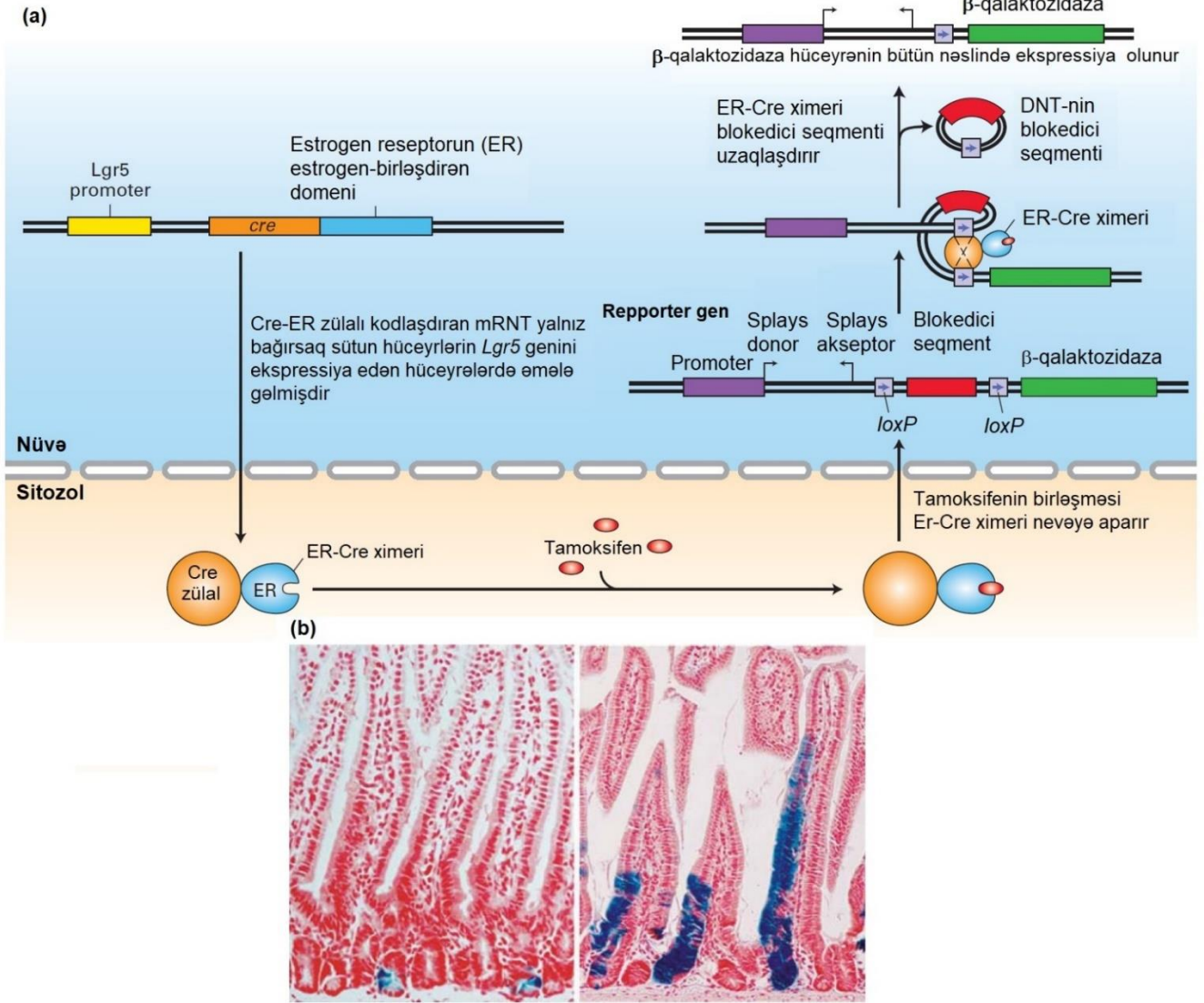


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-14 Sütun hüceyrələrdən bağırsağ epitelisinin regenerasiyası puls-izləmə eksperimentləri ilə nümayiş etdirilə bilər.

Bağırsağ epitel hüceyrələrinin kultura radioaktiv timidinlə əlavə edilməsi (puls) ilə puls-izləmə eksperimentlərinin nəticələri. Bölünən hüceyrələr nişanlanmış timidin özlərinin yeni sintez olunmuş DNT-sinə daxil etdilər. Qısa bir dövrdən sonra nişanlanmış timidin yuyularaq atıldı və nişanlanmamış timidinlə əvəz edildi (izləmə), izləmədən sonra bölünən hüceyrələr nişanlanmış olurlar. Bu mikrofotolar göstərir ki, nişanlamadan 40 dəqiqə sonra bütün nişan hüceyrə daxilində kriplərin əsasında. Sonrakı zamanlar, nişanlanmış hüceyrələr onların kriplərdə yarandıqları nöqtədən progressiv şəkildə uzaqlarda görünür. Bu proses əmin edir ki, bağırsağ epitelisi yeni hüceyrələrlə doldurulur. [John Wiley & Sons, Inc., razılığı ilə Kaur, P. and Potten, C. S., "Cell migration velocities in the crypts of the small intestine after cytotoxic insult are not dependent on mitotic activity," *Cell Tissue Kinet.*, 1986, 6:601–610-dan yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc.vasitəsilə alınmışdır.]

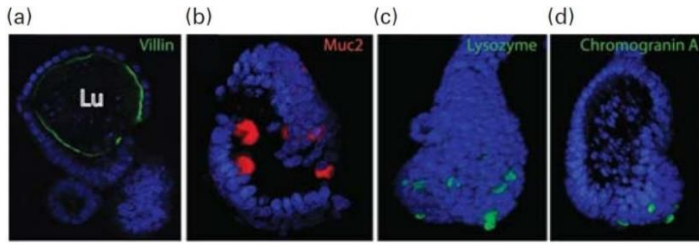
Panet hüceyrələr xov hüceyrələrə nisbətən daha uzun ömürlüdür, onlar bir sıra antibakterial zülalları, o cümlədən bakteriyaların hüceyrə divarını dağıdan və beləliklə bağırsağı yoluxmadan mühafizə edən lizozim fermentini istehsal edirlər. Son zamanların heyətləndirici sübutları göstərdi ki, Panet hüceyrələr bağırsağ sütun hüceyrələrinin nişasının əsas hissəsini təşkil edirlər. Kultura olunan Panet hüceyrələr bağırsağ sütun hüceyrənin qorunub saxlanması üçün Wnt və digər hormonları, məsələn EGF və Delta zülallarını istehsal edirlər (bax Fəsil 16). Bağırsağ sütun hüceyrələri Panet hüceyrələrlə birlikdə kultura olunduqda, bağırsağ xova-bənzər hüceyrələrin formalaşmasını nəzərə çarpacaq dərəcədə yüksəltdi və siçanda Panes hüceyrələrin sayının azalmasına səbəb olan genetik manipulyasiya əlaqəli şəkildə bağırsağ sütun hüceyrələrinin azalmasına da səbəb oldu. Beləliklə, bağırsağ sütun

hüceyrələrinin nəsil hüceyrələri olan Panet hüceyrələr bağırsaq sütun hüceyrələrini saxlamaq üçün nişanın əksər hissəsini, bəlkə də hamısını təşkil edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-15 Hüceyrə törəmə-axtarışı tədqiqatları göstərdi ki, kriptomların əsasında olan *Lgr5* ekspresiya edən hüceyrələr bağırsaq sütun hüceyrələrdirlər. (a) Ekspəriməntin sxemi. Genetik dəyişdirilmiş ES hüceyrələrdən istifadə edərək (bax Şəkil 6-37) tədqiqatçılar Cre rekombinazını kodlaşdıran genin (bax Şəkil 6-39) *Lgr5* promotorunun nəzarəti altında yerləşdirildiyi bir siçan ştammini yaratdılar, beləliklə Cre rekombinaza yalnız *Lgr5* genini ekspresiya edən bağırsaq sütun hüceyrələrində istehsal olundu. Cre rekombinazının bu versiyası estrogen analoqu tamoksifenə birləşən estrogen reseptorunun (ER) əlavə bir domeninə malikdir; estrogen reseptor və başqa nüvə reseptorları kimi (bax Şəkil 9-45), ER-Dre ximeri tamoksifen əlavə edilənə qədər sitozolda qalır. Tamoksifenin iştirakı ilə ER-Cre nüvə daxilinə keçir və burada o xromosom DNT-sinin *loxP* saytı ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir. Siçanın ikinci reporter ştammi iki *loxP* saytıdan sonra gələn repartiyor bakteriyal β -qalaktosidaza geninə malikdir. Bu iki *loxP* saytları arasında DNT-nin blokedici seqmenti β -qalaktosidaza geninin ekspresiyasına mane olur və β -qalaktosidaza geni yalnız Cre fəal rekombinazının iki *loxP* saytları arasındakı ardıcılığa keçdiyi

hüceyrələrdə ekspresiya oluna bilər. İki siçan ştammi cütləşdirildi və hər iki markerə malik olan yeni nəsil transgenlər identifikasiya olundu. Bu siçanlarda β -qalaktosidaza yalnız *Lgr5*-ilə nəzarət olunan ER-Cre geni ekspresiya olunmuş hüceyrələrdə və yalnız estrogen analoqu tamoksifen siçana verildikdən sonra ekspresiya olundu. Beləliklə, yalnız *Lgr5* ekspresiya edən hüceyrələr və onların bütün nəsil hüceyrələri β -qalaktosidaza genini ekspresiya etməlidirlər. (b) Ekspəriməntin nəticələri. Tamoksifen bu siçanlara verildikdən bir gün sonra, yalnız β -qalaktosidaza genini ekspresiya edən hüceyrələr (mavi histokimyəvi rəngləmə ilə göstərilir) kriptomların əsasında *Lgr5*-ekspresiya edən bağırsaq sütun hüceyrələri olmuşdur (*solda*). Tamoksifen yeridildikdən (təbiiqədən) beş gün sonra, bağırsaq sütun hüceyrələrinin epitelial nəsli hüceyrələri olan əlavə mavi hüceyrələrin xovun yuxarısına miqrasiya etdiyi göründü. Bəzi mavi sütun hüceyrələr kriptomun dibində qaldılar. [(b) hissəsi Macmillan Publishers Ltd. Razılığı ilə Barner N. et al., "Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5*," *Nature*, 2007, **449**, 1003–1007-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center Inc. vasitəsi ilə alınır]



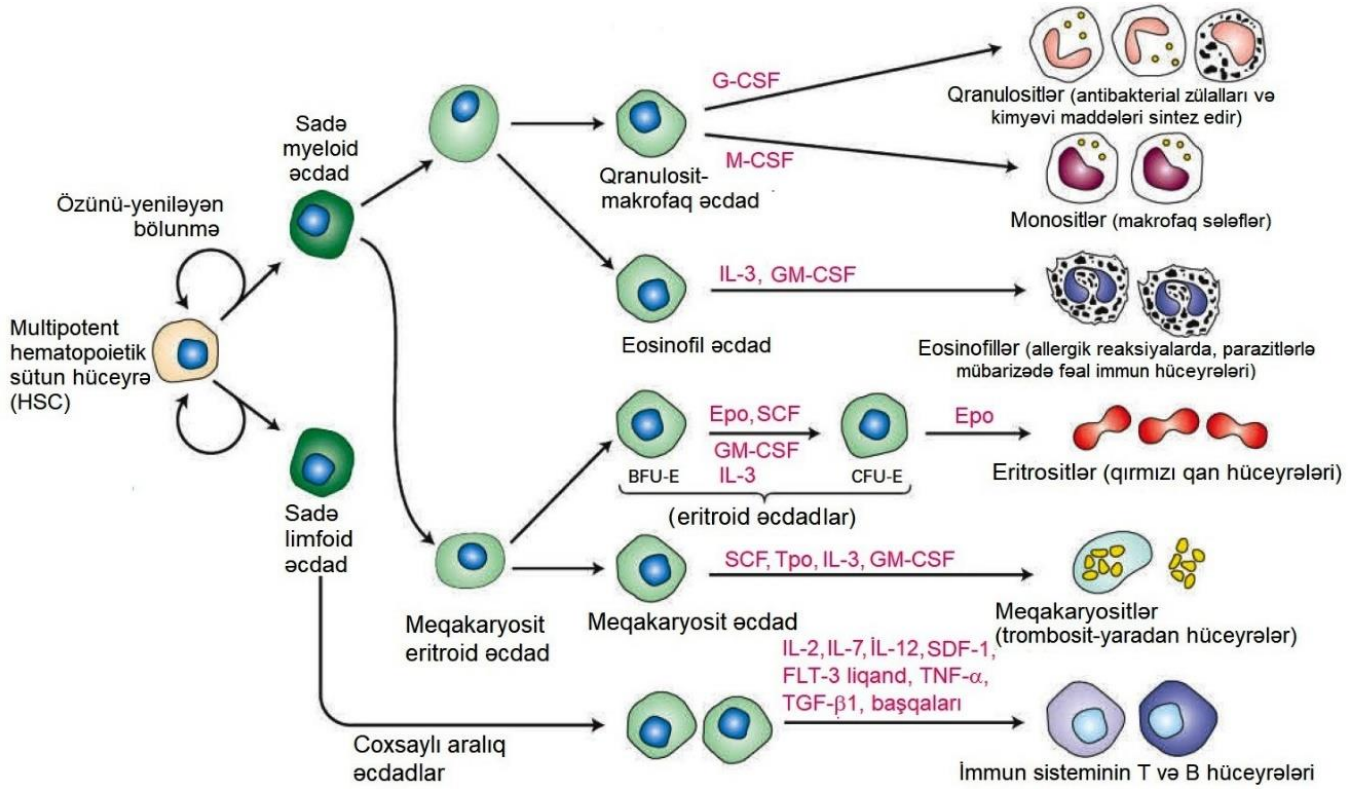
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-16 Tək *Lgr5*-ekspressiya edən bağırsaq sütun hüceyrələri kulturada niş hüceyrələr olmadan kript-xov quruluşu yaradırlar. (a) Bağırsaq kriptlərindən ayrılmiş tək *Lgr5*-ekspressiya edən hüceyrələr, normal halda epiteli hüceyrələrinin təbəqəsi altında yerləşərək onu saxlayan matrisa tipi olan IV tip hüceyrəxarici matrisada kulturaya keçirildi (bax Şəkil 20-23). İki həftədən sonra bu kulturalar xov quruluşu oxşayan epiteli təbəqəni əmələ gətirdilər. Bu orqanoidlərin marker zülallara spesifik rənglənməsi göstərdi ki, onlar bütün dörd tip differensiasiya etmiş epiteli hüceyrələrinə malikdirlər: (a) Xov (yaşıl), bu orqanoidin apikal səthinə (luminal, Lu) yaxın yerləşən adsorbsiya edici enterositlər üçün marker zülaldır; (b) Muc2 (qırmızı) qöblət hüceyrələr üçün; (c) Lizozim (yaşıl) Panet hüceyrələr üçün; (d) xromoqranin A (yaşıl) enteroendokrin hüceyrələr üçün. Nüvəni aşkar etmək üçün orqanoidləri DAPI ilə (mavi) də rənglənməlidir. [Macmillan Publishers Ltd. razılığı ilə Sato, T., et al., "Single *Lgr5* stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche," *Nature*, 2009, **459**(7244):262–5-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center Inc. vasitəsi ilə alınır]

Lgr5-ekspressiya edən hüceyrələr bağırsaq sütun hüceyrələrinin yeganə tipi ola bilməz. Sübutlar göstərir ki, kriptlərdə yerləşən +4 hüceyrələr kimi adlandırılanlar (bax Şəkil 21-13a) ola bilsin ki, "ehtiyat sütun hüceyrə"lərdir, məsələn radiasiya kimi bağırsaq yaralanmalarından sonra, onlar *Lgr5*-ekspressiya edən sütun hüceyrələrini yarada bilərlər. Öz növbəsində, bu +4 hüceyrələr *Lgr5*-ekspressiya edən sütun hüceyrələrdən yarana bilərlər (bax Şəkil 21-13b). Yada salaq ki, müvəqqəti amplifikasiya olunan hüceyrələrin özünü-yenilmə potensialı məhddür (bax Şəkil 21-10). Bağırsaq yaralanması müddətində, çox sayda *Lgr5*-ekspressiya edən hüceyrələr itiriləndə keçici amplifikasiya edən hüceyrələrin bəziləri *Wnt* siqnalının təsiri ilə "differensiasiya edərək" *Lgr5*-ekspressiya edən sütun hüceyrələrə çevrilir və Panet-hüceyrə nişasına yerləşirlər. Beləliklə, differensiasiya etmiş hüceyrələrin sütun hüceyrələrə çevrilməsi, iPS hüceyrələrin əmələ gəlməsi zamanı görüldüyü kimi, normal halda stress və ya yaralanma dövründə bəzəndə baş verə bilər. Beləliklə, görünür bağırsaq tək bir sütun hüceyrədən-differensiasiya etmiş hüceyrə xəttindənsə (bax Şəkil 21-13b) ehtiyat sütun-hüceyrə populyasiyasının bir neçə mənbəyindən istifadə edə bilər. Şübhəsiz, gələcək işlər bu hüceyrələrin bağırsaq epiteli hüceyrələrinin yaranmasındakı rolunu aydınlaşdıracaq.

Hematopoietik Sütun Hüceyrələr Qan Hüceyrələrini Yaradır

Fasiləsiz davamlı şəkildə yenilənən digər toxuma qandır, onun sütun hüceyrəsi embryonda qaraciyərdə, yetkin heyvanlarda isə sümük iliyində yerləşir. Müxtəlif tipli qan hüceyrələri tək bir tip multipotent, özünü-yeniləyən *hematopoietik sütun hüceyrədən* (*HSC*) törəyirlər. *HSC* iki başqa multipotent hüceyrə tipinin, müqəddarına görə daha məhdud olan, amma məhdud şəkildə özünü-yenilməyə qabil olan ümumi myeloid və ümumi limfoid əcdad hüceyrələrin yaranmasına başlanğıc verir (Şəkil 21-17). Sitokinlər adlanan çoxsaylı hüceyrəxarici boy faktorları *HSC*-nin özünü-yeniləyən bölünməsinə və eləcə də müxtəlif qan-hüceyrə xətlərinin sələf hüceyrələrinin proliferasiyasını və differensiasiyasını tənzimləyir. Əgər bütün qan hüceyrə tipləri lazımdırsa, məsələn yaralanma qanaxmasından sonra, çoxsaylı sitokinlər istehsal oluna bilər. Əgər yalnız bir tip hüceyrə lazımdırsa, spesifik siqnallar onların istehsalına nəzarət edir. Məsələn, insan çox yüksəkliklərdə səyahət edərsə böyrək tərəfindən eritropoietin istehsal edilir və CFU-E (eritroid əcdad) hüceyrələrin proliferasiyasını və differensiasiyasını stimullaşdırır, amma başqa tip qan-əcdad hüceyrələrinin proliferasiyasını və differensiasiyasını stimullaşdırmır. Eritropoietin bir sıra müxtəlif siqnal yollarını fəalləşdirir və eritrositlərin formalaşmasını həyata keçirən gen ekspressiyasında dəyişilmələrə səbəb olur (bax Şəkil 16-7 və 16-8). Buna oxşar olaraq, başqa bir sitokin G-CSF qranulosit-makrofaq əcdadların proliferasiyasını və qranulositlərə differensiasiyasını stimullaşdırır, amma eyni zamanda M-CSF eyni əcdad hüceyrə tiplərindən makrofaqların istehsalını stimullaşdırır.

Hematopoietik sütun hüceyrələri ilk dəfə hematopoietik sütun və əcdad hüceyrələrinin şüalandırma ilə məhv edilmiş siçanlarda sümük iliği transplantasiyası eksperimentləri zamanı aşkar edilmişdir (Şəkil 21-18). Spesifik tip hematopoietik sələflərin bu siçanlara transplantasiya olunması ilə və hansı qan hüceyrələrinin bərpa olunduğunu müşahidə etməklə tədqiqatçılar xüsusi bir sələf tipindən hansı sələflərin və ya sonda differensiasiya etmiş hüceyrələrin (məsələn, eritrositlərin, monositlərin) əmələ gəldiyini aşkar etmişlər. İlk mərhələ müxtəlif tipli sələflərin ayrılması olmuşdur. *HSC*-lər və hər bir sələf tipi hüceyrə-spesifik marker kimi istifadə oluna bilən hüceyrə-səth zülallarının unikal kombinasiyasını istehsal ediyindən bu çeşidləmə mümkün olmuşdur. Əgər sümük iliyinin ekstraktı bu markerlərin fluoroxrom-nişanlanmış anticismləri ilə işlənilərsə hüceyrələr fluoressensiya ilə fəallaşmış hüceyrə çeşidləməsi (FACS, bax Şəkil 4-2 və 4-3) ilə ayrılabilir. Maraqlıdır ki, belə transplantasiya eksperimentləri aşkar etdi ki, letal şüalandırılmış və bütün *HSC*-ləri məhv edilmiş siçana tək bir *HSC* keçiriləndə o bütün qan sistemini bərpa etmək üçün kifayət edir. Transplantasiyadan sonra, *HSC* sümük iliyində nişada məskunlaşır və bölünərək daha çox *HSC*-ləri və eləcə də qan-hüceyrəsi xətlərinin əcdadlarını əmələ gətirir.



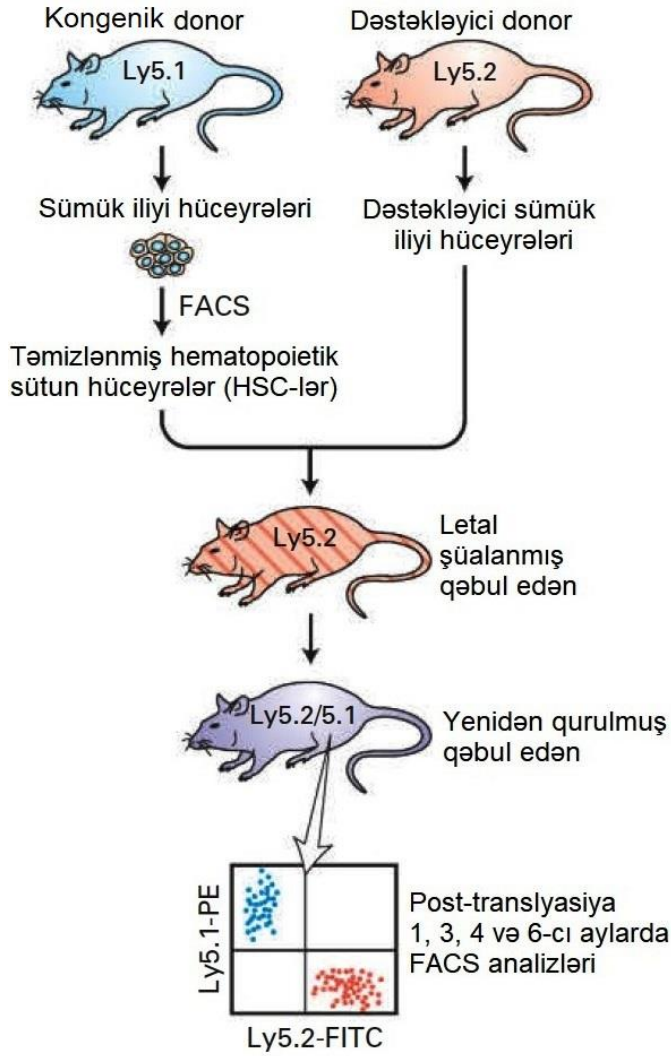
ŞƏKİL 21-17 Sümük iliyində hematopoietik sütun hüceyrələrdən qan hüceyrələrinin əmələ gəlməsi. Multipotent hematopoietik sütun hüceyrələr simmetrik bölünərək sütun hüceyrələrin sayını artırma bilirlər. Yetkin orqanizmlərdə onlar əsasən asimmetrik bölünərək valideyin hüceyrə kimi multipotent olan bir qız hüceyrəni və daha məhdud müqəddarata malik olan başqa bir qız hüceyrəni əmələ gətirirlər. Sonda bu qız hüceyrə ya ümumi limfoid nəsil hüceyrəsini, ya da ümumi myeloid nəsil hüceyrəsini əmələ gətirir, hərçənd ki, bu multipotent hüceyrələr məhdud özünü-yeniləmə qabiliyyətinə malikdirlər, onlar iki əsas hematopoietik hüceyrə xətlərindən biri üçün yaranmışlar. Mövcud olan sitokinlərin tipindən və miqdarından asılı

olaraq ümumi limfoid və ümumi myeloid əcdadlar sürətli hüceyrə bölünməsinə keçirlər və müxtəlif tipli əcdad hüceyrələri (açıq yaşıl) əmələ gətirirlər. Bu əcdadlar bir neçə tip və ya yalnız bir tip differensasiya etmiş qan hüceyrələrini əmələ gətirdiklərinə görə onlar müvafiq olaraq ya multipotentdirlər ya da unipotentdirlər, onlar bir və ya bir neçə spesifik sitokinə cavab verirlər. Bu proseslərə kömək edən bəzi sitokinlər göstərilir (çəhrayı etiketlər). CSF = koloniya-stimullaşdıran faktor; IL = interleykin; SCF = sütun-hüceyrə faktoru; Epo = eritropoietin; Tpo = trombopoietin. Bax M. Socolovsky et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**:6573, and N. Noverstern et al., 2011, *Cell* **144**:296.

Insanlarda ilk uğurlu sümük iliği transplantasiyası 1959-cu ildə son-mərhələ (fatal) leykomiya xəstəsində şüalandırılaraq onun xərçəng hüceyrələrini və eyni zamanda onun normal HSC hüceyrələrini məhv edən zaman aparılmışdır. Onun identik əkiz bacısından ona sümük iliği köçürülmüşdür, o bu yolla immün cavabından yayılmış və üç ay remissiya vəziyyətində olmuşdur. 1990-cı ildə Tibb üzrə Nobel mükafatı ilə təltif olunan bu ilk pioner cəhd çox hallarda bu xərçəngin tam sağlması ilə nəticələnən müasir-dövrəki müalicənin əsasını qoymuşdur. Transplantasiya olunmuş sümük iliğindəki sütun hüceyrələr bütün tip funksional qan hüceyrələrini yarada bilir, beləliklə transplantlar bir sıra irsi qan xəstəliyi olan xəstələr üçün, o cümlədən çox genetik anemiyalar (qırmızı qan hüceyrələrinin miqdarının kifayət qədər olmaması) və ya qan hüceyrələrində genetik qüsurlar olan, məsələn oraqvari hüceyrələrin xəstəliyi (hemoqlobin xəstəliyi) kimi xəstələr üçün, eləcədə həm sümük iliğini həm də xərçəng hüceyrələrini məhv edən radioşüalanma və ya kimyəvi terapiya alan xərçəng xəstələri üçün faydalıdır. ■

Embryonal həyat dövründə HSC-lər çox zaman simmetrik bölünərək iki qız sütun hüceyrəni yaradırlar (bax Şəkil 21-11), bu proses müəyyən vaxtda sütun hüceyrələrin sayının artmasına imkan verir və lazım olan bütün tip qan hüceyrələrinin istehsal olunması üçün tələb olunan böyük miqdarda əcdad hüceyrələrinin yaranmasına imkan verir. Yetkin heyvanlarda, HSC-lər əsasən sükunətdə (susmuş), G_0 vəziyyətində sümük iliğində sütun hüceyrə nişasında "sakitlikdə" olurlar. Daha çox qan hüceyrəsi lazım olanda, sitokinlər yaranaraq HSC-nin bölünməsi üçün siqnal verirlər, valideyin hüceyrələrə bənzər sütun hüceyrəsini istehsal edirlər və Şəkil 21-17-də təsvir edilmiş, əcdad hüceyrələrini yaradan, sürətlə proliferasiya edən keçici (müvəqqəti) amplifikasiya edici hüceyrələri yaradır. Fərdi HSC-lərin simmetrik ya asimmetrik bölünməyə getməsi məlum deyil.

Nadir Hüceyrə Tipləri Hematopoietik Sütun Hüceyrələrin Nişasını Yaradır



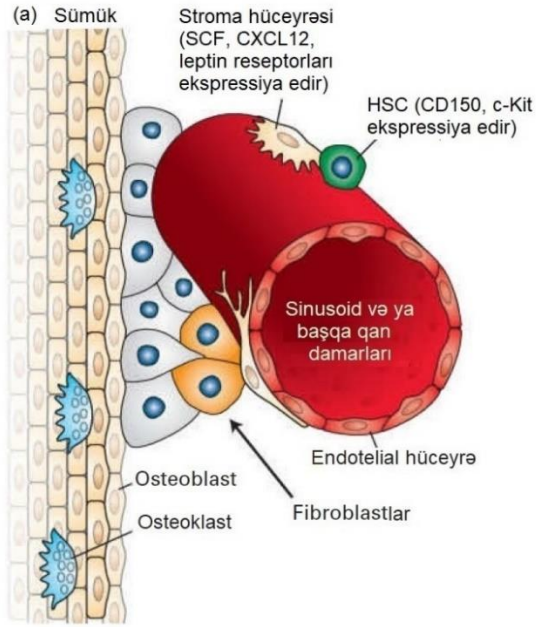
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-18 Hematopoietik sütun hüceyrələrin sümük iliği transplantasiyası ilə funksional analizi. Analizlərdə istifadə olunan iki siçan ştammi nüvəli qan hüceyrələrinin səthlərində tapılmış Ly5 adlanan zülali kodlaşdıran gen istisna olmaqla genetik cəhətdən identikdirlər. Bu genin iki alleli, Ly5.1 və Ly5.2 tərəfindən kodlaşdırılan zülallar xüsusi monoklonal anticismlər vasitəsi ilə aşkar edilə bilər. Qəbul edən (recipient) Ly5.2 siçan HSC-ləri məhv etmək üçün letal şüalandırılır, sonra Ly5.1 ştammindən təmizlənmiş sütun hüceyrə ilə inyeksiya olunur. Sütun hüceyrələrin differensiasiya etmiş qan hüceyrələrini yaratması həftələr və ya aylar müddətinə baş verdiyindən, qəbul edən (recipient) siçan transplantasiyadan birinci bir neçə həftə ərzində yetkin qan hüceyrələrini istehsal edən sümük iliği nəsil hüceyrəsini (dəstəkləyici hüceyrələr adlanan) genetik cəhətdən identik siçandan almaya öləcəkdir. Transplantasiyadan müəyyən vaxt sonra, qan və sümük iliği bərpa olundu və Ly5.1-ə olan fluorescent-mavi monoklonal anticismlə və Ly5.2-ə olan qırmızı fluorescent monoiklonal anticismə reaksiya verdi. Donor sütun hüceyrələrdən törənən yetkin qan hüceyrələri FACS analizləri ilə aşkar edildi, burada qırmızı deyil mavi fluorescent hüceyrələr kimi görünürlər. Sütun hüceyrələr bütün tip limfoid və mieloid hüceyrələri yarada bildiyindən, onların həqiqətən pluripotent olmalarını göstərmək üçün bu hüceyrələri müxtəlif tipli yetkin qan hüceyrələrində tapılmış marker zülallara spesifik olan fluorescent anticismlə çəşidləmək və rəngləmək olar. [Nəzakətə Dr. Chengcheng (Alec) Zhang.]

Bütün sütun hüceyrələr kimi, hematopoietik sütun hüceyrələr nişalarda yerləşirlər. Embryonal inkişafın son dövründə HSC-lər rüşeymin qaraciyərində tapılmışdır, yetkinlərdə isə əsasən sümük iliğinde yerləşmişlər. Amma HSC-lərin və HSC-ləri əhatə edən nişanın hüceyrələrini identifikasiya etmək çox çətin olmuşdur. HSC-lərin sümük iliğinde və ya rüşeyim qara ciyər hüceyrələrində rast gəlmə tezliyi təxminən hər 10^4 hüceyrəyə 1 dənədir. Bundan əlavə, transplantasiya sınaqlarından başqa istənilən metodla HSC-lərin identifikasiyası fərqli olmuşdur, çünki yalnız HSC-lər tərəfindən ekspresiya olunan hüceyrə-səth zülalları yoxdur, ona görə də bu hüceyrələr üçün spesifik markerlər də yoxdur. Çox tədqiqatlar göstərdi ki, HSC-lər CD150 adlanan (naməlum funksiyalı) hüceyrə-səth zülallarını ekspresiya etdiklərindən və başqa tip hematopoietik əcdadlara və differensiasiya etmiş nəsil hüceyrələrinə xarakterik olan, onlarla və ya daha çox "Lin" (Lineage restricted – Hüceyrə-xətti məhdud) zülallarını ekspresiya etmədiklərindən, onlar prospektiv olaraq identifikasiya oluna və təmizlənə bilərlər.

Nişa hüceyrələrini identifikasiya etmək üçün edilən cəhdlər o faktla üzünü qazanmışdır ki, HSC-lər sağ qalmaları üçün sütun hüceyrə faktoru (SCF) adlanan boy faktorunu tələb edirlər; qonşu bitişik siqnal hüceyrəsinin səthinə birləşən bu zülal c-Kit zülal tirozinkinaza reseptorunu HSC-də fəallaşdırır. HSC həmçinin ifraz olunan trombopoietini tələb edir, trombopoietin quruluşuna və funksiyasına görə eritropoietinə və G zülallarla-cütləşən reseptora birləşən və HSC-nin nişada saxlanılması üçün tələb olunan CXCL12-yə oxşar olan trombopoietin reseptoru fəallaşdırır. Rüşeymin qara ciyərində, yalnız qaraciyərin əsas hüceyrə tipi olan hepatositləri yarıdan əcdad hüceyrə bu üç zülal və həmçinin HSC-lərin sağ qalması üçün tələb olunan başqalarını ekspresiya edir. Bu hepatik əcdad hüceyrələrin HSC-lərlə birlikdə kultura olunması HSC sayının artmasına və eləcə də başqa differensiasiya etmiş əcdadın yaranmasına səbəb olmuşdur. Beləliklə, tapılmışdır ki, hepatosit əcdadlar rüşeymin qaraciyərində HSC nişanı yaradan əsas hüceyrədir.

Yetkin orqanizmlərdə, kiçik sayda mezenxima hüceyrələri sümük iliğində keçən, sinusoidlər adlanan kiçik qan damarlarının divarlarını əhatə edir. Stromal hüceyrələr adlanan bu hüceyrələr öz səthlərində SCF-i və leptin sitokin reseptorunu ekspresiya edirlər. Onlar həmçinin külli miqdarda CXCL12-ni sintez edirlər və guman olunur ki, sümük iliğində əsas HSC nişa hüceyrəlidirlər (Şəkil 20-19a). İmmunofluoresensiya analizi göstərdi ki, HSC-lərin 85 faizə yaxını bu stroma hüceyrələri ilə kontaktda olur (Şəkil 21-19b). Sümük iliğində başqa hüceyrələr yəqin ki, sütun hüceyrələrin saxlanılmasına təsir edirlər və ya başqa tip hormonları buraxmaqla nişa fəaliyyətini yerinə yetirirlər.

Siz yəqin qeyd etdiniz ki, sütun hüceyrələrinin bizim müzakirə etdiyimiz bütün molekulyar tənzimləyiciləri sütun-hüceyrə nəzarətində ixtisaslaşmış xüsusi tənzimləyicilər deyil, məlum olan zülallardır (bax Fəsil 15 və 16). Hüceyrənin müqəddaratına və böyüməsinə nəzarət edən hər bir siqnal tipi təkrar-təkrar istifadə olunur. Sütun hüceyrələr, ən azı yarım milliyar yaş oılan qədim siqnal sistemləri ilə tənzimlənirlər, hüceyrələr, toxumalar, orqanlar və heyvanlar kimi meydana gəlmiş yeni istifadəçilər yeni variasiyaları yaradaraq inkişaf etdirmişlər.

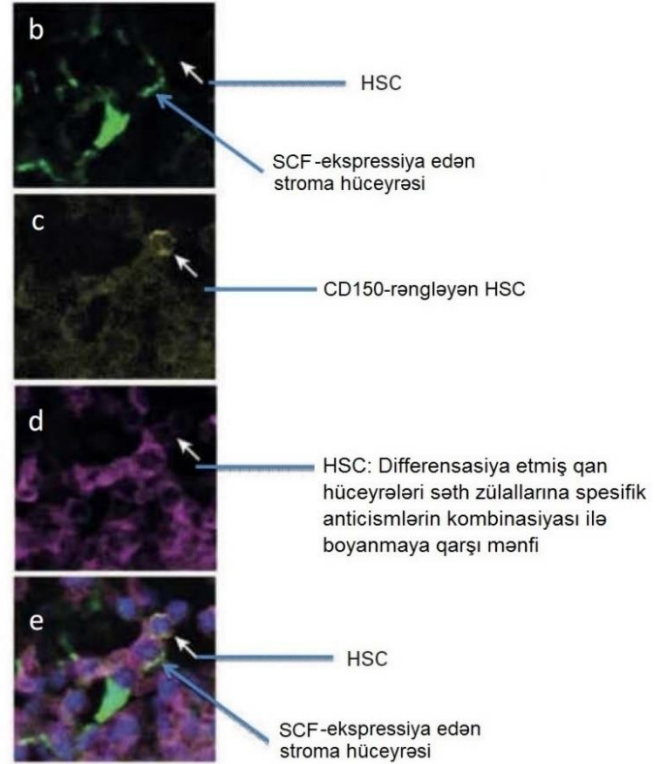


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-19 Sümük iliyində hematopoitik sütun hüceyrə nişası. (a) Sümük iliyi onlarla müxtəlif hüceyrə tipinə, o cümlədən müvafiq olaraq sümüyü quran və dağıdan osteoblastlara və osteoklastlara və eləcə də müxtəlif tipli hematopoitik hüceyrələrə, fibroblastlara və başqa hüceyrə tiplərinə malikdir. HSC nişanın əmələ gəlməsində üstünlük təşkil edən hüceyrələrə çox nadir olan və bu damarlara yapışan, HSC-lərdə c-Kit zülal tirozinkinaza reseptoruna birləşən və onu fəallaşdıran SCF hormonu da daxil olmaqla hüceyrə-səth zülallarının kombinasiyasını ekspressiya edən mezenximal stromal hüceyrələr aiddir. Bu stroma hüceyrələri leptin sitokini üçün reseptoru da ekspressiya edir və HSC-lər üçün kimyəvi cəlbedici (chemoattractant) olan CXCL12-ni ifraz edirlər. Bax S. Morrison and D. Scadden, 2014, *Nature* **505**:327. (b-d) Sümük iliyində HSC-lərin və nişa hüceyrələrinin immunofluoresensiya yolu ilə aşkarlanması göstərir ki, HSC-lər SCF-ekspressiya edən hüceyrələrdən sonra (onun yaxınlığında) yerləşirlər. SCF-ə spesifik anticismlər olmadığından, SCF ekspressiyasını aşkar etmək üçün GFP kDNT-nin SCF gen

Meristemlər Bitki Sütun Hüceyrələrin Nişasıdır



Bitkilərdə, onların çoxhüceyrəli heyvan oxşarlarında olduğu kimi, bütün toxumaların və orqanların istehsalı sütun hüceyrələrinin kiçik populyasiyasına əsaslanır. Heyvanlardakı sütun hüceyrələr kimi, bu sütun hüceyrələr də özlərinin yenidən-əmələgətirmə və müxtəlif toxumaları əmələ gətirən qız hüceyrələri əmələ gətirmə xüsusiyyətləri ilə müəyyən olunurlar. Həmçinin, heyvan hüceyrələrində olduğu kimi, bitki sütun hüceyrələri də xüsusi mikromühitdə, sütun hüceyrələri multipotent vəziyyətdə saxlayan hüceyrəxarici siqnalın istehsal edildiyi sütun hüceyrə nişalarında məskunlaşırlar. Bitkilərin və heyvanların son ümumi əcdadı birhüceyrəli eukariotlar olduğundan, ümumi təşkilolunma prinsiplərinin olmasına baxmayaraq sütun hüceyrələri və onların nişaları müxtəlif siqnal yolları ilə birlikdə ayrı-ayrılıqda müstəqil



lokusuna yerləşdirildi və yalnız normal SCF istehsal olunan hüceyrələrdə ekspressiya olduğu siqnal yaradıldı. Sonra, SCF ekspressiyasını aşkar etmək üçün sümük iliyi kəsikləri fluoressensiya mikroskopunda analiz olundu. (b) HSC-ni aşkar etmək üçün kəsiklər, HSC hüceyrələrdə ekspressiya olunan CD150 zülalına spesifik olan anticismlə rəngləndi (c). Kəsiklər həmçinin müxtəlif tipli qan hüceyrələrində ekspressiya olunan, amma HSC-lərdə ekspressiya olunmayan (e) zülallara spesifik olan anticismlərin toplusu ilə rəngləndi (d). Üç təsvir birləşdirildə, HSC-lər (ağ oxlar) SCF-ekspressiya edən hüceyrələrə yaxın (bitişik) yerləşən stroma hüceyrələrində görünür. [(b-e) hissələri razılaşımaqla Macmillan Publishers Ltd.-dən; Ding, L., "Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells," *Nature*, 2012, **481**(7382):457–62-dən yenidən çap olunur; Razılıq Copyright Clearance Center Inc. vasitəsilə alınmışdır.

yanaraq inkişaf etmişlər və bu *konvergent təkamülün* nümunəsidir.

Bitki sütun hüceyrələrinin yerləşdiyi **meristemlər** adlanan nişalar, iynəyarpaqlı şamlar kimi uzun ömürlü bitki növlərində min illər boyu davamlı şəkildə mövcud ola bilər. Bitkinin bədən oxu embriogeneza zamanı yaranmış iki meristemdən, *gövdnin apikal meristemi* və *kökün apikal meristemindən* əmələ gəlir. Heyvanların inkişafından fərqli olaraq, bitkinin embriogenezi zamanı çox az toxuma tipi yaranır. Öksinə, yarpaqlar, çiçəklər və hətta rüseyim hüceyrələri bitki böyüyüb inkişaf etdikcə fasiləsiz şəkildə yaranırlar. Bitkinin torpağın üstündə olan hissəsi gövdənin apikal meristemindən törəyir, torpağın altında qalan hissəsi isə kökün apikal meristemindən törəyir. Klassik klonlaşdırma analizi eksperimentləri nümayiş etdirdilər ki, bitki hüceyrəsinin taleyi bitki hüceyrə xəttindən deyil, onun yerləşmə mövqeyindən asılıdır. Hüceyrənin identikliyi hormonlar, mobil siqnal

peptidləri və miRNT-lər kimi hüceyrədaxili siqnallarla gücləndirilir. ■

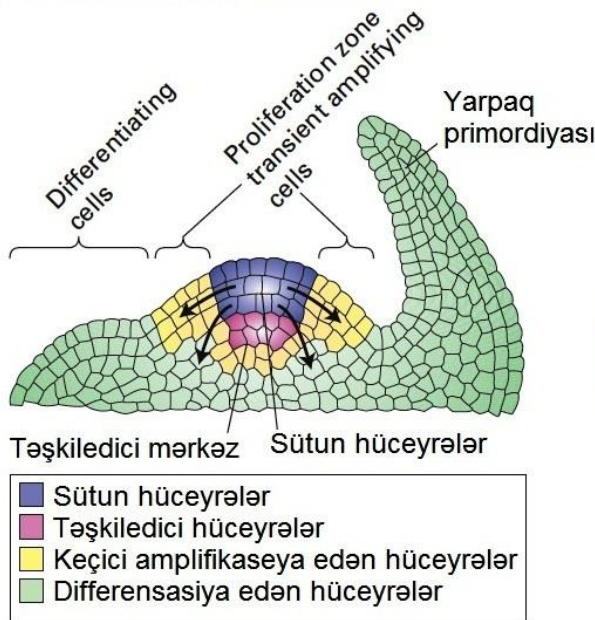
Metazoan heyvanlardakı somatik sütun hüceyrələrdən fərqli olaraq bitkilərdəki somatik sütun hüceyrələr yalnız spesifik toxumaları və ya hüceyrə xəttini deyil tam orqanları əmələ gətirə bilirlər. Yavaş-yavaş bölünən pluripotent süytun hüceyrələr gövdənin apikal meristeminin yuxarı ucunda yerləşir, daha sürətlə bölünən, multipotent keçici amplifikasiya edən qız sütun hüceyrələri periferiyada yerləşirlər. Gövdənin sütun hüceyrələrinin əmələ gətirdiyi nəsil hüceyrələr (törəmələri) meristemin periferiyalarına keçirilirlər və yarpaq və budaqlar kimi yeni orqanların əmələ gəlməsi zamanı primordiyaların yaranması üçün səfərbər olunurlar. Hüceyrələr xüsusi hüceyrə tipinin xüsusiyyətini alan kimi bölünmə dayanır və orqanların əsas böyüməsi hüceyrənin genişlənməsi və uzanması hesabına baş verir (Şəkil 21-20a). Yeni gövdə-sütun hüceyrə nişası yarpaq primordiyası qoltuğunda formalaşır və sonra böyüyərək yan (lateral) budaqları əmələ gətirirlər. Floral meristemlər çiçəyin əsasını təşkil edən dörd çiçək orqanlarının – kasayarpağının, erkəkciyin, dişiciyin və çiçək ləçəklərinin yaranmasına başlanğıc verir. Gövdənin apikal meristemindən fərqli olaraq, floral meristemlər çiçək orqanlarını yaratdıqdan sonra sərf olunub (tükənib) qurtarırlar.

Mənfi Geriyə Əlaqə Gövdənin Apikal Sütun-Hüceyrə Populyasiyasını Saxlayır

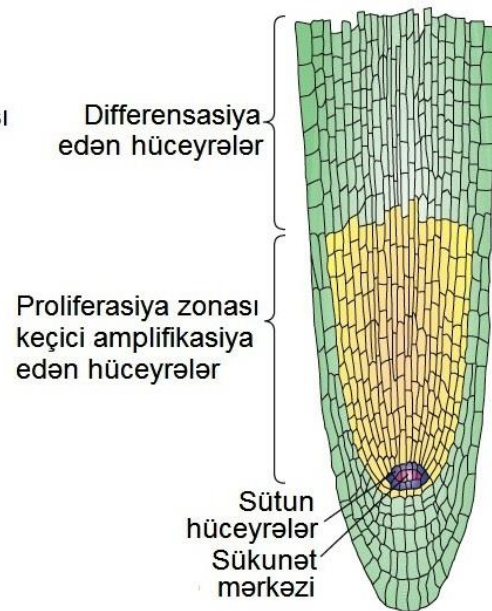


Sütun hüceyrələrin identikliyi, qorunub saxlanması və hüceyrə differensiasiyası üçün tələb olunan genlər xardal ailəsinə aid olan əlaqə otu *Arabidopsis thaliana*-nın (bax Şəkil 1-22h) daha böyük, kiçik və yenilənməyən mutantlarının genetik skriniyi ilə, həmçinin ayrılmış meristem-hüceyrə populyasiyasının daha yeni gen ekspressiya profili tədqiqatları yolu ilə müəyyən edilmişdir. Gövdənin uc (apikal) meristeminin bir determinantı, homeodomen transkripsiya faktorunu kodlaşdıran *WUSCHEL* (*WUS*) adlanan gendir (bax Fəsil 9). *WUS* sütun hüceyrə populyasiyasının saxlanması üçün tələb olunur, amma o sütun hüceyrələrin altında yerləşən köməkçi hüceyrələrdə ekspressiya olunur. Bu hüceyrələrin hamısı bitikdə *təşkiledici mərkəz* adlanır və metazoanlardakı niş hüceyrələrinə analojidir (bax Şəkil 21-20a). *WUS* mRNT və zülal *təşkiledici mərkəzin* hüceyrələrində sintez olunduğundan, bir sıra eksperimentlər göstərdi ki, *WUS* *təşkiledici hüceyrələrdən*, yəqin ki, plazmodesmataların öz aralarında birləşməsi (bax Şəkil 20-41) yolu ilə sütun hüceyrələrə keçir. Aparılan bir tədqiqatda, *WUS*-GFP qovşaq zülal *WUS*-mənfi *Arabidopsis* bir kisində ekspressiya olunanda, o mutant fenotipdən xilas ola bilmişdir. Sonra aparılan mikroskopik analizlər göstərdi ki, *WUS*-GFP qovşaq zülal sütun hüceyrələrdə toplanmışdır, bu göstərir ki, o *təşkiledici hüceyrələrdən* sütun hüceyrələrə keçmişdir.

(a) Gövdənin apikal meristemi



(b) Kökün apikal meristemi

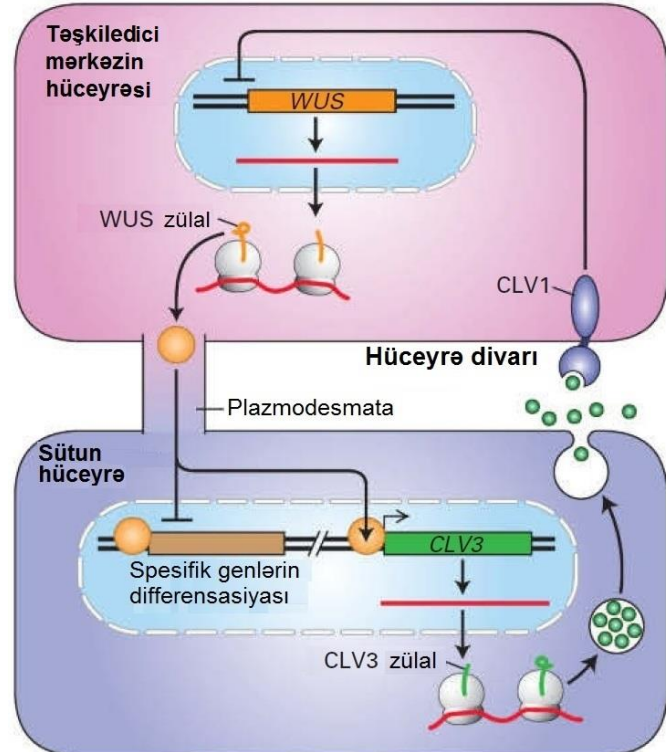


Şəkil 21-20 *Arabidopsis thaliana* gövdə və kök meristem hüceyrələrinin quruluşu. (a) Gövdənin ucunda apikal meristemin eninə kəsiyi. Təşkiledici mərkəzin hüceyrələri onların üstündə yerləşən sütun hüceyrələrin qorunub saxlanması üçün siqnal verirlər. Sütun hüceyrələr qara oxlar istiqamətində bölünərək qız hüceyrələri, sürətlə bölünərək keçici amplifikasiya edən hüceyrələri əmələ gətirirlər, onlar isə sonda differensiasiya edərək bütöv bir orqanı, məsələn yarpağı əmələ gətirirlər. (b) Kök meristeminin eninə kəsiyi. Sütun hüceyrələri mitotik cəhətdən daha az fəal olan susmuş mərkəzi,

sütun hüceyrələrin differensiasiya etməsinə mane olmaq üçün siqnal verən dörd hüceyrəni əhatə edirlər. Hər bir sütun hüceyrə asimmetrik bölünür: bir qız hüceyrə susan mərkəzə bitişik vəziyyətdə qalır və sütun hüceyrəyə çevrilir (özünü yeniləmə), digər qız hüceyrə isə keçici amplifikasiya edən hüceyrəyə çevrilir və hüceyrə tsiklindən çıxmaqdan öncə bir neçə dəfə bölünür, uzanaraq xüsusi differensiasiya olunmuş vəziyyəti alır. Bax R. Heidstra and S. Sabatini, 2014, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 15:301.

Sütun hüceyrələrdə WUS genomda çox saylara birləşdikdən sonra, o differensasiya etmiş hüceyrələrdə ekspressiya edən böyük sayda genlərin, o cümlədən yarpağın formalaşması üçün differensasiyanı-gücləndirən transkripsiya faktorlarının ekspressiyasını repressiya edir. WUS həmçinin sütun hüceyrələrdə *CLAVATA3*-ün (*CLV3*) ekspressiyasını birbaşa fəallaşdırır. *CLV3* kiçik ifraz oilunan peptidi kodlaşdırır və bu peptid təşkeledici mərkəzin hüceyrələrinin səthində olan *CLV1* reseptora birləşir və WUS ekspressiyasını mənfi tənzimləyən hüceyrəxarici siqnalı yaradır. WUS-un superekspressiyası diferensasiya olunmuş hüceyrələrin istehsalı hesabına meristem sütun hüceyrə populyasiyasının geniş yayılmasına səbəb olur. Beləliklə transkripsiya faktoru, WUS, siqnal peptidi və *CLV3* arasında mənfi geriye əlaqə sütun hüceyrə populyasiyasının ölçüsünü, bölünən qız hüceyrələrin sayını bitkinin bütün həyatı boyu qoruyub saxlayır (Şəkil 21-21).

Bir sıra başqa transkripsiya tənzimləyici zülalları, o cümlədən insanın retinablastoma (Rb) şiş repressor zülalının (bax Fəsil 24) RBR adlanan bitki analoqu həm gövdənin həm də kökün meristem hüceyrələrinin normal funksiyası üçün vacibdir. Heyvan hüceyrələrində olduğu kimi, RBR E2F transkripsiya faktoruna birləşərək onun fəaliyyətini ingibirləşdirir, RBR-ın E2F-dən buraxılması və ya RBR-ın genetik yox edilməsi E2F faktorunun hüceyrə tsiklinə və hüceyrə bölünməsinə daxil olmasını (bax Şəkil 19-12b) həyata keçirən çox genlərin transkripsiyasını təşviq etməsinə imkan verir. RBR-ın səviyyəsinin azalması sütun-hüceyrələrin sayının artmasına səbəb olur, RBR-ın səviyyəsinin artması isə sütun hüceyrələrin differensasiyasına səbəb olur, bu müşahidələrin hər ikisi RBR-ın sütun hüceyrələrin saxlanılmasında olan mühüm rolunu göstərir.



Kökün meristemi Quruluşuna və Funksiyasına Göre Gövdə Meristemine Oxsayır



Gövdə meristemindən fərqli olaraq, kök meristemi hüceyrə xəttinə görə məhdudlaşan sütun-hüceyrələrə malikdir. Bu hüceyrələr, dörd çox yavaş bölünən hüceyrənin nişə kimi fəaliyyət göstərdiyi *sükunət mərkəzi* ətrafında təşkil olunmuşlar (Şəkil 21-20b). Sütun hüceyrələrinin bölünməsi (həm də gövdədə olanlardan fərqli olaraq) asimmetrikdir və *sükunət mərkəzi* ilə əlaqəni itirmiş qız hüceyrə bir neçə dəfə də bölünərək, sonra differensasiya edir. WUS homoloqu olan *WOX5* *sükunət mərkəzində* ekspressiya olunur və sütun hüceyrələrin saxlanılması üçün tələb olunur, hərçənd ki, burada başqa transkripsiya faktorları da vacibdir. Bitki hormonu auksin (indolil-3-asetat turşusu) bitkinin böyüməsində və differensasiya prosesində iştirak edir, o xüsusən də kök meristem nişasının yaranması üçün çox vacibdir. Əgər *sükunət mərkəzi* kəsilib atılarsa, yeni nişə auksinin toplanıb qatıldığı nahiyədə yaranacaqdır. Amma, auksinin sütun hüceyrəyə təsiri spesifik hüceyrə tipindən asılıdır. Məsələn, kök qapağını əmələ gətirən sütun hüceyrələrdə auksin auksina-cavab verən transkripsiya faktorları vasitəsilə *WOX5*-i repressiya etməklə hüceyrə bölünməsinə təşviq edir.

Bitkilər təcübləndirici dərəcədə regenerasiya etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Bağdakı bağban yarpağın və ya cavan gövdənin kəsildikdən sonra stəkandakı suda və gün düşən pəncərədə azaca əyilməklə kök əmələ gətirmə qabiliyyəti ilə yaxşı tanışdır. İyirminci əsirin ortalarında aparılmış eksperimentlər nümayiş etdirdi ki, yerkökünün kökündən ayrılaraq tək bir hüceyrə qida maddələrinin və bitki hormonlarının müvafiq qatışıqından ibarət olan mühitə yerləşdiriləndə tam bitkini əmələ gətirə bildi. O vaxtdan sonra, heyvanlarla bitkilər arasında ən çox sitat gətirilən fərq ondan ibarət oldu ki, bitkilər totipotentdirlər. Amma bu gün, bizim differensasiya etmiş heyvan hüceyrələrindən iPS hüceyrələri yarada bilmək qabiliyyətimiz, eləcə də daha son zamanların bitki regenerasiyasına töhfə verən hüceyrələrin diqqətlə aparılmış analizləri göstərdilər ki, regenerasiya olunan toxumalar differensasiya olunma prosesi vasitəsi ilə deyil sütun hüceyrələrin artıq mövcud olan populyasiyasından meydana gəlir, ona görə bu fərqlilik artıq mənasını itirmiş olur.

ŞƏKİL 21-21 Arabidopsis-də gövdənin meristem sütun hüceyrə nişasının tənzimləyici şəbəkəsi. Transkripsiya faktoru WUS (narıncı dairələr) təşkeledici-mərkəz hüceyrələrində sintez olunur və plazmodesmatalar vasitəsilə sütun hüceyrələrə keçir, burada onun funksiyalarından biri *CLV3* hormonunun (yaşıl dairələr) ekspressiyasını induksiya etməkdir. İfraz olunan *CLV3* zülalı təşkeledici-mərkəz hüceyrələrinin səthindəki *CLV1* reseptor protein kinaza olan *CLV1*-ə birləşir, burada o, WUS transkripsiyasını repressiya edən siqnalı fəallaşdırır. Bax E. Aichinger et al., 2014, *Annu. Rev. Plant Biol.* 63:615, and R. Heidstra and S. Sabatini, 2014, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15:301.

21.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə Sütun Hüceyrələr və Nişə

- Planari kəsilməklə ayrılmış bədən hissəsinin regenerasiyası üçün əhəmiyyətli olan cNeoblastlar adlanan pluripotent sütun hüceyrələrə malikdir.
- Rüşeytim-xətti unipotent sütun hüceyrələr istisna olmaqla heyvanlardakı əksər sütun hüceyrələr multipotentdirlər.
- Sütun hüceyrələr differensasiya etməmiş olurlar, onlar simmetrik və ya özünü yeniləyən asimmetrik hüceyrə bölünməsinə uğraya bilirlər, beləliklə onların sayı sabit qalır və ya orqanizmin həyatı müddəti boyu artır (bax Şəkil 21-11).
- Sütun hüceyrələr differensasiya etməmiş sütun hüceyrə populyasiyalarının saxlanması üçün siqnalı təmin edən nişada formalaşırlar. Nişa sütun hüceyrələrin artıq dərəcədə proliferasiyasına imkan vermədən və onların differensasiyasını blok edərək onları qoruyub saxlamalıdır.
- Nişada fəaliyyət göstərən xüsusi nəzarət vasitəsilə sütun hüceyrələrin differensasiya etmələrinə mane olunur. Wnt siqnal yolunun komponenti β -kateninin yüksək səviyyəsi sütun hüceyrələrin rüşeyim xəttində və bağırsaqda qorunub saxlanılmasında hüceyrələrin differensasiya vəziyyətinə təsir etməklə deyil onları özünü-yeniləmə bölünməsinə yönəltməklə iştirak edir.
- *Drosophila* germariumunda çox az hüceyrə rüşeyim-sütun hüceyrə nişasını əmələ gətirir, siqnalı birbaşa yaxındakı sütun hüceyrəyə yollayır. Nişa hüceyrələrdən çıxarılmış qız hüceyrələr proliferasiyaya və rüşeyim xətti hüceyrələrinə differensasiyaya uğrayırlar (bax Şəkil 21-12).
- Bağırsaq epitelisi ilə və digər çox toxumalarla bağlı olan sütun hüceyrələrin populyasiyaları zədələnmiş, kəsilmiş və ya qocalmış hüceyrələri əvəz etmək üçün differensasiya etmiş toxuma hüceyrələrini əmələ gətirirlər (bax Şəkil 21-13).
- Bağırsaq sütun hüceyrələri bağırsaq yarıqlarının (kriptlərin) əsasında nişanın bir hissəsini təşkil edən Pannet hüceyrələrə yaxın məskunlaşırlar və Lgr5 reseptorun ekspressiyası ilə nəzərə çarpırlar (bax 21-13).
- Qan hüceyrə-xəttində müxtəlif sitokinlərin nəzarəti altında müxtəlif sələf tipləri əmələ gəlir və proliferasiya edirlər (bax Şəkil 21-17). Bu sistem orqanizmə ona lazım olan bütün qan hüceyrə tiplərinin əksəriyyətinin və ya hamısının xüsusi olaraq yeniləşdirilməsini induksiya etməsinə imkan verir.
- Hematopoietik sütun hüceyrələr sümük iliği transplantasiya eksperimentləri ilə aşkar oluna və miqdarı təyin edilə bilər (bax Şəkil 21-18), onların nişa hüceyrələri isə marker səth zülallar vasitəsi ilə aşkar edilə bilər (bax Şəkil 21-19).
- Bitki sütun hüceyrələri bitkinin bütün həyatı boyu meristemlərdə mövcud olur. Meristem hüceyrələri böyük müxtəliflikdə hüceyrə tiplərini və quruluşların yaranmasına səbəb olur (bax Şəkil 21-20).
- WUS transkripsiya faktorunun iştirak etdiyi əks (mənfi) geriye əlaqə gövdənin apikal sütun-hüceyrə populyasiyasının ölçüsünü qoruyub saxlayır.

21.4 Hüceyrə Polyarlığının Mexanizmləri və Assimmetrik Hüceyrə Bölünməsi

Biz inkişafın gedişi müddətində hüceyrə müxtəlifliyinin yaradılmasında və sütun hüceyrələrin sayının populyasiyada

saxlanılmasında asimmetrik hüceyrə bölünməsinin əhəmiyyətini müzakirə etdik. Hüceyrənin müxtəlif müqəddarlı hüceyrələri yaratmaq üçün hüceyrə-bölünməsindən öncə asimmetrik olmaq qabiliyyətinin əsasında hansı mexanizm durur? Hüceyrə asimmetriyası bizim əvəllər *hüceyrə polyarlığı* altında rast gəldiyimiz konsepsiyadır, ona görə də əvvəlcə hüceyrə polyarlaşmasının nə olduğuna baxaq.

Hüceyrənin polyarlığı – onun hüceyrə formasının dəyişməsi ilə və müxtəlif lipid və zülal tərkibli plazma membranı rayonlarının əmələ gəlməsi ilə nəticələnən öz daxili quruluşunu təşkil etmək qabiliyyəti bir neçə fəsilə təqdim edilmişdir. Məsələn, biz gördük ki, polyarlaşmış bağırsaq epitelisi hüceyrələri bazolateral domendən sıx qovşaqlarla ayrılmış mikrovillərlə zəngin olan apikal domenə malikdirlər (bax Şəkil 17-1 və 20-11). Epitelial daşınma bu hüceyrələrin apikal və bazolateral membranında başqa nəqliyyat zülallarının (bax Şəkil 11-30) olmasını tələb edir. Az sonra bu fəsilə biz görəcəyik ki, bu epitelisi hüceyrələri onların polyarlaşması barədə təlimat verən hüceyrəxarici siqnallara necə cavab verirlər. Bu hüceyrələr hüceyrə polyarlığının yalnız bir nümunəsini təmsil edirlər, əslində heyvanların bütün hüceyrələri polyarlaşırlar və biz əsas mexanizmlərin müəyyən edildiyi bir neçə nümunəni müzakirə edirik. Birincisi, hüceyrələr *daxili polyarlıq proqramına* malikdirlər, bu onların xarici siqnallar olmadan çox gözəl polyarlaşmaq qabiliyyətindən görünür. Biz öz nümunələrimizdə görəcəyik ki, bu proqramın əsas və ümumi tənzimləyicisi kiçik GTP-aza Cdc42-dir. İkincisi, bu daxili polyarlıq proqramı daxili və xarici *siqnallar* vasitəsilə idarə oluna bilər. Üçüncüsü, fərdi hüceyrələrin polyarlığı tez-tez hallarda hüceyrədaxili *qarşılıqlı antoqonistik komplekslər* vasitəsilə saxlanılır. Biz ilk növbədə mayada aşkar olunmuş prinsiplərin qorunub saxlanılması ehtimalını nəzərə almaqla, tumurcuqlayan mayada daxili polyarlaşma proqramını müzakirə edirik, çünki, bu mexanizmin bütün komponentləri heyvanlardakı ilə oxşardır. Sonra müzakirələrimizi hüceyrələrin antoqonist qarşılıqlı təsirlərdən asılı olan hüceyrə polyarlığını yaratmaq üçün xarici təsirlərə cavab verdiyi nümunələrə yönəldirik. Nəhayət sonda, qız sütun hüceyrənin və differensasiya etmiş hüceyrənin yaranmasına səbəb olan asimmetrik hüceyrə bölünməsi nümunəsini müzakirə edirik.

Daxili Polyarlıq Proqramı Cdc42-nin Daxil Olduğu Müsbət Geriyə Əlaqədən Asılıdır

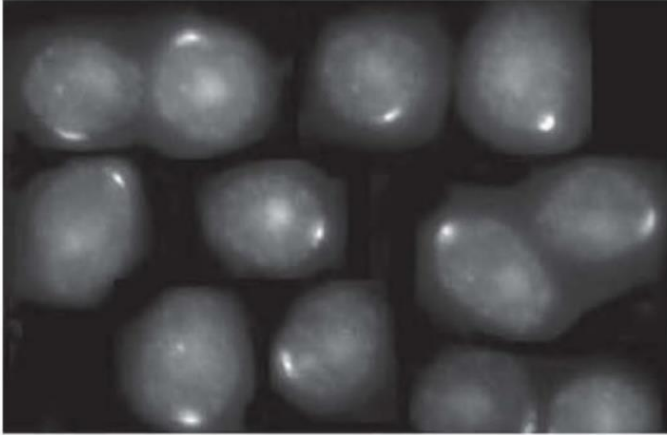
Tumurcuqlayan maya öz səthində yeni tumurcuğun yarandığı tək bir mərkəzi (saytı) seçməklə böyüyür (bax Şəkil 19-3). Əhəmiyyətlidir ki, yalnız bir saytrın seçilməsi etibarlıdır. Əgər hüceyrədə iki tumurcuq eyni zamanda yaranardısı, təsəvvür edin mitoz zamanı nə baş verərdi: ikilənmiş xromosomlar valideyin hüceyrə ilə tumurcuğun biri arasında seqreasiya edəcəkdir, digər tumurcuq isə xromosomsuz qalardı, ona görə də yaşaya bilməzdi. Haploid mayada, qeyri-adi adlandırılan bu tumurcuqlama hüceyrə səthində qalan, və yeni tumurcuqlama hadisəsini əvvəlki tumurcuqlama saytına yaxın yerləşən sayta yönəldən siqnal və ya təsirlə idarə olunur. Maraqlıdır ki, əgər bu təsirin vacib olmayan komponentlərini müəyyənləşdirən genlər silinirsə maya hüceyrələri yenə də yaxşı böyüyürlər, amma hər biri təsadüfi saytdan yalnız tək bir tumurcuğu əmələ gətirir. Bu nəticə aşkar etdi ki, maya daxili polyarlıq proqramına malikdir,

həttə əvvəlki tumurcuqlama tsiklindən qalma təsirlər olmadıqda belə tumurcuğun böyüməsi üçün tək bir saytın seçilməsini idarə edə bilər. Bu proqram tumurcuq əmələ gələn saytda Cdc42-nin artmış qatılığını tələb edir.

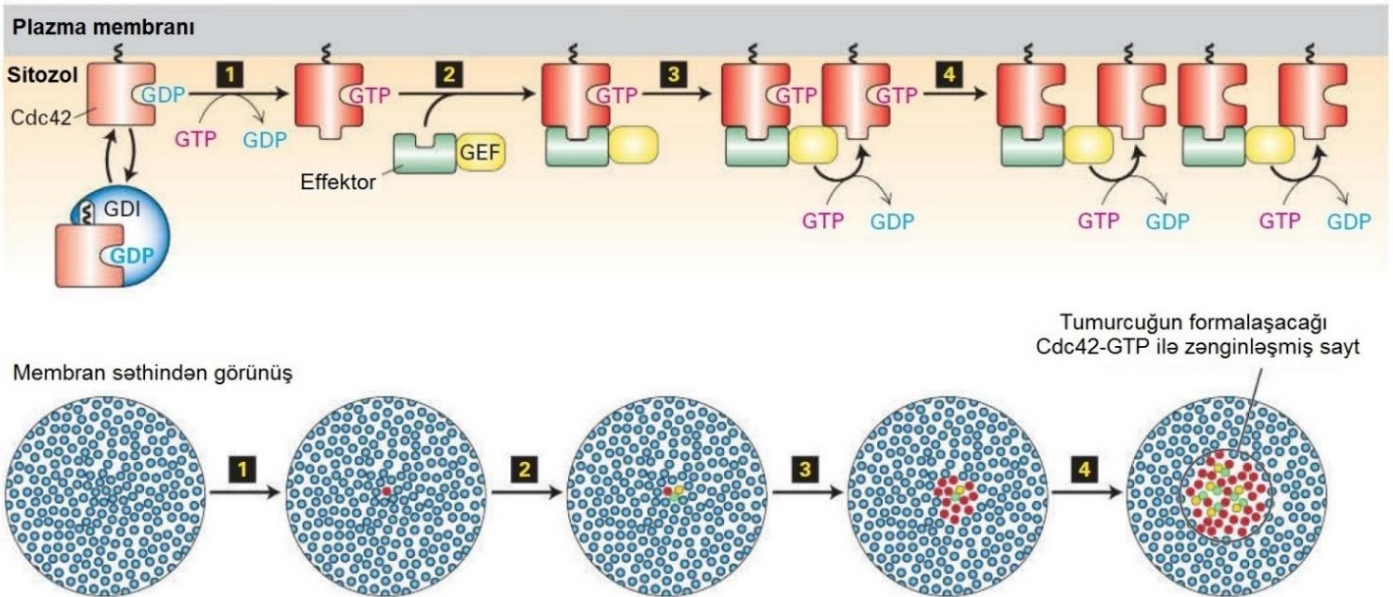
Təccüblüdür ki, yeni tumurcuq əmələ gələn saytda Cdc42 qatılığı nə aktin filamentlərdən nə də mikroborucuqlardan asılı deyildir, çünki bu kiçik GTPaza, hər iki filament sistemi qırıldıqda belə tək bir nöqtəyə lokalizasiya olunur (Şəkil 21-

22a). Bioloqların bunun necə baş verməsi barədə düşündüyündən uzun müddət öncə, çox gözəl riyaziyyatçı və kompüter elminin pioneri Alan Tyuring polyarlıq faktorunun vahid paylanması hansı mexanizmlə bir saytdakı qatılığa keçirilə biləcəyi barədə düşündü. 1952-ci ildə, Tyuring belə bir fikir irəli sürdü ki, belə sürüşmə yalnız müsbət geriə əlaqə reaksiyası polyarlıq faktorunun qatılığının təsadüfi artmasını amplifikasiya etdikdə mümkündür və belə bir fikirlə o haqqılı idi.

(a)



(b) Hüceyrə xarici

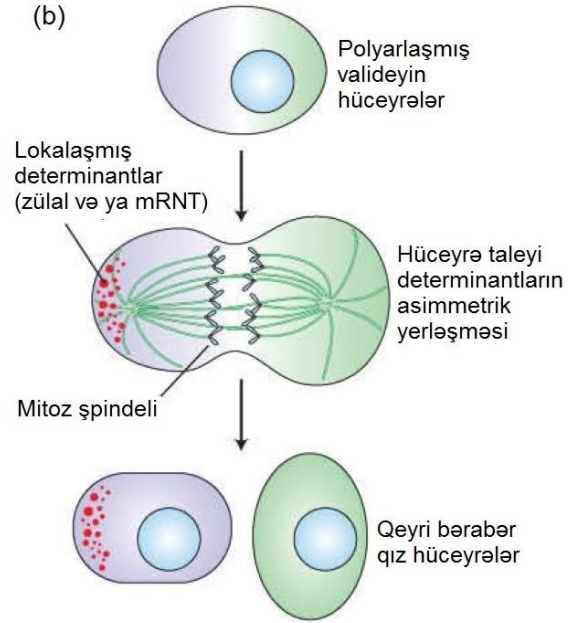
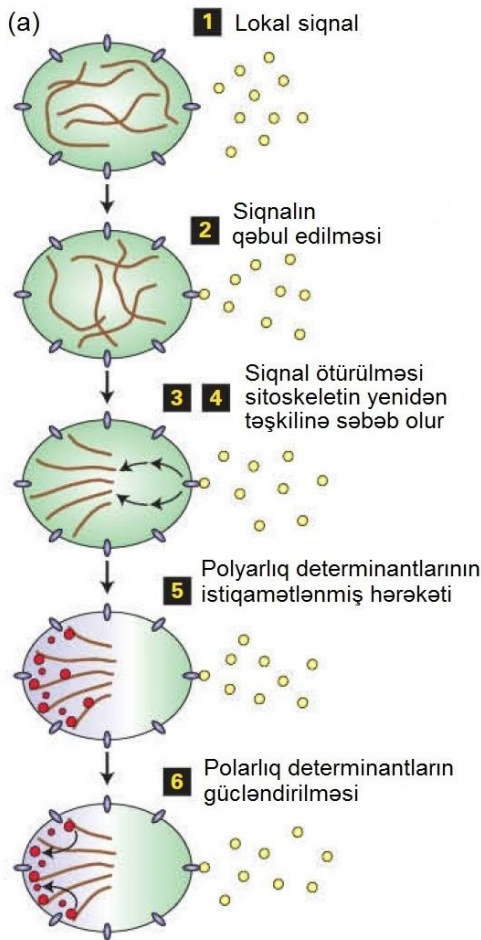


ŞƏKİL 21-22 Tumurcuqlayan mayanın daxili polyarlıq proqramına Cdc42 GTPazanının müsbət geriə əlaqə ilgəyi daxildir. (a) Burada immunoflüoressensiya mikroskopiyaya ilə vizuallaşdırılmış polyarlıqını itirmiş diploid maya təxminən tumurcuq əmələ gətirdikləri zaman polyarlaşmış Cdc42-ni göstərir. Cdc42-nin polyarlaşmasının aktin filamentləri və mikroborucuqlardan asılı olmamasını göstərmək üçün bu sitoskeletləri dağıtmaq məqsədilə hüceyrələr dərmanla işlənmişdir. (b) Cdc42-nin fəallaşması üçün müsbət geriə əlaqə ilgəyi. Qeyri fəal Cdc42-GDP qanin nukleotidi dissosiasiyası ingibitoru (GDI) komplekslərin sitozol toplusu (pool) ilə membrana birləşmiş toplu arasında tarazlıqdadır. Pilla 1: Membranla

assosiasiyada olan Cdc42-GDP zülallarından biri spontan şəkildə fəallaşmış Cdc42-GTP vəziyyətinə keçə bilər. Pilla 2: Fəal Cdc42-GTP qanin nukleotidi mübadiləsi faktoruna (GEF) malik olan kompleksə səfərbər edir. Pilla 3: Səfərbər olunan GEF indi lokal olaraq dağa çox Cdc42-GDP-ni Cdc42-GTP-yə çevirir. Pilla 4: Fəal Cdc42-GTP daha çox GEF səfərbər edir, beləliklə müsbət geriə əlaqə ilgəyini idarə edir, nəticədə Cdc42-GTP-nin lokal toplanmasına səbəb olur. Bax C.-F. Wu and D. Lew, 2013, *Trends Cell Biol.* 23:476. [(a) hissəsi Macmillan Publishers Ltd. razılığı ilə Irazoqui, J. E., "Scaffold-mediated symmetry breaking by Cdc42p," *Nat. Cell Biology*, 5(12)1062-70(2003) yenidən çap edilmişdir.]

Yada salaq ki, Cdc42 kiçik GTP-birləşdirən zülalların Rho ailəsinin nümayəndəsidir (bax Şəkil 17-41). O, qeyri fəal (Cdc42·GDP) və fəal (Cdc42·GTP) vəziyyətlərində mövcud olaraq molekulyar keçirici kimi fəaliyyət göstərir. Onun öz spesifik qvanin nukleotidi mübadiləsi faktoruna (Cdc42-GEF) birləşməsi onda GDP-nin buraxılmasına və GTP-nin birləşməsinə səbəb olur. Fəal Cdc42·GTP effektora birləşir və bu yolla siqnal proseslərini aşağıya istiqamətdə fəallaşdırır. Onun qeyri fəal vəziyyəti, Cdc42·GDP qvanin nukleotidi dissosiasiyası inhibitoru (GDI) ilə birləşmiş vəziyyətdə olan sitozol toplusu (pool) ilə membrana birləşmiş Cdc42·GDP toplusu (pool) arasındakı tarazlıq vəziyyətində olur (Şəkil 21-22b). Membrana birləşmiş Cdc42·GDP arabir və nizamsız şəkildə öz GDP-sini buraxır və GTP-ni birləşdirir və fəal

Cdc42·GTP vəziyyətinə çevrilir (Şəkil 21-22b, pillə 1). Cdc42·GTP-yə cəlb olunan effektorlardan biri tərkibində Cdc42-GEF (pillə 2) olan zülal kompleksidir. Beləliklə, fəal Cdc42 plazma membranında yarandıqda, o Cdc42-GEF-i cəlb edir, o isə öz nvbəsinə daha da çox lokal Cdc42-ni fəallaşdırır, sonuncu isə daha çox Cdc42-GEF cəlb edir və bu sadə müsbət geriə əlaqə ilgəyi hüceyrə səthində Cdc42·GTP ilə yüksək dərəcədə lokal zənginləşmiş saytı yaradır (pillə 3 və 4). Tyuring tərəfindən əsas qoyulmuş kompüter modeləşdirmə göstərir ki, bu sistem bir polyarlaşma saytını yaradan “qələbə çalan-hamısını-götürür” senarisi ilə nəticələnir. Bu müsbət geriə əlaqə ilgəyi mayada bir çox stabil tumurcuqlama mərkəzinin yarandığı əsas mexanizmdir.



ŞƏKİL 21-23 Hüceyrə polyarlığının və hüceyrənin asimmetrik bölünməsinin əsas xüsusiyyətləri. (a) Polyarlaşmış hüceyrənin əmələ gəlməsi mərhələlərinin əsas ierarxiyası. Polyarlaşmanı hansı səmtdə aparmağı bilmək üçün hüceyrələr məkan siqnalına məruz qalmalıdır (pillə 1). Onların siqnalı hiss etmək üçün reseptorları və başqa mexanizmləri də olmalıdır (pillə 2). Hüceyrələr siqnalı hiss etdikdən sonra, siqnal ötürülməsi yolu (pillə 3) onu müvafiq polyarlaşmış üslubda tanımaq üçün sitoskeleti (sistemdən asılı olaraq miqroborucuqlar və/və ya mikrofilamentləri) tənzimləyir (pillə 4). Polyarlaşmış sitoskelet membranla-dışınan orqanoidlərin və makromolekulyar komplekslərin, o cümlədən polarlıq determinantlarının hüceyrədə nəql olunması üçün karkası təmin edir (pillə 5). Çox hallarda, polyarlaşma qatılıq saytıdan uzaqlaşdırılmış

polyarlıq determinantlarının qayıtması ilə gücləndirilir. Determinantlar membran zülalları olan hallarda, bu gücləndirmə dövrəsinə endositoz vasitəsi ilə sorulma və qatılma saytına çatdırılma daxil ola bilər (pillə 6). (b) Hüceyrə polyarlığı mRNT-lər, zülallar və lipidlər kimi spesifik determinantların hüceyrədə asimmetrik yerləşməsinə tələb edir. Əgər mitoz şpindeli elə mövqə tutmuşsa ki, bu determinantlar hüceyrə bölünməsinin gedişi zamanı seqreqasiya etsinlər, o zaman iki qız hüceyrə fərqli hüceyrə müqəddarını determinantlarına malik olacaqlar. Amma, əgər mitoz şpindeli müvafiq yönəmə malik deyilsə, o zaman determinantlar düzgen seqreqasiya etməyəcəklər və bu zaman qız hüceyrələr eyni hüceyrə müqəddarına malik ola bilərlər (burada göstərilmir).

Fəsil 18-də bizim gördüyümüz kimi, Cdc42 həm də miqrasiya edən hüceyrələrdə polyarlaşmanın aparıcısı olan əsas (master) tənzimləyicidir (bax Şəkil 18-53), yəqin ki, buna oxşar digər geriyə əlaqə dövrəsi də mövcuddur. Biz görəcəyik ki, Cdc42 hüceyrə polyarlığının başqa çoxsaylı nümunələrində iştiurak edir. Qeyd etmək çox vacibdir ki, polyarlaşmanın daha çıx dəyişkən (çevik) olmasının lazım olduğu hallarda, mənfi geriyə əlaqə ilgəyi tək bir polyarlaşma saytının çox möhkəm olmamasını təmin etməlidir, beləliklə müvafiq siqnallar alınarkən o hüceyrə səthində başqa bir sayta yönəldilə bilsin. Məsələn, Cdc42-GTP sürətli-fəaliyyət göstərən GEF fəallığından başqa, mənfi-geriyə əlaqə dərəcəsini (sürətini) modullaşdırma bilən zəif fəaliyyət göstərən mənfi tənzimləyicini də səfərbər edə bilər. Faktiki olaraq, maya Cdc42-si səfərbər olunan CDC42-GEF-i fosforlaşdırən və ingibirləşdirən kinazanı səfərbər edir, bu yolla mənfi geriyə-əlaqə ilgəyini həyata keçirir. Beləliklə Cdc42-GTP-nin lokal qatılma sürətlə yaranır, sonra, zəif mənfi geriyə əlaqə ilgəyi fəaliyyətə başlayan kimi səviyyəsi aşağı enir və ya yox olur. Bu müsbət və mənfi geriyə əlaqə ilgəklərinin biokimyəvi əsasları müasir tədqiqatların fəal və əhəmiyyətli sahəsidir. Göründüyü kimi, xüsusi siqnallar normal olaraq, bu daxili polyarlaşma proqramlarını istiqamətləndirir, bu da öz növbəsində hüceyrənin fiziki polarlaşmasına səbəb olur.

Hüceyrə Bölünməsindən Öncə Hüceyrə Polyarlaşması Ümumi İerarxiya Mərhələləri ilə Davam Edir

Hüceyrə bölünməsi ilə və ya bölünmə olmadan hüceyrənin polyarlaşması Şəkil 21-23a diaqramında göstərilən ümumi forma ilə davam edir. Polyarlaşmanın hansı istiqamətdə getməsinə və ya asimmetrik olmağı bilmək üçün hüceyrə əsasən onu məkan məlumatı ilə təmin edən spesifik siqnalları hiss edir (pillə 1). Bizim görəcəyimiz kimi, belə siqnallar başqa hüceyrələrdən və ya hüceyrəxarici matrisadan olan həllolan siqnallardır. Bu siqnalları hiss edə bilmək üçün hüceyrə öz səthində müvafiq reseptorlara və ya başqa mexanizmə malik olmalıdır (pillə 2). Siqnal aşkar edildikdən sonra hüceyrə polyarlığın istiqamətini təyin etmək üçün daxil olan siqnalı polyarlaşma proqramına çevirməklə cavab verir (pillə 3). Ümumiyyətlə növbəti pilləyə sitoskelet elementlərinin, xüsusən də mikrofilamentlərin və mikroborucuqların lokal yenidənəşkili daxildir (pillə 4). Hüceyrə quruluş asimmetriyasına malik olduqdan sonra, molekulyar motorlar polyarlıq faktorlarının, sistemdən asılı olaraq, ola bilsin ki, ya sitoplazmatik zülalların ya da ifrazat yolu ilə sintez olunan membran zülallarının və yaxud hər ikisinin daşınmasını onların müvafiq daşınma məkanına yönəldir (pillə 5). Tez-tez hallarda polyarlıq determinantlarının aşağı qatılıqlı saytlardan (mərkəzlərdən) geriyə, polyarlaşma mərkəzinə gəlməsi və orada yüksək qatılıqlı saxlanılması ilə polyarlıq gücləndirilə bilər (pillə 6).

Əgər hüceyrə polyardır və hüceyrə bölünməsi müstəvidə polyarlaşma istiqamətinə perpendikulyar olursa hüceyrə asimmetrik bölünməyə uğrayır. Bu yolla, hüceyrə müqəddaratının spesifik zülallar və ya mRNT-lər kimi determinantları hüceyrələr arasında fərqli seqreqasiya edə bilirlər (Şəkil 21-23b).

Hüceyrə polyarlaşması çox dinamik proses ola bilər. Fərz edək ki, makrofaq bakteriyayı tutub onu faqositoz yolu ilə dağıtmaq üçün izləyir, makrofaq fasiləsiz davamlı şəkildə bakteriyayı hiss etməlidir, o bunu bakteriyanın buraxdığı peptidin qradiyentini izləməklə edir (bax Şəkil 14-46). Bu siqnal makrofaqın düzgün istiqamətdə hərəkətini yönəldir və ya polyarlaşdırır. Bu nümunədə hüceyrə polyarlığının əhəmiyyətli və ümumi aspektləri vurğulanır: çox hallarda, o makrofaq nümunəsində olduğu kimi elə dinamik olmalıdır ki, o istiqamətini tez şəkildə dəyişə bilsin. Baxmayaraq ki, biz hüceyrə polyarlığının dinamikasını makrofaqlarda olduğu kimi təsvir etdik, çox statik görünən epitel və başqa hüceyrələrin polyarlığı onları fərqli mühitə keçirdikdə demək olar ki, kifayət qədər dinamik olur.

Növbəti hissədə biz asimmetriklik göstərən sadə bir hüceyrəni, cütləşmə zamanı həllolan siqnala cavab verən maya hüceyrəsini müzakirə edirik. Sonrakı hissələrdə biz, qorunub saxlanılan polyarlıq zülalını polyarlıq siqnalı aləti kimi istifadə edən və hüceyrə bölünməsindən öncə hüceyrə asimmetriyasını yaradan heyvan hüceyrələrinin müzakirəsinə qayıdırıq. Sonra biz bu eyni polyarlıq zülallarının epitel hüceyrələrinin polyarlaşmasında necə istifadə edildiyini təsvir edirik. Nəhayət sonda, sütun hüceyrələrin asimmetrik bölünməsinin aspektlərini müzakirə edirik.

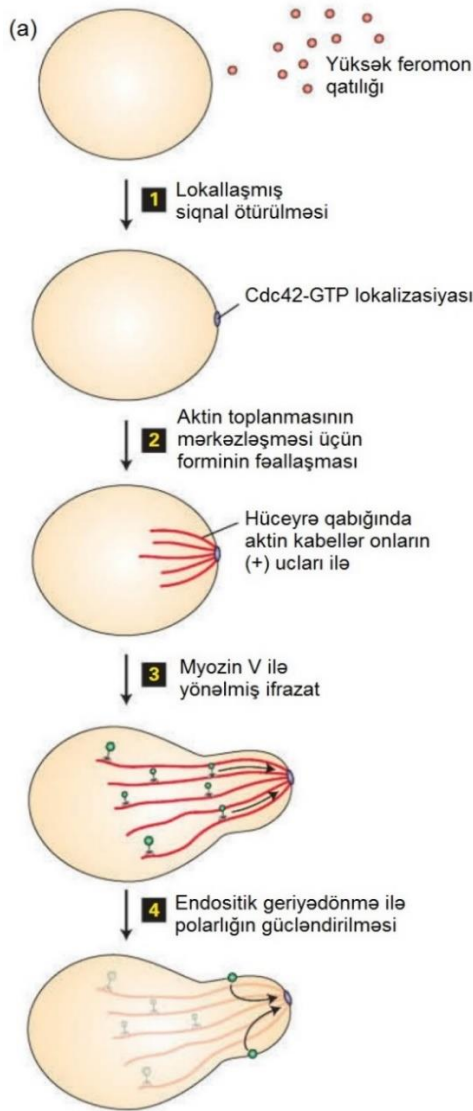
Polyarlaşmış Membran Daşınması Cütləşmə Zamanı Mayanın Asimmetrik Böyüməsinə İmkan Verir

Hüceyrə asimmetriyasının sadə və yaxşı öyrənilmiş formalarından biri tumurcuqlayan hüceyrənin cütləşməsi zamanı baş verir. Biz artıq gördük ki, maya haploid (hər xromosomun tək bir nüsxəsinə malik olan) və diploid (hər xromosomun iki nüsxəsinə malik olan) vəziyyətlərdə ola bilər. Haploid vəziyyət hər iki cütləşən tipdə ("cinsdə"), a və ya α -da ola bilər. Mayanın təbiətdə daha böyük üstünlük təkil edən vəziyyəti onun diploid vəziyyətidir, ona görə də a hüceyrələr diploid vəziyyəti yaratmaq üçün həmişə cütləşmə üçün α hüceyrələri axtarırlar (bax Şəkil 1-23). Hər iki cütləşən tip spesifik cütləşmə feromonu – a hüceyrələr a faktorunu, α hüceyrələr isə α faktorunu – ifraz edir və hər biri öz səthində o biri tərəfin ifraz etdiyi feromonu tanıyan reseptoru ekspressiya edir. Beləliklə a hüceyrələrin α faktoru tanıyan reseptoru, α hüceyrələrin isə a faktorunu tanıyan reseptoru olur. Əks cütləşmə tipinin hüceyrələri bir-birinə yaxın yerləşdirildikdə hər bir hüceyrədəki reseptorlar başqa hüceyrədəki feromon siqnalı tanıyır və onu məkanca yüksək qatılıqlı təyin edib hansı istiqamətdə cütləşəcəyini müəyyən edir. Hüceyrələr əks tərəfin cütləşmə faktorunu aşkar edəndə iki əhəmiyyətli proses baş verir. Birincisi, öz hüceyrə tsiklini G_0 -da arrest etməklə sinxronlaşdırırlar, beləliklə onlar cütləşəndə iki haploid genom hüceyrə tsiklinin eyni mərhələsində olacaqlar. İkincisi, onlar *şmuu* (*shmoo*) adlanan cütləşmə proyeksiyasının (mating projection) toplanması üçün hüceyrə böyüməsini feromon istiqamətində hədəf edirlər. Əgər *şmuu* edən əks cütləşmə tipinin hüceyrələri bir-birinə toxunurlarsa, onlar *şmuu* uclarında qovuşurlar və haploid nüvələr diploid nüvəni əmələ gətirmək üçün bir yerə gəlirlər.

Maya haploidlərində əks cütləşmə feromona qarşı *şmuu* əmələ gətirə bilməyən mutantları axtarmaqla tədqiqatçılar *şmuu*

əmələgəlmənin baş verməsi üçün asimmetrik böyümənin necə lazım olduğunu aşkar etdilər (Şəkil 21-24). Gözləndiyi kimi, ilkin olaraq bu mexanizm polyarlaşmış sitoskeleti quran siqnal ötürülməsi yolunu əhatə edir, o isə öz növbəsində asimmetrik böyümə üçün membran nəqliyyatını müvafiq nahiyəyə yönəldir. Cütləşmə faktoru-reseptorunun fəallaşması – tipik G zülalla cütləşən reseptor (bax Şəkil 15-12) – daxili polyarlıq proqramının fəallaşması ilə nəticələnir, hansıki o da öz növbəsində Cdc42-nin hüceyrə qabığına feromon mənbəyinə yaxın nahiyəsində toplanmasına və fəallaşmasına səbəb olur (Şəkil 21-24, pillə 1). Bu fəal Cdc42•GTP formu zülalın lokal fəallaşmasına səbəb olur (pillə 2). Fəsil 17-də gördüyümüz kimi, formu zülalları (+) ucları formu birləşmiş vəziyyətdə

olan polyarlaşmış aktin zülallarının toplanmasını (bax Şəkil 17-13) nukleasiya edir. Bu proses lokal böyüməni və şmuu əmələ gəlməsini təmin etmək (pillə 3) üçün ifrazat qovucuqlarını myozin V motor vasitəsilə filamentlərin (+) ucuna daşınmaq üçün yol (iz) yaradır. Qeyd edək ki, bu mexanizm, böyüməkdə olan şmuu ucunda toplanaraq qatılaraq şəkildə olan Cdc42•GTP-nin daxil olduğu polyarlıq zülallarını tələb edir. Şmuunun böyüməsi zamanı polyarlığın saxlanılmasına əmin olmaq üçün, guman olunur ki, isrtiqamətlənmiş endositoz tsikli mövcud olur. Bu tsikldə, qatılma saytından diffuziya edərək uzaqlaşan Cdc42 ola bilsin ki, endositoz yolu ilə daxilə mənimsənilir və geriyyə şmuu ucuna daşınır, bununla da polyarlığı gücləndirir (pillə 4).



ŞƏKİL 21-24 Mayada şmuu əmələ gəlməsinin mexanizmi. (a)

Haploid maya hüceyrəsi əks cütləşmə tipinin cütləşmə faktorunun ən yüksək qatılığına doğru böyüməlidir, ona görə də onun səthində ən yüksək qatılığın yerini bildirən siqnal reseptoru vardır. Bu siqnal Cdc42-nin yerləşməsinə və fəallaşmasına induksiya edərək bu saytda yüksək qatılıqda Cdc42•GTP əmələ gətirir (pillə 1). Cdc42•GTP bu saytdan aktin filamentin yaranmasının nukleasiyasına və uzanmasına səbəb olan formu lokal fəallaşdırır (pillə 2). Formu aktin filamentin (+) uclarına birləşdiyindən, (+) uclar Cdc42•GTP istiqamətində, yəni cütləşmə faktorunun ən yüksək qatılığı istiqamətində yönəlir. Myozin V motor ifrazat qovucuqlarını aktin filamentlərin boyunca daşır, nəticədə şmuunun böyüməsinə səbəb olur (pillə 3). Şmuunun polyarlığı Cdc42 kimi polyarlıq faktorlarının fasiləsiz şəkildə diffuziya edərək geriyyə, aktin filamentlərin siqnal saytına qayıtması nəticəsində yaranan endosit dövrəsi (tsikli) ilə gücləndirilir (pillə 4). (b) Şmuu edən maya hüceyrələrinin DIC işıq mikroskopunda təsviri. [(b) hissəsi Gehrun, S. and Snyder, M., "The SPA2 gene of *Saccharomyces cerevisiae* is important for pheromone-induced morphogenesis and efficient mating," *J. Cell Biol.*, 1990, **111**(4):1451–64 doi: 10.1083/jcb.111.4.1451-dən.]

Nematod Embryonunda Par Zülalları Hüceyrə Asimmetriyasını Yönəldir

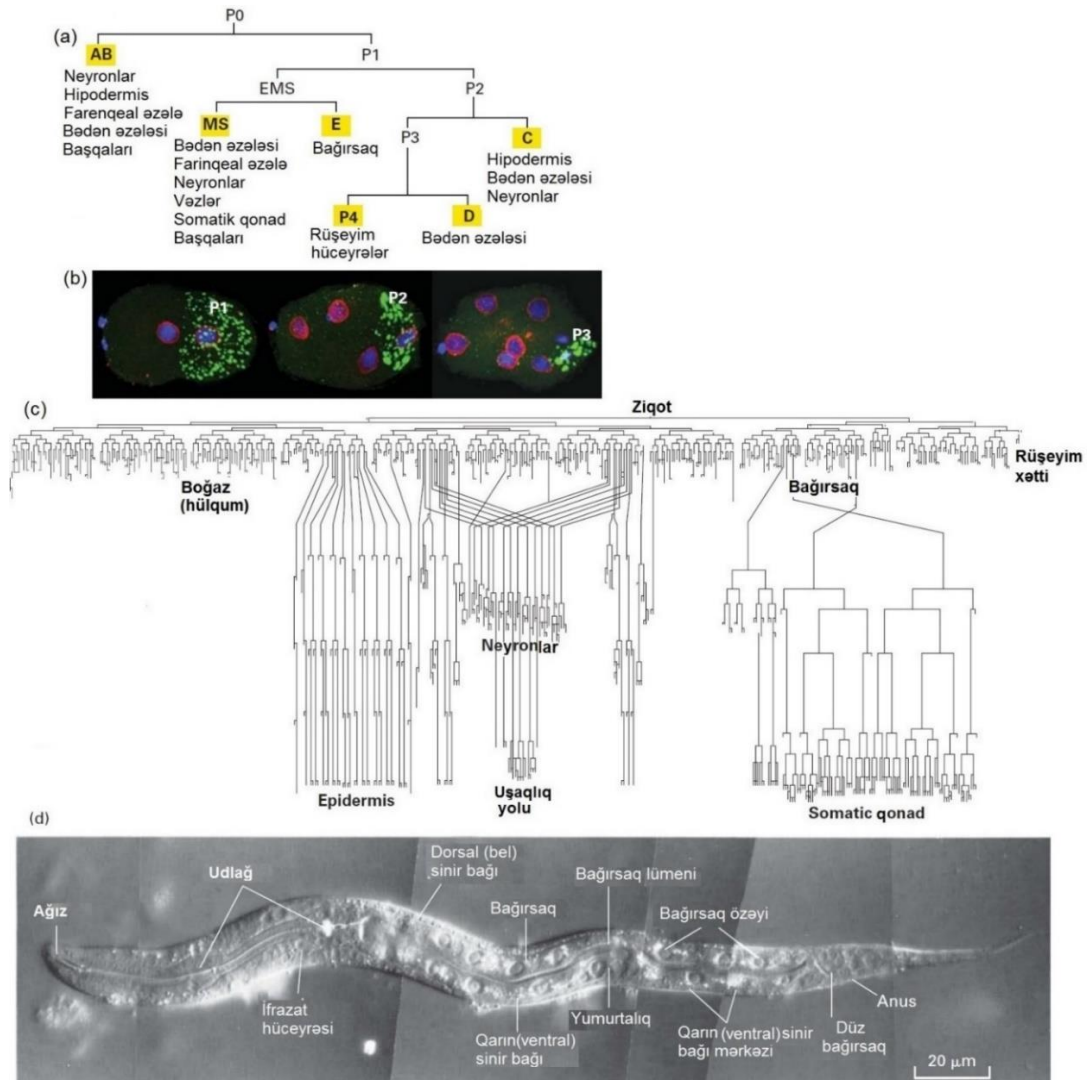
Nematod qurdu *Caenorhabditis elegans* hüceyrə müqəddaratının həll edilməsini anlamaq üçün çox güclü model sistemi təmin edir. Bu heyvan şəffaf olduğundan və çox sürətli

həyat tsikli olduğundan tədqiqat üçün seçilmişdir, onların mutantlarını yaratmaq və xarakterizə etmək asandır və birhüceyrəli embryondan yetkin dövrə qədər hüceyrə nəslə dəyişməzdir (Şəkil 21-25a, c, d). Bu hüceyrə nəslinin kritik aspekti ilkin hüceyrə bölünməsidir, bu zaman P0 hüceyrə –

mayalanmış yumurta və ya ziqot – asimmetrik hüceyrə bölünməsi yolu ilə AB və P1 hüceyrələrin yaranmasına səbəb olur, bu iki hüceyrənin hər biri sonra müxtəlif hüceyrə xətlərinin əsasını qoyur. Bu asimmetrik bölünmə barədə çox şey məlumdur və biz diqqətimizi ona yönəltmişik.

Hüceyrənin ilk bölünməsindən öncə, ziqot asimmetrik görünür: P qranulalar adlanan sitoplazmatik komplekslər embrionun arxa ucunu əmələ gətirən hüceyrə ucunda qatılışır (toplanır) (Şəkil 21-25b). Görünür ki, sonrakı, hüceyrə bölünmələri zamanı bu P qranulalar həmişə gələcəkdə rüseyim xəttini əmələ gətirən hüceyrələrə seqreqasiya edirlər və burada onlar rüseyim-xətti inkişafında mühüm rol oynayırlar. P0 hüceyrələrin ilk asimmetrik bölünməsi P qranulalara malik olan P1 hüceyrələri və daha böyük AB hüceyrələri əmələ gətirir. Bundan sonra, iki-hüceyrə səviyyəsində mitoz şpindelləri bir-birinə nisbətən düz bucaq altında düzülür, beləliklə sonrakı hüceyrə bölünmələri də bir-birinə nisbətən düz bucaq altında olurlar (Şəkil 21-26a). Birinci belə əhəmiyyətli asimmetrik bölünmənin necə baş verdiyini anlamaq üçün altı müxtəlif gendə aparılan mutasiyalar birinci bölünmənin simmetrik olması ilə nəticələndi. P qranulalar bu mutantlarda düzgün bölünmədiyindən, bu tədqiqatlarda identifikasiya olunan genlər blünnmə qüsurlu (partition defective) və ya *par* genlər

adlandırıldı. Bu mutantlarda, P qranulları ziqotun arxa tərəfində düzgün yerləşməmişlər və növbəti bölünməyə hazırlıq zamanı mitoz şpindeli düzgün yönəlməmişdir (bax Şəkil 21-26a). Əsas anlayışlar *par* genlərin məhsulları lokalizasiya olunduqdan sonra meydana gəldi. Təbii-tipli ziqotlarda Par zülallarının çoxu ya hüceyrənin ön yarısının qabığında yerləşir ya da arxa yarısının qabığında yerləşir. Məsələn, Par3 (Cdc42, Par3, Par6 və aPKC – atipikal proteinkinaza C – böyük kompleksin bir hissəsi kimi) ön hissədə yerləşir, halbuki Par2 və Par1 arxa tərəfdə yerləşir (Şəkil 21-26b). Sonrakı tədqiqatlar göstərdi ki, bu zülal kompleksləri arasında qarşılıqlı sərfəli olan antaqonistik əlaqələr mövcuddur, ona görə də, əgər Cdc42-Par3-Par6-aPKC kompleksi bir rayonda lokalizasiya olunursa, Par2 orada olmur və ya əksinə. Bu, Par3-Par6-aPKC kompleksinin *par2* mutantlarında bütün qabıqda səpələnməsinin və Par2-nin *par3* və *par6* mutantlarda bütün qabıqda səpələnməsinin (yayılmamasının) tapılması ilə göstərilmişdir. Bu antoqonizmin molekulyar təbiəti hələ tam anlaşmamışdır, amma onun bir hissəsi, Par2-ni fosforlaşdıraraq onun ön qabığa bağlanma qabiliyyətini ingibirləşdirən proteinkinaza aPKC vasitəsi ilə həyata keçirilir.



ŞƏKİL 21-25 *C. elegans* nematod qurdunda hüceyrə xətti. (a) P0-la (ziqot) başlayan və altı yaradıcı hüceyrənin (sarı rənglə işıqlandırılmış) əmələ gəlməsinə səbəb olan ilk bir neçə bölünmənin profili. İlk bölünmə asimmetrikdir, AB və P1 hüceyrələrin əmələ gəlməsinə başlanğıc verir. EMS hüceyrə ona görə belə adlandırılmışdır ki, o endodermanın və mezodermanın əksəriyyətinin yaranmasına səbəb olur. P4 hüceyrə nəslə rüşeyim xətti hüceyrələrinin başlanğıcını verir. (b) İki-, dörd-, səkkiz-hüceyrəli rüşeymin mikrofotolarında DNT mavi, nüvə qabığı qırmızı və P qranulalar yaşıl rənglənmişlər. Rüşeyim xəttini əmələ gətirən P1, P2 və P3 hüceyrələr göstərilir. (c) Qurdun tam bütöv bədən xətti bəzi toxumaların formalaşdığını göstərir. Bu

Mayalanmamış yumurta simmetrikdir, bəs polyarlaşmış ziqotu əmələ gətirmək üçün bu simmetriyanı n' pozur? Belə çıxır ki, mayalanmadan sonra spermanın mövqeyi arxa (posterior) sonluğa müəyyən edir. Spermanın daxil olmasına qədər bütöv yumurta qabığı fəal myozin II-yə malik olan aktin şəbəkə tərəfindən yaradılmış gərginlik altında olur. Fəsil 17-də gördüyümüz kimi, myozin II gərginlik yaratmaq üçün aktin filamentləri dartan bipolyar filamentləri əmələ gətirə bilir, bu həmçinin əzələlərdə və dartılan halqalarda da görünür. Myozin II fəallığı Rho GTPaza-nın daxil olduğu siqnal ötürülməsi yolu ilə (bax Şəkil 17-43) tənzimlənir. Mayalanmamış yumurtada Rho öz aktivatoru quanin nukleotidi mübadiləsi faktoru Rho-GEF-in bərabər paylanması ilə özünün fəal Rho-GTP vəziyyətində saxlanılır. Rho-GTP Rho-kinazanı fəallaşdırır, o isə myozin II-nin myozin yüngül zəncirini fosforlaşdıraraq onun fəallaşdırır (Şəkil 21-27a). Mayalanmadan az sonra sperma sentrosomunun məlum olmayan siqnalı ilə Rho-nun fəal vəziyyətdə saxlanması üçün tələb olunan Rho-GEF-in lokal tükənməsi baş verir. Beləliklə, sperma sentrosomunun asimmetrik mövqeyi Rho-GTP-ni tükəndirməklə və nəticədə myozin II-nin fəallığını aşağı salmaqla arxa rayonu təyin edir. Dartılma fəallığının belə lokal azalması ilə aktin-myozin şəbəkə ön tərəfə dartılır (Şəkil 21-27b), belə olanda o (məlum olmayan üsulla) Par3, Par6 və aPKC-dən ibarət olan ön kompleksi dartıb bu sonluğa doğru aparır (Şəkil 21-27c). Ön kompleksin

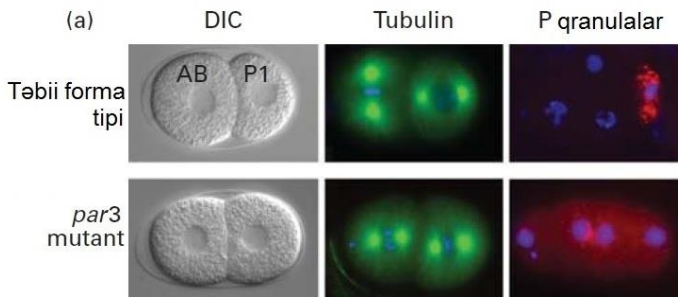
diaqramda hüceyrə bölünməsi xətlərinin parçalanması (ayrılması) ilə göstərilir, hüceyrə bölünməsinin zamanı isə şaquli istiqamətdə göstərilir. (d) Yeni yaranmış süfrə. Yaşlı hermafordit formada tapılmış 959 somatik-hüceyrə nüvəsindən bəziləri differensial-interferensiya-kontrast (DIC) mikroskopiyaya ilə alınmış bu mikrofotoda görünə bilər. [(b) hissə nəzakətlə Susan Strome and Dustin Updike tərəfindən; (d) hissə Elsevier rəzilığı ilə Sulston, J. E. and Horvitz, H. R., "Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*," *Dev. Biol.*, 1977, **56**(1):110–56-dan yenidən çəpəlunur; rəzilıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır]

çıxarılması ilə Par2 arxa qabığı zəbt edir və hüceyrənin simmetriqliyi təmin olunur.

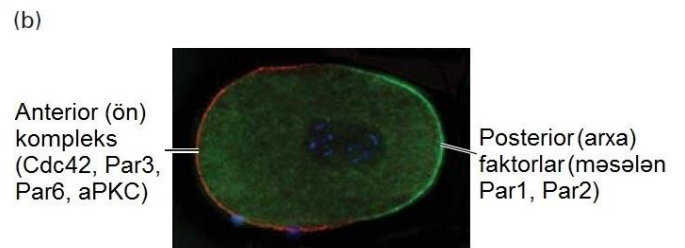
Məlum olur ki, əsas (master) tənzimləyici Cdc42 aktin-miyozin şəbəkəsinin dartılması ilə yaranan ilkin asimmetriya üçün lazım deyildir. Amma, fəal Cdc42•GTP Par6 ilə birləşir və o, ön uca ön kompleksin saxlanması üçün lazımdır, hərçənd ki, bu yerləşmənin mexanizmi tam aydın deyil. Son zamanların işləri, bizim mayada şmoo əmələ gəlməsinə müzakirə etdiyimiz kimi, polyarlığı saxlamaq üçün endositik məkəmləndirmə tsikli ilə də əlaqəlidir. Beləliklə, məkan siqnalına cavab verilməsinin pillələləri – asimmetriyanın yaradılması və asimmetriyanın saxlanması – hər iki sistemin qorunub saxlanması (konservativ) xüsusiyyətləridir.

Par Zülallar və Digər Polyarlıq Kompleksləri Epiteli-Hüceyrə Polyarlığında İştirak Edirlər

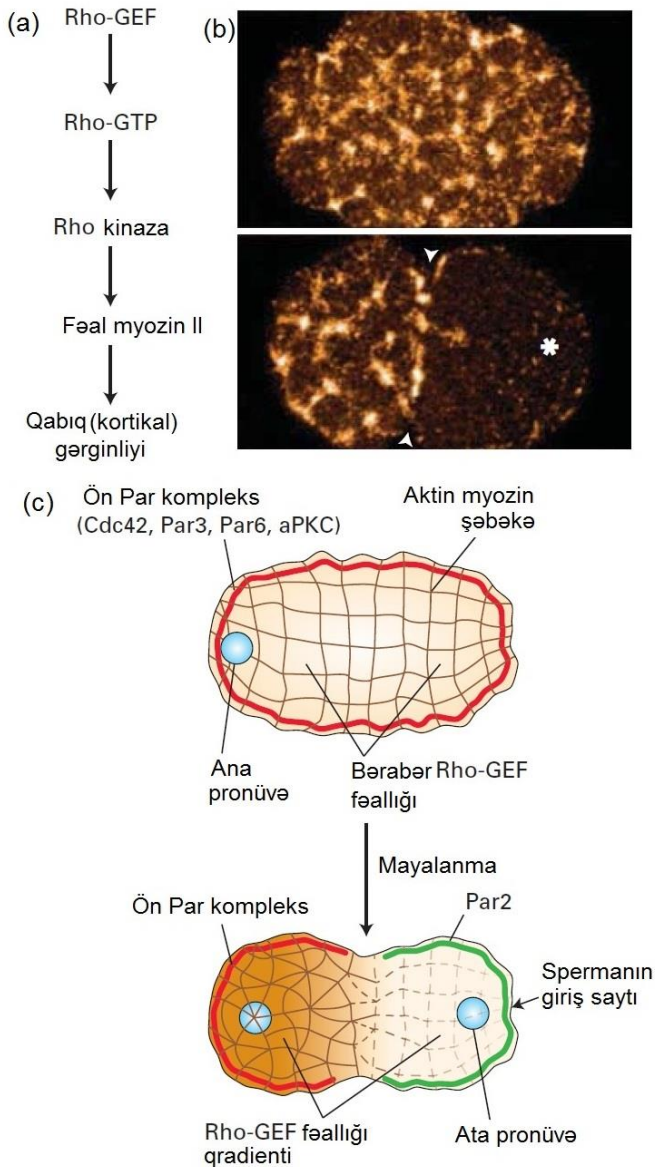
Onurğalılarda polyarlaşmış epiteli hüceyrələri öz polyarlaşma oxunu istiqamətləndirmək üçün qonşu (bitişik) hüceyrənin və hüceyrəxarici matrisanın siqnalını istifadə edirlər. Onurğalılardan epiteli hüceyrələrində polyarlaşma prosesi *Drosophila melanogaster* meyvə milçəyininə kifayət qədər oxşardır. Bizim biliklərimizin əksər hissəsi milçək sistemindən gəlmişdir, çünki mutantların ayrılıb analiz olunması onlarda asandır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-26 Par zülallar qurdun bir-hüceyrəli embryonunda asimmetrik yerləşmişlər. (a) Təbii formalı və *par3* mutant embryonların DIC təsviri. Qeyd etmək lazımdır ki, təbii formalı hüceyrələrdə AB hüceyrələr P1 hüceyrələrə nisbətən böyükdürlər, halbuki onlar *par3* mutantda eyni ölçüdədirlər. *par3* mutantın sadə yönəlmədə (yaşıl rənglənmiş mikroborucluqlardan



göründüyü kimi) və P-qranula seqreçiyasında da (qırmızı) həmçinin qüsuru vardır. DNT mavi rənglənmişdir. (b) Bir-hüceyrəli embryonda ön Par kompleksin (Cdc42-Par3-Par6-aPKC) (qırmızı) və arxa (posterior) determinantların (yaşıl) komplementar yerləşməsi. [(a) və (b) hissələr nəzakətlə Diane Morton və Kenneth Kemphues tərəfindən.]



Milçəklərdə genetik ekranlaşdırma epitel hüceyrə polyarlığının yaranması üçün lazım olan çoxsaylı genləri aşkar etdi. Bu genlərin kodlaşdırdığı zülalların və mutant fenotiplərin analizi zülalların üç əsas qrupunu aşkar etdi: Cdc42, Par3, Par6 və aPKC-dən təşkil olunmuş kompleks (bu *apikal Par kompleks* və ya sadəcə olaraq *Par kompleks* kimi məlum olan sistemdir), *Qırıntılar (Crumbs) kompleks* və *Çizma-qara (Scribble) kompleks*. Bu komplekslərin birinin digəri üzərindəki təsirini fərdi komponentlərin itirilməsi ilə geniş analiz etməklə epitel hüceyrələrinin polyarlaşmasında onların hər birinin töhfəsi haqqında əsas anlayışlar əldə edilmişdir, hərçənd ki, ətraflı molekulyar anlayışlar hələ də öz izahını gözləyir (Şəkil 21-28a).

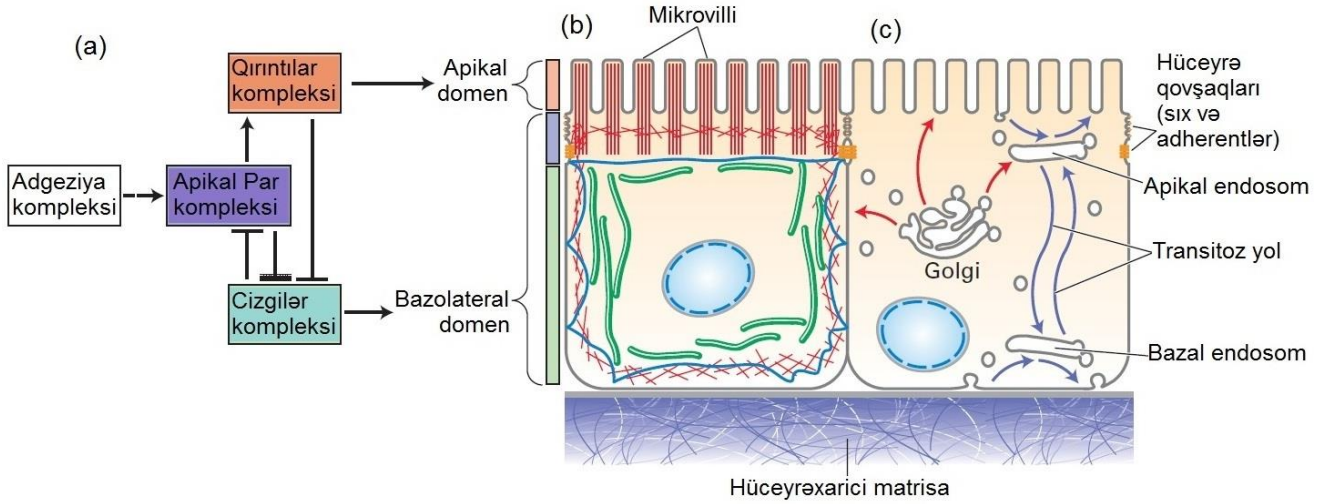
Epitelial-hüceyrə polyarlaşmasının birinci məlum olan pilləsi qonşu bitişik hüceyrələr arasındakı qarşılıqlı təsirdir, bu da onurğallıların hüceyrələrində Ig superailəsinə aid olan hüceyrə-adgeziya molekulu nektin və JAM-A adlanan qovşaq zülallar vasitəsilə baş verir. Bu qarşılıqlı təsirlər Par kompleksin hüceyrəyə səfərbər olunması barədə və adheren və sıx qovşaqların toplanması barədə siqnal verir (bax Şəkil 20-1).

Qırıntılar (Crumbs) kompleksi Par kompleksə nisbətən daha çox apikal səfərbər olunur, Çizma-qara (Scribble) kompleksi isə bazolateral səthi müəyyən edir. Par kompleks olmayanda hüceyrələr polyarlaşa bilmir və nematod embrionunda olduğu kimi, Par kompleksi hüceyrə polyarlığının əsas (master) tənzimləyicisidir. Çizma-qara (Scribble) kompleksi olmadıqda, apikal domen güclü şəkildə genişlənir, halbuki Qırıntılar (Crumbs) kompleksi olmadıqda apikal domen güclü şəkildə kiçilir (reduksiya olunur). Bu müşahidələr belə bir fikirin reallaşmasına gətirib çıxardı ki, bu komplekslər arasında qarşılıqlı antoqonist münasibətlər mövcuddur, belə ki, apikal Par kompleksin kinazası aPKC fosforlaşmaqla bazolateral Çizma-qara (Scribble) kompleksinə antoqonist fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 21-28a). Beləliklə, nematod embrionunda olduğu kimi, asimmetriya bir-birinə qarşı antoqonist fəaliyyət göstərən komplekslərlə həyata keçirilir.

Yalnız qismən başa düşülən bir şəkildə, polyarlıq zülallarının belə düzülüşü sitoskeleti elə tanıyır ki, mikrofilamentlərin fərqli düzülüşləri bazolateral və apikal membranla bağlanmış vəziyyətdə olur. Epiteli hüceyrələrində mikroborucuqların paylanması olduqca qeyri-adi, çünki onların hamısı centrosomla əlaqələnmir, əvəzində lateral mikroborucuqlar öz (-) ucları ilə apikal domənə doğru yönəlir və başqa mikroborucuqlar mikrovillərdən aşağıda və hüceyrə əsası boyunca lateral mikroborucuqlara perpendikulyar uzanır (Şəkil 21-28b). Apikal və bazolateral membranlar üçün təyin olunmuş yeni yaranmış membran zülalları *trans-Qolci* şəbəkəsində çeşidlənərək fərqli qovucuqlara qablaşdırılır və sonra müvafiq səthə daşınır. Bundan başqa, həm apikal həm də bazolateral səthlərdən gələn endositoz yolları membran zülallarının bolluğunu tənzimləyir və çeşidləyici endosomlar kompleksi dəstəndən istifadə edərək *transitoz* kimi məlum olan proseslə və səhv bükülmüş zülalları daşıyır.

ƏKİL 21-27 Qurdun bir-hüceyrəli embrionunda ön Par kompleksin seqreqasiya mexanizmi.

(a) Mayalanmadan öncə, hüceyrə qabığı kiçik GTPaza Rho-nun qanin nukleotif mübadiləsi faktoru olan Rho-GEF-in fəallığına görə gərginlik altında olur. Rho-GTP Rho kinazanı fəallaşdırır, o isə myozin II-nin tənzimləyici yüngül subvahidini fəallaşdırmaq üçün onu fosforlaşdırır. Fəal myozin II aktin filamentlərlə birlikdə hüceyrə qabığını gərginlik altında saxlayır. (b) Myozin II-nin mayalanmadan öncə (*yuxarıda*) və sonra (*aşağıda*) lokalizasiyası. Ulduzlar spermanın daxil olduğu rayonu göstərir. (c) Mayalanmadan öncə, Rho-GEF bərabər şəkildə fəal olur, fəal myozin II-yə görə qabıq gərginlik altında olur və ön Par kompleks (Cdc42-Par3-Par6-aPKC) qabıq ətrafında bərabər paylanır. Mayalanma zamanı Rho-GEF lokal azalır, nəticədə myozin II lokal fəalsızlaşır. Bu fəalsızlaşma qeyri bərabər gərginliyin yaranmasına səbəb olur, beləliklə aktin-myozin şəbəkə gələcək ön uca tərəf dartılır və özü ilə ön Par2 kompleksi aparır. Ön kompleks yerləşdikdən sonra, Par2 kimi faktorlar arxa hüceyrə qabığı ilə assosiasiya edir. Bax, S.T. Johnston and J. Ahringer, 2010, *Cell* 141:757. [(b) hissəsi Elsevier rəzilığı ilə Munro, E. et al., "Cortical flows powered by asymmetrical contraction transport PAR proteins to establish and maintain anterior-posterior polarity in the early *C. elegans* embryo," *Dev. Cell*, 2004, 7:3, 413-424-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]



ŞƏKİL 21-28 Epiteli hüceyrələrində polyarlığın yaranması. (a) Epiteli hüceyrələrində polyarlığın təyin edilməsi nematod embrionundakı kimi, apikal Par komplekslə yerinə yetirilir. Hüceyrə-hüceyrə adgeziya kompleksinin əmələ gəlməsi Par kompleksin səfərbər olunmasını induksiya edir. Sonra Par kompleksin həm bazolateral Çizma-qara (Scribble) kompleksi həm də apikal Qırıntılar (Crumbs) kompleksi ilə mürəkkəb və antoqonist qarşılıqlı təsirləri epiteli-hüceyrə polyarlığının yaranmasına və saxlanılmasına səbəb olur. Müxtəlif komplekslərin membran domenində lokalizasiyası rənglənmiş barlarla göstərilir: Çizma-qara (Scribble) kompleksi lateral membranla

assosiasiyadır, Par kompleks hüceyrə qovşağı rayonu ilə assosiasiyadır, Qırıntılar (Crumbs) kompleksi isə dərhal Par kompleksdən apikal tərəfdərdir. Funksional epiteli polyarlığı həm (b) polyarlaşmış sitoskelet həm də (c) membran daşınma yolları ilə qorunub saxlanılır. Biosintetik yolda apikal və bazolateral domenlərə çatdırılmalı olan zülallar və lipidlər Qolci kompleksində çeşidlənərək öz müvafiq səthlərinə daşınırlar (qırmızı oxlar). Endositoz yolu (mavi oxlar) zülalların və lipidlərin hər bir səthdəki bolluğunu tənzimləyir və onları transsitoz yolu ilə səthlər arasında çeşidləyir.

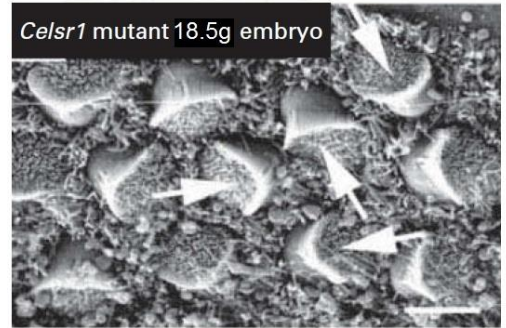
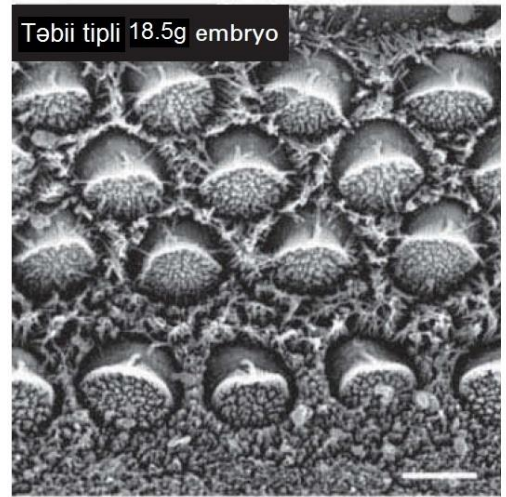
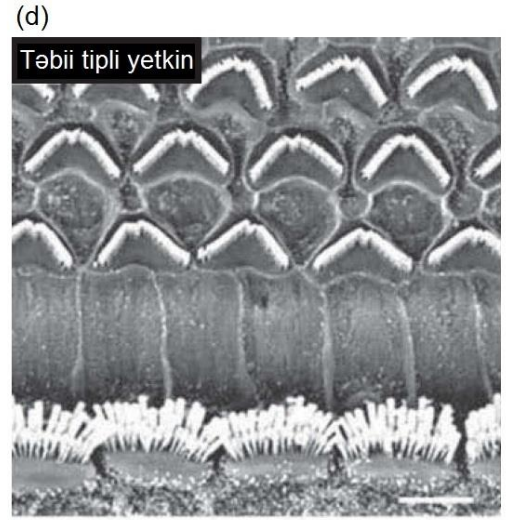
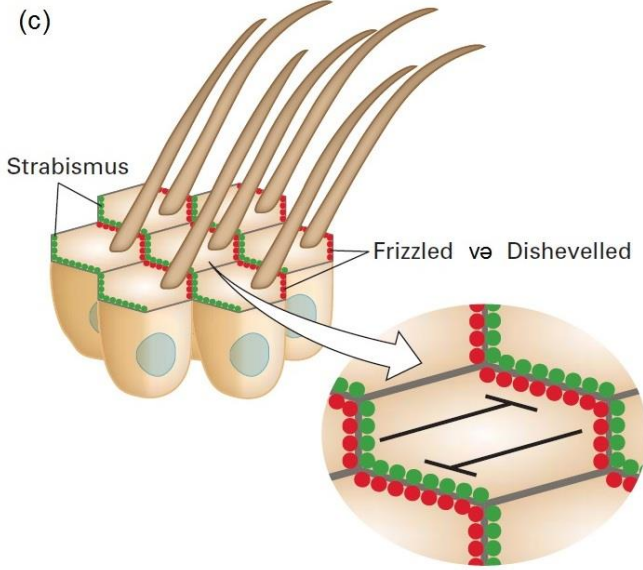
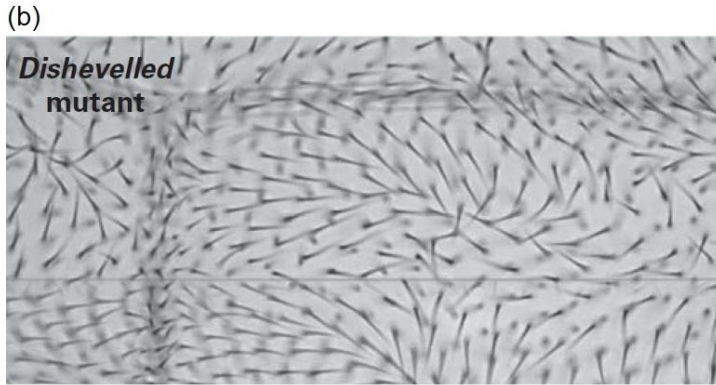
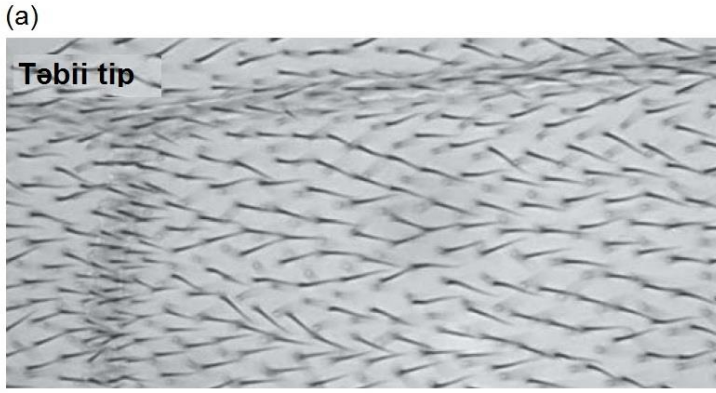
Milçəklərdə epiteli-hüceyrə polyarlığı üçün əhəmiyyətli olan əlavə komponentlərin genetik skriningində endositoz daşınmanın komponentləri tapılmışdır. Məsələn, belə bir mutant Qırıntılar (Crumbs) apikal transmembran zülalların daşınmasına təsir edir ki, endositoz pozulduqda, səthdə Qırıntıların (Crumbs) səviyyəsi yüksəlir və apikal domen genişlənir. Beləliklə, epiteli-hüceyrə polyarlığı məkan siqnallarına cavabı və polyarlaşmış vəziyyətin yaranması və saxlanılmasında ifrazat və endositoz membran daşınması yolları üçün şəbəkəni təmin edən sitoskeletin yenidən təşkil edilməsini əhatə edir.

Planar Hüceyrə Polyarlığı Yolu Epiteli Daxilində Hüceyrələri Yönlədir

Biz bu vaxta qədər asimmetriyanı yalnız bir ölçüdə müzakirə edirdik, amma çox hallarda çoxhüceyrəli orqanizmlərdə hüceyrələr ən azı iki ölçüdə polyarlaşırlar – yuxarıdan aşağıya və bədənin (hüceyrənin) uzunluğu boyu. Yalnız ətrafımızdakı heyvanların xüsusiyyətlərinə baxmaqla, məsələn balıqlarda pulcuqlar, quşların lələkləri və ya sizin əllərinizdəki tüklər açıq şəkildə göstərir ki, bu quruluşların yaranmasına səbəb olan hüceyrələr qrupu yalnız yuxarıdan-aşağıya (apikal-bazal) üslubda deyil həmçinin başdan-quyruğa (proksimal, distal) istiqamətdə də təşkil olunmalıdırlar. Bu tip polyarlıq *planar (müstəvi) hüceyrə polyarlığı (PCP)* adlanır. Milçəklərdə yaxşı öyrənilmiş nümunə qanadlardakı hər bir hüceyrəni göstərən geriyyə yönəlmiş tək bir tükdür (Şəkil 21-29a). Bizim artıq gördüyümüz kimi, milçək genetik tədqiqatlara xüsusi ilə münasib olan model sistemdir. Genetik tədqiqatlar göstərdi ki, hər bir qanad hüceyrəsi qonşusunun planar yönəlməsinə cavab verir və spesifik olaraq PCP-yə təsir edən komponentlər aşkar

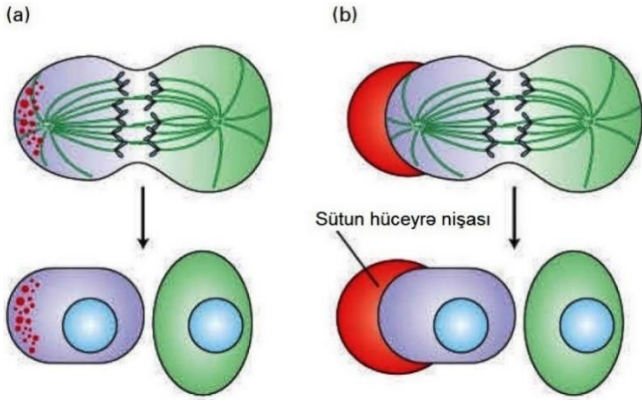
edilmişdir (Şəkil 21-29b). Epitelinin ümumi planar (müstəvi) polyarlığı yəqin ki, bəzi liqandların qradianti ilə və ya toxumadan keçən mexaniki gərginliklə təyin edilir. Qradient epitelidəki bütün hüceyrələri eyni üslubda polyarlaşdırır, hər bir hüceyrənin bir tərəfində *Frizzled* və *Dishevelled* genlərinin kodlaşdırdığı zülalların, digər tərəfində isə *Strabismus* genin kodlaşdırdığı zülalın yerləşməsinə səbəb olur (Şəkil 21-19c). PCP zülalların asimmetrik paylanması tüklərin müvafiq orientasiyada (istiqamətdə) böyüməsinə səbəb olur. Biz Wnt siqnal yolu kontekstində *Frizzled*-ə trans membran reseptor kimi, *Dishevelled*-ə isə adaptor zülal kimi rast gəlmişdik (bax Şəkil 16-30) və onların planar (müstəvi) hüceyrə polyarlığında rolu, Wnt və bəzi başqa liqandları da əhatə edə bilər. PCP yolun komponentləri qırılanda, məsələn *Dishevelled* mutantda, epiteli yüksək dərəcədə intakt olur, ama tükcüklər səhv yönəlirlər (bax Şəkil 21-29b).

PCP komponentlərin komplementar düzülüşü göstərir ki, membran zülalı *Strabismus* bir hüceyrənin yan tərəfində qonşu (bitişik) hüceyrənin yan tərəfindəki *Frizzled* zülalına yapışmış olur, həqiqətəndə bu iki zülal qarşılıqlı təsirdədir və bu qarşılıqlı təsir PCP-nin epiteli boyunca koordinasiya olunması üçün çox əhəmiyyətlidir. Nematodlarda və milçəklərdəki polyarlıq kompleksləri kimi, bu zülallar hüceyrədaxili qarşılıqlı antoqonizm göstərirlər (Şəkil 21-29c). Beləliklə, bir hüceyrədəki *Frizzled* bitişik qonşu hüceyrədəki *Strabismus*la birləşəndə qonşu hüceyrə özünün əks qonşu tərəfində *Frizzled* zənginləşdirəcək, o isə burada o biri qonşu hüceyrədəki *Strabismus*la assosiasiya girəcək, belə bir yaxın qonşu profil bütün toxuma boyu təkrarlanacaq. Beləliklə hüceyrələr arasında *Frizzled* və *Strabismus* arasındakı komplementar qarşılıqlı təsir və hüceyrə daxilində onların qarşılıqlı antoqonizmi bütün toxuma boyu PCP-ni artırır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-29 Planar (müstəvi) hüceyrə polyarlığı hüceyrələrin orientasiyasını təyin edir. (a) Milçəyin qanadının hər bir hüceyrəsindəki tükcüklərin hamısı təbii formalı milçəkdə eyni istiqamətdə yönəlir PCP qüsurlu olan milçəkdə bu, Dishevelled mutantda göstərilirdiyi kimi, tükcüklərin yönəlməsi pozulmuş şəkildə olur, hərçənd ki, hüceyrələr epitelidə hələdə nizamlı şəkildə yerləşirlər. (c) Tükcüklərin yönəlməsi, Frizzled, Dishevelled və Strabismusda qeyd olunduğu kimi, PCP yolun komponentlərinin asimmetrik yerləşməsi ilə müəyyən olunur və bunların hamısı tükcüklərin müvafiq istiqamətlənməsi üçün lazımdır. Planar hüceyrə polyarlığı iki mexanizmə görə bütün toxuma boyu yayılmışdır. Birinci, bir hüceyrədəki Frizzled qonşu bitişik hüceyrədəki Strabismus ilə birləşir. İkinci, hər bir hüceyrə daxilində, Frizzled və Strabismusun paylanması onların antoqonist olmalarına görə qarşılıqlı fərqlənir. (d) Onurğalılarda daxili qulağın sensor tükcük hüceyrələri

öz səthində V-formalı düzülüşə malik olan stereosillaları vardır. Yetkində və 18.5 günlük embryonda (yuxarıdakı və ortadakı şəkil) bütün hüceyrələr daşıqlıqla eyni istiqamətdə yönəlmişlər. PCP-yə görə qüsurlu olan Celsr1 mutant siçanda (Flamingonun onurğalı analoqu) 18.5 günlük embryonda hüceyrələr normal görünür, onların bir-birinə qarşı nisbi orientasiyası pozulmuşdur (daxili paneldəki oxlar). [(a) və (b) hissələr John Wiley & Sons, Inc., razılığı ilə Axelrod, J. D. and Tomlin, C. J., "Modeling the control of planar cell polarity," *Wiley Interdisc. Revs., Systems Biology and Medicine*, 2011, 3:5, 588-605-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır. (d) hissəsi The Company of Biologists Ltd. razılığı ilə Fanto, M. and McNeill, H. "Planar polarity from flies to vertebrates," *J. Cell Sci.* 2004; 117(Pt4):527-33-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]



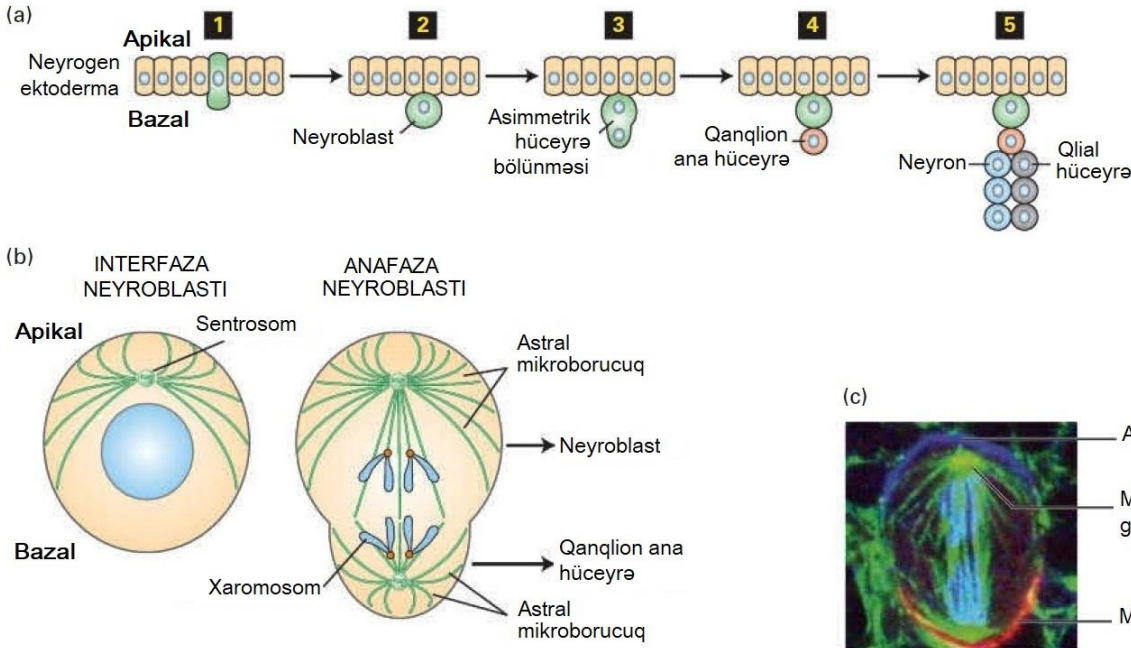
ŞƏKİL 21-30 Asimmetrik bölünmə üçün sütun hüceyrələrin induksiya oluna bilən iki yolu. (a) Xarici siqnala cavab olaraq hüceyrə polyarlaşır və hüceyrə müqəddəratının determinantları (qırmızı nöqtələr) hüceyrə bölünməzdən öncə seqreqasiya olunurlar. (b) Sütun hüceyrə nişası ilə əlaqəyə girən sütun hüceyrələr (qırmızı burulmuş obyekt) niş ilə assosiasiyada olan sütun hüceyrələri yaratmaq üçün öz mitoz şpindellərini istiqamətləndirirlər və differensasiya edən hüceyrə ondan ayrılır. Bax S. J. Morrison and J. Kimble, 2006, *Nature* 441:1068.

Planar (müstəvi) hüceyrə polyarlığına başqa bir aydın nümunə, onurğalılarda səsi qəbul etməsinə imkan verən, daxili qulağındakı sensor tükcük hüceyrələridir. Bu hüceyrələrin hər birində V-formasında düzülmiş nizamlanmış düzülüşdə stereosilia vardır və hər bir hüceyrə dəqiqliklə öz qonşu

hüceyrəsi kimi yönəlmişdir. PCP-də *Celsr1* genində qüsurlu olan siçanda verilmiş bir hüceyrə daxilində stereosiliyanın nizamlanmış düzülüşü qorunub saxlanılmışdır, amma hüceyrələrin bir-birinə münasibətdə nisbi orientasiyası qırılır (Şəkil 21-29d). Bu cürə qüsurlu qarşıqla nəticələnir.

Par Zülallar Sütun Hüceyrələrin Asimmetrik Bölünməsində İştirak Edirlər

Biz gördük ki, sütun hüceyrələr çox halda qız sütun hüceyrələri və differensasiya etmiş qız hüceyrələri əmələ gətirirlər (bax Şəkil 21-11). Belə asimmetrik hüceyrə bölünməsinə səbəb olan hansı siqnallardır? İki tip mexanizm aşkar edilmişdir (Şəkil 21-30). Bir mexanizmdə, hüceyrə müqəddəratının determinantları hüceyrə bölünməsindən öncə xarici siqnallara cavab olaraq hüceyrənin bir ucuna toplanırlar. Bu mexanizmə Par zülalları daxildir, və artıq bizim gördüyümüz kimi, onlar nematod embrionunun birinci asimmetrik bölünməsində və epitel hüceyrə polyarlığının yaradılmasında bir alətdirlər. İkinci mexanizmdə, sütun hüceyrələr yenidən artırılabilən istiqamətdə elə bölünür ki, o sütun-hüceyrə nişası ilə assosiasiyada qalır, amma bu zaman, qız hüceyrə isə nişadan kənara uzaqlaşdırılır və sonra differensasiya edə bilər. Bu bizim *Drosophila* yumurtalığının inkişafında rastlaşdığımız, qapaq hüceyrələrin rüşeyim-xətti sütun hüceyrələr üçün nişanı əmələ gətirirdiyi vəziyyətdir (bax Şəkil 21-12).



ŞƏKİL 21-31 Mərkəzi sinir sistemində neyronları və qlial hüceyrələri yaratmaq üçün neyroblastlar asimmetrik bölünürlər. (a) Sütun hüceyrələr olan neyroblastlar elonqasiya etmək üçün onları induksiya edən siqnallar vasitəsilə neyrogen ektodermdən əmələ gəlirlər (pillə 1). Onlar, sonra bazal hərəkət edərək ektodermdən çıxırlar, amma onunla əlaqədə qalırlar (pillə 2). Sonra neyroblastlar asimmetrik bölünməyə gedərək (pillə 3) neyroblast və qanqlion ana hüceyrəni (GMC) əmələ gətirirlər (pillə 4). Daha sonra GMC bir dəfə

bölünərək iki neyronu və ya qlial hüceyrələri əmələ gətirir (pillə 5). Bunlarla yanaşı, neyroblast daha çox GMC istehsal etmək üçün bir neçə dəfə bölünür və beləliklə neyronal toxumanı doldurur. (b) Neyroblastın asimmetrik bölünməsi daha böyük neyroblastın və daha kiçik GMC-nin əmələ gəlməsi üçün mitoz şpindelinin düzgün orientasiyasını tələb edir. (c) Anafazada neyroblast apikal Par zülallarının (mavi) və bazal Miranda zülalının seqreqasiyasını göstərir. [(c) hissəsi Chris Doe-dən.]

Sütun hüceyrələrin asimmetrik bölünməsinin çox yaxşı-anlaşılan nümunəsi milçəklərin mərkəzi sinir sistemində neyronların və qlial hüceyrələrin əmələ gəlməsidir (Şəkil 21-31). Bu model sistemdə neyroblast sütun hüceyrə bazal və apikal səthi olan tipik epiteli qatlı neyrogen ektodermadan meydana gəlir. Neyroblast genişlənir (pillə 1) və embryon daxilində bazal hissəyə keçir, amma neyrogen ektoderma epiteli ilə əlaqədə qalır (pillə 2). O sonra asimmetrik bölünür (pillə 3), yeni neyroblast və qanqlion ana hüceyrəni yaradır (pillə 4). Qanqlion ana hüceyrə yalnız bir dəfə bölünə bilər və iki hüceyrəni, ya neyronları ya da qlial hüceyrələri yaradır. Neyrogen ektoderma nişa ilə assosiasiya yaradaraq sütun hüceyrə kimi qalan neyroblast təkrar-təkrar bölünə bilər, çoxsaylı qanqlion ana hüceyrələri və beləliklə neyronları və qlial hüceyrələri yarada bilər (pillə 5), bu yolla mərkəzi sinir sistemində yayılır. Beləliklə, burada əsas hadisə neyroblastın asimmetrik bölünə bilməsi qabliyyətidir (Şəkil 21-31b). Yəni də, bu prosesdə Par kompleksin – Par3-Par6-aPKC – asimmetrik toplanması baş verir və o, hüceyrənin apikal hissəsində epiteliyə yaxın Çizma-qara (Scribble) kompleks ilə antoqonist münasibətdə yerləşir (Şəkil 21-31c). Digər polyarlıq-təyin edən faktorlar sonra hüceyrənin bazal tərəfində yerləşirlər və mitoz şpindeli ilə təşkil olunur ki, hüceyrə bölünməsi bu faktorları seqreqasiya edir. Bazal yerləşmiş bu determinantlardan Miranda adlanan biri proliferasiya və differensiasiyaya nəzarət edən faktorla assosiasiya edən zülaldır (bax Şəkil 21-31c). Beləliklə, asimmetrik hüceyrə bölünməsinə Miranda və onunla assosiasiyada olan faktorlar neyroblastdan kənara, qanqlion ana hüceyrəyə seqreqasiya edir.

21.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrə Polyarlığının Mexanizmləri və Assimmetrik Hüceyrə Bölünməsi

- Hüceyrə polyarlığına zülalların, lipidlərin və başqa makromolekulların hüceyrə daxilində asimmetrik paylanması daxildir.
- Hüceyrələr geriyyə əlaqə ilgəyindən istifadə edərək polyarlığı yarada bilən daxili proqrama malikdirlər.
- Çox sistemlərdə polyarlıq proqramının əsas tənzimləyicisi kiçik GTP-birləşdirən zülal Cdc42-dir.
- Maya hüceyrələri tumurcuqlayan zaman daxili polyarlıq proqramı Cdc42-GTP qatılığını tək bir saytda artırmaq üçün geriyyə əlaqə ilgəyindən istifadə edir.
- Asimmetriya hüceyrələrin siqnalı hiss etməsini, polyarlaşmış sitoskeleti toplamaqla ona cavab verməsini və sonra da bu polyarlıqdan istifadə edərək polyarlıq faktorlarının uyğun şəkildə paylanmasını tələb edir.
- Haploid mayalarda cütləşməyə cütləşmə feromonu ən yüksək qatılığı istiqamətində sitoskeletin polyarlaşması yolu ilə cütləşmə proeksiyasının (şmuu) toplanması və sonra burada hüceyrənin genişlənməsi üçün hüceyrə komponentlərinin ifraz olunmasının hədəflənməsi daxildir.
- *C. elegans* rüşeyminin ilkin bölünməsinə Anterior/Posterior (Ön/arxa) asimmetriyaya Par3-Par6-aPKC kompleksinin anterior (ön) qabığa yerləşməsi, ardınca

Par2 kimi Posterior (arxa) faktorların posterior (arxa) qabığa assosiasiya etməsi üçün aktin-myozin şəbəkənin asimmetrik dartılması baş verir. Anterior və posterior (ön və arxa) komplekslərin asimmetriyası qarşılıqlı antoqonistik yollarla həyata keçir.

- Apikal/bazal epiteli-hüceyrə polyarlığı da həmçinin apikal Qırıntılar (Crumbs) kompleksi və bazal Çizma-qara (Scribble) kompleksi ilə antoqonist münasibətlərdə fəaliyyət göstərən apikal Par3-Par6-aPKC kompleksi ilə idarə olunur.
- Planar (müstəvi) hüceyrə polyarlığı müxtəlif antoqonist münasibətlər dəstindən istifadə edərək epiteli hüceyrələrinin toxumada orientasiyasını tənzimləyir.
- Asimmetrik hüceyrə bölünməsi tələb edir ki, hüceyrələr əvvəlcə polyarlaşsınlar, sonra elə bölünsünlər ki, hüceyrə müqəddaratının determinantları asimmetrik seqreqasiya etsinlər.
- Sütun hüceyrələrin asimmetrik bölünməsinə çox hallarda sütun hüceyrələrin nişa ilə assosiasiyası daxil olur, bu zaman sütun hüceyrə başqa sütun hüceyrənin və differensiasiya edən hüceyrənin yaranmasına səbəb olur.
- Bölünmə zamanı asimmetrik-sütun hüceyrə bölünməsi sütun hüceyrələrdə saxlanılan Par kompleksin asimmetrik paylanmasını da əhatə edir, halbuki hüceyrə müqəddarını determinantları differensiasiya edən hüceyrələrə düşmək üçün Par kompleksindən uzaqda yerləşirlər

21.5 Hüceyrənin Ölümü və Onun Tənzimlənməsi

Tənzimlənmənin hüceyrə ölümü metazoan orqanizmlərində ziddiyyətli, amma çox əhəmiyyətli prosesdir. Embriogeneza dövründə spesifik hüceyrələrin proqramlaşdırılmış ölümü toyuğun ayaqlarının və eləcə də bizim əllərimizin pərdəli şəkildə olmasını qarşısını alır (Şəkil 21-32), o həmçinin bizim embriyonal quyruğumuzun salanaraq davam etməsinə və beynimizin faydasız sinir əlaqələri ilə dolmasına mane olur. Faktiki olaraq, beynin inkişafı zamanı əmələ gələn hüceyrələrin əksəriyyəti sonradan ölür. Biz Fəsil 23-də görəcəyik ki, normal orqanizm zülallarına və ya qeyri funksional anticicimlərə reaksiya verən immun-sistemi hüceyrələri necə selektiv məhv edirlər. Çoxsaylı müxtəlif əzələ, epiteli və ağ qan hüceyrələri köhnəlib sıradan çıxır və onların əvəz edilməsi tələb olunur.

Hüceyrə-hüceyrə qarşılıqlı təsirlər iki köklü (fundamental) fərqli yollarla hüceyrə ölümünü tənzimləyir. Birinci, çoxhüceyrəli orqanizmlərdə əksər, bəlkə də bütün hüceyrələr yaşamaq üçün xüsusi zülal hormon siqnallarını tələb edirlər. Tez-tez hallarda trofik faktorlar deyilən belə sağ qalma siqnalları olmayanda, hüceyrələr “intihar” proqramını işə salırlar. İkinci, immun sistemi də daxil olmaqla bəzi inkişaf kontekstində başqa spesifik hormon siqnalları hüceyrəni öldürən “öldürmə” proqramını indiksiya edir. Sağqalma siqnallarının olmaması ilə əlaqədar olaraq hüceyrələrin intihar yolu ilə və ya başqa hüceyrələrdən gələn öldürmə siqnalları əsasında öldürülməsindən asılı olmayaraq əksər hüceyrə ölümü **apoptoz** adlanan ümumi molekulyar yolla həyata keçirilir ki, bu yol da onurğasızlarda və onurğalılarda qorunub saxlanılmışdır (konservativdir). Hüceyrə cəsədləri başqa qonşu hüceyrələr

tərəfindən udulur və onları təşkil edən tərkib hissə kiçik molukullara qədər bölünərək başqa hüceyrələrin qurulmasında təkrar istifadə edilirlər.

Hüceyrə ölümünün başqa bir forması **nekroz**, hüceyrələr yaranmaya və ya istilik, oksigen çatışmazlığı və ya patogenlərlə yoluxma kimi güclü stressə məruz qalanda baş verir. Nekroz plazma membranında dəşiklər yaradır və hüceyrədaxili tərkibin kənara axmasına səbəb olur. Bəlkə də təccüblüdür ki, nekrozun **nekroptoz** adlanan bir forması çox zaman şiş nekroz faktoru alfa (TNF α ; bax Şəkil 16-35) kimi hüceyrəxarici hormonlarla işə salınır. Bu hüceyrə-ölümü yolunun faallaşması iltihaba səbəb olur və çox insan xəstəliklərinin, o cümlədən sinir degenerasiyası və aterosklerozun inkişafında iştirak edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-32 Pərdə-ayaqlı toyuq. Çox onurğalı əzələlərin inkişafı zamanı embryonal barmaqlar arasındakı yumuşaq toxumanın hüceyrələri proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə uğrayırlar. Bu proses toyuğun ayağında dörd ayrılmış barmağın (solda) əmələ gəlməsi ilə nəticələnir. Toyuğun ayağının inkişafı zamanı sümük morfogenetik zülalları (BMP-lər) (hormonların β -TGF superailəsinin nümayəndələri; bax Şəkil 16-3) barmaqlararası hüceyrələrdə ekspressiya olunur və apoptozu induksiya edirlər. Bu eksperimentdə, dominant neqativ I tip BMP reseptor inkişafda olan toyuq ayağında ekspressiya olunur, BMP signalını blok edir və normal halda baş verən proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə mane olur. Bu manipulyasiya hüceyrənin sağ qalmasına və onun bölünməsinə və differensiasiya edərək pərdəyə çevrilməsinə imkan verir (sağda). Bu pərdə əmələgəlmənin pərdəli ördəyə oxşarlığı BMP zülallarının ördəklərdə ekspressiya olunmadığını göstərən tədqiqatların aparılmasına səbəb oldu. Bu nəticələr göstərir ki, BMP signalı embrion üzvlərində hüceyrə ölümünü fəal şəkildə həyata keçirir. [AAAS razılığı ilə Zou, H. and Niswander, L., "Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation," *Science*, 1996,

3;272(5262):738–41-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

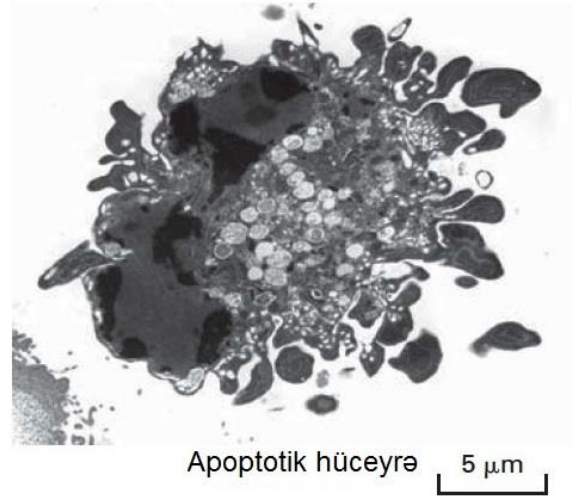
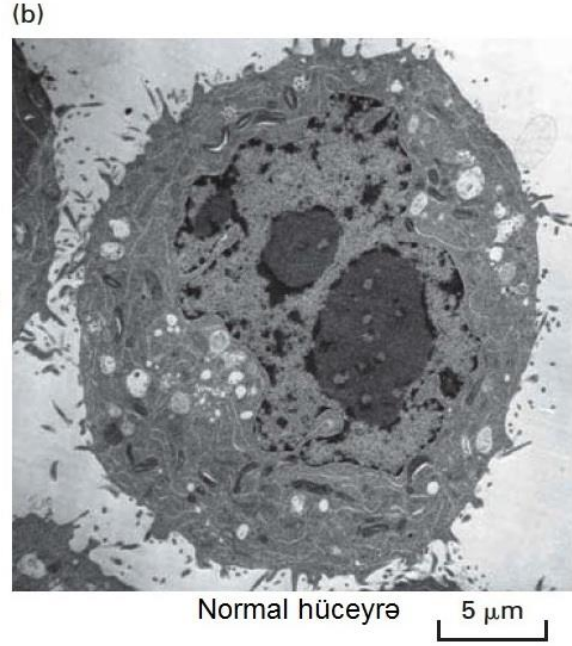
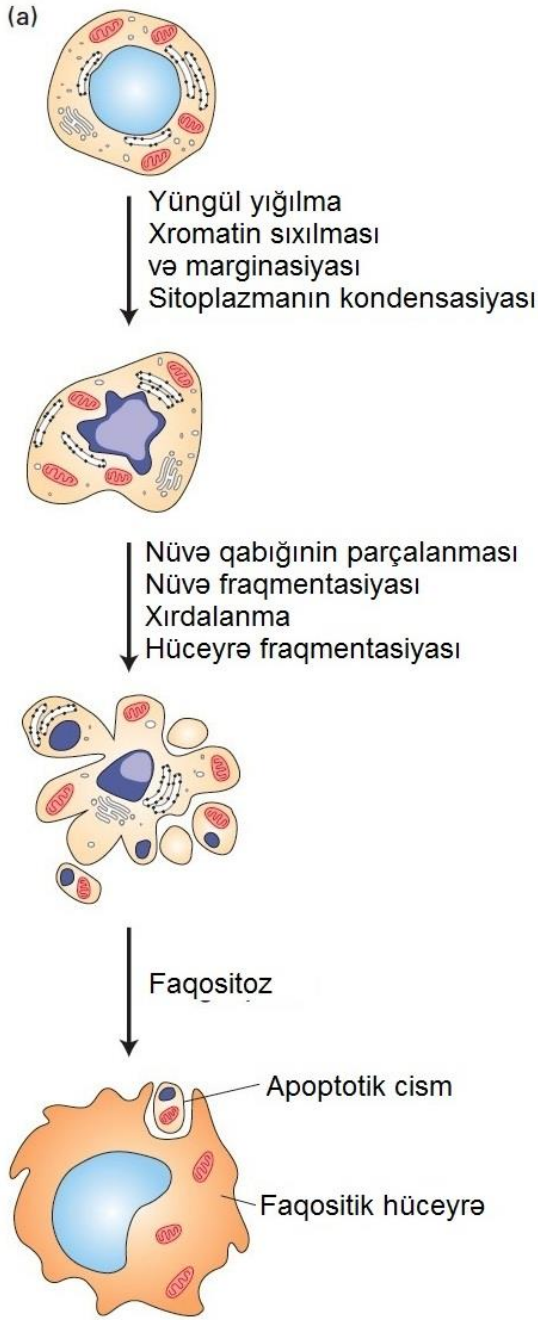
Bu bölmədə, biz əvvəlcə proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünü nekroz nəticəsində ölümdən fərqləndirəcəyik, sonra isə *C. elegans* nematod qurdu üzərində aparılan genetik tədqiqatların hüceyrənin özünüqəsdinə səbəb olan, təkamülə saxlanılmış effektor yolun izahına başlayacağıq. Sonra biz onurğalılara keçəcəyik, hüceyrə ölümü burada həm neyronal inkişafda proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümündə əhəmiyyəti nümunə kimi göstərilmiş trofik faktorlarla, həm də DNT zədələnməsi kimi hüceyrə stressləri ilə tənzimlənir. Biz onurğalılarda hüceyrə-ölümü yollarının başlanmasında mitoxondrinin aparıcı rollarını işıqlandırırıq. Nəhayət sonda, nekroptoz və bizim bu prosesləri anlamağımızın müəyyən insan xəstəliklərinin müalicəsi üçün necə yol açmasını müzakirə edirik.

Proqramlaşdırılmış Hüceyrə Ölümünün Çoxu Apoptoz Vasitəsilə Baş Verir

Proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü ilə hüceyrələrin ölməsi morfoloji dəyişikliyin yaxşı təyin edilmiş ardıcılığı ilə qeyd olunur, buna ümumilikdə *apoptoz* deyilir, Yunan sözü olub yarpaqların ağacdən "tökülməsi" kimi "qopub düşmək" mənasını verir. Ölən hüceyrələr daralır (büzüşür), qatılışır, sonra fraqmentlərə ayrılır və membranla əhatə olunmuş kiçik apoptotik cismlər şəkilində buraxılır, onlar isə sonra başqa hüceyrələr tərəfindən udulur (Şəkil 21-33). Apoptozu uğrayan bu hüceyrələr daxilində nüvə qatılışır və DNT fraqmentlərə ayrılır. Qeyd etmək vacibdir ki, hüceyrədaxili tərkib hüceyrəxarici mühitə buraxılmır, burada onlar qonşu hüceyrələrə zərərli təsir göstərə bilərlər, əvəzində onlar faqositoz yolu ilə qonşu hüceyrələr tərəfindən sorulurlar. Apoptoz zamanı baş verən stereotipik dəyişmələr, məsələn nüvənin qatılması və ətrafdakı hüceyrələr tərəfindən faqositozu, ilkin təsəvvürləri aparan alimlərə göstərdi ki, bu tip hüceyrə ölümü ciddi (dəqiq) proqramla nəzarət olunur. Bu proqram həm embryonal həm də yetkin həyat dövründə normal hüceyrə sayının və tərkibinin saxlanılması üçün kritik əhəmiyyət kəsb edir.

Hüceyrə ölümünün nəzarətində iştirak edən genlər üç müxtəlif funksiyada olan zülalları kodlaşdırır:

- "Killer" ("Öldürən") zülallar hüceyrəyə apoptoz prosesinin başlanması üçün tələb olunur.
- "Dağıdıcı!" ("Destruksiya") zülalları ölməkdə olan hüceyrələrdə zülalların və DNT-nin döğranması funksiyasını həyata keçirirlər.
- "Udulma" (Engulfment") zülallar ölmüş hüceyrələrin başqa hüceyrələr tərəfindən faqositoz olunması üçün tələb olunur.



ŞƏKİL 21-33 Hüceyrələrin apoptoz yolu ilə ölməsinin ultraquruluş xüsusiyyətləri. (a) Sxematik təsvirlər apoptoz edən hüceyrələrdə müşahidə olunmuş morfoloji dəyişikliklərin gedişini işıqlandırır. Apoptozun erkən vaxtında, sıx xromosom kondensasiyası nüvə periferiyası boyu baş verir. Hüceyrə cismi büzüşür, hərçənd ki, orqanoidlərin əksəriyyəti hələ intaktdır. Sonrakı dövrdə, həm nüvə həm də sitoplazma fraqmentlərə ayrılır, ətrafdakı hüceyrələr tərəfindən

faqositoz olunan apoptik cismləri əmələ gətirirlər. (b) Mikrofotoşəkillər normal hüceyrəni və apoptoza uğrayan hüceyrəni müqayisə edir. Sonrakında aydın görünən nüvə fraqmentləşərkən yaranan kompaktlaşmış xromatinin sıx kürəcikləridir. [(b) hissəsi Piva T. J. et al., "Increased activity of cell surface peptidases in HeLa cells undergoing UV-induced apoptosis is not mediated by Caspase 3," *Int. J. Mol. Sci.*, 2012, 13(3):2650–2675-dən, foto nəzakətlə Terrence Piva tərəfindən.]

İlk baxışda, udulma ölümdən-sonrakı təmizləmə prosesində çox sadə görünür, amma sübutlar göstərir ki, o son ölüm prosesinin bir hissəsidir. Məsələn, killer genlərdəki mutasiyalar həmişə hüceyrədə apoptozun başlamasına mane olur, halbuki udulmanı blok edən mutasiyalar bəzi hallarda hüceyrəyə imkan verir ki, ölməzdən öncə müəyyən zaman müddətində yaşasın. Udulma aktin polimerləşməsinin

tənzimlənməsinə kömək edən monomer G zülalı olan Ras-ın kiçik fəallaşması ilə işə salınan, ölməkdə olan hüceyrənin ətrafındakı udma hüceyrəsində aktin halosının (qövs, dairə) yığılmasını əhatə edir (bax Şəkil 17-44).

Apoptozun əksinə, nekroz ilə və ya nekroptoz ilə ölən hüceyrələr tamamilə fərqli morfoloji dəyişiklikləri nümayiş etdirir. Adətən, bu proseslərə məruz qalan hüceyrələr şişir və

partlayar, sonra hüceyrədaxili tərkibini buraxır, onu əhatə edən hüceyrələri zədələyir və iltihabın əməliə gəlməsinə səbəb olur.

Təkamülə Konservativ Zülallar Apoptoz Yolunda İştirak Edirlər

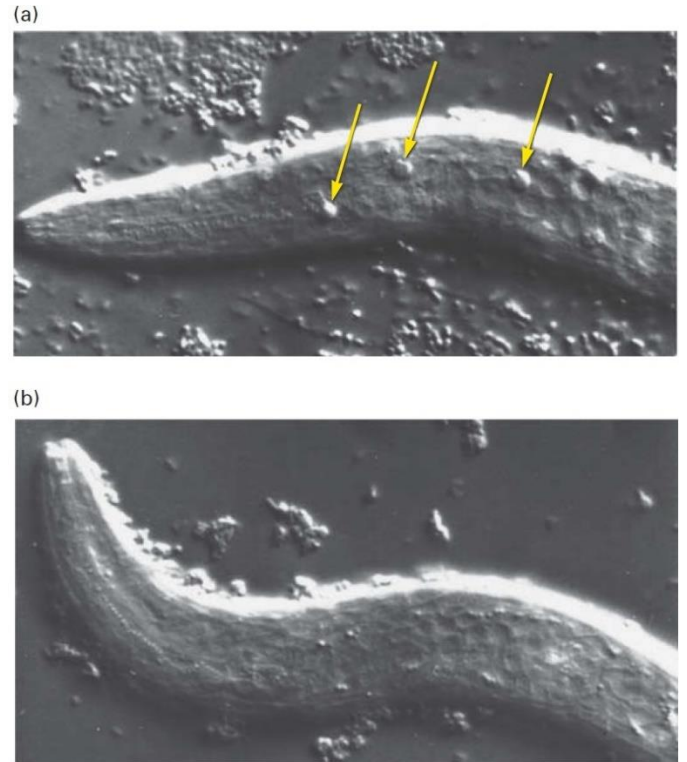
C. elegans-da genetik tədqiqatların və insanda xərçəng hüceyrələri üzrə tədqiqatların birləşməsi göstərdi ki, təkamülə saxlanılmış (konservativ) yol apoptozu həyata keçirir. *C. elegans*-da hüceyrə xətləri möhkəm genetik nəzarət altındadır və növün bütün fərdlərində identikdir. Hüceyrə bölünməsinin təxminən 10 və ya nisbətən az dövrəsində təxminən 1 mm uzunluğa və 70 µm diametrə malik olan yetkin qurd yaranır. Yetkin qurd hermafodit (həm erkək həm də dişi orqanlara malik olan qurd) və ya erkək ola bilər. Hermafodit forma 959 somatik hüceyrə nüvəsinə malik olduğu halda erkək fərddə bu 1031 olur (bax Şəkil 21-25d). Alimlər *C. elegans*-da qurdu inkişafını öyrənməklə hər bir somatik hüceyrə xəttini mayalanmış yumurtadan yetkin qurda qədər DIC mikroskopiyadan istifadə edərək izləmişlər (bax Şəkil 21-25c).

Yetkin hermafodit formanın inkişafın gedişində yaranan 947 qeyri yumurtalıq (nongonadal) hüceyrələrindən 131-i proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə uğrayır. Spesifik mutasiyalar dörd geni aşkar etdilər ki, bunların kodlaşdırdığı zülallar *C. Elegans*-ın inkişafı zamanı proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünün nəzarət olunmasında vacib rol oynayırlar: *ced-3*, *ced-4*, *ced-9* və *egl-1*. Məsələn, *ced-3*, və ya *ced-4* mutantlarda “ölüm məhkum olunmuş” 131 hüceyrə sağ qalır (Şəkil 21-34). Bu mutantlar apoptozun genetik proqram altında olması barədə ilk dəlillərin bir hissəsini təşkil etdi və Robert Horvitzə Nobel Mukafatını qazandırdı. Məməlilərin qurddakı CED-3, CED-4, CED-9 və EGL-1 zülallarına müvafiq olan zülalları Şəkil 21-35-də göstərilir. Biz qurd zülallarının müzakirəsində əlaqələri aydın saxlamağı daha da asanlaşdırmaq üçün bəzən mütərizədə insan zülallarının adını da qeyd edəcəyik.

İlk klonlaşdırılmış məməli apoptoz geni *bcl-2* insanın fəllikular limfomasından, immun sisteminin anticism istehsal edən B hüceyrələrinin şişindən ayrılmışdır. Bu genin mutant forması xəstənin limfoma hüceyrələrində yaranmışdır: xromosomal yenidənüzvlənmədə *bcl-2* geninin zülal kodlaşdırın rayonu bir immunoqlobulin-geninin enhanserinə qoşulmuşdur. Bu kombinasiya Bcl-2 zülalın həddən artıq ekspressiyasına səbəb olmuşdur, bu da xərçəng hüceyrələrinin proqramlaşdırılmış ölümə uğraması zamanı onların sağ qalmasına səbəb olmuşdur. İnsanın Bcl-2 zülalı və qurdu CED-9 zülalı homolojidirlər, hətta bu iki zülal ardıcılığına görə 23 faiz identikliyə malikdirlər, *bcl-2* transgenin *ced-9* mutant qurdlarda ekspressiya olunması onlarda hüceyrə ölümünü blok edə bilər. Hər iki zülal apoptoz yolunu supressiya edən tənzimləyici kimi fəaliyyət göstərir (bax Şəkil 21-35). Bundan başqa, hər iki zülal tək bir transmembran domenə malikdir və əsasən xarici mitoxondrial membranda yerləşirlər, burada onlar xarici stimula qarşı cavab kimi apoptoz yoluna nəzarət edən sensor xidmətini həyata keçirirlər. Bizim növbəti müzakirəmizdə olduğu kimi, başqa tənzimləyicilər də apoptozu təşviq edir.

Qurdu apoptoz yolunda CED-3 (məməlilərdə kaspaza-9) apoptoz zamanı hüceyrə komponentlərini dağıtmaq üçün tələb olunan proteazadır. CED-4 (Apaf-1) proteaza fəallaşdırın faktor

olub qeyri fəal sələf CED-3-ün (zimogen) avtoproteolitik doqranmasına (və ya onunla doqranmaya) səbəb olur, hüceyrə ölümünü inisiyasiya edən fəal CED-3 proteazanı yaradır (bax Şəkil 21-35 və 21-36). *ced-3* və *ced-4* tək mutantlarda və ya *ced-9/ced-3* ikiqat mutantlarda hüceyrə ölümü baş vermir. Əksinə, *ced-9* mutantlarda bütün hüceyrələr embryonal həyat dövründə apoptozla ölür, beləliklə yetkin həyat dövrü heç vaxt inkişaf etmir. Bu genetik tədqiqatlar göstərir ki, CED-3 və CED-4 hüceyrənin ölümü üçün tələb olunan killer zülallardır, CED-9 isə (Bcl-2) apoptozu supressiya edir. *ced-9* mutantlarda bütün hüceyrələrin ölməsi müşahidələri göstərir ki, apoptoz yolu mövcuddur və bədənin bütün hüceyrələrində fəallaşma bilər. Bundan başqa, *ced-9/ced-3* ikiqat mutantlar göstərir ki, CED-9 apoptoz yolunu supressiya etmək üçün CED-3-dən öndə fəaliyyət göstərir.



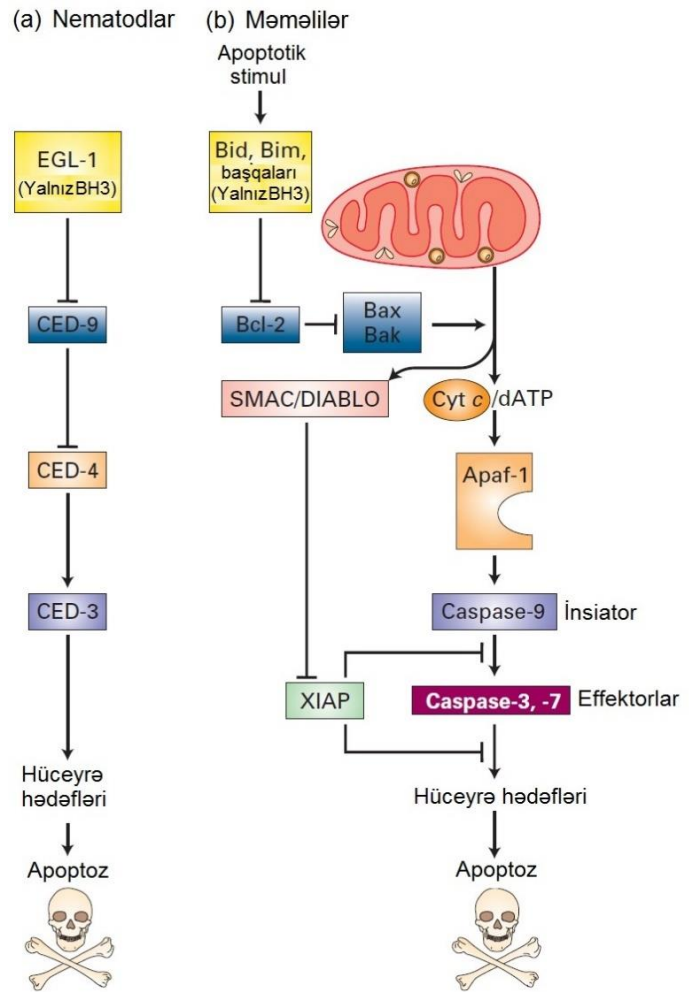
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-34 *C. elegans*-da *ced-3* genindəki mutasiyalar proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünü blok edir. (a) Yumurtadan yeni çıxmış mutant qurdu süfrəsi *ced-1* genində mutasiyanı daşıyır. Bu genin mutasiyası ölmüş hüceyrələrin udulmasına mane olduğundan yüksək refraksiyalı (və beləliklə asanlıqla görünə bilər) ölü hüceyrələr toplanırlar (oxlar). (b) Həm *ced-1* həm də *ced-3* genlərində mutasiya olan yumurtadan yeni çıxmış süfrə. Bu ikiqat mutantda refraksiyalı ölmüş hüceyrələrin olmaması göstərir ki, hüceyrələrin ölməsi baş verməmişdir. Beləliklə CED-3 zülalı proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü üçün tələb olunur. [Elsevier rəzilığı ilə Ellis, H. M. and Horvitz, H. R., “Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*,” *Cell*, 1986, 44(6):817–829-dən yenidən çap olunur; rəzilıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

Nematodda CED-9-un (Bcl-2) CED-3-ə (kaspaza-9) nəzarət etməsi mexanizmi məlumdur və bir az sonra müzakirə olunan məməli hüceyrələrindəki mexanizmdən (bax aşağıda Şəkil 21-41) müəyyən qədər fərqlənir. Nematodun CED-9 zülalı CED-4 (Apaf-1) dimeri ilə kompleks əmələ gətirir, bununla da CED-3-ün CED-4 vasitəsilə fəallaşmasına mane olur (Şəkil 21-36). Nəticədə hüceyrələr sağ qalır. Bu mexanizm CED-3-ün itirildiyi halda CED-9-un mövcud olmasının heç bir təsirinin olmadığını göstərən (*ced-9/ced-3* ikiqat mutantlarda hüceyrə ölümü olmur) genetikaya uyğun gəlir. Trimer CED-4/CED-9 kompleksinin üçölçülü quruluşu CED-4 molekulunun hər biri ilə CED-9 molekulu arasında çox böyük kontakt səthinin olduğunu aşkar edir, böyük kontakt səthi assosiasiyamı yüksək dərəcədə spesifik edir, amma bu elə bir şəkildə olur ki, kompleksin dissosiasiyası tənzimlənə bilsin.

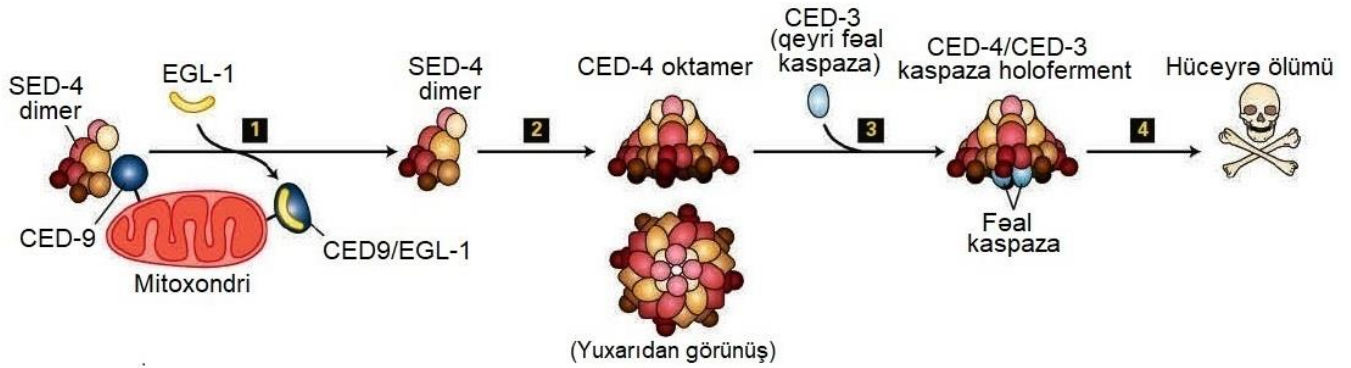
Genetik olaraq təyin edilmiş, apoptozu tənzimləyən dördüncü gen *egl-1*-in transkripsiyası *C. elegans*-ın ölmək üçün proqramlaşdırılmış hüceyrələrində stimullaşdırılır. Yeni istehsal olunmuş EGL-1 zülalı CED-9 ilə birləşir, onun konformasiyasını dəyişir və CED-4-ün CED-9-dan ayrılmasını kataliz edir (bax Şəkil 21-36). Həm EGL-1 həm də EGL-9 12-aminturşu ölçülü BH3 domeninə malikdir. CED-9-da olan başqa domenlərin əksəriyyəti EGL-1-də olmadığından o yalnız-BH3 zülal adlandırıldı. Məməlilərin, funksiyasına və ardıcılığına görə EGL-1-ə yaxın olan yalnız-BH3 zülalları sonra müzakirə edilən Bid və Bim pro-apoptoz zülallarıdır.

EGL-1-in CED-4/CED-9 kompleksini neci dağıtması barədə anlayışlar CED-9 (Bcl-2) kompleksi əmələ gətirən EGL-1-in (məməlilərin Bid/Bim) molekulyar quruluşundan gəlmişdir. Bu kompleksdə BH3 domeni iki zülal arasında əlaqə (kontakt) səthinin əsas hissəsini əmələ gətirir. CED-9 EGL-1 ilə birləşərkən CED-4 ilə birləşdiyi halda fərqli konformasiyaya malik olur. Bu tapıntı göstərir ki, EGL-1-in birləşməsi CED-9-u dəyişir, onun CED-4 ilə qarşılıqlı əlaqəsinin stabilliyini azaldır. EGL-1 CED-4/CED-9 kompleksini dissosiasiya etdikdən sonra, azad olmuş CED-4 dimer digər üç CED-4 dimerlərlə birləşərək oktameri əmələ gətirir, sonra bizim tezliklə müzakirə edəcəyimiz metodla CED-3-ü fəallaşdırır. Hüceyrə ölümü tezliklə davam edir (bax Şəkil 21-36).

Burada təsvir olunan pillələrin apoptozu induksiya etmək üçün kifayət etməsi dəlilləri bu pillələrin təmizlənmiş zülallarla yenidən in vitro qurulması eksperimentlərindən gəlir. CED-3, CED-4, CED-9 zülalların mitoxondri membranında lövbər edən itirilmiş bir seqmenti və EGL-1 zülalları CED-4/CED-9 kompleksində olduğu kimi təmizlənmişdir. Təmizlənmiş CED-4 (Apaf-1) avtoproteolitik doqranmanı sürətləndirmə, təmizlənmiş CED-3-ü (kaspaza-9) isə fəallaşdırma qabliyyətinə malik olmuşdur, amma CED-9-un (Bcl-2) reaksiya mühitinə əlavə edilməsi avtodoqranmanı ingibirləşdirdi. CED-4/CED-9 kompleksi CED-3 ilə qarışdırıldıqda avtodoqranma baş vermədi, amma reaksiya mühitinə EGL-1-in əlavə edilməsi CED-4-ü CED-9-dan ayırmaqla CED-3 vasitəsilə avtodoqranmanı bərpa etdi.



ŞƏKİL 21-35 Apoptozun təkamül konservativliyi. Eyni rənglərdə göstərilmiş oxşar zülallar nematodda və məməlilərdə müvafiq rolunu oynayırlar. (a) Nematodlarda EGL-1 adlandırılan yalnız-BH3 zülalı xarici mitoxondriyal membranda CED-9-a birləşir, bu qarşılıqlı təsir CED-4/CED-9 kompleksindən CED-4-ü ayıraraq buraxır. Sonra sərbəst CED-4 kaspaza CED-3-ə birləşərək avtoproteolitik doqranmanı fəallaşdırır, sonuncu isə zülalları parçalayaraq apoptozu idarə edir. Bu qarşılıqlı əlaqələr genetik yol kimi göstərilir, EGL-1CED-9-u ingibirləşdirir, o isə öz növbəsində CED-4-ü ingibirləşdirir. Fəal CED-4 CED-3-ü fəallaşdırır. (b) Məməlilərdə nematodlara homoloji olan zülallar, eləcə də nematodlarda tapılmamış çox sayda başqa zülallar apoptozu tənzimləyir. Bcl-2 zülalı hüceyrələrin sağ qalmasını təşviq etməklə CED-9-a oxşardır. O bunu qismən Apf-1-in fəallaşmasına mane olmaqla edir ki, bu da CED-4 və müəyyən qədər Şəkil 21-40-da verilmiş başqa mexanizmlərə oxşardır. Şəkil 21-39 və 21-40-da ətraflı göstərilən bir neçə tip yalnız-BH3 zülalları Bcl-2-ni ingibirləşdirir və beləliklə apoptozun davam etməsinə imkan yaradır. Çox apoptik stimullar xarici mitoxondriyal membranı zədələyir, apoptozu stimullaşdırır bir sıra zülalların sitozola buraxılmasına səbəb olur. Xüsusilə mitoxondridən buraxılan sitoxrom c Apaf-1-i fəallaşdırır, o isə öz növbəsində kaspaza-9-u fəallaşdırır. Bu inisiyator kaspaza sonra effektor kaspaza-3 və -7-ni fəallaşdırır, tədricən sonda apoptozu gətirib çıxarır. Nematodlarda homoloji olmayan başqa məməli zülallarının (SMAC/DIABLO və XIAP) müzakirəsi üçün tekstə bax. Bax S. J. Riedl and Y. Shi, 2004, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5:897.



ŞƏKİL 21-36 *C. elegans*-da CED-3 proteazanın fəallaşması.

Hüceyrənin ölümünə səbəb olan inkişaf signalına cavab olaraq istehsal olunan EGL-1 zülalı asimmetrik CED-4 dimerini CED-9-dan dissosiasiya edərək ayırır (pillə 1). Sərbəst CED-4 dimeri üç başqa CED-4 dimerlə birləşərək oktameri əmələ gətirir (pillə 2), o isə iki molekul CED-3 zimogen ilə birləşir (kaspaza proteazanın selefini

fermentativ fəalsızlaşdırır) və CED-3 zimogenin CED-3 proteazaya çevrilməsinə (pillə 3) səbəb olur. Bu effektor kaspaza sonra hüceyrə komponentlərini dağıtmağa başlayır və hüceyrənin ölümünə (pillə 4) səbəb olur. Bax N. Yan et al., 2005, Nature **437**:831 və S. Qi et al., 2010, Cell **141**:446.

Apoptozda EGL-1-in tənzimlənən ekspresiyasının əhəmiyyətini görmək üçün, *C. elegans* hermaforditlərində tapılmış, amma erkəklərdə tapılmamış neyronlar sinifinə baxmaq olar. Bu hermafordit-spesifik neyronlar həm hermafordit həm də erkək embrionda formalaşırlar, amma erkəklərdə proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə məruz qalırlar. Hermaforditlərdə *egl-1* genin bu neyronlarda ekspresiyası TRA-1 transkripsiya faktoru ilə dayandırılır (repressiya olunur), TRA-1A-nın hermaforditlərə əlavə edilməsi isə bu neyronların apoptozu uğramasına səbəb olur. Bu kəşflər əvvəllər edilmiş fikirlərin daha da güclənməsinə səbəb oldu: bütün metazoan hüceyrələri potensial apoptozu uğraya bilirlər, ona görə də bu proses dəqiqliklə tənzimlənə bilər.

Kaspazalar İkin Apoptoz Sinyalını Amplifikasiya Edir və Əsas Hüceyrə Zülallarını Dağıdırlar

Apoptoz yolunda effektor proteazalar, kaspazalar ona görə belə adlandırılmışlar ki, onlar öz katalitik mərkəzlərində mühüm sistein qalıqlarına malikdirlər və zülalları məhz asparat qalığından C-sonluq istiqamətində selektiv kəsirlər. Kaspazalar homodimerlər şəkilində işləyirlər, hər birinin bir domeni digərinin fəal mərkəzini stabilləşdirir. *C. elegans*-da əsas kaspaza CED-3 olduğu halda insanlarda 14 müxtəlif kaspaza vardır. Bütün kaspazalar əvvəlcə *prokaspazalar* şəkilində sintez olunurlar, əksəriyyəti fəal olmaq üçün proteolitik kəsilməni tələb edir. Onurğalılarda fəallaşmış inisiator kaspazalar (məsələn, kaspaza-9) inisiator kaspazaların aqreqasiyasına kömək edən başqa tip zülallarla (məsələn, Apaf-1 ilə) birləşməklə induksiya olunan dimerləşmə ilə fəallaşırlar. Fəallaşmış inisiator kaspaza effektor kaspazaları (məsələn, kaspaza-3) fəallaşdırmaq üçün onları kəsir, bu yolla bir neçə fəallaşmış inisiator kaspazanın proteolitik fəallığı effektor kaspazaların fəallaşması hesabına çox tez və yüksək dərəcədə artır, hüceyrədə ümumi (total) kaspaza fəallığı səviyyəsinin kütləvi artmasına (bax Şəkil 21-35) və hüceyrənin ölməsinə səbəb olur. Hüceyrənin böyük miqdarda zülallarının əksəriyyətini dağıtmaq üçün prokaspazalar inisiyasiya signalını

təşkil edən az sayda molekullarla fəallaşarkən kifayət qədər böyük sayda olurlar. Müxtəlif effektor kaspazalar çoxsaylı müxtəlif zülallarda kiçik amin turşu ardıcılığını tanıyır və doğrayırlar. Onlar üstünlük verdikləri hədəf ardıcılıqlarına görə fərqlənirlər. Onların spesifik hüceyrədaxili hədəflərinə nüvə lamini zülalları və sitoskelet zülalları daxildirlər ki, bunların doğranması hüceyrənin ölməsinə səbəb olur.

Bizim Fəsil 7-də öyrəndiyimiz kimi, (bax səhifə 282) normal halda fosfolipid fosfatidilserin plazma membranının daxili sitozol qatında tapılır. Apoptoz zamanı, eqzoplazmatik qatda fosfatidilserinin miqdarının artması aşkar edilmişdir, burada o "məni ye" signalı kimi fəaliyyət göstərir: o udulmanı inisiyasiya edən qonşu hüceyrənin səthində olan reseptora-bənzər zülala birləşir. Çoxsaylı, hər yerdə ekspresiya olunan *C. elegans* plazma membran zülalı CED-8 və onun məməlilərdəki homoloqu Xkr-8 fosfatidilserinin hüceyrə səthində açıq qalması üçün tələb olunur. Bu fosfolipid flippazalar (bax Şəkil 11-16) normal halda qeyri fəaldır, amma apoptoz zamanı kaspaza-3 və ya kaspaza-7 ilə kataliz olunan çox spesifik kəsilmə ilə fəallaşırlar (bax Şəkil 21-35).

Neytrofinlər Neyronların Sağ Qalmasına İmkan Yaradır

Məməlilərdə, amma nematodlarda yox, apoptoz çoxsaylı ifraz olunan və hüceyrə səthi zülal hormonlarından yaranan hüceyrədaxili siqnallarla və eləcə də ultrabənövşəyi şüalanma və DNT zədələnməsi kimi ətraf mühit stressi ilə tənzimlənir. *C. elegans*-da "özək" (əsas) apoptoz mexanizmi təkamülə məməlilərdə qorunub saxlanıldığından bir-çox hüceyrədaxili zülallar da apoptozu tənzimləyirlər (bax Şəkil 21-35 sağda).

Lakin bu molekulyar detallara daxil olmazdan öncə, biz inkişaf edən sinir sisteminin qısa bir təhlili ilə trofik amillərin apoptozda əhəmiyyətini izah edəcəyik. Neyronlar inkişaf edərək, bəzən kifayət qədər uzaq məsafədən başqa neyronlarla və ya əzələlərlə birləşəndə, sonda sağ qalanlardan daha çox neyronlar inkişaf edir. Çox sensor və motor neyronların hüceyrə cismi onurğa beynində və qovşaq qanqlionlarda yerləşirlər,

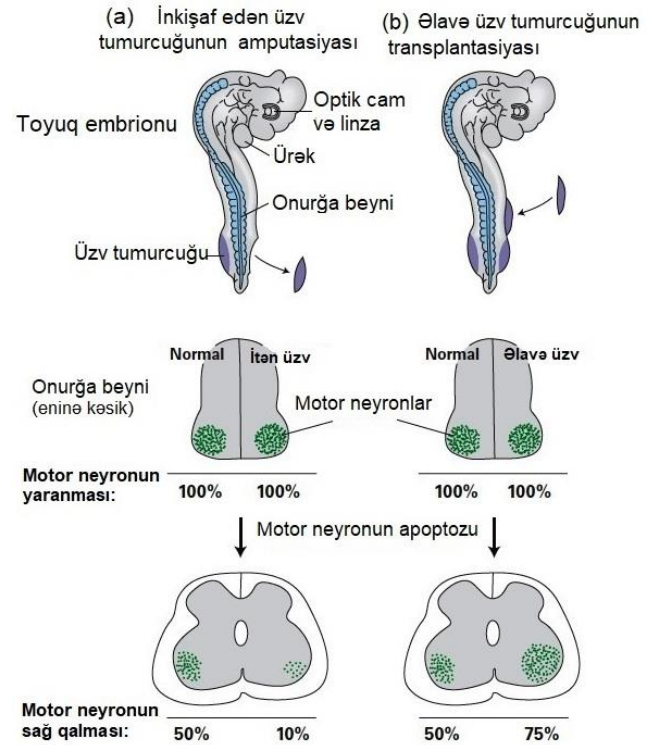
halbuki onların uzun aksonları bu rayonlardan çox kənara uzanır. Sıqnal əlaqələrini əmələ gətirən sinapslar adlanan neyronlar (bax Şəkil 22-3) öz hədəf hüceyrələri ilə birləşərək üstünlük qazanaraq sağ qalırlar, birləşə bilməyənlər isə məhv olurlar.

1900-ci illərin əvvəlində göstərilmişdir ki, periferial hüceyrələrə innervasiya edən neyronların sayı onların birləşdiyi, yəni hədəf sahəsindəki toxumanın ölçüsündən asılıdır. Məsələn, inkişaf edən toyuq embrionunda ətrafları əmələ gətirən tumurcuqların kəsilib atılması tumurcuqlarda innervasiya olunan əzələlərdə həm sensor həm də motor neyronların sayının azalmasına səbəb olur (Şəkil 21-37). Əksinə, əlavə üzv toxumalarının tumurcuqlara calaq edilməsi onurğa beyninin və sensor qanqlionlarının müvafiq rayonunda neyronların sayının artmasına səbəb olur. Həqiqətən də, hədəf-sahəsi ölçüsünün artan çoxalması innervasiya olunan hədəf sahələrində neyronların sayının mütənasib artan çoxalması ilə müşayiət olunur. Aşkar edilmişdir ki, bu qarşılıqlı münasibətlər neyronların differensiasiyasında və ya proliferasiyasındakı dəyişikliklərdən daha çox onların selektiv yaşaması nəticəsində yaranmışdır. Bir-çox sensor və motor neyronları öz periferial hədəf sahələrinə çatdıqdan sonra onların ölməsinin müşahidələri göstərdi ki, bu neyronlar hədəf toxumasının istehsal etdiyi sağ qalma faktorlarına görə rəqabət aparırlar.

Bu erkən müşahidələrin ardınca, alimlər aşkar etdilər ki, siçan sarkomasının (əzələ şişi) toyuğa transplantasiyası müəyyən tip neyronların lokal sayının nəzərə çarpacaq dərəcədə artması ilə nəticələnmişdir. Bu kəşf şişləri ehtimal olunan trofik faktorun bir zəngin mənbəyi kimi qəbul etdi. Sadəcə olaraq sinir boy faktoru (nerve growth factor – NGF) kimi məlum olan bu faktoru ayıraraq təmizləmək üçün alimlər toxuma kulturası yanaşmasından istifadə etdilər və bu zaman sensor qanqlionlarından neuritlərin böyüyüb uzanması ölçüldü. *Neuritlər* neyronal sitoplazmanın genişlənməsidir və böyüyərək sinir sisteminin uzun proseslərinə aksonlara və dentritlərə çevrilirlər (bax Şəkil 22-1). Sonralar aşkar edilmiş siçanın çənəaltı vəzlərinin də böyük miqdarda NGF istehsal etməsi Rita Levi-Montalciniyə imkan verdi ki, onu təmizləsin və ardıcılığını oxusun (sekvens etsin), bu işlərinə görə ona Nobel mükafatı təltif edildi. 118 qalıqdan ibarət olan polipeptidin homodimeri olan NGF funksiyasına və quruluşuna görə yaxın olan və ümumilikdə **neyrotrofinlər** adlanan trofik faktorlar ailəsinə aiddir. Beyindən alınan neyrotrofik faktor (BDNF) və neyrotrofin-3 (NT-3) də bu zülallar ailəsinin nümayəndələridirlər.

Neyrotrofinlər *Trks* (“trəks” tələfuz olunur) tirozinkinaza reseptorlar ailəsinə birləşərək onları fəallaşdırır. (Tirozinkinazaların ümumi quruluşu və onların fəallaşdırdığı hüceyrədaxili siqnal yolları Fəsil 16-da əhatə olunmuşdur.) Hər bir neyrotrofin bir tip Trk reseptorla yüksək affinliklə birləşir: NGF TrkA ilə birləşir, BDNF TrkB ilə, NT-3 isə TrkC ilə birləşir. NT-3 aşağı affinliklə TrkA və TrkB ilə də birləşə bilər. Bütün neyrotrofinlər həmçinin p75^{NTR} adlanan (NTR 5 neyrotrofin də adlanır) fərqli reseptor tipi ilə də birləşə bilərlər, amma aşağı affinliklə, p75^{NTR} müxtəlif Trk reseptorlarla heteromer kompleksi əmələ gətirir. Trofik faktorlarla onların reseptorları arasındakı bu birləşmə münasibətləri müxtəlif sinif neyronlar üçün sağ-qalmaq siqnallarını təmin edir. Sinir eqzonları onurğa beynindən xaricə periferiyaya doğru uzanır,

onların hədəf toxumaları tərəfindən istehsal olunan neyrotrofinlər aksonların uzanan ucunda böyümə konusundakı Trk reseptorlara birləşirlər (bax Şəkil 18-54), öz hədəflərinə uğurla çatan bu neyronların sağ qalmasını təşviq edirlər.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-37 Onurğahlırdakı motor neyronların sağ qalması onların innervasiya etdiyi (oyatdığı) əzələ hədəf sahəsinin ölçüsündən asılıdır. (a) Toyuq embrionunun bir tərəfindən əza tumurcuğunun çıxarılması təxminən 2.5 günə motor neyronların sayının hər iki tərəfdə nəzərə çarpacaq dərəcədə azalması ilə nəticələndi. Amputasiya olunmuş embrionda (*yuxarıda*) motor neyronların normal sayı hər iki tərəfdə yaranır (*ortada*). Amma, inkişafın sonrakı dövründə onurğa sütununun normal tərəfinə nisbətən ətrafi itirilmiş tərəfində çox az motor neyronları qalır (*aşağıda*). Qeyd edək ki, yaranmış motor neyronların yalnız 50 faizə yaxını sağ qalır. (b) Erkən toyuq embrionuna əlavə əza tumurcuğunun transplantasiyası əks effekti yaradır, normal tərəflə müqayisədə əlavə hədəf toxuma ilə əlaqədar olaraq daha artıq motor neyronlar əmələ gəlir. Bax D. Purves, 1988, *Body and Brain: A Trophic Theory of Neural Connections*, Harvard University Press, and E. R. Kandel, J. H. Schwartz, and T. M. Jessell, 2000, *Principles of Neural Science*, 4th ed., McGraw-Hill, s. 1054, Şəkil 53-11.

İnkişafda neyrotrofinlərin rolunu tədqiq etmək üçün alimlər hər bir neyrotrofin üçün və ya reseptorlar üçün nokaut mutasiyalı siçanları yaratdılar. Bu tədqiqatlar aşkar etdi ki, müxtəlif neyrotrofinlər və onların müvafiq reseptorları müxtəlif sinif sensor neyronların sağ qalması üçün tələb olunurlar (Şəkil 21-38). Məsələn, TrkA ekspressiya edən ağrıya-həssas (nosiseptiv) neyronlar NGF və ya TrkA itirilmiş nokaut siçanlarda dorsal (bel) kök qanqlionundan selektiv itirlər, amma bu nokautlarda TrkB və TrkC-ekspressiya edən neyronlara təsir olunmur. Əksinə, ətrafların mövqeyini (yerləşməsinə) aşkar edən

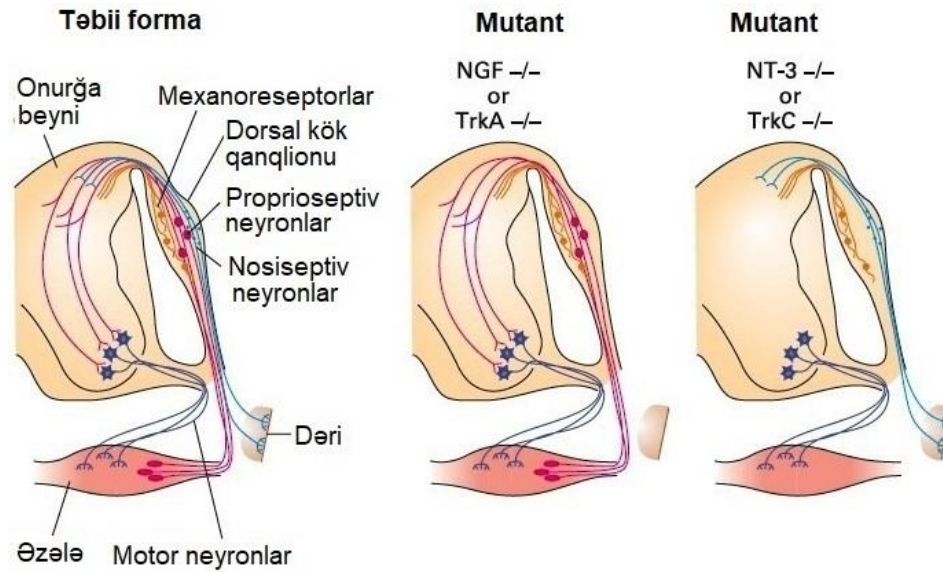
proprioseptiv neyronlar olan TrkC-ekspressiya edən neyronlar *TrkC* və *NT-3* mutantlarda dorsal (bel) kök qanqlionundan itir.

Mitoxondri Onurğalılarının Hüceyrələrində Apoptozun Tənzimlənməsində Mərkəzi Rol Oynayır

Əvvəllər müzakirə olunduğu kimi, *C. Elegans* CED-9 və onun məməlilərdəki homoloqu Bcl-2 apoptozun repressiyasında mərkəzi rol oynayır. CED-9 bunu nematodlarda CED-4 ilə birləşərək onun fəallığını blok etməklə həyata keçirir. Onurğalılarda xarici mitoxondrial membranda məskunlaşmış Bcl-2 əsasən, sitoxrom *c* və membranlararası boşluqda yerləşən başa zülalların (bax Şəkil 12-22) sitozola diffuziya edib keçməsinə və orada apoptoz kaspazalarını fəallaşdırmasına

mane olan membranın aşağı keçiriciliyini saxlamaq üçün fəaliyyət göstərir.

Bcl-2-nin bu funksiyasını necə yerinə yetirdiyini və Bcl-2-nin fəallığının trofik faktorlarla və eləcə də çoxsaylı ətraf mühit stimulları ilə necə tənzimləndiyini izah etmək üçün bizə Bcl-2 ailəsi zülallarının bir sıra başqa əhəmiyyətli nümayəndələri ilə tanış olmaq lazımdır. Bcl-2 ailəsinin bütün nümayəndələri *Bcl-2* homoloji domenlər (BH1-4; Şəkil 21-32) adlanan dörd xarakterik rayonda çox yaxın homolojiya malikdirlər. Bu zülalların hər biri ya anti-apoptoz ya da pro-apoptoz funksiyasına malikdir. Bu ailənin bütün nümayəndələri oliqomer qarşılıqlı təsirdə iştirak edir, çoxu C-sonluğunda hidrofob ardıcılığa malikdir ki, bu da zülalı xarici mitoxondri membranına lövbər edir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 21-38

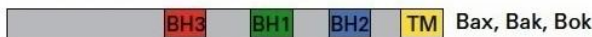
Sensor neyronların müxtəlif sinifləri müxtəlif trofik faktorların və ya reseptorların itirildiyi nöqtədə itir. Sinir boy faktorunu (NGF) və ya onun TrkA reseptorunu itirmiş heyvanlarda dərinə innervasiya edən kiçik nosiseptiv (ağrı hiss edən) neyronlar (açıq mavi) itir. Bu neyronlar TrkA reseptorunu ekspressiya edir və NGF-istehsal edən hədəf toxumaları innervasiya edir. Neyrotrofin-3 (NT-3) və ya onun TrkC reseptorunu itirmiş heyvanlarda əzələ şpindelini innervasiya edən böyük proprioseptiv neyronlar (qırmızı) itir. Əzələ toxumaları NT-3 istehsal edir, proprioseptiv neyronlar isə TrkC-ni ekspressiya edir. Bu mutantlarda dorsal (bel) kök qanqlionunda başqa sinif sensor neyronlar olan mexanoreseptorlara (narıncı, bax Şəkil 22-32) heç bir təsir olmur. Bax W.D. Snider, 1994, Cell 77:627.

Sağ qalan üzvlər



Pro-apoptoz üzvlər

Mitoxondrial xarici membranda kanaldan



Yalnız-BH3 zülallar: Bcl-2 və Bax/Bak zülallarının fəallığını tənzimləyir



ŞƏKİL 21-39 Bcl-2 ailəsi zülalları nümayəndələrinin quruluşu.

Funksional Bcl-2 homoloji domenlərə (BH1-4) malik olan zülalların təşkil etdiyi Bcl-2 ailəsinə üç sinifə bölmək olar. Bütün pro-apoptotik və anti-apoptotik zülallar, amma yalnız bəzi yalnız-BH3 zülallar onları xarici mitoxondri membranına lövbər edən hidrofob və ehtimal ki, transmembran (TM) domənə malikdirlər. Bax M. Giam et al., 2009, *Oncogene* 27:S128.

Bax və Bak Pro-apoptotik Zülallar Xarici Mitoxondri Membranında Məsamələri və Deşiyi Əmələ Gətirirlər

Onurğalılarının hüceyrələrində Bax və Bak mitoxondrinin zədələnməsi və apoptozun başlanması üçün tələb olunur. Bu iki oxşar pro-apoptotik zülalın üç BH1-4 domenləri vardır (bax Şəkil 21-39) və ailənin anti-apoptotik nümayəndələri ilə çox oxşar üç-ölçülü quruluşa malikdirlər. Apoptozun baş verməsi üçün bu zülalların rolu barədə sübut kimi həm Bax həm də Bak zülallardan məhrum olan əksər siçanların ana bətnində uşaqlıqda ikən ölmələrini, sağ qalanların isə güclü inkişaf qüsurları, o cümlədən barmaqlararası pərdənin bütövlüyünü, mərkəzi sinir və hematopoietik sistemlərdə əlavə hüceyrələrin toplanmasını nümayiş etdirmələrini göstərmək olar. Bu siçanlardan ayrılmış hüceyrələr virtual olaraq bütün apoptotik stimula qarşı dözümlü olurlar. Əksinə, kultura olunan hüceyrələrdə Bax zülalının həddən artıq ekspressiya olunması apoptozla ölümü induksiya edir.

Bak zülalı xarici mitoxondri membranında məskunlaşır, normal halda Bcl-2 ilə və ya ona yaxın olan Bcl-xL ilə sıx şəkildə

birleşmiş olur (Şəkil 21-40). Bcl-2-dən azad olduqda — istər həddən artıq mövcud olmaqla, bəzi yalnız-BH3 zülalların Bcl-2 ilə birləşməsi yolu ilə əvəz olduqda, istərsə də başqa bir yalnız-BH3 zülallara birləşdikdə — Bak xarici mitoxondri membranında məsamələr yaranan oliqomerləri əmələ gətirir. Bax əsasən sitozol zülalıdır, yalnız çox az fraksiyası mitoxondriya qoşulmuşdur, sonra müzakirə olunan, bəzi proapoptotik zülalların bağlanması Bak-a oxşar olaraq Bax-ın da oliqomerləşməsinə səbəb olur və xarici mitoxondri membranına girərək məsamələri əmələ gətirir.

Fəsil 12-dən yada salaq ki, mitoxondri mütamadi olaraq qovuşmaya və eləcə də bölünməyə uğrayır (sonrakı, iki qız mitoxondri bir-birindən ayrılarda olur). Bak və Bax hər ikisi oliqomerləşərkən mitoxondrial bölünmə saytında toplanırlar, bu saytlarda xarici membranda dəşiklərin yaranmasına səbəb olurlar. Xarici mitoxondri membranında həm məsamələr həm də dəşiklər, normal halda sağlam hüceyrələrdə membranlararası boşluqda yerləşən sitoxrom *c* kimi mitoxondrial zülalların sitozola buraxılmasına imkan verir.

Şəkil 21-35-də verildiyi kimi, azad olmuş sitoxrom *c* qismən Apaf-1 ilə birləşərək onu fəallaşdırmaqla, qismən də hələ məlum olmayan mexanizmlə kaspaza-9-u fəallaşdırır. Bu tənzimlənmə yolunun sübutu kultura olunan hüceyrələrdə Bcl-2-nin həddən artıq istehsal olunmasının sitoxrom *c*-nin buraxılmasını blok etməklə apoptozu blok etməsidir, əksiünə, Bax-ın həddən artıq istehsal olunması sitoxrom *c*-nin sitozola buraxılmasını gücləndirməklə apoptozu gücləndirməsidir. Bundan başqa, sitoxrom *c*-nin birbaşa hüceyrə sitozoluna inyeksiya olunması apoptozu induksiya edir.

Mitoxondridən Sitoxrom *c* və SMAC/DIABLO Zülallarının Buraxılması Apoptosomun Yaranmasına və Kaspazanın Fəallaşmasına Səbəb Olur

Sitozolda sitoxrom *c*-nin apoptozu fəallaşdırdığı əsas yol onun məməlilərdə CED-4-ün analoqu Apf-1 ilə birləşməsidir (bax Şəkil 21-35, *sağda*). Sitoxrom *c* olmadıqda monomer Apf-1 dATP ilə birləşir. Sitoxrom *c* birləşdikdən sonra, Apf-1 ona birləşmiş dATP-ni dADP və P_i-a parçalayır və disk-formalı heptamerin apoptosom adlanan 1.4-Mda-luq ölüm təkərinin dramatik şəkildə toplanmasına uğrayır (Şəkil 21-41). Apoptosom, qeyri fəal vəziyyətdə monomer olan insiator kaspazası olan kaspaza-9 üçün fəallaşdırma maşını kimi fəaliyyət göstərir. İnsiator kaspazalar fəallaşdırma siqnalına həssas olmalıdırlar, amma geriye dönməz şəkildə fəallaşmamalıdırlar, çünki təsadüfi fəallaşma arzuolunmayan qartopu effektinə və sürətli hüceyrə ölümünə səbəb ola bilər. Əhəmiyyətlidir ki, kaspaza-9 fəallaşmaq üçün doğranmanı tələb etmir, əksinə apoptosomun birləşməsindən sonra dimerləşməklə fəallaşır. Sonra, kaspaza-9 kaspaza-3 kimi effektor kaspazanın bir-çox molekullarını kəsb ayırır (bax Şəkil 21-35 və 21-40), onların fəallaşmasına müvafiq olaraq hüceyrə zülallarının parçalanmasına və hüceyrə ölümünə səbəb olur. Nematodda müvafiq apoptosom CED-4-ün üç-ölçülü quruluşu (Şəkil 21-41c) iki CED-3 prokaspazanın qif-şikilli oktamer daxilində bir-

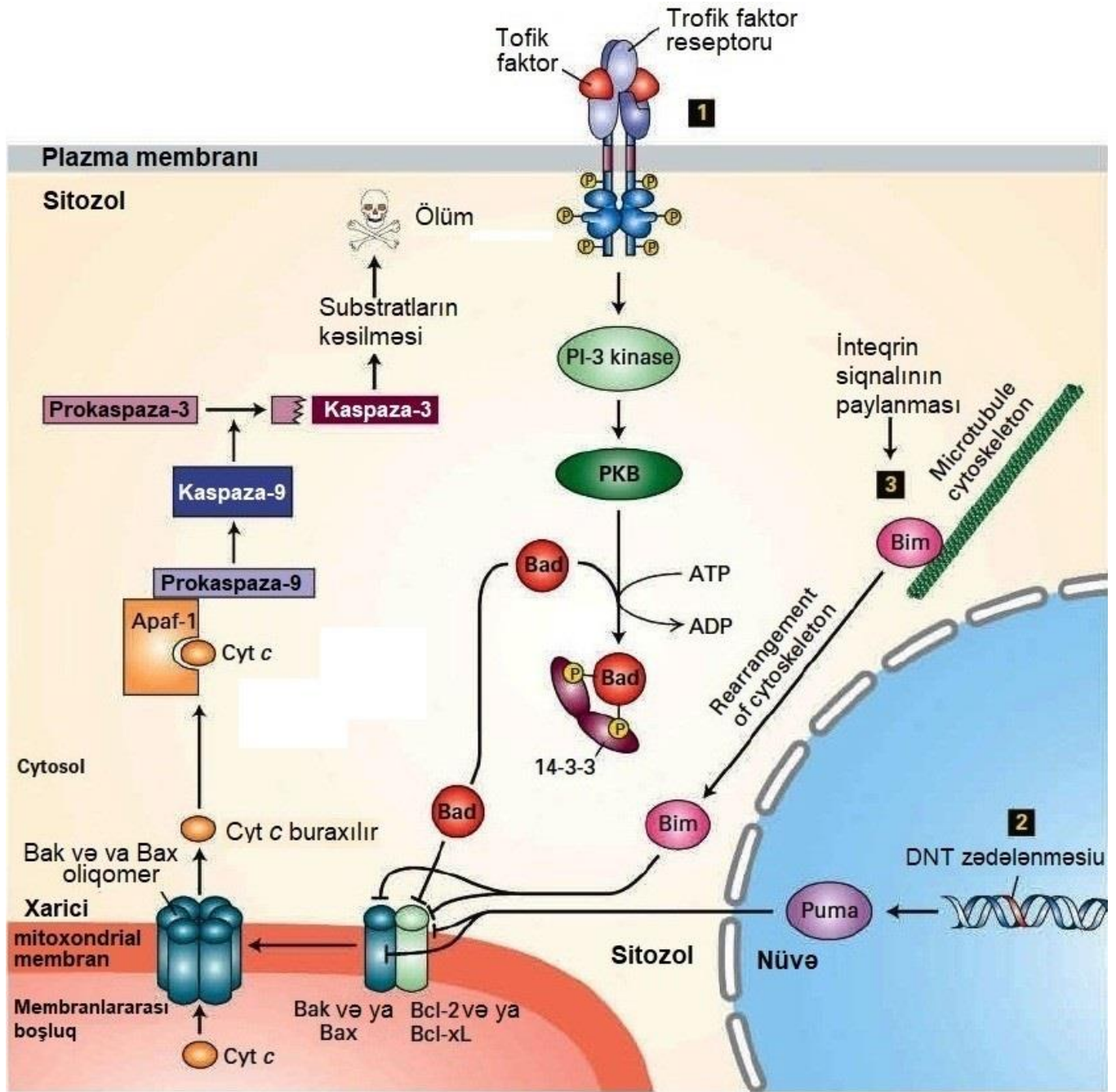
birinə necə yaxın bağlandığını göstərir, sonra bu molekullar dimerləşmə və proteolitik çevrilmə yolu ilə bir-birini fəallaşdırır. CED-4 apoptosomun quruluşu məməlilərin müvafiq apoptosomunun hələ də məlum olmayan üç-ölçülü quruluşunun modelini təmin edir (Şəkil 21-41b, *sağda*).

Nematodlarda deyil, məməlilərdə və milçəklərdə apoptoz bir sıra başqa zülallarla tənzimlənir (bax Şəkil 21-35, *sağda*). Apoptoz zülallarının ingibitoru (IAP) ailəsinin bir nümayəndəsi XIAP inisiator və effektor kaspazaları məhdudlaşdırmaq (cilovlanmasının) başqa bir yolunu təmin edir. XIAP üç N-sonluq BIR domeninə malikdir, onlardan BIR2 adlanan biri iki effektor kaspaza – kaspaza-3 və kaspaza-7 ilə birləşərək onları ingibirləşdirir, amma digəri, BIR3 inisiator kaspaza-9 ilə birləşərək onu ingibirləşdirir. (IAP ailəsinin başqa nümayəndələri TNF α ilə induksiya olunan apoptozu ingibirləşdirir, bax Şəkil 21-42 aşağıda). Amma, kaspazaların IAP-larla ingibirləşməsi hüceyrələr apoptozu getmək istəyərkən problem yaradır. Mitoxondrilər bu təsvirdə təkrar meydana çıxır, çünki onlar IAP-ları ingibirləşdirən, SMAC/DIABLO adlanan zülallar ailəsinin mənəbidirlər. Bax və ya Bak oliqomerlərin toplanması (bax Şəkil 21-40) SMAC/DIABLO-nun və eləcə də sitoxrom *c*-nin mitoxondrilərdən buraxılmasına sərbəst olur. Sonra SMAC/DIABLO sitozolda XIAP ilə birləşir, onun kaspazalarla birləşməsinə blok edir. XIAP ilə həyata keçən ingibirləşmənin buraxılmasıyla SMAC/DIABLO-lar kaspaza fəallığını və hüceyrə ölümünü təşviq edir.

Trofik Faktorlar Pro-apoptotik Yalnız-BH3 Zülalı Bad-ın Fəalsızlaşmasını İnduksiya Edir

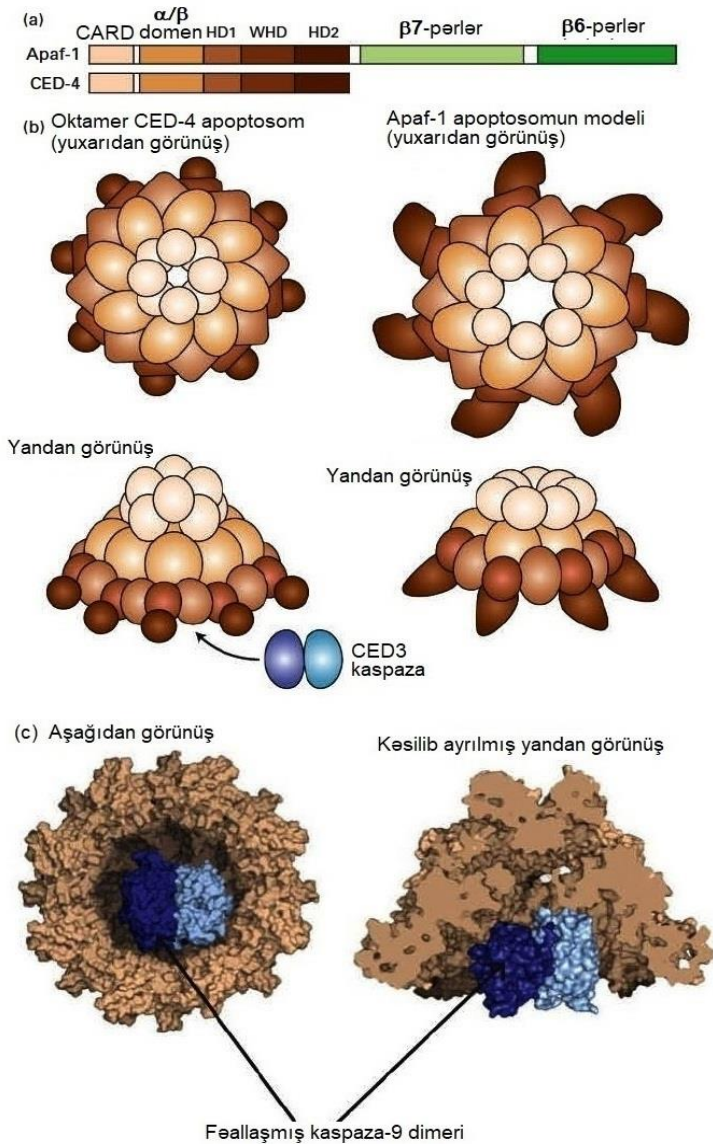
Biz əvvəllər gördük ki, NGF kimi neyrotrofinlər neyronları hüceyrə ölümündən mühafizə edir, bu effekt Bad adlanan Pro-apoptotik Yalnız-BH3 Zülalı vasitəsilə həyata keçirilir. Trofik faktorlar olmadıqda, Bad fosforlaşmamış vəziyyətdə olur və xarici mitoxondri membranında Bcl-2 ilə və ya ona çox yaxın olan anti-apoptotik zülal Bcl-x_L ilə birləşmiş olur (bax Şəkil 21-40). Bu birləşmə Bcl-2 və Bcl-x_L-in Bax və Bak ilə birləşmək qabiliyyətini ingibirləşdirir, bununla da Bak və Bax-ın oliqomerləşməsinə və xarici mitoxondri membranında məsamələr və ya dəşiklər yaratmasına imkan yaradır.

NGF daxil olmaqla bir sıra trofik faktor PI-3 kinaza yolunu induksiya edir, proteinkinaza B-nin fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 16-29). Fəallaşmış proteinkinaza B Bad zülalını fosforlaşdırır, fosforlaşmış Bad Bcl-2 ilə və ya Bcl-x_L ilə birləşə bilmir və sitozolda fosfoserin-birləşdirən zülal 14-3-3 ilə kompleks şəkildə sitozolda olur (bax Şəkil 16-24). Bu yolun sübutu kimi, proteinkinaza B-nin konstitutiv fəal forması, apoptozu məruz qalmalı olan neyrotrofindən-məhrum olan kultura olunan neyronları xilas edə bilər. Bu kəşf trofik faktorların Şəkil 21-40-da göstərilən sağ qalma fəaliyyətinin mexanizmini dəstəkləyir. Başqa hüceyrə tiplərində, fərqli trofik faktorlar hüceyrə-ölümü mexanizminin başqa komponentlərinin post-translyasiya modifikasiyası yolu ilə hüceyrənin sağ qalmasını təşviq edə bilər.



ŞƏKİL 21-40 Onurğahlıların hüceyrələrində xarici mitoxondri membranının keçiriciliyini və apoptozu tənzimləyən çoxsaylı siqnal yollarının inteqrasiyası. Sağlam hüceyrələrdə, anti-apoptotik zülal Bcl-2 və ya onun homoloqu Bcl-xL Bak və ya Bax pro-apoptotik zülallara birləşir, Bak və Bax-ın oliqomerləşməsinə və xarici mitoxondri membranında məsələrin yaranmasına mane olur. Bir sıra yalnız-BH3 zülalların istənilən hər hansı birinin, o cümlədən Bad, Bim və Puma-nın Bcl-2 ilə və ya birbaşa Bak və ya Bax ilə birləşməsi Bak və ya Bax-ın Bcl-2-dən dissosiasiya olunmasına və xarici mitoxondri membranında oliqomer məsələləri və dəşikləri əmələ gətirməsinə səbəb olur. Bu dəşiklər sitoxrom c-nin sitozola keçməsinə imkan yaradır və burada o Apaf-1 adaptor zülalına birləşir, apoptotik kaskadı inisiyasiya edən kaspaza fəallaşmasına səbəb olur və hüceyrə ölümünə gətirib çıxarır. Bir sıra stimül apoptotik yolu işə salır və ya dayandırır. Pilla 1 Spesifik trofik faktorların (məsələn, NGF) mövcud olması onların doğma reseptoru tirozin kinazaların (məsələn, TrKa)

fəallaşmasına və PI-3 kinaza-PKB (proteinkinaza B) yolunun fəallaşmasına (bax Şəkil 16-29) səbəb olur. PKB Bad zülalını fosforlaşdırır, fosforlaşmış Bad isə sonra sitozol zülalı 14-3-3 zülalı ilə kompleks əmələ gətirir. Bu izolyasiya olunmuş Bad Bcl-2 ilə birləşə bilmir. Trofik faktorlar olmadıqda, fosforlaşmamış Bad Bcl-2 ilə birləşir, Bax və Bak-ı azad edir və onlara oliqomer membran məsələlərini və dəşikləri yaratmağa imkan verir. Pilla 2 DNT zədələnməsi və ya ultrabənövşəyi şüalanma yalnız-BH3 Puma zülalının sintezinin induksiya olunmasına səbəb olur. Puma Bak və Bax ilə, həmçinin Bcl-2 ilə birləşir, Bak və Bax-a oliqomer məsələləri yaratmağa imkan verir. Pilla 3 Hüceyrənin öz substratından ayrılması inteqrin siqnalını qırır, yalnız-BH3 Bim zülalını sitoskeletdən buraxılmasına səbəb olur. Bim həmçinin məsələ əmələ gəlməsini gücləndirmək üçün Bak və Bax ilə birləşir. Bax D. Ren et al., 2010, *Science* 330:1390 və Czabootar et al., 2014, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 15:49.



ŞƏKİL 21-41 Nematod apoptosomunun quruluşu və məməlilərin Apaf-1 apoptosomunun quruluş modeli. (a) CED-4 zülalının və məməlilərin müvafiq Apaf-1 zülalının domenləri; CARD – N-sonluq kaspaza səfərbər domeni (N-terminal *caspase recruitment domain*) deməkdir. Oligomer apoptosomda bu CARD domenlər kaspazadakı CARD domenlərə birləşir. (b) CED-4 apoptosomun diaqramı (*solda*) və məməlilərdəki müvafiq apoptosomun (*sağda*) modeli. (c) Nematodun oktamerdəki müvafiq apoptosomunun üç-öçlü quruluşu iki CED-3 prokaspazaların birləşməsini göstərir. Apoptosomun CED-3 ilə qarşılıqlı təsiri onun fəallaşması üçün lazım olan CED-3 dimerləşməni stimullaşdırır. [Verilənlər S. Qi et al., 2010, *Cell* **141**:446, PDB ID 3lqr-dən.]

Apoptoz Onurğalılarda Ətraf Mühit Stressi ilə Fəallaşan Yalnız-BH3 Pro-apoptotik Zülallarla Tənzimlənir

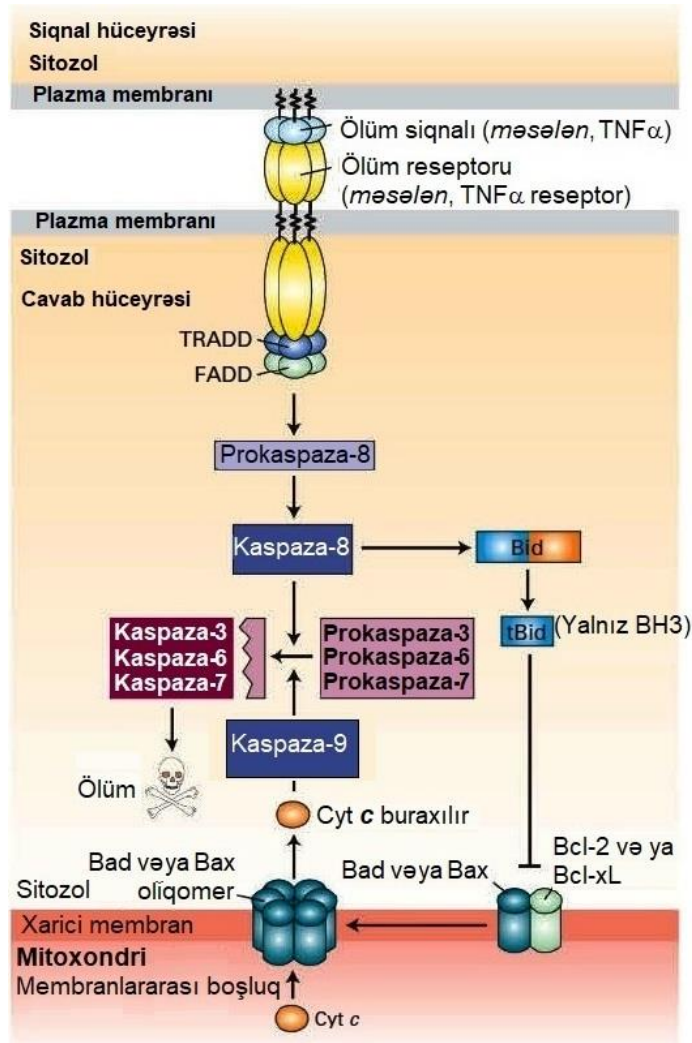
Nematodlar tək bir yalnız-BH3 zülal EGL-1-ə malik olduqları halda məməlilər Bad zülal da daxil olmaqla ən azı səkgiz zülal hüceyrə tipi-spesifik və stress-spesifik üslubda ekspressiya edirlər. Bu zülalların pro-apoptotik fəallığı geniş müxtəliflikdə transkripsiya və post-transkripsiya mexanizmləri ilə sıx şəkildə tənzimlənir. İki yalnız-BH3 zülalı Puma və Noxa (bax Şəkil 21-40) transkripsiya səviyyəsində p53 zülalı ilə tənzimlənir (bax Şəkil 19-29). Bu qarşılıqlı əlaqə reparasiya olunmayan DNT zədələnməsinin apoptozu indiksiya edə biləcəyi nəzarət nöqtəsi yolunun bir hissəsidir, beləliklə bir çox xərçənglərdə görünən p53-ün itməsi hüceyrələrin ağır DNT zədələnməsi zamanı yaşamasına imkan verir (bax Şəkil 24-27). Başqa bir yalnız-BH3 zülal Bim normal halda dinein yüngül zəncirinə birləşərək mikroborucuq sitoskelet tərəfindən (bax Şəkil 18-24) müsadirə (sekvester) olunur. Hüceyrələrin öz substratından qoparılıb ayrılması inteqrin siqnalını qırır, sitoskeleti yenidən qurur və

Bim-in buraxılmasına səbəb olur. Həm Puma həm də Bim birbaşa Bak və Bax ilə, eləcə də Bcl-2 ilə birləşir, Bcl-2-dən Bax və Bak-1 buraxır və xarici mitoxondri membranında məsamələrin və deşiyin yaranmasına imkan verir (bax Şəkil 21-40). Beləliklə, məməlilərin hüceyrələrində apoptoz Bcl-2 və Bcl-xL kimi anti-apoptotik zülalların və çoxsaylı pro-apoptotik yalnız-BH3 zülalların fəallıqlarının çox dəqiq tarazlığı ilə tənzimlənir.

Hüceyrə Qətlinin İki Tipi Şiş Nekrozis Faktoru Fas Liqandı və Onunla Bağlı Ölüm Siqnalları Tərəfindən İşə Düşür

Hüceyrə ölümü sağ qalma faktorları olmadıqda (difolt olaraq) yarana bilsə də, apoptoz müsbət təsir göstərən *ölüm siqnalları* ilə də stimullaşdırıla bilər. Məsələn, makrofaqlar tərəfindən buraxılan şiş nekroz faktoru alfa (TNF α) müəyyən xroniki iltihab xəstəlikləri zamanı görünən hüceyrə ölümünü və toxuma dağılmasını işə salır (bax Fəsil 23). Başqa bir ölüm-induksiya

edən mühüm siqnal Fas liqand fəallaşmış təbii killer hüceyrələri və sitotoksik T limfositlər tərəfindən istehsal olunan hüceyrə səth zülalıdır. Bu siqnal virusla yoluxmuş hüceyrələrin, bəzi şif hüceyrələrinin, həmçinin xarici calaq (transplantat) hüceyrələrin ölümünü işə salır. Hüceyrənin tipindən asılı olaraq ölüm apoptoz və ya nekroz ola bilər.



ŞƏKİL 21-42 Hüceyrənin öldürülməsi: xarici apoptoz yolu. Xarici (və ya ölüm reseptoru ilə tənzimlənən) apoptoz yolu çox hüceyrə tiplərində tapılmışdır. Bu nümunədə bir hüceyrənin səthindəki TNF α -nın digər qonşu hüceyrənin səthindəki TNF α ölüm reseptoruna birləşməsi adaptor zülalı TRADD (TNF reseptorla-assosiasiyalı ölüm domenli zülal) və FADD (Fas-assosiasiyalı ölüm domenli zülal) zülalların səfərbər olunmasına və inisiator kaspaza-8-in dimerləşməsinə və fəallaşmasına səbəb olur. Fəal kaspaza-8 sonra effektor kaspazalar-3, -6, və -7-ni kəsərək fəallaşdırır, onlar da həyati əhəmiyyətli hüceyrə zülallarını doğrayaraq hüceyrə ölümünü induksiya edirlər. Yalnız-BH3 zülal olan Bid (BH3-qarşılıqlı təsir-domeninə malik olan ölüm aqonisti) zülalının kaspaza-8 ilə kəsilməsi xarici mitoxondri membranında Bcl-2 ilə birləşən tBid fraqmentini yaradır, sitoxrom c-nin sitozol daxilinə buraxılmasına səbəb olur və daxili apoptoz yolunu da fəallaşdırır (bax Şəkil 21-39). Bax P. Bouillet and L. O'Reilly, 2009, *Nat. Rev. Immunol.* **9**:514, and A. Ashkenazi and G. Salvesen, 2014, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **30**:20.

Həm Şəkil 21-42-də verilmiş TNF α , həm də Fas liqand (həmçinin CD95 adlanan liqand) qonşu bitişik hüceyrədəki “ölüm reseptoruna” birləşən bir hüceyrənin səthində mövcud olan trimer zülallardır. Bu ölüm reseptorlarının tək bir transmembran domeni vardır və trimer liqandın birləşməsi üç reseptor molekulu bir-birinə yaxın məsafəyə gətirəndə fəallaşır. Fəallaşmış trimer ölüm reseptoru kompleksi sonra Fas-assosiasiyalı ölüm domenli zülalı (FADD) və TNF reseptor-assosiasiyalı ölüm domenli zülalı (TRADD) adlanan sitozol zülalına birləşir və başqa siqnal zülallarına da malik olan böyük oliqomer kompleksi əmələ gətirir. (TRADD başqa reseptorlarla deyil, TNF α -nın reseptoru kimi bəzi ölüm reseptorları ilə apoptozu induksiya etmək üçün tələb olunur.) Sonra FADD inisiator kaspazası kaspaza-8-i səfərbər edib fəallaşdırmaq üçün adaptor kimi fəaliyyət göstərir. Digər inisiator kaspazası kaspaza-9 kimi, kaspaza-8 də iki molekulun fəal ölüm reseptoru trimerinə səfərbər olunan FADD zülallarına birləşməsinin ardınca dimerləşməklə fəallaşır. Fəallaşdıqdan sonra, kaspaza-8 bir sıra effektor kaspazaları fəallaşdırır və amplifikasiya kaskadı başlanır.

Kaspaza-8 həmçinin yalnız-BH3 zülal olan BH3-qarşılıqlı təsir-domenli ölüm aqonistini (Bid) də kəsir. Nəticədə alınan tBid fraqmenti sonra xarici mitoxondri membranında Bcl-2 ilə birləşir, Bak/Bax məsələlərin və dəşiklərin yaranmasına, sitoxrom c-nin sitozola buraxılmasına və eləcə də daxili apoptoz yolunun fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 21-40).

Fas liqandın ölüm reseptorunun hüceyrə ölümünü induksiya etmək qabiliyyətini sınaqdan keçirmək üçün tədqiqatçılar hüceyrələri reseptora qarşı olan anticismlə inkubasiya etdilər. Öz döğmə reseptorlarına birləşən və onları çarpaz bağlayan bu anticismlərin hüceyrə ölümünü stimullaşdırdığı aşkar edildi, bu onu göstərir ki, bu reseptorun oliqomerləşməklə fəallaşması apoptozun işə salınması üçün kifayətdir.

Bir çox tədqiqatçılar üçün təccübləndirici oldu ki, daxili kaspaza-8-i olmayan hüceyrələrdə TNF α -nın əlavə edilməsi apoptozu deyil nekroptozu işə saldı. Bu yol Şəkil 21-42-də göstərilən, TNF α , TNF α -reseptor və TRADD daxil olan, amma FADD və ya kaspaza-8 daxil olmayan eyni zülal kompleksi ilə inisiyasiya olundu. Bir sıra siqnal ötürən zülallar bu yola daxildirlər, bunlardan əhəmiyyətli olan bir zülal RIP1 (*Requiescat in pace 1 – Sakitlikdə istirahət 1*) kinazadır. Fəallaşarkən RIP1 ikinci kinazanı, RIP3 kinazanı fosforlaşdırır, RIP3 isə MLKL adlanan daha mühüm bir zülalı fosforlaşdırır. Fosforlaşma MLKL-in oliqomer əmələ gətirməsinə səbəb olur, bu onu plazma membranına daxil edir və Ca²⁺ keçməsinə imkan yaradan deşik əmələ gətirir. Ca²⁺ daxilə axması hüceyrənin və onun orqanoidlərinin şişməsinə və partlamasına, onun daxili komponentlərinin hüceyrəxarici mühitə axmasına səbəb olur. Xaricə axmış bu hüceyrədaxili zülalların bəziləri immun sisteminin hüceyrələrini fəallaşdırır və toxumanın iltihabına və zədələnməsinə səbəb olur. Nekroptoz nəticəsində baş verən iltihab bir sıra insan xəstəliklərində, o cümlədən neyrodegenerasiya və proqressiv ateroskleroz zədələnmələrində iştirak edir. Fəsil 16-da müzakirə etdiyimiz kimi, TNF α -nın zülal ingibitorları bir çox iltihab xəstəliklərinin müalicəsində geniş istifadə olunur, RIP1-kinazanın ingibirləşməsi nekroz və iltihabla xarakterizə olunan insan xəstəliklərinin müalicəsi üçün başqa bir ümüdverici yanaşmadır.

Bəs, nəyə görə belə ziyanlı siqnal yolu əvvəldən yaranıb inkişaf etmişdi? Populyar teoriyalardan (nəzəriyyələrdən) biri, bir sıra virusun və başqa patogenlərin virusun replikasiya etməsinə və yoluxmanın ətraf qonşu hüceyrələrə yayılmasına mane olan kaspaza-8-i fəalsızlaşdıraraq və beləliklə yoluxmuş hüceyrənin apoptoz yolu ilə ölməsinə mane olunan zülalları kodlaşdırması ilə bağlı oldu. Yalnız kaspaza-8-in olmadığı halda baş verən nekroz hüceyrə ölümünün alternativ yolunu təmin edir, bu da patogenlərin yayılmasına mane olur, amma sahib orqanizmin həyatı bahasına – iltihab hesabına olur.

Yada salaq ki, TNF α çox siqnal yollarını fəallaşdırır: onlardan biri NF-kB transkripsiya faktorunun fəallaşmasına (bax Şəkil 16-35), ikincisi apoptoza (bax Şəkil 21-42), üçüncüsü isə nekroza aparır. Bu hormon bir çox iltihab xəstəliklərində iştirak etdiyindən, bu yolların hər birinin tənzimlənməsini və onların qarşılıqlı təsirini anlamaq üçün çox işlər görülməlidir.

21.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Hüceyrənin Ölümü və Onun Tənzimlənməsi

- Bütün hüceyrələr sağ qalmaq üçün trofik faktorları tələb edirlər. Bu faktorların olmadığı halda hüceyrələr ölümə məhkumdurlar.
- *C. elegans*-da aparılan genetik tədqiqatlar təkamülə qorunub saxlanılmış apoptoz yolunu üç əsas komponentlə müəyyən etdi: membranla-bağlı tənzimləyici zülallar, sitozol tənzimləyici zülalları, və apoptotik proteazalar (bunlar onurğalılarda kaspazalar adlanır) (bax Şəkil 21-35).
- Kaspazalar adlanan apoptotik proteaza fəallaşdıqdan sonra, spesifik hüceyrədaxili substratları doğrayır, hüceyrənin ölümünə səbəb olur. Tənzimləyici zülallara və kaspazalara birləşən başqa zülallar (məsələn, CED-4, Apaf-1) kaspazaların fəallaşması üçün tələb olunurlar (bax Şəkil 21-35 və 21-41).

- İnkişafın gedişi zamanı motor və sensor neyronların sağ qalması, PI-3 kinaza yolu ilə anti-apoptotik reaksiyanı fəallaşdıraraq neyronal böyümə konuslarında Trk reseptoru tirozin kinazlarla birləşən (bax Şəkil 21-38) hədəf toxumalardan ayrılan neyrotrofinlər vasitəsi ilə baş verir (bax Şəkil 21-40).
- Bcl-2 ailəsi həm pro-apoptotik həm də anti-apoptotik zülallara malikdir, onların əksəriyyəti **transmembran zülallar** olub zülal-zülal qarşılıqlı əlaqəsində iştirak edirlər.
- Məməlilərdə apoptoz xarici mitoxondri membranında Bax və Bak zülallarının olqomerləşməsi ilə də işə salına bilər, sitoxrom *c*-nin və SMAC/DIABLO zülallarının sitozola axmasına səbəb olur. Sonra bu zülallar kaspaza fəallaşmasını və hüceyrə ölümünü təşviq edir.
- Bcl-2 zülalları Bax və Bak zülallarının olqomerləşməsini dayandıra bilər, hüceyrə ölümünü ingibirləşdirir.
- Yalnız-BH3 pro-apoptotik zülallar (məsələn, Puma, Bad) ətraf mühit stressi ilə fəallaşır, Bax və Bak-ın olqomerləşməsini stimullaşdırır, sitoxrom *c*-nin sitozol daxilinə keçməsinə, Apaf-1 ilə birləşməsinə və beləliklə kaspazaları fəallaşdırmasına imkan verir.
- Pro-apoptotik və anti-apoptotik zülallar arasındakı birbaşa qarşılıqlı təsir trofik faktorlar olmayan halda hüceyrə ölümünə səbəb olur. Hüceyrəxarici trofik faktorların birləşməsi bu qarşılıqlı təsirlərdə dəyişikliklər edə bilər və hüceyrənin sağ qalması ilə nəticələnir (bax Şəkil 21-40).
- Şiş nekrozis faktoru və Fas liqand kimi hüceyrəxarici ölüm siqnallarının öz reseptorlarına birləşməsi assosiasiyada olduğu zülalı (FADD) olqomerləşdirir, o isə öz növbəsində kaspaza kaskadını işə salaraq apoptozla hüceyrə ölümünə səbəb olur.
- Kaspaza-8 olmayanda, şiş nekrozis faktoru nekroptozu induksiya edir. Nəticədə ətrafa buraxılan hüceyrədaxili zülallar iltihaba və toxuma zədələnməsinə səbəb ola bilər.

Açar Sözlər

apoptoz
apoptosom
asimmetrik hüceyrə bölünməsi
Bcl-2 ailəsi
rüşeyim xətti
induksiya olunan pluropotent sütun (iPS) hüceyrə
meristem
multipotent
bitki hüceyrə polyarlığı (PCP)
pluripotent
polyarlıq

yaradıcı (sələf) hüceyrə
yalnız-BH3 zülal
kaspazalar
hüceyrə xətti
embryon sütun (ES) hüceyrəsi
proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü
somatik hüceyrə
sütun-hüceyrə nişası
simmetrik-hüceyrə bölünməsi
totipotent
trofik faktor

Konsepsiyaya Baxış

1. Hansı iki xassə sütun hüceyrəni təyin edir? Totipotent sütun hüceyrə, pluripotent sütun hüceyrə və sələf (əcdad) hüceyrə arasında fərqləri göstər.

2. Bitkilərdə sütun hüceyrələr harada yerləşir? Yetkin heyvanlarda sütun hüceyrələr harada yerləşir? Sütun hüceyrə konsepsiyası heyvanlar və bitkilər arasında necə fərqlənir?
3. 1997-ci ildə somatik-hüceyrə nüvə keçirilməsi (və ya nüvə keçirilməsi klonlaşdırılması) adlanan metod ilə Dolli qoyun klonlaşdırıldı. Yetkin heyvanın məməsinəndən alınmış hüceyrə

nüvəsi, nüvəsi çıxarılmış yumurta hüceyrəsinə keçirildi, yumurtaya imkan verildi ki, kulturada bir neçə dəfə bölünsün, sonra embryon Dollini doğan əvəzədi (surroqat) anaya keçirildi. Dollini 2003-cü ildə cütləşdikdən və həyat qabliyyətli bala (nəsil) verdikdən sonra öldü. Dollinin yaradılması bizə tam differensasiya etmiş yetkin hüceyrədən ayrılan nüvə materialının potensialı barədə nə deyir? Dollinin yaradılması bizə tam differensasiya etmiş intakt yetkin hüceyrənin potensialı barədə nəyi deyir?

4. Aşağıdakıların totipotent, pluripotent və ya multipotent hüceyrələr olmasını təyin edin: (a) daxili hüceyrə kütləsi; (b) morula; (c) səkkiz-hüceyrəli rüşeyim; (d) trofektoderm.

5. Düzdür ya səhvdir: Differensasiya etmiş somatik hüceyrə başqa tip hüceyrə olmaq üçün yenidən proqramlaşdırılmaq qabliyyətinə malikdir. Fəsilə sizin cavabınızı təsdiqləyən dəlillər xəttini göstərin.

6. Bağırsağ sütun hüceyrələrinin ilk dəfə necə necə identifikasiya olunduğunu və sonra multipotent olduğunun eksperimental olaraq göstərildiyini izah edin.

7. Hematopoietik sütun hüceyrələrinin multipotent sütun hüceyrə olduğunu eksperimental necə sübut edildiyini izah edin.

8. Nematod *C. elegans* hüceyrə doğulması, hüceyrə asimetriyası və hüceyrə ölümünü izah etmək üçün əhəmiyyətli model orqanizm olduğunu sübut etdi. *C. elegans*-ın hansı xassələri onun bu tədqiqatlar üçün çox əhəmiyyətli olduğunu sübut edir? Nəyə görə *C. elegans* eksperimentlərindən olan bu qədər çox məlumatlar tədqiqatçılar üçün məməlilərin inkişafında maraqlıdır?

9. Asimetrik hüceyrə bölünməsi hüceyrə faktorlarının asimetrik paylanmasını yaratmaq və ya onun saxlanılmasını üçün çox zaman sitoskelet elementlərinə əsaslanır. *S. cerevisiae*-də hansı faktor miyozin motorlar vasitəsilə tumurcuqlara (uclara) yerləşdirilir? *Drosophila* neyroblastlarında hansı faktorlar mikroborucuqlara apikal yerləşirlər?

10. *C. elegans* embryonunda ön/arxa (anterior/posterior) polyarlığın yaradılmasında *par* genlərin rolunu müzakirə edin.

11. Nokaut siçanda beyinin inkişafının öyrənilməsi apoptozun neyronal hüceyrələrdə əsas yol olması fikirini (bəyanatını) necə dəstəkləyir?

12. Apoptoz və nekroz yolları ilə hüceyrə ölümünü müqayisə edin və qarşılaşdırın.

13. Hüceyrə ölümünə nəzarət edən üç əsas sinif zülalları identifikasiya edin və funksiyalarını sadalayın.

14. Siz özünüzün hüceyrə ölümü ətrafındakı anlayışlarınıza əsaslanaraq aşağıdakılardan hansıların hüceyrənin apoptoza uğramasına təsir(lər)ini təxmin edin:

- Funksional CED-9; qeyri funksional CED-3
- Fəal Bax və sitoxrom c; qeyri-funksional kaspaza-9
- Qeyri fəal PI-3 kinaza; fəal Bad

15. TNF və Fas liqandı hüceyrə ölümünü işə salmaq üçün hüceyrə-səth reseptorlarına birləşir. Hərçənd ki, ölüm siqnalı hüceyrədən xaricdə yaradılır, bəs nəyə görə biz bu molekullarla indiksiya olunan ölümü nekrotik deyil apoptotik ölüm hesab edirik?

16. Aşağıdakı mutasiyaların hüceyrənin apoptoza uğraması qabliyyətində rolunu təxmin edin:

a. Bad zülalında onun proteinkinaza B (PKB) ilə fosforlaşmasına maner olan mutasiya.

b. Bcl-2-nin həddən artıq ekspressiya olunması.

c. Bax zülalında homodimeri əmələ gətirməyə mane olan mutasiya

Xərçəng hüceyrələrinin bir ümumi xüsusiyyəti onların apoptoz yolunda funksiyasını itirməsidir. Yuxarıda göstərilən mutasiyalardan hansı xərçəng hüceyrələrini tapmağa imkan verə bilər?

17. Apoptoza mane olmaq üçün IAP-lar (apoptoz zülalların ingibitoru) kaspazalarla necə əlaqəyə girir? Apoptozun ingibirləşməsinə mane olmaq üçün mitoxondri zülalları IAP-larla necə əlaqəyə girirlər?

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Məməlilərin Erkən İnkişafı və Embryon Sütun Hüceyrələri

Ben-David, U., J. Nissenbaum, and N. Benvenisty. 2013. New balance in pluripotency: reprogramming with lineage specifiers. *Cell* **153**:939–940.

Graf, T., and T. Enver. 2009. Forcing cells to change lineages. *Nature* **462**:587–594.

Hanna, J., K. Saha, and R. Jaenisch. 2010. Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues. *Cell* **143**:508–525.

Mallanna, S., and A. Rizzino. 2010. Emerging roles of microRNAs in the control of embryonic stem cells and the generation of induced pluripotent stem cells. *Dev. Biol.* **344**:16–25.

McNeish, J., et al. 2015. From dish to bedside: lessons learned while translating findings from a stem cell model of disease to a clinical trial. *Cell Stem Cell* **17**:8–10.

Orkin, S., and K. Hochedlinger. 2011. Chromatin connections to pluripotency and cellular reprogramming. *Cell* **145**:835–850.

Pagliuca, F., et al. 2014. Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell* **159**:428–439.

Robinton, D., and G. Daley. 2014. The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Nature* **481**:295–305.

Surface, L., S. Thornton, and L. Boyer. 2010. Polycomb group proteins set the stage for early lineage commitment. *Cell Stem Cell* **7**:288–298.

Theunissen, T., and R. Jaenisch. 2014. Molecular control of induced pluripotency. *Cell Stem Cell* **14**:720–734.

Young, R. 2011. Control of the embryonic stem cell state. *Cell* **144**:940–954.

Çoxhüceyrəli Orqanizmlərdə Sütun Hüceyrələr və Nişalar

Aichinger, E., et al. 2012. Plant stem cell niches. *Annu. Rev. Plant Biol.* **63**:615–636.

Blanpain, C., and E. Fuchs. 2014. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. *Science* **344**:1243.

Clevers, H., et al. 2014. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science* **346**:1248012.

Goodell, M., H. Nguyen, and N. Shroyer. 2015. Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **16**:299–309.

He, S., D. Nakada, and S. Morrison. 2009. Mechanisms of stem cell self-renewal. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **25**:377–406.

Heidstra, R., and S. Sabatini. 2014. Plant and animal stem cells: similar yet different. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**:301–312.

Morrison, S. J., and J. Kimble. 2006. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* **441**:1068–1074.

Suh, H., W. Deng, and P. Gage. 2009. Signaling in adult neurogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **25**:253–275.
Tanaka, E., and P. Reddien. 2011. The cellular basis for animal regeneration. *Dev. Cell* **21**:172–185.
Zhang, C., and H. Lodish. 2008. Cytokine regulation of hematopoietic stem cell function. *Curr. Opin. Hematol.* **15**:307–311.

Hüceyrə Polyarlığı və Asimmetrik Hüceyrə Blümməsinin Mexanizmi

Cabernard, C., and C. Q. Doe. 2009. Apical/basal spindle orientation is required for neuroblast homeostasis and neuronal differentiation in *Drosophila*. *Dev. Cell* **17**:134–141.
Devenport, D. 2014. The cell biology of planar cell polarity. *J. Cell Biol.* **207**:171–179.
Knoblich, J. A. 2008. Mechanisms of asymmetric stem cell division. *Cell* **132**:583–597.
Li, R., and B. Bowerman, eds. 2010. *Symmetry Breaking in Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
Mellman, I., and W. J. Nelson. 2008. Coordinated protein sorting, targeting and distribution in polarized cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**:833–845.
Nelson, W. J. 2003. Adaption of core mechanisms to generate cell polarity. *Nature* **422**:766–774.
Ragkousi, K., and M. C. Gibson. 2014. Cell division and the maintenance of epithelial order. *J. Cell Biol.* **207**:181–188.
Shivas, J. M., et al. 2010. Polarity and endocytosis: reciprocal regulation. *Trends Cell Biol.* **20**:445–452.

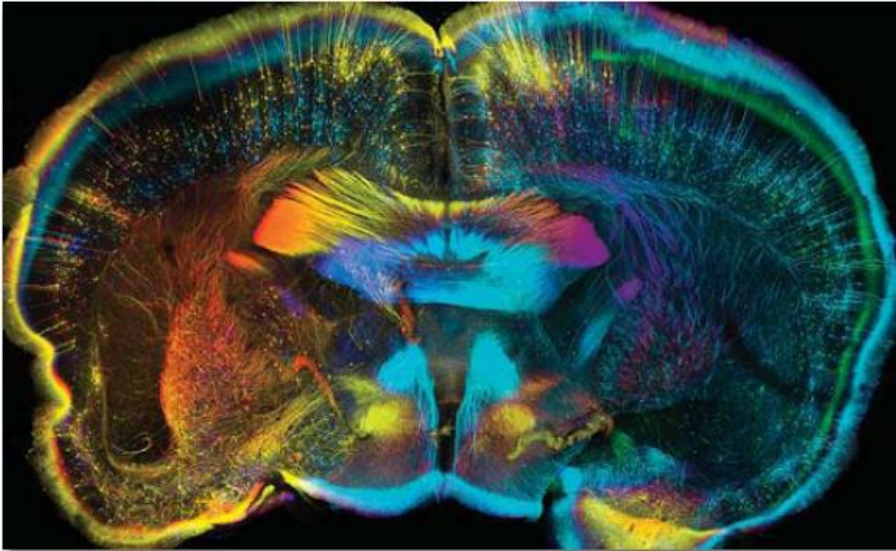
Siller, K. H., and C. Q. Doe. 2009. Spindle orientation during asymmetric cell division. *Nat. Cell Biol.* **11**:365–374.
St. Johnston, D., and J. Ahringer. 2010. Cell polarity in eggs and epithelia: parallels and diversity. *Cell* **141**:757–774.
Zallen, J. A. 2007. Planar polarity and tissue morphogenesis. *Cell* **129**:1051–1063.

Hüceyrə Ölümü və Onun Tənzimlənməsi

Adams, J. M., and S. Cory. 2007. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr. Opin. Immunol.* **19**:488–496.
Ashkenazi, A., and G. Salvesen. 2014. Regulated cell death: signaling and mechanisms. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **30**:337–356.
Bouillet, P., and L. A. O'Reilly. 2009. CD95, BIM and T cell homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* **9**:514–519.
Christofferson, D., Y. Li, and J. Yuan. 2014. Control of life-or-death decisions by RIP1 kinase. *Annu. Rev. Physiol.* **76**:129–50.
Giam, M., D. C. Huang, and P. Bouillet. 2008. BH3-only proteins and their roles in programmed cell death. *Oncogene* **27**(suppl. 1):S128–S136.
Hay, B. A., and M. Guo. 2006. Caspase-dependent cell death in *Drosophila*. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **22**:623–650.
Riedl, S. J., and G. Salvesen. 2007. The apoptosome: signaling platform of cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**:405–413.
Ryoo, H. D., and E. H. Baehrecke. 2010. Distinct death mechanisms in *Drosophila* development. *Curr. Opin. Cell Biol.* **22**:889–895.
Teng, X., and J. Hardwick. 2010. The apoptosome at high resolution. *Cell* **141**:402–404.

FƏSİL 22

Sinir Sistemi Hüceyrələri



CLARITY (ŞƏFFAFLAŞDIRICI) ilə işlənmiş yetkin siçanın neyronlarında GFP ekspressiya edən (Thy1-GFP) beyin koronal kəsiyi. CLARITY toxumaları optik şəffaf edir beyin də daxil olmaqla toxumaların dərin və tam şəkildə görüntülənməsinə imkan verir. Kəsiklər GFP-yə olan anticismlə rənglənmiş və fərdi neyronları vizuallaşdırmaq üçün dərinliyə qədər rənglə kodlaşdırılmışdır. Son təsvir rəqəmsal olaraq 750 µm qalınlıqda beyin parçası üzərində birləşdirilmiş 8500-dən çox fərdi təsvirdən yığılmışdır. Bu yanaşma intakt beyni hüceyrə səviyyəsində tam şəkildə təsvir etmək üçün görünməmiş imkanlar verir, beyin necə kabellər şəkilində birləşdiyini anlamaq üçün yol göstərir. [Luis de la Torre-Ubieta, Geschwind Laboratory, UCLA, Wellcome Images.]

Sinir sistemi bədənin funksiyasının bütün aspektlərini tənzimləyir və öz mürəkkəbliyi ilə son dərəcə heyrtləndiricidir. Yetkin insanın 1.3 kiloqramlıq beyini—informasiyanı hesablayan, inteqrasiya edən və ötürən nəzarət mərkəzi—neuronlar adlanan 100 milliard sinir hüceyrələrindən təşkil olunmuşdur. Bu neyronlar öz aralarında 100 trillionlarla sinapsislərlə birləşmişlər, qovşaq nöqtələrində üç və ya daha artıq neyron əlaqədə olur. Tək fərdi bir neyron 10 minlərlə başqa neyronlarla sinapsis əmələ gətirir.

Neyronlar ayrı-ayrı (diskret) funksiyaları olan, öz aralarında bağlanmış vahidi və ya sxemi təşkil edirlər. Bəzi sxemlər orqanizmin həm daxili həm də xarici mühitinin xüsusiyyətlərini hiss edir və bu məlumatları emal olunmaq və saxlanılmaq üçün beyinə ötürür. Digərləri əzələ dartılması və hormonların ifraz olunmasını tənzimləyir. Başqa sxemlər yaddaşı, emosiyaları, anadangəlmə və bilik davranışlarını tənzimləyir. Neyronlardan başqa, sinir sistemi qlial hüceyrələrə də malikdir. Tarixən bunların sadəcə olaraq neyronlar üçün yardımçı hüceyrələr kimi fəaliyyət göstərməsi hesab edilirdi, amma indi aşkar edilmişdi ki, qlial hüceyrələr beyin funksiyasında fəal rol oynayırlar.

Sinir sistemi hüceyrələrinin biologiyası iki səviyyədə diqqəti çəkir. Birincisi, neyronlar morfoloji cəhətdən bədəndə daha çox polyarlaşmış və kompartmentləşmiş hüceyrələrdirlər, ona görə də sitoskelet dinamikasından və membran

daşınmasından siqnal ötürülməsinə və gen tənzimlənməsinə qədər hüceyrə biologiyasının çox prosesləri üçün çox böyük problemlər yaradırlar. İkincisi, fərdi neyronlar və qlia birləşərək incə kompleksi və sxemlər şəbəkəsini əmələ gətirirlər. Neyronal sxemlər möhkəm bağlanmamışlar, əksinə neyronların bağlılığı sinaptik plastiklik prosesi adlanan təcrübə ilə dəyişilir, bu zaman təcrübə neyronlar arasında sinaptik bağlanmaların sayını və möhkəmliyini modifikasiya edir. Müasir beyin biologiyasının əsas fokusu neyronal sxemlərin əmələ gəlməsinin və plastikliyinin əsasında duran məntiqi anlamaqdır. Sinir hüceyrələrinin quruluşu və funksiyası geniş detallarına qədər bütün başqa hüceyrələrdən daha ətraflı anlaşıldığı halda, yəqin ki, neyronal sxemlərin formalaşması, təcrübə ilə dəyişməsi, işlənməsi və məlumatları hesablayıb toplaması mexanizmi sirr olaraq qalır. Bu məsələlər iyirmi birinci əsr biologiyasının ən maraqlı və cəlb edici sahələrini təmsil edir və Prezident Barak Obamanı 2013-cü ildə İnnovativ Neyroteknologiyaların Təşəbbüsünü İnkişaf etdirməklə Beyin Araşdırmalarına (Brain Research through Advancing Innovative Neurotechnologies – BRAIN) başlamaq üçün ilhamlandırdı. BRAIN təşəbbüsü insan beyninin fəaliyyətinin dinamik görünüşünə nail olmaq məqsədi ilə fərdi hüceyrələrin və neyronal sxemlərin kompleksinin öyrənilməsində yeni texnologiyaların inkişafı üçün geniş miqyaslı milli səyləridir.

İ C M A L

22.1 Neyronlar və Qlia: Sinir Sisyeminin Quruluş Blokları

22.2 Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları və Təsir Potensialının Yayılması

22.3 Sinapslarda əlaqələr

22.4 Ətraf Mühitin Hiss Olunması: Toxunmaq, Ağrı, Dad və Qoxu

22.5 Yaddaşın Formalaşması və Saxlanması

Onurğalının sinir sistemi anatomiok olaraq beyin və onurğa beyni daxilində yerləşən sinirlə qliadan ibarət olan *mərkəzi sinir sisteminə* və beyin və onurğa beynindən kənarında yerləşən sinir və qliadan ibarət olan periferial sinir sistemində ayrılır. Mərkəzi və periferial sinir sistemlərinin anatomik olaraq ayrılımlarına baxmayaraq onlar funksiyalarına görə öz aralarında əlaqəlidirlər, periferial sinir bədən ilə beyin arasında əlaqə yaradır. Mərkəzi sinir sistemi özü dörd əsas komponentə ayrılı bilər: onurğa beyni, beyinkötüyü (**brainstem**), beyincik (**cerebellum**) və beyin yarımkürələri (**cerebrum**). Hər bir rayonun discret funksiyası vardır. Məsələn, onurğa beyni bədənə sensor və motor informasiyalarını aparır, baş beyin tənəffüsü və qan təzyiqini nizamlayır, beyincik motor funksiyasına nəzarət edir, baş beyin isə motor və sensor informasiyasını, dil, öyrənmək və yaddaşı, həmçinin digər yüksək səviyyəli funksiyaları proses edir. Hərçənd ki, belə müxtəlif rayonlara spesifik olan xüsusiyyətlərə və xassələrə malik neyronlar və qlialar aşkar edilmişdir, beyinin hər bir rayonunun funksional ixtisaslaşması ilk növbədə onları təşkil edən hüceyrələrin növlərindəki fərqlərdən deyil, sxemdəki əlaqələrin fərqlərindən yaranır.

Həqiqətən də metazoan orqanizmlərində tapılmış neyronların çoxsaylı tiplərinin və formalarının olmasına baxmayaraq bütün sinir hüceyrələri ümumi xassəyə malikdirlər, bu da onları elektrik və kimyəvi siqnallardan birgə istifadə edərək informasiyanın əlaqələndirməsində ixtisaslaşdırır. *Elektrik siqnalları* adətən uzunluğu hüceyrə cismindən (soma) dəfələrlə uzun olan, çox uzanmış yüksək dərəcədə polyarlaşmış hüceyrələrdən ibarət olan neyronlar daxilində məlumatı analiz edib ötürür (Şəkil 22-1). Neyronlar boyu hərəkət edən elektrik pulsları *təsir potensialı* adlanır və informasiya təsir potensialının buraxıldığı tezlik kimi kodlaşdırılır. Elektrik ötürülməsinin sürəti sayəsində neyronlar çempion siqnal ötürücüləridirlər, hüceyrələrin hormon ifraz etməsindən daha çox sürətli olurlar. Neyronlar *daxilində* informasiyanı ötürən elektrik siqnallarının əksinə kimyəvi siqnallar məlumatı hüceyrələr arasında ötürür, başqa tip siqnal hüceyrələrinin (Fəsil 15 və 16) istifadə etdiyi prosesə oxşar prosesdən istifadə edirlər.

Elektrik və kimyəvi siqnallar birlikdə sinir sistemində imkan verir ki, o xarici stimulu hiss etsin, alınmış məlumatı inteqrasiya edib onu həyata keçirsin və stimula müvafiq cavab versin. Məsələn, *sensor neyronlarının* genişmüxtəliflikdə ətraf mühit stimullarını (məsələn, işıq, toxunmaq, səs, qoxu) elektrik siqnallarına çevirən ixtisaslaşmış xüsusi reseptorları var. Bu elektrik siqnalları sonra kimyəvi siqnallara çevrilir və *interneuronlar* adlanan başqa hüceyrələrə ötürülür, onlar isə siqnalı geriyyə, yenidən elektrik siqnallarına çevirirlər. Sonda məlumat əzələ-stimullaşdıran *motor-neyronlara* və ya vəzlər kimi başqa tip hüceyrələri stimullaşdıraraq başqa neyronlara ötürülür.

Bu fəsildə biz diqqətimizi hüceyrə səviyyəsində və molekulyar səviyyədə neyrobiologiyaya yönəldəcəyik. Biz neyronların əsas arxitekturası ilə, onların siqnalı necə daşmalarını və neyronların və qlianın sütun hüceyrələrdən necə yarandığını öyrənməyə başlayacağıq. Sonra biz ion axınına, kanal zülallarına və membran zülallarına: elektrik pulslarının neyronlar boyu necə sürətlə hərəkət etməsinə baxacağıq. Üçüncüsü biz neyronlar arasındakı əlaqəyə (kommunikasiyaya) baxacağıq: hüceyrə boyu hərəkət edən elektrik siqnalları

hüceyrələr arasında kimyəvi pulsa çevrilməlidir və sonra, qəbul edən hüceyrədə yenidən geriyyə, elektrik siqnallarına çevrilməlidirlər. Biz sonra neyronları, o cümlədən bizim toxunmaq, dad və qoxubilmə hissiyatlarımızı bir sıra sensor toxumalarında öyrənəcəyik. Neyronal siqnalların qəbul olunması, sürəti və inteqrativ gücü sürətlə dəyişən mühitdə dəqiq və vaxtında qəbulunu mümkün edir. Son bölmədə biz yaddaşın saxlanılmasının əsasında duran sxemlərə, neyronlara və hüceyrə biologiyası mexanizmlərinə qayıdacağıq.

Sinir hüceyrələri barədə böyük informasiya insanın, siçanın, nematodların və milçəklərin sinir sisteminin xüsusi funksiyalarına təsir edən mütasiyaların analizlərindən alınmışdır. Bundan başqa, gərginliklə-nizamlanan ion kanalları və reseptorlar kimi əsas neyronal zülalların molekulyar klonlaşdırılması və quruluş analizləri instinkt, öyrənmək, yaddaş və emosiya kimi mürəkkəb beyin fəaliyyətlərinin əsasında duran hüceyrə mexanizmlərini izah etməyə kömək etdi.

22.1 Neyronlar və Qlia: Sinir Sisteminin Quruluş Blokları

Bu bölmədə biz neyronların quruluşunu və onların elektrik və kimyəvi siqnalları necə yaydığını öyrənirik. **Neyronlar** öz uzunamış, asimmetrik quruluşları ilə, yüksək dərəcədə lokallaşmış zülalları və orqanoidləri ilə, hər şeydən əvvəl, plazma membranından ionların axıb keçməsinə nəzarət edən zülallar dəsti ilə fərqlənirlər. Bir neyron çox neyronlardan daxil olan siqnallara cavab verə bildiyinə görə, elektrik siqnallarını yaratmaq, bu siqnalları çox neyronlara ötürə bilmək qabiliyyətinə görə sinir sistemi siqnallarını analiz etmək üçün hədsiz dərəcədə böyük gücə malikdir. Məsələn, neyron siqnalı yalnız eyni zamanda neyronlardan daxil olan beş fəallaşdırıcı siqnalı aldığı zaman ötürə bilər. Qəbul edən neyron həm qəbul olunan siqnalın miqdarını həm də beş siqnalın təxminən *sinxron olmasını* ölçür. Bir neyronun digər neyrona sürətli sinaptik giriş, qəbul edən hüceyrədə elektrik ötürülməsini işə salmaq üçün başqa siqnallarla kombinasiya edərək *həyacanlandırıcı* ola bilər və yaxud belə ötürülmələrdən imtina edərək *ingibirləşdirici* ola bilər. Həyacanlandırıcı və ingibirləşdirici sinapslardan başqa neyronlar, həyacanlanma və ingibirləşmə üçün giriş həddini dəyişən G zülallarla-cütləşən reseptorları fəallaşdıraraq (bax Fəsil 15) norepinefrin, dopamin, serotonin və asetilxolin kimi zəif *neyromodulyator* daxildiləmələri (siqnalları) da qəbul edir. Beləliklə fərdi neyronların xassələri və onların əlaqələri informasiyanın inteqrasiyası və həssaslığı üçün şəbəkəni əmələ gətirir. Sinir sisteminin çıxışları onun dövrə (circuit) xassələrinin nəticəsidir, yəni neyronlar arasında birləşmənin və ya birləşməni həyata keçirən qarşılıqlı əlaqələrin möhkəmliyinin nəticəsidir. Biz siqnalların necə alınması və ötürülməsini öyrənməklə başlayacağıq, fəsilin növbəti hissələrində isə, biz fəaliyyət göstərən mexanizmin molekulyar detallarına baxacağıq.

Məlumat Dentrilərdən Aksonlara Neyronlar Vasitəsilə Axır

Neyronlar təxminən sferik (kürə) formalı *neyroblast* sələflərdən törəyirlər. Yeni yaranmış neyronlar dramatik şəkildə elonqasiya

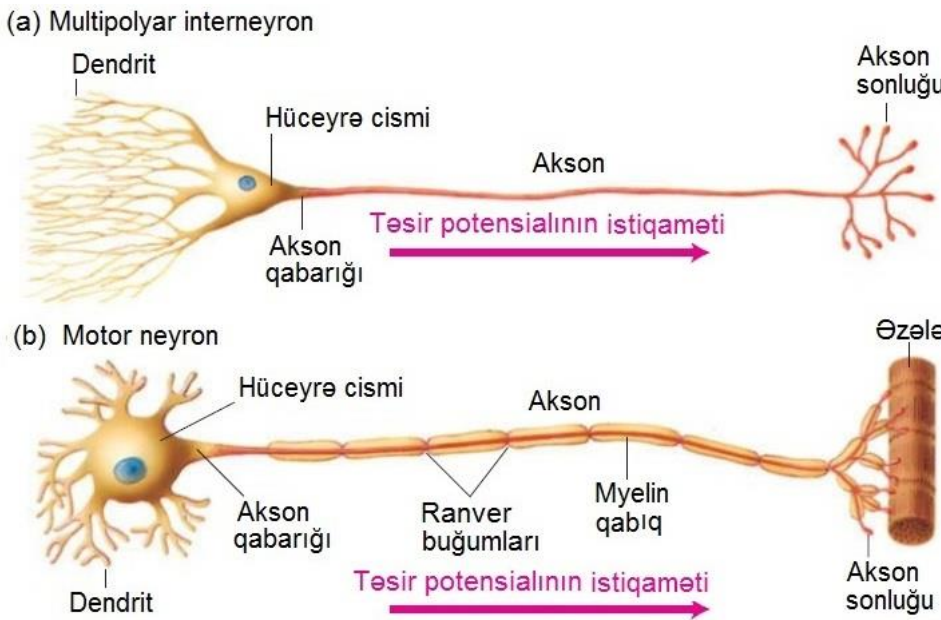
etmiş hüceyrələrə keçməzdən öncə uzaq məsafəyə miqrasiya edə bilər. Tam differensasiya etmiş neyronlar çox formaları alır, amma ümumilikdə müəyyən əsas xüsusiyyətləri bölüşürlər (bax Şəkil 22-1). Nüvə hüceyrənin *hüceyrə cismi* adlanan yumurulaşmış hissəsində yerləşir. Hüceyrənin dendritlər (Yunan sözü olub “ağacşəkilli” deməkdir) adlanan şaxələnmə prosesləri bir ucda baş verir və siqnalların başqa neyronlardan və sinapslardan alındığı əsas quruluş vahidləridir. Daxil olan siqnallar da həmçinin neyronal hüceyrə cismində yaranan sinapslarda qəbul olunur. Neyronların, xüsusən də mərkəzi sinir sisteminin (məsələn, beyin və onurğa sütunu) çox hallarda kompleks şaxələmə malik olan həddən artıq uzun dendritləri olur. Bu onlara imkan verir ki, on minlərlə çox böyük miqdarda başqa neyronlarla sinapsları əmələ gətirsinlər və onlardan siqnalı qəbul etsinlər. Beləliklə konvergent (görüşən) dendrit budaqları çox saylı hüceyrələrdən gələn siqnalların alınmasına və siqnal neyronlarına inteqrasiya etməsinə imkan verir.

Neyronlar ilk dəfə differensasiya edəndə hüceyrənin dendritlərinin əks tərəfində olan ucu dramatik şəkildə böyüyür, aksonlar adlanan uzun genişlənməniyaradır, bu çox vacib ötürücü naqili əmələ gətirir. Aksonların böyüməsi elə nizamlanmalıdır ki, 18.8 bölməsində müzakirə olunan sitoskeletdəki dinamik dəyişilmələrin daxil olduğu akson idarəetməsi adlanan kompleks proseslər yolu ilə düzgün əlaqələr yaransın. Aksonların diametri insanlarda beyində bəzi neyronlarda cəmi bir mikrometrdən çox böyük kalmarlarda bir millimetərə qədər ola bilər. Aksonlar bir metrə qədər uzunluqda ola bilər (məsələn, zürafənin boynunda) və çox hallarda xüsusi sinif qlial hüceyrələrdən, oliqodendritlərdən (mərkəzi sinir sisteminə) və Şvann hüceyrələrindən (periferial sinir sisteminə) təşkil olunmuş myelin təbəqəsi (bax Şəkil 21-1b) adlanan elektrik izolyatorları ilə qismən örtülür. İzolyasiya elektrik ötürülməsini sürətləndirir və qısa qapanmaya mane olur.

Neyronların dendritlərdən əks olan sonluğunda aksonların qısa şaxələnmə ucları *akson sonluqları* adlanır. Bura siqnalın növbəti neyron boyu keçdiyi və ya əzələ və ya hormon ifraz edən hüceyrələr kimi başqa tip hüceyrəyə keçdiyi yerdir. Neyronun bir ucunda dendritlər digər ucunda akson ucluqları olmaqla asimmetriyası məlumatın dendritlərdən aksonlara doğru biristiqamətli axınının göstəricisidir.

Məlumat Aksonlar Boyu İon Axınının Təsir Potensialı Adlanan Pulsları Kimi Hərəkət Edir

Sinir hüceyrələri əzələ hüceyrələrinin, mədəaltı vəz hüceyrələrinin və bir sıra başqa hüceyrələrin də daxil olduğu *həytacanlana bilən hüceyrələr* sinifinin nümayəndələridir. Bütün metazoan hüceyrələrində olduğu kimi, həytacanlana bilən hüceyrələr daxili-mənfi gərginliyə və ya öz plazma membranından keçən elektrik potensialı qradientinə, membran potensialına (bax Fəsil 11) malikdirlər. Həytacanlana bilən hüceyrələrdə bu potensial birdən-birə sıfır ola bilər və ya hətta tərsinə, hüceyrə daxilində plazma membranını xarici ilə nisbətə müsbət ola bilər. Tipik neyronda, heç bir siqnal keçmədiyi vəziyyətdə *sakitlik potensialı* adlanan membran gərginliyi plazma membranındakı Na^+/K^+ ion nasosları vasitəsi ilə yaranır. Bu başqa hüceyrələrin sakitlik potensialını yaratmaq üçün istifadə etdiyi ion nasosları ilə eynidir. Na^+/K^+ ion nasosları müsbət yüklənmiş Na^+ ionlarını hüceyrə xaricinə və K^+ ionlarını daxilə keçirmək üçün ATP formasında enerjiden istifadə edir. K^+ ionlarının sakitlikdə olan K^+ kanalı vasitəsilə hüceyrə xaricinə keçirilməsi hüceyrə xarici ilə müqayisədə hüceyrə daxilində xalis mənfi yükün yaranması ilə nəticələnir. Neyronun tipik sakitlik potensialı təxminən -70 mV-dur.



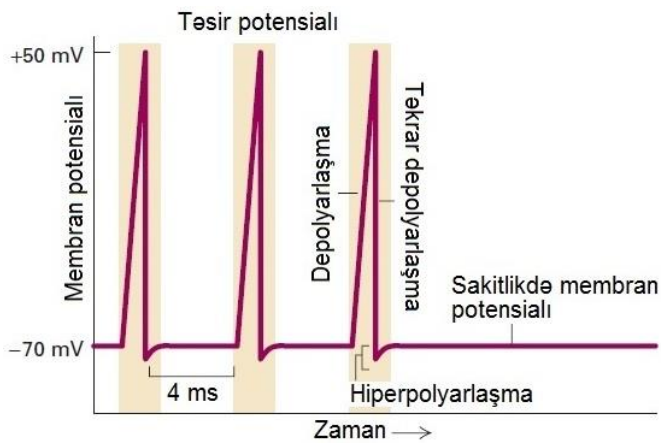
ŞƏKİL 22-1 Məməlilərin iki tip neyronunun tipik morfologiyası. Təsir potensialları akson qabarığında əmələ gəlir və akson sonluğuna doğru aparılır. (a) Multipolyar interneuronların güclü şaxələnmə dendritləri vardır və sinapslarında yüzlərlə başqa neyronlardan siqnalları *qəbul edirlər*. Dendritlərdə girişlərdə baş verən kiçik gərginlik dəyişilməsi qabarıqlardan başlanğıc götürərək cəmlənib kütləvi təsir potensialının yaranmasına səbəb ola bilər. Öz sonluğunda lateral şaxələnmə tək bir uzun akson siqnalı başqa aksonlara *ötürür*. (b) Əzələ hüceyrələrini innervasiya edən motor neyronlarının adətən hüceyrə cismindən qəbul edən hüceyrəyə qədər uzanan tək bir uzun aksonu olur. Məməlilərin motor neyronlarında myelin izolyator təbəqə (örtük) adətən Ranvier qovşaqları və akson sonluğundan başqa aksonun bütün hissələrini örtür. Myelin təbəqə qlia adlanan hüceyrələrdən təşkil olunub.

Neyronların hamısının öz dili var. Onlar siqnalı ötürmək üçün özlərinin unikal xassələrindən istifadə edirlər. Siqnallar

daxili-mənfidən daxili müsbət istiqamətində qısa lokal gərginlik dəyişilmələri formasında olur, bu hadisə **depolyarlaşma**

adlanır. Depolyarlaşdırıcı gərginlik dəyişilməsinin neyronun bir ucundan digər ucuna hərəkət edən çox güclü dalğası **Təsir potensialı** adlanır. “Depolyarlaşma” müəyyən mənada yanılışdır, çünki neyron birdən-birə daxili-mənfidən neytrala və sonra da daxili-müsbətə keçir və depolyarlaşmanın ardınca əks polyarlaşma daha düzgün təsvir olardı (Şəkil 22-2). Təsir potensialının pikində membran potensialı $+50$ mV-a qədər (daxili-müsbət) yüksək, xalis yük isə ~ 120 mM ola bilər. Biz 22.2 bölməsində geniş detalları ilə görəcəyik ki, təsir potensialı akson boyu akson sonluğuna doğru 100 metr/saniyə sürəti ilə hərəkət edir. Məsələn, insanlarda akson bir metrədən artıq ola bilər, ona görə hərəkət potensialının akson boyu hərəkəti yalnız bir neçə millisaniyə çəkir. Şəkil 22-2-də olduğu kimi, neyronlar qısa bərpa-olma dövründən sonra təkrar-təkrar, məsələn hər 4 millisaniyədən (ms) bir siqnal yollaya bilər. Təsir potensialı neyron hissəsini kəsb keçdikdən sonra, kanal zülalları və nasoslar daxili-mənfə sakitlik potensialını (*təkrar polyarlaşma*) bərpa edir. Bərpaetmə prosesi akson boyu akson sonluğuna qədər Təsir potensialını izləyir, neyronları yeni siqnal üçün hazır edir.

Qeyd etmək vacibdir ki, təsir potensialları “hamısı və ya heç biri”-dir. Biri üçün başlanğıc əldə olunduqdan sonra, tam işəsalma baş verir. Ona görə də, siqnal məlumatı ilkin olaraq təsir potensiallarının intensivliyinə görə deyil, onların zamanına və tezliyinə görə ötürülür.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 22-2 Akson membran potensialının zaman zaman asılı olaraq yazılması təsir potensialının amplitudasını və tezliyini aşkar edir. Təsir potensialı membranın qəfil keçici depolyarlaşması və ardınca təxminən -70 mV sakitlik potensialının yenidən polyarlaşmasının baş verməsidir. Aksonal membran potensialı akson daxilində keçirilmiş kiçik elektrodlarla ölçülə bilər (bax Şəkil 11-19). Bu yazılmalar neyronun hər 4 millisaniyədən bir təsir potensialını yaratdığını göstərir.

Bəzi həyəcanlanabilən hüceyrələr neyronlar deyildirlər. Əzələ dartılması birbaşa həyəcanlanan əzələ hüceyrələri ilə sinaps əmələ gətirən motor neyronları ilə işə salınır (bax Şəkil 22-1b). Mədəaltı vəzin β -adacıq hüceyrələrində insulinin ifrazı neyronlarla işə salınır. Hər iki fəallaşma hadisəsində, ionların transmembran axınının və tənzimlənən hüceyrənin elektrik xassəsinin dəyişməsinə səbə olan plazma membranı kanallarının açılması baş verir.

Məlumatlar Neyronlar Arasında Sinapslarla Axır

Təsir potensialı nə ilə başlayır? Bir neyronun akson sonluğu kimyəvi sinapslar və ya sadəcə sinapslar adlanan qovşaqlarda digərinin dendritlərinə sıx bağlı olur (bax Şəkil 22-3). Presinaptik hüceyrələrdə akson ucları **sinaptik qovucuqlar** adlanan çoxsaylı qovucuqlara malikdir, bunların hər biri **neuroötürücülər (neurotransmitter)** adlanan bir tip kiçik molekulla doludur. Təsir potensialının presinaptik sonluqlara çatması kalsiumun daxilə buraxılmasına səbəb olur, beləliklə kiçik sayda sinaptik qovucuqların eqzositozunu işə salır, onların daxilindəki neuroötürücü molekulları buraxır.

Neuroötürücü təxminən 0.5 ms müddətində sinapsdan diffuziya edib keçir və qonşu neyronun dendritindəki reseptorlara birləşir. Neuroötürücünün birləşməsi *postsinaptik hüceyrə* dendritlərinin plazma membranında spesifik ion kanallarının açılmasını işə salır, postsinaptik hüceyrənin bu hissəsində membran potensialının lokal dəyişilməsinə səbəb olur. Ümumiyyətlə bu dəyişilmələr postsinaptik membranı depolyarlaşdırır (daxili potensialı daha az mənfə edir). Əgər lokal depolyarlaşma kifayət qədər böyükdürsə aksonlarda təsir potensialını işə salır. Ötürülmə sinaptik hüceyrələrin akson sonluğundan postsinaptik hüceyrələrin dendritlərinə doğru biristiqamətlidir.

Bəzi sinapslarda neuroötürücülərin təsiri hiperpolyarlaşma və postsinaptik hüceyrədə təsir potensialı ehtimalını azaltmaqdır. Mərkəzi sinir sistemində tək bir akson çox neyronlarla sinaps əmələ gətirir və onların hamısında cavabı eyni zamanda induksiya edir. Bunun əksinə, bəzi hallarda birdən çox neyron postsinaptik hüceyrələrdə təxminən sinxron şəkildə təsir potensialını işə salmaq üçün kifayət qədər güclü fəaliyyət göstərməlidir. Depolyarlaşmaya və hiperpolyarlaşmaya səbəb olan siqnalların sinir sistemində inteqrasiyası təsir potensialı ehtimalını müəyyənləşdirir.

Beləliklə, neyronlar akson *boyu* həddən yüksək sürətli elektrik ötürülməsi ilə hüceyrələr *arasında* kimyəvi kommunikasiyanın kombinasiyasını istifadə edir. Bu elektrokimyəvi siqnal kimi tanınır. İndi biz neyronlar şəbəkəsinin sxeminin faydalı funksiyaya necə nəzil olmasına baxacağıq.

Sinir sistemi Çox Neyronlardan İbarət Olan Siqnal Sxemlərini İstifadə Edir

Mürəkkəb çoxhüceyrəli orqanizmlərdə neyronlar üç əsas hüceyrə tipindən: afferent neyronlardan, interneynonlardan və efferent neyronlardan təşkil olunmuş siqnal sxemini (**circuits**) əmələ gətirirlər. Periferial və mərkəzi sinir sistemi arasında məlumatları ötürən sxemlərdə sensor və ya reseptor neyronlar kimi də məlum olan **afferent neyronlar** sinir impulslarını reseptorlardan və ya hissiyat orqanlarından mərkəzi sinir sistemi (beyin və ya onurğa beyini) *istiqamətində* daşıyır. Bu neyronlar baş verən hadisələr haqqında, məsələn işıq qığılcımının gəlməsi və ya əzələnin hərəkəti barədə məlumatı verir. Toxunma və ya ağırlı stimül beyində sensasiyanı (hissiyatı) yalnız stimül haqqında məlumat afferent sinir yolu vasitəsilə oraya çatanda yaradır. Həmçinin, effektor neyronlar kimi məlum olan **efferent neyronlar** cavab reaksiyasını yaratmaq üçün sinir impulslarını mərkəzi sinir sistemindən *uzaqlara* daşıyır. Məsələn, *motor*

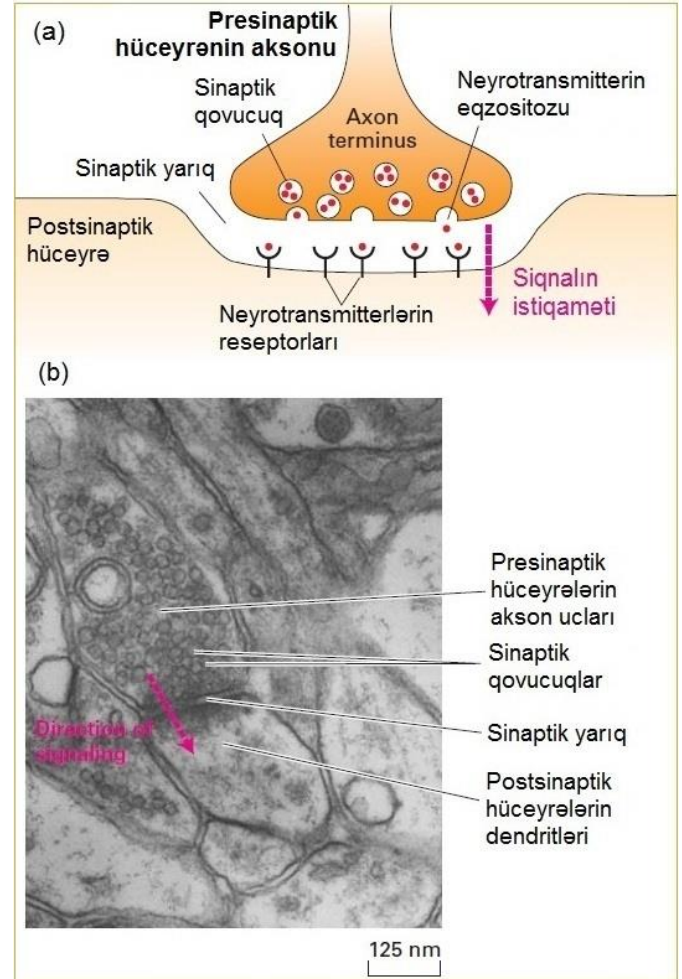
neyron əzələ dartılmasını stimullaşdırmaq üçün siqnalı əzələyə daşıyır (bax Şəkil 22-1b). Digər başqa effektor neyronlar endokrin hüceyrələri ilə hormon ifrazını stimullaşdırır. Ən böyük qrup **interneyronlar** siqnalı afferent neyronlardan efferent neyronlara və neyronal yolun bir hissəsi kimi başqa interneyronlara daşıyır. İnterneyron çox neyronlar arasında körpü ola bilər (onları bir-biri ilə bağlaya bilər), siqnalların inteqrasiyasına və ya divergensiyasına imkan verir və bəzən siqnalın əhatə dairəsini genişləndirir. *Refleks qövsü* adlanan sadə tip sxemdə interneyronlar çoxsaylı sensor və motor neyronları birləşdirir, bir sensor neyronun çoxsaylı motor neyronlara təsir etməsinə və bir motor neyrona çoxsaylı sensor neyronlarla təsir edilməsinə imkan verir, bu yolla interneyronlar refleksləri inteqrasiya edir və gücləndirir. Məsələn, Şəkil 22-4-də təsvir edilmiş, insanlarda diz-refleksi kompleksi refleks qövsünü əhatə edir, bir əzələ dartılmaq üçün stimullaşır, halbuki digəri dartılmadan ingibirləşir. Refleks həmçinin baş verən hadisə barədə məlumatı beynə ötürür. Bu cürə sxemlər orqanizmin sensor girişinə, eyni məqsədə birlikdə nail olmaq üçün əzələlər dəstinin koordinasiya olunan fəaliyyəti ilə cavab verməsinə imkan verir.

Amma, bu sadə siqnal sxemləri düşüncə, hesablama və yaddaşın inkişafı kimi yüksək-dərəcəli beyin funksiyasını izah etmir. Beyində tipik neyronlar minə qədər başqa neyronlardan siqnalı qəbul edir və öz növbəsində çox sayda başqa neyronlara kimyəvi siqnalları ötürə bilər. Sinir sisteminin çıxışı onun dövrə (qapanma) xüsusiyyətlərindən – əlaqələrin miqdarından və ya başqa neyronlararası birləşmələrdən və bu neyronlararası birləşmələrin gücündən asılıdır. Sinir dövrləri (qapanmaları) nə qədər müxtəlif və mürəkkəb olsalar da onlar bir neçə əsas formadan ibarətdirlər. Bunlara bir presinaptik neyronun çox sayda postsinaptik neyronlarla əlaqə yaratdığı *divergensiya*, bir postsinaptik neyronun çox presinaptik neyronlardan siqnallar aldığı *konvergensiyavə* və postsinaptik neyronun çıxışının presinaptik neyrona qayıtması və hətta onun özünə qayıtmasının baş verdiyi geriye əlaqə daxildir (Şəkil 22-5). Geriyə əlaqə qapanmaları qapalı ilgəklər kimi məlum olan formanı yaradır, bu zaman sistemin çıxışı giriş kimi istifadə olunur. Müsbət geriye əlaqə dövrəsində çıxış ilkin girişin fəaliyyətini gücləndirir və ya artırır. Mənfi geriye əlaqə dövrəsində çıxış ilkin girişin fəaliyyətini ingibirləşdirir.

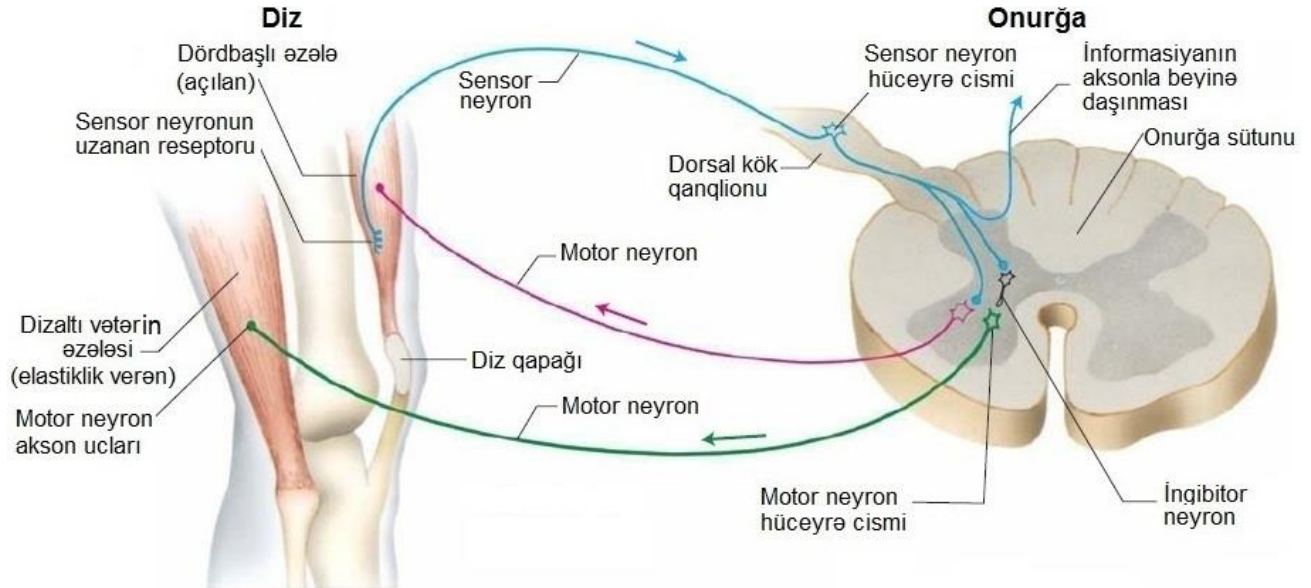
Qliya Hüceyrələr Myelin Təbəqələrini Əmələ Gətirir və Neyronlara Kömək Edir

Neyronlar özlərinin bütün təsirliliyinə bəyənaraq, onlar insan beyninin yeganə hüceyrələri deyillər. **Qliya hüceyrələr** (həmçinin *nevroqliya* və ya sadəcə olaraq *qliya* kimi məlum olan) beyində çox rolu yerinə yetirirlər, amma özləri elektrik impulslarını keçiririrlər və bütün beyin boyu böyük miqdarda olurlar. Bütün dərslərin qliaların beyində neyronların 10:1 nisbətində olduğunu yazmalarına bəyənaraq, son zamanların eksperimentləri göstərdilər ki, insan beynində qliaların neyrona nisbəti 1:1 yaxındır, hərçənd ki, növdən və beyin sahəsindən asılı olaraq əhəmiyyətli dərəcədə dəyişiklik mövcuddur. Məsələn, insanın baş beynində qlia neyronlardan əhəmiyyətli dərəcədə çoxdur, halbuki beyincikdə neyronlar qlialardan çox artıqdır. Qliyanın dörd əsas tipindən ikisi myelin təbəqəsini –

neyronal aksonları əhatə edən izolyatoru əmələ gətirir (bax Şəkil 22-1b): *oliqodendrositlər* mərkəzi sinir sistemi (CNS) üçün, *Şvann hüceyrələri* isə periferial sinir sistemi (PNS) üçün qabıq təbəqəni əmələ gətirirlər. (Qliyanın hər iki tipi 22.2 bölməsində detalları ilə müzakirə edilir.) Qliyanın üçüncü tipi *astrositlər* neyronlara boy faktorlarını və başqa siqnalları təmin edir və həmçinin neyronlardan siqnalları qəbul edir. Qliyanın dördüncü tipi *mikroqliya* CNS immün sisteminin bir hissəsini təşkil edir.

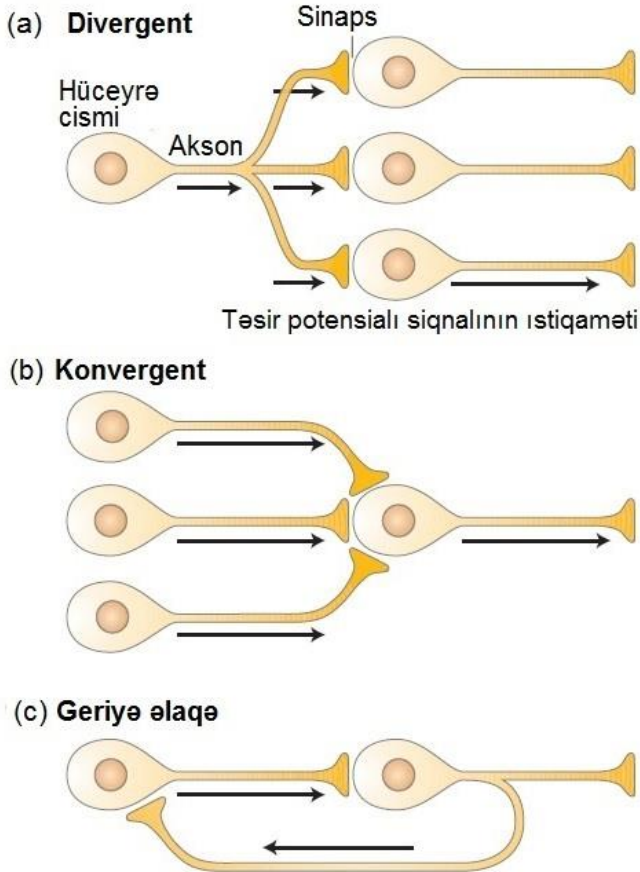


ŞƏKİL 22-3 Kimyəvi sinaps. (a) Sinaptik yarıq olan dar rayon sinaptik və presinaptik hüceyrələrin plazma membranını bir-birindən ayırır. Presinaptik hüceyrələrdə təsir potensialının gəlişi az sayda sinapsda sinaptik qovucuqların eqzositozuna səbəb olur, onların daxilindəki neyroötürücüləri (qırıqzı dairələr) sərbəst buraxır. Sinaptik yarıqda diffuziya etdikdən sonra, neyroötürücülər postsinaptik hüceyrələrin plazma membranındakı spesifik reseptorlara birləşir. Bu siqnallar ya postsinaptik membranı depolyarlaşdırır (daxilipotensialı daha az mənfi hala gətirir) və hüceyrədə təsir potensialını induksiya etməyə meyil edir, ya da postsinaptik membranı hiperpolyarlaşdırır (potensialı daxilə daha çox mənfi edir) və təsir potensialının induksiyasını ingibirləşdirir. (b) Elektron mikrofotodendritin sinaptik qovucuqlarla dolmuş akson ucları ilə sinaps əmələgətməsini göstərir. Sinaptik rayonda presinaptik hüceyrələrin plazma membranı qovucuqların eqzositozu üçün ixtisaslaşmışdır, neyroötürücülərə malik olan sinaptik qovucuqlar bu rayonlarda klaster əmələ gətirirlər (toplanırlar). Postsinaptik hüceyrələrin əks tərəfindəki membranda (indiki halda neyron) neyroötürücülərin reseptorları yerləşir. [(b) hissəsi Joseph F. Gennaro Jr./Science Source.]



ŞƏKİL 22-4 Diz-atması refleksi. Çəkicin bir zərbəsi dördbaşı əzələnin dartılmasına səbəb olur, beləliklə dartılma sensor neyronlarının elektrik fəallıqlarını işə salır. Təsir potensialı yuxarıdakı mavi ox istiqamətində hərəkət edir, siqnalı beyinə göndərir, beləliklə biz nə baş verdiyini anlayırıq onurğa sütununda yerləşən dorsal kök qanqlionunda iki növ hüceyrəyə göndərir. Bir hüceyrə, aşağı ətrafın arxa əzələsinə birləşən motor neyron (qırmızı) əzələ dartılmasını elə stimullaşdırır ki, sanki sən çəkilə sənin dizinə vuran

adamı vurursan. İkinci bağlanma ingibitoru interneyronu (qara) fəallaşdırır və ya "həyəcanlandırır". İnterneyron zəiflədici təsire malikdir, fəallığı fleksor (skelet) motor neyronları (yaşıl) vasitəsilə blok edir, hansıki başqa hallarda dördbaşı əzələnin əksində duran diz altındakı vətərlə əzələləri fəallaşdırır. Bu yolla dizaltı vətərlərin boşalması dördbaşı əzələlərin fəallaşması ilə birləşir. Bu bir refleksdir, çünki hərəkəti şüurlu qərarı tələb etmir.



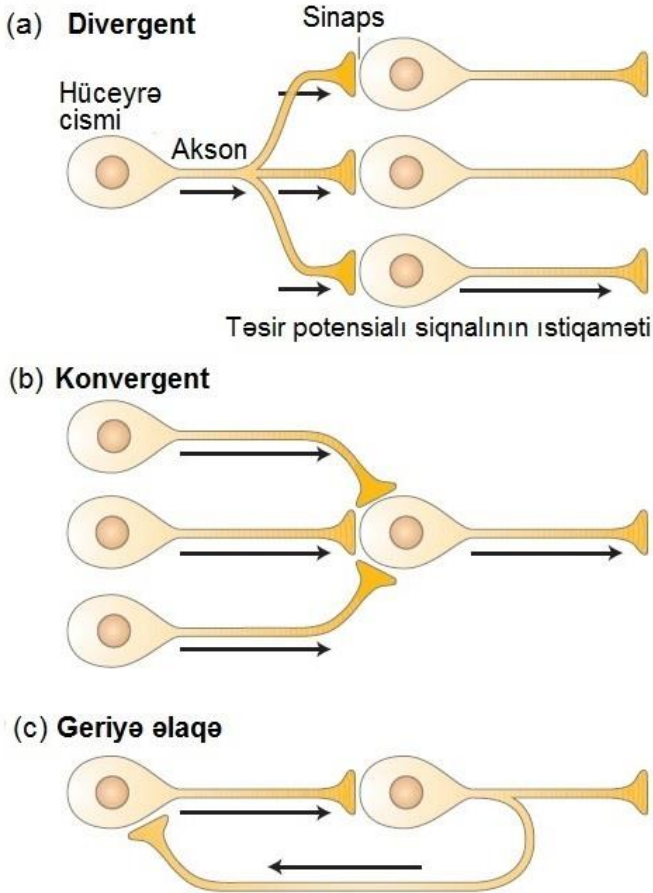
Mikroqlialar neyronlar xəttinə və ya başqa qlialara aid olmadığı halda onlar beyinin inkişafında və sağlamlığında mühüm rol oynayırlar. Növbəti iki paragrafda biz astrositlərin funksiyasını təsvir edirik, oliqodentrositlər və Şvann hüceyrələri 22.2 bölməsində, mikroqlialar isə 22.3 bölməsində müzakirə olunacaqlar.

ŞƏKİL 22-5 Sinir sxemlərində ümumi qanunauyğunluq.

Neyronlar bir-biri ilə birləşərək funksional sxemi əmələ gətirirlər. Göstərilənlər çox sinir sxemlərində tapılmış üç ümumi birləşmə formalarıdır. (a) Divergent sinir sxemlərində tək bir neyron çoxsaylı müxtəlif hədəf neyronlarla əlaqə yaratmaq üçün akson şaxələrinə göndərir. (b) Konvergent sinir sxemlərində çoxsaylı müxtəlif neyronlar və akson şaxələri tək bir hədəf neyronla əlaqə yaratmaq üçün bir yerə gəlirlər. (c) Geriyə əlaqə sxemində neyron ona presinaptik olan neyronla əlaqə yaratmaq üçün aksonu yollayır. Bunların kombinasiyası və öz aralarında birləşmənin başqa formaları sinir (neyronal) sxemləri daxilində əlaqə yaratmaq üçün fəaliyyət göstərir.

Öz ulduzşəkilli quruluşuna görə adlandırılan astrositlər (Şəkil 22-6), beyin kütləsinin təxminən üçdə-birini və beyin hüceyrələrinin 40% qədərini təşkil edir. Astrositlər çox sinapsları və dentritləri əhatə edir, astrosit plazma membranında tapılmış Ca^{2+} , K^+ , Na^+ və Cl^- kanalları hüceyrəxarici mühitdəki sərbəst ionların qatılına təsir edir, beləliklə neyronların və astrositlərin özlərinin membran potensialına təsir edir. Astroisitlər külli miqdarda hüceyrəxarici matrisa zülallarını istehsal edirlər, bunlardan bəziləri miqrasiya edən neyronların yolgöstəricisi kimi istifadə olunur və müxtəlif tipli məlumatı neyronlara daşıyan boy faktorlarına malikdirlər. Onlar

həmçinin, 22.3 bölməsində müzakirə olunduğu kimi, düzgün sinaps əmələ gəlməsi üçün lazım olan bir sıra faktorları buraxırlar. Astrositlər boşluqlu qovşaqlarla bir-biri ilə qovuşurlar (boşluqlu qovşaqların quruluşu üçün Şəkil 20-21-ə bax), beləliklə istənilən verilmiş astrositdə ion tərkibinin dəyişilməsi yüzrlə mikron məsafədə olan qonşu (bitişik) astrositlərə bildirilir.

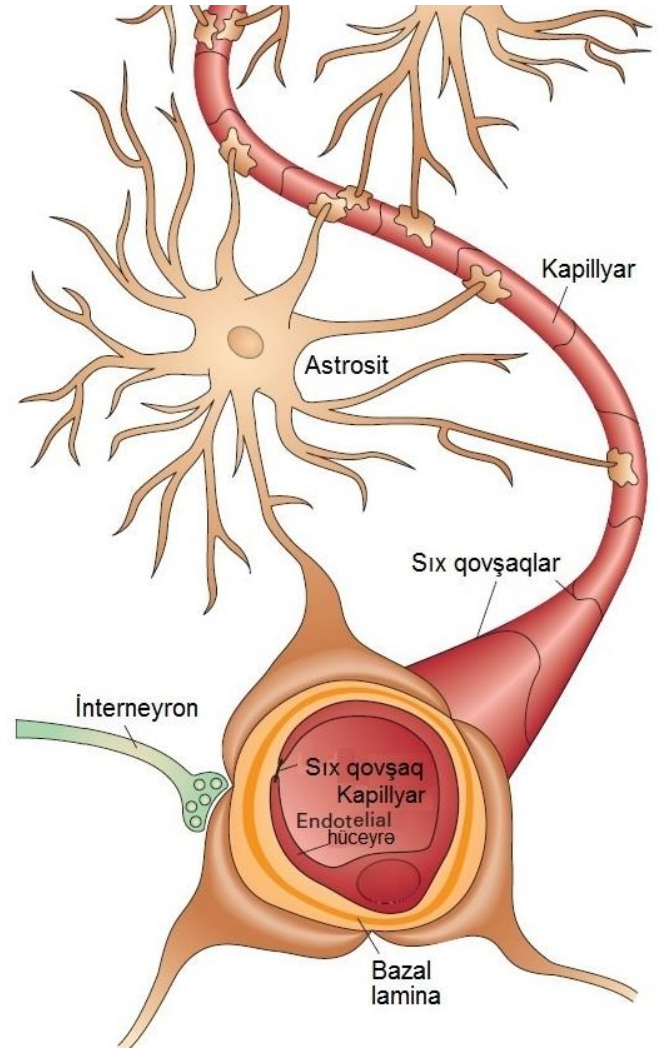


ŞƏKİL 22-5 Sinir sxemlərində ümumi qanunauyğunluq.

Neyronlar bir-biri ilə birləşərək funksional sxemi əmələ gətirirlər. Göstərilənlər çox sinir sxelmərində tapılmış üç ümumi birləşmə formalarıdır. (a) Divergent sinir sxemlərində tək bir neyron çoxsaylı müxtəlif hədəf neyronlarla əlaqə yaratmaq üçün akson şaxələrini göndərir. (b) Konvergent sinir sxemlərində çoxsaylı müxtəlif neyronlar və akson şaxələri tək bir hədəf neyronla əlaqə yaratmaq üçün bir yerə gəlirlər. (c) Geriye əlaqə sxemində neyron ona presinaptik olan neyronla əlaqə yaratmaq üçün aksonu yollayır. Bunların kombinasiyası və öz aralarında birləşmənin başqa formaları sinir (neyronal) sxemləri daxilində əlaqə yaratmaq üçün fəaliyyət göstərir.

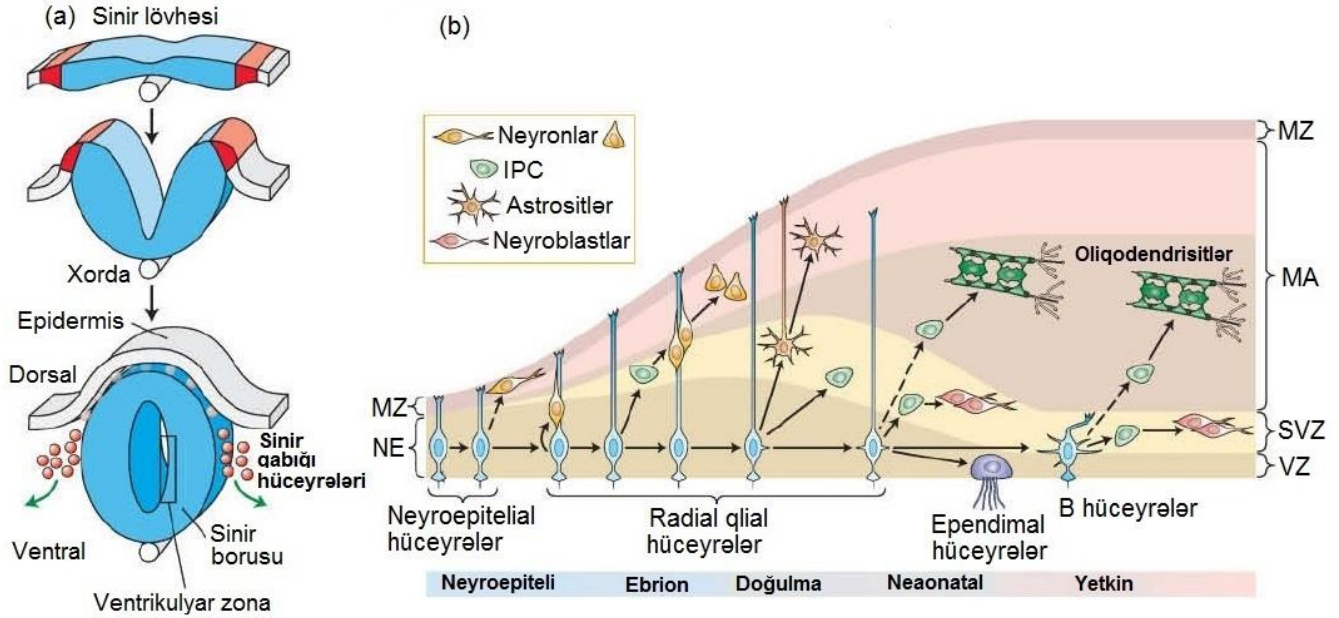
Bəzi astrositlər qan axarından hansı molekulların çıxıb beyin daxilinə keçməsinə və əksinə nəzarət edən qan-beyin baryerinin yaranmasında da kritik əhəmiyyətli tənzimləyicilərdir (bax Şəkil 22-6). Qan damarları beyində oksigeni təmin edir, CO₂-ni uzaqlaşdırır və hər bir hüceyrənin bir neçə mikrometrliyində olan kapilyarlar vasitəsilə qlükozamı

və amin turşularını çatdırır. Bu kapilyarlar endotelial hüceyrə divarından oksigen və CO₂-in keçməsinə imkan verən amma, qan dövriyyəsində olan neyroötürücülər və bəzi dərmanların beynə daxil olmasına mane olan qan-beyin baryerini əmələ gətirirlər. Bu baryer sıx qovşaqların şəbəkəsindən təşkil olunmuş (fəsil 20), kapilyarların divarlarını əmələ gətirən endotelial hüceyrələri qarşılıqlı əlaqələndirir. Endotelial hüceyrələri əhatə edən astrisitlər bu hüceyrələrin ixtisaslaşmasını gücləndirir, onları bədənin başqa yerlərində tapılmış kapilyarlarla müqayisədə daha az keçirici edir.



ŞƏKİL 22-6 Astrositlər qan-beyin baryerində endotelial hüceyrələrlə qarşılıqlı təsirdə olurlar.

Beyində kapilyarlar əksər molekullar üçün keçirici olmayan sıx qovşaqlarla əlaqəli olan endotelial hüceyrələrdən əmələ gəlmişdir. Hüceyrələr arasında daşınma blok olunmuşdur, beləliklə yalnız plazma membranından diffuziya edib keçə bilən kiçik molekullar və ya xüsusi olaraq hüceyrələr tərəfindən daşınan maddələr bu baryeri keçə bilər. Müəyyən astrositlər qan damarlarını əhatə edir, endotelial hüceyrələrlə əlaqədə olur və endotelial hüceyrələrin selektiv baryeri yaratmasını indiksiya etmək üçün ifraz olunan zülal siqnallarını göndərir. Endotelial hüceyrələr (tünd qırmızı) bazal lamina (narıncı) təbəqəsi tərəfindən törənmişdir və astrosit prosesləri ilə xaricdən təmasda olur (qaralınmış). Bax N. J. Abbott, L. Ronnback, and E. Hansson, 2006, *Nature Rev. Neurosci.* 7:41–53.



ŞƏKİL 22-7 Sinir borucuğunun əmələ gəlməsi və sinir sütun hüceyrələrinin bölünməsi. (a) Onurğalılarda inkişafının erkən dövründə endodermanın bir hissəsi yumurulanaraq qalır və qalan hüceyrələrdən ayrılır. Bu epidermanı (boz) və sinir borucuğunu (mavi) əmələ gətirir. İkisi arasındakı araüzünə (interface) yaxınlığında sinir ucları hüceyrələri formalaşaraq dəri pigmentasiyasına, sinir əmələgəlməsinə, kəllə-sifət skeletinin, ürək klapanlarının, periferial neyronların və başqa quruluşların yaranmasına öz töhfəsini vermək üçün miqrasiya edir. Xordalılarda adının götürüldüyü, mezoderma çubuğu notoxord sinir borucuğunda hüceyrələrin müqəddaratını müəyyən edən siqnalı verir. Sinir borucuğunun daxili beyin mədəciyi (ventrikullar) adlanan maye-İlə-dolmuş kameralar sırasından ibarət olacaq. Mədəciklərə bitişik olan sinir sütun hüceyrələri, hansıki ventrikular zona (VZ) kimi təsvir dilir, bölünərək sürətlə xaricə miqrasiya edib sinir sistemini əmələ gətirən neyronları yaradacaq. (b) İnkişafın erkən dövründə neyroepitelidə (NE) neyroepitelial hüceyrələr simmetrik bölünərək daha çox neyroepitelial hüceyrələri yaradırlar. Həmçinin guman olunur ki, bəziləri ilkin neyronları da əmələ gətirirlər. İnkişaf

getdikcə və beyin epitelisi qalınlaşdıqca neyroepitelial hüceyrələr radial qlial hüceyrələrə (RGC) çevrilirlər. RGC simmetrik bölünür və ya asimmetrik bölünərək neyronları və aralıq əcdad hüceyrələrini (IRC) yaradırlar, sonuncular isə öz növbəsində neyronları yaradırlar. RGC uzanmaqda davam edir, apikal prosesi aşağıya VZ-ə və bazal prosesi beyin qabığına toxunana qədər yuxarıya yollayır. Embriional inkişafın sonuna yaxın RGC-lər NE-dən qopub ayrılır və astrositlərə çevrilirlər, həmçinin IPC-lərdən oliqodendrositləri yaradırlar. Doğulduqdan sonra yenidoğulmuşlarda RGC-lər IPC-lər yolu ilə neyronlara və oliqodendrositlərə bölünməkdə davam edirlər. Digərləri ependimal hüceyrələrə və ya B tip hüceyrələr adlanan, sinir sütun və ya yetkin beyinin subventrikal zonasında (SVZ) əcdad hüceyrələr kimi fəaliyyət göstərən yetkin SVZ astrositlərə çevrilirlər. IPC, aralıq əcdad hüceyrələr; MA, mantiya (örtük); MA haşiyə (marginal) zonası; NE, neyroepiteli; RG, radial qlia; SVZ subventrikal zona; VZ, ventrikular zona. Bax A. Kriegstein and A. Alvarez-Buylla, 2009, *Annu. Rev. Neurosci.* 32:149-184.

Sinir Sütun Hüceyrələri Mərkəzi Sinir Sistemində Sinir və Qlial Hüceyrələri Yaradır

Sinir sisteminin formalaşmasında və hüceyrə əvəz olunması yolu ilə neyrodegenrativ xəstəliklərə mane olunmaqda və ya onların müalicəsi üçün daha yaxşı yolların tapılmasında çox böyük maraq sinir sütun hüceyrələrinin xarakterizə edilməsini və onların yetkin neyronlara və qlial hüceyrələrə differensiasiyasını əhəmiyyətli bir hədəf etmişdir. Sinir və qlial sütun hüceyrələri barədə bizim anlayışlarımızın çoxu embrional beyin inkişafının tədqiqatlarından gəlir. Onurğalılarda sinir inkişafının erkən mərhələsinə embrionun başdan quyruğa qədər uzunluğu boyu uzanan ektoderma borucuqlarının (embrionun xarici qatını örtən hüceyrə təbəqəsi) formalaşması daxildir (Şəkil 22-7a). *Sinir borucuğu* beyni və onurğa beynini əmələ gətirəcək. Əvvəlcə borucuğun ilkin qalınlığı hüceyrələrin bir təbəqəsi olur və bu hüceyrələr neyroepitelial hüceyrələr adlandırılır, onlar gələcəkdə bütün mərkəzi sinir sisteminin əmələ gətirən embrional sinir sütun hüceyrələri (NSC) rolunu oynayır. Sinir borucuğunun daxili hissəsi *ventrikl* adlanan maye dolu kompartimentləri əmələ gətirmək üçün önbeinə doğru

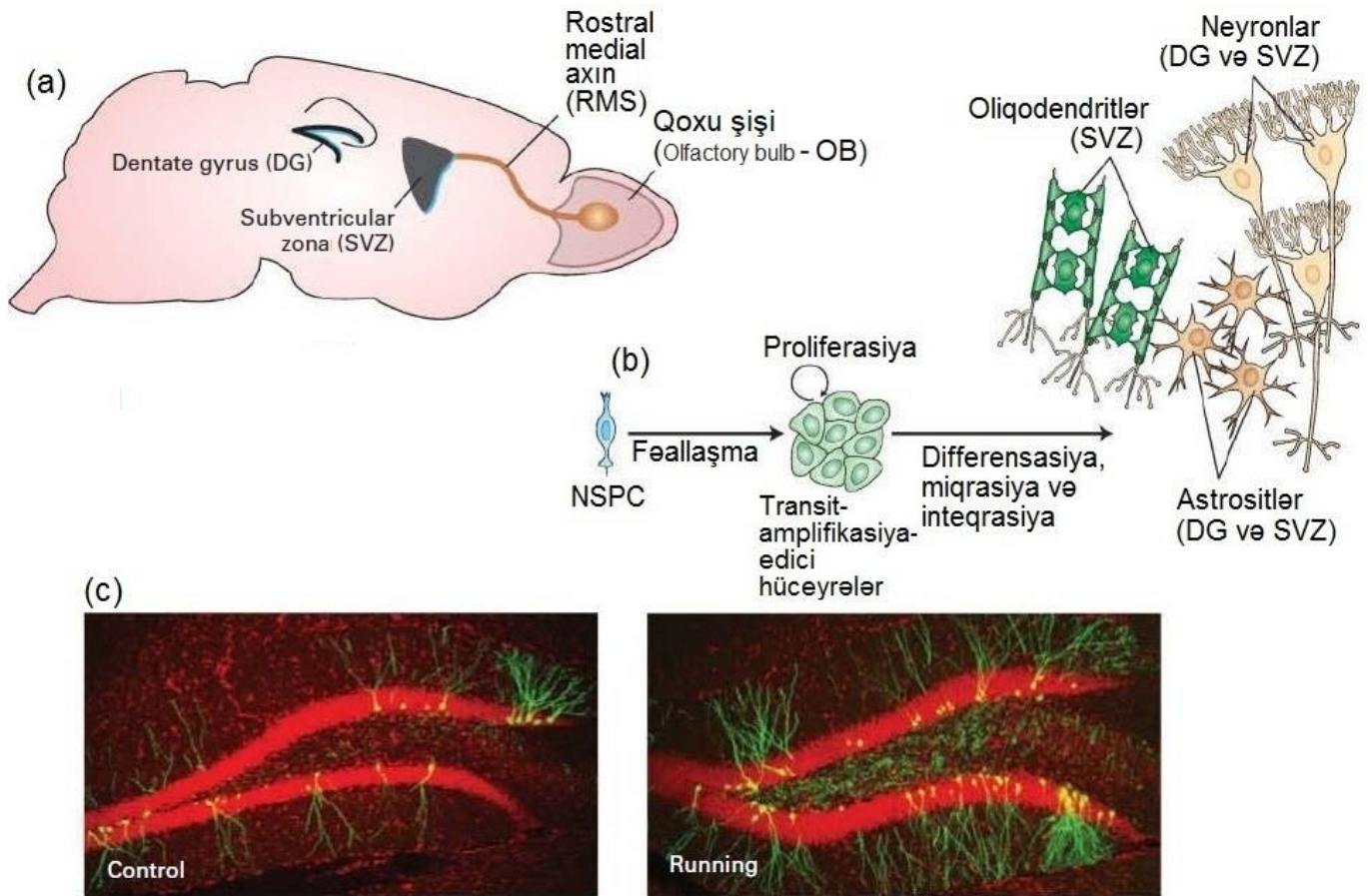
genişlənəcəkdir, əksər hüceyrə bölünməsinin baş verdiyi sinir borucuğunu astar kimi örtən hüceyrə təbəqəsi *ventrikular zona* (VZ) adlanır.

Hüceyrələrin necə doğulduğunu və doğulduqdan sonra hara getdiklərini təyin etmək üçün siçanlarda nişanlama və izləmə eksperimentləri aparılmışdır. Embrional neyroepitelial hüceyrələri (NEC-lər), beyin mədəciyinin daxilini örtən sinir sütun və əcdad (progenitor) hüceyrələr simmetrik bölünə bilirlər, iki yanaşı qız sütun hüceyrəni və ya əcdad (progenitor) hüceyrələri əmələ gətirirlər (Şəkil 22-7b), bununla da əcdad hüceyrə (progenitor) populyasiyasını genişləndirirlər. Neyronların əmələ gəlməsinin başladığı təxminən eyni zamanda, NEC-lər embrional neyroenezin əsas sələfi olan radial qlial hüceyrələrə transformasiya olunurlar. Radial qlial hüceyrələr ya iki qız radial qlial hüceyrəyə simmetrik bölünürlər, ya da asimmetrik bölünərək başqa radial qız hüceyrəni və differensiasiya etmiş neyronu və ya radial qlial hüceyrəni və aralıq əcdad (progenitor) hüceyrəni əmələ gətirir. Aralıq sələf hüceyrələr VZ-ə bitişik qonşu olan və *subventrikal zona* (SVZ) adlanan rayona keçir, bunlar isə öz növbəsində

differentiasiya olunmuş neyronların yaranmasına səbəb olurlar. Yeni yaranmış neyronlar VZ-dən beyin səthi istiqamətində miqrasiya etdiyinə görə radial qlianı skafolt kimi istifadə edirlər, xaricə doğru radial hərəkət edirlər. Beyin qabığında miqrasiya edən neyronlar daxildən-xaricə tərzdə ardıcıl təbəqələri əmələ gətirirlər. İnkişafın sonrakı dövrlərində RGC-lər astrositlər və oliqodentrositlər də daxil olmaqla qlianı əmələ gətirirlər (Şəkil 22-7).

Uzun illər inanırdılar ki, yetkinlərdə yeni sinir hüceyrələri əmələ gəlmir. Həqiqətən də məməlilərin əksər beyin hüceyrələri yetkinlik dövründə bölünməkdən dayanır, amma yan beyin mədəciyinin yetkin SVZ adlanan rayonunda və hipokampus rayonunda bəzi hüceyrələr yeni neyronları yaratmaq üçün sütun hüceyrə kimi fəaliyyət göstərməkdə davam edirlər (Şəkil 22-8a). Başqa tip sütun hüceyrələrdə olduğu kimi, bu sinir sütun hüceyrələri də funksional olaraq özünü-yeniləmə və sinirə xəttinə, o cümlədən neyronlara, astrositlərə və oliqodentrositlərə

differentiasiya edə bilmək qabiliyyətinə görə hüceyrə xətti kimi təyin olunmuşlar (Şəkil 22-8b). Sinir sütun hüceyrələrini identifikasiya və xarakterizə etmək üçün SVZ-lərdən ayrılan hüceyrələr FGF2 və ya EGF kimi boy faktorları ilə kultura olundular. Hüceyrələrdən bəziləri sağ qalıb differentiasiya olunmamış vəziyyətə proliferasiya etdilər, bunlar özünü yeniləyə bildilər. Başqa boy faktorlarının iştirakı ilə differentiasiya olunmamış bu hüceyrələr neyronların, astrositlərin və ya oliqodentrositlərin yaranmasına səbəb oldular. Yetkin beyindən özünü-yeniləyici və multipotent hüceyrələrin müvəffəqiyyətlə alınması sinir sütun hüceyrə populyasiyasının mövcud olması üçün güclü bir dəlili təmin etdi. Bu yeni neyronların funksiyası yetkin beyində hələ tam başa düşülmədiyi halda, gəmiricilərdə aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, onların sağ qalması ehtimalı zənginləşdirilmiş ətraf mühitləri və fiziki məşqləri ilə yüksəlir (Şəkil 22-8c).



ŞƏKİL 22-8 Yetkin beyinin neyrogenezi. (a) Yeni neyronlar yetkin beyinin iki rayonunda doğulur, hipokampusun dişli beyin qırışığında (dentate gyrus – DG) və subventrikal zonada (SVZ). Sıçanda SVZ-də sinir sütun hüceyrələrindən törənmiş neyronlar rostral medial axın (RMS) vasitəsi ilə qoxubilmə şişinə (olfactory bulb – OB) miqrasiya edirlər. (b) Sinir sütun və sələf hüceyrələri (NPSC-lər) bölünərək keçici-amplifikasiya edən hüceyrələr adlanan aralıq sələf hüceyrələr sinifini əmələ gətirmək üçün fəallaşma bilirlər, onlar isə öz növbəsində DG-də astrositlərə və ya neyronlara, ya da SVZ-də astrositlərə, neyronlara və ya oliqodentrositlərə bölünə bilirlər. (c) Dişli beyin qırışığında yeni doğulmuş neyronların GFP ekspressiya edən virusla nişanlanmasıdır. Göstərilənlər nəzarət sıçanında və bir həftə

müddətində qəfəsdə fırlanan təkərdə məşq edən sıçanın dişli beyin qırışığının kəsikləridir. Yeni yaranmış neyronlar yaşıl rəngdədir və onların inkişaf etdirdikləri geniş dentrit şaxələri göstərir ki, onlar sağ qalıblar və hipokampus daxiliyə inkorporasiya ediblər. Hipokampusdakı bütün başqa hüceyrələr qırmızı nüvə markeri ilə nişanlanmışdır. Dişli beyin qırışıqda sıx qırmızı rənglənmiş nişanlar (V-formalı quruluşun yan tərəfi) qranula hüceyrələrinin hüceyrə cisimidir. Digər qırmızı hüceyrə cisimləri qlial hüceyrələri və inhibitor neyronları yəmsil edirlər. Bu təsvirdə işıqlandırıldığı kimi, yeni yaranmış dişli beyin qırışıqda qranula hüceyrələrinin faizi çox kiçikdir və qaçmaqla əhəmiyyətli dərəcədə artır. [(c) hissəsi Chunmei Zhao and Fred H. Gage.]

SVZ-lərdə bəzi NSC-lər astrositlər xassəsinə, məsələn qlial fibrilyar turş zülalları (*glial fibrillary acidic protein - GFAP*) istehsalı etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Amma bu NSC-lər özlərini reproduksiya etmək üçün və tranzit-amplifikasiya olunan hüceyrələr adlanan və öz növbəsində bölünüb sinir sələflərini (neyroblastları) əmələ gətirən aralıq sələf hüceyrələrini yaratmaq üçün asimmetrik bölünə bilirlər. SVZ nişalar əsasən beyin mədəciklərində astar qatını əmələ gətirən epidermal hüceyrələrdən və yaxınlıqdakı qan damarlarını əmələ gətirən endotelial hüceyrələrdən gələn naməlum siqnallarla yaradılır (bax Şəkil 22-8c). Endotelial hüceyrələr və onların əmələ gətirdiyi bazal lamina sələf və sütun hüceyrələrlə dolay əlaqədirlər və ehtimal olunur ki, sinir sütun hüceyrə nişasının yaradılması üçün vacibdirlər. Hər bir sinir sütun hüceyrəsindən epidermal hüceyrə təbəqəsinə keçib birbaşa beyin mədəciyi ilə əlaqələnən bir kirpici uzanır. Nişa tərəfindən yaradılan siqnallar tam xarakterizə olunmamışdır, amma FGF-lər, BMP-lər, IGF, VEGF, TGF α və BDNF kimi (bu siqnal yollarının təsviri barədə Fəsil 16 bax) faktorların qarışığı barədə dəlillər vardır. BMP-lər sinir diferensiasiyasına nisbətən astrosit diferensiasiyasına daha çox üstünlük verirlər, bu da, düzgün balansda qalmalı olan hüceyrə taleyinin təyin edilməsinə nəzarətin bir nümunəsidir.

22.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Neyronlar və Qlia: Sinir Sisyeminin Quruluş Blokları

- Neyronlar yüksək dərəcədə asimmetrik hüceyrələr olub bir ucunda çoxsaylı dendritlərdən, daxilində hüceyrə nüvəsi olan hüceyrə cismindən, uzun aksondan və akson uclarından ibarətdir.
- Neyronlar plazma membranı boyunca ion axını pulslarından istifadə edərək məlumatı bir ucdan digər uca daşıyır. Şaxələnmiş hüceyrə prosesləri, dendritlər hüceyrənin bir ucunda başqa neyronlardan kimyəvi siqnalları alır, ion axmasını işə salır. Elekytrik siqnalı sürətlə hüceyrənin digər ucundakı akson sonluğuna hərəkət edir (bax Şəkil 22-1).
- Siqnal daşımayan sakitlikdə olan neyron ionları plazma membranından keçirən ATP-*ilə* işləyən nasosa malikdir. Xaricə hərəkət edən K⁺ ionları hüceyrə daxilində mənfi yükü yaradır. Bu gərginlik sakitlik potensialı adlanır və bir qayda olaraq təxminən -70 mV-a qəddir (bax Şəkil 22-2).
- Əgər stimulyon müəyyən ion kanallarının açılmasına səbəb olursa, beləliklə müəyyən ionlar asanlıqla axa bilirlərsə, gərginliyin dəyişilməsinin güclü pulsları neyron boyu dendritlərdən akson sonluğuna keçir. Hüceyrəxarici mühitlə nisbətə hüceyrə daxili ~ -70 mV-dan daxili ~ +50 mV keçir. Bu puls təsir potensialı adlanır (bax Şəkil 22-2).
- Təsir potensialı hüceyrə cismindən akson sonluğuna doğru akson boyu 100 metr saniyə sürəti ilə hərəkət edir.
- Neyronlar sinapslar adlanan kiçik boşluqlarla birləşir. Təsir potensialı boşluqları atılıb keçə bilmədiyindən, presinaptik hüceyrələrin akson sonluğunda siqnal postsinaptik hüceyrələri stimullaşdırmaq üçün elektrik siqnalından kimyəvi siqnala çevrilir.
- Təsir potensialı ilə stimullaşarkən akson sonluğu eqzositoz yolu ilə neyroötürücülər adlanan kimyəvi maddələrin kiçik

dəstəsini buraxır. Neyroötürücülər sinapsdan diffuiziya edib keçir və sinapsın digər tərəfində dendritlərdəki reseptora birləşir. Bu reseptorlar postsinaptik hüceyrələrdə yeni akson potensialını induksiya edə bilir və ya ingibirləşdirə bilir (bax Şəkil 22-3).

- Neyronlar, diz-refleksi cavabında olduğu kimi, adətən sensor neyronlarından, interneyronlardan və motor neyronlardan ibarət olan sxemləri əmələ gətirirlər (bax Şəkil 22-4).
- Qlial hüceyrələr sinir sistemində zəngindir və çox məqsədə xidmət edirlər. Oligodendrositlər və Şvann hüceyrələri çox neyronları örtən myelin izolyatorunu qururlar.
- Neyronlar bir-biri ilə birləşərək sxem əmələ gətirirlər. Üç əsas tip neyronal birləşmə formalarına divergent, konvergent və geriyə əlaqə sxemləri daxildirlər.
- Qlial hüceyrələrin başqa bir tipi astrositlər öz proseslərini sinapslar və qan damarları ətrafında saxlayırlar, qan-beyin baryerinin əmələ gəlməsini təşviq edirlər (bax Şəkil 22-6). Astrositlər həm də sinaps əmələ gəlməsini stimullaşdıran zülalları ifraz edirlər və sinir sxemlərinin formalaşmasında və fəaliyyətində iştirak edirlər.
- Embrional sinir sütun hüceyrələri ventrikular zonada mərkəzi sinir sisteminin bütün hüceyrələrinin yaranmasına səbəb olur. Bu sütun hüceyrələr və əcdad hüceyrələr bir sıra asimmetrik və simmetrik hüceyrələrə çevrilərək daha çox əcdad hüceyrələri, qlia və neyronları əmələ gətirirlər (Şəkil 22-7).
- Yetkin beyində yeni neyronlar hipokampusun subventrikal zonasında və dişli beyin qabığında yaranırlar (Şəkil 22-8). Sütun və əcdad hüceyrələrin differensiasiyası müxtəlif siqnal faktorları ilə tənzimlənir.

22.2 Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları və Təsir potensialının Yayılması

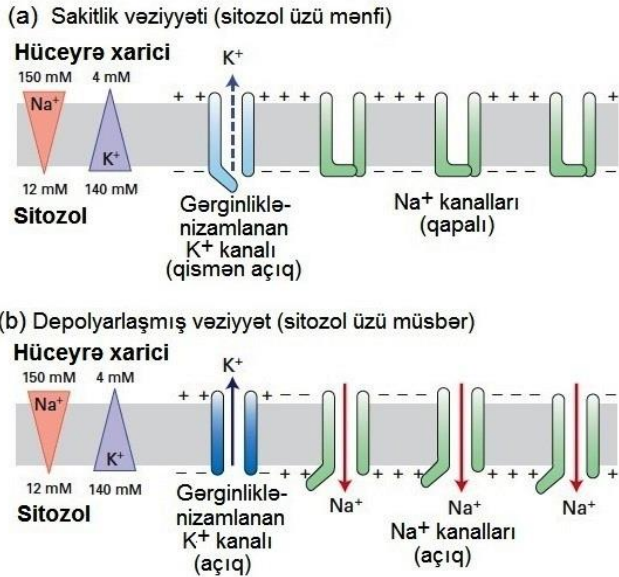
Fəsil 11-də biz öyrəndik ki, ~ 70 mV elektrik potensialı (sitozol üzünə mənfi) bütün hüceyrələrin, o cümlədən sakitlikdə olan sinir hüceyrələrinin plazma membranında mövcud olur. Sakitlikdə olan bu membran potensialı K⁺ ionlarının plazma membranındakı açıq nizamlanmayan K⁺ kanalları vasitəsilə hüceyrə xaricinə hərəkəti ilə yaradılır və K⁺ qatılıq qradienti (sitozol>hüceyrəxarici mühit) ilə idarə olunur. Sitozolda K⁺ qatılığının yüksək olması və Na⁺ qatılığının aşağı olması onların hüceyrəxarici mühitdəki qatılığına olan nisbətə görə plazma membranındakı, Na⁺/K⁺ nasosu ilə yaradılır, nasos Na⁺ ionlarını xaricə və K⁺ ionlarını daxilə vurmaq üçün ATP-dəki fosfoanhidrid əlaqəsinin hidrolizindən ayrılan enerjiden istifadə edir. Na⁺ ionlarının mühitdən sitozola daxil olması termodinamik cəhətdən sərfəlidir, həm Na⁺ qatılıq qradienti (hüceyrəxarici mühit > sitozol) həm də daxili mənfi membran potensialı ilə idarə olunur (bax Şəkil 11-25). Amma, plazma membranında əksər Na⁺ kanalları sakitlikdə olan hüceyrələrdə qapalı olur, ona görə Na⁺ ionlarının bir az daxilə hərəkəti baş verə bilər (Şəkil 22-9a).

Təsir potensialı zamanı Na⁺ kanallarının bir hissəsi açılır, Na⁺ ionlarının daxilə keçməsinə imkan verərək membranı depolyarlaşdırır. Təsir potensialı akson boyu yayılır, çünki aksonun bir hissəsində olan gərginliyin dəyişilməsi aksonun növbəti bölməsində Na⁺ kanalının açılmasını işə salır. Ona görə də bu cürə *gərginliklə-nizamlanan kanallar* neyronal

ötürülmənin mərkəzində durur. Bu bölmədə biz birinci hüceyrə cismindən hüceyrə sonluğuna doğru akson boyu sürətlə hərəkət edən təsir potensiallarının əsas xassələrini təqdim edirik. Sonra biz neyronların fəaliyyətində təsir potensiallarının yayılmasında gərginliklə-nizamlanan kanalların necə cavabdeh olmasını təsvir edirik. Bölmənin sonuncu hissəsində biz qlial hüceyrələrin yaratdığı myelin təbəqənin sinir hüceyrələrində elektrik ötürülməsinin sürətini və səmərəliliyini necə artırdığını görəcəyik

Təsir Potensialının Qiyməti E_{Na} -a Yaxındır və Na^+ -un Açıq Na^+ Kanalları Vasitəsilə Daxilə Axmasıyla Baş Verir

Şəkil 22-9b plazma membranında kifayət qədər açıq Na^+ kanalları olan zaman membran potensialının necə dəyişəcəyini göstərir. Nəticədə daxilə, sitozola axan müsbət yüklənmiş Na^+ ionları açıq K^+ ionu kanalları vasitəsilə xaricə axan K^+ ionlarının kompensasiyasından daha çox olacaq. Bunun nəticəsi kationların xalis daxilə hərəkəti, plazmatik membranın sitozol üzündə müsbət yüklərin artıq miqdarının yaranması və müvafiq olaraq hüceyrəxarici üzündə mənfi yükün artıqlığının yaranması (Na^+ ionlarının daxilə axmasından sonra “öz ardınca” Cl^- ionlarını saxlaması) olacaq. Başqa sözlə, plazma membranı o dərəcədə depolyarlaşır ki, daxili üz xarici üzə nisbətə müsbət olur.



ŞƏKİL 22-9 Nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasına görə plazmatik membranın depolyarlaşması. (a) Sakitlikdə olan neyronlarda nizamlanmayan K^+ kanalları tipi zamanın müəyyən hissəsində açıq vəziyyətdə olur, amma daha artıq sayda Na^+ kanalları qapalı vəziyyətdə olur. K^+ ionlarının xaricə çıxması əksər hüceyrələr üçün xarakterik olan daxili-mənfi membran potensialını yaradır. (b) Nizamlanan Na^+ kanallarının açılması membran potensialının gəriyə qayıtmasına səbəb olan kifayət qədər Na^+ ionlarının daxilə axmasına imkan verir. Depolyarlaşma vəziyyətində gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları açılır və ardınca membranı yenidən polyarlaşdırır. Qeyd edək ki, ionların axını sitozolda və ya hüceyrəxarici mühitdə Na^+ və ya K^+ ionlarının ümumi qatılığına çox təsir edə bilməyəcək dərəcədə çox kiçik olur.

Fəsil 11-dən yadaq salaq ki, ionların tarazlıq potensialı membran potensialıdır, bu zaman bu ionun membranın bir tərəfindən digər tərəfinə xalis axını iki əks qüvvələr – ion qatılığı gradienti və membran potensialı tarazlaşdığına görə baş vermir. Gözlənilməli kimi, əgər gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılması təsir potensialını yaradırsa, təsir potensialında depolyarlaşma pikində membran potensialının qiyməti, Nernst tənliyi ilə verilmiş (Tənlik 11-2) Na^+ tarazlıq potensialı E_{Na} -a çox yaxın olacaqdır. Məsələn, təsir potensialının ölçülən pik qiyməti kalmarın gicant aksonunda +35 mV-dur, bu Na^+ ionlarının 440 mM xaricdə və 50 mM daxilədəki qatılığına əsaslanan hesablanmış E_{Na} qiymətinə (+55 mV) çox yaxındır. Təsir potensialının böyüklüyü və Na^+ ionlarının hüceyrə daxilində və xaricindəki qatılıqları arasındakı əlaqə eksperimental olaraq təsdiq olunmuşdur. Məsələn, əgər Na^+ ionlarının qatılığı kalmar aksonunun olduğu məhlulda normalın üçdə birinə qədər azalarsa depolyarlaşmanın qiyməti, ehtimal olunduğu kimi, 40 mV-a qədər azalacaqdır.

Gərginliklə-Nizamlanan Na^+ və K^+ Kanallarının Ardıcıl Açılması və Bağlanması Təsir potensialını Yaradır

Təsir potensialını təşkil edən membran potensialının dəyişmələri tsikli və sakitlikdə olan qiymətə qayıtma 1-2 millisaniyə ərzində baş verir və tipik neyronda bir saniyə müddətində yüz dəfə baş verə bilər (bax Şəkil 22-2). Membran potensialındakı bu tsiklik dəyişmə birincisi aksonal plazma membranı seqmentində gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının (bu kanal membran potensialının dəyişməsi ilə açılır) açılıb qapanması nəticəsində, sonra da gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılıb qapanması ilə baş verir. Təsir potensialının yaranmasında bu kanalların rolu kalmarın çox böyük aksonlarında aparılmış klassik tədqiqatlarda izah olunmuşdur, burada çoxsaylı mikroelektrodlar plazmatik membranın bütövlüyünü zədələmədən daxil edilə bilər. Amma, eyni əsas mexanizm bütün neyronlarla istifadə edilir.

Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları Yenidən müzakirə olunduğu kimi, gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları sakitlikdə olan neyronlarda qapalı olur. Membranın kiçik depolyarlaşması (neyroötürücülər postsinaptik hüceyrələri stimullaşdıran zaman baş verir) istənilən bir kanalın açıq olma ehtimalını artırır: depolyarlaşma yüksək olduqca bu kanalın açıq olma ehtimalı da yüksək olur. Depolyarlaşma məsələnin sitozol tərəfində qapının açılmasına səbəb olan bu kanal zülallarında konformasiya dəyişikliklərini əmələ gətirir, Na^+ ionlarının kanal vasitəsilə sitozola keçməsinə imkan verir. Beləliklə, ilkin membran depolyarlaşması nə qədər böyük olarsa bir o qədər də çox gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları açılır və bir o qədər də çox Na^+ ionları daxilə keçir.

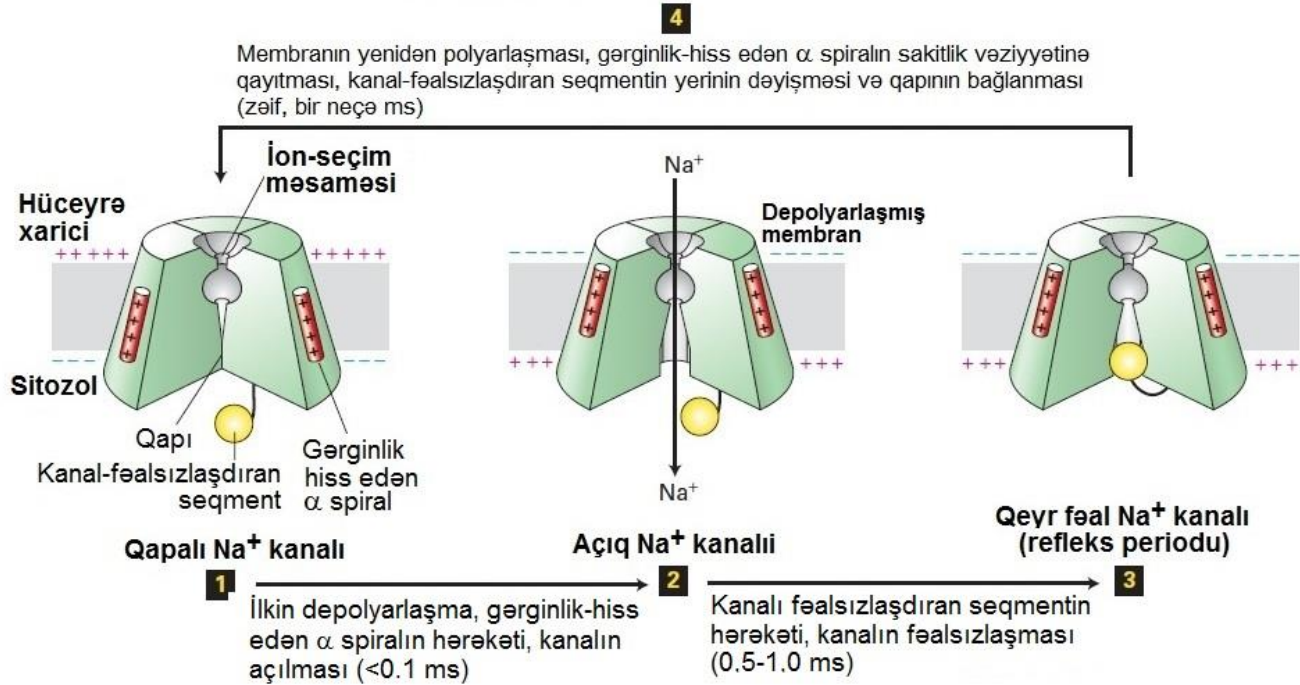
Na^+ ionları açıq kanaldan daxilə axan kimi, artıq miqdarda müsbət yük sitozol tərəfdə və mənfi yüklər eqzoplazmatik tərəfdə ilkin depolyarlaşma saytıdan qısa məsafədə kənara diffuziya edirlər. Müsbət yüklərin sitozol üzündə, mənfi yüklərin içə xarici üzə belə *passiv səpələnməsi* yaxın bitişik seqmentləri depolyarlaşdırır (daha az daxilə mənfi edir), bu seqmentlərdə əlavə gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasına səbəb olur və Na^+ -un daxilə axmasını artırır. Nə qədər çox Na^+ ionları daxilə axırsa hüceyrə membranının daxilə

bir o qədər depolyarlaşmış olur, daha da artıq gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasına və daha artıq membran depolyarlaşmasına səbəb olur, Na^+ ionlarının sürətli daxilolmasını işə salır. Millisaniyənin kiçik bir hissəsində membran bu kiçik hissəsinin Na^+ keçiriciliyi K^+ keçiriciliyinə nisbətən əhəmiyyətli dərəcədə yüksək olur və membran potensialı E_{Na} -a yaxınlaşır, membran keçiriciliyi üçün tarazlıq potensialı yalnız Na^+ ionları üçün olur. Amma, membran potensialı E_{Na} -a yaxınlaşdıqca Na^+ ionlarının sonraki xalis daxilə hərəkəti dayanır, Na^+ ionlarının qatılıq gradienti (xaricdən>içəriyə) artıq daxili-müsbət membran potensialı ilə əvəz olunur. Təsir potensialı özünün yüksəkliyində (pikində), E_{Na} qiymətinə yaxın olur.

Şəkil 22-10 gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının quruluş xüsusiyyətlərini və onların açılması və qapanması ilə baş verən konformasiya dəyişikliklərini sxematik göstərir. Sakitlik vəziyyətində sitozol tərəfində zülalın bir seqmenti – qapı – mərkəzi məsaməyə mane olur, ionların keçməsinin qarşısını alır. Kanalın dörd müsbət yüklənmiş gərginliyə-həssas α spirallı var, sakitlik vəziyyətində bu spirallar plazma membranının daxili-mənfi səthinə cəzb olunur. Membranın kiçik depolyarlaşması bu gərginliyə-həssas spiralların eqzoplazmatik səthinə quran mənfi yükə doğru hərəkətini işə salır, kanalı açan qapıda konformasiya dəyişmələrini əmələ gətirir və Na^+ ionlarının axıb keçməsinə imkan verir. Təxminən bir

millisaniyədən sonra, Na^+ ionlarının daha sonra daxilə axıb keçməsinin qarşısı sitozol-üzündəki kanal fəalsızlaşdıran seqmentin açıq kanala hərəkət etməsi ilə alınır, Na^+ ionlarının daha da hərəkət etməsi blok olunur. Nə qədər ki, membran depolyarlaşmış vəziyyətdə olur kanal fəalsızlaşdıran seqment kanalı açılmış vəziyyətdə saxlayır, bu *dəfədimə dövründə* kanal fəalsızlaşır və yenidən açıla bilmir. Daxili-mənfi sakitlik potensialı bərpə olunduqdan bir neçə millisaniyə sonra kanal-fəalsızlaşdırılan seqment məsamədən kənara uzaqlaşır və gərginliyə-həssas α spirallar plazma membranının sitozol səthinə yaxın, ös sakitlik vəziyyətinə qayıdır. Beləliklə kanal qapalı sakitlik vəziyyətinə qayıdır və yenidən depolyarlaşma üçün açılmağa hazır vəziyyət alır. Qeyd edək ki, “qapalı” kanallar və “qeyri fəal” kanallar arasında fərq Şəkil 22-10-da verilmişdir.

Gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları Membranın refrakter dövründə baş verən yenidən polyarlaşması gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılması hesabına olur. Ardınca K^+ ionlarının sitozoldan kənara axmasının artması plazma membranının sitozol üzündə artıq miqdarda olan müsbət yükün uzaqlaşmasına səbəb olur (başqa sözlə, onu daha çox mənfi edir), bununla da daxili mənfi olan sakitlik potensialını bərpə edir. Əslində, qısa müddətdə membran hiperpolyarlaşmış olur, hiperpolyarlaşma pikində potensial sakitlik dövrünə nisbətən daha çox mənfi olan E_{K} -ə yaxınlaşır (bax Şəkil 22-22).



ŞƏKİL 22-10 Gərginliklə nizamlanan Na^+ kanalının operasiya modeli. Şəkil 11-20-də verilmiş K^+ kanalında olduğu kimi, zülaldə dörd transmembran domen ionların hərəkət etdikləri mərkəzi məsaməyə kömək edir. Na^+ ionlarının hərəkətinə nəzarət edən kritik komponentlər burada dörd transmembran domendən üçün təsvir edən kəsik görünüşdə göstərilir. Qapalı, sakitlikdə olan vəziyyətdə, hər üç qalıqdan bir müsbət yüklənmiş yan zəncirləri olan gərginlik-hissədən α spirallar sakitlikdə olan membranın sitozol tərəfində mənfi yüklərə cəzb olunur. Bu qapı seqmentini sitozol üzündə “qapalı” vəziyyətdə saxlayır, kanalı blok edir, Na^+ ionlarının daxil olmasına (pillə 1) mane olur. Kiçik depolyarlaşmaya cavab olaraq gərginlik-hissədən spirallar

fosfolipid iqtisadından hərəkət edib membranın xarici səthinə keçir, zülalın sitozol üzündə dərhal qapıda konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur və kanal açılır (pillə 2). Millisaniyənin kiçik bir farkıyısında kanal-fəalsızlaşdıran seqment açıq kanala keçir, ionların sonraki keçməsinə mane olur (pillə 3). Membran yenidən polyarlaşdıqdan sonra, gərginlik-hissədən spiral sakitlik vəziyyətinə keçir, kanal fəalsızlaşdıran seqment kanalın açılmasından kənara çəkilir və kanal bağlanır, zülal bağlanmış, sakitlikdə olan vəziyyətə keçir və yenidən depolyarlaşma ilə açıla bilər (pillə 4). Bax W. A. Catterall, 2001, *Nature* 409:988; və S. B. Long et al., 2007, *Nature* 450:376.

Gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılması təsir potensialının güclü şəkildə depolyarlaşması ilə induksiya olunur. Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarından fərqli olaraq, gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının əksər tipləri membran depolyarlaşmış olduğu müddətdə açıq qalır və membran potensialı daxili-mənfi qiymətə qayıdanda bağlanır. Gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları ilkin depolyarlaşmadan sonra azaca açıldığına görə ən yüksək təsir potensialında onlar çox zaman *gəcikan K^+ kanalları* adlanırlar. Gərginliklə-nizamlanan K^+ və Na^+ kanalları tədricən sonda özlərinin sakitlikdə olan qapalı vəziyyətinə qayıdırlar. Bu başlanğıc vəziyyətdə yeganə açıq olan kanal sakitlikdə olan membran potensialını yaradan və tezliklə membran potensialını ilkin adi qiymətinə, -60 -dan -70 mV qədər qaytaran nizamlanmayan K^+ kanallarıdır (bax Şəkil 22-9a).

Təsir potensialı dövrü ərzində Na^+ və K^+ ionlarının axması depolyarlaşma, hiperpolyarlaşma və yenidən polyarlaşma zamanı membran potensialını dramatik şəkildə dəyişir, qeyd etmək vacibdir ki, bu ionların membranın qarşı tərəflərinə mübadiləsi Na^+ və K^+ ionlarının sitosol və hüceyrəxarici boşluqdakı ümumi sayı ilə müqayisədə kiçikdir. Beləliklə, bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, neyronlarda təsir potensialı şəraiti onların ion qatılıqları qradientini saxlayan Na^+/K^+ nasosunu *dolayı yolla* tələb edir.

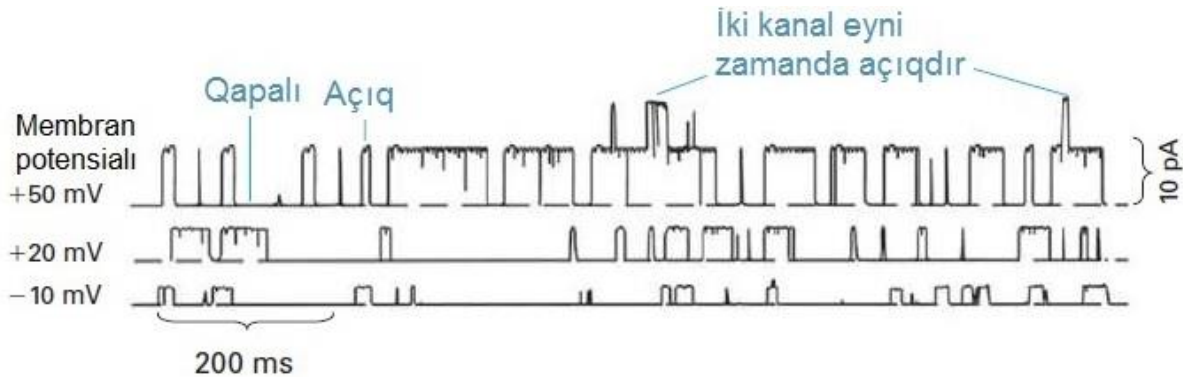
Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarını yamaq-sıxac metodlarından istifadə edərək öyrənmək çətinidir, amma Şəkil 22-11-də verilən yamaq-sıxac izləmə gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının çox vacib xassələrini aşkar etdi (yamaq-sıxac-ın izahına görə bax Şəkil 11-22). Bu eksperimentdə neyronal plazma membranın kiçik seqmentləri müxtəlif gərginliklərdə sıxılaraq yapışdırılmış şəkildə saxlanılır, və aşiq K^+ kanalları vasitəsilə K^+ ionlarının axmasına görə yamaqlardan keçən elektrik yüklərinin axımı ölçülür. Nisbətən zəaif, -10 mV depolyarlaşma gərginliyində membran yamağında kanallar tez-tez açılır və müvafiq olaraq, izləmədə getdikcə artan sıçrayışların sayı və genişliyi ilə mühakimə olunduğu kimi, yalnız bir neçə millisaniyə açıq qalır. Bundan başqa, bunlardan keçən ion seli hər bir açıq kanalı keçən elektrik cərəyanının

(sıçrayışların yüksəkliyi) ölçülməsi üçün həddən artıq kiçikdir. Membranın $+20$ mV-a qədər daha da depolyarlaşması bu kanalların iki dəfə daha tez-tez açılmasına səbəb olur, həmçinin hər bir açıq kanaldan daha çox K^+ ionları axıb keçir (sıçrayışların yüksəkliyi daha artıq olur), çünki K^+ ionlarının xaricə axmasını idarə edən qüvvə $+20$ mV membran potensialında -10 mV membran potensialına nisbətən daha çoxdur. Membranın təsir potensialının $+50$ mV qiymətində olan pikinə qədər daha da depolyarlaşması daha çox K^+ kanallarının açılmasına səbəb olur və bunlar vasitəsilə K^+ buraxılmasını artırır. Beləliklə, təsir potensialının piki zamanı K^+ kanalları açılmaqla K^+ ionlarının xaricə axmasına və gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları bağlandığı və fəalsızlaşdığı halda membran potensialının yenidən polyarlaşmasına imkan verir.

İnsanlarda və başqa onurğalılarda 100-dən artıq gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalı zülalları identifikasiya olunmuşdur. Bizim sonra müzakirə edəcəyimiz kimi, bütün bu kanal zülalları ümumi oxşar quruluşa malikdirlər, amma onların hamısı fərqli gərginlikdən asılılığı, keçiriciliyi, kanal kinetikasını və digər funksional xassələri nümayiş etdirirlər. Çoxları yalnız güclü depolyarlaşma gərginliklərində açılır, bu xassə membranın yenidən polyarlaşmasının başlamasından öncə təsir potensialına xarakterik olan maksimal depolyarlaşmanın yaranması üçün tələb olunur.



Təsir potensialının buraxılmasında Gərginliklə-nizamlanan Na^+ və K^+ kanallarının fundamental rolunu nəzərə aldıqda, təccüblü deyildir ki, bu kanallardakı mutasiyalar nəsilə ötürülən irsi monogen insan epilepsiyalarının yaranmasına səbəb olur. Epilepsiyalar əhalinin 1% qədərində təsir edən, beyində həddən yüksək sinxronlaşdırılmış sinir fəaliyyətinin nəticəsində yaranan qıcolma xəstəliyidir. Epilepsiya müxtəlif səbəblərdən, o cümlədən anormal beyin inkişafından, beyin zədələnməsindən, narkotik maddə və çox alkoqol istifadəsindən yarıdığı halda epilepsiyanın bəzi formaları ion kanallarını kodlaşdıran genlərdə olan mutasiyalar nəticəsində yaranır. Bu xəstəliklər kanalopatiyalar adlanırlar. İnsanın genetik tədqiqatları Nav 1.1

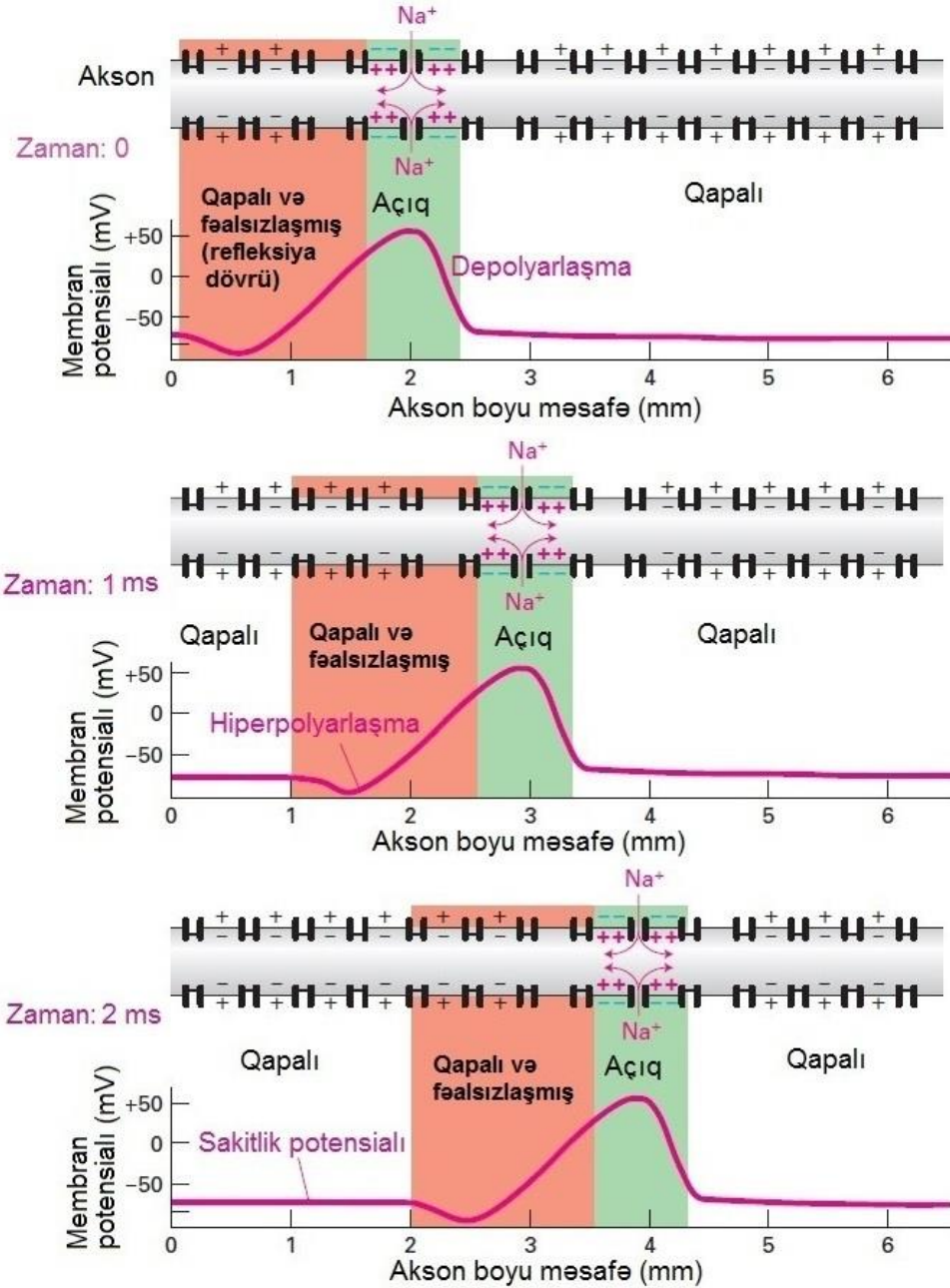


EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 22-11 Kanallın açılması və fərdi gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları vasitəsilə cərəyan axması ehtimalı membran depolyarlaşması dərəcəsi ilə artır. Bu yamaq-sıxac izləmələri neyronal plazma membranın üç müxtəlif potensialında, $+50$, $+20$ və -10 mV yapışdırılmış yamaqlarından əldə olunmuşdur. Cərəyandakı yuxarıya doğru kənarlanmalar K^+ kanallarının açılmasını və K^+ ionlarının hüceyrə membranından keçərək xaricə (sitzozoldan

eqzoplazmatik üzə) axmasını göstərir. Membran depolyarlaşmasını -10 mV-dan $+50$ mV-a qədər artırmaqla (məsələn, sıxılma gərginliyi) kanallın açılma ehtimalı, onun açıq qalma müddəti və onu kəsib keçən elektrik cərəyanının miqdarı (ionların sayı) artır. pA = pikoamper. [Verilənlər B. Pallota et al., 1981, *Nature* 293:471-dən, B. Hille tərəfindən, 1992, *Ion Channels of Excitable Membranes*, 2d ed., Sinauer, p. 122-də modifikasiya olunduğu kimi.]

gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalında febril ürəkkeçmələrlə ümumi epilepsiyaya səbəb olan spesifik mutasiyaları identifikasiya etdilər, amma $\text{Kv}7.2$ və $\text{Kv}7.3$ gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarında mutasiyalar xoşxassəli ailə neonatal ürəkkeçmə adlanan başqa bir epilepsiya formasını əmələ gətirir. Mutasiyalar gərginliklə-tənzimlənən Na^+ və K^+ kanallarında müxtəlif yollarla, o cümlədən Na^+ kanallarının fəalsızlaşmasını dəyişməklə və ya neyronların K^+ kanalından-

asılı olan yenidən polyarlaşmasını blok etməklə neyronal hiperhəyacanlanmanı əmələ gətirirlər, bu yolların hər ikisi təsir potensialının davam etmə müddətini uzadır və ya təsir potensialının başlanması üçün həddi kiçiltməklə, məsələn neyronlara ingibirləşdirici və həyacanlandırıcı girişlərinin nisbətini kiçiltməklə azaldır. ■



ŞƏKİL 22-12 Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının keçici fəalsızlaşmasına görə təsir potensialının biristiqamətli keçirilməsi. 0 zaman müddətində təsir potensialı (tünd qırmızı xətt) aksondan 2 mm məsafə mövqeyində olur, bu mövqedə Na^+ kanalları açılmış vəziyyətdə olur (yaşıl gölgə) və Na^+ ionları daxilə axır. Na^+ ionlarının artıq hissəsi membranın daxili hissəsi boyu hər iki istiqamətdə diffuziya edir, depolyarlaşmanı hər iki istiqamətdə passiv yayır (tünd qırmızı oxlarla əyri). Amma, Na^+ kanalları 1 mm mövqeyində olduqları halda yenə də

qeyri fəal vəziyyətdə olduqlarından (qırmızı kölgə) onlar hələ də passiv yayılmanın nəticəsi olan kiçik depolyarlaşma ilə yenidən açıla bilmirlər, Na^+ kanalları 3 mm mövqeyində olan zaman, əksinə, onlar açılmağa başlayırlar. Membranın hər bir rayonu təsir potensialı keçdikdən sonra bir neçə millisaniyə müddətində refraktor (qeyri fəal) olur. Beləliklə depolyarlaşma yalnız 2 mm sayında 0 zamanında aşağıya istiqamətdə təsir potensialını işə salır, 1 ms-də təsir potensialı 3 mm mövqeni keçir, 2ms-də isə 4 mm mövqeni keçir.

Təsir potensialı Azalmadan Birstiqamətli Yayılır

Təsir potensialı hüceyrə cisminə yaxın aksional plazma membranının kiçik bir yamağında baş verən dəyişilmə ilə başlayır. Təsir potensialı pikində membran depolyarlaşmasının passiv səpilməsi membranın yaxın qonşu seqmentinin də depolyarlaşması üçün kifayət edir. Bu bir neçə gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalının bu rayonda açılmasına səbəb olur, beləliklə bu rayonda depolyarlaşma dərəcəsini artırır və Na^+ kanallarının kəskin kütləvi şəkildə açılmasına və təsir potensialının yaranmasına səbəb olur. Bu depolyarlaşma tezliklə gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılmasını sakitlik potensialının bərpa olunmasını işə salır. Beləliklə təsir potensialı hərəkətdə olan dalğa kimi azalmadan özünün ilkin saytından uzaqlara yayılır.

Əvvəldə qeyd olunduğu kimi, refraktor dövründə gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları bir neçə millisaniyə müddətində fəalsızlaşır. Belə refraktor kanallar ion hərəkətini keçirə bilmirlər və bu dövrdə hətta membran passiv yayılmaya görə depolyarlaşdıqda belə açıla bilmirlər. Şəkil 22-12-də təsvir edildiyi kimi, refraktor dövründə Na^+ kanallarının yenidən açıla bilməməsi əmin edir ki, fəaliyyət potensialları yalnız bir istiqamətdə, onların yarandığı ilkin akson seqmentindən akson sonluğuna doğru yayılırlar. Təsir potensialının mövqeyindən yuxarıya (ön) istiqamətdə olan Na^+ kanalları fəalsızlaşmış olduğundan onlar passiv yayılmanın səbəb olduğu kiçik depolyarlaşma ilə yenidən açıla bilmirlər. Əksinə, təsir potensialından “aşağıya istiqamətdə” olan Na^+ kanalları açılmağa başlayırlar.

Na^+ kanallarının Refraktor dövrü neyronların saniyə ərzində keçirə biləcəyi təsir potensialının sayını məhdudlaşdırır. Məlumatı daşıyan təsir potensialının tezliyi olduğundan bu çox vacibdir. Təsir potensialından yuxarıya istiqamətində (məsələn, hüceyrə cisminə daha yaxın) Na^+ kanalının yenidən açılması gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılması nəticəsində baş verən membran hiperepolyarlaşması hesabına ləngiyir.

Sinir Hüceyrələri ATP Olmadan Çox Təsir Potensialını Keçirirlər

Təsir potensialı zamanı membranın depolyarlaşması kiçik sayda Na^+ ionlarının neyronlar daxilinə keçməsi ilə nəticələnir və hüceyrədaxili Na^+ qatılığına əhəmiyyətli dərəcədə təsir etmir. Tipik sinir hüceyrəsiniün plazma membranının hər kvadrat mikrometrində (μm^2) 10 qədər gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları var. Hər buir kanaldan onun açıq olduğu bir millisaniyə ərzində 5000-dən 10000 qədər ion keçdiyindən (bax Şəkil 11-23), təsir potensialı müddətində plazma membranın hər μm^2 -dən maksimum 10^5 ion daxilə keçə bilər.

Bu ion axınının sitozolda sakitlikdə olan aksondakı 10 mM (0.01 mol/L) Na^+ qatılığına təsirini qiymətləndirmək üçün biz diqqətimizi 10 mikrometr (μm) uzunluqda və 1 μm diametrdə akson seqmentinə cəmləyək. Bu seqmentin həcimi $78 \mu\text{m}^3$ -dur və ya 7.8×10^{-13} litrdir və o 4.7×10^9 Na^+ ionlarına malikdir: (10^{-2} mol/L) (7.8×10^{-13} L) (6×10^{23} Na^+ /mol). Aksonun bu seqmentinin səth sahəsi 31 μm^2 -dir və bir təsir potensialının keçdiyi dövr müddətində membranın hər μm^2 sahəsindən 10^5 Na^+ ionu daxil olacaq. Na^+ daxilə axması bu sahədə Na^+ ionlarının sayını qismən, təxminən 1500 qədər artırır: (4.7×10^9)

/ (3.1×10^6). Eyni şəkildə, K^+ ionlarının gərginliklə-nizamlanan kanallar vasitəsilə xaricə axmasının təsirinə görə membranın yenidən polyarlaşması hüceyrədaxili K^+ ionlarının qatılığına əhəmiyyətli dərəcədə dəyişmir

Bütün Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları Ümumi Quruluşa Malikdir

Təsir potensialının gərginliklə-nizamlanan kanalların tənzimlənən şəkildə açılmasından və qapanmasından necə asılı olduğunun izah etdikdən sonra biz bu əlamətdar zülalların molekulyar analizinə başlayırıq. Bu kanalların əsas quruluşunu izah etdikdən sonra biz diqqətimizi üç suala cəmləyirik:

- Bu zülallar membran potensialındakı dəyişilməni necə hiss edirlər?
- Bu dəyişilmə kanalın açılmasına necə ötürülür?
- Kanallar açıldıqdan qısa müddət sonra onların fəalsızlaşmasına nə səbəb olur?

Gərginliklə-nizamlanan ion kanallarının anlaşılmasında ilkin irəliləyiş *şeyker* mutasiyanı daşıyan meyvə milçəyinin (*Drosophila melanogaster*) analizi nəticəsində baş vermişdir. Bu milçəklər efrilə anesteziya altında güclü şəkildə titrəyirlər, motor nəzarətinin itirilməsini və anormal şəkildə uzanmış təsir potensialına malik olan müəyyən motor neyronlardakı qüsurları əks etdirirlər. Tədqiqatçılar şübhələndilər ki, *şeyker* mutasiya kanalın funksiyasında qüsurun yaranmasına səbəb olur. Burada iştirak edən genin klonlaşdırılması təsdiq etdi ki, qüsurlu zülal gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalıdır. *Şeyker* mutasiya depolyarlaşma zamanı mutant kanalın dərhal açılmasına mane olur. Təbii formalı *şeyker* genin K^+ kanalını kodlaşdırdığını aşkar etmək üçün klonlaşdırılmış təbii formalı *şeyker* kDNT hüceyrəsiz sistemdə *şeyker* mRNT-nin istehsal olunması üçün templeyt kimi istifadə edildi. Bu mRNT-nin qurbağanın oositlərində ekspressiyası və yeni sintez olunmuş kanal zülalında yamaq-sıxac ölçmələr göstərdi ki, onun funksional xassəsi neyronal membrandakı gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalının xassəsi ilə tamamilə eynidir və bununla da *şeyker*-in K^+ -kanalı zülalını kodlaşdırdığı qəti şəkildə nümayiş etdirildi.

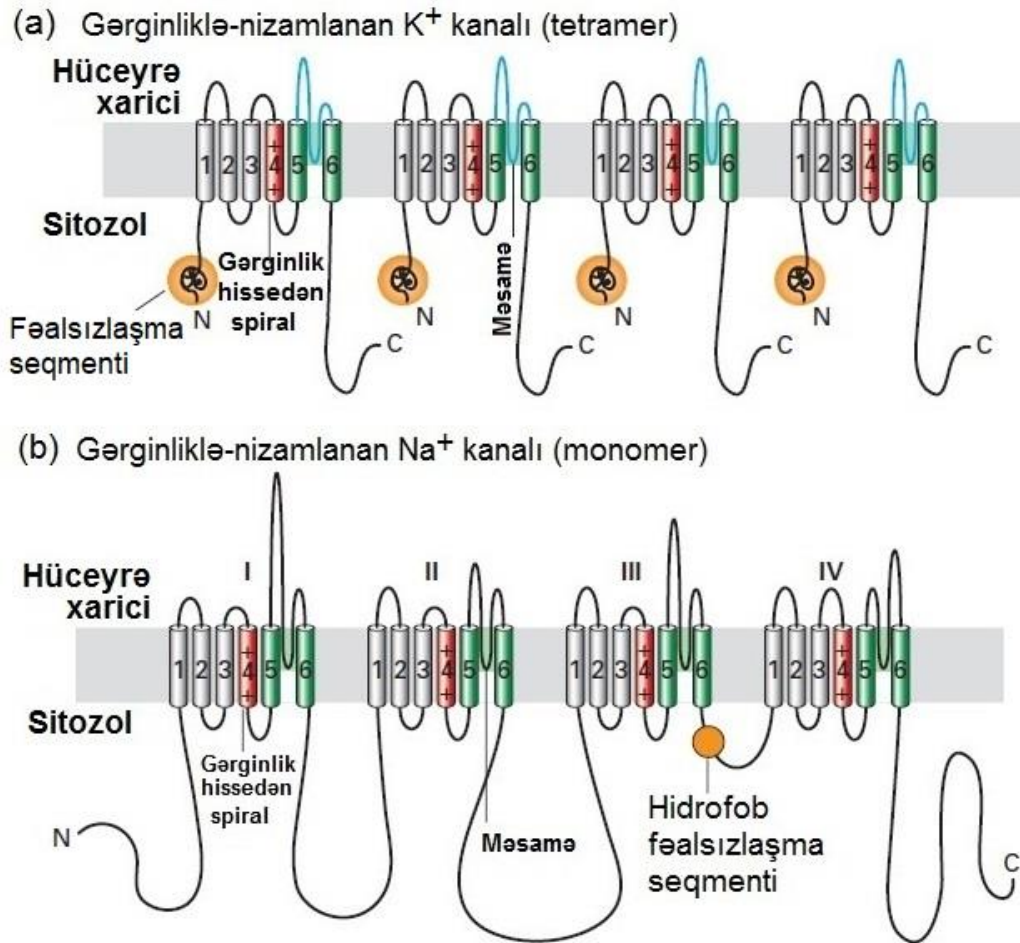
Şeyker K^+ kanalı və identifikasiya olunan əksər başqa gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları membranda mərkəzi məsəmə ətrafında düzülmiş dörd eyni subvahiddən təşkil olunmuş tetramer zülallardır. Hər bir subvahid S1-S6 kimi işarələnən altı membrana-sarıyan α spiraldan və P seqmentindən qurulmuşdur (Şəkil 22-13a). S5 və S6 spirallar və P seqmenti quruluşuna və funksiyasına görə əvvəllər müzakirə olunmuş (bax Şəkil 11-20) nizamlanmayan sakitlikdə olan K^+ kanallardakılarla homolojidirlər. S5 və S6 spirallar ionların hərəkət etdikləri K^+ selektivlik filtrinə astar kimi örtük əmələ gətirirlər. S1-S4 spirallar gərginlik sensoru kimi fəaliyyət göstərən sərt kompleksi əmələ gətirirlər (S4 müsbət yüklənmiş yan zəncirləri ilə əsas sensor kimi fəaliyyət göstərir). S1-dən sitozola doğru genişlənən N-sonluq “şar” kanal fəalsızlaşdırıcı seqmentdir.

Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları monomer zülallar olub dörd homoloji domendən, I-IV domenlərindən təşkil olunublar (Şəkil 22-13b). Bu domenlərin hər biri gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalının subvahidinə oxşardır. Amma, dörd kanal-fəalsızlaşdırıcı seqmentə malik olan gərginliklə-

nizamlanan K^+ kanalından fərqli olaraq, monomer gərginliklə-nizamlanan kanallar tək kanal-fəalsızlaşdırıcı seqməntə malik olurlar. Quruluşlarındakı bu kiçik fərqlər və keçiriciliklərində olan variasiyalar istisna olmaqla bütün ion kanalları guman olunur ki, oxşar üslubda fəaliyyət göstərirlər və altı α spirala malik olan monomer əcdad kanal zülalından törəmişlər. Növbəti bölmədə diqqət gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarına cəmlənəcək, həm prokariotlarda həm də eukariotlarda K^+ kanallarının kristal quruluşu bir neçə onillik öncə öyrənildiyindən, sonrakı tədqiqatlar onların funksiyalarının quruluş əsasları haqqında anlayışlarımızı dəqiqləşdirir. Amma, biz bu quruluşu, 2011-ci ildə prokariotlarda molekulyar quruluşu açılmış gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları ilə müqayisə edərək quracağıq.

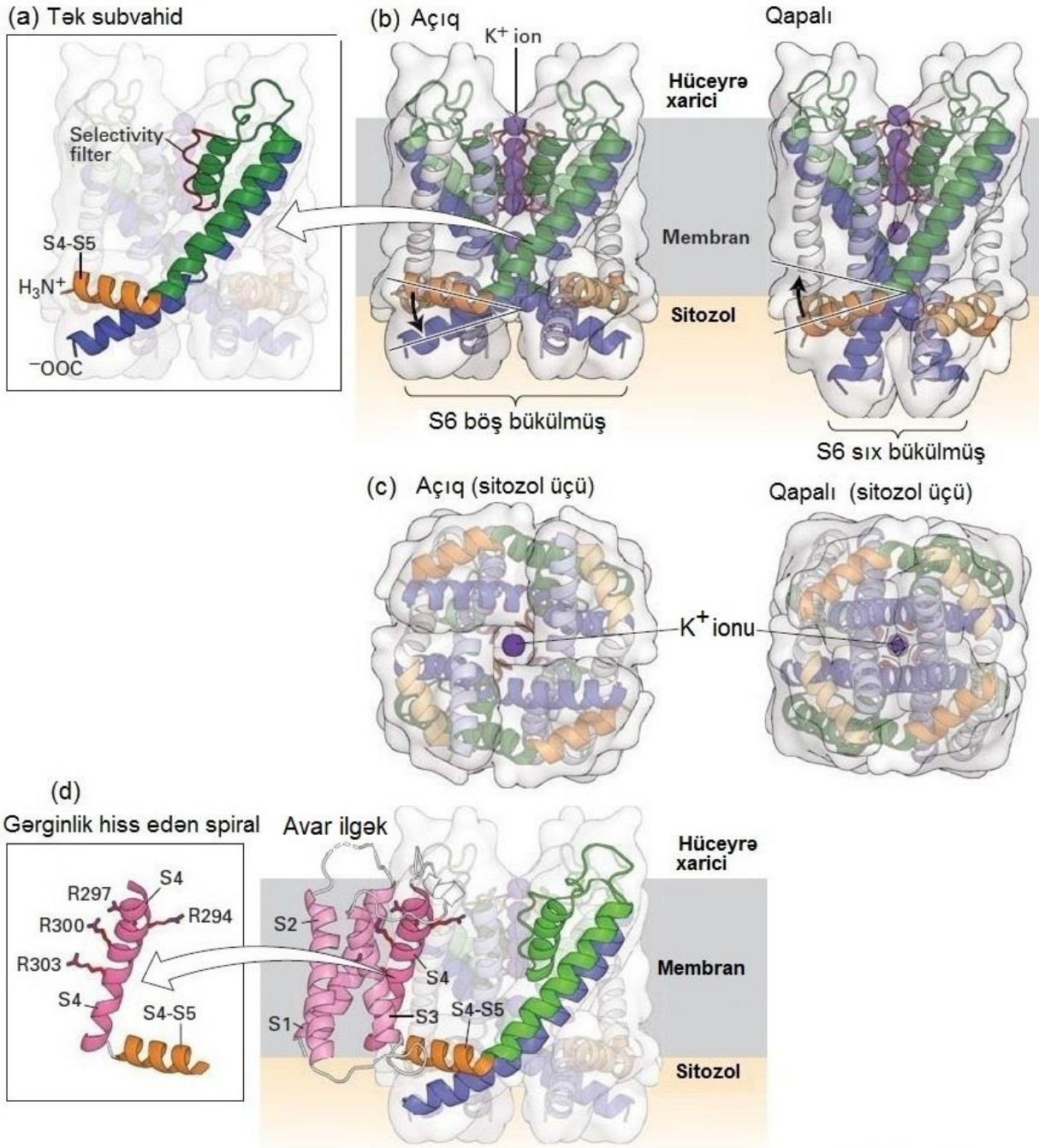
Gərginlik-Hissedən S4 α Spirallar Membran Depolyarlaşmasına Cavab Olaraq Hərəkət Edirlər

Kanal-zülallarının biokimyası barədə bizim anlayışlarımız bakterial və Şeyker kalium kanallarının yeni açılmış kristal quruluşlarına nail olduğca sürətlə irəliləyir. Məlum olduğu kimi, transmembran zülalları istehsal edib kristallaşdırmaq çox çətin və alimlərə unikal problemlər törədir. Belə çətin membran zülallarının kristalını almaq üçün istifadə edilən bir metod onları onlara birləşmiş monoklonal anticislərin fraqmentləri [F(ab); Fəsil 23] ilə əhatə etməkdir, digər hallarda isə onların normal zülal birləşdirən partnyorlarla komplekslərdə kristallaşdırılmasıdır. Hər iki halda bu suda-həllolan zülalların kompleksdə mövcud olması kristal əmələgəlməsini necə asanlaşdırır.



ŞƏKİL 22-13 Gərginliklə-nizamlanan K^+ və Na^+ kanallarının ikinci quruluşunun sxematik təsviri. (a) Gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalları, hər biri 600-700 amin turşu qalıqına və altı membrana-sarıyan α spirala, S1-S6 malik olan dörd eyni (identik) subvahiddən ibarətdir. Hər bir subvahidin N-sonluğu sitozolda yerləşir və N ilə işarə olunur, açıq kanalın fəalsızlaşması üçün vacib olan qlubulyar domeni (narıncı şar) əmələ gətirir. S5 və S6 spirallar (yaşıl) və P seqment (mavi) nizamlanmayan sakitlikdə olan K^+ kanallarındakılarla homoloji, amma hər bir subvahid əlavə dörd transmembran α spirala malikdir. Bunlardan biri, S4 (qırmızı) əsas voltaj-hissedən α spiraldır və ona bu rolda S1-S3 spirallarla stabil kompleks əmələ

gətirmək kömək edir. Bax C. Miller, 1992, *Curr. Biol.* 2:573, and H. Larsson et al., 1996, *Neuron* 16:387. (b) Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları monomerdir, 1800-2000 amin turşusuna malikdir, gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının subvahidlərindəkilərə oxşar olan dörd transmembran domendən (I-IV) təşkil olunmuşlar. Tək hidrofob kanal-fəalsızlaşdırıcı seqment (narıncı şar) sitozolda III və IV domenlər arasında yerləşir. Gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları ümumi oxşar quruluşa malikdir Əksər gərginliklə-nizamlanan ion kanalları burada göstərilməyən tənzimləyici (β) subvahidə də həmçinin malik olurlar. See W. A. Catterall, 2001, *Nature* 409:988.



ŞƏKİL 22-14 Gərginlyə-Həssas K⁺ Kanalınnın Molekulyar

Quruluşu. K⁺ kanalının tək subvahidinin (a) və tetramerinin (b) modelinin qapalı və açıq vəziyyətlərdə yandan görünüşü. Dörd yaşıl (S5) və mavi (S6) α spirallar membrana sarınmışdır, aşağıda hüceyrə daxili, yuxarıda isə hüceyrə xaricidir. Qeyd edək ki, qapalı konformasiyada spirallar aşağıda elə sıx şəkildə bükülmüşdür ki, K⁺ ionları keçib gedə bilmirlər. ((a) və (b)-dən aşağıda əyri mötərizələrlə verilmiş S5 spiralları arasındakı məsafəni müqayisə edək.) Sitoplazmada yerləşən S4-S5 linker (narıncı) S4 spirali (göstərilmiş) S5 spirala birləşdirir. Aydınlaş üçün S1-dən S4-ə qədər olan spirallar modeldən çıxarılmışdır, onlar normal halda S4-S5 linkerin ucuna qoşulurlar və molekuldan uzanıb çıxırlar. (c) Kanalın açıq və qapalı vəziyyətlərinin lent diaqramının membranın sitoplazmatik üzündən görünüşü. Kalium ionları (tünd bənövşəyi) məsəmədən qapalı deyil,

yalnız açıq vəziyyətdə keçə bilər. (d) S1-S4 spirallardan ibarət olan gərginliyi-hiss edən "avarların" S4-də dörd gərginliyi-hiss edən argininin (R) qalığı ilə üç-ölçülü quruluşu. Bu avarlar depolyarlaşmaya cavab olaraq membranın daxili yaxınlığından xaricinə hərəkət edirlər. Bunların hər biri S4-S5 linkerə qoşulduğundan, hər bir linker və ona qoşulan S5 spirali hərəkətə gəlir, öz növbəsində məsəməni açan S6 spirali hərəkətə gətirir. Qeyd edək ki, (b)-də göstərdiyi kimi, S4 və S5 arasında linker yuxarıya, açıq kanalda eqzoplazmatik (xarici) səthə yönəlmişdir, S1-S4 spiralların xarici hərəkətləri ilə yuxarıya doğru dartılır, əksinə S1-S4 avarlar sitozol səthə yaxın olanda S4-S5 linker qapanmış kanalda aşağıya istiqamətlənir. [Verilənlər X. Chen et al., 2010, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:11352, PDB ID 3lut; və Y. Zhou, et al., 2001, *Nature* 414:43-48, PDB ID based on 1k4c.]

Kanalların quruluşu gərginliyə-həssas domenlərin əlamətdar düzülüşünü aşkar edir və kanalın açılması üçün zülalın hissələrinin necə hərəkət etməsini göstərir. Artıq qeyd olunduğu kimi, K^+ -kanalı tetrameri Na^+ -kanalın monomeri kimi, divarları S5 və S6 spirallardan qurulmuş məsaməyə malikdir (Şəkil 22-13a və Şəkil 22-14). Əsas quruluşun xaricində, hər biri S1-S4 spirallara malik olan dörd qol və ya “avar” onları əhatə edən membrana çıxıb uzanır və xarici S5 və S6 spirallarla qarşılıqlı təsirə də girir, bunlar voltaj sensorlarıdır və məsamə ilə çox az (minimal) kontaktda olurlar. Həssas elektrik ölçmələri göstərir ki, gərginliklə-nizamlanan Na^+ və ya K^+ kanallarının açılması zülal-birləşmiş 12-14 yükün sitozoldan membranın hüceyrəxarici səthinə keçməsi ilə müşayiət olunur. Zülalın hərəkət edən hissələri S1-S4 spirallardan təşkil olunmuş sərt komplekslərdir, hər üçüncü və ya dördüncü amin turşu qalığı müsbət yüklənmiş lizin və ya arginin olan S4 müsbət yükün əksər hissəsinə malikdir və əsas gərginlik sensoru hesab edilir (Şəkil 22-14d). Kanal açılan zaman S4-də argininlərin 1.5 nm qədər hərəkət etməsi ölçülmüşdür, bu membranın ~5 nm qalınlığı və ya α spiralın özünün 1.2 nm diametri ilə müqayisə edilə bilər.

Sakitlik vəziyyətində, S1-S4 komplekslərində müsbət yüklər (“avarlar”) membranın sitozol üzündəki mənfi yüklərə cəzb olunur. Depolyarlaşmış membranda bu eyni müsbət yüklər membranın eqzopölazmatik (xarici) üzündəki mənfi yüklərə cəzb olunur, S1-S4 avarların membranda qismən hərəkətinə — sitozol səthindən eqzopölazmatik səthə hərəkət etməsinə səbəb olur. Bu hərəkət Şəkil 22-10-da gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları üçün sxematik göstərilmişdir və kanalları açan zülaldə konformasiya dəyişikliyinə yaradır.

Gərginliyə-həssas kanalın quruluşunun əsas qeyri-adi aspekti yüklənmiş qrupların olmasıdır, məsələn lipidlərlə kontaktda argininlərin olması. Gərginlik sensorun yerləşməsi gərginliyə-həssas-olmayan kanalların gərginliyi-hiss edən domenin əlavə edilməsi ilə gərginliyə-həssas kanallara çevrildiyi əvvəlki eksperimentləri izah etməyə kömək edir. Əgər gərginlik sensorları əsas quruluşda dərinliyə batmışsa belə bir nəticə inandırıcı görünməyəcəkdir.

Mutant Şeyker K^+ kanalları ilə aparılan tədqiqatlar gərginlik hiss olunmasında S4 spiralın əhəmiyyətini təsdiq edir. K^+ kanalında Şeykerin S4 spiralında bir və ya daha artıq arginin və ya lizin qalıqları neytral və ya turş qalıqlarla əvəz olunanda membran depolyarlaşmasına cavab olaraq normal haldan daha az müsbət yüklər membrandan keçir, bu göstərir ki, S4 spiraldə arginin və lizin qalıqları həqiqətən də membranda hərəkət edirlər. Məməlilərin gərginliklə-nizamlanan K^+ kanalının açıq formasının quruluşu başqa K^+ kanallarının qapalı quruluşuna zidd olmuşdur. Nəticələr voltaj sensorların membran üzərindəki hərəkətinə cavab olaraq kanalın açılması və qapanması üçün model təklif edir (bax Şəkil 22-14a). Modeldə S1-S4 spirallardan təşkil olunmuş gərginlik sensoru gərginliyə cavab olaraq hərəkət edir və S4 ilə S5-i birləşdirən linker spiraldə dönmə momentini gücləndirir.

● Açıq kanal konformasiyasında S4-S5 linkerin mövqeyi S6 spirali sitozol səth yaxınlığında ilgək əmələ gətirməyə məcbur edir (Şəkil 22-14a-da mavi) və daxildə məsamə sitozol səthinə yaxın açılır. Məsamələrin 1.2 nm diametri hidratlaşmış K^+ ionlarının məskunlaşması üçün kifayət edir (bax Şəkil 22-14c).

● Hüceyrə membranı yenidən polyarlaşanda və gərginlik sensoru membranın sitozol səthinə doğru hərəkət edəndə S4-S5 linkerlər (Şəkil 22-14a-da mavi) hüceyrənin daxilinə doğru burulurlar. S6 spirallar nəticədə bağlanan kanalın dibinə sıxılaraq düzlənirlər. Beləliklə, qapı məsamənin daraldığı S5 və S6 spiralların sitozola-baxan ucunda təşkil olunmuşdur.

Baxmayaraq ki, gərginliklə nizamlanan K^+ və gərginliklə nizamlanan Na^+ kanalları oxşar ortaq gərginlik sensoruna və məsamə quruluşuna malikdirlər, onların ion selektivliyi filtrləri quruluşu və onların ionları keçirmə yolu əhəmiyyətli dərəcədə (həmdə Fəsil 11-də müzakirə olunduğu kimi) fərqlənir. Na^+ kanalının selektivlik filtri K^+ kanallarından çox böyükdür, hərçənd ki, Na^+ kanallarının diametri (0.102 nm) K^+ kanallarınıninkinə (0.138) yaxındır. K^+ kanallarının məsaməsi konservativ amin turşularına malikdir, karbonil oksigen atomlarının örtüyünü (astarını) əmələ gətirirlər (bax Şəkil 11-21). K^+ ionları məsaməyə daxil olarkən bu oksigen atomları onların hidrasiya suyunu əvəz edirlər, daha kiçik olan Na^+ ionu K^+ kanalı məsaməsinin özül karbonilləri ilə qarşılıqlı əlaqəyə girmək üçün çox kiçikdir. Əksinə, Na^+ ionları Na^+ kanalı məsaməsinə su ilə hidrasiya olunmuş ionlar kimi kəşib keçir. Na^+ kanalının məsaməsi konservativ mənfi yüklənmiş aminturşu qalıqları ilə örtülmüşdür və su ilə hidratlaşmış tək bitr Na^+ ionunun yerləşməsi üçün kifayət qədər böyükdür, müsbət yüklənmiş Na^+ ionu birləşmiş su molekullarının daxili qabığı vasitəsilə mənfi yüklənmiş məsamə qalıqları ilə qarşılıqlı əlaqədə olur. Hidratlaşmış K^+ ionları bu məsamədən keçmək üçün həddən artıq böyükdürlər.

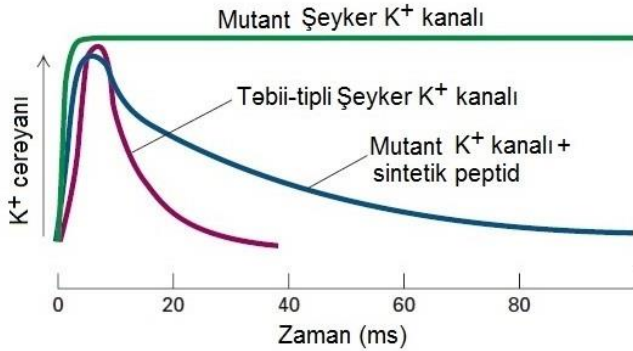


Diş müalicəsi zamanı və ya kiçik cərrahi əməliyyatlar (məsələn, tikişlərin kəsilməsi) zamanı ağrıların qarşısını almaq üçün çox istifadə olunan aktual anesteziya lidokain Na^+ ionlarının gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalından keçməsinə blok etməklə işləyir. Lidokain kanal məsaməsinə örtən aminturşu qalıqları ilə birləşir və Na^+ içəriyə axmasına və beləliklə də təsir potensialının yaranmasına mane olur. Lidokainin birləşmə saytları kanalın yalnız açıq vəziyyətində mümkündür və lidokainin birləşməsi kanalı açıq amma, okkluziya olunmuş vəziyyətdə qapayır. ■

Kanal-Fəalsızlaşdıran Seqmentin Açıq Məsaməyə daxil Olması İon Axınına Bağlayır

Gərginliklə-nizamlanan ion kanallarının çoxunun əhəmiyyətli xüsusiyyəti onların fəalsızlaşmasıdır, bu o deməkdir ki, onlar açıldıqdan sonra tezliklə spontan şəkildə bağlanırlar, membran yenidən polyarlaşana qədər təkrar açılmayan qeyri fəal kanalı əmələ gətirirlər. Sakitlik vəziyyətində gərginliklə-tənzimlənən K^+ kanalının dörd subvahidinin N sonluğundakı qlobulyar şarlar sitozolda sərbəst olurlar (bax Şəkil 22-13). Kanal depolyarlaşma ilə açıldıqdan bir neçə millisaniyə sonra şarlardan biri açılan subvahidlərin ikisinin arası ilə hərəkət edir və məsamənin mərkəzi yarığında hidrofob cibə birləşir, K^+ ionlarının axmasının qarşısını alır (bax Şəkil 22-10). Bir neçə millisaniyədən sonra şar məsamədən çıxarılır və zülal ilkin qapalı, sakitlikdə olan vəziyyətə çevrilir. K^+ kanalında şar-və-zəncir domenləri Na^+ kanallarındakı kanal-fəalsızlaşdıran seqmentə ekvivalentdir.

Şəkil 22-15-də göstərilən eksperimental nəticələr nümayiş etdirir ki, K^+ kanallarının fəalsızlaşması şar domenlərindən asılıdır, kanalın açılmasından sonra baş verir və şar domenlərinin kanal zülalları ilə kovalent əlaqələnməsini tələb etmir. Başqa eksperimentlərdə zəncirdə şarı S1 spirala birləşdirən ~40 qalıqdan ibarət olan hissəsini itirmiş mutant K^+ kanalları qurbağa oositində ekspressiya olunmuşdur. Kanalın fəallığının yamaq-sıxac ölçmələri göstərdi ki, zəncir qısa olduqca fəalsızlaşma da o qədər tez olur, əgər şar qısa zəncirə qoşulmuşsa açıq kanal daxilinə daha asanlıqla hərəkət edə bilər. Əksinə, normal zəncirin uzunluğuna təsadüfi aminturşu qalıqlarının əlavə edilməsi kanalın fəalsızlaşmasını zəiflədir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 22-15 N-sonluqlu qlobulyar domenlərini itirmiş mutant K^+ kanalları ilə eksperimentlər şar-və-zəncir fəalsızlaşma modelini dəstəkləyir. Təbii formalı Şeyker K^+ kanalı və N-sonluq şarı təşkil edən amin turşularını itirmiş mutant forma *Xenops* oositlərində ekspressiya olundular. Kanalların fəallıqları yamaq-sıxac texnologiyası ilə ekranlaşdırıldı. Yamaq 0-dan 30 mV-a qədər depolyarlaşanda təbii formalı kanal ~5 ms müddətində açıldı və sonra bağlandı (qırmızı əyri). Mutant kanal normal açıldı, amma bağlanı bilmədi (yaşıl əyri). Kimyəvi sintez olunmuş şar peptid yamağın sitozol üzünə əlavə edildikdə mutant kanal normal açıldı və sonra da bağlandı (mavi əyri). Bu eksperiment nümayiş etdirdi ki, əlavə edilən peptid kanal açıldıqdan sonra onu fəalsızlaşdırır və onun fəallıyyət göstərməsi üçün zülalə bağlanması vacib deyildir. [Verilənlər W.N. Zagota et al., *Science* 250:568-dən]

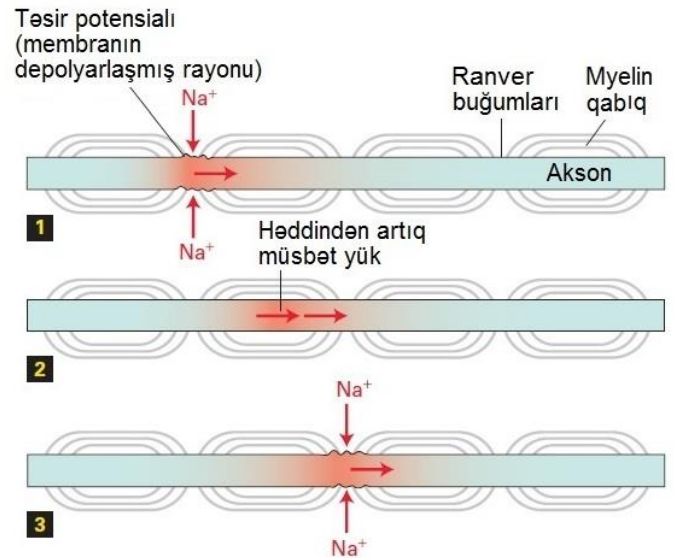
Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarında tək kanal-fəalsızlaşdırıcı seqment izoleysin, fenilalanin, metionin və treonindən ibarət olan konservativ hidrofob motifə malikdir (bax Şəkil 33-13b). K^+ kanallarındakı uzun şar-və-zəncir domeni kimi, bu seqment də daxilə qatlanaraq, membranın yenidən polyarlaşmasına qədər, Na^+ -keçirən məsaməni blok edir.

Molekulyar dinamika metodu gərginliklə-nizamlanan ion kanallarının funksiyası və quruluşu barədə yeni bilikləri təmin etdi. Molekulyar dinamika molekul və atomların verilmiş zamanda fiziki hərəkətinin maraqlı molekulların quruluş, biokimyəvi və molekulyar tədqiqatlarının eksperimental nəticələrinin simulyasiyasına əsaslanan kompüter simulyasiyasını (modelləşməsinə) əhatə edir. Prokariotlarda gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalının molekulyar dinamika tədqiqatları gərginliyi hiss etmənin, məsamə açılmasının və nizamlanma (qapı – gate) fəalsızlaşmasının kinematik görünüşünü təmin edir.

Myelinləşmə İmpuls Keçiriciliyinin Sürətini Artırır

Biz gördük ki, təsir potensialı myelinləşməmiş aksonda azalmadan saniyədə 1 metr sürəti ilə hərəkət edir. Amma, hətta belə yüksək sürət adətən heyvanlarda kompleks hərəkətləri qəbul etmək üçün kifayət etmir. Məsələn, yetkin insanda ayaq əzələlərini innervasiya edən motor neyronlarının hüceyrə cismi onurğa beynində yerləşir və aksonlar təxminən bir metr uzunluqda olur. Təsir potensialının onurğa beynindən motor neyronlarının aksonları boyu aşağıya ətrafların əzələlərinə hərəkəti 1 saniyə olsaydı o zaman yerimək, qaçmaq və oxşar başqa hərəkətlər üçün tələb olunan koordinasiya olunan əzələ dartılmaları mümkün olmazdı. Bunun çözümlü hüceyrələri təsir potensialının hərəkət dərəcəsini artıran izolyasiya ilə sarımaqdır. İzolyasiya myelin təbəqə adlanır (bax Şəkil 22-1b). Aksonları əhatə edən myelin təbəqənin olması impuls ötürülməsinin sürətini 10-100 metr saniyə sürətə qədər artırır. Nəticədə, insanın tipik motor neyronunda təsir potensialı 0.01 saniyə müddətində 1-metr-uzunluqda aksonda hərəkət edə və əzələ dartılmasını stimullaşdırır.

Myelinləşməmiş neyronlarda təsir potensialının keçiricilik sürəti təxminən aksunun diametrinə mütənasibdir, çünki daha qalın aksondakı daha çox sayda ionlar diffuziya edə biləcəkdir. İnsan beyni nisbətən kiçik, myelinləşmiş neyronlarla doludur. Əgər insan beynində neyronlar myelinləşməsəydi myelinləşmiş neyronlarla olan həmin keçiriciliyə nail olmaq üçün aksonal diametr 10000 dəfə artmalı idi. Beləliklə, onurğalıların beyni öz sıx bükülmüş neyronları ilə myelinsiz mövcud ola bilməzdi.



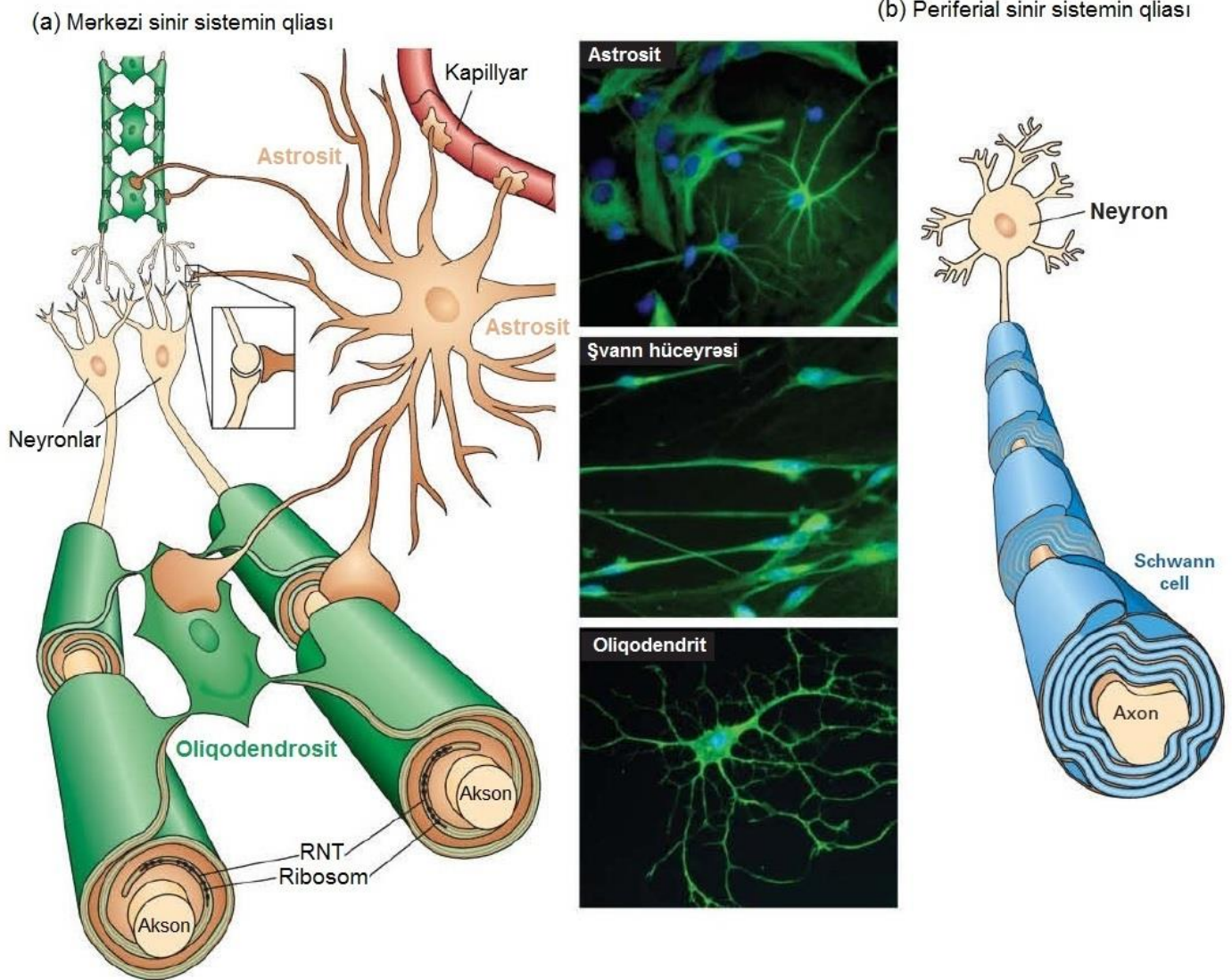
ŞƏKİL 22-16 Myelinləşməmiş aksondakı təsir potensialının keçirilməsi. Myelin təbəqə aksonu onun membranı boyunca ionların hərəkəti üçün keçirməyən etdiyindən və gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları akson membranında yalnız Ranvier düyünlərində tapıldığından təsir potensialı ilə bağlı olan Na^+ ionlarının daxilə axması düyünlərdə baş verə bilər. Təsir potensialı bir düyünda yaranarkən (pillə 1) sitozolda müsbət ionların təbəqədən bayıra axa bilməyən artıq hissəsi akson boyu diffuziya edir, yeni düyünda kifayət qədər depolyarlaşmanın baş verməsinə səbəb olur (pillə 2), bu düyünda təsir potensialını induksiya edir (pillə 3). Bu mexanizmlə təsir potensialı akson boyu bir düyünda digərinə keçir.

Təsir Potensialları Myelinləşmiş Aksonlarda Düyüdəndən-Düyüni "Atılır"

Aksonları əhatə edən myelin təbəqə çoxsaylı qlial hüceyrələrdən əmələ gəlmişdi. Fərdi qlial hüceyrələr tərəfindən əmələ gələn hər bir myelin rayonu növbəti rayondan akson membranının təxminən 1 µm uzunluqda Ranvier qovşağı (və ya sadəcə olaraq qovşaq, bax Şəkil 22-1b) adlanan myelinləşməmiş sahəsi ilə ayrılır. Aksonal membran hüceyrəxarici maye ilə yalnız qovşaqlarda birbaşa əlaqədə olur, ona görə də myelin örtük qovşaqlar istisna olmaqla aksonlardan bayıra və daxilə olan istənilən ion hərəkətinə mane olur. Bundan başqa, aksonlarda ion qradiyentini saxlayan bütün gərginliklə-nizamlanan Na^+ və K^+ kanalları və bütün Na^+/K^+ nasoslari qovşaqlarda yerləşirlər.

Bu yerləşmə nəticəsində Na^+ ionlarının təsir potensialını yaradan daxilə hərəkəti yalnız myelinsiz buğumlarda baş verə

bilir (Şəkil 22-16). Na^+ ionlarının sitozolda hərəkəti ilə bağlı olan membran depolyarlaşması zamanı buğumlarda yaradılmış sitozoldakı mənfi yüklərin artıq hissəsi myelinləşmiş aksonal membranı keçə bilmədiklərindən təsir potensialının bir hissəsi kimi akson sitozolunda növbəti buğuma keçərkən çox kiçik itirilmə ilə və ya atenyuasiya ilə passiv şəkildə səpələnirlər. Bu, növbəti buğumda sürətlə yayılmaq üçün və orada təsir potensialını induksiya etmək üçün bir buğumda depolyarlaşmaya səbəb olur, təsir potensialının effektiv şəkildə bir buğumdan digərinə keçməsinə imkan yaradır. Belə ötürülməyə *sıçrayışla keçirilmə* deyilir. Bu fenomen myelinləşmiş neyronların keçiricilik sürətinin nəyə görə çox-böyük-diametrlı myelinləşməmiş neyronların keçiricilik sürəti ilə eyni olmasını izah edir. Məsələn, onurğalıların 12-µm-diametrlı myelinləşmiş aksonu və kalmarın 600-µm-diametrlı myelinləşməmiş aksonu impulsu 12 m/s ərzində keçirir.

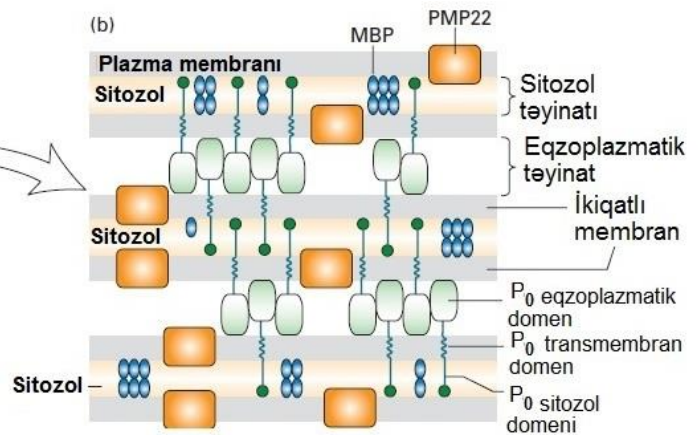


ŞƏKİL 22-17 Üç tip qlial hüceyrə. (a) Tək oliqodendrosit mərkəzi sinir sisteminde aksonların çoxsaylı seqmentlərini myelinləşdirə bilir. Astrofitlər neyronlarla qarşılıqlı təsir girir, amma myelin əmələ gətirmirlər. (b) Hər bir Şvann hüceyrə tək periferial sinir sistemi

aksonunu izolyasiya edir. Bax, B. Stevens, 2003, *Curr. Biol.* **13**:R469, və D. L. Sherman and P. Brophy, 2005, *Nature Rev. Neurosci.* **6**:683–690. [Fotolar: Varsha Shukla and Douglas Fields from NIH.]

İki Tip Qlia Myelin Təbəqələrini Əmələ Gətirir

Şəkil 22-17 sinir sistemində mövcud olan üç əsas tip qlial hüceyrələri göstərir, onlardan ikisi myelin təbəqəni əmələ gətirir: *oliodendrositlər* mərkəzi sinir sistemi (CNS) üçün örtük təbəqəni, *Şvann hüceyrələri* isə periferial sinir sistemi (PNS) üçün örtük təbəqəni əmələ gətir. Şəkildə həmçinin göstərilmişdir ki, astrositlər neyronlar arasında sinaps əmələ gəlməsini və kommunikasiyanı asanlaşdırırlar, bu 22.1 və 22.3 bölmələrində müzakirə olunur. Dördüncü tip qlia, *mikroqlia* (göstərilmiş) CNS immun sisteminin bir hissəsini təşkil edir. Mikroqlia neyronlar xəttinə və ya digər qlialara aid olmadığından, son zamanlar göstərilmişdir ki, onlar 22.3 bölməsində müzakirə olunan sinir dövriyyəsinin sinaptik budanma adlanan sisteminin yaranmasında iştirak edirlər.



ŞƏKİL 22-18 Periferial sinir sistemində myelin təbəqəsinin formalaşması. (a) Yüksək dərəcəli böyütmədə xüsusiləşmiş spiral myelin membranı bir sıra təbəqələr kimi və ya aksonlar ətrafında sarınmış fosfolipid ikiqatlısının lamellaları kimi görünür. (b) Myelin membran spiralının üç təbəqəsinin yaxından görünüşü. İki daha bol olan myelin inteqral membran zülalı P₀ və PMP22 yalnız Şvann hüceyrələri tərəfindən istehsal olunur. P₀ zülalının immunoqlobulin bükümü olan eqsoplazmatik domeni qarşı tərəfdəki membran səthində P₀ zülalından uzanıb çıxan domenlə assosiasiya edir, bu yolla eqsoplazmatik membran səthlərini bir yerə sıxışdıraraq “cilitkəlyir”.

Oliqodendrositlər Oliqodendrositlər mərkəzi sinir sisteminin aksonları ətrafında spiral myelin təbəqəni əmələ gətirirlər (Şəkil 22-17a). Hər bir oliqodendrosit çoxsaylı neyronların seqmentlərində myelin təbəqəni təmin edir. Əsas zülal komponentlərini myelin əsas zülalı (MBP) və proteolipid zülalı (PLP) təşkil edir. BMP periferial membran zülalı olub həm mərkəzi həm də periferial sinir sistemində tapılmışdır (Şəkil 22-18) və zülalın fərqli formalarını kodlaşdıran yeddi splayinq RNT variantları vardır. O böyüyən myelin təbəqəsində yerləşən ribosomlarda sintez olunur, bu distal (uzaq) hüceyrə rayonuna mRNT-nın spesifik daşınması nümunəsidir (Fəsil 10). MBP mRNT distal dendrosit proseslərinə mikroborucuqdan-asılı olan daşınma ilə gedir, burada lokal translyasiya myelin təbəqələrinin əmələ gəlməsinə kömək edir.

Bu qarşılıqlı təsir eqsoplazmatik domenin ucundakı triptofan qalıqının qarşı membrandakı lipid təbəqəsi ilə qarşılıqlı təsiri vasitəsilə stabilləşir. Membranın sitozol üzvlərinin çox yaxın yerləşməsi hər bir P₀ zülalının sitozol quyruğunun qarşı tərəfdəki membran fosfolipidi ilə birləşməsi nəticəsində yaranır. PMP22 də membranın sıxılmasında iştirak edir. Sitol zülalı olan Myelin əsas zülalı (MBP) sitozol sıxıldıqda bir-birinə çox yaxın yerləşmiş membranlar arasında qalır. Bax, L. Shapiro et al., 1996, *Neuron* 17:435, və E. J. Arroyo and S. S. Scherer, 2000, *Histochem. Cell Biol.* 113:1. [(a) hissəsi ISM/Phototake-dən.]

Oliqodendrositlərin istehsal etdiyi zülallarda zədələnmə insanın çox yayılmış sinir xəstəliyinin, dağınıq sklerozun (multiple sclerosis – MS) yaranmasına gətirib çıxarır. Adətən MS bir və ya daha artıq üzvlərdə yaranan spazma və zəifliklə, sidik kisəsində disfunksiya ilə lokal hissetmə qabliyyətinin itirilməsi və vizual narahatçılıqlarla xarakterizə olunur. Bu pozuntu – *demyelinləşmə xəstəliyi* – beyin və onurğa beynində myelinin qeyri yekcins itirilməsi tərəfindən yaranır. MS xəstələrdə təsir potensialının demyelinləşmiş neyronlarla keçirilməsi zəifləyir və Na⁺ kanalları qovşaqlardan kənarlara səpilir və onun qovşaqlarda qatılığı azalır. Xəstəliyin əmələ gəlməsi səbəbi məlum deyil, görünür ya bədənin MBP ilə reaksiya verən auto-anticism istehsalı (normal bədən zülallarına birləşən anticism), ya da myelin təbəqəsini sıradan çıxaran proteazaların ifraz olunması baş verir. Siçanın MBP genlərinin

çoxunda delesiyalara malik olan *şiverer* mutantı titrəmələr, qıcolmalar və erkən ölümə nəticələnir. Buna oxşar olaraq, insanın (Pelizey–Merzbaxer xəstəliyi) və siçanın CNS myelinin başqa mühüm zülalı PLP kodlaşdıran mutasiyaları (*jimpy*) oliqodendrositlərin itirilməsinə qeyri-adekvat myelinləşməyə səbəb olur. ■

Şvann Hüceyrələri Şvann hüceyrələri periferial sinirlər ətrafında myelin təbəqəni əmələ gətirirlər. Şvann hüceyrə myelin təbəqəsi nəzərə çarpan spiral bükümə malikdir (Şəkil 22-17b). Uzun akson öz uzunluğu boyu bir neçə yüzə qədər çox sayda Şvann hüceyrələrə malik ola bilər, bunların hər biri aksonda 1-1.5 µm uzanan *diüyünlərə* myelin izolyasiyasını təmin edir. Anlaşılmayan səbəbdən bütün aksonlar myelinləşmir. Siçanda Şvan hüceyrələrini aradan qaldıran mutasiya əksər neyronların ölümünə səbəb olur.

Oliqodendrositlərdən fərqli olaraq hər bir Şvann hüceyrə yalnız bir aksonu myelinləşdirir. Təbəqə təxminən 70 faizə qədər lipidlərdən (xolesterinlə zəngin) və 30 faizə qədər zülallardan təşkil olunub. PNS-də əsas zülal tərkibi (~80 faizə qədər) myelin 0 zülalı (P₀) adlandırılır, bu immunoqlobulin (Ig) domenlərinə malik olan integral membran zülalıdır. MBP də bölgə olan komponentdir. P₀-in hüceyrəxarici Ig domenləri ardıcıl sarğıların səthlərini akson ətrafında bir yerə bağlayaraq myelin təbəqəsinin spiralını sıxlaşdırır (Şəkil 22-18). Başqa zülallar bu rolunu CNS-də yerinə yetirir.

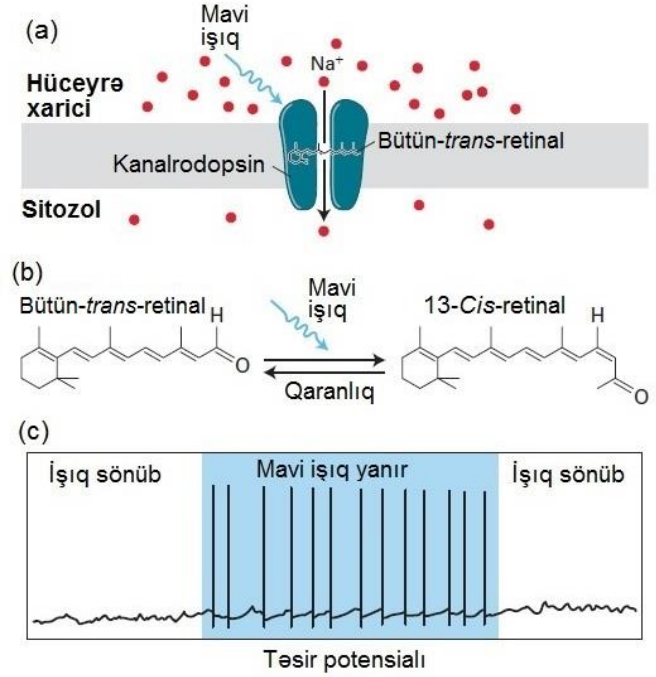


İnsanlarda CNS myelin kimi periferial myelin də, xüsusən də P₀ zülalına qarşı anticismlərin yaranmasında iştirak edən auto-immun xəstəliyinin hədəfidir. *Kəskin iltihablı demyelinləşmə polineyropatiya (acute inflammatory demyelinating polyneuropathy)* kimi məlum olan Gullian-Barre sindromu (GBS), belə xəstəliklərdən biridir. GBS, sürətlə başlayan şəppənin (paraliçin) ən çox yayıldığı səbəbidir, hər 100000 insandan birində olan tezliyi ilə baş verir. Səbəbi məlum deyil, hərçənd ki, o adətən kəskin yoluxma xəstəliyindən sonra baş verir və guman olunur ki, periferial sinir sistemi immün hücumuna məruz qalır. Çox yayılmış, periferial motor və sensor sinir funksiyalarını zədələyən immunoloji irsi xəstəlik – *Şarkot-Mari-Diş xəstəliyi (Charcot-Marie-Tooth disease)* periferial myelinin başqa bir tərkib hissəsi olan PMP22 zülalını kodlaşdıran genin superekspressiyası nəticəsində yaranır. ■

Qliya və neyronlar arasında qarşılıqlı təsir myelin təbəqəsinin yerləşməsinə və aralarındakı intervalına, və Ranvier buğumlarında (düyünlərində) sinir-ötürən maşının yığılmasına (montajına) nəzarət edir. Məsələn, gərginliklə-nizamlanan Na⁺ kanalları və Na⁺/K⁺ nasosları sitoskelet zülalları ilə əlaqəyə girməklə Ranvier buğumlarında toplanırlar. Buğumların toplanması prosesi hələ tam başa düşülməsə də, çoxsaylı əsas iştirakçılar identifikasiya olunmuşdurlar. Prosesin daha çox tədqiq olunduğu PNS-də Şvann hüceyrəsi membranında səth adgeziya molekulları əvvəlcə neyronal hüceyrə səth adgeziya molekulları ilə əlaqəyə girir. Qliyal membranda *neurofassin155* adlanan immunoqlobulin hüceyrə-adgeziya molekulları (IgCAM) buğumların ucunda iki aksonal zülalla – kontaktin və kontaktinlə-assosiasiyalı zülalla əlaqəyə girir. Bu hüceyrə-hüceyrə əlaqələri buğumun hər iki tərəfində hüdudları əmələ gətirir.

Buğumunlarda toplanacaq kanal zülalları və başqa molekullar əvvəlcə bütün aksonlar boyu dispersiya edir (səpələnir). Sonra aksonal zülallar, o cümlədən NrCAM və neurofassin186 adlanan iki IgCAM və eləcə də ankirin G (Fəsil 17) buğum daxilində toplanır. İki IgCAM qliyal hüceyrələrdə ekspressiya olunan *qliomedin* adlanan tək transmembran domenli zülala birləşir. Qliomedinin istehsalı uzaqlaşdırılmış eksperimentlər göstərdi ki, qovşaqlar onsuz formalaşmır, beləliklə o əsas tənzimləyicidir və sinir sisteminin düzgün inkişafında qliyal-neyron əlaqələrinin əhəmiyyətini nümayiş etdirir. Ankirin qovşaqda sitoskeletin əsas tərkib hissəsi olan βIV spektrinlə əlaqəyə girir, beləliklə düyün zülal komplekslərini sitoskeletə bərkidir. Na⁺ kanalları neurofassin186, NrCAM və ankirin G ilə assosiasiyaya girir, lazım olduğu yerdə kanalı aksonal plazma membranının buğum

düyünü seqmentində möhkəm tutur. Belə çoxsaylı zülal-zülal qarşılıqlı əlaqələri nəticəsində Na⁺ kanallarının qatılığı myelinləşmiş aksonların buğum membranında myelinləşməmiş neyronların buğum membranlarına nisbətən təxminən yüz dəfə yuxarıdır.



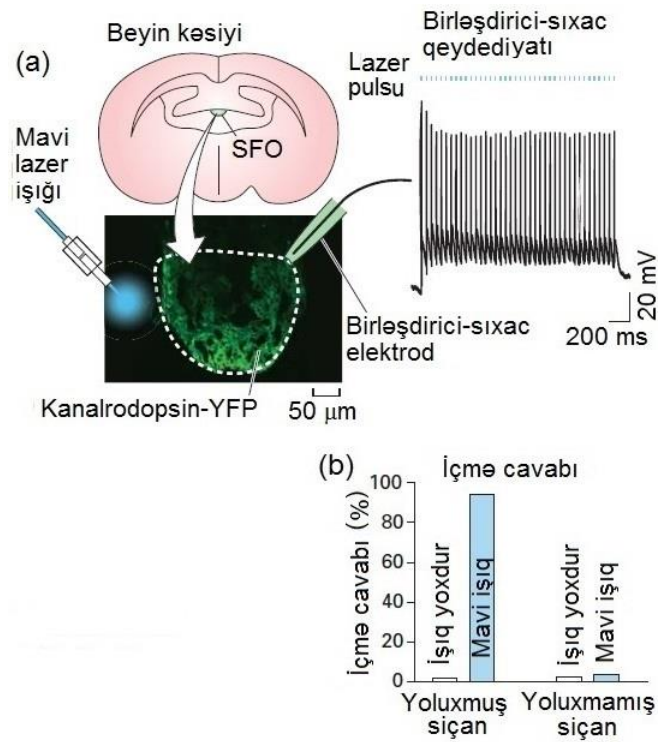
ŞƏKİL 22-19 Kanalrodopsinlər və optogenetika: neyronların işıqla fəallaşdırılması. (a) Işıqla-fəallaşan ion kanalı.

Kanalrodopsinlər işıqla-fəallaşan kation kanallarıdır və onlar ilk dəfə fototoksik cavabı həyata keçirdikləri yaşıl yosun *Chlamydomonas reinhardtii*-dən ayrılmışdır. Kanalin yeddi transmembran domeni vardır və kovalent rabitə ilə foto-izomerləşəbilən xromofor bütün-trans-retinala bağlıdır. (b) Bütün-trans-retinal mavi işığı (~470 nm) udub 13-cis-retinal konformasiyasına dəyişir. Bu kanalda konformasiya dəyişikliyinə baş verməsinə səbəb olur, məsaməni açır və kationlar buradan axıb keçə bilər. (a)-da göstərilən kanalrodopsinin açılması Na⁺-un hüceyrəxarici mayedən daxilə axmasına səbəb olur, nəticədə həyacanlanan hüceyrə kəskin şəkildə depolyarlaşır. Işıq uzaqlaşdırdıqdan sonra, retinal bütün-trans konformasiyaya qaydır və kanal bağlanır. Bu (c)-də göstərilmişdir kanalrodopsini ekspressiya edən neyronun mavi işıqla işıqlandırılması işığın olduğu müddətdə təsir potensialını işə salır. Bax J. Wong, O. J. Abilez, and E. Kuhl, 2012, *J. Mech. Phys. Solids* **60**:1158–1178.

İşıqla Fəallaşan Ion Kanalları və Optogenetika

Chlamydomonas kimi bir hüceyrəli qamçılılar (Şəkil 1-22b) onları işığa doğru yönəldən *fototaksis* yolu ilə və ya onların işığa doğru hərəkət etməsinə mane olan *fotofobiya* yolu ilə işığa çox tez cavab verirlər. Bu cürə fotohərəkətlik cavabı gözcüklər (eyespot) adlanan ixtisaslaşmış fotoreseptiv orqanoidlərdə məskunlaşmış işıqla fəallaşan kation kanalları vasitəsilə həyata keçirilir. İlk klonlaşdırılmış işıqla-fəallaşan kanal *Chlamydomonas reinhardtii*-də olmuşdur. Kanalrodopsin adlanan bu kanal foto-izomerləşəbilən xromofor bütün-trans-retinala kovalent birləşmiş yeddi-transmembran zülallardan

ibarətdir (Şəkil 22-19a, b). Bu gözdə fotonları aşkar etmək üçün istifadə olunan, Fəsil 15-də müzakirə olunmuş xromoforla eynidir (bax Şəkil 15-22). Bütün-*trans*-retinal fotonu udarkən o kanal zülallarında konformasiya dəyişikliklərini induksiya edən 13-*cis*-retinala çevrilir, təxminən 0.6 nm diametrdə məsamənin açılmasına və kationların sürətlə daxilə axmasına səbəb olur. Kanalrodopsinlər qeyri-selektiv kation kanallardır, H⁺, Na⁺, K⁺ və Ca²⁺ ionlarını keçirir. İndiki zamanda işıqla fəallaşan çoxsaylı başqa kation kanalları identifikasiya olunmuşdur, və genetik mühəndislik yanaşması işığın spesifik dalğa uzunluqları və intensivlikləri ilə fəallaşan və ya fəalsızlaşan və fərqli kationlar üçün selektiv olan bir sıra dizayn olunmuş kanalrodopsinləri yaratmışdır. Bu üstünlüklər yeni sahənin, kanalrodopsinlərin həyacanlanmış hüceyrələrdə selektiv ekspressiya edildiyi optogenetikanın yaranmasına səbəb oldu, hüceyrənin membran potensialının sürətlə və selektiv manipulyasiyasında işığın istifadə olunmasına imkan yaratdı (Şəkil 22-19c).



ŞƏKİL 22-20 Susuzluğu tanıyan neyron sxemlərini tapmaq üçün optogenetikadan istifadə olunması.

(a) Yaşıl fluorescent zülalla (YFP) yarıklanan kanalrodopsin həyacanlandırıcı neyron-spesifik promotordan istifadə edərək hipotalamusun subfornik orqanında (SFO) həyacanlandırıcı neyronlarda ekspressiya olundu. Kanalrodopsin-YFP-ni ekspressiya edən neyronların kəskin hipotalamik kəşiklərdə mavi işıqla şüalandırmaqla həyacanlandığı təsdiq olundu. (b) Canlı siçanın SFO-da həyacanlandırıcı neyronlar mavi işıqla fəallaşdırıldıqda siçan hətta kifayət qədər su içmiş olsa da su axtarır və böyük həcmdə su içir. [Verilənlər Y. Oka, M. Ye and C. S. Zuker, 2015, *Nature* 520:349–352-dən. Foto Nature razılığı ilə Oka, Y. et al., “Thirst driving and suppressing signals encoded by distinct neural populations in the brain,” *Nature*, 2015, 520(7547):349–352-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

Optogenetik yanaşmalar beyində neyronal sxemlərin öyrənməsində inqilaba çevrildi, çünki onlar nevrologiya alimlərinə imkan verdi ki, sadəcə olaraq neyronal fəallığı yazaraq onu davranışla müqayisə etmək əvəzinə neyronal sxemin fəallığını birbaşa davranışda sınaqdan keçirsinlər. Çox istifadə olunan eksperimental yanaşma kanalrodopsinin hüceyrə-tipi-spesifik promotorun nəzarəti altında ekspressiya olunduğu (Fəsil 6-da təsvir edilmişdir) transgen siçanın yaradılması oldu, belə ki, zülalı beyində neyronların yalnız bir hissəsi ekspressiya edir. Sonra kəllədə dəşik açılır və lazerdən istifadə edərək beyin səthi yaxınlığında kanalrodopsin-ekspressiya edən hüceyrələr işıqlandırılır və ya alternativ olaraq optik-lifli kablərdən istifadə edərək işıq birbaşa dərinlikdəki beyin rayonlarında kanalrodopsin-ekspressiya edən hüceyrələrə çatdırılır. İşıq neyronlarda təsir potensialını işə salır, onların sxemini fəallaşdırır. Siçanın davranışını tədqiq etməklə spesifik davranışla əlaqəli olan sxemləri tapmaq olur.

Bu tipli eksperimentlərə aid bir nümunədə, beyində susuzluğu tanıyan neyronun identifikasiyası son zamanlar optogenetikadan istifadə edərək həyata keçirilmişdir. Bunu etmək üçün kanalrodopsin siçanda hipotalamusun subfornikal orqan (SFO) adlanan rayonunda ekspressiya edildi (Şəkil 22-20). Siçan xəttinin birində kanalrodopsin eksklusiv olaraq həyacanlandırıcı neyronlarda ekspressiya olundu, başqa bir siçan xəttində isə ingibirləşdirici neyronlarda ekspressiya olundu. İşıq hipotalamusun susuzluğu idarə edən SFO rayonuna lifli-optik kablədən istifadə edərək çatdırıldı, sonra həyacanlandırıcı neyronu işıqlandırma ilə depolyarlaşdırdıqda siçan susuzluq nümayiş etdirmişdir (suyu axtarır və intensiv şəkildə içir), amma ingibirləşdirici neyronlar fəallaşdırılarda susuzluq supressiya (yox) olmuşdur. Əlavə eksperimentlər göstərdi ki, içmək cavabı su üçün spesifikdir və mineral yağlar və qliserin kimi başqa maddələrlə fəallaşır. Bu eksperimentlər birlikdə nümayiş etdirdi ki, hipotalamusun SFO rayonunda neyronlar susuzluğu idarə edir, həyacanlandırıcı neyronların fəallaşması ilə susuzluq oyadılır, ingibirləşdirici neyronların fəallaşması ilə susuzluq dayandırılır. Oxşar yanaşmalar bir çox başqa davranışları, o cümlədən hərəkəti, qidalanmanı və həddən artıq yeməni, narahatlığı, aqressiyamı və digər sosial davranışları idarə edən sxemlərin aşkar edilməsində istifadə edilmişdir. Bundan başqa, optogenetik yanaşmalar başqa metodlarla, məsələn beyində spesifik sxemlərin anatomiyasının təsvirini almaq üçün kalsium vizuallaşdırılmasında da (bax Fəsil 4 və aşağıda Bölmə 22-3) istifadə edilə bilər. Bu spesifik neyronun işıqla fəallaşdırılması ilə və ardınca da, sonra gələn neyronlarda fəallığı vizuallaşdırmaq üçün görüntüləmə yanaşması ilə (məsələn, kalsium dinamikasının monitorinqi ilə) həyata keçirilir.

22.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları və Təsir potensialının Yayılması

- Təsir potensialları membranın qəfil depolyarlaşması və ardınca sürətlə yenidən polyarlaşmasıdır.
- Təsir potensialı neyronların və əzələ hüceyrələrinin (həyacanlanabilən hüceyrələr; bax Şəkil 22-10) plazma

- membranında gərginliklə-nizamlanan Na^+ və K^+ kanallarının ardıcıl olaraq açılması və qapanması nəticəsində yaranır.
- Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılması təxminən 1 ms Na^+ ionlarının daxilə axmasına imkan verir, membran seqmentinin ani olaraq geniş şəkildə depolyarlaşmasına səbəb olur. Sonra kanal bağlanır və bir neçə millisaniyə müddətində açıla bilmir (refraktor dövrü), Na^+ ionlarının sonrakı axmasına mane olur (bax Şəkil 22-10).
 - Təsir potensialı öz pikinə çatdıqda gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının açılması K^+ ionlarının xaricə axmasına imkan verir, bu da membranı yenidən polyarlaşdırır, sonra da hiperpolyarlaşdırır. Bu kanallar bağlandıqda membran öz sakitlik potensialına qayıdır (Bax Şəkillər 22-2 və 22-9).
 - Sitozolda təsir potensialı ilə əlaqəli olan, aksonun bir nöqtəsində yaranmış kationların artıqlığı passiv (ləng) şəkildə qonşu bitişik seqmentlərə yayılır, ətrafda olan gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasını işə salır və beləliklə akson boyu təsir potensialının yayılmasına səbəb olur.
 - Gərginliklə-nizamlanan mütləq (absolute) refraktor dövrünə və K^+ -un xaricə axmasından yaranan qısa hiperpolyarlaşmaya görə təsir potensialı yalnız bir istiqamətdə, akson ucuna doğru yayılır (bax Şəkil 22-12).
 - Gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları monomer zülallardır, quruluşuna və funksiyasına görə tetramer gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının hər bir subvahidinə oxşar olan dörd domenə malikdir. Gərginliklə-nizamlanan kation kanallarında hər bir domen və ya subvahid altı transmembran α spirala və ion selektivlik məsaməsini əmələ gətirən qeyri spiral P seqmentinə malikdir (bax Şəkil 22-13).
 - Gərginliklə-nizamlanan kanalların açılması kifayət qədər güclü depolyarlaşmaya cavab olaraq müsbət yüklənmiş S1-S4 **avar-ilgəklərin (paddles)** membranın hüceyrəxarici tərəfinə hərəkətdən yaranır (bax Şəkil 22-14).
 - Gərginliklə-nizamlanan kation kanallarının bağlanması və ya fəalsızlaşması sitozol “şar” seqmentinin açıq məsaməyə keçməsi nəticəsində baş verir (bax Şəkil 22-10).
 - Gərginliklə-nizamlanan K^+ kanallarının və gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının gərginlik sensoru və fəalsızlaşma qapısı oxşar olduğu halda, selektivlik filtrinun quruluşu fərqlidir və bu kanaldan keçən ion tipi üçün selektivliyi təmin edir.
 - İmpuls keçiriciliyini yüz dəfəyə qədər qaldıran myelinləşmə neyronların onurğalılarının beynində xarakterik olan sıx şəkildə bükülməsinə imkan verir.
 - Myelinləşmiş neyronlarda gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanalları Ranvier buğumlarında toplanırlar (qatılışırlar). Bir buğumlarda olan depolyarlaşma kiçik zəifləmə ilə sürətlə növbəti buğuma yayılır ki, nəticədə təsir potensialı buğumdan buğuma ötürülür (bax Şəkil 22-16).
 - Myelin təbəqələr qlial hüceyrələr tərəfindən özlərini spiral kimi neyronlara sarıyaraq yaradılır. Oligodendrositlər myelini CNS üçün yaradır, Şvann hüceyrələr isə PNS üçün yaradır (bax Şəkil 22-17).
 - Optogenetika sahəsi neyron dövrlərin öyrənilməsində inqilab edir. O neyronlarda kanalrodopsin adlanan işıqla fəallaşan kation kanallarının genetik ekspressiyasını və işıqdan istifadə edərək neyron populyasiyalarının xüsusi

olaraq fəallaşmasını və ingibirləşməsini tətbiq edir. Bu yolla, nevrologiya alimləri xüsusi neyronal sxemin spesifik davranışla əlaqəsini yarada bilər.

22.3 Sinapslarda Əlaqələr

Bizim artıq müzakirə etdiyimiz kimi, elektrik pulsları neyronlar boyu siqnalları ötürür, amma neyronlar arasında və başqa həyacanlanan hüceyrələr arasında siqnallar ‘sas’n kimyəvi siqnallar yolu ilə ötürürlər. Sinapslar *presinaptik* neyronların bu kimyəvi siqnalları buraxdığı qovşaqlardır və ya *postsinaptik* hədəf hüceyrələrə təsir edən neyrotransmitterlərdir (bax Şəkil 22-3). Hədəf hüceyrə başqa neyron, əzələ və ya vəzi hüceyrəsi ola bilər. Sinapsların kimyəvi əlaqəsi (**kommunikasiyası**) adətən bir istiqamətdə, presinaptik hüceyrədən postsinaptik hüceyrəyə doğru ola bilər.

Təsir potensialının presinaptik hüceyrələrdə akson sonluğuna gəlməsi gərginlə-həssas Ca^{2+} plazma membran kanalının açılmasına və Ca^{2+} ionlarının daxilə axmasına gətirib çıxarır və akson sonluqlarında Ca^{2+} qatılığının lokal artmasına səbəb olur. Ca^{2+} -un qalxması öz növbəsində kiçik (40-50 nm) neyroötürücüyə-malik olan qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasını həyata keçirir və neyroötürücüləri presinaptik hüceyrələri postsinaptik hüceyrələrdən ayıran dar boşluğa – sinaptik yarığa buraxır. Postsinaptik hüceyrələrin membranı presinaptik membrandan təxminən 20 nm məsafə daxilində yerləşir, neyroötürücülərin diffuziya etməli olduğu məsafəni azaldır.

Neyroötürücülər – qlutation (həyacanlandırıcı) və ya qamma-amino butir turşusu (GABA, ingibitor) kimi kiçik suda-həllolan molekullar – postsinaptik hüceyrədə reseptorlara birləşir, o isə öz növbəsində plazma membranında potensialın lokallaşmış dəyişilməsini induksiya edir. Əgər membran potensialı daha az mənfi olarsa – bu o deməkdir ki, depolyarlaşmış olur – təsir potensialı postsinaptik hüceyrələrdə induksiya olunmağa meyilli olacaq. Belə sinapslar həyacanlandırıcı olurlar və ümumiyyətlə postsinaptik plazma membranında Na^+ kanallarının açılmasında iştirak edirlər. İngibirləşdirici sinapsların əksinə olaraq neyroötürücülərin postsinaptik hüceyrələrdə reseptorlara birləşməsi plazma membranının hiperpolyarlaşmasına – daha çox daxil-mənfi potensialın yaranmasına səbəb olur. Adətən hiperpolyarlaşma postsinaptik plazma membranında təsir potensialının yaranmasına mane olmağa meyilli olan Cl^- və ya K^+ kanallarının açılması nəticəsində baş verir.

Neyroötürücü reseptorlar iki böyük sinifə bölünürlər: liqandla-nizamlanan ion kanalları, bunlar neyroötürücülər birləşdikdə dərhal açılırlar; G zülallarla cütləşən reseptorlar (GPCR-lar). Neyroötürücülərin GPCR-larla birləşməsi *ayrıca* ion kanalı zülalının açılmasını və ya bağlanmasını saniyələr və ya dəqiqələr müddətində induksiya edirlər. Bu "ləng" nörotransmitter reseptorları Fəsil 15-də müxtəlif tipli liqandlarla birləşib ion kanallarından fərqli olan sitozol zülallarının fəallığını modullaşdıran GPCR-lərlə birlikdə müzakirə edilmişdir. Mərkəzi sinir sistemində *glutamat* və GABA əsasən ionotropik reseptorlara birləşir uyğun olaraq həyacanlanma və ingibirləşməni həyata keçirir, halbuki serotonin və dopamin kimi neyromodulyatorlar metabotropik reseptorlara birləşirlər.

Periferial sinir sistemində əsas neurotransmitterlər asetilxolin və norepinefrindir (həmçinin noradrenalin adlanır), hər ikisi mərkəzi sinir sistemində də ekspressiya olunurlar.

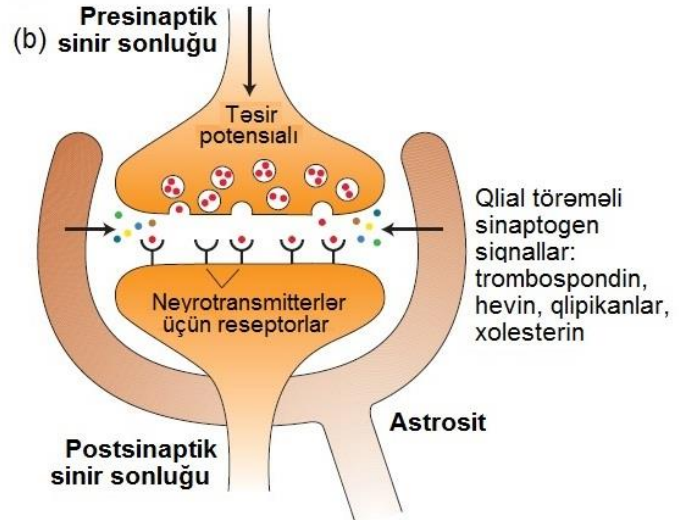
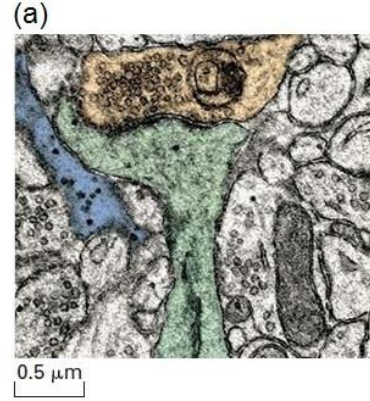
Neyroötürücü siqnalının müddəti ehtiyat saxlanılan neyroötürücünün miqdarından və eləcə də sinapslara gələn təsir potensialının tezliyindən asılıdır. Siqnalın müddəti həmçinin birləşmiş neyroötürücülərin sinaptik yarıqlarda necə tez parçalanmasından və ya geriye, presinaptik hüceyrələrə daşınmasından asılıdır. Presinaptik plazma membranı və eləcə də qlia daşıyıcı (transporter) zülallara malikdir, bunlar neyroötürücüləri plazma membranından keçərək geriye hüceyrəyə vurur, bu yolla neyroötürücülərin aşağı hüceyrəxarici qatılığını saxlayırlar.

Bu bölmədə biz əvvəlcə diqqətimizi sinapsların necə əmələ gəlməsinə və onların tənzimlənən neyroötürücü ifrazına necə nəzarət etməsinə yönəldəcəyik, sonra isə Fəsil 14-də təsvir olunan vazikulyar daşınmanın əsas prinsiplərinə diqqət yetirəcəyik. Sonra biz sinaptik siqnal müddətini məhdudlaşdıran mexanizmə və onun interpretasiyasına baxacağıq.

Sinapsların Əmələ Gəlməsi Presinaptik və Postsinaptik Quruluşların Toplanması Tələb Edir

Aksonlar inkişaf zamanı başqa hüceyrələrdən olan siqnallarla istiqamətləndirilərək hüceyrə cismindən elə uzanır ki, akson ucluğu düzgün mövqeyə çatır (bax 18.8 bölməsinə). Aksonlar böyüdükcə onlar başqa neyronların dendritləri kimi öz potensial hədəf hüceyrələri ilə əlaqəyi girilər və tez-tez hallarda belə saytlar sinapsları əmələ gətirirlər. CNS-də postsinaptik ixtisaslaşmış sinapslar bütün akson boyu meydana çıxır və *en passant* (kəsb keçən) sinapslar adlanırlar, əksinə motor neyronlar əzələ hüceyrələri ilə yalnız aksonların sonluğunda sinapsları əmələ gətirirlər.

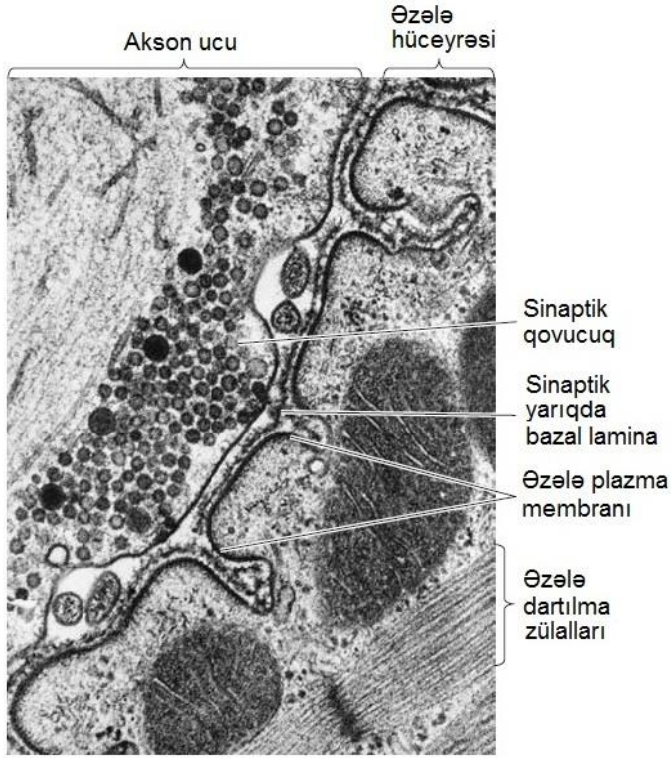
Ayrılıqda kultura olunmuş neyronlar çox səmərəli sinapslar əmələ gətirməyəcəklər, amma kulturaya qlia əlavə edildikdə sinapsların əmələ gəlmə sürəti əhəmiyyətli dərəcədə artacaq. Astrofitlər və Şvann hüceyrələri sinapsların əmələ gəlməsinə stimullaşdırmaq və sonra da onların qorunmasına kömək etmək üçün neyronlara zülal siqnallarını yollayırlar. Belə siqnallardan biri hüceyrəxarici matrisinin komponenti **trombospondin**dir (TSP), iki *trombospondin* genini itirmiş siçan beyində normal sayda olan sinapsların yalnız 70 faizinə malik olur. Qlia ilə törənən əlavə siqnallar, o cümlədən qlial mənşəli xolesterin, hüceyrəxarici matrisə zülalı hevin və qlipikanlar (heparin sulfat proteoqlikanlar) funksional sinapsların formalaşması üçün tələb olunurlar. Neyronla onları əhatə edən qlia arasında qarşılıqlı əlaqə tez-tez olur və mürəkkəbdir, bu da onların daşdığı siqnalları və məlumatları fəal tədqiqat sahəsinə çevirir. Təsvirləri yaratmağın yeni yanaşmaları göstərdi ki, astrofitlər neyronlarla birləşən və sinapsları əhatə edən çoxsaylı kiçik şaxələri əmələ gətirirlər. Beləliklə, astrofitlər yalnız sinaps əmələ gəlməsinə təşviq etmək üçün qlial ilə törənən faktorları təmin etmir, əksinə bir çox nevrologiya alimləri hesab edirlər ki, presinaptik və postsinaptik partnyorlardan ibarət olan synapslar yalnız pre- və postsinaptik neyronal elementlərdən deyil həm də astrofitlərdən ibarət olan üçtərəfli sinapslar hesab edilməlidirlər (bax Şəkil 22-21).



ŞƏKİL 22-21 Astrofitlər və üçtərəfli sinapslar. (a) Gəmirici hippokampusun bu elektron mikrofotosunda göstərdiyi kimi, çox sinapslar, astroqlial proseslərlə tutulmuşdur. Postsinaptik kompartiment (dendrit və dendrit onurğa) yaşıl rənglə, presinaptik terminal narıncı, astroqlial proses isə mavi rənglə vurğulanmışdır. (b) Astrofitlər yalnız sinapsları təbəqə kimi örtür, onlar həmçinin düzgün sinaps formalaşmasını həyata keçirən bir sıra faktorları ifraz edirlər. Bunlara trombospondin, hevin, qlipikanlar, və xolesterin daxildir. Neyronlar hüceyrə kulturasında artırılarkən astrofitlərin neyronal sinapsların formalaşmasındakı əhəmiyyətinin göstəricisi onların sinapsların formalaşması və inkişafı üçün tələb olunmasıdır. [(a) hissəsi Elsevier rəzilığı ilə Bourne, J. and Harris, K. M., “Do thin spines learn to bemushroom spines that remember?” *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2007, **17**(3):381–6-dən yenidən çap olunmuşdur.]

Sinaps saytında presinaptik neyron yüzürlə ya minlərlə sinaptik qovucuqlara malikdir, bəziləri membrana bağlanmış, bəziləri isə ehtiyat şəkildə gözləmə vəziyyətindədir. Neyroötürücülərin sinaptik yarığa buraxılması, funksiyalarına sinaptik qovucuqların xassələrinin modifikasiya olunması və onların lövbər (docking) mövqeyinə gətirilməsi və plazma membranı ilə qovuşdurulması daxil olan zülalların diqqətəlayiq şəkildə toplandığı plazma membranının xüsüsüləmiş rayonu olan *fəal zonada* baş verir. Elektron mikroskopu ilə baxıldıqda, fəal zona elektron-sıx materiala və incə sitoskelet filamentlərə malikdir (Şəkil 22-22). Postsinaptik hüceyrələrdə xüsüsüləmiş quruluşların oxşar sıx rayonu olan *postsinaptik sıxlıq*

(*postsynaptic density* – PSD) sinapslarda görünür. Pre- və postsinaptik hüceyrələri əlaqələndirən hüceyrə-adeziya molekulları fəal zonanı və PSD-ni düzləndirilmiş şəkildə saxlayır. Təsir potensialına cavab olaraq sinaptik qovucuqlar buraxıldıqdan sonra, presinaptik neyron *endositoz* yolu ilə sinaptik qovucuq membran zülallarını fəal zona daxilində və xaricində bərpa edir.



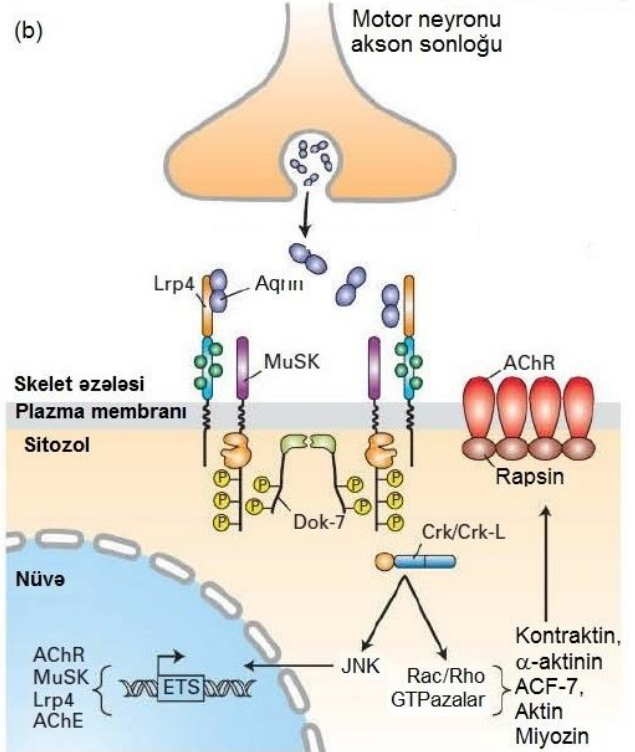
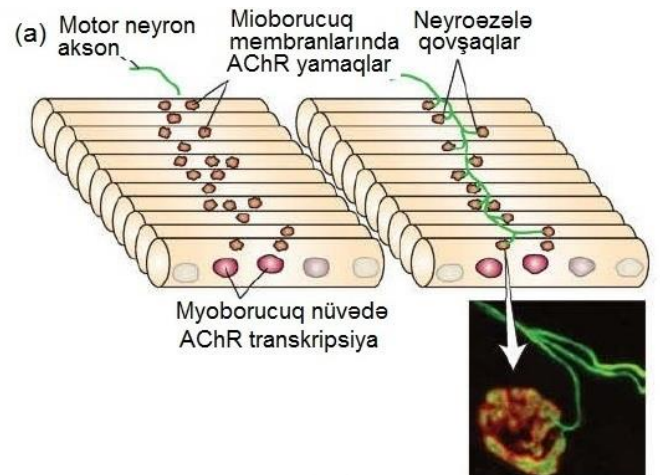
ŞƏKİL 22-22 Sinaptik qovucuqlar neuroötürücülərin buraxıldığı rayona yaxın akson sonluqlarında. Sinir-əzələ qovşağının bu uzununa kəsiyində bazal lamina sinaptik yarıqda yerləşir, neyronu çox qatlanmış əzələ membranından ayırır. Asetilxolin reseptorları postsinaptik əzələ membranında membran qatlanmalarının yuxarı və qismən aşağı yanlarında toplanmışdır. [Don W. Fawcett/T. Reese/Science Source.]

Sinapsın yığılması *sinir-əzələ qovşaqlarında* (*neuromuscular junction* – *NMJ*) geniş öyrənilmişdir (Şəkil 22-23). Bu sinapslarda asetilxolin motor neyronları tərəfindən istehsal olunmuş neuroötürücüdür və onun reseptoru AChR postsinaptik əzələ hüceyrəsində sintez olunur. Kulturaya keçirilmiş əzələ hüceyrəsi sələfləri myoblastlar, normal əzələ hüceyrələrinə oxşar olaraq spontan şəkildə multinukleasiya myotublarında qovuşurlar. Myotublar əmələ gələn kimi, hüceyrə mərkəzi yaxınlığında AChR reseptoru istehsal edilir və myotub plazma membranına keçirilir, diffuziya membran yamağını əmələ gətirir (Şəkil 22-23a).

Sinir-əzələ sinapslarının formalaşması motor neyronları ilə əzələ lifləri arasında siqnal ötürən qarşılıqlı təsirin yaranması üçün tələb olunan çoxpilləli prosesdir. Burada əsas rol oynayan myotub plazma membranında səpələnmiş AChR- ilə zəngin

yamaqlarda yerləşən **MuSK** reseptor tirozinkinazadır. Məlum olmayan yollarla MuSK həm AChR-ların klasterləşməsini induksiya edir həm də böyüməkdə olan motor neyronların aksonlarının sonluqlarını cəlb etməyə xidmət edir. Məsələn, MuSK-in nokdaunu hər iki prosesi ingibirləşdiriyi halda onun kultura alınan əzələ hüceyrələrində superekspressiyası motor neyronların bütün əzələ hüceyrələrində artmasını və artıq miqdarda sinpsların əmələ gəlməsini induksiya edir.

Digər əsas rol oynayan zülal Aqrin zülalidir, bu qlikozülal inkişafda olan motor neyronlar tərəfindən sintez olunur, qovucuqlarda akson mikroböyüdümləri boyu daşınır və inkişafda olan mikroböyüdümlər yaxınlığında ifraz olunur. Aqrin bir dəfə membranı kəşib keçən zülal LRP4 ilə birləşir, bu birləşmə LRP4 ilə MuSK arasında assosiasiyayı stimullaşdırır və MuSK kinaza

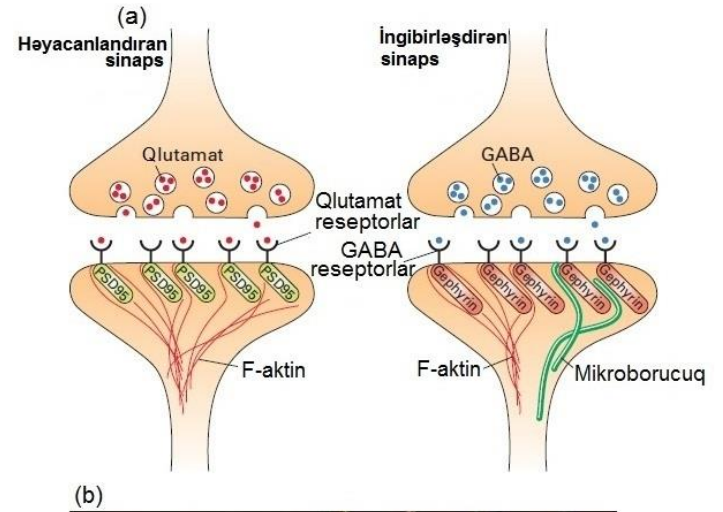


ŞƏKİL 22-23 Sinir-əzələ qovşaqlarının əmələ gəlməsi. (a) Motor neyron-miyotyub qarşılıqlı təsirləri. Myoblastların multinukleasiyalı miyotyubları əmələ gətirmək üçün qovuşmasının ardınca, nüvələr asetilxolin reseptor (AChR) mRNT-sini sintez edir. Hər bir əzələ lifinin mərkəzi yaxınlığındakı nüvə başqa nüvələrə nisbətən daha çox miqdarda AChR mRNT-ni sintez edir. MuSK reseptor kinaza ilə birlikdə AChR hüceyrənin ortasına yaxın membran yamaqlarında, əzələnin ertimal olunan sinaptik rayonunda innervasiyadan öncə və innervasiyadan asılı olmayaraq toplanırlar, belə hüceyrəyə “əvvəlcədən formalaşdırılmış” (“prepatterned”) hüceyrə deyilir. Motor neyronun akson sonluğu AChR klasterinə doğru böyüyür və Aqrin qlikozülünü ifraz edir. Öz növbəsində Aqrin AChR-ların (tünd qırmızı) və akson sonluğu ətrafında MuSK-ların (yaşıl) klaster əmələ gətirməsini induksiya edir, sinir-əzələ qovşağını əmələ gətirir. (Əlavədə) Postnatal siçanın sinapsının mikrofotosu aksonların (neurofilament) və sinaptik qovucuqların (sinaptofizin) rənglənməsi ilə görüntülənmişdir və yaşıl rənglə birlikdə göstərilir, AChR isə qırmızı rənglə göstərilir. (b) Aqrin reseptordan aşağıya istiqamətdə gələn siqnal. Motor aksonlar LRP4 ilə birləşərək və MuSK kinaza fəallığını fəallaşdıraraq postsinaptik differensiasiyayı stabilləşdirən Aqrini ifraz edirlər. MuSK-in membrana bitişik rayonunda dairədə sarı P ilə göstərilmiş tirozinlərin fosforlaşması əzələdə selektiv şəkildə ekspressiya olunan adaptor zülalı Dok-7-nin cəlb olunmasını və tirozinin fosforlaşmasını stimullaşdırır, dimer əmələ gətirir, MuSK kinaza fəallığını stimullaşdırır və Crk/Crk-L adaptor zülalını səfərbər edir. Presinaptik akson sonluğunun əks tərəfində AChR-lərin klaster əmələ gətirməsi zamanı Crk/Crk-L Ras/Rho- və Rapsin-dən asılı olan yolun fəallaşması üçün vacibdir, bu yola aktin və myozin də daxil olmaqla bir sıra sitoskelet zülalları aiddirlər. Sinaps-spesifik transkripsiya yolu daha az anlaşılır, amma çox guman ki, asetilxolin reseptorları, MuSK, LPR4 və sinaptik yarıqlarda lərləşən və asetilxolinin xolinə və asetata parçalayan hüceyrəxarici ferment asetilxolin esteraza (AChE) kimi sinaptik zülalları kodlaşdıran çoxsaylı genlərin ekspressiyasını stimullaşdıran ETS transkripsiya faktorları ailəsinin JNK kinazadan-asılı olan fəallaşması bura daxildir. [Mikrofoto “Company of Biologists Ltd.” Razılığı ilə Herbst, R., et al., “Restoration of synapse formation in Musk mutant mice expressing a Musk/Trk chimeric receptor,” *Development*, 2003, 130(2):42-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

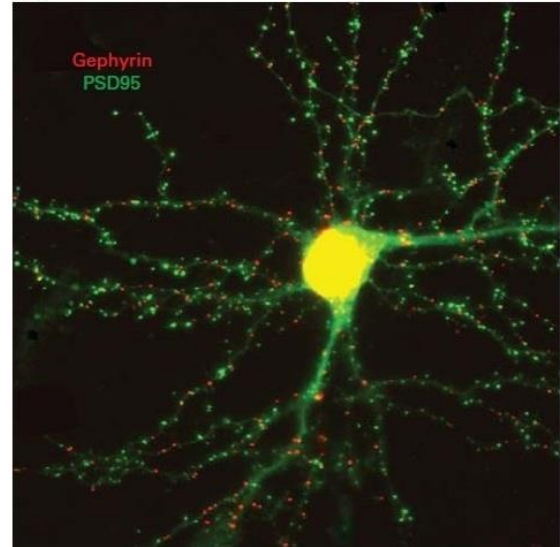
fəallığını yüksəldir (Şəkil 22-23b). Bu isə bir sıra aşağıya istiqamətdə siqnal ötürülməsi yollarını fəallaşdırır, bu yollardan biri Ras və Rho-nun fəallaşmasına aparır (17.3 bölməsinə bax) və AChR-ların sitoskelet zülalı rapsinlə klasterlərinin formalaşmasına səbəb olur, bu qarşılıqlı əlaqə aktin də daxil olmaqla başqa sitoskelet zülalların birləşməsi ilə birlikdə AChR-ların sinir-əzələ qovşaqlarında sinir sonluğunun əks tərəfində lokalizasiyasına səbəb olur. Yetkin sinapslarda asetilxolin reseptorların sıxlığı $\sim 10000-20000/\mu\text{m}^2$ çatır, halbuki plazma membranının başqa yerlərində sıxlıq $\sim 10/\mu\text{m}^2$ -dir. Digər siqnal yolu, hansıki hələ də tam başa düşülməyib, ETS-ailləsi transkripsiya faktorlarının fəallaşmasına və rapsin və AChR-lar kimi sinaptik zülalları kodlaşdıran genlərin ekspressiyasının stimullaşmasına səbəb olur.

Mərkəzi sinir sistemində sinapsların formalaşmasının molekulyar mexanizmləri az başa düşüldüyü bir halda, görünür proses oxşar məntiqlə davam edir, pre- və postsinaptik kompartimentlər artasında qarşılıqlı təsir artıq sintez olunmuş sinaptik komponentlərin reorqanizasiyasına səbəb olur. Sinir-əzələ sinapslarında klaster əmələ gətirən ACh reseptorlarında

rapsinin funksiyasına analogi olaraq fərqli skafolt əmələ gətirən zülallar neyroötürücü reseptorlarını mərkəzi sinir sisteminin həyacanlandırıcı və ingibirləşdirici sinapslarında klasterləşdirirlər. PST95 adlanan böyük PDZ-saxlayan (PDZ domenin mənası üçün bax Fəsil 20) zülallar həyacanlaşdırıcı sinapslarda qlutamat reseptorlarını klasterləşdirir, amma gefrin adlanan başqa bir skafolt zülalı GABA və qlisin reseptorunu ingibirləşdirici sinapslarda klasterləşdirir (Şəkil 22-24). Pre- və



(b)



ŞƏKİL 22-24 PSD95 və gefrin postsinaptik kompartimentlər üçün müvafiq olaraq həyacanlandırıcı və ingibirləşdirici skafolt zülallardır. (a) PDZ-saxlayan zülal PSD95 həyacanlandırıcı sinapslarda postsinaptik sıxlığın bir hissəsidir və qlutamat reseptorları və aktin sitoskeletlə assosiasiyada olur. Skafolt zülalı gefrin ingibirləşdirici sinapslarda analogi rolunu oynayır və burada o GABA reseptorlarla, mikroborucuqlarla və aktin sitoskelet şəbəkəsi ilə assosiasiyada olur. (b) PSD95 və gefrin uyğun olaraq həyacanlaşdırıcı və ingibirləşdirici sinapsları nişanlamaq üçün istifadə oluna bilər. Yaşıl rəngdə göstərilənlər PSD95-saxlayan həyacanlandırıcı sinapslardır, qırmızı rəngdə göstərilənlər isə gefrin-saxlayan ingibirləşdirici sinapslardır, kulturdada siçanın vahid qabıq neyronunu əmələ gətirirlər. [(b) hissəsi Elsevier razılığı ilə Gross, G. et al., “Recombinant probes for visualizing endogenous synaptic proteins in living neurons,” *Neuron*, 2013, 78(6):971–85-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsi ilə alınmışdır.]

postsinaptik kompartimentlər trans-sinaptik adgeziya molekullarının şəbəkəsi vasitəsi ilə əlaqədirlər, bu adgeziya qarşılıqlı təsirlər o qədər güclüdür ki, presinaptik kompartimentləri postsinaptik kompartimentlərdən biokimyəvi ayırmaq qeyri mümkündür. Bu adgeziya molekullarına katherinlər, immunoqlobulinə-malilik olan adgeziya molekulları (Fəsil 20-də təsvir olunur), neyrexinlər, neyroliqinlər, efrinlər və Eph reseptorlar daxildirlər. Sinaptik adgeziya molekulları skafolt zülalları və sitoskelet elementlərlə onların hüceyrəxarici domenləri vasitəsi ilə birləşir, həm presinaptik həm də postsinaptik kompartimentlərin zülal komplekslərinin təşkilini gücləndirirlər. Əsas neyron hüceyrələrinin maraq adgeziya molekullarını ekspressiya edən qeyri-neyron hüceyrələri ilə kultura olunduğu qatışıq hüceyrə kultura siustemləri spesifik adgeziya molekullarının sinapsların toplanmasını stimullaşdırmaq qabliyyətinin nümayiş etdirilməsində faydalı olmuşdur. Məsələn, postsinaptik adgeziya molekulu neyrosinin qeyri-sinir hüceyrələrində ekspressiya olunması aksonlarda presinaptik ixtisaslaşmanı, o cümlədən sinaps qovucuqlarının klasterləşməsi ilə fəal zona komponentlərinin əmələ gəlməsini stimullaşdırmaq üçün kifayət edir.

Sinir sisteminin dəqiq şəbəkələnməsinə yalnız sinapsların əmələ gəlməsi deyil həm də sinapsların aradan çıxarılması daxildir. Əksər heyvanlar doğum zamanı artıq miqdarda sinapslarla doğulurlar və onlarda sinir sxeminin yetişməsinə böyük miqdarda sinapsları uzaqlaşdıran sinaptik budamanın kritik prosesləri daxildir. Sinaptik budama sinir fəallığından asılıdır və tədqiqatlar göstərir ki, güclü sinapslar formalaşdığı halda daha zəif sinapslar uzaqlaşdırılır. Məsələn, doğum zamanı hər bir əzələ hüceyrəsi çoxsaylı motor neyronlarla innervasiya olunur, amma zaman keçdikcə motor neyronların çoxunun kontaktları aradan çıxır, belə ki, sonda hər bir əzələ hüceyrəsi tək bir motor neyronla innervasiya olunur. Sinapsların aradan çıxarılmasının bu prosesi əzələ hüceyrəsinin fəaliyyətindən asılıdır: əgər əzələ hüceyrəsi farmakoloji yolla susdurulmuşdursa o özünün polineyronal innervasiyasını itirmir. Sinaps uzaqlaşdırılmasının əsasında duran hüceyrə biologiyası mexanizmləri, o cümlədən hansı sinapsların aradan çıxarılmalı olmasının əsasında duran və özünün sıradan çıxarılması mexanizmləri fəal tədqiqat sahələridir. Son zamanların bir çox tədqiqatları sinaptik budama zamanı aradan çıxarılmış sinapsların faqositozunda astrositlərin və mikroqliaların rolunu aşkar etdilər.

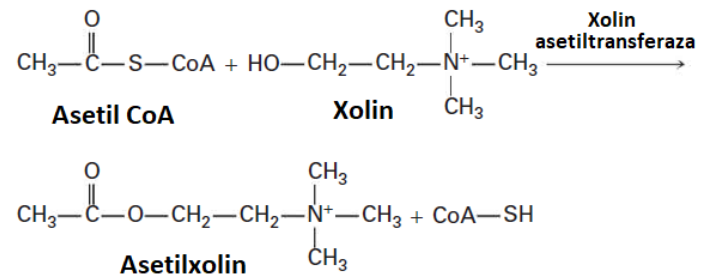
Neyroötürücülər H⁺-əlaqəli Adaptor Zülallar Vasitəsilə Sinaptik Qovucuqlara Daşınırlar

Bu bölmədə neyroötürücülərin akson sonluqlarında membrana-birləşmiş *sinaptik qovucuqlarda* necə büküldüklərinə diqqət yetiririk. Çox sayda kiçik molekullar müxtəlif sinapslarda neyroötürücü kimi fəaliyyət göstərilir. Asetilxolin istisna olmaqla əksər geniş yayılmış neyroötürücülərin, Şəkil 22-25-də göstəriləyi kimi, amin turşularıdır və ya amin turşularının törəmələridirlər. ATP və digər müvafiq nukleotidə kimi fosfat qrupularını itirmiş nukleotidlər də neyroötürücü kimi fəaliyyət göstərilir. Əvvəllər neyronların yalnız bir tip neyroötürücünü yaratması düşünüləyi halda son zamanların tədqiqatları göstərdi ki, bəzi neyronlar birdən artıq neyroötürücünü istehsal edə və ifraz edə bilirlər.

Neyroötürücülərin tipləri müxtəlif olsa da və onlar sinir sisteminin müxtəlif hissələrində fəaliyyət göstərsə də bütün neyroötürücülərlə siqnal ötürməsi iki nəticə ilə, ya elektrik siqnalının induksiya olunması ya da onun ingibirləşməsi ilə yekunlaşır.

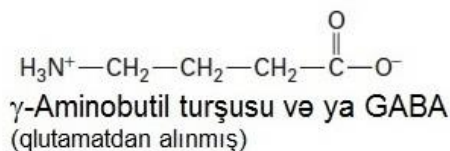
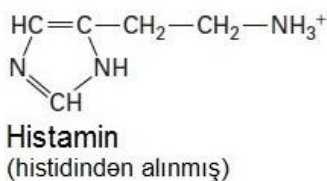
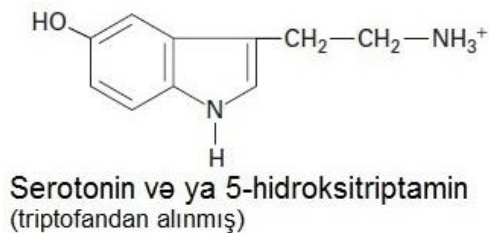
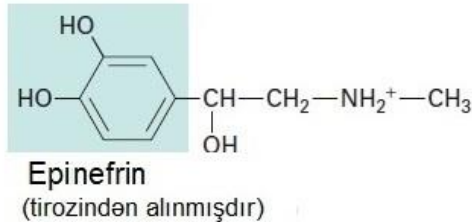
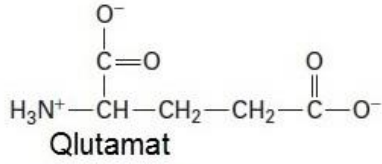
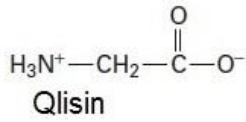
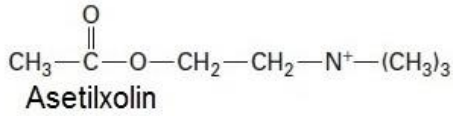
Bütün bu neyroötürücülər sitozolda sintez olunurlar və akson sonluğunda membrana-birləşmiş sinaptik qovucuqlara import olunurlar, burada onlar ehtiyat saxlanılırlar. Bu qovucuqlar 40-50 nm diametrdə olurlar və onların lümeninin qovucuq membranında olan V-sinif proton nasoslarının fəaliyyəti ilə yaradılmış aşağı pH-ı olur. Bitki hüceyrə vakuolunda metabolitlərin toplanmasına oxşar olaraq (bax Şəkil 11-29), bu proton qatılıq qradienti (qovucuq lümeni > sitozol) neyroötürücülərin qovucuq membranındakı liqand-spesifik H⁺-əlaqəli neyroötürücü antiporterlər vasitəsilə ötürülməsi üçün enerjisini təmin edir (Şəkil 22-26).

Məsələn, asetilxolin sitozolda qlükoza və yağ turşusunun parçalanmasının aralıq məhsulu olan asetil koenzim A-dan (asetil CoA) və xolindən xolin asetiltransferaza ilə kataliz olunan reaksiya ilə sintez olunur:



Sinaptik qovucuqlar asetilxolini sitozoldan götürüb onu qovucuq membranındakı H⁺/asetilxolin antiporterindən istifadə edərək dik qatılıq qradientinə qarşı qatılaşdırır. Başqa antiporterlərdə olduğu kimi, protonların formalaşmaqda olan qovucuqlardan onun elektrokimyəvi qradientinin azalan istiqamətində eksportundan alınan enerji hesabına neyroötürücüləri götürür. Təkamül mexanizminə bir nümunə kimi, bu iki zülalın koordinasiya olunan ekspressiyasına əmin olmaq üçün bu antiporterə kodlaşdıran gen bütövlükdə xolin asetiltransferazanı kodlaşdıran genin birinci intronu daxilində yerləşmişdir.

Başqa neyroötürücülərin sinaptik qovucuqlara import olunmasında fərqli H⁺/neyroötürücü antiporter zülallar istifadə olunur. Məsələn, qlutamat sinaptik qovucuqlara *vazikulyar qlutamattansporterlər* (VGLUT) adlanan zülallar ailəsi vasitəsilə import olunur. VGLUT qlutamat üçün yüksək spesifiktir, amma aşağı substrat affiniyyətinə malikdir (K_m = 1-3 mM). Transporterlərin başqa bir ailəsi, *vazikulyar GABA transporterlər* (VGATs) GABA və qlisini sinaptik qovucuqlara daşıyır. Asetilxolin transporteri kimi, VGLUT-lar və VGAT-lar antiporterdir, qlutamat və GABA-nın və ya qlisinin sinaptik qovucuqlara daşınması zamanı protonlar əks istiqamətə keçirlər. VGLUT və VGAT müvafiq olaraq həyacanlandırıcı və ingibirləşdirici sinaptik sonluqlar üçün sərfəli markerlər kimi istifadə ediliblər.



ŞƏKİL 22-25 Neyroötürücülər kimi fəaliyyət göstərən bir sıra kiçik molekulların quruluşu. Asetilxolindən başqa bütün bu tip molekullar amin turşularıdır (qlisin və qlutamat) və ya göstərilən amin turşularının törəmələridir. Üç ötürücü (transmitter) tirozindən sintez olunur, bunların katexol hissəsi vardır (mavi işıqlandırılmış) və *katexolaminlər* kimi adlandırılırlar

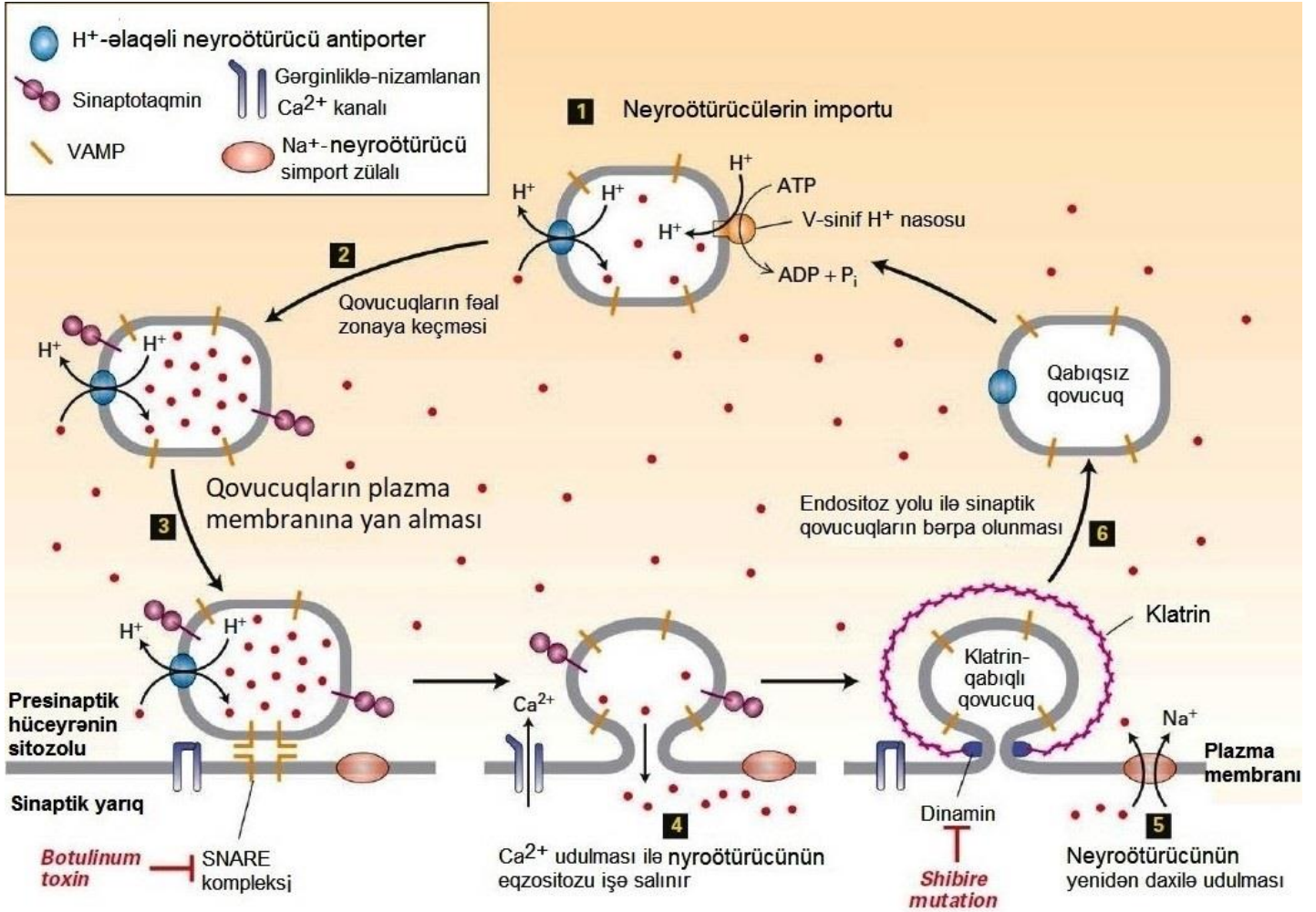
Presinaptik Sonluqda Neyrotransmitterlə Yüklənmiş Sinaptik Qovucuqların Üç Ehtiyatı Mövcuddur

Sitoskelet liflərin yüksək dərəcədə təşkili akson sonluqlarında sinaptik qovucuqların presinaptik sonluqda yerləşməsinə kömək edir. Guman olunur ki, sinaptik qovucuqların populyasiyası üç vəziyyətdə mövcud olur: plazma membranı yaxınlığında fəal zonada lövbər edib yerləşən asanlıqla buraxıla bilən kiçik ehtiyat mənbə; plazma membranı yaxınlığında olan, amma ona lövbər etməyən təkrar istifadə olunan böyük mənbə; sonluqda qovucuqların əksəriyyətinin daxil olduğu ehtiyat mənbə, bunlar sinaptik fəal zonadan ən uzaqda olanlardır, yalnız güclü siqnal zamanı buraxılırlar. *Sinapsinlər* adlanan fosfozülallər ailəsi sinaptik qovucuqları aktin sitoskeletə və bir-birinə sarıyır. Neyronal stimullaşma sinaptik qovucuqların sarınmasını modulyasiya etmək üçün sinapsinləri fosforlaşdırır kinazaları fəallaşdırır və bununla da buraxılmaq üçün mümkün olan sinaptik qovucuqların sayını dəyişir. Həqiqətən də, sinapsin nokaut olmuş siçan canlı olmasına baxmayaraq ürəkkeçməyə meyilli olur; bu cürə siçanda çox neyronların təkrar stimullaşması zamanı plazmatik membranla qovuşan sinaptik qovucuqların sayı çox azalır.

Ca²⁺ Daxilə Axması Neyroötürücülərin Buraxılmasına Səbəb Olur

Neyroötürücülərin sinaptik qovucuqlardan eqzositozuna, ifraz olunan və plazma-membranı zülallarının hüceyrə daxili daşınması zamanı (Fəsil 14) olduğu kimi, qovucuq-hədəflənməsi və qovuşma hadisələri daxildir. Amma, sinapsların fəaliyyəti üçün kritik əhəmiyyətli olan iki unikal xüsusiyyət digər ifrazat yollarından fərqlənir: (1) akson sonluğunda ifrazat təsir potensialının gəlişi ilə sıx şəkildə bağlıdır; (2) sinaptik qovucuqlar plazma membranı ilə qovuşduqdan sonra akson sonluğunda lokal təkrar istifadəyə gedirlər. Şəkil 22-26 sinaptik qovucuqların neyroötürücülərlə dolduğu, öz tərkiblərini buraxdığı və yenidən istifadəyə getdikləri tam tsikli göstərir.

Plazma membranının depolyarlaşması özlüyündə sinaptik qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasına səbəb ola bilmir. Qovucuqların qovuşmasına səbəb olmaq üçün təsir potensialı kimyəvi potensiala, yəni lokal Ca²⁺ qatılığının artmasına çevrilməlidir. Elektrik siqnalının ötürücüləri plazma membranının sinaptik qovucuqlara bitişik rayonunda yerləşmiş *gərginliklə-nizamlanan Ca²⁺* kanallarıdır. Təsir potensialının gəlməsi ilə əlaqədar olaraq membranın depolyarlaşması bu kanalları açır, Ca²⁺ ionlarının hüceyrəxarici mühitdən sinaptik qovucuqların yan aldığı (lövbər etdiyi) akson ucluğu rayonunda daxilə axmasına imkan yaradır. Əhəmiyyətlidir ki, sitozol Ca²⁺ səviyyəsinin qalxması lokallaşır, Ca²⁺ artıq hissəsi plazma membranının Ca²⁺ nasosları vasitəsilə ilə bayıra vurulduğundan o həm də keçicidir.



ŞƏKİL 22-26 Akson sonluğunda neuroötürücülərin və sinaptik qovucuqların dövrəsi. Burada göstəriləyi kimi, sinaptik qovucuqların çoxu endositoz dövrəsi yolu ilə əmələ gəlir. Tam dövrə təxminən 60 saniyəyə başa gəlir. Pıllə 1: Qabıqsız qovucuqlar V-tip proton nasoslarını (narıncı) və neuroötürücünü (qırmızı nöqtələr) sitozoldan eksport etmək üçün xüsusi bir neuroötürücü-spesifik olan bir tip H^+ -neuroötürücü antiporterini (mavi) ekspressiya edir. Pıllə 2: Neuroötürücü yüklənmiş sinaptik qovucuqlar fəal zonaya keçirlər. Pıllə 3: Qovucuqlar presinaptik hüceyrələrin plazma membranında müəyyən saylara gəlib yerləşirlər, VAMP adlanan v-SNARE qovucuqlar isə plazma membranının t-SNARE-si ilə birləşir və SNARE kompleksini əmələ gətirir. Sinaptotaqmin membran qovşmasına və neuroötürücünün sərbəst buraxılmasına mane olur. Botulinum toksini, qovucuq üzərindəki v-SNARE olan VAMP-ı proteolitik kəsərək eqzozitoza mane olur. Pıllə 4: Sinir impulslarına (təsir potensialı) cavab olaraq, plazma membranında gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları açılır, Ca^{2+} -n hüceyrəxarici mühitdən daxilə axmasına imkan verir. Nəticədə sinaptotaqmində Ca^{2+} -la induksiya olunan konformasiya dəyişilməsi yan alıb yerləşmiş qovucuqların

plazma membranı ilə qovuşmasına imkan yaradır və neuroötürücüləri sinaptik yarıqlara buraxır. Sinaptotaqmin qovucuqların sonrakı yenidən istifadəsi pillələrində və ya neuroötürücülərin importunda iştirak etmir, hərçənd ki, o hələ də mövcud olur. Pıllə 5: Na^+ simporeter zülalları neuroötürücünü sinaptik yarıqdan sitozol daxilinə götürür, təsir potensialının davamına müddətini məhdudlaşdırır və hüceyrəni neuroötürücülərlə qismən yenidən yükləyir. Pıllə 6: Qovucuqlar endositoz yolu ilə yenidən bərpa olunur, doldurulmağa və yeni dövrəni başlamağa hazır olan örtüksüz qovucuqları əmələ gətirir. v-SNARE və neuroötürücü transporter (daşıyıcı) zülallarına malik olan klatrin/AP qovucuqlar daxilə tumurcuqladıqdan və dinaminlə-həyata keçirilən proseslə qopub ayrıldıqdan sonra onlar örtük zülallarını itirirlər. *Drosophila*-da *shibire* kimi dinamin mutasiyaları sinaptik qovucuqların yenidən əmələ gəlməsini blok edir, iflic olunmaya səbəb olur. Əksər neuroötürücülərdən fərqli olaraq, asetilxolin yenidən istifadəyə qayıtmır. Bax, K. Takei et al., 1996, *J. Cell Biol.* 133:1237; V. Murthy and C. Stevens, 1998, *Nature* 392:497; və R. Jahn et al., 2003, *Cell* 112:519.

Görünür ki, bakteriyaların gərginlikdən-asılı olan Na^+ kanalları həm gərginlikdən-asılı olan Na^+ kanallarının həm də gərginlikdən-asılı olan Ca^{2+} kanallarının təkamül əcdadıdır. Xüsusilə, gərginliyi-hiss edən modulun və prob modulun quruluşu və eləcə də gərginlikdən asılı olan fəallaşmanın və

gərginlikdən-asılı olan ləng (yavaş) fəalsızlaşmanın əsasında duran quruluş mexanizmləri qorunub saxlanılmışdır. Bakterial gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları bu kanallar arasında onunla unikaldir ki, o kalsium ionları üçün selektivdir. Bu kanallar Na^+ ionlarının hüceyrəxarici qatılığının 140 mM və

Ca^{2+} ionlarının qatılığını isə yalnız 2 mM olduğu halda Ca^{2+} üçün yüksək və selektiv keçiriciliyə necə nail olurlar? Bu selektivliyin quruluş əsaslarını təyin etmək üçün alimlər bakterial gərginlikdən-asılı olan Na^+ kanallarının selektivlik məsələlərindəki qalıqları gərginlikdən-asılı olan Ca^{2+} kanalında tapılmış qalıqlarla müqayisə etdilər. Bu mutasiya bakterial kanal gərginlikdən-asılı olan Ca^{2+} kanalına çevirir və onun quruluşu rentgen kristalloqrafiya yolu ilə aşkar edilə bilər. Bu nəticələr göstərdi ki, selektivlik filtrindəki tək bir serin qalığının aspartata mutasiya olunması kanalı kalsium ionlarını tək bir hidratasiya qabığından keçirən kalsium selektivli kanalına çevirdi. Bu mutasiya məsələnin elektromənfiliyini dəyişən digər mutasiyalarla birlikdə kifayət etdi ki, hüceyrəxarici mühitdə Na^+ ionlarının nisbi bolluğuna baxmayaraq Na^+ üzərində Ca^{2+} selektivliyini təmin etsin. Gərginliklə-nizamlanan Na^+ və K^+ kanalları təsir potensialının əsas yaradıcıları olduğu halda, Ca^{2+} kanalları elektrik sənəllərinin kimyəvi sənəllərə çevrilməsi üçün əhəmiyyətlidir, çünki kalsiumun neyronlar daxilinə axması sinaptik qovucuqların buraxılmasına və elektrik sənəllərinin bir neyrona digər neyrona ötürülməsinə səbəb olan bir sıra sənəllə ötürülməsi kaskadlarını işə salır.

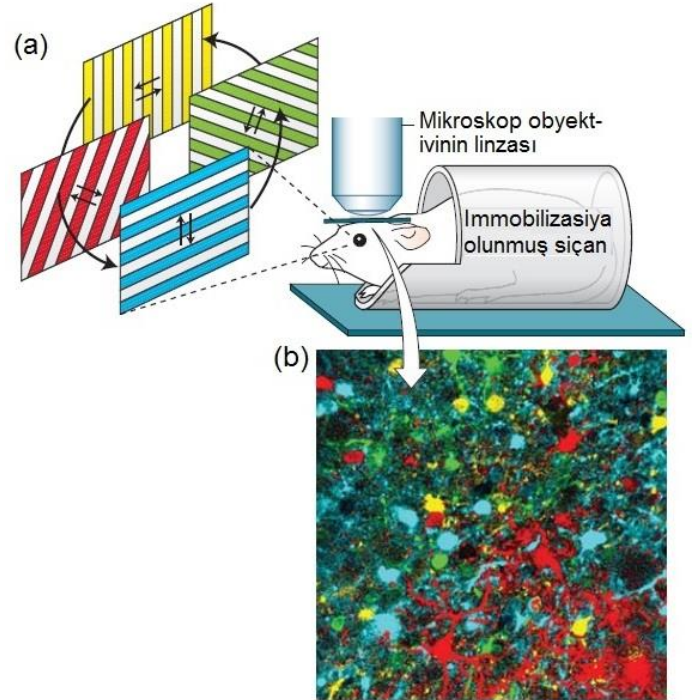
Fluorescent Ca^{2+} indikatorlarının yaradilib inkişaf etdirilməsi kulturada və intakt sinir sxemlərində neyronların sinaptik fəallığını vizuallaşdırmaq üçün çox güclü imkanları təmin etdi. Fəsil 4-də müzakirə olunduğu kimi, bu indikatorlar Ca^{2+} ilə birləşdikdə öz fluorensensiya emissiyasını dəyişən fluorescent molekullardır, buraya həm kimyəvi indikatorlar həm də genetik kodlaşdırılan indikatorlar daxildir. Sinir sxemlərində Ca^{2+} indikatorlarının neyronlara çatdırılması və ya ekspressiyası real zaman müddətində yüzlərlə neyronlarda və qlial hüceyrələrdə Ca^{2+} keçidlərini ekranlaşdırmaq üçün eksperimentçilərə zaman-fasilə mikroskopiyasını (**time-lapse microscopy**) istifadə etməyə imkan verir. Məsələn, siçanın vizual qabığında genetik kodlaşdırılan GCaMP6 Ca^{2+} indikatorunun çatdırılması və ya ekspressiyası vizual stimulla və in vivo iki-foton mikroskopiyası ilə kombinasiyada vizual informasiyanın spesifik yönəlməsinə cavab verən neyronların populyasiyasının identifikasiyasında istifadə olunmuşdur (Şəkil 22-27).

Vahid təsir potensialı presinaptik sonluqda sinaptik qovucuqların təxminən 10%-nin eqzositozuna səbəb olur. Sinaptik qovucuqlar üçün unikal olan membran zülalı sonra spesifik olaraq, adətən başqa hüceyrə tipləri ilə başqa plazma membranı zülallarını bərpa edərkən istifadə edilən eyni tipli klatrinlə-örtülü qovucuqlar vasitəsilə endositoz yolu ilə daxilə mənimsənilir. Endositoz olunan qovucuqlar öz klatrin örtüklərini itirdikdən sonra onlar sürətlə neyroötürücülərlə doldurulur. Bir-çx neyronların saniyədə 50 dəfə cavab vermə qabiliyyəti qovucuq membran zülallarının yenidən istifadəsinin sürətlə bəş verməsinə aid təmiz sübutdur. Endositoz və eqzositoz mexanizmi yüksək dərəcədə konservativdir və Fəsil 14-də ətraflı müzakirə edilmişdir.

Kalsium-Birləşdirən Zülal Sinaptik Qovucuqların Plazma Membranı ilə Qovuşmasını Tənzimləyir

Sinaptik qovucuqların akson uclarında plazma membranı ilə qovuşması digər tənzimlənən ifrazat qovucuqlarının membrana

qovuşmasını həyata keçirən eyni tipli zülallar olan SNARE-lərdən və SM zülallardan (Sec1/Munc18-bənzər zülallar) asılıdır. Sinaptik qovucuqlarda əsas v-SNARE (VAMP) dörd spirallı SNARE kompleksini əmələ gətirmək üçün akson ucundakı plazma membranının əsas t-SNARE-ləri olan sintaksin və SNAP-25 ilə möhkəm şəkildə birləşir. SNARE kompleksinin toplanması sinaptik qovucuqların membranını presinaptik plazma membranının çox yaxınlığına gətirir, amma qovuşma məsələsinin əmələ gəlməsi əlavə pilləni, SM zülalının sintaksinlə assosiasiyasını tələb edir. Qovuşduqdan sonra, akson uclarında zülallar Şəkil 14-10-da verilmiş ifrazat qovucuqlarının qovuşmasında olduğu kimi, VAMP-ın t-SNARE-lərdən dissosiasiyasını təşviq edir.



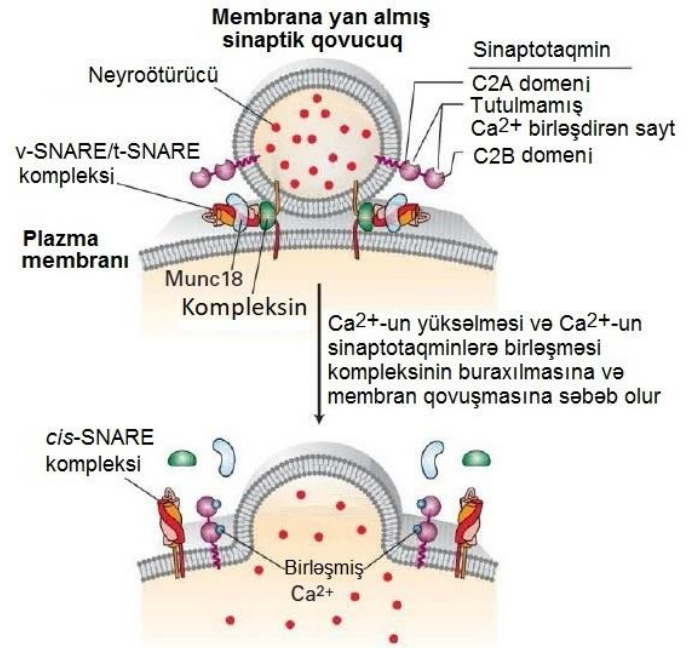
ŞƏKİL 22-27 Kalsium indikatorları neyron dövrlərində fəallığı vizuallaşdırmağa imkan verir. Genetik kodlaşdırılmış kalsium indikator siçanın vizual qabığında neyronlarda ekspressiya olundu. (a) Siçanın kəllə sümüyündə pəncərə (deşik) yaradılmışdır və mikroskop (nişanlanmış obyektiv linzası ilə) müxtəlif istiqamətlərdə hərəkət edən qəfəsə baxan siçanın görmə qabığında neyron populyasiyalarında kalsium keçiriciliyini müşahidə etmək üçün istifadə edildi. Kalsium indikatorunun fluorensensiyasının artması ilə görüntülənən kalsiumun miqdarının artması ilə aşkar edildiyi kimi, görmə qabığında fərdi neyronlar qəfəslərin spesifik istiqamətlərinə cavab verirlər. (b) Neyronlar kalsiumun artmasına səbəb olan orientasiyaya əsasən rənglə kodlaşdırılmışdır (aşağıdakı fotoda göstərilirdiyi kimi). Sarı rəngdə göstərilən neyronlar üfüqi hərəkət edən qəfəslərə cavab verirlər, abı (cyan) rəngdə göstərilən neyronlar isə şaquli hərəkət edən qəfəslərə cavab verirlər, amma yaşıl və qırmızı rənglərlə göstərilən neyronlar diaqonal üzrə hərəkət edən qəfəslərə cavab verirlər. Bu tip eksperiment aşkar edir ki, fərdi neyronlar görmə stimullunun xüsusi istiqamətlərinə sazlanırlar. [Photo Nature-nin razılığı ilə Chen, T. W., et al., "Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity," Nature, 2013, 499(7458):295–300-dən yenidən çap olunur; razılıq The Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]



Neyroötürücülərin eqzositozunda VAMP-ın roluna aid güclü dəlil qida ilə zəhərlənmə olan *botulizm* kimi xarakterik iflic və ölüm ilə nəticələnən bakterial zülal botulinum zəhərinin təsir mexanizmindən gəlir. Zəhər iki polipeptiddən ibarətdir. Onlardan biri motor neyrona birləşir, neyron əzələ hüceyrəsi ilə sinapslarında asetilxolin ifraz edir və digər polipeptidin, proteazanın aksion sonluğunda sitozola daxil olmasına imkan yaradır. Bu proteazanın doğradığı yeganə zülal VAMP zülaldır (bax Şəkil 22-26, piullə3). Botulinum proteazası aksion sonluğuna daxil olduqdan sonra, hələ lövbər (docked) etməmiş qovucuqlar plazma membranı ilə qovuşmaq qabiliyyətini dərhal itirirlər, çünki VAMP-ın doğranması SNARE komplekslərinin toplanmasına mane olur. Nəticədə asetilxolinin buraxılmasının blok olunması sinir-əzələ sinapslarında iflicə səbəb olur. Amma, artıq lövbər etmiş (docked) qovucuqlar zəhərə qarşı əhəmiyyətli dərəcədə dözümlülük nümayiş etdirirlər, bu göstərir ki, SNARE kompleksləri ola bilsin ki, artıq qismən toplanmışlar, qovucuqlar presinaptik membrana lövbər edəndə proteazaya-dözümlü vəziyyət alırlar. ■

Lövbər etmiş sinaptik qovucuqların eqzositozunu işə salan siqnal sitozolda qovucuqlar yaxınlığında Ca^{2+} qatılığının sakitlikdə olan hüceyrələrə xarakterik olan $0.1 \mu M$ -dan stimullaşmış hüceyrələrdə təsir potensialının gəlişindən sonra $1-100 \mu M$ qədər çox lokal yüksəlməsidir. Sitozol Ca^{2+} yüksəlməsindən sonra sinaptik qovucuqların presinaptik membranla qovuşma sürəti ($1 ms$ -dən az) göstərir ki, qovuşma mexanizm tamamilə sakitlik dövründə toplanır və sürətlə konformasiya dəyişikliyinə uğrayaraq neyroötürücünün buraxılmasına səbəb ola bilər (Şəkil 22-28). Sinaptik qovucuqların membranında yerləşən, *sinaptotaqmin* adlanan Ca^{2+} birləşdirən zülal, Ca^{2+} -a cavab olaraq eqzositozu işə salan qovucuq-qovuşması mexanizminin əsas komponentidir. Guman olunur ki, kompleksin adlanan zülal sinaptik qovucuqlarla plazma membranı arasında körpü əmələ gətirən toplanmış v-SNARE/t-SNARE kompleksinin α -spiral dəstinə birləşir, final qovuşma mərhələsinə mane olur. Ca^{2+} -un sinaptotaqminə birləşməsi bu inhibirləşməni azad edir, kompleksini buraxır və qovuşma prosesinin çox sürətlə baş verməsinə imkan yaradır. Sinaptotaqminin funksiyalarının müzakirə olunan mexanizmlər, Şəkil 22-28-də geniş qəbul olunmuş modeli təsvir edir.

Bir sıra dəlillər xətti neyroötürücülərin eqzositozunda sinaptotaqminin Ca^{2+} sensoru rolunu dəstəkləyir. Sinaptotaqmini itirilmiş mutant *Drosophila* və *C. elegans* yumurtadan çıxma bilmir və çox azalmış, koordinasiya olunmayan əzələ dartılmalarına malik olur. Sinaptotaqmində qismən funksiyanın-itirilməsi mutasiyalı süfrə sağ qalır, amma onların neyronları Ca^{2+} -la-stimullaşmış qovucuq eqzositozunda qüsurlu olur. Bundan əlavə, siçanda sinaptotaqmində onun Ca^{2+} -a olan affinliyini azaldan mutasiya müvafiq olaraq eqzositozu dərhal işə salmaq üçün tələb olunan sitozolda Ca^{2+} miqdarının artmasına səbəb olur. Məməlilər hər biri Ca^{2+} üçün fərqli birləşdirmə affinliyinə malik olan çoxsaylı fərqli sinaptotaqmin izoformalarını ekspressiya edirlər, ona görə də, eqzositozun kinetrikası neyronlarda ekspressiya olunan xüsusi bir sinaptotaqmin izoformasından asılı olur.



ŞƏKİL 22-28 Sinaptik qovucuqların plazma membranına sinaptotaqminlə-vasitələnən qovuşması. Yalnız bir neçə sinaptik qovucuq presinaptik plazma membranına lövbər edir, onlar plazma membranı ilə qovuşmaq üçün hazırlanmışdır. Sinaptik qovucuqlarla plazma membranı arasında sıx qarşılıqlı əlaqə qismən qovucuq v-SNARE və plazma membranı t-SNARE zülallarının kompleksindən törənmiş dörd α spiralın dəsti ilə həyata keçirilir (bax Şəkil 14-10). İki membranın qovuşmasına kompleksin zülalının v-SNARE/t-SNARE kompleksinə birləşməsi ilə mane olunur. Sinaptotaqmin intraluminal ardıcılıqdan, onu sinaptik qovucuq membranına lövbər edən tək bir transmembran α spiraldan ibarət olan linkerdən və C2A və C2B kimi adlanan iki Ca^{2+} -birləşdirən domendən təşkil olunmuşdur. Sinaptotaqmin ona birləşmiş iki Ca^{2+} olmadan da v-SNARE/t-SNARE kompleksinə birləşir və membran qovuşmasına mane olur. Ca^{2+} -un lokal yüksəlməsi Ca^{2+} ionlarının sinaptotaqminə birləşməsinə imkan yaradır, onun üç-ölçülü konformasiyasını dəyişir. Bu kompleksin qovuşma inhibitorunun buraxılmasına, sinaptotaqminin v-SNARE/t-SNARE kompleksinə birləşməsinə (dəyişilmiş birləşməsinə), membranın dərhal qovuşmasına və neyroötürücülərin hüceyrəxarici mühitə buraxılmasına səbəb olur. Sintaksinə birləşən Munc18 SM zülali SNARE-vasitəsilə həyata keçirilən qovuşma üçün tələb olunur, hərçənd ki, onun dəqiq fəaliyyət mexanizmi hələ tam məlum deyil. Bax T. Sudhof and J. Rothman, 2009, *Science* 323:474 və T. Sudhof, 2013, *Neuron* 80:675–690.

Sinaptik qovucuğun eqzositozunun əhəmiyyətli xüsusiyyəti onun sürətidir. Sinaptik qovucuğun qovuşması təsir potensialının gəlməsindən sonra bir-neçə yüz mikrosaniyə müddətində baş verir, bu Ca^{2+} ionlarının gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalı vasitəsilə daxilə axdığı zaman şkalasından çox da fərqlənir. Bu sürəti mümkün edən, buraxılma mexanizminin gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanallarının yaxınlığında olmasıdır. Bu yaxınlıq RIM (Ra3-lə qarşılıqlı təsirdə olan zülal) və RIM-BP (RIM birləşdirən zülal) adlanan və Rab3-saxlıyan sinaptik qovucuqlarla gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanallar arasında kompleksi əmələ gətirən iki skafolt zülalı vasitəsilə olur. RIM olmayan siçanda və RIM-BP olmayan milçəkdə fəal zonalarda gərginliklə-noizamlanan Ca^{2+} kanalları itir, bu da

neuroötürücülərin dramatik azalmasına və desinxronizasiyasına səbəb olur.

Dinamini Olmayan Milçək Mutantları Sinaptik Qovucuqları Təkrar İstifadə Edə bilmirlər

Sinaptik qovucuqlar əsasən akson sonluğunda plazma membranından endositoz tumurcuqlama yolu ilə yaranır. Endositoz adətən klatrinlə-örtülü çoxurları əhatə edir və kifayət qədər spesifik olur, belə ki, sinaptik qovucuqlar üçün unikal olan bir sıra membran zülalları (məsələn neuroötürücü daşıyıcılar) endositoz olunmuş qovucuqlara daxil olur, rezident plazma membran zülalları (məsələn, gərginlyə-həssas Ca^{2+} kanalları) isə orada olurlar. Bu münvalla, sinaptik-qovucuq membran zülalları istifadə oluna bilir və təkrar istifadə olunan qovucuqlar neuroötürücülərlə doldurula bilirlər (bax Şəkil 22-26, pillə 6).

Başqa klatrin/AP-örtüklü qovucuqların əmələ gəlməsində olduynu kimi endositoz olunmuş sinaptik qovucuqların qopub ayrılması GTP-birləşdirən zülal *dinamini* tələb edir (bax Şəkil 14-19). Həqiqətən də, milçəkdə dinamin zülalını kodlaşdıran *shibire* (*shi*) adlanan, temperatura həssas *Drosophila* mutantının analizi dinamin zülalının endositozda rolu barədə ilkin dəlilləri təmin etdi. 20 °C yolverilən temperaturda mutant milçəklər normal olurlar, amma 30 °C yolverilməyən temperaturda onlar iflic olurlar (“*shibire – shibire*” Yapon dilində iflic olmaq), çünki neyronlarda və başqa hüceyrələrdə klatrinlə-örtülü qovucuqların qopub ayrılması blok olunur. Elektyron mikroskopunda baxılarkən *shi* neyronlar 30 °C yolverilməyən temperaturda zəngin uzun boğaza malik olan klatrinlə-örtülü çoxurları göstərir, amma çox az klatrinlə-örtülü qovucuqlar müşahidə olunur. Yolverilməyən temperaturda *shi* mutantlarında sinir uclarının görünməsi hidroliz olunmayan GTP analoqunun iştirakı ilə inkubasiya olunan normal neyronların uclarına oxşar olmuşdur (bax Şəkil 14-20). Yeni sinaptik qovucuqların qopub ayrılması mümkün olmadığından, milçəklər yolverilməyən temperatura keçiriləndə *shi* mutantların neyronlarında sinaptik qovucuqlar tədricən sonda tükənmiş vəziyyət alır, sinaptik siqnalların verilməsi dayanır və iflic olunur.

Neuroötürücülərin Parçalanması və ya Geriyə Alınması ilə Sinapslarda Siqnal Ötürülməsi Dayandırılır

Neuroötürücülər presinaptik hüceyrələrdən buraxıldıqdan sonra, postsinaptik hüceyrələrin fasiləsiz şəkildə stimullaşmasına mane olmaq üçün onlar ya uzaqlaşdırılmalı ya da dağıdılmalıdır. Siqnal verilməsi ötürücünün sinaptik yarıqlardan diffuziya edib uzaqlaşdırılması yolu ilə dayandırıla bilər, amma bu zəif gedən prosesdir. Əvəzində, neuroötürücülərin fəaliyyəti sinapsların çoxunda iki sürətli mexanizmdən biri ilə dayandırılır.

Asetilxolinlə siqnal verilməsi onun sinaptik yarıqlarda yerləşən ferment *asetilxolinesteraza* ilə asetata və xolinə hidroliz olunmasıyla dayandırılır. Bu reaksiyada buraxılan xolin Na^+ /xolin transporter vasitəsi ilə geriye, presinaptik akson ucuna daşınır və asetilxolinin sintezində istifadə olunur. Bu transporterin əməliyyat prosesi qlükozanın qatılıq qradienti əksinə hüceyrə daxilində daşınmasında istifadə edilən Na^+ -əlaqəli simporterlərin əməliyyatı (bax Şəkil 11-26) ilə oxşardır.

Asetilxolin istisna olmaqla Şəkil 22-25-də göstərilən bütün neuroötürücülər sinaptik yarıqdan uzaqlaşdırılaraq geriye, onları buraxan akson ucluğuna daşınırlar. Beləliklə, bu neuroötürücülər Şəkil 22-26-da (pillə 5) göstəriləni kimi, toxunulmaz şəkildə təkrar istifadəyə gedirlər. GABA, norepinefrin, dopamin və serotonin üçün transporterlər ilk klonlaşdırılan və tədqiq olunanlardır. Bu dörd transporter zülalin hamısı Na^+ -əlaqəli simporterlərdir. Onlar aminturşu ardıcılığına görə 60-70 faiz identikliyə malikdirlər və guman olunur ki, hər biri 12 transmembran α spirala malikdir. Başqa Na^+ simporterlərlə olduğu kimi, Na^+ -un elektrokimyəvi qradientinin azalan iustiqamətində hüceyrə daxilində daşınması neuroötürücülərin yuxarıya doğru daşınması üçün enerjini təmin edir. Elektroneytrallığı saxlamaq üçün Cl^- çox zaman ion kanalları vasitəsilə Na^+ və neuroötürücülərlə yanaşı daşınır.



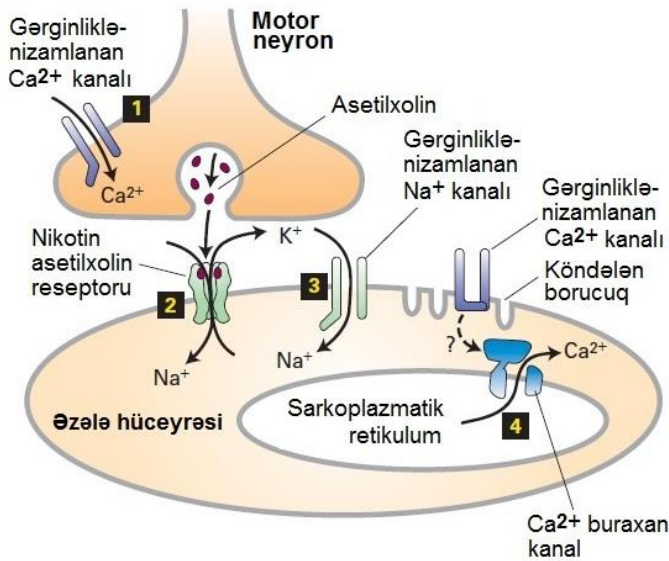
Neuroötürücü daşıyıcıları müxtəlif narkotik və psixiatryada istifadə olunan müalicə dərmanlarının hədəfidirlər. Kokain norepinefrinin, serotoninin və dopaminin daşıyıcılarına birləşib onları ingibirləşdirir. Xüsusilə də kokainin dopamin daşıyıcısına birləşməsi dopaminin yenidən geriye sorulmasını ingibirləşdirir, dopaminin normadan-yuxarı qatılığının yaranıb sinaptik yarıqlarda qalmasına və postsinaptik neyronların stimullaşmasının uzanmasına səbəb olur. Kokainin təsirinə uzun müddət məruz qalma vərdişkarların istifadə etdiyi kimi, dopamin reseptorun azalan-tənzimlənməsinə və beləliklə dopaminergik siqnal ötürülməsinin tənzimlənməsinin dəyişməsinə səbəb olur. Belə guman olunur ki, xronik kokain istifadəsindən sonra dopaminergik siqnal ötürülməsinin azalması depressiv əhvalı pozuntulara səbəb olur və əhəmiyyətli beyin **istək (reward)** dövrlərini kokainin gücləndirici təsirlərinə həssaslandıraraq, asılılığa gətirib çıxarır. Buna oxşar olaraq, antidepressant dərman fluoksetin (Prozas) və imipramin kimi müalicə vasitələri serotoninin geriye axmasının qarşısını alır, tritsiklik antidepressant desipramin isə norepinefrinin geriye sorulmasının qarşısını alır. Nəticədə bu dərmanlar sinaptik yarıqlarda neuroötürücülərin normadan yüksək qatılığının yaranmasına və postsinaptik neyronların uzunmüddətli stimullaşmasına səbəb olur. Fluoksetin və buna oxşar təsirə malik olan paroksetin (Paksil) və sertralin (Zoloft) kimi dərmanlar ümumilikdə selektiv serotonin sorulmasının ingibitorları (selective serotonin reuptake inhibitors –SSRI-lər) hesab edirlər. ■

Asetilxolinlə-Nizamlanan Kation Kanallarının Açılması Əzələ Dartılmasına Səbəb Olur

Bu bölmədə biz, nümunə kimi motor neyronlarla əzələlər arasındakı əlaqəni (kommunikasiyanı) istifadə edərək neuroötürücülərin postsinaptik hüceyrələrdə reseptotla birləşməsinin hüceyrə membranının potensialının dəyişməsinə necə səbəb olmasına baxırıq. Sinir-əzələ qovşaqları adlanan bu sinapslarda asetilxolin neuroötürücüdür. Qurbanın motor neyronunun tək akson sonluğu hər biri 1000-10000 molekul asetilxolinə malik olan milyon və ya daha artıq sinaptik qovucuğa malikdir, bu qovucuqlar çox zaman fəal zonada çərgələrdə toplanırlar (bax Şəkil 22-23 və 22-24). Belə neyron

tək bir sümük əzələ hüceyrəsi ilə bir-neçə yüz nöqtədə sinapslar əmələ gətirir.

Əzələ hüceyrələrində ekspressiya olunan nikotin asetilxolin reseptoru Na^+ və K^+ -un hər ikisini qəbul edən liqandla-nizamlanan kanaldır. Bu reseptorlar beyin neyronlarında da istehsal olunur və öyrənmədə və yaddaşda əhəmiyyətli rol oynayır, bu reseptorların itirilməsi şizofreniyada, epilepsiyada, narkotikadan suiistifadədə və Alzheimer kimi xəstəliklərdə müşahidə olunur. Asetilxolinə qarşı anticism **myasteniya qravis** xəstəliyi zamanı autoimmun reaktivliyinin əsas hissəsini təşkil edir. Reseptor ona görə belə adlandırılır ki, o nikotinə bağlıdır və siqaret çəkənlərdə nikotindən asılılıqla əlaqəlidir. Reseptorun müxtəlif xassələrinə görə fərqlənən homo- və heteropentamerlərdə toplanmış ən azı 14 müxtəlif izoforması vardır. Çoxsaylı fizioloji funksiyalarına və xəstəliklərdəki rollarına görə bu müxtəlif izoformalar yeni dərmanların yaradılması üçün əhəmiyyətli hədəfdirlər. ■

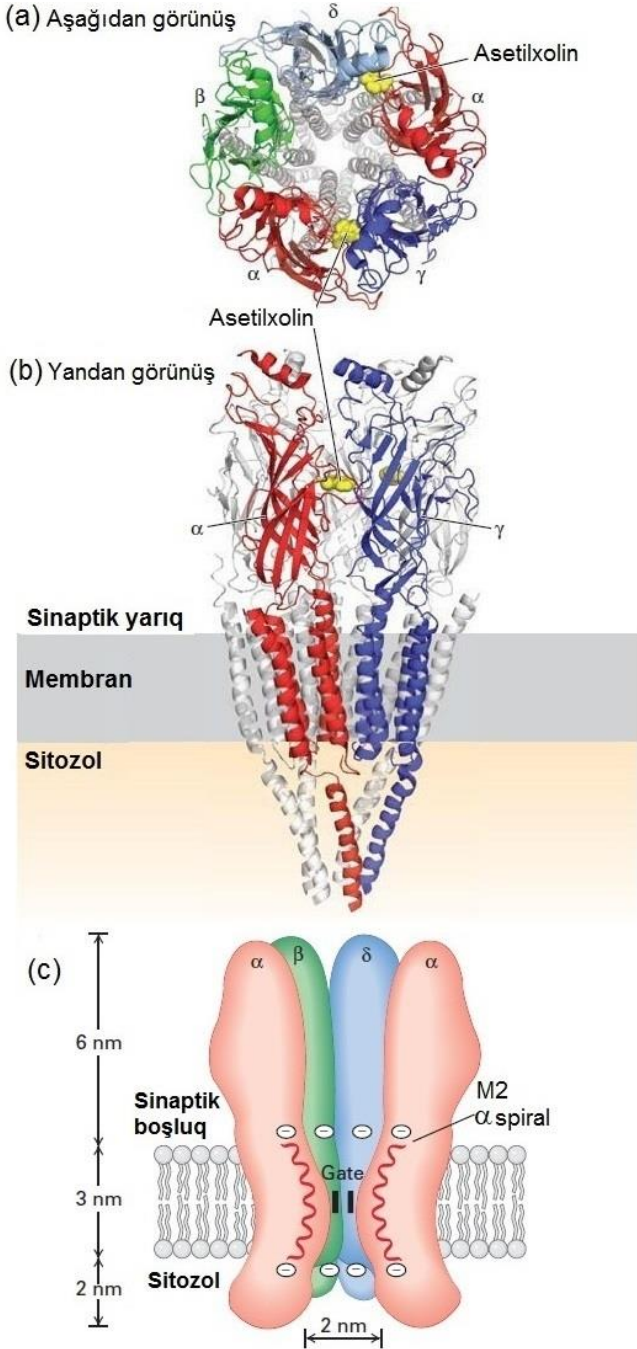


ŞƏKİL 22-29 Sinir-əzələ qovşaqlarında nizamlanan ion kanallarının ardıcıl fəallaşması. Təsir potensialının presinaptik motor neyronlarının uclarına gəlməsi neyronda gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanallarının açılmasını induksiya edir (pillə 1) və ardınca asetilxolinin buraxılmasına səbəb olur, o isə əzələ plazma membranında liqandla-nizamlanan asetilxolin reseptorunun açılmasına (pillə 2) səbəb olur. Açıq reseptor kanalı əzələ hüceyrələrində Na^+ ionlarının daxilə, K^+ ionlarının isə xaricə axmasına imkan verir. Na^+ ionlarının daxilə axması membranda lokal depolyarlaşmanı əmələ gətirir, gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasına səbəb olur və təsir potensialının yaradır (pillə 3). Yayılan depolyarlaşma köndələn borucuqlara çatanda plazma membranındakı gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları onu hiss edir. Məlum olmayan mexanizmlə (? ilə işarələnir) bu kanallar qapalı qalırlar, amma sarkoplazmatik şəbəkə membranlarındakı (əzələlərdə membranla-birləşmiş kompartiment şəbəkəsi) Ca^{2+} kanallarına təsir edir və ehtiyat Ca^{2+} ionlarını sitozola buraxır (pillə 4). Nəticədə Ca^{2+} ionlarının sitozolda qalxması Fəsil 17-də müzakirə olunan mexanizmlə əzələ dartılmasına səbəb olur.

Asetilxolinin bu reseptora təsiri əzələ plazmatik membranının təcrid edilmiş xarici-yamaq hissələrində yamaqsıxac qeydləri ilə təyin edilə bilər. Xarici yamaqsıxac yazılma təcrid edilmiş yamaq daxilində hüceyrəxarici məhlulların kanal reseptorlarına təsirini ölçən metoddur (bax Şəkil 11-22c). Belə ölçmələr göstərdi ki, asetilxolin bir millisaniyədə 15000-30000 Na^+ və K^+ ionlarını ötürmə qabiliyyətinə malik olan reseptorlarda kation kanalının açılmasına səbəb olur. Amma, əzələ plazma membranının sakitlikdə olan potensialı kaliumun tarazlıq potensialı $E_{\text{K-ə}}$ yaxın olduğundan asetilxolin reseptor kanallarının açılması K^+ ionlarının kənara axmasının bir az artmasına səbəb olur, digər tərəfdən Na^+ ionları Na^+ elektrokimyəvi qradientin fəaliyyəti ilə əzələ hüceyrəsi daxilinə axır.

Asetilxolinin birləşməsinin ardınca Na^+ və K^+ keçiriciliyinin eyni vaxtda artması sakitlikdə olan əzələlərdə -85 -dən -90 mV-dək olan potensialdan -15 mV-dək olan xalis depolyarlaşmanı yaradır. Şəkil 22-29-da göstərilədiyi kimi, əzələ plazma membranının belə lokal depolyarlaşması gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılmasını işə salır, əvvəllər neyronlar üçün təsvir olunan eyni mexanizmlə əzələ hüceyrəsinin səth membranında təsir potensialının yaranmasına və keçirilməsinə səbəb olur. Membranın depolyarlaşması plazma membranının xüsusi invaqinasiyasına, köndələn (eninə) borucuqlara çatdıqda (bax Şəkil 17-33), o plazma membranındakı Ca^{2+} kanallarına onların açılmasına səbəb olmadan təsir edir. Bu işə öz növbəsində yaxınlıqda sarkoplazmatik şəbəkə membranında olan Ca^{2+} buraxan kanalların açılmasına səbəb olur. Nəticədə Ca^{2+} ionlarının sarkoplazmatik şəbəkədən sitozola axması Ca^{2+} qatılığını əzələ dartılmalarını induksiya etməyə kifayət edən qədər yüksəldir.

Xolinergik motor neyronu ilə sinapslarda əzələ membranlarında membran potensialının diqqətli şəkildə monitorinqi motor neyronlarının stimullaşması olmadan spontan, növbələnən və təsadüfi ~ 2 -ms 0.5 – 1.0 mV qədər depolyarlaşmanı nümayiş etdirdi. Bu depolyarlaşmaların hər birinə neyronda tək bir sinaptik qovucuqdan buraxılan asetilxolin səbəb olur. Həqiqətən də, belə kiçik spontan depolyarlaşmanın nümayiş etdirilməsi asetilxolinin kvant buraxılması anlayışına (sonralar başqa neyroütürüclərə tətbiq olundu) səbəb oldu və bununla da sinapslarda qovucuqların ekzositozu hipotezinə gətirib çıxardı. Bir asetilxolin-saxlayan sinaptik qovucuqun buraxılması postsinaptik membranda 3000-ə qədər ion kanallarının açılması ilə nəticələnir, bu da təsir potensialını induksiya etmək üçün tələb olunan başlanğıc depolyarlaşmadan çox az saydadır. Aydınır ki, əzələ dartılmasının motor neyronlarla stimullaşması asetilxolinin təxminən eyni zamanda çox sayda sinaptik qovucuqlardan buraxılmasını tələb edir.



ŞƏKİL 22-30 Nikotin asetilxolin reseptorun üçölçülü quruluşu. *Torpedo* nikotin asetilxolin reseptorun (a) sinaptik yarıqlarda və (b) membran müstəvisinə paralel (b) görünən üç-ölçülü molekulyar quruluşu. Aydınlıq üçün (b)-də yalnız iki ön subvahid, α və γ vurğulanır (rənglər: α qırmızı, β yaşıl, γ mavi, δ açıq mavi). İki asetilxolin-birləşdirən mərkəz, membran səthindən təxminən 3 nm məsafədə yerləşir və sarı rənglə işarələnir, (b) panelində $\alpha\gamma$ arüzündə yalnız biri göstərilir. (c) Membranda pentamer reseptorun sxematik kəsilmiş modeli. Hər bir subvahidin dörd membrana-sarınan α spirali vardır, M1–M4; M2 α spiral (qırmızı) mərkəzi məsəməyə baxır. Aspartat və qlutamat yan zəncirləri M2 spiralın hər bir ucunda biri yerləşməklə mənfi yüklərin iki halqasını əmələ gətirirlər, anionların kanaldan uzaqlaşdırılmasına kationların isə cəzb olunmasına kömək edirlər. Asetilxolinin birləşməsi ilə açılan qapı məsəmə daxilində yerləşir. [Verilənlər N. Unwin, 2005, *J. Mol. Biol.* **346**:967–989, PDB ID 2bg9-dən.]

Nikotin Asetilxolin Reseptorun Bütün Beş Subvahidi İon Kanallarına Öz Təhəsinə Verir

Çox sinir-əzələ sinapslarında tapılmış həyacanlandırıcı nikotin asetilxolin reseptoru ilk təmizlənmiş, klonlaşdırılmış və molekulyar səviyyədə xarakterizə olunmuş liqandla-nizamlanan ion kanalıdır və digər neyroötürücülərlə-nizamlanan ion kanalları üçün paradigmi təmin edir. Skelet əzələlərinin asetilxolin reseptoru $\alpha_2\beta\gamma\delta$ subvahidlərdən ibarət olan pentamer zülaldır. Bu dörd müxtəlif subvahid tipləri bir-biri ilə əhəmiyyətli dərəcədə ardıcılıq homologiyasına malikdirlər, orta hesabla istənilən iki subvahiddə 35-40 faizi qalıq oxşardır, bu da göstərir ki, onların hamısı eyni əcdad gəndən törəmişlər. Tam reseptor beş-bükülmüş simmetriyaya malikdir və əsil ion kanalı beş subvahidin hər birinin homoloji seqmentlərinin ördüyü mərkəzi məsəmədə birləşmişdir (Şəkil 22-30). Reseptor iki asetilxolin molekulunu Şəkil 22-30a-da göstəriləndiyi kimi, $\alpha\delta$ və $\alpha\gamma$ subvahidlərinin arüzündə (interfeysində) kooperativ şəkildə birləşdirəndə kanal açılır. Asetilxolin reseptora birləşdikdən sonra, kanal bir-neçə mikrosaniyə ərzində açılır. Reseptorun müxtəlif kiçik kationlara olan keçiriciliyini ölçən tədqiqatlar göstərir ki, açıq ion kanalları elektron mikrofotusu hesablamalarına əsasən ən dar açılan yerində təxminən 0.65-0.80 nm diametrdə olur. Bu kifayət edir ki, Na^+ və K^+ ionları birləşmiş su molekullarının əmələ gətirdiyi qabıqla keçə bilsinlər.

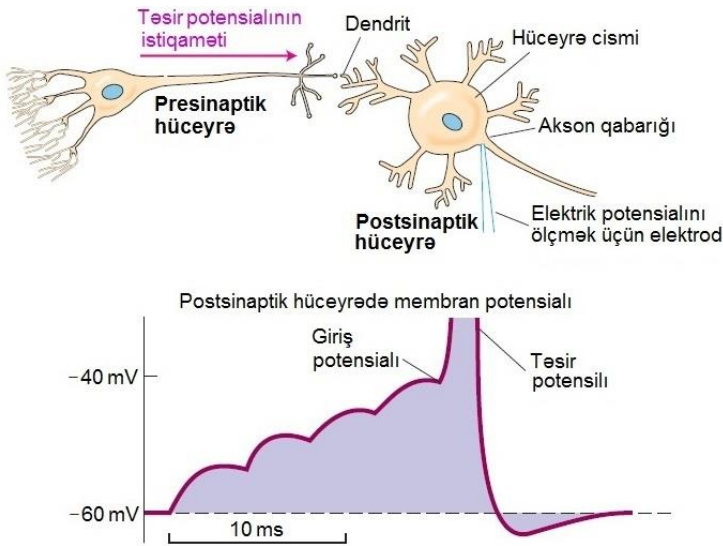
Biz neyroötürücülərin və onların reseptorlarının necə işləməsinin çox gözəl nümunəsi kimi sinir-əzələ qovşaqlarını müzakirə etdik. Asetilxolin kimi, onurğalılarda beyninin əsas neyroötürücüsü qlutamat iki əsas tip reseptordan istifadə edir. Bunlardan bir sinif, ionotropik qlutamat reseptorları liqandla-nizamlanan kanallardır, qlutamatın birləşməsinə cavab olaraq K^+ və Na^+ ionlarının və bəzən də Ca^{2+} ionlarının axmasına imkan verir və AChR ilə eyni prinsiplərlə işləyir. Qlutamat həmçinin ikinci sinif reseptorlarla, G-zülallarla cütləşən reseptorlarla birləşir. Biz bu fəslin sonlarında belə G-zülallarla cütləşən reseptorların (GPCR) və ion kanallarının necə bir sıra sensor sinir hüceyrələrini fəallaşdıran *qoxu* və *dad* reseptoru kimi fəaliyyət göstərməsini görəcəyik. Bütün neyroötürücü reseptorları, ion kanallarını və beyində fəaliyyət göstərən digər siqnal zülallarını əhatə etmək üçün bundan çox-çox böyük kitab tələb olunur.

Sinir Hüceyrələri Təsir potensialını Yaratmaq Üçün Hamısı-və-ya-Heçbiri Qərarı Üçün Çox Girişi Birləşdirir

Sinir-əzələ qovşaqlarında virtual olaraq postsinaptik motor neyronlarındakı hər bir təsir potensialı əzələ lifləri boyunca yayılmış postsinaptok əzələ hüceyrələrində təsir potensialını işə salır. Neyronlar arasında, xüsusən də beyində olan neyronlar arasındakı sinapslarda vəziyyət daha da mürəkkəbdir, çünki postsinaptik neyronlar çox vaxt çoxsaylı presinaptik neyronlardan gələn siqnalı qəbul edirlər. Presinaptik neyronlardan buraxılan neyroötürücülər postsinaptik neyronlarda *həyacanlandırıcı reseptorlara* birləşə bilər, bununla da Na^+ ionlarını və ya Na^+ və K^+ ionlarının hər ikisini qəbul edə bilən kanalı açır. Yenicə müzakirə olunmuş asetilxolin və qlutamat reseptorları həyacanlandırıcı reseptorlara nümunədir və belə ion kanallarının açılması postsinaptik plazma

membranın depolyarlaşmasına səbəb olur, təsir potensialının yaranmasını təşviq edir. Əksinə, neyroötürücünün postsinaptik hüceyrələrdə *ingibitor reseptora* birləşməsi K^+ və ya Cl^- kanalının açılmasına səbəb olur, əlavə K^+ ionlarının sitozoldan xaricə axmasına və ya Cl^- ionlarının daxilə axmasına gətirib çıxarır. Hər iki halda ion axını plazma membranını hiperpolyarlaşmağa meyilli edir, postsinaptik hüceyrələrdə təsir potensialının yaranmasını ingibirləşdirir.

Tək bir neyrona eyni zamanda çoxsaylı həyacanlandırıcı və ingibirləşdirici sinapslardan gələn siqnallar təsir edə bilər. Neyron fasiləsiz şəkildə bu siqnalları inteqrasiya edir və təsir potensialının yaranmasının lazım olub olmadığını təyin edir. Bu prosesdə sinapslarda yaranan müxtəlif kiçik depolyarlaşmalar və hiperpolyarlaşmalar plazma membranı boyu dendritlərdən hüceyrə cisminə doğru və sonra akson qabarığına doğru hərəkət edir və orada bir yerə cəmlənirlər. Hər dəfə təsir potensialı yarandıqda akson qabarığında membran müəyyən gərginliyə qədər depolyarlanmış olur, bu müxtəlif neyronlar üçün müxtəlif ola bilər və *hədd potensialı* (*threshold potential*) adlanır (Şəkil 22-31). Beləliklə təsir potensialı hamısı-və-ya-heçbiri (**all-or-nothing**) formasında yaranır: həddə qədər depolyarlaşma həmişə təsir potensialına aparır, halbuki hədd potensialına çatmayan istənilən depolyarlaşma onu heç zaman induksiya etmir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 22-31 Postsinaptik neyronda təsir potensialını işə salmaq üçün daxil olan siqnallar hədd potensialına çatmalıdır. Bu nümunədə, presinaptik neyron təxminən hər 4 ms-də bir təsir potensialını yaradır. Hər bir təsir potensialının gəlib çatması sinapslarda postsinaptik neyronların akson qabarığında membran potensialında kiçik dəyişilməyə, bu nümunədə ~5 mV depolyarlaşmaya səbəb olur. Çoxsaylı stimullar bu postsinaptik hüceyrənin membranında hədd potensialına qədər, burada təxminən 40 mV qədər depolyarlaşmaya səbəb olduqda təsir potensialı induksiya olunur.

Akson qabarığında neyronun təsir potensialını yaradıb-yaratmaması zamandan, amplituda tarazlığından və onun qəbul etdiyi bütün müxtəlif girişlərdən asılıdır, bu siqnal hesablanması

hər bir neyron tipi üçün fərqlənir. Bir mənada, hər bir neyron kiçik bir analogdan-rəqəmsala olan kompüterdir, onun membranında bütün reseptor fəallaşmasını və elektrik pozuntularını ortalayır (analoq) və təsir potensialını işə salıb akson boyu ötürülməsinin lazım olub-olmamasını qərara alır (rəqəmsal). Təsir potensialı xüsusi bir neyronda həmişə eyni *qiymətə* malik olur. Qeyd etdiyimiz kimi, xüsusi bir neyronda fəaliyyət potensiallarının yaranma *tezliyi* onun başqa hüceyrələrə siqnal ötürmə qabiliyyətinin çox əhəmiyyətli parametridir.

Boşluq Qovşağı Neyronlar Arasında və Qlia Arasında Birbaşa Əlaqəyə İmkan Verir

Neyroötürücləri istifadə edən kimyəvi sinapslar yüksək sürətlə birtərəfli kommunikasiya yaratmağa imkan verir. Amma, bəzi hallarda siqnal hüceyrədən hüceyrəyə kimyəvi sinapsların müdaxiləsi olmadan elektrik yolu ilə keçir (Fəsil 20). Boşluq qovşağın birləşməsinin təsiri qovşaq hüceyrələrinin fəaliyyətini çox gözəl koordinasiya edir. Adətən elektrik sinapslar ikiistiqamətli olur, istənilən bir neyron digərini həyacanlandırır. Məsələn, elektrik sinapslar neokorteks və talamus üçün ümumi halıdır. Elektrik sinapslarının əsas xüsusiyyəti onların sürətidir. Belə ki, siqnal kimyəvi sinapsları 0.5-5.0 ms-yə keçdiyi halda, elektrik siqnalının keçməsi demək olar ki, bir anda, millisaniyənin kiçik bir fraksiyasında baş verir, çünki hüceyrələr arasında sitoplazma fasiləsiz davam edəndir. Bundan başqa presinaptik hüceyrələrin (siqnal yollayan hüceyrələr) postsinaptik hüceyrədə təsir potensialının yaranmasına səbəb olacaq həddə çatması məcburi deyil. Əvəzində, istənilən elektrik cərəyanı növbəti hüceyrəyə uzanır və cərəyana mütənasib olan depolyarlaşmanı yaradır.

Boşluq qovşaqlar qlial hüceyrələr arasında və eləcə də neyronlar arasında yaranır. Beyində astrositlər bir-biri ilə boşluq qovşaqlarla birləşir, beyində astrositlərin şəbəkəsi ilə $1\mu\text{m/saniyə}$ sürəti ilə yayılan Ca^{2+} dalğalarının yaranmasına səbəb olur. Boşluq qovşaqlar həmçinin fərdi Şvann hüceyrələri daxilində formalaşır, tək Şvann hüceyrəsinin əmələ gətirdiyi myelin qatlar arasında əlaqəni yaradır. Bu boşluq qovşaqlar guman olunur ki, myelin təbəqələr arasında metabolitlərin və ionların keçməsinə şərait yaradır.

Elektrik sinapsların hər biri hər hüceyrədə biri olmaqla iki yarımkanaldan ibarət olan minlərlə açılıb-qapanan kanallara malik ola bilər. Neyronlarda boşluq qovşaq kanalları ənənəvi boşluq qovşaqlara oxşar quruluşa malikdir (bax Şəkil 20-20). Hər bir yarımkanal konneksin zülalının altı nüxsəsinin toplanmasından yaranmışdır. Məməlilərdə 20-qədər konneksin geni olduğundan kanalların quruluşundakı və funksiyasındakı müxtəliflik fərqli zülal komponentlərindən meydana gəlir. 1.6–2.0 nm-lik kanal özü 1000 Da qədər ölçüdə olan molekulların diffuziyasına imkan yaradır və bütün ionların keçirilməsində çətinlik yaratmır.

22.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Sinapslarda Kommunikasiya

- Sinapslar presinaptik hüceyrə ilə postsinaptik hüceyrə arasındakı qovşaqlardır və neyronlar arasındakı kommunikasiya mərkəzidir (saytıdır) (bax Şəkil 22-3).
- Sinapsın formalaşması presinaptik akson kompartimentləri ilə postsinaptik dentrit kompartimentləri arasındakı qarşılıqlı təsir ilə həyata keçirilir. Hüceyrə-adgeziyası molekulları hüceyrələri düzlənmiş şəkildə saxlayır. Neyro-əzələ qovşaqlarında motor neyronlar postsinaptik əzələ plazma membranında formalaşan akson sonluğu yaxınlığında asetilxolin reseptorunun toplanmasını induksiya edir (bax Şəkil 22-23).
- Presinaptik hüceyrələrdə aşağı-molekul-çəkili neyroötürücülər (məsələn, asetilxolin, dopamin, epinefrin) H⁺-əlaqəli antiporterlərlə sitozoldan sinaptik qovucuqlara import olunur. V-sınıf proton nasosu neyroötürücüləri qatılıq qradientinin əksinə doğru apararaq qovucuqdaxili aşağı pH-ı saxlayır.
- Neyroötürücülər (bax Şəkil 22-25) presinaptik hüceyrələrin akson sonluğunda yüzdən minə qədər sinaptik qovucuqlarda saxlanılır (bax Şəkil 22-23). Təsir potensialı ora gəlib çatanda gərginləşmə-həssas Ca²⁺ kanalları açılır və kalsium sinaptik qovucuqların plazma membranı ilə qovuşmasına imkan yaradır, neyroötürücü molekullarını sinapslara buraxır (bax Şəkil 22-26, pillə 4).
- Neyroötürücü sinapslardan diffuziya edir və postsinaptik hüceyrələrdə reseptora birləşir, bu neyron və ya əzələ hüceyrələri ola bilər. Bu cürə kimyəvi sinapslar biristiqamətlidir (bax Şəkil 22-23).
- Sinaptik qovucuqlar SNARE-lər və SM zülalları da daxil olmaqla eqzositoz üçün standard olan hüceyrə mexanizmindən istifadə edərək plazma membranı ilə qovuşurlar. Sinaptotaqmin zülalı qovuşmaya səbəb olan kalsiumun təsir potensialının stimullaşdırılmış artmasını aşkar edən kalsium sensordur (bax Şəkil 22-28). RIM və RIM-BP gərginliklə-nizamlanan Ca²⁺ kanallarını buraxılma (release) mexanizminə bağlayır və təsir potensialı ilə neyroötürücünün buraxılması arasında birləşməni təmin edir.
- Neyroötürücünün presinaptik hüceyrələrdən buraxılmasının ardınca qovucuqlar endositoz yolu ilə yenidən formalaşır və yenidən istifadəyə qoşulur (bax Şəkil 22-26, pillə 6).
- Dinamin endositoz zülalı yeni sinaptik qovucuqların yaranması üçün, xüsusilə də birtişik qovucuqların “qopub ayrılması” üçün kritik əhəmiyyətlidir.
- Motor neyronların və eninə-zolaqlı əzələ hüceyrələrinin sinapslarında dörd nizamlanan ion kanalının koordinasiya olunan fəaliyyəti akson sonluğunda asetilxolinin buraxılmasına, əzələ membranlarının depolyarlaşmasına, təsir potensialının yaranmasına və ardınca əzələ dartılmasına səbəb olur (bax Şəkil 22-29).
- Liqandla-nizamlanan kation kanalı olan nikotin asetilxolin reseptoru beş subvahiddən təşkil olunub, bunların hər birinin kanalı daxildən örtən transmembran α spirali (M2) var (bax Şəkil 22-30).
- Neyroötürücü reseptorlar iki sinifə bölünür: liqandla-nizamlanan ion kanalları, açıq olarkən ionların keçməsinə imkan verir və G zülallarla-cütləşən reseptorlar, bunlar başqa ion kanalları ilə əlaqəli olurlar.

- Postsinaptik neyron təsir potensialını yalnız akson qabarığında plazma membranı çoxsaylı neyronal reseptorların fəallaşması nəticəsində əmələ gələn kiçik depolyarlaşma və hiperpolyarlaşmaların cəmlənməsi ilə hədd potensialına qədər depolyarlaşdıqda yaradır, (bax Şəkil 22-31).
- Elektrik sinapsları neyronlarla qlia arasında birbaşa boşluqlu qovşaqlardır. Neyroötürücüləri istifadə edən kimyəvi sinapslardan fərqli olaraq elektrik sinapsları siqnal ötürülməsində həddən çox sürətlidir və adətən ikiistiqamətlidir.

22.4 Ətrafın Hiss Olunması: Toxunmaq, Ağrı, Dad və Qoxu

Bizim bədənimiz ətraf mühitdən fasiləsiz şəkildə dayanmadan işıq, səs, qoxu, dad, mexaniki stimullaşma, istilik və soyuq kimi siqnalları alır və bu siqnalların qəbul edilməsi bizim beynimiz tərəfindən həyata keçirilir. Son illərdə bizim hissiyatımızın xarici dünyanın təsəvvürünü necə qəbul etməsinin və beyinin bu məlumatı necə işləməsinin anlaşılmasında dramatik tərəqqi əldə edilmişdir. Məsələn, Fəsil 15-də biz insan gözünün torlu qişasında iki tip fotoreseptorun (*rod*-ların) birinin fəaliyyətini analiz etmişdik, və öyrəndik ki, onlar vizual stimullaşmanın əsas qəbuledicisi kimi fəaliyyət göstərirlər. Rod-lar ay işığı kimi zəif işıq da daxil olmaqla, böyük sırada dalğa uzunluqları ilə stimullaşdıqları halda digər fotoreseptorlar, *kon* (*cone*) rəngli görünüşü həyata keçirirlər. Bu fotoreseptorlar fotoreseptor hüceyrələrinin müxtəlif kombinasiyaları ilə innervasiya edilən interneyron qatının üzərindəki qatlara sinaps edirlər. Bu siqnallar və beyinin *görmə qabığı* adlanan hissəsində işlənilir və interpretasiya olunur, burada bu sinir impulsları ətrafımızdakı təsvirlərə keçirilir.

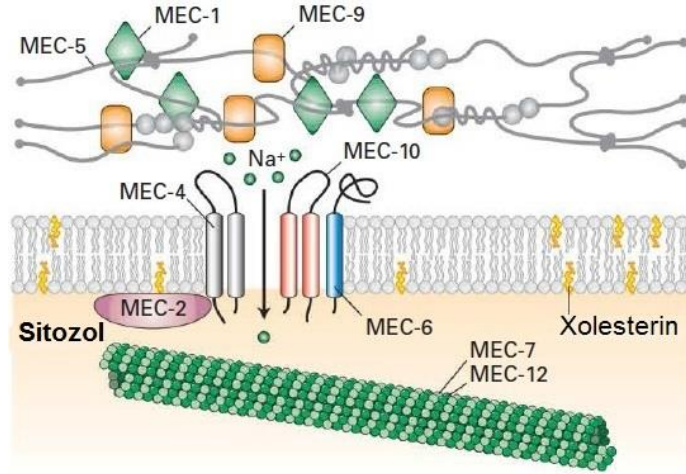
Bu bölmədə biz molekulyar və hüceyrə mexanizmlərini və bizim toxunmaq və ağrı, dad və qoxu kimi bir sıra başqa hissiyatlarımızın əsasında duran sinir hüceyrələrini müzakirə edirik. Biz iki böyük sinif reseptorun – ion kanallarının və G zülallarla cütləşən reseptorların – bu hissiyat proseslərində necə fəaliyyət göstərdiklərini görürük. Görmə qabiliyyətində olduğu kimi, çoxsaylı interneyronlar bu sensor hüceyrələrini beyinlə əlaqələndirir, burada ötürülən siqnallar ətrafın qavranmasına çevrilir. Ümumiyyətlə, biz hələ də tam anlamırıq ki, bu neyronal subsistemlər necə əlaqələnilir, hərçənd ki, optogenetikanın yeni texnologiyası bu sxemlərin xəritələşdirilməsi üçün yeni yollar açır. Qoxu zamanı hər bir sensor neyronu tək bir odorant reseptoru ekspressiya edir və biz görəcəyik ki, eyni reseptoru ekspressiya edən çoxsaylı sensor neyronları eyni beyin mərkəzlərini necə fəallaşdırır. Odorant birləşmə və beyinin qəbulu arasındakı bağlanma birbaşadır və kifayət qədər yaxşı anlaşılmışdır.

Mexanoreseptorlar Nizamlanan Kation Kanallarıdır

Bizim dərimiz, xüsusilə də barmaqlarımızın dərisi sensor məlumatlarının toplanması üçün yüksək dərəcədə ixtisaslaşmışdır. Bizim bütün bədənimiz, faktiki olaraq, onun müxtəlif toxumalarında yerləşmiş çoxsaylı mexanosensörlərə malikdir. Bu sensorlar bizi çox zaman toxunmalardan, bizim

oynaqlarımızın və ya başımızın hərəkətindən və mövqeyindən (proprioepsiya), ağrı və temperaturadan xəbərdar edir, hərçənd ki, biz çox hallarda daxil olanlara fikir vermədən baş verən dövrləri yaşayırıq. Məməlilər toxunmaq, temperatur və ağrılar haqqında məlumatı vermək üçün müxtəlif reseptor hüceyrələri dəstindən istifadə edirlər. Bu mexanosensor reseptorlar dorsal (arxa) kök qanqlion hüceyrələri adlanan bipolyar sensor neyronların uclarında yerləşir. Dorsal kök qanqlion hüceyrələrin hüceyrə cismi dorsal kök qanqlionunda onurğa sütununa yaxın yerləşir və neyronlar periferial şaxələrə ayrılan aksonları uzadır, onlar isə dəriyə innervasiya edir və mexanosensor reseptorlara malik olurlar, onurğa beyninə və ya beyin sütununa uzanan mərkəzi şaxə isə sensor siqnallarını işlənmək (emal etmək) üçün ötürür.

Çox mexanosensor reseptorlar Na^+ və ya $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kanallarıdır və spesifik stimula qarşı qapanır və ya açılırlar, belə reseptorların fəallaşması Na^+ ionlarının və ya Na^+ və Ca^{2+} ionlarının hər ikisinin daxilə axmasına səbəb olur və membranın depolyarlaşmasına gətirib çıxarır. Bunlara nümunə kimi hüceyrə membranının dartılması ilə fəallaşan dartılma və toxunma reseptorlarını göstərmək olar, bunlar onurğalılarda əzələ və epitel hüceyrələrindən başlayaraq maya, bitki və hətta bakteriyalara qədər geniş hüceyrə sıralarında identifikasiya olunmuşlar.



ŞƏKİL 22-32 C. elegans-da MEC-4 toxunma-reseptoru kompleksi. İstənilən MEC genində mutasiyalar qurdun incə bədən toxunmasına qarşı cavabı zəiflədə və ya yox edə bilər. MEC-4 və MEC-10 zülalları Na^+ kanallarının məsamə-əmələgətirən subvahidləridir, MEC-2 və MEC-6 isə kanalın fəallığını mümkün etmək üçün lazım olan zülallardır. Mexanosignal ötürülmə MEC-5, kollagen izoforma və çoxsaylı EGF təkrarlara malik olan MEC-1 və MEC-9-dan ibarət olan xüsusi hüceyrəxarici matrisanı da tələb edir. MEC-7 və MEC-12 15-protofilament üzərində formalaşan tubulin monomerləridir və hər ki zülal necə də olsa toxunma həssaslığı üçün tələb olunurlar. Bax E. Lumpkin, K. Marshall, and A. Nelson, 2010, *J. Cell Biol.* 191:237.

Toxunma reseptorlarını kodlaşdıran genlərin klonlaşdırılması incə bədən toxunmasına həssas olan *Caenorhabditis elegans*-in mutant ştammlarının ayrılması ilə

başlandı. Mutasiyaların ayrıldığı üç gen– MEC4, MEC6 və MEC10–toxunma-reseptor hüceyrələrində Na^+ -kanalının üç subvahidini kodlaşdırır. Bu genlərində mutasiya olan qurdun tədqiqatları göstərdi ki, bu kanallar incə bədən toxunmalarının siqnal ötürülməsi üçün lazımdır. Biofiziki tədqiqatlar göstərdi ki, bu kanallar görünür birbaşa mexaniki stimullaşmaya cavab olaraq açılır (Şəkil 22-32). Toxunmaya-həssas komplekslər toxunmanın hiss olunması üçün bir sıra başqa zülallara da, o cümlədən sitozoldakı yeni 15-protofilament mikroborucuqların subvahidlərinə və hüceyrəxarici matrisada spesifik zülallara da malikdirlər, amma bunların kanalın funksiyasında necə iştirak etmələri hələ tam aydın deyil. Oxşar kanallar ibtidai eukariotlarda və bakteriyalarda da tapılmışdır, membran dartılmasına cavab olaraq açılmaqla bu kanallar konstant (sabit) hüceyrə həcmnin osmotik tənzimlənməsində və nəzarətində rol oynaya bilirlər.

Ağrı Reseptorları da Tənzimlənən Kation Kanallarıdır

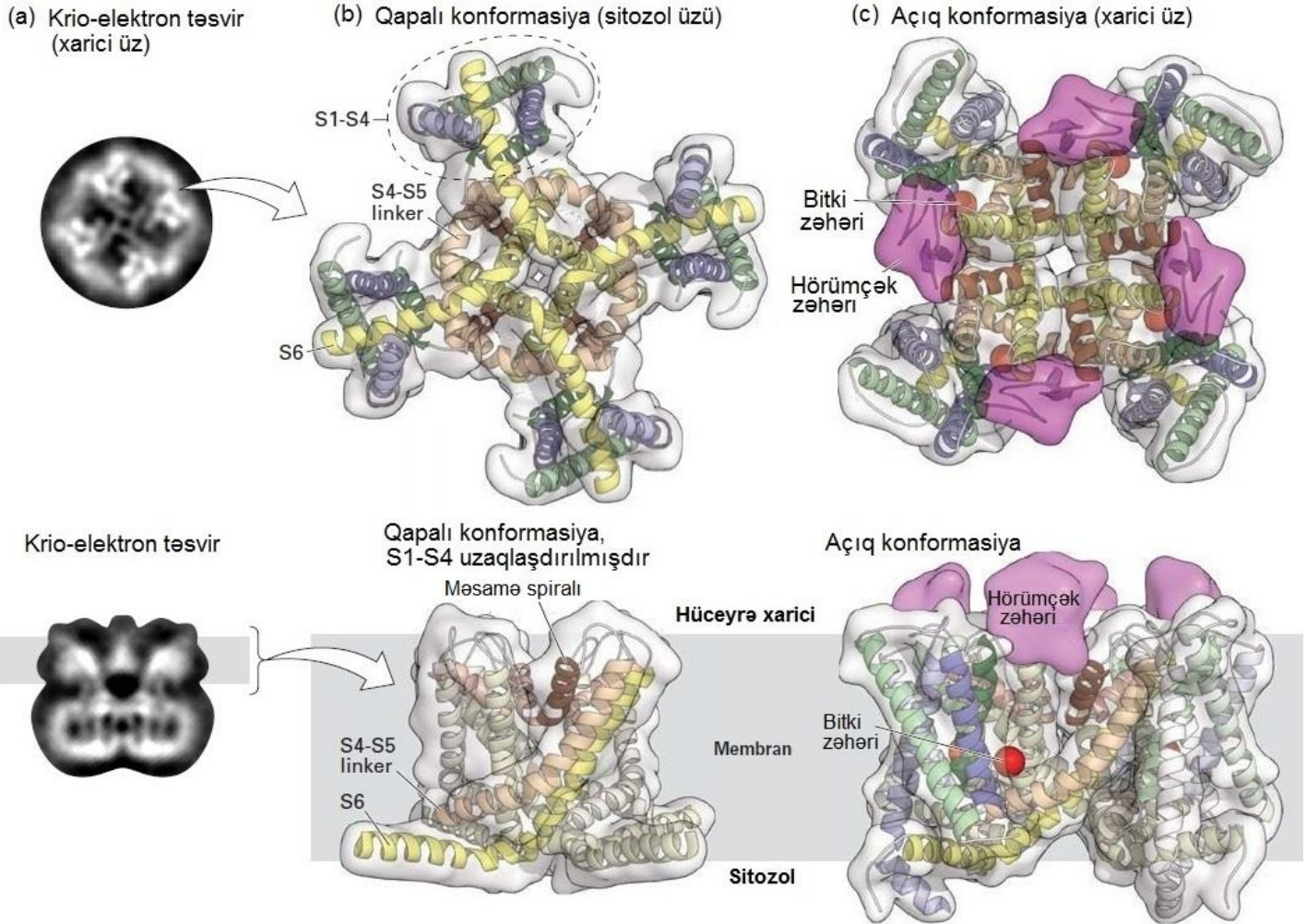
İlbizlər və insanlar qədər geniş müxtəliflikdə olan canlılar zərərli hadisələri hiss edirlər (nosisepsiya adlanan hadisə), nosiseptorlar adlanan ağrı reseptorları mexaniki dəyişikliyə, istiliyə və bəzi zəhərli kimyəvi maddələrə cavab verirlər. Ağrı bizi yaralanmanı əmələ gətirən toxuma zədələnməsi kimi hadisələrdən xəbərdarlıq edir və toxumanın sağlamlığını təşviq edən davranışları doğurur. Toxuma yaralanmasına qarşı fəal cavab ağrı ümumi bir haldır və çox fərdlər xroniki ağrılardan əziyyət çəkirlər. Beləliklə, həm kəskin həm də xroniki ağrıların anlaşılması, ağrıya qarşı müalicə kimi yeni dərman tiplərinin yaradılması üçün əsas tədqiqat məqsədidir.

Məməlilərin ilk klonlaşdırılmış və identifikasiya olunmuş ağrı reseptoru periferial sinir sisteminin ağrı neyron sensorlarında tapılmış $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kanalı olan TRPV1-dir və geniş müxtəliflikdə exogen və endogen fiziki və kimyəvi stimullarla fəallaşır. TRPV1-in çox yaxşı məlum olan aktivatorları 43°C-dən yuxarı istilik, turş pH və şirin bibəri acı edən kapsaisin molekuludur. TRPV1 reseptorların fəallaşması ağrıya, yandırıcı hissiyata gətirib çıxarır. Çoxsaylı TRPV1 antaqonistlər ağrıya qarşı mümkün olan müalicə vasitəsi kimi farmakoloji kompaniyalar tərəfindən yaradılmışdır. Amma onun, bədən temperaturunun qalxması ilə nəticələnən əsas yan effekti bu dərmanların istifadəsini məhdudlaşdırır. Bu göstərir ki, TRPV1-in “normal” funksiyası hiss etmək və bədən temperaturunu tənzimləməkdir və dərman bu funksiyanı ingibirləşdirir.

Son zamanların mühüm bir tədqiqatında alimlər siçovulun TRPV1 kanalının qapalı konfigurasiyada və biri kapsasinə birləşmiş digəri isə biri bitkidən, biri də hörmüçək zəhərindən olan iki potent TRPV1 aktivatora birləşmiş iki açıq konfigurasiyada yüksək rezolyusiyalı (0.34 nm) modelini əldə etmək üçün təkrar elektron mikroskopiyasından (krio EM, bax Fəsil 3) istifadə etdilər. Şəkil 22-23-də göstərilirdiyi kimi, bu tədqiqatlar aşkar etdi ki, TRPV1 kanalının quruluşu gərginliklə-nizamlanan kanalların quruluşuna oxşardır (bax Şəkil 22-13), hər biri altı transmembran spiraldan (S1-S6) təşkil olunmuş dörd simmetrik subvahiddən ibarətdir. Amma, gərginliklə-nizamlanan ion kanallarında gərginlik sensoru kimi fəaliyyət göstərən S1-S4-dəki yüklü amin turşuları TRPV1-də aromatik qalıqlarla əvəz olunmuşdur. Bu əvəzlənmə kanalın əsas özəyini elə stabiləşdirir ki, depolyarlaşma zamanı gərginlik sensoru

kimi hərəkət etmək əvəzinə TRPV S1-S4 spirallar məsamə daxilində liqand birləşməsi ilə təşviq olunan hərəkət üçün lövbəri təmin edir. Məsamə zonasında iki daralma və ya qapı qeyd olunmuşdur. Kanalin hüceyrəxarici səthində, məsamə spiralına yaxın hörümçək zəhəri (toksini) birləşmiş və kanalın

hüceyrəxarici açıq ucunu qapayır. Kapsaisin və bitki zəhəri (toksini) məsamənin sitoplazmatik ucu istiqamətində membran daxilindəki sayta birləşmişdir, və birləşməklə məsamənin diametrini böyüdür. Bu kəşflər göstərir ki, TRPV kanalı ikiqat açılıb-qapanmaya (nizamlanmaya) məruz qalır.



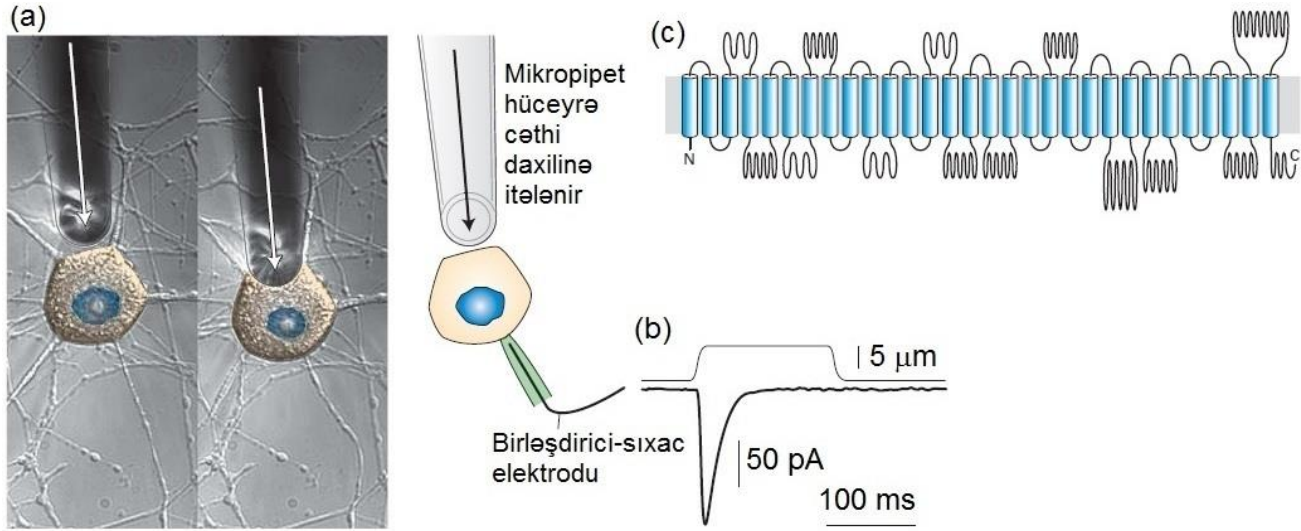
ŞƏKİL 22-33 TRPV1 kanalının tək-zərrəcikli krioelektron mikroskopiyaya ilə yüksək rezolyusiyalı quruluşu. TRPV1 kanalının yüksək rezolyusiyalı quruluşu 0.34 nm rezolyusiyada tək-zərrəcikli krioelektron mikroskopiyaya ilə alınmışdır. (a) Tetramer TRPV1 kanalının şüşəvari buza batmış iki-ölçülü quruluşunun mikrofotosu, kanalın öz görünüşü yuxarı pəndədə, yandan görünüşü isə aşağı pəndədədir. (b, yuxarıda) Kanalın aşağı görünüşünün S1-S4 transmembran domenlərdə cəmlənmiş lent diaqramı və S5 və S6-nın əlaqələndirici məsamə (pore P) ilgəkləri ilə birlikdə əmələ gətirdiyi məsamə domeni. S1-S4 domenlər quruluşuna görə gərginliklə-nizamlanan K^+ və Na^+ kanallarındaki gərginliyi-hiss edən domenlərə oxşardır (bax Şəkil 22-14), amma onlar hərəkət etməmələrinə görə fərqlənirlər. (b, aşağıda) Kanalın qapanmış konformasiyada S5-P-S6 ilə əmələ gələn məsamə domeninə yönəlmiş yandan görünüşünün lent diaqramı. (c) Kanalın açıq konformasiyası iki aqonistlə, hörümçək zəhəri (bənövşəyi anilin)

və bitki zəhəri (qırmızı) ilə inkubasiya etməklə stabiləşdirilmişdir. Krioelektron sıxlıq xəritəsi aşkar edir ki, hörümçək zəhəri (bənövşəyi anilin) kanalın xarici domeninə birləşir, kanalın onun iki subvahidini onların sistein-düyün qlöbuliyar domeni vasitəsilə bir yerə bağlayır, amma bitki zəhəri (qırmızı) məsamə daxilində dərinlikdəki rayona birləşir. Kapsaisin də bitki zəhəri kimi eyni sayta birləşir (göstərilmiş). Aqonistlərin iki fərqli sayta birləşməsi göstərir ki, TRPV1 kanal ikiqat nizamlanandır və kanalın funksiyasının əhəmiyyətli dərəcədə modullaşmasına imkan verir. [(a) hissəsi Nature-nin razılığı ilə Liao, M., "Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy," *Nature*, 2013, **504**:107-112-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. tərəfindən alınmışdır. (b) hissəsi M. Liao, et al., 2013, *Nature* **504**:107-112, PDB ID 3j5p -dən. (c) hissəsi E. Cao, et al., 2013, *Nature* **504**:113-118, PDB ID 3j5q -dən.]

2010-cu ildə mexaniki stimulu birbaşa ötürən *Piezo1* və *Piezo2* (Yunan sözü “*piesi*”-dən olub “təzyiq” deməkdir) adlandırılan iki kanal aşkar edildi. Hər ikisi dörd eyni (identik) subvahiddən təşkil olunmuş, böyük selektiv-kation kanalını əmələ gətirir, hər bir subvahidin 30-dan artıq membrana sarıyan domenləri molekulyar çəkisi 1.2 milyona qədər olan və 120-dən 160-a qədər transmembran seqmentən ibarət olan kanalı yaradırlar. *Piezo1* və *Piezo2*-nin ekspresiyası bu hüceyrələrdə mexanohəssas-kation axınını induksiya edir. Bunu, hüceyrə kulturasında kanalı ekspresiya etməklə və hüceyrəni şüşə pipetka ilə sancmaqla induksiya olunan dartınmaya cavabını monitor etmək üçün kalsium təsviretmədən istifadə etməklə yoxlanıla bilər (Şəkil 22-34). Siçanda dorsal kök duyğu (sensor) neyronlarında *Piezo2*-nin ekspresiyasında reduksiya olunma onların mexanohəssaslığını azaltmış, *Drosophila melanogaster*-də tək *Piezo* homoloqunun nokautu milçəkdə zərərli mexaniki stimula qarşı ciddi azalmış davranış cavabları ilə nəticələnmişdir. Bu eksperimentlər birlikdə göstərir ki, *Piezo* kanalları mexaniki siqnal ötürülməsini həyata keçirirlər.

Dad Məməciklərinin Hüceyrələr Yarımqrupunda Beş Əsas Dadı Duyulur

Biz çox kimyəvi maddələri dadırıq, bunların hamısı tüpürcəkdə üzən hidrofily və qeyri uçucu molekullardır. Bütün dadlar dilin bütün səthində duyulur, selektiv hüceyrələr müəyyən dadlara üstünlüklə cavab verirlər. Başqa duyğularda olduğu kimi, dad bilmə duyğusu da, görünür heyvanların sağ qalması üçün yaranıb inkişaf etmişdir. Əksər zəhərli maddələr acı və ya turş dad verir, qida məhsulları da molekullara parçalanaraq şirin (məsələn, şəkərlər), duzlu və ya umami (natrium qlutamatın və ya başqa amin turşularının ətli və ya xoşməzə dadı) dadını verir. Heyvanlar (insanlar da daxil olmaqla) heç vaxt tam əmin ola bilmirlər ki, onların ağızına nə daxil olub, amma dad hissiyyatı onlara imkan verir ki, onun yeyilməsi və ya çıxarılıb atılması barədə cəld qərara gəlsinlər. Dad qoxuya nisbətən sinir sistemindən daha az tələb edir, çünki yalnız çox az molekulyar tipləri ekranlaşdırılır. Dad təcübləndirici dərəcədə həssasdır, acı molekullar 10^{-12} M qədər aşağı qatılıq səviyyəsində aşkar edilə bilər.



ŞƏKİL 22-34 Piezo kanalları mexanotransduserlərdir

(mexanoçeviricilər). (a) Mexaniki məlumatı çevirən kanalları təyin etmək üçün transmembran zülalları kodlaşdıran kDNT-lər heteroloq hüceyrələrdə ekspresiya olundular və şüşə pipetkalar vasitəsilə mexaniki perturbasiya (qıcıqlandırmaya) qarşı cavab yamaq sıxac yazılmalarla (göstərilir) və ya kalsium təsviretmə ilə (göstərilir) təyin edildi. (b) *Piezo1* və ya *Piezo2* kDNT-ləri kultura olunan hüceyrələrdə ekspresiya olunduqda, hüceyrəyə şüşə pipetka ilə toxunanda güclü

daxili cərəyanı yaradır. (c) *Piezo1* və 2 homotetramer kation kanallarını əmələ gətirirlər. Hər bir subvahid həddən artıq böyük olub 2000-dən artıq amin turşusu qalıqından ibarətdir və 30-dan artıq transmembran domenlərə malikdir. Beləliklə tam toplanmış kanal 120-dən artıq membrana sarıyan domenlərdən ibarətdir və 1.2 milyon dalton (təxminən ribosomun kiçik subvahidinin kütləsinə bərabər) kütləyə malikdir! [Foto nəzakətlə Ardem Patapoutaian tərəfindən.]

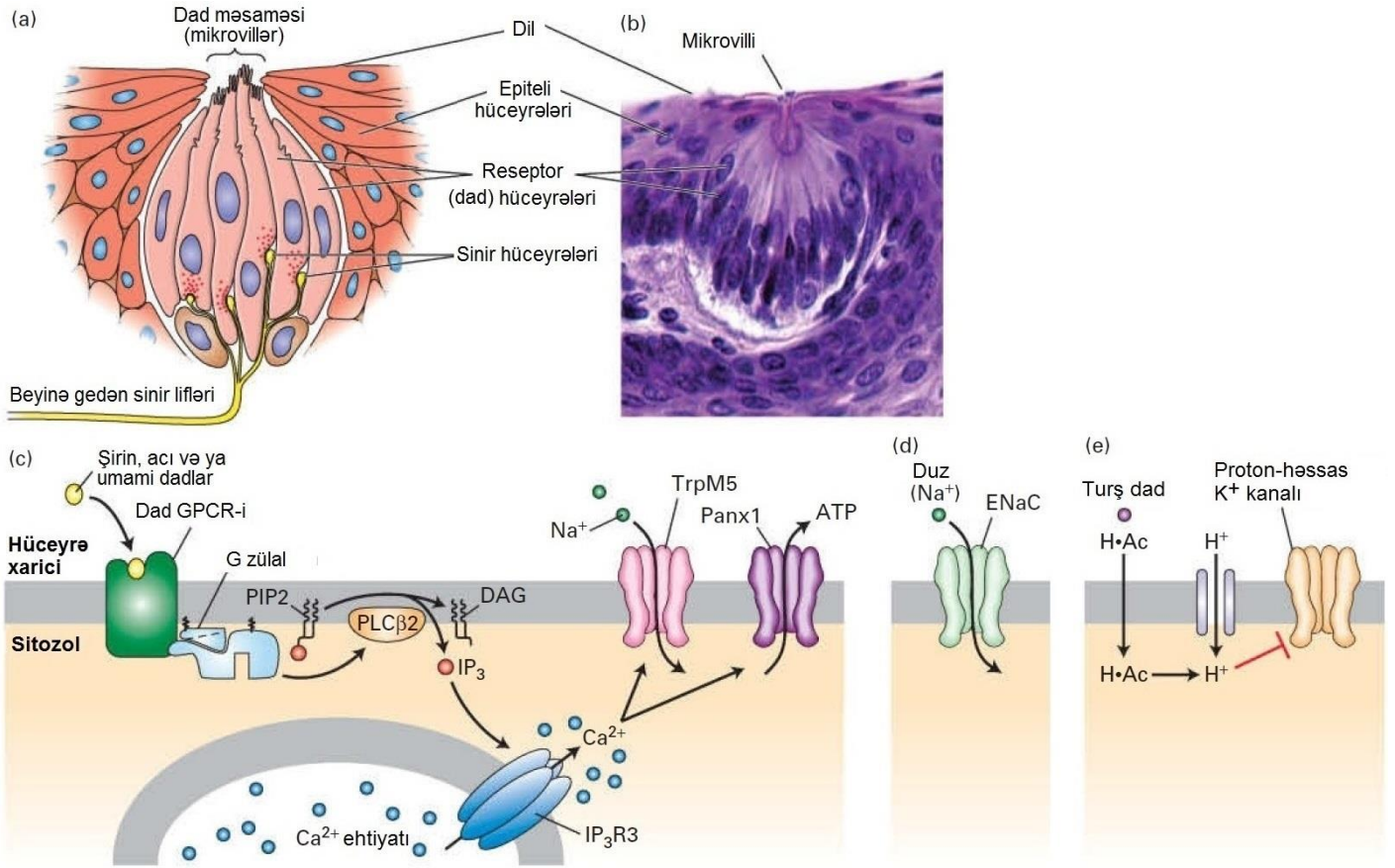
Dilin bütün hissələrində duzlu, şirin, turş, umami (xoşməzə) və acı dadlar üçün reseptorlar vardır. Reseptorlar iki müxtəlif tipdə olurlar: duzlu və turş dadlar üçün kanal zülalları və şirinlik, məzəlilik və acılıq üçün yeddi-transmembran-domenli zülallar (G zülallarla cütləşən reseptorlar). Dad məməciklərində yağ turşularını aşkar etmək üçün xüsusi membran reseptorları vardır, ona görə də yağların dadının alınması altıncı dad keyfiyyəti hesab edilə bilər.

Dad məməcikləri dildəki papilla adlanan qabarıqlarda yerləşirlər, hər bir məməcik məsaməyə malikdir və bunun içərisi ilə maye məhlul daxilə daşır. Hər bir dad məməciyi təxminən 50-100 dad hüceyrəsinə malikdir (Şəkil 22-35a, b), bunlar bəzi neyron funksiyalarını yerinə yetirən epitel hüceyrələridir. Dad hüceyrələrinin apikal ucunda mikrovillilər *dad reseptorlarını* daşıyırlar, ağız boşluğundakı xarici mühitlə birbaşa təmasda olub qanla daşınan molekulların geniş fluktasiyasına və eləcə də mövcud olan potensial zərərli birləşmələrin təsirinə məruz

qalırlar. Dildəki və ağızın başqa hissələrindəki hüceyrələr fasiləsiz şəkildə sürtünmələrə və yaralanmalara məruz qalır və dad məməcik hüceyrələri fasiləsiz şəkildə altı yerləşən epitel tərəfindən hüceyrə bölünməsi yolu ilə əvəz olunurlar. (Siçovulda dad məməciklərinin ömürü 10 gün təşkil edir.)

Dad siqnalının qəbul olunması təsir potensialını işə salan hüceyrə depolyarlaşmasına səbəb olur, bunlar isə öz növbəsində gərginlikdən-asılı olan Ca^{2+} kanalları vasitəsilə Ca^{2+} sorulmasına neyrotransmitterlərin buraxılmasına səbəb olur (Şəkil 22-35c-e). Dad hüceyrələri aksonları əmələ gətirmirlər, əvəzində onlar qısa məsafələrdə yaxınlıqdakı neyronlara siqnal göndərir. Bu neyronlar dad haqqında informasiyanı çoxsaylı əlaqələrlə beyin qabığındakı *insula* adlanan ixtisaslaşmış rayona

ötürür. İnsulanın şirin dad reseptoru ilə müqayisədə duzlu dad reseptorunun fəallaşdığı necə təyin etməsini öyrənmək üçün alimlər siçanda xüsusi dadı təqdim edildikdən sonra insulanın iki-foton təsvirini (Fəsil 4) həyata keçirdilər. Onlar fəallaşmış neyronları aşkar etmək üçün kalsium indikatorlardan istifadə etdilər və bu yolla fluoressensiyanın kalsiumdan-asılı olan artması ilə böyük sayda neyronların fəallaşmasını ekranlaşdırma bildilər. Bu eksperimentlər aşkar etdi ki, dadlardan dördü – şirin, acı, umami (məzə) və duzluluq ayrıca, insula daxilində üst-üstə düşməyən rayonlarda təmsil olunurlar, bununla da onlar beynimizdə dadbilməni həyata keçirən qustotopik xəritənin mövcud olmasını nümayiş etdirdilər.



ŞƏKİL 22-35 Dadın hiss edilməsi. (a) Məməlilərin dad məməciklərində dad hüceyrələri (pink) sinir hüceyrələrinə (sarı) bağlıdır. Yuxarıda görüldüyü kimi, kimyəvi siqnallar mikrovillərə çatır. (b) Məməlilərin dad məməciyinin mikrofotosu reseptor hüceyrələrini göstərir. Mikrovillər dad məməciyinin yuxarisında çətinliklə görünür, nişanlanma ilə göstərilir. (c) Şirin, acı və umami liqandları II tip reseptor hüceyrələrində ekspressiya olunan spesifik dad GPCR-ları ilə birləşir, sitozolda Ca^{2+} səviyyəsini qaldıran fosfoinozidit yolunu fəallaşdırır. Ca^{2+} öz növbəsində Ca^{2+} -la nizamlanan TrpM5 Na^{+} kanalını açır, Na^{+} daxilə axmasına və membranin depolyarlaşmasına gətirib çıxarır. Ca^{2+} səviyyəsinin qalxması və membran depolyarlaşmasının birlikdə təsiri Panx1 kimi adlanan qeyri adi membran kanalının çox böyük məsamələrinin açılmasına səbəb olur, nəticədə ATP və ya digər siqnal molekulları hüceyrəxarici mühitə buraxılır. ATP və bu digər molekullar sinir hüceyrələrini stimullaşdırır, o isə sonda məlumatı

beyinə çatdırır. (d) Duz Na^{+} ionlarının membran ion kanalları vasitəsilə, o cümlədən ENaC kanalı vasitəsi ilə birbaşa keçməsi, plazma membranının birbaşa depolyarlaşdırması ilə aşkar edilir. (e) Aasetat turşusu kimi üzvi turşular protonlaşmış ($H\cdot Ac$) formada plazma membranından diffuziya edərək keçirlər və anion və protona dissosiasiya edərək sitozolu turşulaşdırırlar. HCl kimi güclü turşuların daxil olması turşuluğu hiss edən hüceyrələrin apikal membranındakı proton kanalı vasitəsilə asanlaşdırılır, protonun sitozola çatmasını mümkün edir. Guman edilir ki, hüceyrədaxili H^{+} protona-həssas K^{+} kanallarını blok edir (hələ də identifikasiya edilməmişdir) və beləliklə membranı depolyarlaşdırır. Gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları açılır, sitozolda kalsiumun səviyyəsinin artmasına səbəb olur, o isə burada göstərilməyən sinaptik qovucuqların eqzositozunu işə salır. Bax N. Chaudhari and S. D. Roper, 2010, *J. Cell Biol.* **190**:285; və S. Frings, 2010, *PNAS* **107**:21955. [(b) hissəsi Ed Reschke/Photo Library/Getty Images.]

Acı dad Acı dadlar müxtəlifdir və T2R-lər kimi məlum olan təxminən 25-30 müxtəlif G zülallarla cütləşən reseptorlarla (GPCR) aşkar edilir. Şəkil 22-35c-də göstəriləyi kimi, bütün bu GPCR-lər yalnız dad hüceyrələrində ekspressiya olunan qustodusin adlanan xüsusi G α izoformasını fəallaşdırır. Amma o hər yerdə mövcud olan heterotrimer G zülal G $\beta\gamma$ subvahidlərindən ayrılır və fosfodiesterazanın spesifik izoforması C β ilə birləşib onu fəallaşdırır, o isə öz növbəsində IP $_3$ yaradır. IP $_3$ Ca $^{2+}$ -un endoplazmatik şəbəkədən buraxılmasına səbəb olur (bax Şəkil 15-34). Ca $^{2+}$ öz növbəsində Ca $^{2+}$ -ilə nizamlanan Na $^+$ kanalı TRPM5 ilə birləşib onu açır, bir sıra TRP ailəsinə aid olan ion kanalları Na $^+$ ionlarının daxilə axmasına və membran depolyarlaşmasına səbəb olur. Ca $^{2+}$ -un yüksəlməsinin və membran depolyarlaşmasının birlikdə təsiri Panx1 adlanan membran kannalının böyük məsamələrinin açılmasına səbəb olur, nəticədə ATP və yəqin ki, başqa siqnal molekulları hüceyrəxarici boşluğa buraxılır. Guman olunur ki, sonra ATP sinir hüceyrələrini stimullaşdırır, o sığ sonda dad haqqında məlumatı beyinə daşıyır.

Fərqli acı dad molekulları quruluşlarına görə kifayət qədər fərqlidirlər, bu da yəqin ki, müxtəlif T2R-lər ailəsinə olan ehtiyacı izah edir. Bəzi T2R-lər yalnız 2-4 acı-dadlı komponentləri birləşdirə bildiyi halda, başqaları geniş müxtəliflikdə acı dad birləşmələrini birləşdirə bilirlər. T2R ailəsinin identifikasiya olunmuş ilk nümayəndəsi insanın genetik tədqiqatları zamanı olmuşdur, əhəmiyyətli acılıq-aşkar edən genin 5-ci xromosomda mövcud olması göstərilmişdir. T2R zülalında beş amin turşusu fərqi olan T2R5 zülalına malik olan siçan tsikloheksimidin (zülal sintezinin inhibitoru, bax Cədvəl 4-1) acı dadını hiss edə bilmir. Çoxsaylı T2R tipləri çox hallarda eyi dadbilmə hüceyrələrində ekspressiya olunur və bütün dad hüceyrələrinin təxminən 15 faizə qədəri T2R-ləri ekspressiya edirlər.

T2R zülallarının rolunu nümayiş etdirmək üçün dramatik gen tənzimləmə dəyişdirmə eksperimentləri həyata keçirilmişdir. Normal halda siçanı cəlb edən şirin dadları hiss edən hüceyrələrdə acı-dad reseptoru T2R zülalı ekspressiya edən siçan yaradılmışdır. Siçan acı dada güclü cazibə ilə inkişaf etmişdir, yəqin ona görə ki, hətta acı dadları hiss etdikləri halda belə hüceyrələr dayanmadan fasiləsiz olaraq “get və onu ye” siqnalını yollayırdılar. Bu eksperiment nümayiş etdirdi ki, dad hüceyrələrinin spesifikliyi hüceyrələrin özlərində təyin edilir və onların göndərdikləri siqnallar bu sinifə aid olan hüceyrələrin əmələ gətirdikləri sinir birləşmələrinə uyğun olaraq interpretasiya olunur. Bu onu göstərir ki, T2R ekspressiya edən şirin dad reseptorları insulanın “şirin” dad siqnallarını qəbul edən rayonuna bağlanmışdır, ona görə də şirin dadı təmsil edirlər.

Şirin və umami dadlar Şirin və umami dadlar T2R-lərə yaxın olan T1R-lər adlanan reseptorlar ailəsi tərəfindən aşkar edilir və fosfoinozidit siqnal yolu vasitəsi ilə ötürülür. Məməlilərin üç T1R-ləri başqalarından az sayda amin turşularına görə fərqlənirlər. T1R-lər zülalın dad-birləşdirən domenini əmələ gətirən çox böyük hüceyrəxarici domenə malikdirlər. Dad-hiss edən qlutamat reseptorunda hüceyrəxarici domen qlutamat ətrafında Venus flytrap həşəratyeyən bitkisinə analogi olaraq təsvir olunmuş yolla bağlanır. Əsasən monomerlər kimi fəaliyyət göstərən əksər GPCR-lardan fərqli olaraq T1R-lər

homodimerləri və heterodimerləri əmələ gətirirlər, guman olunur ki, bu molekulun siqnal kimi fəaliyyət göstərən repertuarını artırır. Amma, müxtəlif molekullara olan cavab kodu hələ də tədqiq olunur. T1R2 və ya T1R3-ə malik olmayan siçan şəkkəri aşkar edə bimir, guman olunur ki, əsil reseptor bunların ikisinin heterodimeridir. Görünür ki, T1R3 həm şirin həm də umami dadının reseptorudur və o T1R2 ilə kombinasiyada oluduqda şirin dadı və T1R1 ilə kombinasiya etdikdə isə umami dadlarını aşkar edir. Uyğun olaraq dad hüceyrələri yalnız ya T1R1-i ya da T1R2-ni ekspressiya edir, amma hər ikisini etmir, əgər belə olsaydı onlar beyinə qeyri müəyyən siqnallar ötürərdilər.

Maraqlıdır ki, şirin-dad reseptoru bağırsaqda müəyyən endokrin hüceyrələrin səthində də tapılmışdır, bu hüceyrələr qustodusini və bir sıra siqnal-ötürən zülalları da ekspressiya edirlər. Bağırsaqda qlükozanın əmələ gəlməsi bu hüceyrələrin qlükogenə-bənzər peptid-1 (GLP-1) hormonunu ifraz etməsinə səbəb olur, öz növbəsində iştahı tənzimləyir və insulinin ifrazını və bağırsaqların hərəkətliyini yüksəldir. Beləliklə, bağırsağın bəzi hüceyrələri dilin dad hüceyrələri ilə eyni mexanizmlərlə qlükozanı “dadır”.

Duzluluq dadı Duzluluğun dadılması Na $^+$ ionlarının 10 mM-dan 500 mM qədər müxtəlif qatılıqları ilə yaranır. Duz Na $^+$ kanalları ailəsinin *ENaC kanallar* adlanan (Şəkil 22-35d) nümayəndələri tərəfindən hiss olunur. Həqiqətən də, dad məməciklərində çox əhəmiyyətli ENaC subvahidinin nokaut olunması siçanda duzluluq dadının zəifləməsi ilə nəticələnmişdir. Kanal vasitəsi ilə Na $^+$ -un içəri axması dad hüceyrələrini depolyarlaşdırır, neyroötürücülərin buraxılmasına səbəb olur. ENaC kanallarının duz sensoru kimi rolu təkamül cəhətdən qədimdir, ENaC zülalları həşəratlarda da ekspressiya olunduqda onlar duzluluğu hiss edirlər. *Drosophila*-da dad sensorları müxtəlif yerlərdə, o cümlədən ayaqlarda yerləşir, ona görə də milçəklər dadlı şeylər üzərində oturlar, xortum isə onlarda axtarmaq üçün daha da inkişaf etmişdir.

Turş dad Turşluq dadının duyulması H $^+$ ionlarının duyulmasına görə baş verir. Çoxsaylı turş dadlar zəif üzvi turşulardır (məsələn, üzüm sirkəsində sirkə turşusu), protonlaşmış formada plazma membranından diffuziya edərək keçirlər. Sonra onlar anion və protona dissosasiya edərək sitozol turşulaşdırırlar. HCl kimi güclü turşular turşuluq-hiss edən hüceyrələrin apikal membranında protonların sitozola keçməsinə mümkün edən proton klanalları ilə aşkar edilir. Hüceyrədaxili H $^+$ qatılığının necə artmasından asılı olmayaraq hesab edilir ki, məməlilərdə protonlar hələdə-məlum-olmayan protona-həssas K $^+$ kanalını blok edir, bununla da membranı depolyarlaşdırır (Şəkil 22-35e). Duz hiss edilən kimi, gərginliklə-nizamlanan Ca $^{2+}$ kanalları açılmalı, sitozol Ca $^{2+}$ səviyyəsini qaldırmalı və beləliklə neyroötürücü ilə dolu sinaptik qovucuqların eqzositozunu işə salmalıdır.

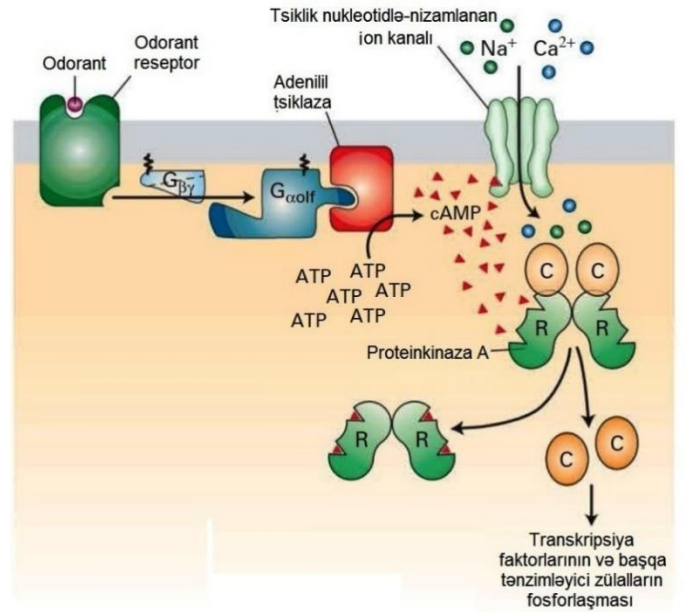
Çoxsaylı Reseptorlar Qoxunu Aşkar Edir

Havada uçucu kimyəvi maddələrin duyulması işığın, səs, toxunmanın və dadın qavranmasından daha çox fərqli tələbləri ortaya qoyur. Işıq yalnız dörd müxtəlif dalğa uzunluğuna sazlanmış rodopsin molekulları ilə hiss edilir. Səs mexaniki

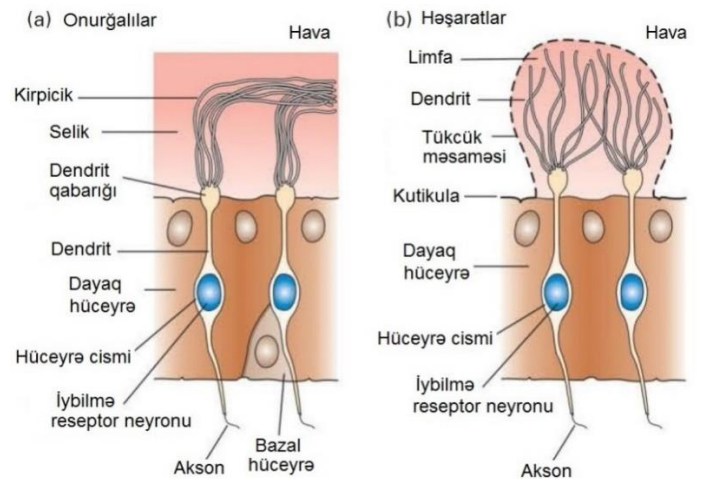
təsirlə müxtəlif dalğa uzunluqlarına sazlanmış tükcüklər vasitəsilə hiss edilir. Toxunma və ağrı az sayda fərqli nizamlanan ion kanallarını tələb edir. Dad hissi suda həll olunmuş kiçik sayda maddələrin ölçülməsini təmin edir. Bütün bu cürə digər hissələrdən fərqli olaraq qoxubilmə (olfactory) sistemləri hava ilə hərəkət edən yüzrlə müxtəlif ulçulu molekulları fərqləndirə bilir. Böyük sayda kimyəvi maddələrin fərqləndirilməsi qidanın və cütləşmə tərəfinin tapılmasında, feromonların hiss edilməsində və yırtıcıdan, zəhərdən və yanğından yayınmaq üçün əhəmiyyətlidir. *Qoxubilmə reseptorları* həddən artıq yüksək həssaslıqla işləyirlər. Məsələn, erkək kəpənək (pərvanə) dişi tərəfindən havaya buraxılmış tək bir molekuldan ibarət olan siqnalı tuta bilir. Bu qədər çox siqnalları yadda saxlamaq üçün qoxubilmə sistemi qoxubilmə reseptoru zülallarının böyük ailəsini istifadə edirlər. İnsanlarda 700 qədər qoxubilmə reseptor genləri var, bunların da təxminən yarısı funksionaldır (qalanları qeyriməhsuldar psevdogenlərdir), bu insanlarda ehtimal olunan 20000 qədər genin böyük bir hissisini təşkil edir. Siçanda 1200-dən artıq qoxubilmə reseptor genlərinin 800 qədəri funksioanal olması ilə daha səmərəlidir. Bu göstərir ki, siçanın genomunun 3 faizi qoxubilmə reseptor genlərindən təşkil olunub. *Drosophila*-da 60-a qədər qoxubilmə reseptor geni var. Bu bölmədə biz qoxubilmə reseptor genlərinin necə istifadə olunduğunu və beyinin hansı qoxunun hiss olunduğunu tanımasını – kimyəvi aləmin interpretasiyasının ilkiin mərhələsini öyrənəcəyik. Qoxu molekulları *odorantlar* adlanır. Onlar geniş müxtəliflikdə kimyəvi quruluşa malikdirlər, ona görə də onlar anticism və hormon reseptorları ilə eyni çağırışla – çox variantda nisbətən kiçik molekulları fərqləndirmək və birləşdirmək çağırışı ilə üzlaşırlər.

Qoxu reseptorları yeddi-transmembran-domenli zülallardır (Şəkil 22-36). Məməlilərdə qoxu reseptorları burun epitel hüceyrələrində istehsal olunur. *Qoxu reseptor neyronları* (*olfactory receptor neurons–ORNs*) adlanan bu hüceyrələr kimyəvi siqnalları təsir potensialına çevrirlər. Hər bir ORN tək epitelinin lüminal səthinə bir dendrit uzadır və bu dendritdən nəfəslə odorantı havadan tutmaq üçün hərəkətsiz kirpici uzanır (Şəkil 22-37). Odorant reseptorlarında bu qoxu sensor kirpiciyi və ilkin siqnal ötürmə hadisələrini həyata keçirən siqnal ötürən zülallar zəngindir. *Drosophila*-da ORN-lər oxşar quruluşa malikdirlər və antennada yerləşirlər (Şəkil 22-37b).

Həm məməlilərdə həm də *Drosophila*-da ORN-lər öz aksonlarını sinir sisteminin növbəti yüksək səviyyəsinə qədər uzadırlar, bu məməlilərdə beyinin qoxu şarlarında yerləşir. Məməlilərdə ORN aksonlar *mitral neyronların* (həşəratlarda *proyeksiya neyronları* adlanır) dendritləri ilə sinaps əmələ gətirirlər, bu sinapslar sinaptik quruluşlarda *kələf* (*glomeruli*) adlanan klasterlər şəkilində rast gəlinir. Mitral neyronlar beyinin yüksək qoxu mərkəzlərinə birləşirlər (Şəkil 22-38).



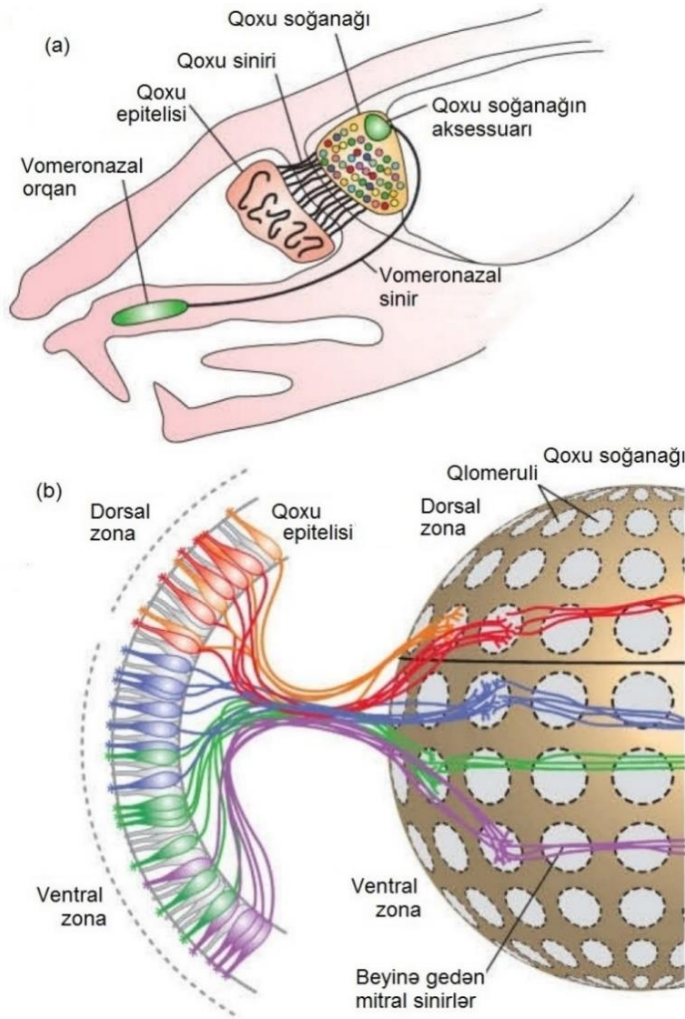
ŞƏKİL 22-36 Qoxu GPCR-lərdən siqnal ötürülməsi. Odorantın öz doğma odorant reseptoruna (OR) birləşməsi trimer G zülalı $G_{\text{olf}} \cdot G_{\beta\gamma}$ -nin fəallaşmasına, $G_{\text{olf}} \cdot \text{GTP}$ -nin azad olmasına səbəb olur. Fəallaşmış $G_{\text{olf}} \cdot \text{GTP}$ öz növbəsində III tip adenilat-tsiklazanı (AC3) fəallaşdırır, ATP-dən cAMP-nin istehsal olunmasına səbəb olur. cAMP molekulları tsiklik nukleotidlə-nizamlanan (CNG) ion kanalına birləşərək onu açır, Na^+ və Ca^{2+} ionlarının daxilə axmasına səbəb olur və hüceyrəni depolyarlaşdırır. cAMP həmçinin proteinkinaza A-nı (PKA) fəallaşdırır, o isə transkripsiya faktorlarını və digər hüceyrədaxili zülalları fosforlaşdıraraq tənzimləyir.



ŞƏKİL 22-37 Qoxu reseptor neyronlarının quruluşu. Təkamül prosesinin böyük məsafəsində – onurğalılarda və həşəratlarda – fəal qoxu reseptor neyronlarının geniş oxşar formaları olmuşdur. (a) Onurğalıların qoxu reseptor neyronlarının ucu dendrit şişisi ilə qurtaran bir dendriti var, hər bir dendrit ucundan təxminən 15 kirpici burun seliyinə uzanır. (b) Həşəratların qoxu reseptor neyronları morfoloji cəhətdən oxşardırlar, bipolyar neyronlar antenna səthində kələfə tərəf uzanan tək bir bazal aksonu yaradırlar. Onun apikal tərəfində sensor kirpiciyi uzandıqı bir dendrit çıxıntısı vardır. Bax U. B. Kaupp, 2010, *Nature Rev. Neurosci.* **11**:188–200.



İnsanlar qoxunu hiss etmə qabiliyyətlərinə görə nəzərə çarpacaq dərəcədə fərqlənirlər. Bəziləri insan tərində tapılmış və testosterondan törənmiş steroid feromon androstenonu hiss edə bilmir. Bəziləri qoxunu xoş və muşq ətirli hesab edirlər, digərləri isə onu çirkli corabın iyi ilə müqayisə edirlər. Bu fərqlərin hamısı tək bir androstenon GPCR-ni kodlaşdıran gendə olan fəalsızlaşdırıcı mutasiyanın nəticəsidir. Təbii-formalı allelin hər iki nüsxəsinə malik olan fərdlər androstenonu xoşagəlməz qoxu kimi qəbul edir, amma tək bir allelə və ya qeyri funksional allelə malik olan fərdlər androstenonu çox az xoşagəlməyən kimi hiss edir və ya aşkar edə bilmir. ■



Qoxu reseptorlarının böyük sayda olmasına baxmayaraq, onların hamısı eyni trimer G zülalını – $G_{\alpha olf} \cdot G_{\beta \gamma}$ – fəallaşdırmaqla eyni hüceyrədaxili siqnalları yaradırlar (Bax Şəkil 22-36). $G_{\alpha olf}$ əsasən qoxu neyronlarında ekspressiya olunur. $G_{\alpha s}$ kimi, liqand birləşdikdən sonra əmələ gələn fəal $G_{\alpha olf} \cdot GTP$ adenilatsiklazanı fəallaşdırır, o isə tsiklik AMP-nin (cAMP) istehsalına səbəb olur (bax Şəkil 12-25). İki siqnal yolu aşağıya istiqamətdə cAMP ilə fəallaşır. O tsiklik nukleotidlə-

nizamlanan (CNG) Na^+/Ca^{2+} kanalının sitozol üzündəki sayta birləşir, kanalın açılmasına, Na^+ və Ca^{2+} ionlarının daxilə axmasına və hüciyrə membranının lokal depolyarlaşmasına səbəb olur. İyibilmə dendritlərində odorantla induksiya olunan bir depolyarlaşma bütün neyronal membran boyu yayılır, akson qabarığında gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının açılması ilə və təsir potensialının yaranması ilə nəticələnir. cAMP molekulları həmçinin proteinkinaza A-nı (PKA) fəallaşdırır, o isə öz növbəsində transkripsiya faktorlarını və başqa hüceyrədaxili zülalları fosforlaşdıraraq fəallaşdırır.

Hər Bir Qoxu Reseptor Neyronu Bir Tip Odorant Reseptorunu Ekspressiya Edir

Qoxu sisteminin əsas spesifikliyinin anlaşılması üçün açar odur ki, həm məməlilərdə həm də həşəratlarda hər bir ORN yalnız bir tip odorant reseptorunu ekspressiya edir. Bu hüceyrədən gələn istənilən elektrik siqnalı beyinə sadə bir xəbəri ötürəcək: “odorant mənim reseptoruma birləşmişdir”. Reseptorlar odorantlara həmişə tam qeyri-spesifik olurlar. Bəzi reseptorlar bir tipdən artıq molekulla birləşə bilər, amma aşkar edilən molekullar quruluşuna görə çox yaxın olurlar. Başqa çürə desək, bəzi odorantlar çoxsaylı reseptorlara birləşirlər.

Siçanda 5 milliona yaxın ORN vardır, beləliklə 800 və ya ona yaxın olan hər bir qoxu reseptoru geni 6000 hüceyrədə fəaldır. 2000 yaxın kələf (qlomerula) vardır (təxminən hər bir qoxu reseptoru geni üçün 2), beləliklə orta hesabla bir neçə min ORN-in aksonları hər bir kələfdə kəsişirlər (bax Şəkil 22-38). Buradan, hər kələfə 25 mitral akson, və ya ümumilikdə 50000 mitral neyron daha yüksək (ali) beyin mərkəzlərinə birləşir. Beləliklə qoxunun ilkin hiuss olunma informasiyası proses olunmadan, yəni odorantların sadəcə nəyi aşkar etdiyi barədə məlumat beyinin daha yüksək (ali) hissələrinə çatdırılır.

ŞƏKİL 22-38 Siçanda qoxubilmənin anatomiyası. (a) Yetkin siçanın başından keçən sagittal kəsiyin sxematik təsviri. Qoxubilmə reseptoru neyronlarının (ORN) aksonları əsasən qoxubilmə epiteli bağlarında qoxubilmə sinirini əmələ gətirir və qoxubilmə şişini innervasiya edir. Əsas qoxubilmə epitelisində hər bir ORN yalnız bir qoxubilmə reseptor genini ekspressiya edir. Vomeronazal orqan və köməkçi (accessory) qoxubilmə şişi feromonun hiss edilməsində iştiraklıdır. (b) Tək bir tip reseptoru ekspressiya edən bütün qoxu reseptoru neyronları öz aksonlarını eyni kələfdə göndərirlər. Bu şəkildə, hər bir rəng ekspressiya olunan hər bir fərqli reseptor üçün neyronal bağlanmanı təmsil edir. Kələflər beyinə yaxın qoxu şişlərində yerləşirlər. Kələflərdə ORN-lər mitral neyronlarla sinaps əmələ gətirirlər. Hər bir mitral neyronun tək bir kələfdə yerləşmiş öz dendriti və özünün müvafiq ORN-ləri vardır, bue beləliklə də xüsusi bir odorant barədə informasiyanı beyinin əsas (ali) mərkəzinə daşır. Beləliklə, hər bir kələf tək bir odorant reseptoru ekspressiya edən sensor neyronlarından innervasiya alır, qoxu sensor xəritəsinin anatomik əsaslarını təmin edir. Bax T. Komiyama and I. Luo, 2005, *Curr. Opin. Neurobiol.* 16:67–73 and S. Demaria and J. Ngai, 2010, *J. Cell Biol.* 191:443.

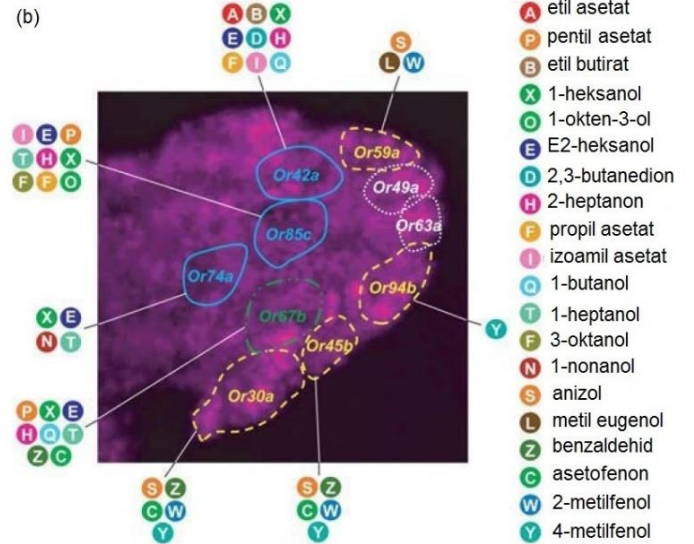
Bir neyron – bir reseptor qaydası *Drosophila* üçün doğrudur. Ətraflı tədqiqatlar süfrə üzərində aparılmışdır, burada yalnız 21 ORN-ə malik olan sadə qoxu sistemi təxminən 10-20 qoxu reseptoru genindən istifadə edir. Məlum olmuşdur ki, hər

bir ORN-də tək bir unikal reseptor ekspressiya olunur və öz proeksiyasını bir kələfə uzadır. ORN-lər yəqin ki, cəlbedici qoxunu uzaqlaşdırıcı qoxudan ayırmaq üçün ya həyəcanlandırıcı ya da ingibirləşdirici siqnalı öz akson uclarından yollaya bilirlər. Məməlilərdə olduğu kimi, ORN-lərdən gələn aksonlar süfrə beyinin antena payında yerləşən kələfdə qurtarır. *Drosophila*-da tədqiqat hansı odorantların hansı reseptorlara birləşməsinin öyrənilməsi ilə başlamışdır (Şəkil 22-39a). Bəzi odorantlar yalnız bir reseptorla, bəziləri isə bir neçəsi ilə aşkar edilmişdir, ona görə də, kombinator model yalnız fərqli qoxu

reseptorlarının sayından daha çox odorantları fərqləndirməyə imkan verir. Neyronların sayının az olması hər bir kələfin hansı odorantları aşkar etdiyini göstərən xəritənin qurulmasına imkan verdi (Şəkil 22-39b). Çox təccübləndirici bir nəticə o oldu ki, bir-birinin yaxınlığında yerləşən kələf yaxın (oxşar) kimyəvi quruluşa malik olan odorantlara, məsələn, xətti alifatik birləşmələrə və ya aromatik birləşmələrə cavab verir. Belə yerləşmə beyinin qoxubilmə hissəsinin subhissələrə bölünməsi prosesi ilə birlikdə yeni reseptorların təkamülünü əks etdirə bilər.

(a)

	Or30a	Or42a	Or45a	Or45b	Or49a	Or59a	Or67b	Or74a	Or85c	Or94a	Or94b
Etil asetat	A										
Pentil asetat		P				P		P			
Etil butirat	B										
Metil salsilat											
1-Heksanol	X	X				X	X	X			
1-Okten-3-ol									O		
E2-heksanol	E	E				E	E	E			
2,3-Butanedion	D										
2-Heptanon	H	H				H		H			
Geranil asetat											
Propil asetat	F								F		
İzoamil asetat	I								I		
Oktil asetat		Y									
1-Butanol	Q						Q				
1-Heptanol		T					T	T	T		
3-Oktanol									F		
1-Nonanol								N			
Tsikloheksanon											
(-) Fenxon											
Anozol	S		S		S					S	
Metil eugenol					L						
Benzaldehid	Z		Z			Z					
Asetofenon	C		C			C					
2-Metilfenol	W		W		W				W		
4-Metilfenol	Y		Y							Y	
Propion turşusu											
Karbon ikioksit											



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 22-39 *Drosophila* süfrəsinin qoxu sistemində fərdi qoxu reseptoru tipləri müxtəlif odorantlarla eksperimental əlaqəyə bilir və xüsusi glomeruli izlənilə bilər. (a) Yuxarıdakı sıra boyu müxtəlif qoxu reseptoru zülallarının siyahısı verilir, solda isə aşağıya doğru sınaqdan keçirilmiş 27 odorant verilir. Rəngli nöqtələr güclü qoxu cavabını bildirir. Qeyd edək ki, Or42a və Or67b kimi çox reseptorlar əsasən alifatik birləşmələrə cavab verdiyi halda, Or30a və Or59a kimi digərləri aromatik birləşmələrə cavab verirlər. (b) *Drosophila* süfrəsinin beyinin kələfində qoxu məlumatının məkan xəritəsi. Xəritələşdirmə repoter genin seçilmiş hər bir qoxu reseptor neyronunun nəzarət altında ekspressiya olunması ilə həyata keçirilmişdir. Fotoqrafiya qeyd olunmuş 10 reseptor zülal tiplərindən (Or42a və sair) hər birini istehsal edən ORN-lərdən

proeksiya alan kələfini göstərir. Burada hər bir reseptorun güclü şəkildə cavab verdiyi odorantlar da həmçinin qeyd olunur. Qeyd edək ki, bir istisna ilə (Or30a və Or45b) hər bir sinir kələfinin unikal sensor qabliyyəti var. **Əgər daha çox qoxu gen nümunələrinin ekspressiya profili sınaqdan keçirilsə o zaman istisna istisna olamaya bilər. (The exception might not be an exception if more olfactory gene expression patterns were tested.)** Kimyəvi cəhətdən oxşar olan odorantları hiss edən kələflər bir-birinin ardınca yerləşir. Məsələn, mavi bütöv xətlərlə göstərilmiş üç kələf xətti alifatik birləşmələri hiss edir, qırıq sarı xətlərlə göstərilənlər isə aromatik birləşmələri hiss edirlər. [Elsevier razılığı ilə Krehler, S. A., et al., "The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* larva," *Neuron*, 2005, **46**(3):445–56-dan yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc. vasitəsilə alınmışdır.]

Hər bir hüceyrəsi yalnız bir reseptor tipini istehsal edən sadə bir sistem də bir neçə təsir bağışlayan çətinlikləri aradan qaldırmağı tələb edir: (1) Hər bir reseptor odorant molekulu tipini və ya spesifikliyi orqanizmin tələbatına adekvat olan molekullar dəstini fərqləndirməyi bacarmalıdır. Çox tez-tez stimullaşan reseptor sərfəli olmamalıdır. (2) Hər hüceyrə bir tip, yalnız bir tip reseptor geni məhsulunu istehsal etməlidir. Bütün başqa reseptor genləri söndürülməlidir. Eyni zamanda, heyvana adekvat sensor müxtəlifliyini vermək üçün burun epitelində bütün hüceyrələrin birlikdə cəhdi kifayət qədər fərqli reseptorların istehsalına imkan verməlidir. Əgər hüceyrədə əksəriyyəti heç zaman ekspressiya olunmayırsa, yüzrlə reseptorların genlərinin olması mənasızdır, amma hər hüceyrədə bir genin və yalnız bir genin işə salınması və eyni zamanda hüceyrələrin tam poipulyasiyası boyunca bütün reseptor genlərinin ekspressiya olunması bir tənzimləyici problemdir. (3) Qoxu sisteminin neyronal şəbəkəsi odorantlar arasında fərqləndirməni mümkün etməlidir ki, beyin hansı odorantın mövcud olduğunu təyin edə bilsin. Əks halda, heyvan imkan daxilində tez qaçıb uzaqlaşmağın lazım olduğu halda özünü rahat və azad hiss edə bilər.

Birinci problemin həlli qoxu reseptor zülallarının həm növlər daxilində, həm də növlər arasında böyük dəyişkənliyədir. İkinci problemin həllinə, hər hüceyrə üzrə tək bir qoxu reseptor geninin ekspressiyasının həllinə, göstərilmişdir ki, hər bir ORN-də minlərlə qoxu reseptor allellərinin qeyri-fəal qalmasını təmin edən epigenetik susdurmanın əlamətdar bir forması daxildir. Bu tədqiqatlar göstərdi ki, reseptor seçimi bütün qoxu reseptor genlərinin susdurulduğu inkişaf mərhələsində tək bir qoxu reseptoru geninin selektiv fəallaşmasına əsaslanır. Fəallaşma histon dimetilaza və spesifik adenilat tsiklaza ilə işə salınır, bunların hər ikisi tək bir qoxu reseptoru lokusunun repressiyadan geriye fəallaşması üçün tələb olunur. Fəal və qeyri fəal genlər nüvə daxilində məkanca seqreasiya edirlər, qeyri fəal genlər heteroxromatin rayonlarda bütü qaldığı halda fəal genlər euxromatin domenlərdə yerləşirlər (bax Fəsil 8).

Üçüncü problem, beyinin hansı qoxunun aşkar olunduğunu anlama bilməsi üçün sistemin necə əlaqələndirilməsi problemi qismən öz cavabını tapmışdır. Birincisi, eyni reseptorda ekspressiya olunan ORN-lər öz aksonlarını eyni kələfə yollayırlar. Beləliklə, eyni qoxuya cavab verən bütün hüceyrələr prosesi eyni təyinat yerinə yollayırlar. Siçanlarda qoxu sistemi profilinin çox mühüm ipucusu ORN-lərdə qoxu reseptorlarının iki rol oynamasının kəşfindən – odorant birləşdirmənin və inkişaf zamanı akson bələdçiliyinin kəşfindən meydana gəlmişdir. Eyni reseptoru ekspressiya edən çoxsaylı ORN aksonlar eyni kələfin təyinat məkanına yönəldirlər. Hər bir qoxu reseptorunun adenilattsiklazanı işə salan fərqli, odorantdan asılı olmayan fəallaşma səviyyəsi vardır, bu zaman cAMP səviyyəsinin dəyişməsi ilə, dərəcələrə bölünmüş fəaliyyəti müəyyən bir kələfə hədəf olunmanı təyin etmək üçün istifadə olunan standard akson-bələdçiliyi molekullarının CREB-dən asılı olan ekspressiyasını işə salır.

22.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Ətrafın Hiss Olunması: Toxunma, Ağrı, Dad və Qoxu

- Mexanoreseptorlar və ağrı reseptorları Na^+ və ya $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kanallarıdır. Onlar sensor neyronlarının uclarında xüsusi terminallarda mövcud olurlar və afferent məlumatı onurğa beyninə və beyin sütununa ötürürlər.
- Toxunmaya həssaslıq bir sıra sitoskelet və hüceyrəxarici matrisa zülallarını, həmçinin nizamlanan Na^+ kanallarını tələb edir (Şəkil 22-32).
- Piezo 1 və 2 mexaniki stimulu birbaşa kation keçiriciliyən çevirən böyük kanal zülallarına malikdirlər (Şəkil 22-34).
- TRPV kanallar istilik və kapsaisin daxil olmaqla müxtəlif stimullarla fəallaşan nosiseptorlardır. Onların molekulyar quruluşu gərginliklə-nizamlanan ion kanallarının quruluşuna oxşardır və son zamanlar vahid zərrəcik kriyo-EM ilə aşkar edilmişdir (Şəkil 22-33).
- Hər bir dad məməciyində hüceyrələrin yarım qrupları tərəfindən beş əsas dad duyulur. Duzluluq və turş dadlar spesifik ion kanalları zülalları vasitəsilə duyulur, G zülallarla-cütləşən reseptorlar şirinliyi, umamini və acılığı hiss edir.
- Bütün hallarda dadlar membran depolyarlaşmasına və yaxınlıqdakı neyronları stimullaşdıran ATP kimi kiçik molekulların ifraz olunmasına səbəb olur. Bəzi dad hiss edən GPCR-lər müxtəlif dadları aşkar etmək üçün fərqli homo- və heterodimer kombinasiyalarda tapılmışdır (bax Şəkil 22-35).
- Dad beyin qabığının insula adlanan hissəsində topoqrafik xəritədə təsvir edilmişdir. Dad reseptorlarının spesifik dad tipləri ilə (məsələn, şirin və ya duzlu) fəallaşması insulanın spesifik, bir-birini örtməyən rayonlarında neyronları fəallaşdırır.
- Yeddi transmembran G zülalla-cütləşən reseptorlara aid olan qoxu reseptorları böyük genlər dəsti ilə kodlaşdırılır. İstənilən bir qoxu reseptor neyronu bir və yalnız bir qoxu reseptorunu ekspressiya edir, ona görə də həmin hüceyrədən beyinə gələn signal hiss edilən kimyəvi maddənin təbiətini birmənalı ötürür.
- Eyni reseptor genini ekspressiya edən ORN-lər öz aksonlarını eyni kələfə yollayırlar və proyeksiya sinirləri (məməlilərdə mitral neyronlar) odorant-spesifik məlumatı kələfdən beyinə daşıyırlar (bax Şəkillər 22-37, 22-38 və 22-39).

22.5 Yaddaşın Formalaşması və Saxlanması

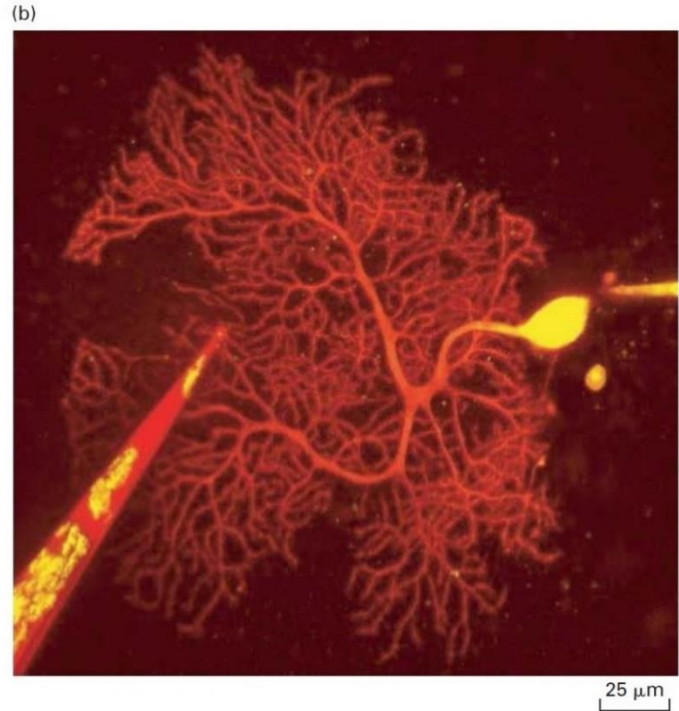
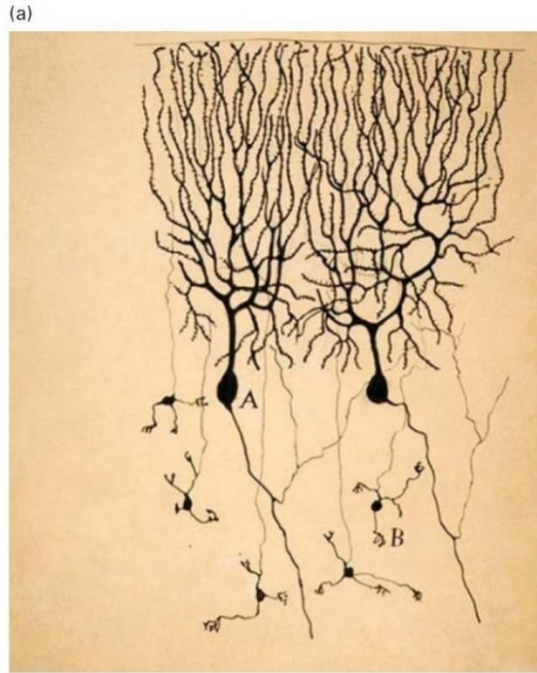
Beyinin çox əhəmiyyətli xüsusiyyətlərindən biri onun yaddaşı yaratmaq və saxlamaq qabiliyyətidir. Onilliklər boyu aparılmış tədqiqatlar aşkar etdi ki, yaddaş neyronlar arasında yaranan bağlantıların möhkəmliyinin və sayının dəyişməsi ilə baş verir. Sinir sisteminin ümumi quruluşu genetik cəhətdən möhkəm əlaqələndirilmiş olsa da, neyronal sxemlər müxtəlif stimullara cavab olaraq geniş şəkildə yenidən qurulur və təkrar əlaqələndirilir. Sinaptik əlaqələrdə təcrübədən-asılı dəyişmələrin bu prosesi **sinaptik plastiklik** adlanır. Təcrübələrə cavab olaraq **beyin naqillərini (brain wiring)** modifikasiya edərək, sinaptik plastiklik bizim şəxsiyyətimizi

təyin etmək üçün təbiətin və tərbiyənin inteqrasiyasının bioloji mənasını təmin edir.

Yaddaş Neyronlar Arasında Sinapsların Sayının və Gücünün Dəyişməsi ilə Formalaşır

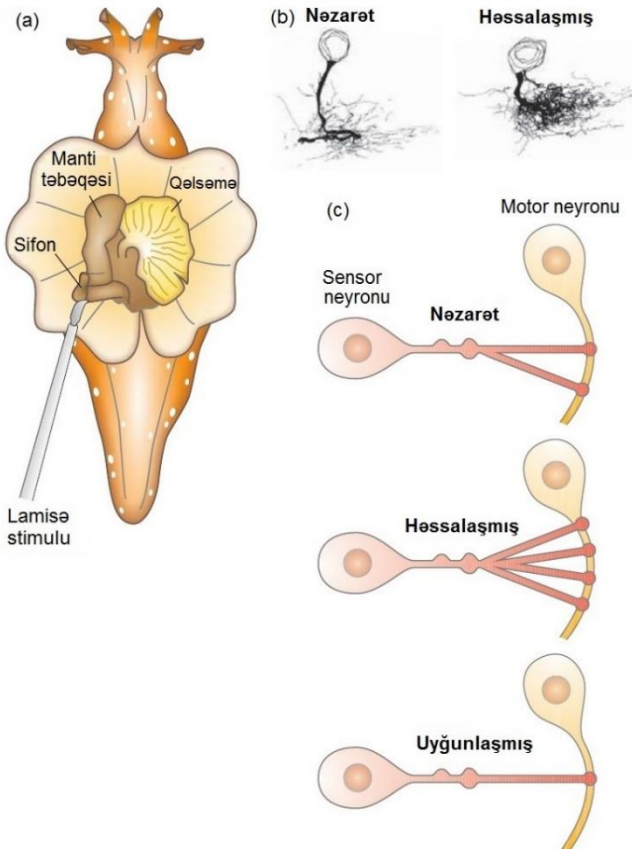
Sinaptik plastiklik konsepsiyasının on doqquzuncu əsrin sonlarında Santiaqo Ramón y Kajalın neyroanatomik tədqiqatlardan başlayan uzun tarixi var. O, insan və başqa heyvanların beyində fərdi neyronları vizuallaşdırmaq üçün Qolci boyanması adlanan metoddan istifadə etdi (Şəkil 22-40a). Qolci boyası, 1906-cı ildə sinir sisteminin quruluşundakı tədqiqatlarına görə Fiziologiya və ya Tibb üzrə Nobel mükafatını Santiaqo Ramón y Kajal ilə birlikdə alan İtaliyan alimi Kamillo Qolci tərəfindən yaradılmışdı. Golgi beyinin bir-biri ilə əlaqəli sinir hüceyrələrindən ibarət böyük bir sinsitium olan

“retikulyar şəbəkədən” ibarət olduğuna inandığı halda, Ramón y Kajal inanırdı ki, beyin bizim sinapslar kimi tanıdığımız əlaqə saytlarında bir-biri ilə qarşılıqlı təsirdə olan fərdi neyronlardan təşkil olunub. Ramón y Kajal sinapsları kiçik dendrit qabarıqları kimi aşkar etdi. Bu qabarıqlar həyəcanlandırıcı sinapsların postsinaptik kompartmentlərini və yalnız Qolci boyaları ilə deyil həmçinin GFP kimi fluorescent zülalların genetik ekspressiyasına əsaslanan daha yeni metodlarla da aşkar edilə bilər (Şəkil 22-40b). Ramón y Kajal öz histoloji tədqiqatlarının nəticələrinə əsasən belə fərz edirdi ki, yaddaş beyində neyronal bağların quruluşunun dəyişməsi ilə və neyronlar arasında yaranmış sinapsların quruluşunun və sayının dəyişməsi ilə saxlanılır. Poetik desək Ramón y Kajal belə düşünürdü ki, “beyin qabığı nömrələnmə bilməyən saysız hesabsız ağaclarla dolu olan bağa bənzəyir, ağıllı kulturaya cavab olaraq piramidal hüceyrələr öz budaqlarının sayını artırır ... və daha çox müxtəlif çiçək və meyvələr verir”.



ŞƏKİL 22-40 Dendrit çıxıntılarının vizuallaşdırılması. (a) 1899-cu ildə Santiaqo Ramón y Kajal göyərçinin beyin qabığında fərdi neyronları görüntüləmək üçün Qolci boyama metodundan istifadə etdi. Bu metod Ramón y Kajala beyindəki fərdi neyronları görüntüləməyə imkan verdi, toxuma sıx şəkildə neyronlarla doludur, amma Qolci boyası yalnız toxumada seyrək neyronları nişanlayır. Bu yanaşmadan istifadə edərək o sübut etdi ki, beyin kontakt saytlarında bir-biri ilə əlaqəli olan fərdi neyronlardan təşkil olunmuşdur. Həyəcanlandırıcı sinapsların postsinaptik kompartmenti dendritlərin tikan (spine) adlanan tikanlı qabarıqlarından ibarətdir. Ramon y Kajal neyronlarda bu tikanları aşkar etmişdi (burada beyin qabığının Purkinje neyronlarında) və fərz etmişdi ki, yaddaş tikanların sayı və formasının dəyişməsi ilə saxlanıla bilər. Hazırkı dövrün

yanaşmalarında, toxumada tək bir neyronun vizuallaşdırıla bilməsi üçün fluorescent zülallar mikroelektrodlardan istifadə edərək çatdırıla və ya genetik ekspressiya edilə bilər. (b) Qırmızı fluorescent boya mikroelektrodlarla siçanın beyinciyində tək bir Purkinje neyronuna çatdırılır və iki-foton mikroskopiya ilə vizuallaşdırılır. Yüksək rezolyusiyada tikan dinamikasını zaman-keçid mikroskopiyasından istifadə edərək təsvir etmək olar və bu yolla sinaptik qovşaqlarda təcrübədən asılı olaraq dəyişmələri birbaşa nümayiş etdirmək olar. Bu təsvirdə qırmızı fluorescent boya ilə doldurulmuş ikinci elektrod nişanlanmış neyronlar üzərində yaranan sinapsları stimullaşdırmaq üçün istifadə edilir. [(a) hissəsi Science Source. (b) hissəsi nəzakətlə Pratap Meera və Thomas Otisdən.]



ŞƏKİL 22-41 Uzun-müddətli yaddaş sinaptik əlaqələrdəki dəyişmələr kimi saxlanılır. Dəniz ilbizi *Aplysia californica* yaddaşda sinaptik plastikliyin hüceyrə biologiyasının öyrənilməsi üçün model sistemdir. Sifonun (içərisi ilə su axan boruşəkilli quruluş) toxunmaqla stimullaşması qəlsəmə-çəkilməsi refleksini stimullaşdırır. Vərdişdə sifona təkrar-təkrar toxunulur, bu zaman heyvan bu stimula vərdiş alır və qəlsəmə çəkilməsinin amplitudasını zəiflədir. Həssaslaşmada heyvan quyruq zərbəsi kimi ziyanlı stimulları alır, refleksi elə həssaslaşdırır ki, qəlsəmə çəkilməsi amplitudası yüksəlir. (b) Nəzarət heyvanlarının və qəlsəmə çəkilməsi refleksinin uzun-müddətli həssaslaşma məruz qoyulmuş heyvanların sifon sensor neyronlarının stereoloji rekonstruksiyaları. Neyronal proseslərin böyüməsi sensor və motor neyronları arasında yeni sinaptik əlaqələrin artması ilə müşayiət olunur. (c) Təsvirlər qəlsəmə-çəkilməsi refleksinin plastikliyi zamanı meydana gələn əlaqələrdəki dəyişmələri göstərir. Həssaslaşma sensor və motor neyronlar arasında yeni əlaqələrin artması ilə müşayiət olunur, amma vərdiş sensor və motor neyronlar arasındakı əlaqələrin sayının azalması ilə müşayiət olunur. [(b) hissəsi Bailey C. H., et al., “Long-term memory in *Aplysia* modulates the total number of varicosities of single identified sensory neurons.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**:2373–2377.]

Onillikər boyu aparılan tədqiqatlar Ramón y Kajalın proqnozlarını geniş şəkildə doğrultdu, hərçənd indi belə düşünülür ki, yaddaş dendrit və aksonlardakı (“budaqlar”) dəyişmələri ilə deyil, əsasən sinapslardakı (“çiçəklər və meyvələr”) dəyişmələrlə saxlanılır. *Aplysia californica* dəniz ilbizində qəlsəmə çəkilməsi refleksini ilə aparılan tədqiqatlar yaddaşın saxlanmasının quruluş əsaslarının klassik nümayişini təmin etdi (Şəkil 22-41). *Aplysia californica* yaddaşın hüceyrə

biologiyasını öyrənmək üçün çox səmərəli model orqanizmdir, çünki onun sinir sistemi nisbətən sadədir, onun neyronları isə çox böyükdür və identifikasiya oluna bilər, yəni bu, eyni neyronun bir heyvandan digərlərinə görə fərqləndirilə bilməsini göstərir. Bu xüsusiyyətlər Nobel Mükafatı Laureatı Erik Kəndelə və onun əməkdaşlarına imkan verdi ki, heyvanlarda spesifik davranışın əsasında dsuran neyronal sxemi təsvir etsin, sonra da, yaddaşın formalaşması zamanı sxemdə neyronlar arasındakı sinaptik əlaqələrin necə dəyişdiyini təyin etsinlər. Onlar diqqətlərini sadə reflektiv davranışa, dəniz ilbizində sifonun refleksinə yönəldilər, bu zaman heyvanın sifonauna (daxilində su axan boru şəkilli anatomik quruluş) toxunmaq heyvanın müdafiə olunması üçün tənəffüs orqanının, qəlsəmənin çəkilməsinə səbəb olur. Sifondan gələn motor neyronlara sinaps edən sensor neyronlar refleksi həyata keçirirlər. Sifona toxunmaq sensor neyronların siqnal buraxmasına səbə olaraq motor neyronlarda təsir potensialını işə salır, o isə öz növbəsində qəlsəmə əzələlərində sinaps edir və onun dartılmasına səbəb olur. Refleks təcrübə ilə ikiistiqamətli modifikasiya oluna bilər. Sifona təkrar-təkrar toxunmaq qəlsəmənin vərdiş adlanan çəkilməsi refleksinin amplitudasının azalmasına səbəb olur. Əksinə, quyruğa elektrik çarpması kimi zərərli stimulun verilməsi qəlsəmə ilə çəkilən refleksin amplitudasının həssaslaşma (sensitizasiya) adlanan artmasına səbəb olur. Vərdiş və həssaslaşma stimulun gücündən və müddətindən asılı olaraq keçici və ya uzunmüddətli ola bilər. Aşkar edilmişdir ki, vərdişin və həssaslığın uzunmüddətli forması, sensor neyronları ilə motor neyronlar arasında əlaqələrin sayının uyğun olaraq dramatik azalmasına və artmasına səbəb olur. Bu yolla, məhz Ramón y Kajalın proqnozlaşdırdığı kimi, heyvanın təcrübəsi onun sinir sistemi şəbəkəsini dəyişdirir, bununla da yaddaşı kodlaşdıraraq heyvanın davranışını dəyişir.

Hipokampus Yaddaşın Formalaşması Üçün Tələb Olunur

Aplysia-da və *Drosophila melanogaster* və siçan kimi başqa model orqanizmlərdə aparılan tədqiqatlar təcrübədən-asılı olan sinaptik plastikliyin əsasında duran çox molekulyar mexanizmləri aşkar etməyə başladı. İnsanlarda kliniki tədqiqatlar, eləcə də heyvanlarda eksperimental tədqiqatlar göstərdilər ki, hipokampus uzunmüddətli yaddaşın əmələ gəlməsi üçün tələb olunur. Hipokampusu yaralanan insan və heyvanlarda qısa müddətli yaddaş yaranma bilir və köhnə yaddaşlarını saxlaya bilirlər, amma yeni uzun-müddətli yaddaş yarıda bilmirlər. Hipokampus yalnız uzun-müddətli yaddaşın yaranması üçün kritik deyildir, eyni zamanda onun anatomiyası onu xüsusilə sinaptik əlaqələrin elektrofizioloji tədqiqatları üçün yararlı edir. Şəkil 22-42-də göstəriləyi kimi, hipokampus üç ardıcıl yoldan (perforant, mamırlı liflər və Şaffer kollateral yollar) təşkil olunub və hər biri diskret hüceyrə cismi təbəqəsindən, həmçinin aksonal və dendrit proyeksiyalardan təşkil olunub. Bu yolların hər birində presinaptik neyronların aksonlarının yüksək tezlikli stimullaşması post-sinaptik neyronlara **uzun-müddətli potensallaşma (long-lasting potentiation – LTP)** adlanan uzun-müddətli möhkəmlənmiş əlaqəni yaradır, halbuki aşağı-tezlikli stimullaşma əlaqənin

uzun-müddətli depressiya (LTD) adlanan uzun-müddətli zəifləməsini yaradır.

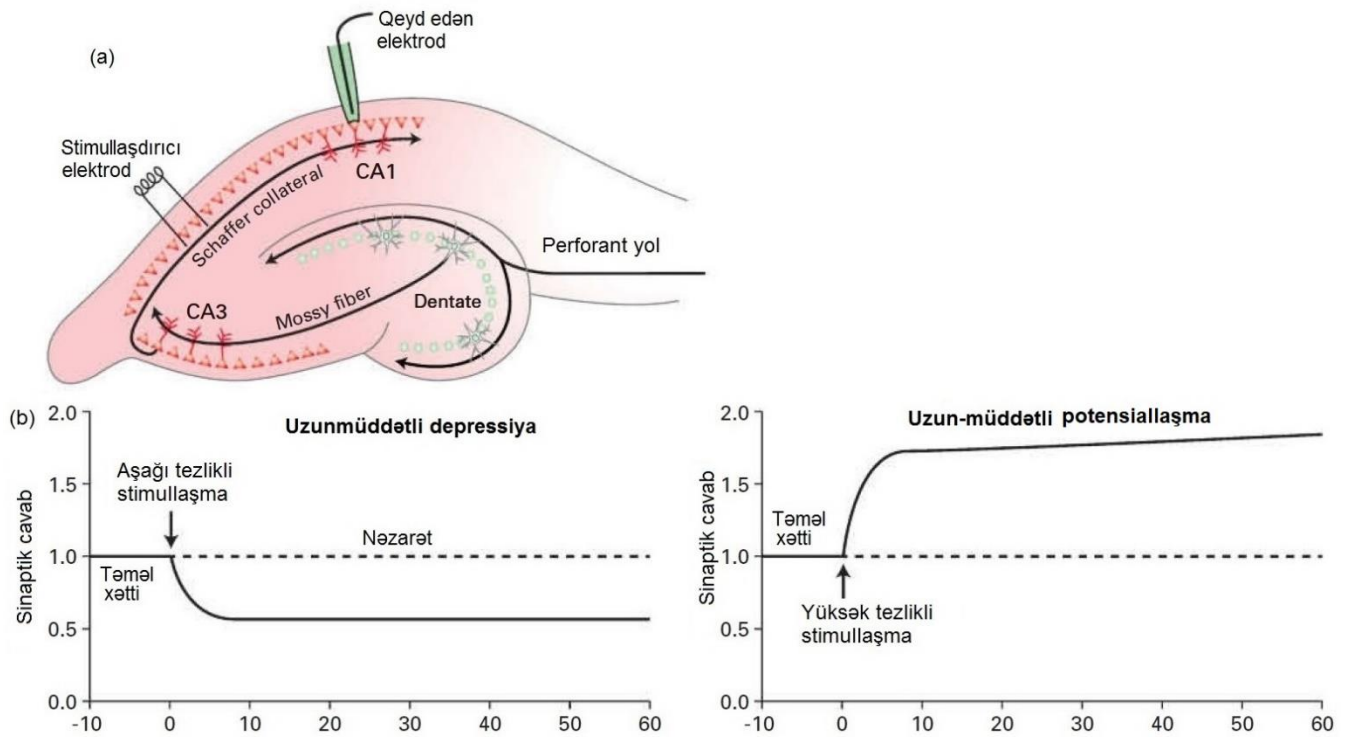
Tədqiqatların çoxu LTP, LTD və yaddaş arasında korrelyasiyanı göstərsə də, 2013-cü ildə optogenetik tədqiqatlar yaddaşın yaranmasında sinaptik plastikliyin səbəb olması rolunu nümayiş etdirməyə müvəffəq oldu. Bunu etmək üçün tədqiqatçılar siçanda hipokampus neyronlarında kanalrodopsini ekspressiya etdilər və LTP-ni induksiya etmək üçün neyron işıqla stimullaşdırıldı. LTP-nin induksiyası siçanın yalnızca yaddaşı mənimsəməsinə səbəb oldu, bu zaman onlar hətta heç bir döyüş stimulusuna rastlaşmadıqları mühitdə ətraf mühitə qarşı qorxu nümayiş etdirdilər.

Çoxsaylı Molekulyar Mexanizmlər Sinaptik Plastikliyə Kömək Edirlər

Təcrübənin sinaptik gücü necə dəyişdirə biləcəyini nəzərə alaraq, kimyəvi sinapsın quruluşu haqqında və 22.3 bölməsində

təsvir olunan sinaptik ötürülmə prosesi haqqında düşünmək sərfəli olardı. Göstərilmişdir ki, plastikliyin uzun-müddətli dəyişilmələri neurotransmitterin buraxılmasında, trans-sinaptik adgeziyada (yapışqanlıq) və neurotransmitterlərə postsinaptik cavablarda presinaptik dəyişilmələri əhatə edir. Biz qısaca olaraq pre- və trans-sinaptik mexanizmlərə toxunacağıq, sonra isə artıq dərinliklərinə qədər öyrənilmiş presinaptik mexanizmləri bir az dəqiqliklə araşdıracağıq.

Hipokampal neyronları stimullaşdıran təcrübələr hüceyrədaxili kalsium miqdarını qaldırır, o isə öz növbəsində, sinaptik qovucuqları presinaptik kompartiment daxilində diskret **toplanmalarda (pools)** təşkil edən molekullar olan sinapsinləri fosforlaşdıran kinazaları fəallaşdırır. Sinapsinlərin fosforlaşması buraxılmaq üçün hazır olan sinaptik qovucuqların sayını artırır, bununla da, verilmiş stimullarla buraxılan neurotransmitterlərin miqdarını artırır. Təcrübə həmçinin, gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanallarına bağlanan RIM molekulunu fosforlaşdıran kinazaları fəallaşdırır və bu fosforlaşma hipokampal sinapsların LTP-si üçün tələb olunur.



ŞƏKİL 22-42 Siçanın hipokampusunda sinaptik plastiklik: uzun-müddətli potensiallaşma (LTP) və uzun-müddətli depressiya (LTD). (a) Siçanın hipokampusu siçan beyininin kəsiyindən üç ardıcıl presinaptik yolu saxlamaqla köndələn dilimlərlə ayrılı bilər. Perforant yolda, aksonlar dişli dənəvər hüceyrələrin (yaşıl dairelər) dendritlərində sinapsları əmələ gətirmək üçün entorinal qabıqdan uzanıb qabağa çıxır, mamırlı lif yolunda dişli dənəvər aksonlar CA3 piramidal neyronların (qırmızı üçbucaqlar) dendritlərində sinaps əmələ gətirir, Şafer kollateral yolda isə CA3 aksonları CA1 piramidal neyron (qırmızı üçbucaqlar) dendritlərində sinaps əmələ gətirir. Dişli dənəvər hüceyrələr (yaşıl) və CA3 və CA1 piramidal hüceyrə cismələri (qırmızı)

aksonları və dendritləri müəyyən edilmiş yollara proyeksiya edən diskret somatik təbəqəni əmələ gətirirlər. Şafer kollateral (CA3-CA1) yolunda göstəriləndiyi kimi, elektrodlar aksonal afferentləri stimullaşdırmaq üçün və postsinaptik hüceyrələrdən qeydləri aparmaq üçün istifadə edilir. (b) Aşağı tezlikli stimullaşmanın və ya yüksək-tezlikli stimullaşmanın aksonal liflər üzərində məşqləri test (yoxlama) stimullarının postsinaptik cavabı kimi ölçülən sinaptik gücün davamlı azalmalarını və ya artmalarını əmələ gətirir. Plastikliyin bu forması uzun-müddətli depressiya (LTD) və uzun-müddətli potensiallaşma (LTP) kimi məlumdur. Bax V. M. Ho, J. A. Lee, and K. C. Martin, 2011, *Science* **334**:623–628

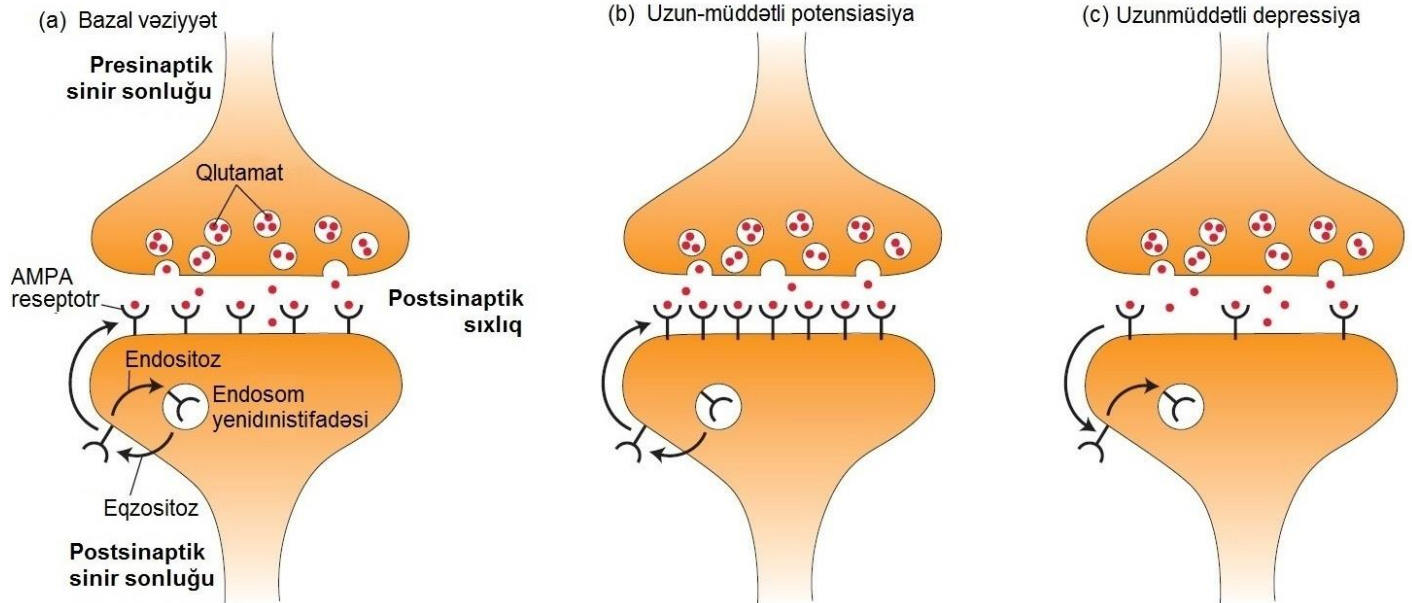
Trans-sinaptik molekularda təcrübədən asılı olan dəyişmələr plastikliyə də təsir edə bilər. Göstərilmişdir ki, hipokampal öyrənmə tapşırıqları polisial turşu hissələrinin sinapslarda **Sinir Hüceyrə Adgeziya Molekullarına (NCAM)** əlavə edilməsini artırır. NCAM-in polisiallaşmasının artması onun homofil adgeziyasını azaldır və guman olunur ki, bu yeni sinaptik remodeling və böyümə üçün lazımdır.

Sinaptik plastiklik postsinaptik kompartmentdəki kinazaların fəallaşmasından da asılıdır. Ca^{2+} -un gərginliklə-nizamlanan Ca^{2+} kanalları vasitəsilə daxilə axması və postsinaptik membranlarda spesifik qlutamat reseptorları xüsusilə mühüm bir kinazanı – Ca^{2+} -kalmomodulin-ə-asılı kinaza $II\alpha$ -nı (Cam $II\alpha$, Ca^{2+} -kalmomodulin siqnal ötürülməsinin müzakirəsi üçün bax Fəsil 15) fəallaşdırır. Bu kinazanın xüsusi bir xassəsi vardır, fəallaşdıqdan sonra, o hətta kalmomodulin olmadan belə davamlı şəkildə fəal qalır. Bu ona görə belədir ki, fəallaşdıqdan sonra Cam $II\alpha$ özü-özünü avtofosforlaşdırır, bu da onu 30 dəqiqəyə qədər müddətdə konstitutiv fəal saxlayır, bu müddət ərzində kinaza postsinaptik kompartmentdə çox substratları, o cümlədən qlutamat reseptorlarını fosforlaşdırır. Qlutamat reseptorlarının fosforlaşması, aşağıda təsvir edildiyi kimi, onların keçiriciliyini və yerləşməsini tənzimləyir. Cam $II\alpha$ -dan məhrum olan siçan həm hipokampusda LTP-nin həm də yaddaşın formalaşmasında qüsurlu olur.

Fəsil 15-də müzakirə olunduğu kimi, hüceyrənin xarici siqnallara həssaslığı səth reseptorlarının sayı ilə təyin olunur. Bu konsepsiya ilə bir sırada, sinaptik plastikliyin əsasında duran yaxşı öyrənilmiş mexanizmlərdən birinə postsinaptik membranlarda mövcud olan qlutamat reseptorunun sayının fəallıqdan-asılı olan dəyişməsi daxildir. Bu proses xüsusən hipokampusun LTP və LTD kontekstində yaxşı öyrənilmişdir

(Şəkil 22-43). Qlutamat reseptorlarının əsas siniflərindən AMPA reseptorlar adlanan biri təkrar istifadə olunan endosomlar vasitəsilə plazma membranına və plazma membranından konstitutiv hərəkət edir. AMPA reseptorları eqzositoz vasitəsilə sinapsı xarici saytlara çatdırılır və sonra sinaptik yarığa baxan postsinaptik saytın zülallarla sıx rayonu olan postsinaptik terminal tərəfindən buraxılan neyroötürücüləri qəbul edirlər. Reseptorlar sinapsxarici saytlara lateral diffuziya edəndə, AMPA reseptorlar endositoz yolu ilə uzaqlaşdırılır və sonra klatrinlə-vasitələnen dinamindən-asılı olan endositoz yolu ilə daxilə mənimsənilir.

AMPA reseptorunun hərəkəti bazal şərait altında baş verdiyindən, o aktin və myozin dinamikasının dəyişməsi fəallığı ilə, həmçinin AMPA reseptorun skafolt zülallarla və köməkçi subvahidlərlə qarşılıqlı təsiri ilə modulyasiya olunur. Bu köməkçi subvahidlərdən biri olan *Starqazin* AMPA reseptorları ilə postsinaptik sıxlıq zülalı PSD95 arasında qarşılıqlı təsiri həyata keçirir. Bu qarşılıqlı əlaqə sinapslarda AMPA reseptorlarının lokalizasiyası üçün çox əhəmiyyətlidir, çünki PSD95 ilə qarşılıqlı əlaqə postsinaptik sıxlıq daxilində AMPA reseptorunun lokalizasiyasını stabilləşdirir. Fəallıq Starqazində fosforlaşmaya səbəb olur, AMPA reseptorların hərəkətliyini azaldır və sinapslarda onların qatılığını artırır. Starqazinin fosforlaşmasının və defosforlaşmasının blok olunması uyğun olaraq hipokampusun LTP və LTD reseptorlarını blok edir. Starqazinin *transmembran AMPA reseptor tənzimləyici zülallar (TARP)* ailəsinin biridir. TARP-lar bütün AMPA reseptor subvahidlərinə birləşir, beyin boyu differensial ekspressiya olunur və AMPA reseptorlarının neyron sinapslarına və səthinə çatdırılmasında iştirak edir.



ŞƏKİL 22-43 Hipokampus LTP və LTD zamanı AMPA qlutamat reseptorlarının hərəkəti. Bazal vəziyyətində AMPA reseptorları (qara) endosomların yenidən istifadəsi ilə konstitutiv olaraq postsinaptik kompartmentin plazma membranına doğru və plazma membranından hərəkət edirlər. Reseptorlar eqzositoz yolu ilə

postsinaptik sıxlığa lateral olaraq plazma membranına çatdırılır və klatrinlə-vasitələnen endositoz yolu ilə yenidən istifadə olunan endosomlar daxilinə mənimsənilir. Postsinaptik sıxlıqda AMPA reseptorları zülallarla, o cümlədən transmembran AMPA reseptorunu tənzimləyən zülallarla (TARPs, göstərilmir) qarşılıqlı əlaqəyə əsasən

stabiləşirlər. (b) Qlutamatergik sinapslarda uzun-müddətli potensiallaşmanın (LTP) induksiya olunmasının ardınca AMPA reseptorların eozositozu güclənir və onların postsinaptik sıxlığı diffuziyası olunması artır. Bu postsinaptik membranda AMPA reseptorların sayının artması ilə və presinaptik neyronlardan buraxılan qlutamatın verilmiş miqdarına qarşı postsinaptik cavabın yüksəlməsi ilə nəticələnir. (c) Qlutamatergik sinapsların uzun-müddətli depressiyanın (LTD) induksiya olunmasının ardınca, AMPA reseptorların postsinaptik sıxlıqdan kənara diffuziyası və onların

Uzun-Müddətli Yaddaşın Əmələ Gəlməsi Gen Ekspressiyasını Tələb Edir

Yuxarıda təsvir olunan mexanizm qısa-müddətli yaddaşın əsasında duran plastikliyin qısa-müddətli forması üçün xüsusilə əhəmiyyətlidir. Qısa-müddətli plastikliyin və qısa-müddətli yaddaşın formalaşması sinapslarda artıq mövcud olan zülalların modifikasiyası hesabına olduğu halda, uzun-müddətli yaddaşların formalaşması onların yeni gen ekspressiyasından asılı olmaları ilə fərqlənir. Buna Fəsil 15-də müzakirə olunan hüceyrəxarici stimullaşmanın müxtəlif təsirlərinin kontekstində baxıla bilər: stimula artıq hüceyrədə mövcud olan fermentlərin və zülalların fəallığını dəyişməklə qısa-müddətli dəyişikliyi və ya hüceyrədə olan genlərin ekspressiyasını dəyişərək (bax Şəkil 15-1) uzunmüddətli funksional dəyişiklikləri yarada bilər. Çox sistemlərdə və çox növlərdə, o cümlədən gəmiricilərin hipokampusunda aparılan tədqiqatlar nümayiş etdirdi ki, LTP və LTD plastikliyin gen ekspressiyasını tələb etməyən keçici formalarına və mRNT ilə zülal sintezini tələb edən uzun müddətli formalarına (L-LTP və L-LTD) bölünə bilərlər.

Neyronların güclü morfoloji polyarlığı və kompartmentlərə ayrılması stimullarla-induksiya olunan gen ekspressiyasındakı dəyişikliklərə əhəmiyyətli dərəcədə çətinlikləri əlavə edir. Birincisi, çox hallarda hüceyrə cismindən böyük məsafədə yerləşən transkripsiyayı işə salmaq üçün siqnal sinapslardan nüvəyə ötürülməlidir. Neyronlar elektrik siqnalı vasitəsilə kompartmentlər arasında cəld siqnal ötürülməsi üzrə ixtisaslaşmışlar və həqiqətən də təsir potensialı hüceyrə cismində gərginliklə nizamlanan Ca^{2+} kanallarının açılmasını işə sala bilər və siqnal sürətlə somatik plazma membrandan nüvəyə ötürülür. Amma, çox tədqiqatlar göstərmişdir ki, kinazalar, fosfatazalar və transkripsiya tənzimləyiciləri daxil olmaqla siqnal molekulları transkripsiyayı tənzimləmək üçün stimullaşmış sinapslardan nüvəyə daşınırlar. Göstərilmişdir ki, çox hallarda, bu uzun məsafədən olan geriyyə qayıdan nəqliyyata mikroborucuqlar boyu dinein motor zülalları ilə vasitələnən nəqliyyat daxil olur (Fəsil 18-də təsvir edildiyi kimi). Sinaptik stimullaşmanı gen ekspressiyası ilə birləşdirmək üçün siqnalın belə uzun-məsafəli daşınma zamanı necə dəqiq saxlanılması fəal tədqiqat sahəsidir.

Sinaptik plastiklik zamanı stimulla induksiya olunan gen ekspressiyasının başa düşülməsindəki ikinci böyük çağırış hər bir neyronun tək bir nüvəyə malik olmasına baxmayaraq minlərlə sinaps əmələ gətirə bilməsi faktından meydana gəlir. Sinaptik plastikliyin uzun-müddətli formaları tez-tez hallarda "sinaps-spesifik" olurlar, ona görə də onlar tək bir neyron tərəfindən əmələ gəlmiş sinapsların hamısının deyil müəyyən bir hissəsinin dəyişilməsini əhatə edirlər. Uzun-müddətli plastiklik gen ekspressiyasını tələb etdiyindən sinaps spesifikliyi belə bir

yenidən istifadə olunan endosomlar daxilinə mənimsənilməsi artır. Bu postsinaptik membranlarda AMPA reseptorların sayının azalması və presinaptik neyronlardan buraxılan qlutamatın verilmiş miqdarına postsinaptik cavabın azalması ilə nəticələnir. AMPA reseptorlarının tənzimlənən hərəkəti, yaddaşı və plastikliyi müşayət edən sinaptik gücdəki fəallıqdan-asılı olan dəyişilmənin əsasında duran bir molekulyar mexanizmi təmin edir. Bax J. D. Shepherd and R. L. Huganir, 2007, *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* **23**:613–643.

sual qoyur ki, gen ekspressiyası bu cürə yüksək dərəcədə kompartmentlərə bölünmüş hüceyrələrdə məkəncə necə tənzimlənə bilər. Bir mühüm mexanizm, bizim Fəsil 10-da müzakirə etdiyimiz kimi, mRNT-lərin lokalizasiyasını və onların sinaptik stimullara qarşı cavab olaraq lokal translyasiyasını əhatə edir. Həqiqətən də, göstərilmişdir ki, hipokampal sinapslarda L-LTP dendritlərdə və sinapslarda yerləşən mRNT-nin translyasiyasını tələb edir. Elektron mikrofotolar ilə aparılan tədqiqatlar hipokampal neyronların çıxıntılarının özülündə poliribosomları, fəal translyasiya edən ribosomları identifikasiya etdi və sonra da göstədi ki, poliribosomlara nəzarət edən çıxıntılarının sayı L-LTP-nin induksiyasından sonra güclü artır. Birlikdə bu tədqiqatlar diqqəti sinaptik plastiklik zamanı neyronlarda posttranskripsiya gen tənzimlənməsinin əhəmiyyətinə və mRNT-nin lokalizasiyası və tənzimlənən translyasiyası üzrə əsas suallara yönəldir: Sinapslarda hansı mRNT-lər yerləşmişlər? Onlar necə yerləşmişlər? Onların translyasiyası sinaptik fəallıqla necə tənzimlənir? Lokal translyasiya olunmuş zülallarda spesifik funksiya nədən ibarətdir? Nəyə görə bəzi mRNT-lər neyronal hüceyrə cismində zülal translyasiya olunur və sonra sinapslara daşınır, digərləri isə birbaşa sinapslarda translyasiya olunurlar?



Sinir sisteminin düzgün fəaliyyəti üçün post-transkripsiya gen tənzimlənməsinin əhəmiyyətinin göstəricisini, RNT birləşdirən zülaldə olan mutasiyalar, gövrək X mental (zəka) geriliyi zülalı, FMRP, mental ləngimənin ümumi forması, gövrək X sindromu (FXS), həmçinin daha ümumi olan autizmin yaranmasına bir genin səbəb olması təşkil edir. FXS-in əmələ gəlməsinə səbəb olan FMRP genində daha çox rast gəlinən CGG təkrarlarının artmasıdır, bu bizim Fəsil 6-da Hantinqton xəstəliyində təsvir etdiyimiz kimi, genin metilləşməsinə və susmasına səbəb olur. FMRP translyasiyanın repressorudur, hədəf mRNT ilə birləşərək onun translyasiyasına mane olur. FMRP populyasiyası dendrit çıxıntılarının özülünə lokalizasiya olunur, guman olunur ki, burada o, mRNT-lərin translyasiyasını sinaptik stimullaşma işə salana qədər onları yatmış vəziyyətdə saxlayır. FMRP-dən məhrum olan genetik modifikasiya olunmuş siçan insan xəstəliyünün öyrənilməsi üçün çox yaxşı modeli təşkil edir. Bu siçan öyrənmədə çatışmazlıq göstərir, FXS xəstələrdəki intellektual çatışmazlığı əks etdirir. Siçan və insanlar hər ikisi öz sinaptik çıxıntılarının quruluşunda anormallığa malikdirlər, yəni yetişmiş çıxıntı kimi kötükvari olmaq əvəzinə yetişməmiş çıxıntı (spine) kimi uzanmış olurlar. Siçanlarda aparılan tədqiqatlar sinapslarda mRNT-nin həddən artıq bazal translyasiyasını aşkar etdi və daha sonra hipokampal LTD-nin zülal-sinaps-ashlıq formasının dəyişildiyini göstərdi.

Bu kəşflər birlikdə göstərilir ki, lokallaşmış mRNT-lərin sinaptik translyasiyası neyronal sxemlərin formalaşmasında və onların təcrübə-spesifik plastikliyində kritik əhəmiyyətlidir və bu prosesdə dəyişiklik neyronal inkişafın və dərkətmənin pozulmasıdır. ■

22.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Yaddaşın Formalaşması və Saxlanması

- Təcrübə plastiklik kimi məlum olan proseslə beyində neyronlar arasında əlaqənin sinaptik gücünü və sayını dəyişir. Sinaptik plastiklik yaddaşın əmələ gəlməsinin xə saxlanılmasının bioloji əsaslarını təmin edir.
- Dəniz molyusku *Aplysia californica*-da qəlsəmə dartılması refleksinin vərdişi və həssaslaşmasının öyrənilməsi öyrənmənin sinaptik əlaqələrdə dəyişiklik olduğunu göstərdi. Vərdiş sensor və motor neyronlarında əlaqə zəifləməsidir və qəlsəmə-çəkilməsi refleksinin yaranmasına səbəb olur, halbuki həssaslaşmada sensor-motor əlaqələri güclənir (Şəkil 22-41).
- Hipokampus beyinin uzun-müddətli yaddaşın əmələ gəlməsi üçün lazım olan rayondur (Şəkil 22-42). Hipokampal sinapslar sinaptik güclənmənin uzun-müddətli potensiallaşma (LTP) adlanan fəallıqdan-asılı olan

Açar Sözlər

akson
Aqrin
astrositlər
dad (tastant)
dad reseptoru
dendritlər
depolyarlaşma
sıçrayışabənzər keçiricilik
endositoz
təsir potensialı
gərginliklə-nizamlanan kanal
həyacanlandırıcı reseptor
hiperpolyarlaşma
hipokampus
ingibirləşdirici reseptor
interneyron
qlial hüceyrələr
kələf (glomeruli)
qlutamat reseptoru
qoxu reseptorları

Konsepsiyalara Baxış

1. Beyində və sinir sisteminin başqa hissələrində qlianın rolu nədən ibarətdir?
2. Neyronların sakitlik potensialı hüceyrə xarici ilə müqayisədə daxilə təxminən -70 mV-dur. Heyvan hüceyrələrində sakitlik potensialı necə saxlanılır?

formasına və sinaptik-zəifləmənin uzun-müddətli depressiya (LTD) adlanan fəallıqdan asılı olan formasına məruz qalırlar.

- Sinaptik gücdəki dəyişilmələr presinaptik, transsinaptik və postsinaptik mexanizmlərlə həyata keçirilir.
- Fəallıq postsinaptik kompartimentdə CamKII α -nın fəal formasını yaradır, bu da qlutamat reseptorlar da daxil olmaqla postsinaptik sıxlıqdakı substratları fosforlaşdırır. CamKII α -dan məhrum olan siçan yaddaşında və hipokampal LTP-də qüsurlara malikdir.
- Fəallıq postsinaptik membranlarda AMPA qlutamat reseptorlarının hərəkətini nizamlayır. LTP postsinaptik sıxlıqda AMPA reseptorların daxil edilməsinin (insersiyasının) artması ilə müşayət olunur, LTD isə postsinaptik sıxlıqda AMPA reseptorların qatılığının azalması ilə müşayət olunur (Şəkil 22-43).
- Sinaptik plastikliyin qısa-müddətli formalarına sinapslarda artıq mövcud olan zülallardakı dəyişilmələr daxildir, amma uzun-müddətli formalar yeni mRNT-lərin və zülalların sintezini tələb edir.
- Plastikliyin sinaps-spesifik formaları sinaptik lokallaşmış mRNT-lərin lokal translyasiyasını əhatə edir.
- Gövrək X sindromunun yaranmasına RNT-birləşdirən zülal FMRP-ni kodlaşdıran gendə "null" mutasiyalar səbəb olur. FMRP sinapslardakı lokal translyasiyanı tənzimləyir. FMRP-dən məhrum olan siçan anormal sinapslara malik olurlar, öyrənmək zəifliyi və hipokampal LTD çatışmazlığını nümayiş etdirirlər

liqandla-nizamlanan kanal
motor neyronu
MuSK
myelin təbəqə
neyro-əzələ qovşağı
neyronlar
neyroötürücülər (neurotransmitterlər)
nosiseptorlar
odorantlar
oliqodendritlər
optogenetika
Ranvier buğumu
refraktor (əksetdirmə) dövrü
repolyarlaşma
sensor neyronları
sinaps
sinapsın yox edilməsi
sinaptik qovucuqlar
sinaptik plastiklik
Şvann hüceyrələri

3. Təsir potensialının üç fazasını adlandırın. Bunların hər birinin molekulyar əsaslarını və daxil olan ionları təsvir edin. Nəyə görə Na⁺ kanallarında işləyən *gərginliklə-nizamlanan kanal* təsir potensialının yaranmasında iştirak edir?
4. Kalium ionu kanalının kristal quruluşunun ion kanallarını açıb qapamaq üçün gərginlik-hiss edən domenlərin zülalın başqa hissələri ilə qarşılıqlı əlaqədə olması yolunu necə

göstərdiyini izah et. Bu quruluş-funksiya münasibətləri digər gərginliklə-nizamlanan ion kanallarına necə tətbiq edilə bilər?

5. Akson boyu hərəkət edərək təsir potensialının gücünün nəyə görə azalmadığını izah et.
6. Hərəkət potensialı zamanı membran potensialının artmaqda davam etməsini, əksinə platoya çıxmasını və sonra da azalması səbəblərini izah et.
7. Fəaliyyət potensialları "hamısı və ya heçbiri"dir deyilməsi nə deməkdir?
8. Sinir siqnallarının "geriyə", hüceyrə cismi istiqamətində hərəkətinə nə mane olur?
9. Əgər hüceyrə refleks dövründə stimullaşarsa nəyə görə başqa bir təsir potensialını inisiasiya edə bilmir?
10. Myelinləşmə təsir potensialının akson boyunca yayılmasının sürətini artırır. Myelinləşmə nə deməkdir? Myelinləşmə gərginliklə-nizamlanan Na^+ kanallarının və Na^+/K^+ nasoslarının akson boyu Ranvier qovşaqlarında klaster əmələ gətirməsinə səbəb olur. Ranvier qovşaqları arasında məsafəni artırmağın təsir potensialının yayılmasının nəticələrini 10 faktorla qiymətləndirin.
11. Kokain kimi asılılıq yaradan dərmanların fəaliyyət mexanizmini təsvir edin.
12. Asetilxolin sinapslarda buraxılan çox rast gəlinən neyroötürücüdür. Sinir-əzələ sinapslarında asetilxolin esteraza fəallığının azalmasının əzələlərin fəallaşdırılması üçün nəticələrini təyin edin.
13. Əzələ yığılması prosesinin ion dinamikasını təsvir edin.
14. Stimullaşmış hüceyrələrdə təsir potensialının gəlib çatmasının ardınca sinaptik qovucuqlar presinaptik membranla sürətlə qovuşur. Bu 1 ms müddətdən tez baş verir. Bu prosesin belə yüksək sürətlə baş verməsinə hansı mexanizmlər imkan verir?
15. Neyronlar, xüsusən də beyində olanlar çoxsaylı həyacanlandırıcı və ingibitor siqnalları alır. Neyronun belə siqnalları qəbul edən çıxıntısının adı nədir? Neyron təsir potensialını yaratmağın lazım olub olmamasını təyin etmək üçün bu siqnalları necə inteqrasiya edir?
16. İngibitor sinapsı vasitəsilə ötürülən təsir potensialının postsinaptik hüceyrələrə yayılmasına mane olan mexanizmi izah et.
17. Sinaptik qovucuqların yenidən istifadəyə gəlməsində dinaminin rolu nədən ibarətdir? Bunu hansı dəlillər sübut edir?
18. Elektrik və kimyəvi sinapsları müqayisə et və qarşı-qarşıya qoy.
19. Duzlu və turş dad üçün reseptor molekullarının, şirinlik, acılıq və umami dadları üçün reseptor molekullarının və qoxu reseptor molekullarının quruluşunu və funksiyasını müqayisə et.
20. Yaddaşın əsasında duran sinaptik mexanizmi təsvir et.

İstifadə Olunan Ədəbiyyat

Neuronlar və Qlia: Sinir sisteminin Quruluş Bloklarındır

<http://braininitiative.nih.gov/index.htm>

- Allen, N. J., 2014. Astrocyte regulation of synaptic behavior. *Annu. Rev. Dev. Cell Biol.* **30**:439–463.
- Khakh, B., and M. Sofroniew. 2015. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nat. Neurosci.* **18**:942–952.

Kriegstein, A., and A. Alvarez-Buylla. 2009. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu. Rev. Neurosci.* **32**:149–184.

Paradaen, J. T. M. L., and W. B. Huttner. 2014. Neurogenesis during development of the vertebrate central nervous system. *EMBO Rep* **15**:351–364.

Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları və Təsir Potensiallarının Yayılması

- Catterall, W. A. 2014. Structure and function of voltage-gated sodium channels at atomic resolution. *Exp. Physiol.* **99**:35–51.
- Hille, B. 2001. *Ion Channels of Excitable Membranes*, 3rd ed. Sinauer Associates. Jouhaux, E., and R. Mackinnon. 2005. Principles of selective ion transport in channels and pumps. *Science* **310**:1461–1465.
- Long, S. B., X. Tao, E. Campbell, and R. MacKinnon. 2007. Atomic structure of a voltage-dependent K^+ channel in a lipid membrane-like environment. *Nature* **450**:376–382.
- Neher, E., and B. Sakmann. 1992. The patch clamp technique. *Sci. Am.* **266**:28–35.
- Steinberg, E. E., D. J. Christoffel, K. Deisseroth, and R. C. Malenka. 2015. Illuminating circuitry relevant to psychiatric disorders with optogenetics. *Curr. Opin. Neurobiol.* **30**:9–16.

Sinapslarda Kommunikasiya

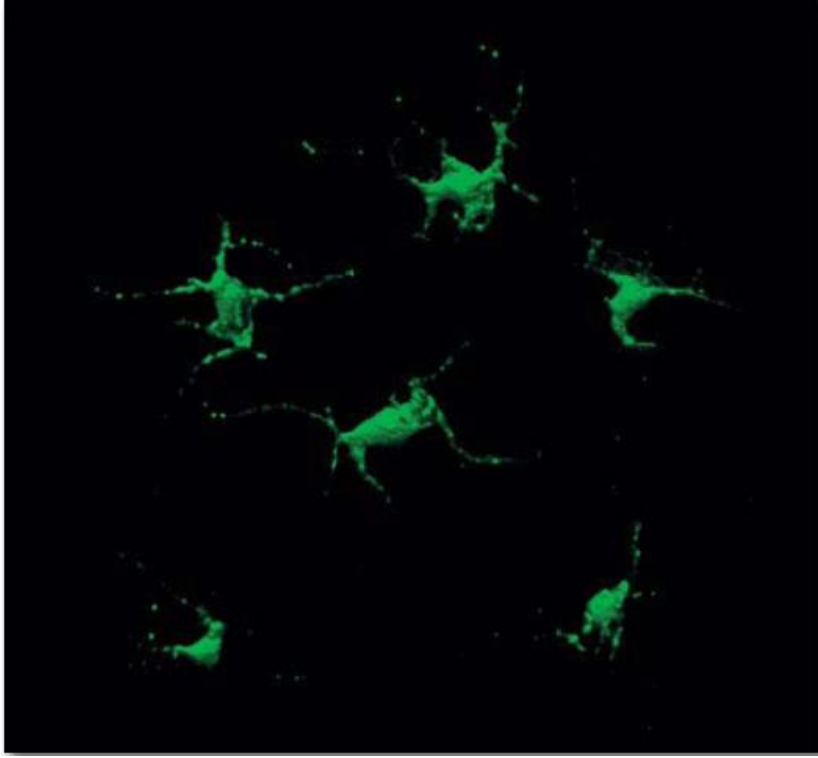
- Burden, S. J. 2011. Snapshot: neuromuscular junction. *Cell* **144**:826–826 e1.
- Shen, K., and P. Scheiffele. 2010. Genetics and cell biology of building specific synaptic connectivity. *Ann. Rev. Neurosci.* **33**:473–507.
- Sikso, L., A. Triller, and S. Marty. 2011. Ultrastructural organization of presynaptic terminals. *Curr. Opin. Neurosci.* **21**:261–268.
- Sudhof, T. C. 2013. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. *Neuron* **80**:675–680.
- Tang, L., et al. 2014. Structural basis for Ca^{2+} selectivity of a voltage-gated calcium channel. *Nature* **505**:56–62.
- Unwin, N. 2005. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **346**:967–989.

Ətrafın Hiss Edilməsi: Toxunma, Ağrı, Dad və Qoxu

- Buck, L., and R. Axel. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* **65**:175–187.
- DeMaria, S., and J. Ngai. 2010. The cell biology of smell. *J. Cell. Biol.* **191**:443–452.
- Liao, M., E. Cao, D. Julius., and Y. Cheng. 2013. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. *Nature* **304**:107–112.
- Volkers, L., Y. Mochioui, and B. Coste. 2015. Piezo channels: from structure to function. *Eur. J. Physiol.* **467**:95–99.
- Yamolsky, D. A., C. S. Zuker, and N. J. P. Ryba. 2009. Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell* **139**:234–244.
- Zimmerman, A., L. Bai, and D. D. Ginty. 2014. The gentle touch receptors of mammalian skin. *Science* **346**:950–954.

Yaddaşın Yaranması və Saxlanması

- Bailey, C. H., and E. R. Kandel. 2008. Synaptic remodeling, synaptic growth and the storage of long-term memory in *Aplysia*. *Prog. Brain Res.* **169**:179–198.
- Ho, V. M., J. A. Lee, and K. C. Martin. 2011. The cell biology of synaptic plasticity. *Science* **334**:623–628.
- Huganir, R. L., and R. A. Nicoll. 2013. AMPARs and synaptic plasticity: the last 25 years. *Neuron* **80**:704–717.
- Kandel, E. R., Y. Dudai, and M. R. Mayford. 2014. The molecular and systems biology of memory. *Cell* **157**:163–186.
- Nabavi, S., et al. 2014. Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* **511**:348–352.
- Ramirez, L., et al. 2013. Creating a false memory in the hippocampus. *Science* **341**:387–391.



Dəridə dendrit hüceyrələrinin səthində II sinif MHC molekulları vardır. Burada göstərilən yaşıl fluoressensiya verən II sinif MHC-GFP qovşaq zülalını ekspressiya etmək üçün yaradılmışdır. [Nəzakətlə M. Boes və H. L. Ploegh tərəfindən.]

İmmunologiya

İmmunitet patogenlərə məruz qalmanın zərərli təsirinə qarşı müdafiə vəziyyətidir. Sahib orqanizmin müdafiəsi müxtəlif formalarda baş verə bilər, bütün patogenlər isə immün sistemini tərkislah etmək yolu tapmalıdırlar və ya onu özlərinin xeyrinə manipulyasiya etməlidirlər. Ona görə də, sahib-patogen qarşılıqlı əlaqələri davam edən təkamül prosesləridir. Bu, olduqca inkişaf etmiş immün sisteminin təkamülünə baxmayaraq, patogen virusların, bakteriyaların və parazitlərin nəyə görə insan populyasiyası üçün təhlükə yaratmaqda davam etdiyini izah edir. Yoluxucu xəstəliyin çox yayılması sahib orqanizmin müdafiə sisteminin yaxşı işləməməsini göstərir. Faktiki olaraq, bütün patogenlər onların yoluxdurduqları sahib orqanizmlə müqayisədə daha qısa həyat dövrünə malikdirlər beləliklə, sahib orqanizmin immün sisteminə qarşı çəld və daha yaxşı inkişaf etmiş əks təsirləri yarada bilirlər. Qrip virusunun yeni ştammlarının əmələ gətirdiy yeni mövsümi epidemiyalar bunların nümunələrindən biridir.

İmmün sisteminin zamanla bu təsirləri nizamlayan, *adaptiv* (qazanılmış) *immün sistemi* adlanan bir hissəsi patogenlərin dəyişilmiş tiplərinə və çoxluğuna cavab olaraq dəyişilir. İmmün sisteminin *anadangəlmə immün sistemi* adlanan digər hissəsi hücumlara qarşı mane olmaq üçün sürətli yerləşdirmə qüvvəsi

kimi xidmət edir. Belə yaxşı inkişaf etmiş müdafiə baha başa gəlir: sürətlə inkişaf edən patogenlərin müxtəlif kütləvi kolleksiyası ilə qarşılaşan immün sistemi bəzən səhvlər edərək sahibin öz toxumasını patogen kimi qəbul edir və buna *autoimmün reaksiya* deyilir. Buna baxmayaraq, biz müxtəlif yolxucu xəstəliklərə qarşı müdafiə məqsədilə peyvəndləri yaratmaq üçün immün sisteminin işləmə prinsipini öyrənirik. Peyvəndlər əhəmiyyətli dərəcədə xərc-aparandır və çiçək kimi epidemiyaların bəlasının aradan qaldırılmasında öz töhfələrini vermişdir. Sahib orqanizmin müdafiəsi üç təbəqədən ibarətdir: (1) mexaniki və kimyəvi müdafiə, (2) anadangəlmə immün sistemi, (3) qazanılmış (adaptiv) immün sistemi (Şəkil 23-1). Mexaniki və kimyəvi müdafiə fasiləsiz şəkildə fəaliyyət göstərir. Həmişə mövcud olan, hüceyrələrin və molekulların daxil olduğu anadangəlmə immün cavabı sürətlə (dəqiqələr və ya saat ərzində) fəallaşır, amma onların müxtəlif patogenləri fərqləndirmək imkanı müəyyən qədər məhduddur. Bunun əksinə, yüksək dərəcədə spesifik olan qazanılan immün cavabı tam inkişaf etmək üçün bir neçə gün çəkir, ona görə də onlar çox yaxın olan patogenləri quruluşundakı çox kiçik molekulyar fərqlərə görə ayıra bilirlər.

İ C M A L

23.1 Sahib Orqanizmin Müdafiəsinə Ümumi Baxış

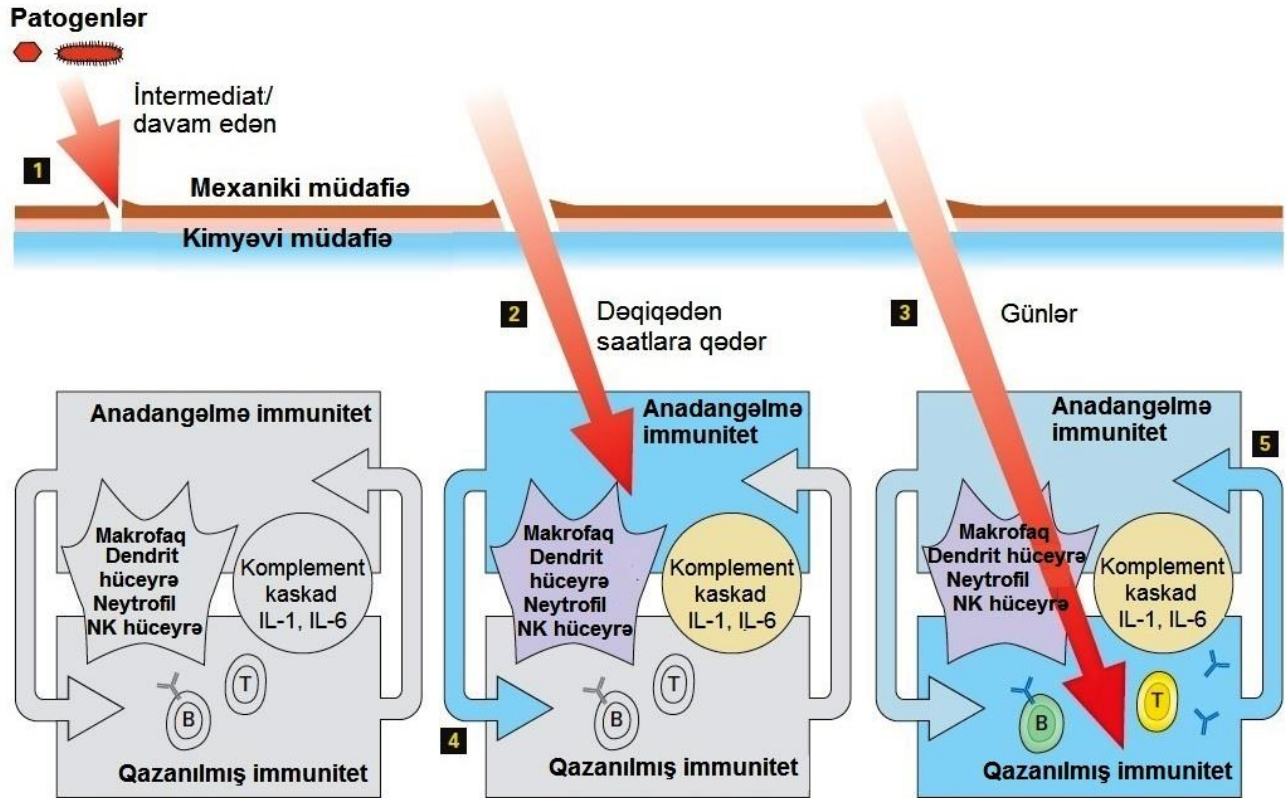
23.2 İmmunoqlobulinlər: Quruluşu və Funksiyası

23.3 Anticizm Müxtəlifliyinin Yaradılması və B-Hüceyrələrin İnkişafı

23.4 MHC və Antigenin Təqdimatı

23.5 T-Hüceyrələr, T-Hüceyrə Reseptorları və T-Hüceyrə İnkişafı

23.6 Qazanılmış İmmün Cavabında İmmün Sistemi Hüceyrələrinin Əməkdaşlığı



Şəkil 33-1 Onurğalılarda immun müdafiəsinin üç təbəqəsi. Kimyəvi müdafiəyə mədənin aşağı pH-ı və göz yaşının antibakterial fermentləri daxildir. Bu maneələr basqınlara qarşı fasiləsiz müdafiəni təmin edir. Patogenlər sahib orqanizmi yoluxdurmaq üçün fiziki olaraq bu müdafiəni yarmalıdır (pillə 1). *Ortada:* Kimyəvi və mexaniki müdafiələri yaran patogenlər (pillə 2) faqositoz hüceyrələrin (neutrofillərin, dendrit hüceyrələrin, makrofaqların) və təbii killer (NK) hüceyrələrin, komplementar patogenlərin və interleykinlərin (IL-1, IL-6) daxil olduğu anadangəlmə immun sisteminin (mavi) hüceyrələri və molekulları tərəfindən tutulur. Anadangəlmə müdafiə yoluxmadan sonra dəqiqədən saata qədər müddət ərzində fəallaşır. *Sağda:*

Bu fəsilə biz əsasən onurğalılarda immun sistemi ilə, xüsusilə də immun sistemini başqa hüceyrə tiplərindən və toxumalardan unikal fərqləndirən bu molekullara, hüceyrə tiplərinə, və metabolik yollara diqqət yetirməklə tanış olacağıq. Onurğalılarda immun sistemini xarakterizə edən dörd əhəmiyyətli xüsusiyyət onların *spesifikliyi, müxtəlifliyi, yaddaşı və tolerantlığıdır (dözümlülüğüdür)*. Spesifikliyi immun sisteminin bir-birinə çox yaxın olan maddələri (cisimləri) fərqləndirmək qabiliyyətidir. Müxtəliflik sistemin həddən artıq böyük sayda ($>10^6$) fərqli molekulları tanıyıb fərqləndirə bilmək qabiliyyətidir. Yaddaş sahib orqanizmə onun xarici cisimin təsirinə qarşı əvvəlki məruz qaldığını xatırlamaq, və növbəti dəfə onunla rastlaşanda özünü daha sürətlə və səmərəli şəkildə müdafiə etmək qabiliyyətidir. Tolerantlıq immun sisteminin sahib orqanizmin öz hüceyrələrinə və toxumalarına qarşı yaratdığı hücumdan yayınmaq qabiliyyətidir. Biz görəyik ki, immun sistemi spesifikliyə və müxtəlifliyə böyük sayda fərqli zülalları – anticismləri və hüceyrə-səth reseptorlarını yaratmaqla nail olur və bunların hər biri başqa molekullara deyil məhz hədəf patogen molekullara, yəqin ki, quruluşuna görə çox oxşar olan molekullara sıx şəkildə bağlana bilər. Yaddaş və tolerantlıq

Anadangəlmə immun sistemi tərəfindən təmizlənmə bilməyən patogenlər qazanılmış immun sistemi (pillə 3) tərəfindən, xüsusilə də B və T limfositlər tərəfindən işlənir. Qazanılmış immun sisteminin tam fəallaşması günlərlə müddəti tələb edir. Anadan-gəlmə immun sisteminin məhsulu gələcəkdə qazanılmış immun cavabına kömək edə bilər (pillə 4). Eyni şəkildə, anticismlər (Y şəkilli ikonalar) daxil olmaqla qazanılmış immun cavabının məhsulu anadangəlmə immuniteti gücləndirə bilər (pillə 5). Bir sıra hüceyrə tipləri və ifraz olunan məhsullar anadangəlmə və qazanılmış immun sistemləri arasında baryeri bağlayır və sahib orqanizmin bu iki təbəqəsini əlaqələndirmək rolunu oynayır.

kompleks hüceyrə sistemlərindən asılıdır, biz bunu təsvir edəyik. Onlar kütləvi şəkildə spesifik antigenlərin birləşdiyi müxtəlif hüceyrə-səth reseptorlarının yaradılması ilə həyata keçirilir. Bu reseptorlar öz molekullarını tanımaq və öz komponentlərini əsasən cavabsız qoymaq kimi “məşq etdirilmişdir” (özünə-tolerantlıq).

Praktiki baxımdan immunitet sisteminin gücü (imkanları) müalicə məqsədi ilə istifadə edilə bilər. Bu gün monoklonal anticismlərin milliardlarla-dollarlıq bazarı vardır, bunlar iltihab şəraitinin, autoimmun xəstəliklərinin və xərçəngin müalicəsində uğurla istifadə edilir. Qazanılmış immun sistemini təşkil edən molekullar – o cümlədən anticismlər – Fəsil 3 və 4-də gördüyümüz kimi, hüceyrə bioloqları üçün də əvəzolunmaz alətdir. Anticismlər onların dəqiqliklə tanıdıqları molekulların vizuallaşdırılmasına və ayrılmasına imkan verirlər. Onların belə etmək qabiliyyəti, hüceyrəni və onun orqanoidlərini təşkil edən komponentlərin dəqiq təsvirində və onların həm hüceyrədə həm də toxumada yerləşməsinin təyininə əvəzolunmazdır. Məsələn, *immunofluoressensiya* metodu hüceyrə morfoloqiyasının və davranışının tədqiqində hüceyrə bioloqları tərəfindən geniş istifadə edildiyi halda, *immunoblotting (Western blotting)* signal

ötürülməsinin öyrənilməsi üçün əvəzolunmaz alərtə çevrilmişdir.

İmmun cavabını yarada bilən istənilən material antigen hesab edilir. Bu xarici materialların tanınması və sıradan çıxarılması yolları immun sistemi üçün unikal olan molekulları və hüceyrə bioloji prinsiplərini əhatə edir. Biz bu fəsili məməlilərin immun sisteminin təşkilinin qısa öçerki ilə başlayırıq, anadangəlmə və qazanılmış immun cavablarının vacib oyunçularını təqdim edirik və immun sistemi hüceyrələrinin fəallaşmasına və onların təsir olunan sayta cəlb olunmasına səbəb olan yaralanmaya və yoluxmaya qarşı lokal cavabı, iltihabi təsvir edirik. Növbəti iki bölmədə, biz antigenin spesifik molekulyar xüsusiyyətinə birləşən **anticism** molekullarının (və ya *immunoqlobulinlərin*) quruluşunu və funksiyasını və anticism quruluşundakı dəyişkənliyin spesifik antigeni necə tanıdığına kömək etdiyini müzakirə edirik. Qazanılmış immun sistemi tərəfindən tanıma bilən antigenlərin hədsiz dərəcədə böyük müxtəlifliyi öz izahını antigen-spesifik tanınmanı həyata keçirən qan hüceyrələri E və T limfositlərin genetik materialın unikal yenidən-düzlənməsində tapır. Bu cürə gen yenidəntəşkili limfositlərdə antigen-birləşdirən reseptorların spesifikliyini dəyişməklə geniş müxtəliflikdə patogenlərə uyğunlaşmaya imkan yaradır, onlar həm də limfosit inkişafının gedişində hüceyrənin müqəddaratını təyin edir.

Baxmayaraq ki, B və T hüceyrələrdə antigen-spesifik reseptorları yaradan gen yenidəntəşkili mexanizmləri çox oxşardır, amma bu reseptorların öz antigenlərinə birləşməsi (tanınması) qaydası çox fərqlənir. B hüceyrələrdəki reseptorlar intakt antigenlərlə birbaşa əlaqə yarada bilir, amma T hüceyrələrdəki reseptorlar yarada bilmirlər. Əvəzində, 23.4 bölməsində təsvir edildiyi kimi, T hüceyrələrdəki reseptorlar antigenin kiçik peptidlərə bölünmüş və sonra hədəf hüceyrələrin səthində xüsusi hüceyrə-səth qlikozülalları tərəfindən ekranlaşdırılan və ya “təqdim olunan” prosess olunmuş formalarını tanıya bilir. Bu qlikozülallar genomun *histoloji uyğunluq kompleksi* (*major histocompatibility complex -MHC*) adlanan rayonundakı genlərlə kodlaşdırılır. Həmçinin, *MHC məhsulları* adlanan bu MHC-kodlaşdıran qlikozülallar sahib orqanizmə T və B hüceyrələrin antigenlərə cavabını təyin etməyə kömək edir.

İmmun sisteminin belə fundamental xassələrinin anlaşılması bir sıra praktiki sualların başa düşülməsinə imkan verdi: Yoluxdurucu agentlərə qarşı müdafiəni təmin edən anticismləri necə daha yaxşı yarada bilərik? Bizim laboratoriyada öyrənmək istədiyimiz zülallara spesifik olan anticismləri necə yetişdirə bilərik? Beləliklə, antigen prosessinqindəki biliklər və təqdimatlar həm yolxucu xəstəliklərə qarşı müdafiə olunmaq üçün peyvənd dizayn olunması, həm də tədqiqatlar üçün vacib olan alətlərin yaradılması üçün məlumat verir. MHC-kodlaşdıran qlikozülallar fərdin özünün yaratdığı antigenlərə qarşı da tolerantlığın inkişafında əsas rol oynayır. Biz fəsili patogenlərə qarşı immun cavabının inteqrasiya etdiyi baxış ilə yekunlaşdırırıq, səmərəli immun cavabı üçün tələb olunan fərqli immun-sistemi hüceyrələri arasında birgə fəaliyyəti (əməkdaşlığı) vurğulayırıq.

23.1 Sahib Orqanizmin Müdafiəsinə Ümumi Baxış

İmmun sistemi mikrobların mövcud olması ilə yaranıb inkişaf etdiyindən, onların bəziləri patogenlər olduğundan, biz sahib orqanizmin müdafiəsinə baxışlarımızı tipik patogenlərin harada tapılması və onların harada replikasiya etmələrindən başlayırıq. Sonra anadangəlmə və qazanılmış immunitetin əsas konsepsiyalarını, o cümlədən əsas hüceyrə və molekulyar iştirakçılarını təqdim edirik.

Patogenlər Orqanizmə Müxtəlif Yollarla Daxil Olur və Fərqli Saytlarda Replikasiya Edirlər

Patogenlərə məruz qalma müxtəlif yollarla baş verir. İnsanın dərisi özlüyündə 20 kvadrat fut (1.86 kvadrat metr) səth sahəsinə malikdir, hava yollarını, mədə bağırsaq traktını və cinsiyyət traktını əhatə edən epitelial səth isə çox böyük sahəni 4000 kvadrat fut (371.6 kvadrat metr) səth sahəsinə təşkil edir. Bütün bu səthlər hər gün ətraf mühitdə viruslara və bakteriyalara məruz qalır. Bu bakteriyalardan *kommensal bakteriyalar* adlanan bəziləri adətən xəstəlik əmələ gətirmir və faktiki olaraq sərfəlidirlər, əsas qidanın təmin olunmasında və sağlamlığın qorunmasında əhəmiyyətliyərlər. Belə guman olunur ki, istənilən zaman anında yetkin insan 3 pounda (1362 qram) qədər böyük miqdarda mikrobu daşıyır ki, biz bunların əksəriyyətinə qarşı iltihab reaksiyasını vermirik. Bu kommensal mikroblar bədənin xarici səthində olduqları müddətdə patogen deyillər. Amma, əgər bu səthi təşkil edən epitelinin normal baryer funksiyası zədələnməşsə onlar patogen ola bilərlər. Qidadan-doğan patogenlər və cinsi yolla keçən agentlər məruz qaldıqları epitelini hədəf edirlər. Qriplə yoluxmuş fərdin asqırması millionlarla virus zərrəciklərini aeroxollaşmış şəkildə, başqa yeni sahibin asanlıqla inhalyasiya edə biləcəyi şəkildə buraxır. Dərinin hətta kiçik sürtgüklərlə də olsa zədələnməsi və ya altındakı toxumaları müdafiə edən epitelial baryerin zədələnməsi patogenlərin daxil olması və sonra da qida maddələrinin (bakteriyalar üçün) zəngin olduğu mənbəyə çatması və replikasiya (viruslar üçün) etmək üçün tələb olunan hüceyrəyə çatması üçün asan yolu təmin edir.

Virusların replikasiyası sahib hüceyrənin sitoplazması və ya nüvəsi ilə məhdudlaşır, burazda virus zülalının sintezi və virusun genetik materialının replikasiyası baş verir. Viruslar sonra ya ilkin yoluxmuş hüceyrədən buraxılan sərbist virus zərrəcikləri (virionlar) ya da bitişik hüceyrələrə birbaşa ötürməklə (hüceyrədən-hüceyrəyə-paylanma) başqa hüceyrələrə yayıla bilərlər. Çox bakteriyalar bədəndə hüceyrəxarici mühitdə çoxala bilərlər, amma bəziləri sahib hüceyrə daxilinə keçməlidir və bu sahib hüceyrə daxilində sağ qalmalı və çoxalmalıdır. Bu cürə hüceyrədaxili bakteriyalar ya membranla-ayrılmış qovucuqlarda məskunlaşır və endositoz və ya faqositoz yolla ilə hüceyrəyə daxil olurlar (bax Şəkil 17-19), ya da əgər qovucuqlardan yayınmışlarsa sitoplazmada məskunlaşırırlar. Ona görə də, sahib orqanizmin ən təsirli müdafiə sistemi yalnız hüceyrəxarici bakteriya və virusları deyil, həmçinin belə patogenləri öz daxilinə toplayan hüceyrələri də məhv etməyi bacarmalıdır.

Parazit eukariotlar da xəstəlik törədə bilərlər. Bu parazitlərdən yuxu xəstəliyini (tripanosoma) və ya malarিয়া (*Plasmodium* növləri) əmələ gətirən protozoanlar kimi bəziləri çox mürəkkəb həyat tsiklinə malikdirlər və sahib orqanizmin

immün sistemi tərəfindən dağıdılmaqdan mühafizə olunmaq üçün mürəkkəb əks tədbirləri yaratmışlar.

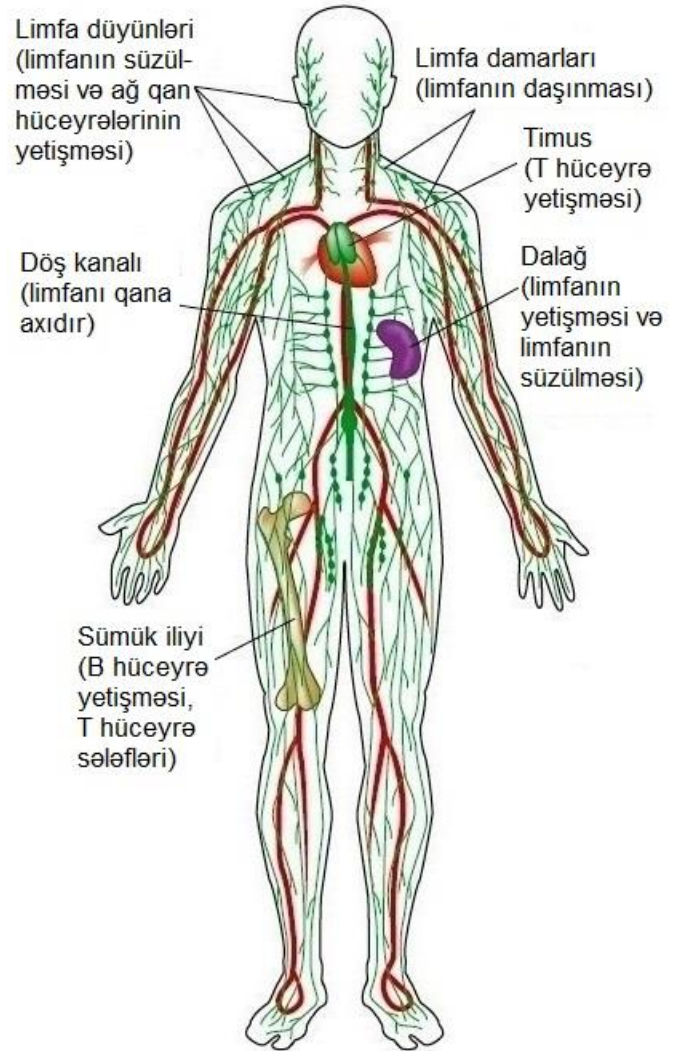
Leykositlər Bədən Boyu Dövrə Vurur və Toxumalarda Və Limfa Düyünlərində Məskunlaşırlar

Dövredici sistem (Şəkil 23-2) qanın bədən boyu hərəkət etməsini təmin edir. Qan hüceyrələrdən (qırmızı və ağ qan hüceyrələri, trombositlər) və mayedən (daxilində zülallar, ionlar və kiçik molekullar da daxil olmaqla həll olmuş plazma) təşkil olunmuşdur. Qan hüceyrələrinin böyük hissəsini təşkil edən hemoqlobinə malik olan oksigen daşıyan eritrositlərdən (qırmızı qan hüceyrələri) başqa, qan həmçinin leykositlərə (ağ qan hüceyrələrinə) və trombositlərə (qan laxtalanmasında iştirak edən hüceyrələr) malik olur. Leykositlər immün sistemində müxtəlif funksiyaları yerinə yetirən limfositlər (B və T hüceyrələri), monositlər (makrofaqlar adlanan skavencer hüceyrələrin sələfləri), dendrit hüceyrələr, neytrofillər və təbii killer hüceyrələr (NK) kimi müxtəlif hüceyrə tiplərini əhatə edir. Qocalana və ölənə qədər heç zaman dövredici sistemdən kənara çıxmayan eritrositlərdən fərqli olaraq leykositlər sistemdən kənara çıxır və hədəf toxumaya daxil olur hücum edən yad cismlərdən orqanizmin qorunmasına kömək edir. Dövredici sistem leykositləri onların yarandıqları saytlardan (sümük iliyindən, timusdan, fetal qaraciyərdən) onların fəallaşma saytlarına (limfa düyünləri, dalağ) və sonra da yoluxma saytlarına daşıyır. Leykositlər verilmiş məkana çatdıqdan sonra, onlar onlara verilən tapşırığın yerinə yetirilməsinə görə dövredici sistemdən çıxır və yenidən ona daxil ola bilirlər.

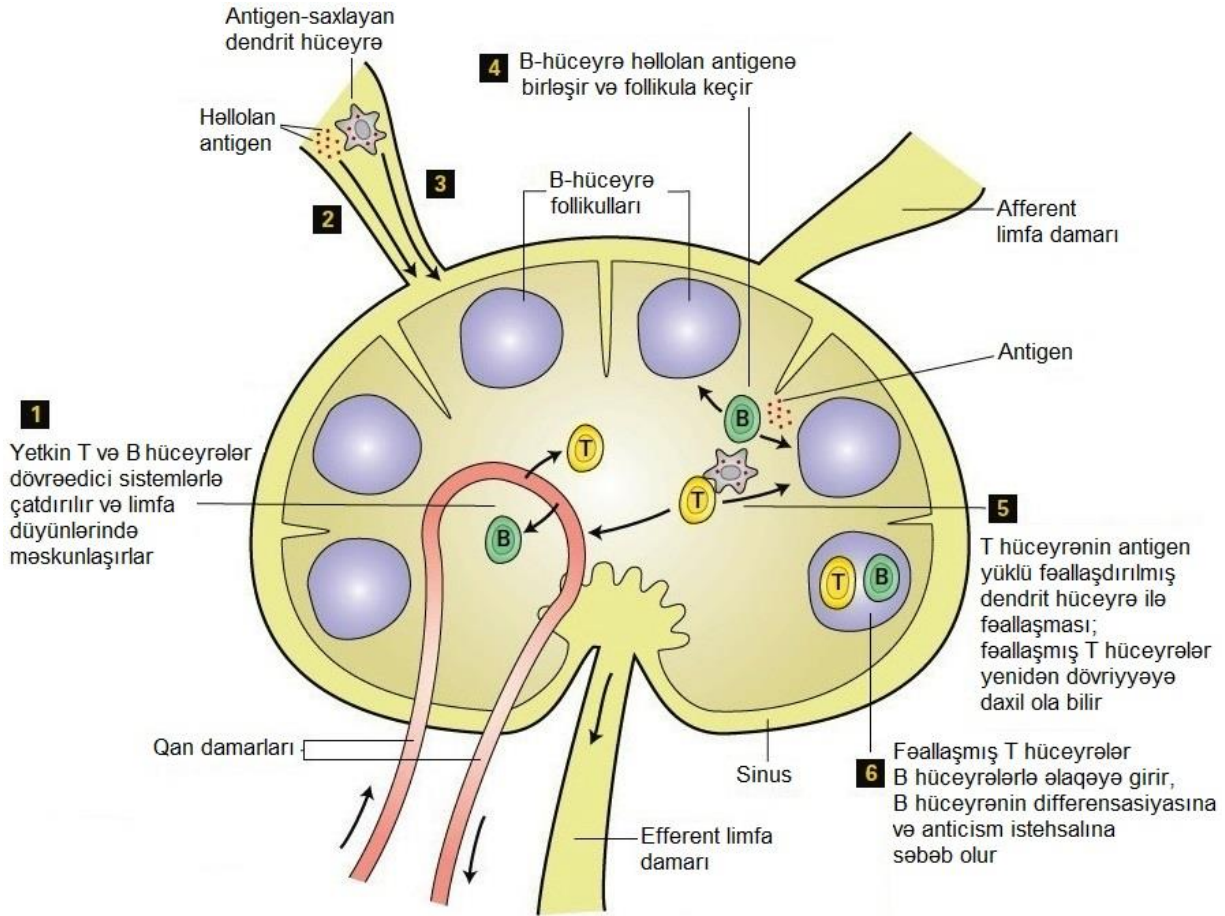
İmmün sistemi, öz aralarında birləşmiş damarlar, orqanlar və hüceyrələrin sistemi, birinci və ikinci limfoid orqanlara bölünür (bax Şəkil 23-2). *Birinci limfoid orqanlara*—limfositlərin (B və T hüceyrələrin daxil olduqları yarımölmə) yarandıqları və funksional xassələri aldıkları saytlara—T hüceyrələrin yarandığı sayt timus və B hüceyrələrin yarandığı sümük ilişi daxildir. Funksional kompotent hüceyrələri tələb edən qazanılmış immün cavabları *ikinci limfoid orqanlarda* yaranır, buraya limfa düyünləri və dalağ daxildir. Limfoid orqanlar daxilində bütün hüceyrələr ilkin olaraq fetal qaraciyərdə və sonra sümük iliyində yaranan hematopoietik sütun hüceyrələrdən törəyirlər (bax Şəkil 21-19). Limfositlərin ümumi sayı insanlarda cavan yetkin kişilərdə təxminən 500×10^9 -dur, bunlardan 15 faizə qədəri dalağda, 40 faizə qədəri digər ikinci limfoid orqanlarda (badamciqlarda, limfa düyünlərində), 10 faizə qədəri timusda, 10 faizə qədəri sümük iliyində, qalanları isə dövredici qan-damar sistemində tapılmışdır.

Normal şəraitdə ürəyin vurmaları ilə yaranan təzyiq yalnız qanın bədənə damarlarla dövriyyəsinə deyil, həm də hüceyrəsiz mayenin damarların divarından altdakı toxumalara keçməsinə məcbur edir. Bu maye qida maddələrini və zülalları da çatdırır ki, bu zülallardan bəziləri müdafiə funksiyasını daşıyır. Onun həcmi qanın həcmindən üç dəfə çoxdur. Homeostazı saxlamaq üçün qan dövrəni tərk edən mayenin həcmi dərhal doldurulmalıdır və bu *limfa* formasında limfa damarları vasitəsilə yerinə yetirilir. Limfa damarları ən uzaq uclarında hüceyrələri toxumada yuyan toxuma (interstisial) mayesini toplamaq üçün açıq olur. Limfa damarları limfanı *limfa düyünlərinə* çatdıran böyük toplayıcı damarlarda birləşirlər (Şəkil 23-3). Limfa düyünləri onların məskunlaşdığı hüceyrə

tipləri tərəfindən müəyyən edilmiş sahə içərisində təşkil olunmuş kapsulalardan ibarətdir. Qan damarları limfa düyünlərinə girərək B və T hüceyrələri onlara çatdırırlar. Limfa düyünlərinə daxil olan limfa, antigenlərlə qarşılaşmış ("nümunə kimi götürülmüş") hüceyrələri, eləcə də həmin xüsusi affereit limfa damarının axıdıcı boşaltdığı toxumadan həll olunan antigenləri daşıyır. Limfa düyünlərində qazanılmış immün cavabı üçün tələb olunan hüceyrələr və molekullar yeni daxil olmuş antigen məlumatına qarşı cavab vermək üçün qarşılıqlı əlaqəyə girirlər və sonra antigendən xilas olmaq üçün lazımı addımları atırlar (bax Şəkil 23-3).



ŞƏKİL 23-2 Dövredici və limfatik sistemlər. Ürəyin döyünməsi ilə yaranan müsbət arterial təzyiq mayenin dövredici sistemdən (qırmızı) toxumaların interstisial (toxumaarası) boşluğuna vurulmasını həyata keçirir, belə ki, bədənə bütün hüceyrələrinin qida maddələrinə çıxışı var və tullantıları ata bilirlər. Həcmi dövriyədə olan qanın həcmindən təxminən üç dəfə çox olan bu interstisial (toxumaarası) maye limfa düyünləri adlanan anatomik quruluşlardan keçərək limfa şəklində dövrəyə qaydır. Limfositlərin yarandığı əsas limfoid orqanlar sümük ilişi, (B hüceyrələri, T hüceyrə sələfləri) və timusdur (T hüceyrələr). İmmün cavabının inisiyasına ikinci limfoid orqanlar (limfa düyünləri və dalağ) daxildir.



ŞƏKİL 23-3 Limfa düyünlərində qazanılmış (adaptiv) immun cavabının inisiyasiyası. Antigenin limfa düyünlərində yerləşən B və T hüceyrələri (limfositlər) tərəfindən tanınması qazanılmış immun cavabını inisiyasiya edir. Limfositlər dövrəedicilə sistemi tərk edir və limfa düyünlərində məskunlaşırlar (pillə 1). Limfa antigeni iki formada daşıyır, həll olmuş vəziyyətdə olan antigen və dendrit hüceyrələrə yüklənmiş antigen, hər ikisi afferent limfa damarları ilə limfa düyünlərinə çatdırılır (pillə 2 və 3). Həllolan antigen B hüceyrələr

tərəfindən tanınır (pillə 4), antigen-yüklənmiş dendrit hüceyrələr isə antigeni T hüceyrələrə təslim edir (pillə 5). T və B hüceyrələr arasında məhsuldar qarşılıqlı əlaqələr (pillə 6) B hüceyrələrin follikula keçməsinə və külli miqdarda ifraz olunmuş immunoqlobulinləri (anticisləri) istehsal edən plazma hüceyrələrin differensasiya etməsinə imkan verir. Efferent limfatik damarlar limfanı limfa düyünlərindən dövrəedicilə sistemə qaytarır.

Limfa düyünlərinə, bədənin bütün distal sahələrindən toplanan antigen məlumatlarının yığılaraq immun sistemə cavab oyaatmaq üçün uyğun bir formada nümayiş etdirildiyi filtr kimi baxıla bilər. Sakitlikdə olan limfositlərin fəallaşmasına aparan bütün müvafiq pillələr limfoid orqanlarda baş verir. Funksional fəal olmaq üçün düzgün instruksiya alan hüceyrələr sonda limfanı qan dövranına qaytaran efferent limfa damarları ilə limfa düyünlərini tərk edirlər. Bu cürə fəallaşmış hüceyrələr qan dövranı ilə təkrar dövrə edirlər, indi onlar fəaliyyət üçün hazırdırlar, yenidən kemotaktik siqnallara cavab olaraq qan dövranını tərk edər, yenidən tərk etdikləri yerə dönər, toxuma daxilinə keçər və virusla yoluxmuş hüceyrələri dağıda bilər və ya yoluxdurucuları dağıtmaq üçün onları tanıyan və yarıklayan anticisləri istehsal edə bilərlər.

Limfositlərin və başqa leykositlərin qan dövranından çıxması, bu hüceyrələrin yoluxma saytlarına səfərbər olunması, antigen məlumatının prosessinqi və immun-sistemi hüceyrələrinin dövrəedicilə sistemə qayıtması hamısı diqqətlə nizamlanmış proses olub, bizim bu fəsildə sonra götərəcəyimiz

kimi, xüsusi hüceyrə-adgeziyası, kemotaktik siqnallar və endotelial baryeri kəsib keçmək kimi hadisələri əhatə edir.

Mexaniki və Kimyəvi Hüdudlar Patogenlərə Qarşı Müdafiənin Birinci Təbəqəsini Yaradır

Artıq qeyd olunduğu kimi, mexaniki və kimyəvi müdafiələr patogenlərə qarşı sahib-müdafiəsinin birinci xəttini əmələ gətirirlər. Fasiləsiz şəkildə davam edən mexaniki müdafiəyə yalnız mexaniki zədələnmə ilə və ya spesifik fermentativ hücumlarla zədələnmə bilən bütün baryerlər dəri, epitel, və artropod sitoskeletlər daxildirlər. Kimyəvi müdafiəyə mədə ifrazatında tapılmış aşağı pH, eləcə də göz yaşında və bağırsağ ifrazatında tapılmış, birbaşa mikroblara hücum edə bilən *lizozim* fermenti daxildirlər.

Mexaniki müdafiənin vacib xüsusiyyətləri yanıqlar zamanı dərhal aydın olur. Dərinin (epidermusun və ya dermusun) bütövlüyü pozulduqda altıda yerləşən toxumalarda qida maddələrinin zəngin mənbəyi açıq qalır və havadan bakteriyalar

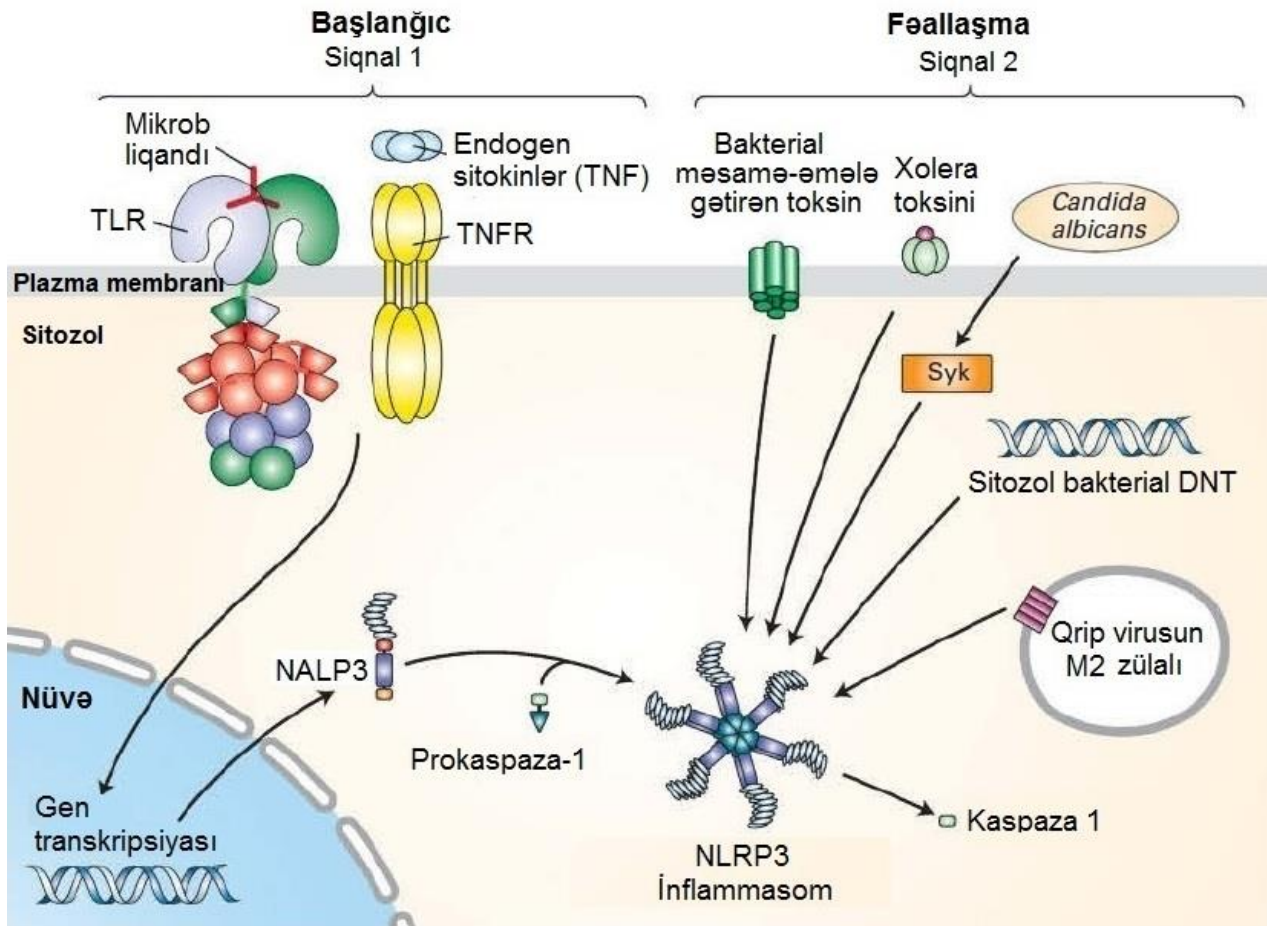
və ya başqa halda zişansız olan, dəriddəki kommensal bakteriyalar hədsiz dərəcədə çoxala bilir və sahib orqanizm üçün güccatmaz hala çevrilir. Viruslar və bakterialar bu fiziki baryerin bütövlüyünü qırmaq üçün strategiyani yaradıb inkişaf etdirmişlər. HIV, quduzluq virusu və qrip virusu kimi qabıqlı viruslar fuzogen xassələri olan membran zülallarına malikdirlər. Yoluxan hüceyrənin səthinə virusun adgeziyasının ardınca, virus membranının birbaşa sahib hüceyrənin plazma membranı ilə qovuşması virusun genetik materialının sahib hüceyrənin sitoplazmasına keçirilməsi ilə nəticələnir, burada o transkripsiya, translyasiya və replikasiya üçün hazır olur (bax Şəkil 5-46 və 5-48). Müəyyən patogen bakteriyalar (məsələn, *Streptococcus*-un patogen ştammi “ət-yeyən bakteriyalar”) birləşdirici toxumanın bütövlüyünü zədələyən kollagenazanı ifraz edir və beləliklə altdaki toxumaları bakteriya üçün ölçatan edir.

Anadangəlmə Immunitet İkinci Müdafiə Xəttini Yaradır

Anadangəlmə immunitet sistemi hücumu hiss edərək mexaniki və kimyəvi mühafizə işləmədikdə fəallaşır (bax Şəkil 21-3). Anadangəlmə immunitet sistemi patogenlərə cavab vermək üçün həmişə hazır olan hüceyrələrdən və molekullardan təşkil olunmuşdur. Patogenləri daxilə mənimsəyən və doğrayan hüceyrələr **faqositlər** (bax Şəkil 17-19) toxumalar və epiteli boyu geniş şəkildə yayılmışlar və yoluxma saytlarına səfərbər oluna bilirlər. Qanda konstitutiv şəkildə mövcud olan və ya yoluxmaya və iltihaba qarşı cavab kimi yaranan bir sıra həllolan

zülallar anadangəlmə müdafiəyə kömək edir. Həşaratlar kimi qazanılmış immunitet sistemi olmayan heyvanlar yoluxmaya qarşı mübarizədə xüsusilə anadangəlmə immunitetdən istifadə edirlər. Bunun kimi, bitkilər də üsüsilə anadangəlmə immunitetdən istifadə edirlər və qazanılmış immunitetdən məhrumdurlar.

Faqositoz və Antigen-Təmsil Edən Hüceyrələr Anadangəlmə immunitet sisteminə makrofaqlar, neytrofillər və dendrit hüceyrələri daxildirlər. Bütün bu hüceyrələr faqositik hüceyrələrdir və hüceyrə səthlərində **Toll-bənzər reseptorlar** (TLR, onların molekulya quruluşu üçün bax aşağıda Şəkil 23-35) və *scavenger reseptorlar* kimi patogeni tanıyan reseptorlarla təchiz olunublar. Bu reseptorlar geniş müxtəliflikdə profilə malik olan patogen-spəşifik markerləri, məsələn bakteriyal hüceyrə-divarının tərkib hissəsi, və ya metilləşməmiş CpG ardıcılığa və ya ikizəncirli RNT-yə malik olan nuklein turşularını tanıyırlar, beləliklə bakteriyanın və ya virusun aşkar olunması üçün əsas sensorlardırlar. Bu markerlər TLR-lərlə birləşəndə hüceyrələr effektor molekullarını, o cümlədən antimikrob peptidləri istehsal edirlər. TLR-ləri patogenlərin mövcudluğunu aşkar edən dendrit hüceyrələr və makrofaqlar, xarici materialları antigen-spəşifik T hüceyrələr üçün prosessinq etmək və ekranlaşdırmaqla da **antigen-təqdim edən hüceyrələr** (APC) kimi fəaliyyət göstərirlər, beləliklə anadangəlmə və qazanılmış immunitet sistemləri arasında körpü yaradırlar. TLR-lərin quruluşu və funksiyası, onların dendrit hüceyrələrin fəallaşmasında rolu 23.6 bölməsində ətraflı təsvir edilir.



ŞƏKİL 23-4. NLRP3 inflammasom. NLRP3 inflammasom yalnız iki siqnalı aldıqdan sonra kaspaza-1-i fəallaşdırır. Siqnal 1 Toll-bənzər reseptorlarla (TLR) tanınan mikrob antigenləri ilə və ya TNF kimi endogen sitokinlərin TNF reseptora (TNFR) birləşməsi ilə təmin edilir. Siqnal 2 NLRP3 və pro-IL-1 β -nin artan tənzimlənməsinə səbəb olur. NLRP3 inflammasomu fəallaşdıran Siqnal 2 bakteriyal məsamə-əmələ

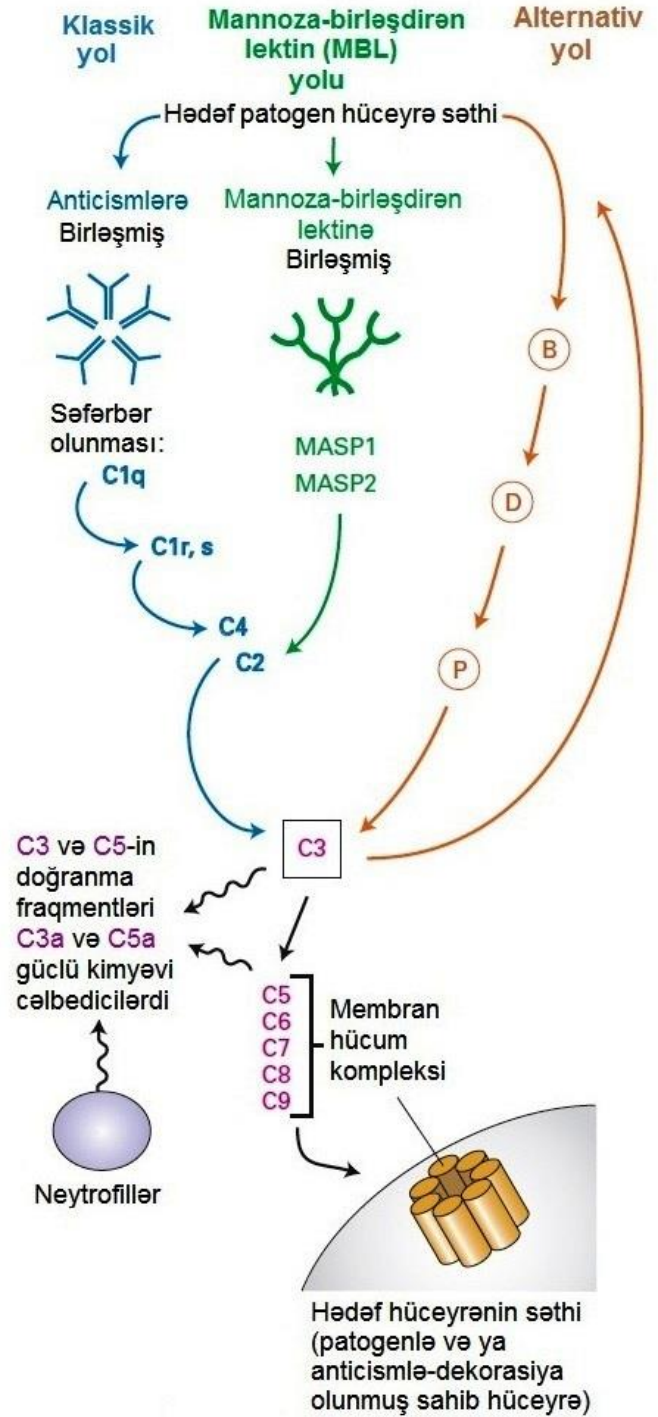
İnflammasomlar və Qeyri-TLR Nuklein Turşusu Sensorları

Məməlilərin hüceyrələri, hər cürə özününkü olmayan komponentləri tanıya bilən və "təhlükəli" siqnalları qəbul edə bilən leysinlə-zəngin təkrarları olan zülal ailəsinə malikdirlər. Bu zülallarla tanınan molekullar bakteriyal hüceyrələrin divarından sidik turşusu kristallarına qədər bir sıra komponentlərdən hem parçalanması məhsullarına qədər, hətta azbest və silisiuma qədər böyük bir sıranı əhatə edir (Şəkil 23-4). Bu təhlükəli siqnallar tanındıqdan sonra, *inflammasom* adlanan çoxzülallı kompleksin toplanmasını fəallaşdırır, o isə iltihabda iştirak edən effektor zülalları fəallaşdırır. İnflammasomu əmələ gətirən zülallar, adaptor zülalları ilə qarşılıqlı əlaqəni həyata keçirən və sonda iltihabı yaranan (aşağıda təsvir olunan proses) sitokinlərin istehsalı üçün kritik əhəmiyyətli olan ferment kaspaza-1 ilə fiziki əlaqə yaradıb onu fəallaşdırmağa imkan verən modullara malikdirlər. Biz tezliklə 23.6 bölməsində görəcəyik ki, inflammasom anadangəlmə və qazanılmış immün cavablarının əlaqələndirilməsində çox əhəmiyyətli rol oynayır.

Məməlilərin bəzi TLR-lərinin endosomlarının lümenində bakteriyal və ya virus nuklein turşularını tanıya bilən liqand-birləşdirən domeni vardır. Məməlilərin hüceyrələri sitozol nuklein turşularının mövcudluğunu aşkar edə bilən başqa sensorlara da malikdirlər. RIG-1 və MDA5 virus RNT-ni tanımaq üçün ixtisaslaşmış zülallardır. Məməlilərin hüceyrələri bakteriyal və ya virus DNT-dən tsiklik dinukleotidləri yada bilən cGAS fermentinə də malikdirlər. Bu tsiklik nukleotidlər sonra ER-də yerləşən STING zülalları ilə tanınır. Bu sinif reseptorların fəallaşması iltihabı işə salır və qazanılmış (adaptiv) immün cavabına kömək edir.

ŞƏKİL 23-5 Komplement fəallaşmanın üç yolu. Klassik yola anticism-antigen komplekslərinin yaranması daxildir. Mannoza-birləşdirən lektin yolunda çox patogenlərin səthində tapılmış mannoza ilə zəngin quruluşlar mannoza-birləşdirən lektin tərəfindən tanınır. Alternativ yol, əsas komplement komponent olan C3 zərdab zülalının xüsusi formasının, yuxarıya istiqamətdə B, D və P faktorlarının yerləşdiyi mikrob səthinə çökməsini tələb edir. Fəallaşdırıcı yolun hər biri, aşağıya istiqamətdəki komponenti proteazanın özü olan proteazalar kaskadı kimi təşkil olunmuşdur. Fəalliyətin amplifikasiyası hər bir ardıcıl pillədə baş verir. Hər üç yol C5-i doğrayan və membran hücum kompleksinin formalaşmasına aparın, beləliklə hədəf hüceyrələrin məhvini səbəb olur C3-də birləşir. Komplementin fəallaşmasının gedişi zamanı yaranan C3 və C5-in kiçik fraqmentləri, qısa müddətdə və ya inyeksiya zamanı bakteriyaları öldürən faqositoz hüceyrələri olan neytrofilləri cəlb etməklə iltihabı inisiyasiya edir.

gətirən toksinlərlə, qrip virusunun M2 zülalı ilə, kinaza Syk yolu ilə göbələk hissəcikləri (*Candida albicans*-da göstərilirdiyi kimi) ilə, və ya vəba zəhəri (cholera toxin – CT) ilə təmin edilir. Sitozol bakteriyal DNT NLRP3 inflammasomu da fəallaşdırı bilər, hərçənd ki, bu fəallaşmanın molekulyar detalları hələ tam aydın deyildir.



Komplement (Tamamlayıcı) Sistem. Anadangəlmə immunitet sisteminin digər əhəmiyyətli bir komponenti olan komplement sistemi, birbaşa mikrob və ya göbək səthlərinə birləşmə ilə zərərli zülalların toplusudur. Bu birləşmə, başqa şeylər arasında patogenlərin qoruyucu membranında məsələləri əmələ gətirmə qabiliyyətinə malik olan *membran hücum kompleksinin* əmələ gəlməsi ilə ən yüksək səviyyəyə qalxan proteolitik kaskadı fəallaşdırır (Şəkil 23-5). Konsepsiyaya görə komplement fəallaşma kaskadı fəallaşmanın hər bir ardıcıl mərhələsində reaksiyanın amplifikasiyası ilə qan laxtalanması kaskadına oxşardır. Ən azı üç fərqli yol komplement sistemi fəallaşdırır. *Klassik yol* qazanılmış immunitet cavabı istiqamətində yaranmış və hədəf mikrobun səthində öz antigenlərinə birləşmiş anticislərin olması tələb edir. Belə anticislərin necə istehsal olunduğu aşağıda təsvir ediləcək. Bu komplement yolu, anadangəlmə immunitet sisteminin qazanılmış immunitet sistemi ilə istehsal olunmuş anticislərlə birlikdə fəaliyyət göstərən komponentlərinin nümunəsini təqdim edir.

Komplement fəallaşmanın klassik yolundan başqa mannoza ilə zəngin hüceyrə divarına malik olan patogenlər *mannoza-birləşdirən lektin yolu* ilə tamamlayıcı kaskadı fəallaşdırır. Mannoza-birləşdirən lektin patogenin səthində mannoza şəklində fərqli qruplarına birləşir və sonra mannoza-birləşdirən lektinlə əsasən olan iki proteazanın – MASP-1 və MASP-2 – fəallaşmasına səbəb olur, onlar isə, Şəkil 23-5-də göstəriləndiyi kimi, tamamlayıcı kaskadın aşağıya doğru komponentlərinin fəallaşmasına imkan verir. Nəhayət, bir çox mikrob səthləri hələ tam anlaşılmayan fiziki və kimyəvi xüsusiyyətlərə malikdir, bu da komplementin *alternativ yola*, B, D və P faktorlarının, plazmada tapılan bütün zülalların daxil olduğu fəallaşma kaskadı ilə fəallaşmasına səbəb olur.

Bu üç yol komplement zülalı C3-ün fəallaşmasında kəşifdir. Bu zülal, birbaşa yaxınlıqda olan sistein və qlutamat qalıqları arasında daxili gərgin tiöffir əlaqələrinə malik olan sələf kimi sintez olunur, tam reaktiv (fəal) olmaq üçün proteolitik kəşilməni tələb edir. C3 kovalent şəkildə yalnız özünə yaxın olan antigen-anticism komplekslərində yığılır. Mannoza-bağlayan lektinlə düzgün düzülüşə malik olan səthlər və ya alternativ yolla C3 depozitlərini qəbul edən səthlər oxşar şəkildə hədəf olunurlar. Bu yaxınlıq məhdudlaşdırılması komplementin yaxınlıqdakı səthlərə təsirini məhdudlaşdırır hədəflənmiş antigenləri göstərməyən hüceyrəyə qeyri müvafiq hücumlardan qayındır.

Fəallaşma yolundan asılı olmayaraq, fəallaşmış C3 komplement kaskadın terminal komponentlərini, C5 və C9 komplement zülallarını açıb buraxır, özünü yaxınlıqdakı (bitişik) istənilən membrana daxil edən və onda məsələlər açmaqla onu keçirici edən membran hücum kompleksinin əmələ gəlməsini ən yüksək səviyyəyə qaldırır. Nəticədə elektrolitlərin və həllolmuş kiçik maddələrin itirilməsi hədəf hüceyrənin lizisinə və məhvəinə səbəb olur. Hər dəfə komplement fəallaşdırıldıqda, membran hücum kompleksi əmələ gəlir və üzərinə çökdüyü (deposited) hüceyrənin ölümü ilə nəticələnir. Tam fəallaşmış komplement kaskadın mikrob-öldürücü (bakterosid) təsiri sahib hüceyrənin müdafiəsi üçün çox əhəmiyyətli mexanizmdir.

Hər üç komplement fəallaşma yolu G zülalları-cütləşən reseptorlara da birləşərək C3a və C5a doğranma fraqmentlərini yaradır və neytrofiləri və iltihabda iştirak edən digər hüceyrələri

cəzb etməklə fəaliyyət göstərirlər. Bundan başqa, makrofaqlar kimi faqosit hüceyrələrinin səthində kovalent rabitə ilə bitirilmiş C3 fraqmentləri nişanlanmış hüceyrələri tanıyır və onları udaraq dağıdır.

Beləliklə komplement kaskad sahib hüceyrənin müdafiəsində çoxsaylı rolları yerinə yetirir: o patogenləri (bakteriyalar, viruslar) örtən membranları dağıda bilir; o patogenləri kovalent şəkildə elə “rəngləyir” ki, onlar patogenləri öldürmək qabiliyyətinə malik olan faqosit hüceyrələr tərəfindən asanlıqla udula bilsin və onun tərkibi qazanılmış immunitet cavabını yaratmaq üçün hüceyrəyə təqdim edilsin; nəhayət komplement fəallaşmanın təsiri anadangəlmə (neytrofilləri, makrofaqları, dendrit hüceyrələri) və qazanılmış immunitet sistemi hüceyrələrini (limfositləri) cəlb etmək üçün siqnalları yoluxma sayına toplayır. Bu siqnallar kemotaktik siqnallar adlanır.

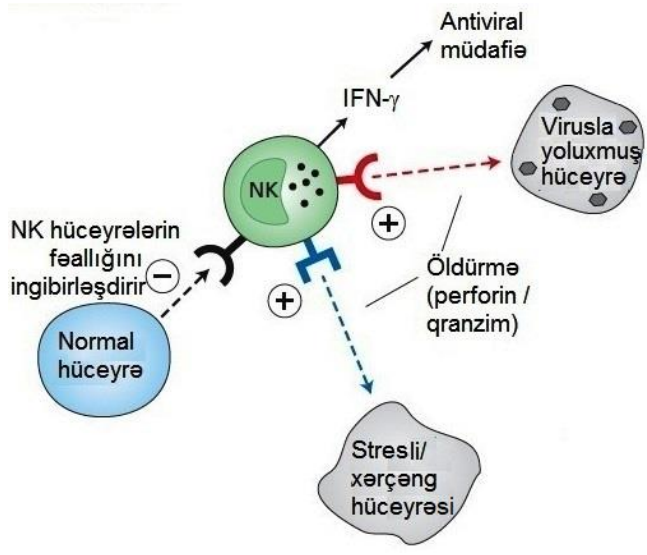
Təbii Killer Hüceyrələr Bakteriyal və eukariotik patogenlərdən başqa, anadangəlmə immunitet sistemi viruslara qarşı da müdafiə edir. Virusla yoluxmuş hüceyrənin mövcud olması aşkar edildikdə anadangəlmə immunitet sisteminin başqa hüceyrə tipləri fəallaşır, virusla yoluxmuş hədəf hüceyrələri axtararaq onları öldürür. Məsələn, çox hüceyrə tipləri (yalnız immunitet sistemi hüceyrələri deyil) yoluxduqda onlar hüceyrədaxili siqnallar kimi fəaliyyət göstərən və immunitet sistemini yoluxmanın olması barədə xəbərdarlıq edən I tip interferonlar adlanan zülallar sinifini sintez edirlər. Interferonlar, müxtəlif yollarla immunitet cavabının tənzimlənməsinə kömək edən kiçik ifraz olunan zülallar, *sitokinlər* kimi təsnifləşdirilirlər. Biz bu fəsilin gedişində başqa sitokinlərlə tanış olacağıq və onların bəzilərinin reseptorlarını müzakirə edəcəyik.

Interferonlar təbii killer (NK) hüceyrələrini fəallaşdırırlar, fəallaşmış NK hüceyrələr orqanizmi bir sıra yollarla müdafiə edir. Birincisi, onlar virusla yoluxmuş sahib hüceyrəni öldürə bilirlər (“təbii killer” hüceyrənin adı da buradan götürülüb) və bu yoluxmuş hüceyrənin yoluxmanı yaya bilən əlavə virusları istehsal etməsinə mane olurlar. İkincisi, NK hüceyrələr II tip γ interferonu ifraz edirlər, bu da antivirus müdafiəsinin bir çox aspektlərini təmin edir (Şəkil 23-6). Üçüncüsü, NK hüceyrələr, ingibitor və ya stimulator (hüceyrə ölümünü təşviq etmək) siqnalları toplaya bilən bir neçə sinif hüceyrə səth reseptorları vasitəsilə öz hədəflərini tanıyırlar.

İltihab Yaralanmaya Qarşı Qazanılmış və Anadangəlmə İmmunitetin Əhatə Etdiyi Kompleks Cavabdır

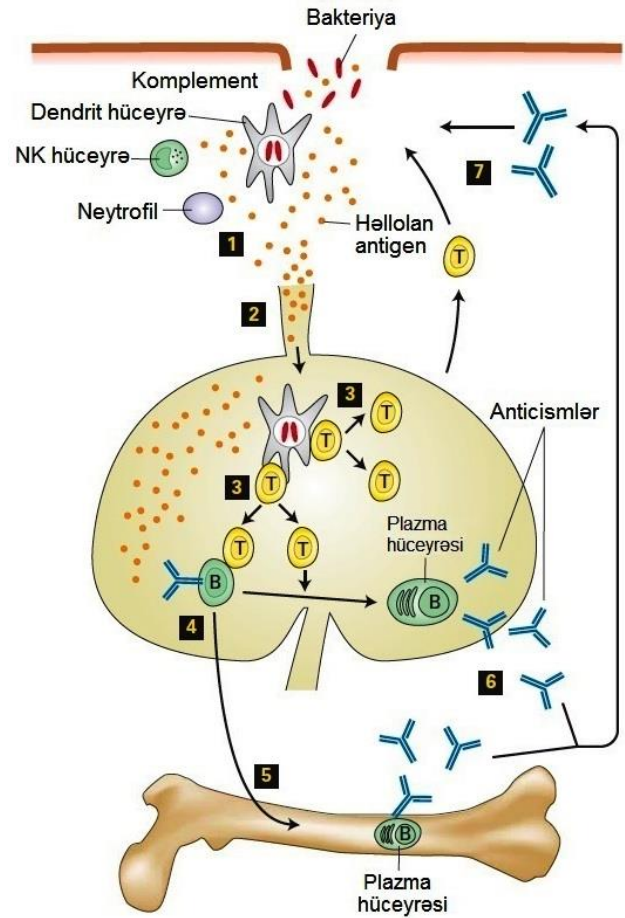
Damarlanmış toxuma (qan damarları ilə təmin olunan toxuma) yaralandıqda, yaranan cavab iltihablaşmadır. Yaralanma, cızılmış əzələlər, sadə bir kağız kəsməsi və ya patogenlə yoluxma kimi fiziki və ya kimyəvi proseslərin nəticəsi ola bilər. Həm də *iltihab yaranan cavab* kimi adlanan iltihablaşma dörd klassik əlamətlə xarakterizə olunur: qızartı əmələgəlmə, şişmə, temperatur (qızdırma) və ağrı. Bu əlamətlər qan damarlarına çoxlu qan axması ilə (qan damarlarının genişlənməsi), immunitet sistemi hüceyrələrinin zədələnmə sayına cəlb olunması və ağrının və temperaturun hiss olunması üçün iltihabın həllolan mediatorlarının istehsal olunması ilə bağlıdır. İltihab hüceyrə tiplərini fəallaşdırmaqla, birlikdə anadangəlmə immunitet cavabını

yaratmaq üçün həll ola bilən məhsulları istehsal etməklə və qazanılmış immun cavabını inisiyasiyası üçün keçirici lokal mühiti yaratmaqla dərhal müdafiəni yaradır. Amma, dəqiqliklə nəzarət olunmasa iltihab da toxuma zədələnməsinin əsas səbəbi ola bilər.



ŞƏKİL 23-6 Təbii killer hüceyrələr. Təbii killer (NK) hüceyrələr, antiviral müdafiəsində iştirak edən və virusla yoluxmuş və xərçəng hüceyrələrini birbaşa perforinlər vasitəsi ilə öldürə bilən sitokin interferonun γ -nın (IFN- γ) əsas mənbəyidir. Bu məsələ əmələ gətirən zülallar qranzimler adlanan serin proteazalar vasitəsilə hədəf hüceyrələrin sitoplazmasına çatmağa imkan verir. Qranzimler kaspazaların fəallaşdırılması yolu ilə apoptozu da inisiyasiya edə bilirlər (bax Fəsil 21). NK hüceyrələrin reseptorları yoluxmuş və ya stressdə olan hüceyrələri identifikasiya edir və onları öldürmək üçün NK hüceyrələri stimullaşdırır. Digər reseptorlar normal hüceyrələri identifikasiya edir və NK hüceyrə fəallaşmasını ingibirləşdirirlər.

Şəkil 23-7 bakterial patogenlərə qarşı iltihab cavabının əsas iştirakçılarını və qazanılmış immun cavabının müvafiq inisiyasiyasını göstərir. Toxumada-məskunlaşmış dendrit hüceyrələr onlarda olan TLR-lər vasitəsilə patogenlərin mövcud olduğunu hiss edir və **sitokinlər** və **kemokinlər** kimi kiçik həllolan zülalları ifraz etməklə cavab verir, sitokinlər və kemokinlər isə immun-sistemi hüceyrələri üçün kimyəvi cəlbədicilər kimi fəaliyyət göstərirlər. **Neytrofillər** dövrəedicilərdən çıxaraq yoluxma və ya yaralanma saytında istehsal olunan sitokinlərə və kemokinlərə cavab olaraq oraya miqrasiya edirlər (bax Şəkil 20-40). Dövrə edən leykositlərin təxminən yarısını təşkil edən neytrofillər faqositikdir (faqositoz edənlər) (bax Şəkil 17-19), patogen bakteriya və göbələkləri birbaşa udaraq məhv edirlər. Neytrofillər onlardakı TLR-lər vasitəsilə geniş müxtəliflikdə patogenlə-törənən makromolekullarla qarşılıqlı əlaqəyə girir. Aşağıda detalları ilə təsvir edilən bu reseptorların cəlb olunması daha çox sitokinləri və kemokinləri istehsal edən neytrofilləri fəallaşdırır, sitokinləri və kemokinləri isə daha çox leykositləri – neytrofilləri, makrofaqları və sonda limfostləri (T və B hüceyrələr) yoluxma sahəsinə cəlb edir. Fəallaşmış neytrofillər bakteriya dağıdan fermentləri (məsələn, lizozimləri və proteazaları) və eləcə də bakterosid fəallıqlı və ümumilikdə **defensinlər** adlanan kiçik peptidləri ifraz edirlər.



ŞƏKİL 23-7 Bakterial patogenlərə qarşı anadangəlmə və qazanılmış immun cavablarının əlaqəsi. Bakteriya sahib orqanizmin mexaniki və kimyəvi mühafizəsini dağıdanda bakteriya komplement kaskadı komponentlərinə və eləcə də anadangəlmə immun sistemi hüceyrələrinə məruz qalır (pillə 1). Toxuma zədələnməsi ilə induksiya olunan müxtəlif iltihab zülalları lokal iltihab cavabına kömək edir. Bakteriyaların lokal dağıdılması nəticəsində bakterial antigenlər buraxılır, onlar isə toxumalardan axıb gedən müxtəlif limfotik damarlar vasitəsilə limfa düyünlərinə çatdırılır (pillə 2). Dendrit hüceyrələr antigeni yoluxma saytında mənimsəyirlər, onlar miqrasiya edən olurlar, limfa düyünlərinə gəlirlər və burada T hüceyrələri fəallaşdırırlar (pillə 3). Limfa düyünlərində antigenlə-stumullaşan T hüceyrələr proliferasiya edərək, B hüceyrələrə kömək etmək qabiliyyəti (pillə 4) də daxil olmaqla effektor funksiyasını qazanırlar, bunlardan bəziləri sümük iliyyəne keçə bilər və özlərinin plazma hüceyrələrinə differensiasiyasını orada tamamlayırlar (pillə 5). İmmun cavabının sonrakı mərhələlərində fəallaşmış T hüceyrələr antigen-təcübəli B hüceyrələrə antigen-spesifik anticismləri yüksək dərəcədə ifraz edən plazma hüceyrələrini vermək üçün əlavə yardımları təmin edirlər (pillə 6). Bakteriyanın təsirinə ilkin məruzqalma nəticəsində istehsal olunan anticismlər yoluxmanı aradan qaldırmaq üçün komplementlə birgə fəaliyyət göstərirlər (pillə 7), əgər eyni patogenlə yenidən yoluxularsa o saxlanılmalı və sürətli qorunmanı təmin etməlidir.

Fəallaşmış neytrofillər həmçinin mikrobları qısa müddətdə öldürə bilən superoksid anion radikalı və digər reaktiv oksigen nümunələrini yaradan fermentləri (Fəsil 12, səhifə 547-548) işə salır. İltihab cavabına kömək edən digər hüceyrə tipi toxumalarda məskunlaşan **mast hüceyrələr**dir. Müxtəlif fiziki

və kimyəvi stimullarla fəallaşan mast hüceyrələr G-zülallarla-cütləşən reseptorlara birləşən kiçik molekul histamini ifraz edir. Histaminin birləşməsi damar keçiriciliyini artırır, bunula da hücum edən patogenlərə qarşı fəaliyyət göstərən plazma zülallarının (məsələn komplementlərin) toxumaya keçməsinə imkan yaradır.

Yoluxmaya və ya yaralanmaya qarşı çox vacib erkən cavab müxtəlif plazma proteazalarının, o cümlədən yuxarıda müzakirə olunan komplement kaskadın zülallarının fəallaşmasıdır. Bizim gördüyümüz kimi, bu proteazaların fəallaşması zamanı doğranma fraqmentləri neytrofilləri toxuma zədələnməsi saytına cəlb edir (bax Şəkil 23-5). Onlar daha sonra, iltihablaşmanın yaranmasına səbəb olan interleykin 1 və 6 (IL1 və IL6) kimi sitokinlərin istehsalını induksiya edir. Neytrofillərin cəlb olunması da damarların keçiricilik qabiliyyətinin artmasından asılıdır, sonuncu isə qismən fosfolipidlərdən və yağ turşularından törənən lipid siqnal molekulları (məsələn, prostoqlandinlər və leykotrienlər) ilə nəzarət olunur. Yaralanmanın birinci dəqiqəsi ərzində başlayan bütün bu hadisələr sürətlə baş verir. Bu, ani reaksiyanın baş tutmaması səbəbi aradan qaldırılmayanda qazanılmış immun sisteminin mühüm rol oynadığı toxuma zədələnməsinə gətirib çıxaran xronik iltihablaşmaya çevrilir.

Toxuma zədələnməsi nahiyəsində patogen yükü ağır olanda o yoluxma ilə mübarizə üçün anadangəlmə müdafiə mexanizminin qabiliyyətini artırma bilər. Bundan əlavə, bəzi patogenlər təkamülün gedişi zamanı anadangəlmə immun sistemi müdafiəsindən yan keçmək və ya onu aradan qaldırmaq imkanlarını qazanmışlar. Belə hallarda, yoluxmaya nəzarət üçün qazanılmış immun sisteminin köməyi tələb olunur. Bu cavab qazanılmış və anadangəlmə immun sistemi arasında yerləşən makrofaqların və dendrit hüceyrələrin daxil olduğu ixtisaslaşmış xüsusi hüceyrələrdən asılıdır, onlar patogenləri uda və öldürə bilirlər və eləcə də, qazanılmış immun sistemi üçün antigenləri təqdim edirlər. Xüsusilə dendrit hüceyrələr yeni qazanılmış patogenlə-törənən antigenləri ikinci limfoid orqanlara çatdırmaqla immun sistemini inisiyasiya edə bilirlər (bax Şəkil 23-7).

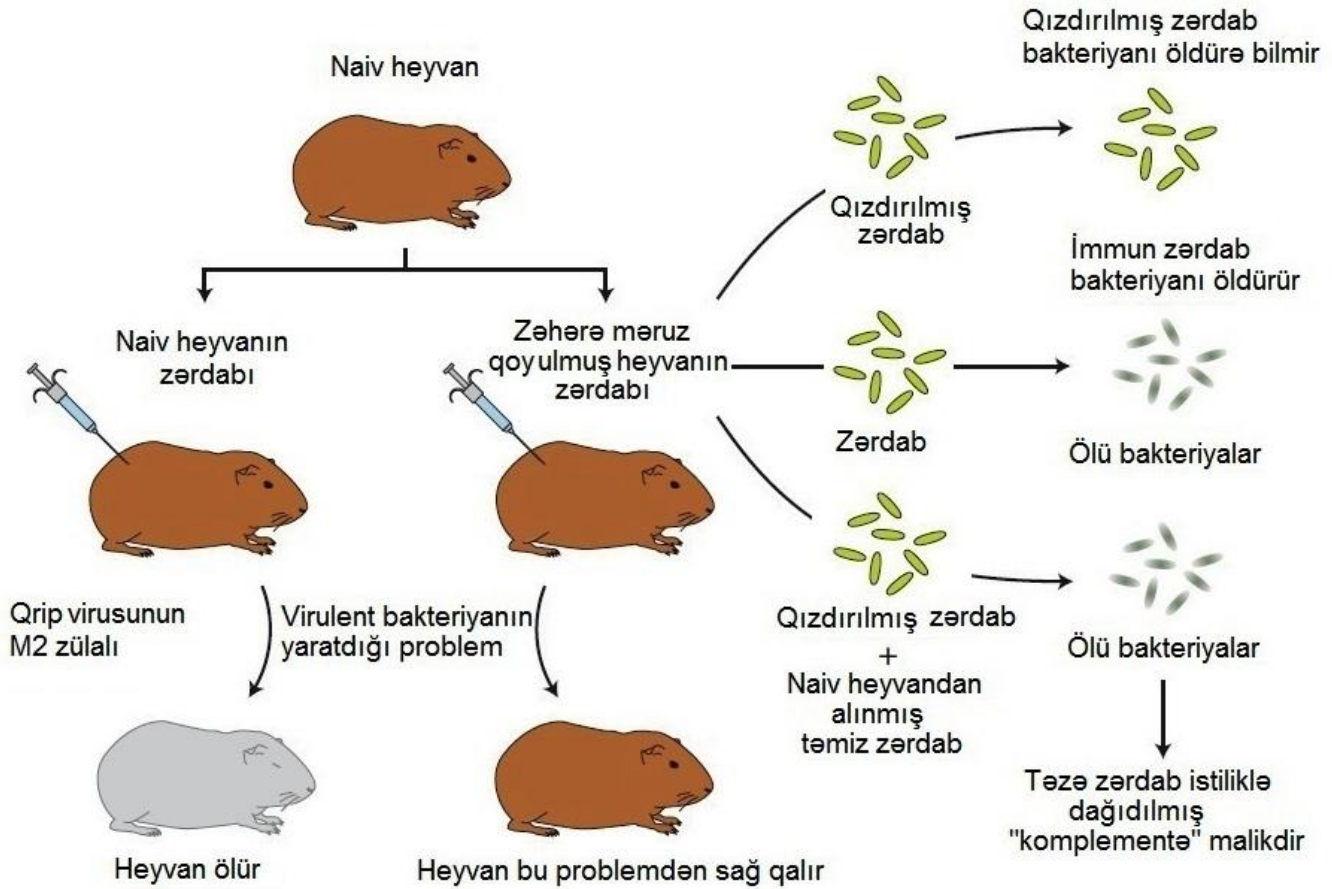
Müdafiənin Üçüncü Xətti olan Qazanılmış İmmunitet Spesifiklik Nümayiş Etdirir

Qazanılmış immunitet xarici maddələrin antigen-spesifik reseptorlarla yüksək dərəcədə spesifik tanınması üçün ayrılmış termindir, onun tam hazır olması üçün ilkin məruz qalmadan sonra günlər və ya həftələr tələb edilir. Antigen-spesifik reseptorları daşıyan limfositlər qazanılmış immunitetə cavabdeh olan əsas hüceyrələrdir. Qazanılmış immun cavabının spesifik təbiətinin ilkin göstəricisi 1905-ci ildə Emil von Behring və Şibasaburo Kitasato tərəfindən qazanılmış immunitetin əsas effektor molekulu olan anticismlərin aşkar edilməsi ilə olmuşdur. Onlar öldürücü difteriya zəhərinin subletal dozasına məruz qoyulmuş qvineya donuzundan alınmış qan zərdabını (qan laxtalanmasından sonra hüceyrə qalıqlarından təmizlənmiş saman-rəngli maye) əvvəllər heç zaman bu toksini istehsal edən bakteriyaya yoluxmamış heyvana keçirməklə başladılar. Keçirilən heyvan eyni bakteriyanın letal dozasına qarşı müdafiə olundu (Şəkil 23-8, *solda*). Heç bir zaman difteriya toksininə məruz qoyulmamış heyvandan alınan zərdabın keçirilməsi

zamanı bu müdafiə baş tutmamışdır və bu müdafiə sistemi yalnız difteriya toksinini istehsal edən bakteriya ilə məhdudlaşmışdır, başqa toksinlərə isə təsir etməmişdi. Bu eksperimentin *spesifikliyi* – eyni sinifə aid olan iki yaxın maddəni fərqləndirə bilmək qabiliyyətini nümayiş etdirmişdir. Belə spesifiklik qazanılmış immun sisteminin ayıra bilmək qabiliyyətidir. Hətta bir amin turşusu ilə fərqlənən zülallar immunoloji yolla fərqləndirilə bilirlər.

Bu eksperimentlərdən, von Behring qorunmaq üçün cavabdeh olan ötürülə bilən faktorların mövcudluğunu təsdiqlədi, o bunu “**korpuskul**”lar (“**corpuscles**” *Antikörper*) və ya anticismlər adlandırdı. Anticismlərə malik olan zərdab yalnız in vivo müdafiəni deyil eyni zamanda sınaq şüşəsində də mikrobları öldürdü (Şəkil 23-8, *sağda*). Tərkibində anticism olan zərdabı 56 °C qızdırdıqda onun öldürmək fəallığı itdi, amma naiv heyvanlardan (yəni, heç bir zaman bakteriya təsirinə məruz qoyulmayan heyvan) alınan yeni qızdırılmamış zərdabın əlavə edilməsi ilə bu fəallıq yenidən bərpa olundu. Bu kəşf göstərdi ki, ikinci faktor (onun komplement olduğu ortaya çıxdı) bakteriyayı öldürmək üçün anticismlə birlikdə (kooperativ) fəaliyyət göstərir.

Biz indi bilir ki, von Behringin anticismləri **immunoqlobulinlər** adlanan zərdab zülallarıdır və əslində yuxarıda təsvir olunan proteazalar sırasındadır və anticismlərlə nişanlanmış (yarıqlanmış) patogenləri məhv edir (klassik yol üçün bax Şəkil 23-5). İmmunoqlobulinlər yalnız bakterial toksinləri deyil, həmçinin viruslar kimi zərərli agentləri də bir başa onlara birləşməklə və virusun özünü sahib hüceyrəyə birləşdirmək qabiliyyətinə mane olmaqla neytrallaşdırır (qeyri fəal saxlaya) bilir. Neytrallaşdırıcı anticismlərin yaradılması demək olar ki, peyvənd strategiyasının əsasında durur. Peyvənd fəal immunizasiyanın formasıdır, qazanılmış immun cavabını (aşağıda müzakirə olunur) və anticismləri yaratmaqla müdafiəedici immun sistemini oyatmaq üçün insanı məqsədyönlü şəkildə yad antigenin təsirinə məruz qoymaqladır. Eyni ilə, ilan zəhərinə qarşı yaradılmış anticism ilan vurmuş adama yeridildikdə onu intoksikasiyadan qoruyur, bu şərtlə ki, təmin olunan belə anticism ilan vurduqdan dərhal sonra yeridilsin: anticism zəhərdəki toksik zülallara birləşir, onları sahib orqanizmdəki hədəflərə birləşməkdən saxlayır, beləliklə onları neytrallaşdırır. *Passiv peyvənd (immunizasiya)* adlanan bu prosedur toksin kimi zərərli maddəni tez neytrallaşdırmaqla həyatı xilas edə bilir. Passiv peyvənd, virus hepatitləri kimi endenik xəstəliklər olan zonaya səfər edən insanlarda da profilaktiki olaraq istifadə edilir: immun fərdin zərdabının belə adamlara yeridilməsi yoluxmaya qarşı müvəqqəti müdafiə yaradır. Beləliklə, anticismlər dərhal müdafiə təsirinə malikdirlər. Bugün təbabətin inkişafını nəzərə alınması imkan verir ki, immun sistemi ciddi şəkildə pozulmuş fərdlərdə (xərçəng xəstələrinə kimyəvi terapiyanın və ya radiasiyanın alınması, transplant xəstələrdə farmakoloji supressiya olunmuş immun sistemi, QİÇS-dən əziyyət çəkən xəstələrdə, anadangəlmə immun çatışmazlığı olan fərdlərdə) passiv peyvənd (immunizasiya) dərhal praktiki əhəmiyyətə malikdir. Siçan və ya siçovul kimi bir heyvanın məqsədli şəkildə kənar maddəyə məruz qoyulması (*peyvənd*) bu maddəni (*antigen*) spesifik olaraq tanıyan *antizərdabın (antisera)* istehsalına imkan verir. Bu antizərdab hüceyrə bioloqlarının alətlərinin standard komponentlərinə çevrilmişdir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 23-8 Behriq və Kitasato yoluxmuş heyvanların qan zərdabında anticismləri nümayiş etdirdilər.

Heyvanların difteriya toksinin subletal dozasına (və ya onu istehsal edən bakteriya) məruz qoyulması onların qan zərdabına difteriya toksinin subletal dozasının (və ya onu istehsal edən bakteriyanın) müvafiq çağırışına qarşı müdafiə edən maddəni buraxır. Bu zərdab maddəsinin müdafiə təsiri patogenə məruz qoyulmuş heyvandan naiv (məruz qoyulmamış) heyvana keçirilə bilər. Serum alan heyvan sonra bakteriyanın letal dozasına məruz qoyulanda, o sağ qalır. Bu effekt

cavabı yaratmaq üçün istifadə edilən patogenə spesifikdir. Beləliklə zərdab, keçirilə bilən, yoluxdurucu patogenin zərərli təsirinə qarşı müdafiə edən maddəyə (anticismə) malikdir. Bu heyvanlardan alınan, immunitet olduğu hesab edilən zərdab in vitro bakteriosid fəallığı göstərir. İmmunitet zərdabın qızdırılması onun bakteriosid fəallığını dağdır. Naiv (məruz qoyulmamış) heyvandan alınan zərdabın əlavə edilməsi qızdırılmış immunitet zərdabın bakteriosid fəallığını bərpa edir. Beləliklə zərdab anticismin fəallığını tamamlayan (komplement) başqa bir maddəyə malikdir.

23.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Sahib Orqanizmin Müdafiəsinə Ümumi Baxış

- Mexaniki və kimyəvi mühafizə əksər patogenlərə qarşı müdafiəni təmin edir. Bu müdafiə dərhaldir və fasiləsizdir, hələ az spesifikliyə malikdir. Anadangəlmə və qazanılmış immunitet, bədən mexaniki və kimyəvi hüdudlarını pozan patogenlərə qarşı mühafizəni təmin edir (bax Şəkil 23-1).
- Qan dövrəni və limfa sistemləri anadangəlmə və qazanılmış immunitetin molekulyar hüceyrə "oyunçularını" bütün bədən boyu çatdırır (bax Şəkil 23-2).
- Anadangəlmə immunitet komplement sistemlə (bax Şəkil 23-5) və bir neçə tip leykositlə həyata keçirilir, bunlardan ən əhəmiyyətli neytrofillər və makrofaqlarla dendrit hüceyrələri kimi başqa faqositik hüceyrələrdir. Anadangəlmə immun sisteminin hüceyrələri və molekulları sürətlə (dəqiqələr və ya saatlar müddətində) yerləşdirilir.

Patogenlərin mövcud olmasının molekulyar profili Toll-bənzər və başqa reseptorlarla tanına bilər, amma tanınmanın spesifikliyi kifayət qədər sadədir, çünki bu reseptorlar müvafiq molekulların olduqca geniş qruplarını tanıya bilirlər.

- Qazanılmış immunitet T və B limfositlərlə həyata keçirilir. Bu hüceyrələrin tam fəallaşması və yerləşməsi üçün günlər tələb olunur, amma onlar çox yaxın antigenləri fərqləndirə bilirlər. Antigen tanınmasının bu spesifikliyi qazanılmış immunitetin əsas fərqləndirici xüsusiyyətidir.
- Anadangəlmə və qazanılmış immunitet qarşılıqlı sinergetik şəkildə fəaliyyət göstərirlər. Toxuma zədələnməsinə və ya yoluxmaya erkən cavab olan iltihaba, anadangəlmə və qazanılmış immunitetin elementlərinin kombinasiyasından ibarət olan bir sıra hadisələr daxildir (bax Şəkil 23-7).

23.2 İmmunoqlobulinlər: Quruluşu və Funksiyası

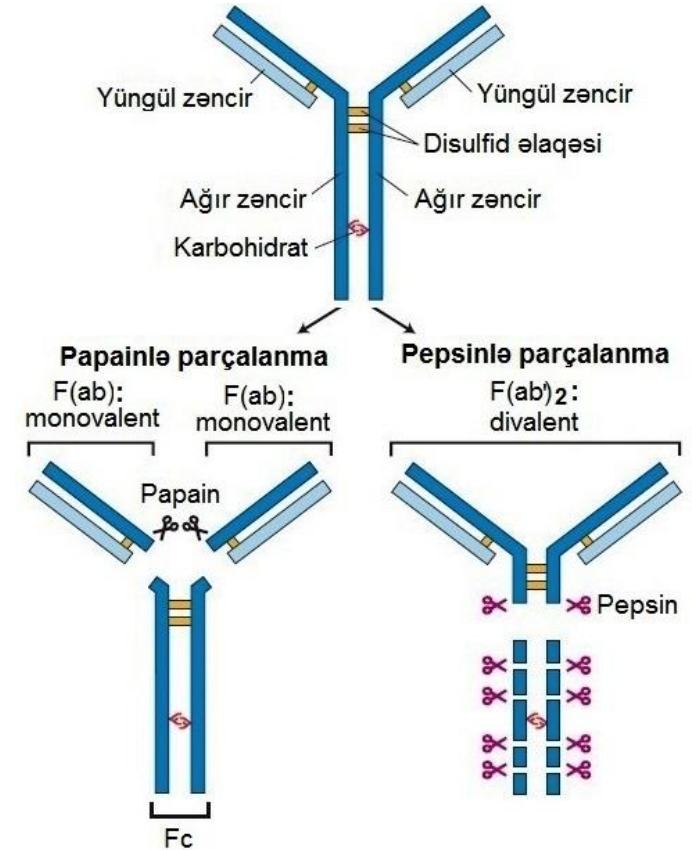
B hüceyrələri tərəfindən istehsal olunan immunoqlobulinlər (həmçinin anticismlər adlanır) qazanılmış immunitetin yaxşı-öyrənilmiş molekullarıdır. Fərdi bir insanın hədsiz sayda müxtəlif anticismləri istehsal etmək qabiliyyəti vardır, amma istənilən verilmiş spesifik anticism tipik olaraq yalnız fərd bu antigenə məruz qalanda (peyvənd olunanda) istehsal olunur, bu zaman anticism spesifik olacaq, ona görə də anticism istehsalı qazanılmış ikmmun cavabıdır. Bu bölmədə biz immunoqlobulinlərin quruluş təşkilini, onların müxtəlifliyini və onların antigenlərə necə birləşməsini müzakirə edirik. Geniş müxtəliflikdə anticismlərin yaratdığı mexanizmlər 23.3 bölməsində müzakirə edilir.

İmmunoqlobulinlərin Ağır və Yüngül Zəncirdən Təşkil Olunmuş Konservativ Quruluşu Var

İmmunoqlobulinlər zəngin zərdab zülallarıdır, fərqli quruluş və funksional xassələrinə görə bir neçə sinifə ayrılırlar. İmmunoqlobulinlər biokimyəvi yolla peyvənd olunmuş heyvanlardan (antizərdab adlanır) ayrılarkən zərdab zülallarının anticism fəallığına malik olan sinifi kimi identifikasiya olunublar. Onlar mikrobları öldürülmək üçün olan vasitəçilik qabiliyyətlərinə görə və müvafiq və ya *doğma* antigenlərinə birləşmək qabiliyyətinə görə təmizlənmişlər. İmmunoqlobulinlərin ən çox yayılmış sinifi iki identik **ağır zəncirdən (H)**, onlara kovalent qoşulmuş iki **yüngül zəncirdən (L)** ibarətdir (Şəkil 23-9; digər siniflər aşağıda təsvir edilir). Tipik immunoqlobulin (bəzən Ig kimi qısaldılır) ona görə də, H_2L_2 kimi təsvir edilən ikiqat simmetrik quruluşa malikdir. Bir H_2L_2 anticism molekulu adətən iki antigen molekuluna birləşə bilər (ikivalentli birləşmə, aşağıda bax). Bu əsas H_2L_2 arxitekturada (quruluşda) istisna dəvəkimilərin (dəvələr, lamalar, vikunalar) yaratdığı immunoqlobulinlərdə olur. Bu heyvanlar yalnız ağır zəncirlərin dimerlərindən (H_2) ibarət olan, amma yüngül zəncirləri olmayan immunoqlobulinləri istehsal edirlər.

Anticismlər oxşar molekulları necə fərqləndirə bilməsi – anticism öz spesifik antigeninə necə birləşir, amma quruluşca ona çox oxşar olan digər molekula birləşmir – sualına cavab vermək üçün biokimyəvi yanaşmadan istifadə edildi. Antigenlə birləşmək üçün birbaşa əlaqədə olan rayonu identifikasiya etmək üçün proteolitik fermentlərdən istifadə edərək kifayət qədər böyük (~150 kDa) olan immunoqlobulinlər fraqmentlərə ayrıldı (bax Şəkil 23-9). Papain proteazası antigeni birləşdirən fraqment üçün $F(ab)$ adlanan, bir antigen molekuluna birləşə bilən fraqmentləri (bivalentli fraqment) əmələ gətirdi, amma pepsin proteazası $F(ab)_2$ adlanan (F -fraqment, ab -anticism) ikivalentli fraqmentləri əmələ gətirdi, bunlar ikivalentli birləşməni nümayiş etdirdilər. Bu fermentlər intakt immunoqlobulin molekullarının bivalentli və ya ikivalentli reagentlərə ayrılmasında çox istifadə olunurlar. Hərçəndki $F(ab)$ fraqmentlər antigenlərlə çarpaz-əlaqəyə qadir deyillər, amma $F(ab')$ fraqmentlər buna qadırdırlar. Tədqiqatçılar bu çarpaz-əlaqələndirmə xassələrinin üstünlüyündən istifadə edərək tez-tez səth reseptorlarını fəallaşdırırlar. EGF reseptoru kimi çox

reseptorlar aşağıya istiqamətdə siqnal kaskadlarının tam fəallaşması üçün liqandın birləşməsi zamanı dimerləşirlər (*liqandla induksiya olunan dimerləşmə*). İmmun sistemi hüceyrələrinin çox reseptorları oxşar şəkildə davranırlar. Papainlə doğranma zamanı buraxılan və antigen birləşdirə bilməyən hissə, onun asanlıqla kristallaşa bilməsinə görə F_c (F = fraqment, c = kristallaşa bilən) adlanır.



ŞƏKİL 23-9 İmmunoqlobulin molekulunun əsas quruluşu.

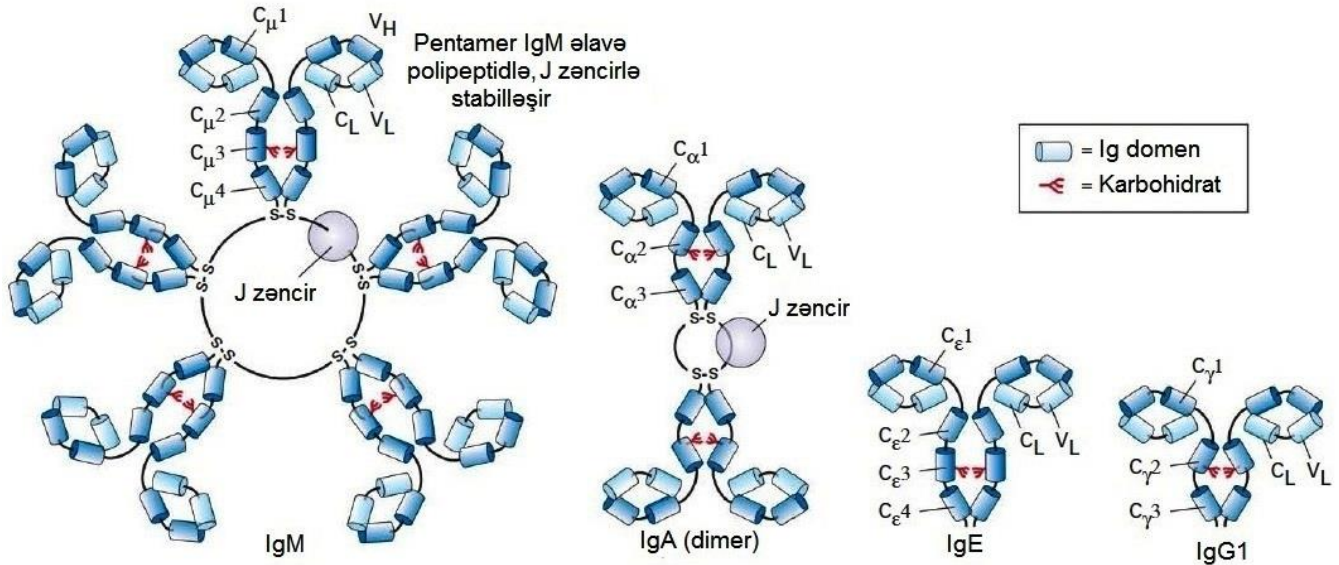
Anticismlər zərdab zülallarıdır, həmçinin immunoqlobulinlər adlanırlar. Onlar iki eyni ağır zəncirdən və iki eyni yüngül zəncirdən ibarət olan ikiqat simmetrik quruluşa malikdirlər. Anticismlərin proteazalarla fraqmentlərə ayrılması antigen-birləşdirmə qabiliyyətini saxlayan fraqmentləri verir. Pappain proteazası bivalentli $F(ab)$ fraqmentlərini, pepsin proteazası isə ikivalentli $F(ab)_2$ fraqmentlərini verir. F_c fraqment antigenə birləşə bilmir, amma intakt molekulun bu hissəsi başqa funksional xassələrə malikdir.

Müxtəlif İmmunoqlobulin İzotiplərin Hər Biri Fərqli Funksiyalarla Mövcud Olur

İmmunoqlobulinlər onların fərqli biokimyəvi xassələrinə görə müxtəlif siniflərə və ya *izotiplərə* ayrılırlar. İki yüngül zəncirli izotiplər, κ və λ mövcuddurlar. Ağır zəncirlər daha çox variasiya göstərir: məməlilərdə əsas ağır zəncir izotipləri μ , δ , γ , α və ϵ -durlar. Bu ağır zəncirlər κ və ya λ yüngül zəncirlərlə assosiasiya edirlər. Onurğalıların növündən asılı olaraq, α və γ izotiplər daxilində sonrakı yarımbölmələr baş verir, balıqlarda isə məməlilərdə tapılmayan izotip vardır. Tam toplanmış immunoqlobulin (Ig) öz adını ağır zəncirdən götürmüşdür: μ

zənciri IgM, α zənciri IgA, γ zənciri IgG, δ zənciri IgD və ϵ zənciri IgE kimi adlandırılır. Əsas Ig izotiplərin ümumi quruluşları Şəkil 23-10-da verilmişdir. Onların ağır zəncirinin Fc hissələrinin unikal quruluş xüsusiyyətlərinə görə hər bir fərqli Ig izotipi xüsusiləşmiş (iztisaslaşmış) funksiyaları daşıyır.

IgM molekulu H_2L_2 zəncirlərin pentameri kimi ifraz olunur, ağır zəncirlərin və əlavə, J zəncirinin ucları arasında disulfid əlaqələri ilə stabilləşir. IgM öz pentamer formasında on identik antigen birləşdirən mərkəzə (hər bir H_2L_2 üçün iki) malikdir, bunlar doqma antigeni göstərən səthlə qarşılıqlı əlaqədə yüksək-hərisliyi təmin edirlər. **Hərislik (avidlik)** mövcud olan fərdi birləşmə saylarının qarşılıqlı əlaqəsinin **möhkəmliyinin** (affinliyinin) və belə birləşmə saylarının **sayının** məhsulu kimi təyin edilir. Çoxsaylı aşağı-affinlikli qarşılıqlı əlaqələr yüksək-hərislikli qarşılıqlı əlaqələrə (yapışqandakı kimi) gətirib çıxara bilər. Doqma antigeni daşıyan səthə oturmaları ilə pentamer IgM molekulu komplemant kaskadın fəallaşması üçün yüksək dərəcədə keçiriciliyə malik olan konformasiyanı alır və beləliklə onun adsorbsiya etdiyi və nəticədə komplemant zülalların çökdüyü membranın zədələnməsi üçün səmərəli vasitə olur.



ŞƏKİL 23-10 İmmunoqlobulin izotipləri. İmmunoqlobulinlərin izotiplər adlanan müxtəlif sinifləri biokimyəvi immunoloji metodlarla fərqləndirilə bilər. Siçanlarda və insanlarda yüngül-zəncirinin iki izotipi (κ və λ), ağır-zəncirinin isə beş izotipi (μ , δ , γ , ϵ , α) vardır. Hər bir izotip ağır zəncir izotiplərinə əsaslanan immunoqlobulin sinifini müəyyən edir. IgG, IgE və IgD (göstərilmir) ümumi quruluş oxşarlığına malik olan monomerlərdirlər. IgM və IgA qan zərdabında kovalent disulfid

Yeni doğulmuş heyvanların immun sistemi yetkin deyildir, amma müdafiəedici anticismlər ana südü vasitəsilə anadan övlada keçir. Anadan alınan IgG-ni tutmaq üçün cavabdeh olan reseptor yeni doğulmuş gəmiricilərin bağırsağ epitel hüceyrələrində mövcud olan neonatal Fc reseptordur (FcRn). Yeni doğulmuşların bağırsağ traktının lüminal tərəfində tutulmuş ananın IgG-si transsitoz yolu ilə bağırsağ epitelisindən keçərək çatdırılır və yeni doğulmuş gəmiricinin passiv müdafiəsini təmin edir (Şəkil 23-11b). İnsanlarda, FcRn

IgA molekulu da J zəncirlə qarşılıqlı əlaqədə olub dimer H_2L_2 molekulları əmələ gətirir. Dimer IgA epitel hüceyrələrinin bazolateral tərəfində tapılmış polimer IgA reseptora birləşə bilər, burada onun birləşməsi reseptorla-vasitələnən endositozu işə salır. Bunun nəticəsində, IgA reseptor kəsilir və hələ də ona reseptorun fraqmenti (ifrazat hissəsi) qoşulmuş vəziyyətdə olan dimer IgA epitel hüceyrəsinin apikal tərəfindən azad olur (buraxılır). **Transsitoz** adlanan bu proses immunoqlobulinlərin epitel hüceyrələrinin bazolateral tərəfindən apikal tərəfinə çatdırılmasında istifadə olunan ən səmərəli üsuldür (Şəkil 23-11a). Göz yaşı və digər ifrazatlar, xüsusən də mədə-bağırsağ traktındakılar IgA ilə (hər gün qramlarla immunoqlobulin ifraz olunur) zəngindirilər və bu yolla ətraf mühitin patogenlərinə qarşı mühafizəni təmin edirlər.

IgG izotipi virus zərrəciklərini neytrallaşdırmaq üçün çox əhəmiyyətlidir. Bu izotip həmçinin viruslar və ya daha böyük bakteriya fraqmentləri kimi hissələrə bölünmüş antigenləri IgG molekuluğunun Fc hissəsinə spesifik olan reseptorlarla təchiz olunmuş hüceyrələr tərəfindən mənimsənilməyə üçün hazırlamağa kömək edir (aşağıya bax).

əlaqəli köməkçi subvahid J zənciri ilə müşayiət olunmaqla, uyğun olaraq pentamer və dimerlər şəkilində rast gəlinirlər. İmmunoqlobulinlərin bu həcmli təsviri onların modulyar dizaynını vurğulayır və hər bir çəllək fərdi Ig domenlərini təmsil edir. Müxtəlif izotiplər fərqli funksiyaya malikdirlər. Qısaltmaların mənasına görə Şəkil 23-13-ə bax.

plasentada ananın qan dövranı ilə əlaqədə olan rüşeyim hüceyrələrində tapılmışdır. Ananın dövredici sistemindən IgG anticismlərinin transsitozu ana anticismlərini placentə vasitəsilə dölə çatdırır. Ananın bu anticismləri körpənin anticismlər istehsal edən kifayət qədər yetkin immun sistemi yaranana qədər müddətdə onu mühafizə edəcək. Yetkinlərdə, FcRn endotelial hüceyrələrdə də ekspressiya olunur və qan dövrasında IgG dövriyəsini idarə etməyə və IgG-nin endotelial baryerdən keçərək altı yerləşən toxumalara çatdırılmasına kömək edir.

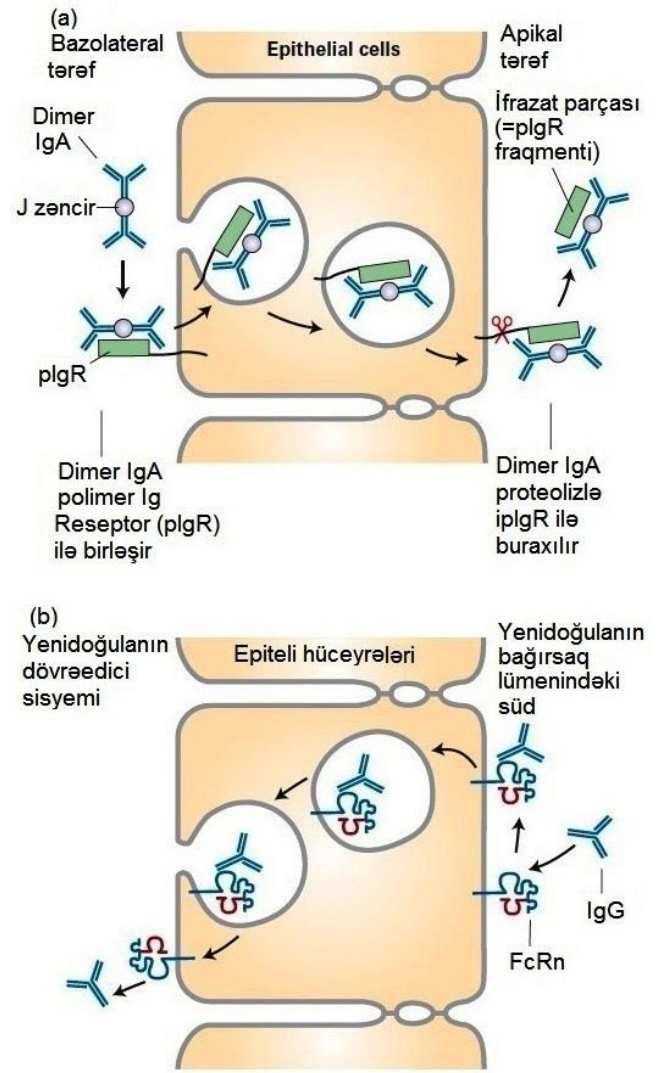
23-3 bölməsində biz görəcəyik ki, IgM və IgD izotipləri yeni yaranmış B hüceyrələrdə membrana-birləşmiş reseptorlar kimi ekspresiya olunurlar. Burada, B hüceyrələrin inkişafında və fəallaşmasında μ zəncirin əhəmiyyətli rolu var.

Hər Bir Naiv B Hüceyrə Unikal Immunoqlobulin İstehsal Edir

Klonal seçim nəzəriyyəsi belə şərtləndirir ki, hər bir *naiv* limfosit (hələ öz spesifik antigeninə malik olmayan) unikal spesifikliyə malik olan antigen-birləşdirən reseptoru daşıyır. Limfosit onun spesifik olduğu antigenlə rastlaşanda klonal artma (hamısı bir sələf hüceyrədən törəmiş hüceyrə qruplarını – klonu – yaratmaq üçün sürətli hüceyrə bölünməsi) baş verir və beləliklə cavabın amplifikasiyasına imkan verir, spesifik anticismin (ilk sələf hüceyrə tərəfindən istehsal olunan) böyük miqdarda ifraz olunmasını maksimuma çatdırır (Şəkil 23-12). Antigen-spesifik anticismin antigenə birləşməyə və ardınca da antigenin bədənədən kənara uzaqlaşdırılmasına cavabdehdir. Tipik immun cavabında cavabı əmələ gətirən antigen mürəkkəb tərkibə malikdir: hətta ən sadə virus bir sıra fərqli zülallara malikdir və bu zülalların hər biri immun sisteminə bir-birindən asılı olmadan tanınma bilən bir sıra molekulyar fərqli xüsusiyyətləri təqdim edə bilər. Beləliklə, çox fərdi limfositlər mövcud antigenə qarşı cavab verir və ona qarşı cavab zamanı çoxalaraq müstəqil klonlara çevrilir, bunların da hər biri öz antigen-spesifik reseptorunu və unikal quruluşda olan, ona görə də unikal birləşmə xarakterinə malik olan (affinlik) anticismi istehsal edir. Hər bir limfosit özünəməxsus unikal reseptora malik olduğundan və antigenə cavab olaraq klonal artdığından, çoxsaylı, sərbəst sələflərin bu cavabı *poliklonal* kimi xarakterizə olunur.

Fərdi limfositlərin bəd xassəli klonal artmasını təmsil edən B-hüceyrə şişləri anticismlərin müxtəlif formalarının yaranmasının əsasında duran prosesin ilk molekulyar analizlərini mümkün etdi. Əsas müşahidə ondan ibarət olmuşdur ki, limfositlərdən əmələ gələn şişlər böyük miqdarda ifraz olunan immunoqlobulinləri istehsal edir. Bu immunoqlobulinlərin bəzi kiçik zəncirləri belə şişlərə malik olan xəstənin sidiyində ifraz olunur. Onları aşkar edən şəxsinə *Bence-Jones zülalları* adlandırılan bu yüngül zəncirlər asanlıqla ayrılıb təmizlənməyə bilər və immunoqlobulinlərin zülal kimyəvi analizi üçün ilk hədəf oluna bilər.

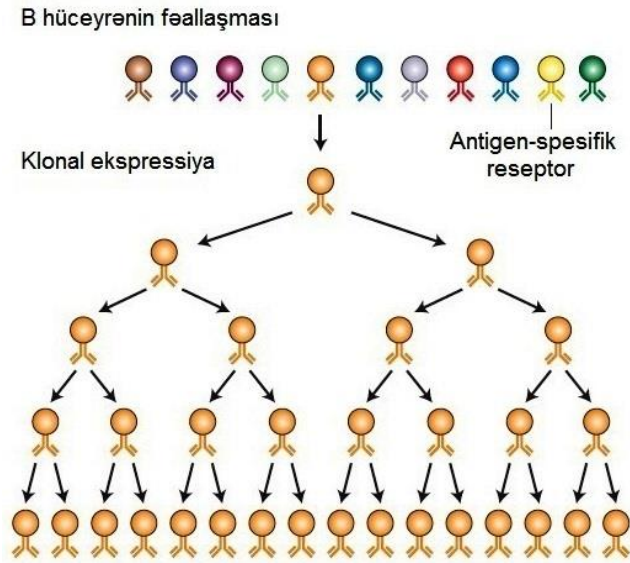
Bu işdən iki əsas müşahidə meydana çıxır. Birincisi, iki müstəqil şiş identik biokimyəvi xassəyə malik olan yüngül zənciri istehsal etmir, bu göstərir ki, onlar ardıcılığına görə unikalırlar. İkincisi, digərindən fərqlənən bir yüngül zəncirin aminturşu ardıcılığında fərqlər təsadüfi paylanmamışdır, amma domendə klaster şəkilində yerləşmişdir, buna *yüngül zəncirin dəyişən rayonu* və ya V_L deyilir. Bu domen yüngül zəncirin N-sonluğunda ~110 amin turşusunu təşkil edir. Ardıcılığın qalan hissəsi müxtəlif yüngül zəncirlərdə eyni olduğundan (eyni, κ ya da λ izotiplərdən əmələ gəldiklərinə görə) *konstant rayon* və ya C_L adlandırılır. Hər bir fərdi xəstə üçün unikal olan immunoqlobulinlər xəstələrin qan zərdabından təmizlənməmişlər. Bu preparatlardan alınan ağır zəncirlərin ardıcılıqlarının oxunması aşkar etdi ki, bir ağır zənciri digərindən fərqləndirən dəyişkən qalıqlar yaxşı ayrılmış domenlərdə yenidən toplanırlar, buna *ağır zəncirin dəyişkən rayonu* və ya V_H deyilir.



ŞƏKİL 23-11 IgA və IgG-nin transsitozu. (a) IgA göz yaşında və müxtəlif selikli membranların ifrazatında tapılmışdır, epitelidən kənara daşınmalıdır. IgA polimer IgA reseptora birləşir və endositoz olunur. Nəticədə əmələ gələn kompleks epitelin təbəqəsində daşındıqda reseptorun bu hissəsi kəsilir və hələ də reseptorun ifrazat olunan hissəsinə birləşmiş vəziyyətdə qalan IgA apikal tərəfdə buraxılır. (b) Anasını əmən gəmiricilər Ig-ni analarının südükdən alırlar. Bağırsağ epitelisinin apikal səthində yenidoğulan neonatal Fc reseptora (FcRn) malik olur, onun quruluşu I sinif MHC molekulların quruluşuna bənzəyir (bax Şəkil 23-23). Reseptor IgG-nin Fc hissəsinə birləşdikdən sonra, transsitoz əldə edilmiş IgG-ni epitelinin bazolateral tərəfinə keçirir. İnsanlarda, placentada sinsitial trofoblast FcRn-i ekspresiya edir və IgN-in ananın qan dövrənindən əldə olunmasına və dölə çatdırılmasına (transplental daşınma) kömək edir.

Fərqli yüngül zəncirlərdən alınmış dəyişən-rayon ardıcılığının düzlüşü dəyişkən rayonların təsadüfi (nizamsız) olmayan profiline olduğunu göstərdi, çərçivə rayonlar adlanan, bir-birinə sıxılmış üç hiperdəyişkən rayon – HV1, HV2 və HV3 – aşkar etdi (Şəkil 23-13a). (İmmunoqlobulin ağır zəncirlərin ardıcılıqları üçün də oxşar düzlüş hiperdəyişkən rayonları aşkar etdi.) İmmunoqlobulinlərin düzgün bükülmüş üç-ölçülü quruluşunda bu hiperdəyişkən rayonlar çox yaxın yerləşirlər (Şəkil 23-13b, və 23-14) və antigenlə əlaqə yaradırlar. Beləliklə,

Ig molekulinun hiperdüyşkən rayonlara malik olan o hissəsi antigen-birləşmə saytını təşkil edir. Bu səbəbdən də, hiperdüyşkən rayonlar *komplementar-təyinedici rayonlar (CDR)* adlanırlar.



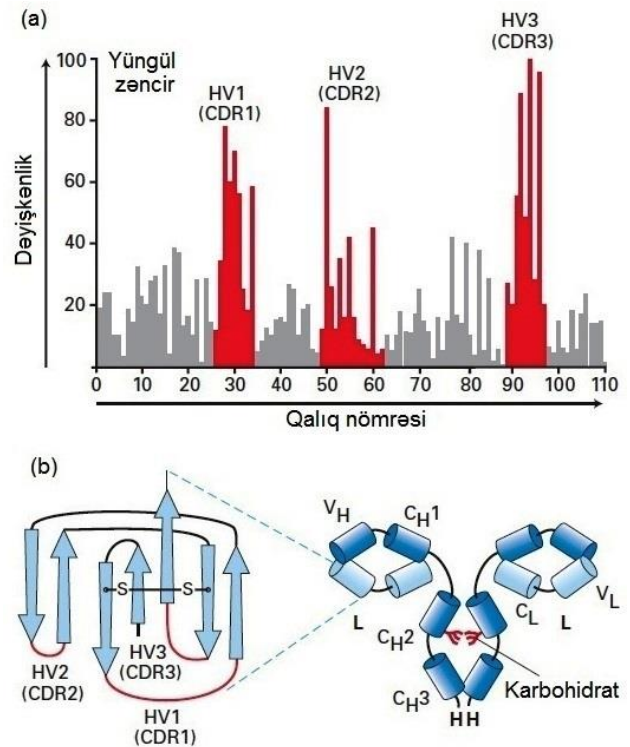
ŞƏKİL 23-12 Klonal seçmə. Klonal seçmə nəzəriyyəsi böyük sayda limfositlər dəstinin mövcud olduğunu guman edir, bunların hər biri özünün unikal antigen-spesifik reseptoruna malikdir (fərqli rənglərlə göstərilmişdir). Xüsusi bir limfositin daşdığı reseptora uyğun olan antigen ona birləşir və bu limfositə stimullaşdıraraq onu klonal çoxaldır. Çox olmayan sayda antigen-spesifik hüceyrələrdən lazım olan spesifiklikdə böyük sayda hüceyrələr (və böyük miqdarda ifraz olunmuş məhsullar) əmələ gələ bilər.

Hədsiz dərəcədə böyük müxtəliflikdə anticism repertuarının (bizim hazırda bildiyimiz 20000 yaxın müstəqil genlərə qarşı milliondan artıq fərqli anticism molekulları) yaradılması üçün lazım olan məlumatın irsən keçmiş (rüşeyim xətti) genomda birbaşa kodlaşdırılmasının çətinliyi bu müxtəlifliyi nəzərə alan unikal genetik mexanizmlərin təklif olunmasına səbəb oldu. Tipik anticismlərin ağır zəncirinin və yüngül zəncirinin (hər bir ağır zəncir-yüngül zəncir kombinasiyası, əgər belə kodlaşdırılırsa, tipindən asılı olaraq 2.5-3.5 kə DNT tələb etməlidir) verilmiş ölçüsündən dərhal aydındır ki, orqanizmin məruz qaldığı patogenlərin geniş sırasına və başqa yad maddələrə qarşı adekvat müdafiəni təmin etmək üçün kifayət qədər müxtəlif anticism molekulları dəstinin kodlaşdırılması onun DNT kodlaşdırma qabiliyyətini tükəndirməlidir. Biz görəyək ki, həqiqətən də, adekvat olaraq geniş müxtəliflikdə anticismləri yaratmaq üçün unikal mexanizm işləyir.

İmmunoqlobulin Domenlərinin Disulfid Əlaqələri ilə Stabilləşən İki β Vərəqdən Təşkiil Olunmuş Xarakterik Bükülməsi Vardır

İmmunoqlobulinlərin həm dəyişkən həm də sabit domenləri yalnız β vərəqlərdən təşkiil olunmuş üçölçülü kompakt quruluşda bükülürlər (bax Şəkil 23-13). Tipik Ig domeni disulfid əlaqələr

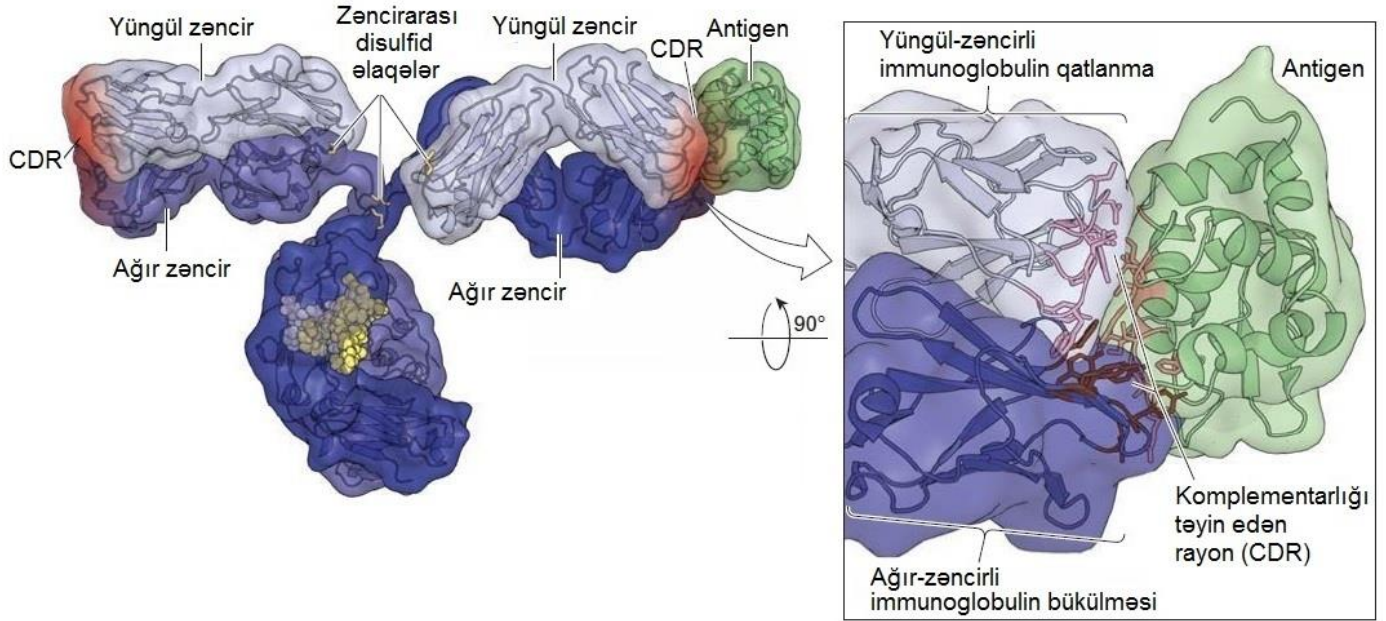
vasitəsilə sandviç kimi bir yerdə saxlanılan iki β vərəqə malikdir (biri üç zəncirlə, digəri isə dörd zəncirlə). İçəriyə tərəf yönələn qalıqlar əsasən hidrofobdur və sandviç quruluşun stabilləşdirilməsinə kömək edirlər. Su mühitinə məruz qalan qalıqların çox hallarda polyar yüklənmiş yan zəncirləri vardır. Disulfid əlaqələrini əmələ gətirən sistein qalıqlarının və az sayda güclü konservativliyə malik olan qalıqların yerləşməsi təkamülcə qədim olan, **immunoqlobulin bükülməsi** adlanan bu quruluş motifini əmələ gətirir. Əsas immunoqlobulin bükümü antigen-spesifik tanınmada birbaşa iştirak etməyən çoxsaylı eukariot zülallarında da, o cümlədən hüceyrə adgeziya molekullarının Ig ailəsində və ya IgCAM-da tapılmışdır (bax Fəsil 20).



ŞƏKİL 23-13 Hiperdüyşkən rayonlar və immunoqlobulinlərin bükülməsi. (a) Amin turşularının dəyişkənliyi Ig yüngül zəncirlərindəki qalıqların mövqeyi ilə dəyişir. Burada variant amin turşuları ilə dəyişkən rayon ardıcılıqlarının faiz miqdarı ardıcılıqda hər bir mövqe üçün qrafikə salınmışdır. Çoxsaylı müxtəlif amin turşularının yan zəncirinin mövcud olduğu mövqələr yüksək dəyişkən indekslər kimi təyin edilmişdir, müqayisə olunan ardıcılıqlar arasında invariant (dəyişməz) olanlarda isə 0 qiyməti təyin edilmişdir. Bu analizlər artan dəyişkənliyin üç rayonunu aşkar edir: hiperdüyşkən (HV) 1, 2 və 3 rayonlar, bu rayonlar komplementar-təyinedici rayonlar (CDR) kimi də adlandırılır. (b) F (ab)₂ fraqmentinin həcmli təsviri (sağda) və tipik Ig yüngül-zəncirinin dəyişkən rayonunun (VL) hiperdüyşkən rayonların mövqeyi ilə birlikdə lent diaqramı (solda). Hiperdüyşkən rayonlar β zəncirləri birləşdirən və antigenlə kontakt yaradan ilgəklərdə tapılmışdır. β zəncirlər (oxlar kimi göstərilir) iki β vərəqi təşkil edir və çərçivə rayonunu əmələ gətirir. Hər bir dəyişkən və konstant domen immunoqlobulin bükümü adlanan belə xarakterik üç-ölçülü quruluşa malikdir. L = yüngül zəncir; H = ağır zəncir; VH = ağır zəncirdə dəyişkən rayon VL = yüngül zəncirdə dəyişkən rayon; CH1, CH2, CH3 = ağır zəncirin konstant (sabit) domenləri; CL = yüngül zəncirin sabit (konstant) rayonu.

Antigendə müvafiq anticismlə əlaqə yaradan rayon **epitop** adlanır. Adətən antigen zülal çoxsaylı epitoplara malik olur və çox hallarda bunlar zülal üzərində ilgəklər və ya səthlər əmələ gətirirlər, ona görə də anticism molekulları tərəfindən asanlıqla

tutula bilirlər. B hüceyrələrinin klonal populyasiyasından alınan hər bir homogen anticism preparatı müvafiq antigendə molekulyar təyin olunmuş tək bir epitopu tanıyır.



ŞƏKİL 23-14 İmmunoglobulinin quruluşu. Bu model immunoglobulin molekulunun toyuq-yumurtası ağınnın lizozimi (antigen zülalı) ilə kompleksdə rentgen-kristalloqrafiya ilə təyin

edilmiş üç-ölçülü quruluşunu göstərir. [Verilənlər E. A. Padlan et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**:5938, PDB ID 1igt, 3hfm-dən.]

Antigendə öz doğma epitopu ilə kompleksdə olan anticism quruluşunu öyrənmək üçün homogen immunoglobulinlərin və antigenlərin mənbəyinin təmiz formada olması çox vacibdir (bax Fəsil 3). Bizim gördüyümüz kimi, homogen immunoglobulinlər B hüceyrə şişlərindən alınır, amma bu halda anticism spesifik olduğu antigen məlum deyil. Quruluş analizi üçün uyğun homogen anticismlərin preparatlarının yaradılması üçün vacib bir irəliləyiş, spesifik seçim mühitindən istifadə edərək hibridomalardan anticismlərin alınması üsullarının inkişafı oldu (bax Fəsil 4, səhifə 135-136). **Monoklonal anticismlər** adlanan, müəyyən edilmiş spesifiklikdə anticismlərin istehsalı üçün ölümsüzləşmiş hüceyrə xəttlərinin yaradılması hüceyrə bioloqları üçün çox vacib bir alət oldu: monoklonal anticismlər spesifik makromolekulların spesifik təyin edilməsi ilə yanaşı dərman preparatlarının, dərman metabolitlərinin miqdarca təyində, hətta cAMP kimi siqnal molekullarının təyində geniş istifadə olunur. Monoklonal anticismlər zülalları və onların modifikasiyalarını (fosforlaşma, nitrozilləşmə, metilləşmə, asetilləşmə və sair), eləcə də kompleks karbohidratları (qliko)lipidləri, nuklein turşularını və onların modifikasiyalarını aşkar edə bilir, ona görə də onlar laboratoriyalarda və eləcə də diaqnostikada və müalicə məqsədi ilə geniş istifadə olunurlar.

İndi bizim, hər biri öz spesifik antigeni ilə kompleksdə olan böyük sayda monoklonal anticismlərin quruluşu barədə ətraflı dəqiq biliklərimiz var. Zülalların başqa (makro)molekullarla molekulyar komplementarlığının adı qaydalarından (bax Fəsil 3) başqa, bu qarşılıqlı əlaqələri öyrənən sərt və sürətli qaydalar

yoxdur. CDR-lər antigen-anticism araüzünə (interfeysinə) çox əhəmiyyətli töhfələr vermişdir. Ig ağır zəncirein V_H rayonunun CDR3-ü Ig yüngül zəncirin V_L rayonunun CDR3-ü kimi xüsusilə mühüm rol oynayır.

İmmunoglobulinlərin Sabit Rayonu Onların Funksional Xassələrini Təyin Edir

Bizim gördüyümüz kimi, anticismlər antigeni özlərinin dəyişən rayonları ilə tanıyırlar. Sabit (konstant) rayon patogeni neytrallaşdırmaq üçün hansı effektor molekulunun cəlb olunmasını təyin edir.

Virusun və ya mikrobu səthinə yapışmış anticismlər immunoglobulinin Fc hissəsinə spesifik olan reseptoru ekspresiya edən hüceyrə tərəfindən birbaşa tanınır. İmmunoglobulinlərin fərdi siniflərinə və yarım siniflərinə spesifik olan bu *Fc reseptorlar (FcRs)* əhəmiyyətli dərəcədə quruluş və funksional heterogenliyi nümayiş etdirirlər. FcR-dən asılı olan hadisələrin vasitəsi ilə, dendrit hüceyrələri və makrofaqlar kimi ixtisaslaşmış faqosit hüceyrələr anticismlə-“bəzənmiş” zəfərciklərə cəlb edilə və sonra onları uda və məhv edə bilirlər. Antigen hədəfin anticismlərlə qeyri kovalent bəzənməsi, və ya onun komplement komponentlərlə kovalent modifikasiyası *opsonizasiya* adlanır. FcR-dən asılı olan hadisələr bəzi immun sistemi hüceyrələrinə (məsələn, monositlərə və təbii killer hüceyrələrə) imkan verir ki, anticismlərin birləşdiyi virus və ya başqa antigenləri nümayiş etdirən hədəf hüceyrələri birbaşa cəlb etsinlər. Bu cəlb etmə

immün sistemi hüceyrələrini kiçik molekullu zəhərli maddələri (məsələn reaktiv oksigen nümunələrini) və ya perforinlər və qranzımlər kimi sitotoksik qranulaları ifraz etmək üçün induksiya edə bilir. *Perforinlər* zülallar olub özlərini cəlb olunmuş hədəf hüceyrələrin səthinə yapışdırır və onun membranında məsamələr əmələ gətirə bilirlər. Bu yeni yaranmış məsamələr *qranzımlərin*, proteazaların daxilə keçməsinə və sonda hədəf hüceyrəni öldürəcək hadisələr ardıcılığının inisiyasiya olunmasına imkan yaradır (bax Şəkil 23-6). *Anticisimdən-asılı olan hüceyrə-vasitəsilə sitotoksiklik (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity — ADCC)* adlanan bu proses anadangəlmə immün sistemi hüceyrələrinin qazanılmış immün cavabının məhsulları ilə necə qarşılıqlı təsirdə olduğunu və ondan necə bəhrələndiyini təsvir edir.

Bəzi immunoqlobulin izotiplərinin antigen-anticism (immün) kompleksləri komplement fəallaşmanın klassik yolunu inisiyasiya edə bilirlər (bax Şəkil 23-5). IgM və IgG3 komplement fəallaşmada xüsusilə yaxşıdırlar, amma, prinsipcə bütün IgG siniflər komplementi fəallaşdırdıqları halda IgA və IgE bunu edə bilmirlər. Bağırsaqda tapılmış böyük sayda IgA bağırsaqda yaşayan mikrobları zərərsizləşdirərək onun maneə (baryer) funksiyasına kömək edir.

23.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Immunoqlobulinlər: Quruluşu və Funksiyası

- Immunoqlobulinlərin (anticismlərin) əksəriyyəti iki eyni ağır (H) zəncirdən və iki eyni yüngül (L) zəncirdən (H_2L_2) təşkil olunublar. Hər bir zəncir dəyişkən (V) rayona və sabit (C) rayona malikdir. Proteolitik fraqmentlərə ayırma bivalentli F(ab) və antigen-birləşdirmə qabliyyətini saxlayan dəyişkən-rayon domenlərinə malik olan ikivalentli $F(ab')_2$ fraqmentləri verir (bax Şəkil 23-9). Fc fraqmenti sabit-rayon domenlərinə malikdir və onların komplement komponentləri fəallaşdırma qabliyyətini və ya leykositlərdə ekspressiya olunan Fc rayonlara spesifik olan reseptorlara birləşmək qabliyyətini təyin edir.
- Immunoqlobulinlər onların ağır zəncirindəki konstant rayonlara əsaslanaraq siniflərə bölünürlər (bax Şəkil 23-10). Məməlilərdə, beş əsas sinif immunoqlobulin vardır: IgM, IgD, IgG, IgA və IgE, müvafiq ağır zəncirlər uyğun olaraq μ , δ , γ , α və ϵ adlanırlar. Yüngül zəncirlərin κ və λ adlanan iki əsas sinifi vardır, bunlar da zəncirlərin sabit rayonları ilə xarakterizə olunurlar.
- IgM və IgA yüksək nizamlı quruluşu yarada bilir: IgM pentamer əmələ gətirə bilir (beş eyni H_2L_2 nüsxələri), IgA isə dimer əmələ gətirə bilir (iki eyni H_2L_2 nüsxələri).
- Hər bir fərdi B limfositini unikal ardıcılıqda immunoqlobulini ekspressiya edir, ona görə də xüsusi bir antigenə unikal spesifiklik göstərir. Antigeni tanıyanda yalnız ona spesifik olan reseptoru daşıyan B limfosit fəallaşır və klonal olaraq çoxalır (klonal seçmə) (bax Şəkil 23-12).
- Anticismlərin antigen spesifikliyi onların yüksək ardıcılıq dəyişikliyinə malik olan və hiperdəyişkənlik və ya komplementarlığı təyin edən rayonlar adlanan dəyişkən rayonları tərəfindən verilir (bax Şəkil 23-13a). Bu hiperdəyişkən rayonlar dəyişkən rayonların ucunda

yerləşirlər və burada onlar xüsusi bir anticismin spesifik olduğu antigenlə spesifik əlaqələri yarada bilirlər.

- Immunoqlobulin molekullarını təşkil edən təkrarlanan immunoqlobulin domenlər xarakterik üç-ölçülü quruluşa malikdirlər, iki β vərəqdən ibarət olan immunoqlobulin qatlanması disulfid əlaqələr vasitəsilə sandviç kimi bir yerdə saxlanılır (bax Şəkil 23-13b).
- Ağır zəncirlərin sabit rayonları anticismləri komplementə birləşmək qabliyyəti kimi, epitelidən daşına bilmək qabliyyəti kimi və ya immunoqlobulinin Fc hissəsinə spesifik olan reseptorlarla qarşılıqlı əlaqə yaratmaq qabliyyəti kimi unikal effektor xassələri ilə təmin edir.

23.3 Anticism Müxtəlifliyinin Yaradılması və B-Hüceyrələrin İnkişafı

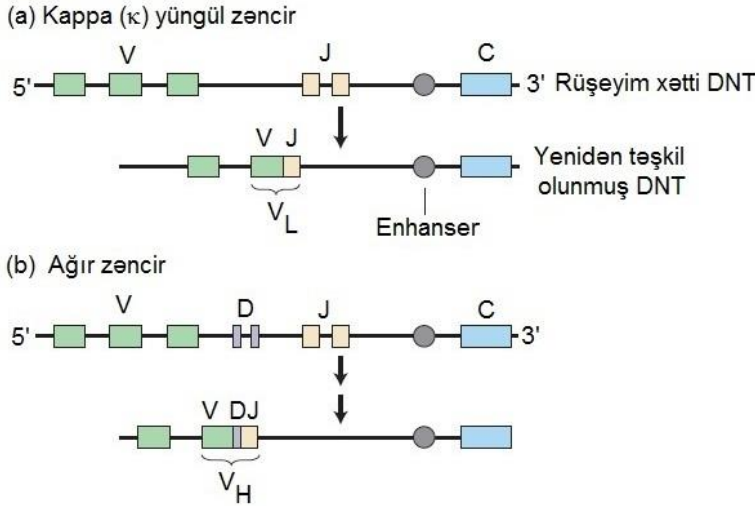
Patogenlərin replikasiya dövrü qısadır, genetik baxımdan kifayət qədər müxtəlifdirlər və sürətlə yaranıb inkişaf edirlər həddən artıq böyük antigen dəyişkənliyi yaradırlar. Ona görə də adekvat müdafiə eyni dərəcədə fərqli cavabları verməyə qadir olmalıdır. Anticismlər sahib orqanizmin uğurlu müdafiəsi üçün lazım olan müxtəlifliyi təmin edir. Anticism cavabının vaxtı və onun patogendə antigen tərkibinin dəyişmələrinə görə lazım olan nizamlanması qazanılan immün sisteminin təşkilində və tənzimlənməsində unikal tələbləri qoyur. Yalnız istehsal oluna bilən anticismlərin (repertuar adlanan) dəstində praktiki olaraq qeyri məhdud variasiyaya deyil, həmçinin davam edən mövcud virus və ya bakterial yoluxmanın qoyduğu tələblərə cavab verən bu anticismlərin keyfiyyətində də sürətli təkmilləşmələrə (irəliləyiş) imkan verən unikal mexanizim yarandı. B hüceyrələrində optimal anticism istehsalı üçün T hüceyrələrin köməyi tələb olunduğundan, biz aşağıda görəcəyik ki, limfositlərin müxtəlifliyinin əsasında duran molekulyar mexanizmlər B və T hüceyrələrdə fundamental olaraq oxşardır.

Anticism istehsalını həyata keçirən B hüceyrələr immunoqlobulinin ağır və yüngül zəncirlərinin sintezi üçün tələb olunan genetik informasiyanı ayrı-ayrı DNT ardıcılıqlarından və ya Ig gen seqmentlərindən bir yerə tikərək funksional transkripsiya vahidini yaratmaq üçün unikal bir mexanizmdən istifadə edirlər. Ig gen seqmentlərini bir yerə toplayan rekombinasiya mexanizmi özü bu genetik elementlərin bir yerə birləşdiyi ardıcılıq dəyişkənliyini dəqiqliklə dramatik şəkildə genişləndirir. Anticismlərin geniş sırasını yaradan bu mexanizim yalnız rüşeyim hüceyrələrində baş verən meyoza rekombinasiyasından və eqzonların alternativ splaysinqindən (bax Fəsil 8) fundamental şəkildə fərqlənir. Bu rekombinasiya mexanizmi rüşeyim hüceyrələrində deyil, somatik hüceyrələrdə baş verdiyindən, o *somatik gen yenidəntəşkili* və ya *somatik rekombinasiya* kimi məlumdur. Bu qeyri adi rekombinasiya mexanizmi B və T limfositlərdə antigen-spesifik reseptorlar üçün unikaldir, DNT kodlaşdırma sahəsinin minimum istifadəsi ilə çox müxtəlif reseptorlar dəstini təyin etməyə imkan verir. Somatik rekombinasiyanın aşkar edilməsinin detalları Klassik Eksperiment 23-1-də verilir.

Diskret genetik elementlərin arzu olunan şəkildə bir yerə toplanmasının (kombinator müxtəliflik) mümkünlüyü, rekombinasiya mexanizmlərinin özləri tərəfindən kodlaşdırılan reseptorlarda daha çox ardıcılıq müxtəlifliyini yaratmaqla

yanaşı, sahib tərəfindən kodlaşdırılan molekullar da daxil olmaqla, demək olar ki, antigenlərin sonsuz bir sırasına qarşı qazanılmış immun reaksiyalarına imkan verir. Beləliklə, mexanizmlər yalnız böyük miqdarda müxtəlifliyi yaratmaq üçün deyil, həm də “özünün” komponentlərinə qarşı arzu olunmayan reaktivliyi azaltmaq üçün, dözümlülük (tolerantlıq) vermək üçün işləyir, belə reaktivliyin nəticəsi autoimmunitetdir. Heç bir

mexanizm mükəmməl deyil: qazanılmış immun sistemi *bütün* xarici maddələr üçün reseptor yarada bilmir. Bundan başqa, B- və T hüceyrə reseptorlarını necə yaratmağımıza görə ödəyəcəyimiz qaçılmaz qiymət öz-özünə reaktiv reseptorların (avtoimmunitetin) olma ehtimalındadır.



ŞƏKİL 23-15 İmmunoqlobulin DNT-sində gen yenidən düzlənməsinə baxış.

B hüceyrələrini əmələ gətirən sütun hüceyrələr immunoqlobulin ağır və yüngül zəncirlərin hissələrini kodlaşdırın çoxsaylı gen seqmentlərinə malikdirlər. B hüceyrələrin inkişafı zamanı bu gen seqmentlərinin somatik rekombinasiyası yüngül-zəncirin funksional genlərini (a) və ağır zəncirin genlərini (b) yaradır. Hər bir V gen seqmenti öz promotorunu daşıyır. Yenidən təşkil kombinasiya olunmuş ardıcılığın transkripsiyasını fəallaşdırma bilmək üçün enhanseri kifayət qədər yaxın gətirir. Yüngül zəncirin dəyişkən rayonu (V_L) iki qovuşmuş gen seqmentləri ilə kodlaşdırılır, ağır-zəncirin dəyişkən rayonu (V_H) isə üç qovuşmuş gen seqmentləri ilə kodlaşdırılır. Qeyd edək ki, immunoqlobulinləri kodlaşdırın xromosomal rayonlar göstərilidiyindən daha çox V, D və J seqmentlərə malik olurlar. Bundan başqa, κ yüngül-zəncir lokusu, göstərilidiyi kimi, tək bir sabit (C) seqmentə malik olur, amma, ağır-zəncir lokusu, immunoqlobulin izotiplərinə uyğun olan bir neçə fərqli C seqmentlərinə malik olur (göstərilmir).

Funksional Yüngül Zəncir Geni V və J Gen Seqmentlərinin Toplanması Tələb Edir

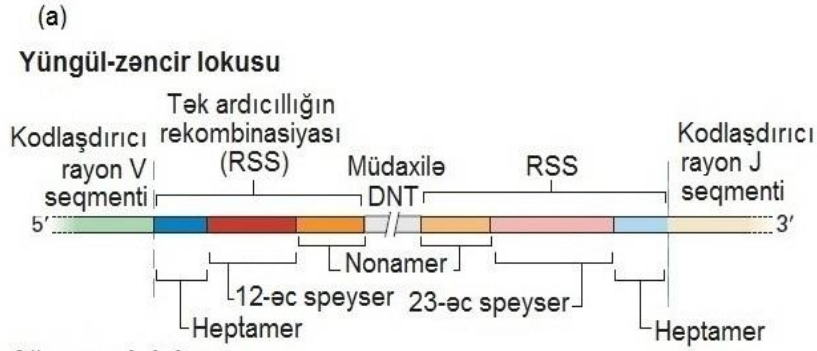
İntakt immunoqlobulinləri kodlaşdırın genlər demək olar ki, genomda ekspressiyaya hazır vəziyyətdə olan tam toplanmış şəkildə olmur. Bunun əvəzinə, tələb olunan gen seqmentləri bir araya gətirilir və B hüceyrələrin inkişafının gedişində toplanırlar. Genomun immunoqlobulin genlərinə malik olan rayonu əşkili Şəkil 23-15-də göstərilir. B hüceyrələrdə, bu rayonda DNT aşağıda verildiği kimi, hər bir B hüceyrəsində və ondan törəyənlərdə toplanmış tam funksional immunoqlobulin-kodlaşdırın genləri yaratmaq üçün yenidən düzlənir. Baxmayaraq ki, ağır-zəncir genlərinin yenidən düzlüşü yüngül-zəncir genlərinin yenidən düzlüşündən əvvəl baş verir, yüngül-zəncirin genlərinin təşkilində mürəkkəbliyin az olmasına görə biz əvvəlcə onları müzakirə edirik.

İmmunoqlobulin yüngül-zəncir genləri V gen seqmentlərinin klasterindən və ardınca gələn tək C seqmentindən təşkil olunublar. Hər bir V gen seqmenti öz promotor ardıcılığını daşıyır və yüngül zəncirin dəyişkən rayonlarının əsas hissəsini kodlaşdırır, hərçənd ki, yüngül zəncirin dəyişkən rayonunu kodlaşdırın nukleotid ardıcılığının kiçik bir hissəsi V gen seqmentindən itmişdir. İtməmiş bu hissə V seqmentlər arasında yerləşən çoxsaylı J seqmentlərinin biri ilə və düzlənməmiş κ yüngül zəncir lokusundakı tək bir C seqmenti ilə təmin olunur (bax Şəkil 23-15a). (Bu J seqmenti genetik elementdir, pentamer IgM molekulunun polipeptid subvahidi olan və IgA ilə assosiasiyada olan (bax Şəkil 23-10) J zəncirlə dəyişik salınmamalıdır.) B hüceyrələrin inkişafı zamanı xüsusi bir V geni seqmentinin istifadəsi üçün B hüceyrə sələfinin öhdəliyi — nizamsız proses — onun fiziki olaraq J seqmentlərdən biri ilə yanaşı yerləşməsi ilə nəticələnir, yenə də tam yüngül-

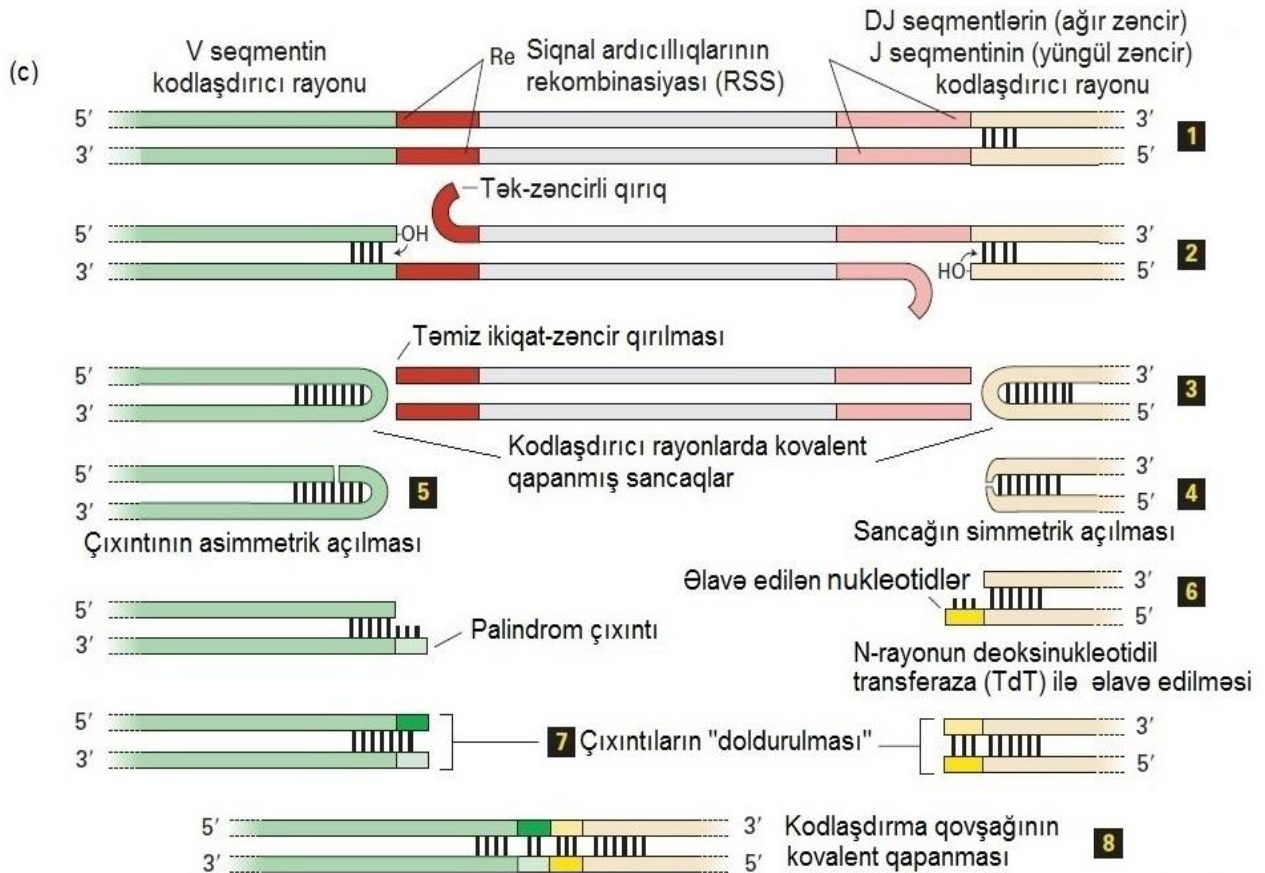
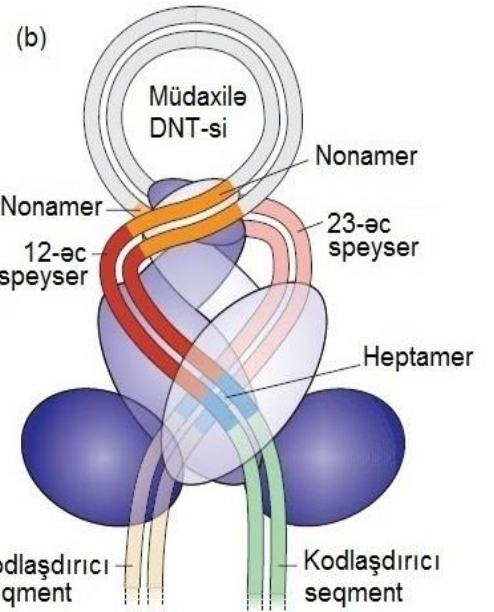
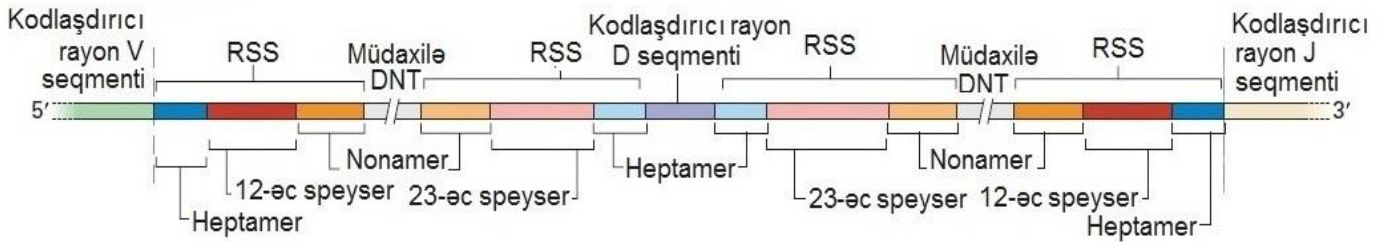
zəncirin dəyişkən rayonunu (V_L) kodlaşdırın eqzonu əmələ gətirmək üçün təsadüfi seçmə. Bu DNT yenidən təşkil yalnız intakt funksional yüngül-zəncir genini yaratmış, o eyni zamanda yenidən təşkil olunmuş genin promoter ardıcılığını yüngül-zəncirin sabit rayonunun eqzonundan aşağıya doğru yerləşən və transkripsiya üçün tələb olunan enhanser elementinin nəzarət dairəsi daxilində yerləşdirir. Yalnız tamamilə yenidən düzlənmiş yüngül-zəncir geni transkripsiya olunur və uyğun olaraq zülal translyasiya olunur.

Rekombinasiya Sinyal Ardıcılığı Ağır-zəncir və yüngül zəncir rayonlarının ətraflı DNT ardıcılıq analizləri hər bir V gen seqmentinin 3' ucunda konservativ ardıcılıq elementlərini aşkar etdi. *Rekombinasiya signal ardıcılığı* adlanan bu konservativ element 23 əsas cütlü speyserlə ayrılmış heptamer və nonamer ardıcılıqlardan ibarətdir. Hər bir J seqmentin 5' ucunda 12 əsas cütlü speyserə malik olan oxşar konservativ RSS vardır (Şəkil 23-16a). 12- və 23-əsas cütlü speyserlər konservativ heptamer və nonamer ardıcılıqları DNT spiralının müvafiq olaraq hər bir və ya iki dönməsində ayırır.

Somatik rekombinasiya iki fermentlə, yalnız limfostlərdə ekspressiya olunan RAG1 və RAG2 rekombinazalar kataliz olunur (Şəkil 23-17). Beləliklə bu yenidənqurulmalar orqanizmin istənilən başqa hüceyrələrində baş vermir. Bir yerə qoşulmaq üçün iki gen elementinin bir-birinə yaxın gətirilməsi RAG1/RAG2 kompleksi ilə stabilləşdirilir (Şəkil 23-16b). Sonra, rekombinazalar hər bir kodlaşdırıcı ardıcılığın və ona bitişik yerləşən RSS-in dəqiq sərhəddində bir zəncirli kəsiklər edir. Yalnız müxtəlif uzunluqda speyserlərlə birlikdə heptamer-nonamer RSS-lərə malik olan gen seqmentləri bu tip gen yenidənqurulmalara (12/23 cüt speyser qaydası da adlandırılan)



Ağır-zəncir lokusu



ŞƏKİL 23-16 İmmunoqlobulin gen seqmentlərinin silinərək birləşmə yolu ilə yenidən təşkili. (a) Yüngül zəncirin lokusunda (*yuxarıda*) və ağır-zəncirin lokusunda (*aşağıda*) immunoqlobulin gen seqmentlərinin somatik rekombinasiyasına daxil olan DNT elementlərinin yerləşməsi. D seqmentləri ağır zəncir lokusunda mövcuddur, amma yüngül-zəncir lokusunda yoxdur. Bütün V gen seqmentlərinin 3' sonluğundakı konservativ rekombinasiya siqnal ardıcılığı (recombination signal sequence - RSS) heptamerdən, 12 əsas cütlü speyserdən və nonamerdən ibarətdir. V seqmentinin rekombinasiya edə biləcəyi J və D seqmentlərinin hər biri 5' ucunda 23 əsas cütlü speysərli oxşar RSS-ə malikdir. J və ya D-nin 5' ucundakı nonamer və heptamer ardıcılıqlar eyni zəncirdə oxunan (*yuxarıda*) hər bir V-nin 3' ucunda tapılan eyni ardıcılıqlara komplementar və antiparalleldirlər. D seqmentlərinə cinah olan RSS-lər identik uzunluqda speysərə malikdir, bu da D-dən D-yə olan yenidənqurmanın qarşısını alır. (b) Bir-birinə qoşulmalı olan iki kodlaşdırıcı rayonun məkanca yenidən düzlənməsinin və RAG1 və RAG2 rekombinaza kompleksi ilə stabiləşməsinin hipotetik modeli. DNT-nin hər iki zənciri göstərilir. (c) Kodlaşdırıcı rayonlar V-nin J-yə (yüngül zəncirlər) və ya DJ-yə (ağır zəncir) birləşdirilməsi hadisələri. Rüşeyim

cəlb oluna bilirlər. Kəsilmə saytında yeni yaranmış hər bir –OH qrupu sonra komplementar zəncirə nukleofil hücumlar edir, iki kodlaşdırıcı ucun hər biri kovalent qapanmış sancaqları əmələ gətirir və RSS-lərin uclarında iki-zəncirli qırıqları edir. Ku70 və Ku80 zülallarının daxil olduğu zülal kompleksləri bu kompleksi bir yerdə elə saxlayır ki, birləşməli olan uclar çox yaxın yerləşsinslər: xromosomlardakı iki-zəncirli qırıqlar bərpa (reparasiya) olunmalıdır, beləliklə ucların bir yerdə saxlanılması vacibdir ki, bu qırılmaların həll olunması və reparasiya prosesi davam etsin. Sonra, RSS uclar, hamısı birlikdə itirilən müdaxilə (*intervening*) DNT adlanan dairəvi reaksiya məhsullarını (delesiya dairəsi) əmələ gətirməklə nukleotidlərin itirilməsi və ya əlavə olunması baş vermədən kovalent birləşdirilir. Rekombinasiyaya uğrayan kodlaşdırıcı seqmentlərin sancaq ucları sonra açılır və sonda, Şəkil 23-16c-də göstərilədiyi kimi, birləşərək rekombinasiya prosesini tamamlayır.

İndicə təsvir olunan, *delesiyalı qoşulma (deletional joining)* adlanan rekombinasiya mexanizmi burada iştirak edən V gen seqmenti yüngül-zəncir lokusundakı başqa gen seqmentləri ilə eyni transkripsiya istiqamətinə (orientasiyasına) malik olduqda baş verir. Amma, bəzi V gen seqmentləri əks transkripsiya istiqamətinə malikdir. Bu seqmentlər, V seqmentinin tərs çevrildiyi və müdaxilə edən DNT ilə RSS-in lokusdan itirilmədiyi *tərs qoşulma (inversional joining)* adlanan mexanizmlə J seqmentində birləşirlər.

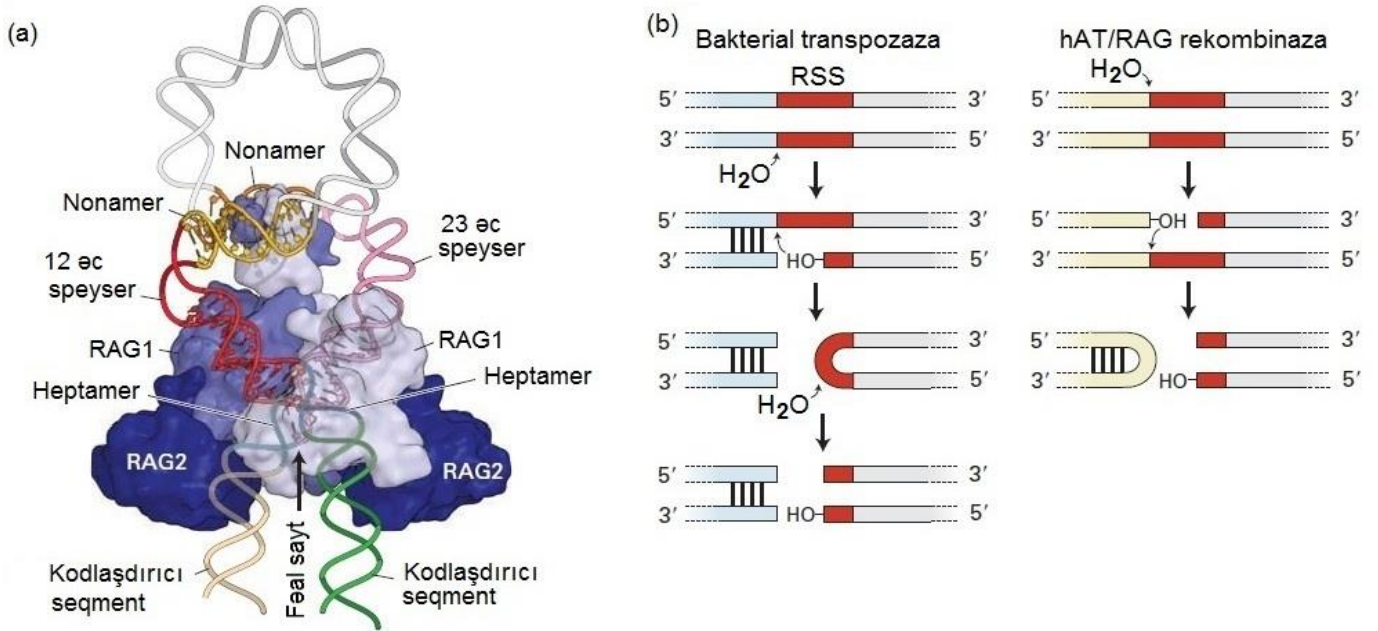
RAG zülallarının sintezində qüsurlar somatik gen yenidənqurulmasının mümkünliyünü yox edir. Aşağıda qeyd edildiyi kimi, Yenidənqurulma prosesi B hüceyrələrin inkişafı üçün vacibdir, uyğun olaraq, RAG çatışmazlığı B hüceyrələrin tamamilə itməsinə səbəb olur. RAG zülalında qüsurlar olan insanlar kəskin immun çatışmazlığından əziyyət çəkirlər. Siçanda RAG genin hədəfli silinməsi immunoqlobulin gen yenidənqurulmasının (və T-hüceyrə reseptorlarının) tamamilə qüsurlu olmasına səbəb olur, nəticədə B və T limfositlərin yaranmasında inkişaf blok olunması baş verir.

xətti DNT (pillə 1) qatlanır, birləşməli olan seqmentlərini bir-birinə çox yaxın gətirir və RAG1/RAG2 kompleks kodlaşdırıcı ardıcılıqlarla RSS-lərin sərhəddində bir zəncirli kəsiklər edir (pillə 2). Sərbəst 3'-OH qrupları komplementar zəncirlərə hücumlar edir, hər bir kodlaşdırıcı ucda kovalent bağlanmış sancaq və RSS ilə sərhəddə təmiz ikizəncirli qırıqları (pillə 3) əmələ gətirir. Sancaqlar J (yüngül zəncir) və DJ (ağır zəncir) üçün göstərilədiyi kimi, ya simmetrik açılır (pillə 4), ya da V seqmenti üçün göstərilədiyi kimi asimmetrik açılır (pillə 5). Ağır zəncir lokusunda D-dən J-yə və V-dən DJ-yə yenidənqurma üçün terminal dezoksinnukleotidil transferaza nukleotidləri templeytdən-asılı olan üslubda açılmış sancaqlara əlavə edir (pillə 6, *sağda*), nizamsız ardıcılığın (N-rayonu) cütləşməmiş nukleotidlərinin çıxıntısını (*sarı*) əmələ gətirir; asimmetrik açılma avtomatik olaraq palindrom çıxıntını əmələ gətirir (pillə 6, *solda*). V və J (yüngül zəncirlər) və ya DJ-in (ağır zəncir) kodlaşdırıcı rayonlarının uclarındakı cütləşməmiş çıxıntılar DNT polimeraza ilə doldurulur (pillə 7) və yaxud, ola bilsin eqzonukleaza ilə kəsilib atılır. V və J kodlaşdırıcı rayonlardan əmələ gəlmiş iki seqmenti DNT liqza IV birləşdirir (pillə 8). N-rayonunun əlavə edilməsi V və J (yüngül zəncirlər) yenidənqurulma üçün baş vermir. Əlavə müzakirə üçün tekstə bax.

Qovşaq qeyri-dəqiqliyi V və J gen seqmentlərinin təsadüfi seçilməsindən başqa somatik rekombinasiya gedişində əmələ gələn intermediatların prosesinqi immunoqlobulin ardıcılıqlarının dəyişkənliyini genişləndirmək üçün əlavə vasitəni təmin edir. Əlavə dəyişkənlik qovuşmalı olan seqmentlərin qovşağında yaranır. Kodlaşdırıcı uclarda sancağın açılması prosesin əsas pilləsidir: bu açılma simmetrik və ya asimmetrik baş verə bilər (bax Şəkil 23-16c, pillə 4 və 5). Funksiyası DNT-dən asılı olan proteinkinazanın katalitik subvahidini tələb edən zülal Artemis sancaqların açılmasını həyata keçirir.

Əgər sancağın açılması asimmetrik olarsa, o zaman qısa tək zəncirli palindrom ardıcılıq yaranır. Bu uzunmuş hissənin DNT polimeraza ilə doldurulması bir neçə əlavə nukleotidin əlavə olunması ilə nəticələnir, buna *P-nukleotidlər* deyilir, bunlar baxılan gen seqmentinin orjinal kodlaşdırıcı rayonunun bir hissəsi deyillər. Alternativ olaraq, artıq uzanmış hissə eqzonukleazalarla uzaqlaşdırıla bilər, nəticədə nukleotidlər orjinal kodlaşdırıcı rayondan atılır. Bu imkanlar V və J kodlaşdırıcı rayonda bərabər tətbiq olunur. Sancağın simmetrik açılması orjinal kodlaşdırıcı məlumatın hamısını saxlayır, Amma, hətta sancaq simmetrik açılma da, DNT molekulunun ucları nukleazların hücumuna məruz qala bilən qısa tək zəncirli ardıcılıqları yaradaraq mövcud olmağa meyillidir. Sancaq açıldıqdan və kodlaşdırıcı uclar proses olunduqdan sonra, uclar iki zülalla – DNT liqaza IV və XRCC4 ilə liqasiya edilir, funksional yüngül-zəncir geni yaranır.

Bu yenidənəşkil olunma prosesinin mahiyyəti qismən kodlaşdırıcı-rayon qovşaqlarına nukleotidlərin əlavə edilməsinin və itirilməsinin nəticəsi olan *qovuşma yanılışlığıdır*. V və J seqmentləri yenidən kombinasiya olunduqda yaranan VJ məhsulun ardıcılığı və oxunan çərçivəsi proqnozlaşdırıla bilmir. Yalnız üç rekombinasiya reaksiyasından biri yüngül-zəncirin sintezi ilə uyğun gələn çərçivə ilə nəticələnir. Digərləri funksional zülalları kodlaşdırmayan çərçivə sürüşməsinə yaradır.



ŞƏKİL 23-17 RAG1/RAG2 quruluş. (a) RAG1/RAG2 rekombinasiya siqnal ardıcılıqları ilə kompleksdə göstərilir, kodlaşdırıcı ardıcılıqla RSS heptamer sərhəddində kəsilməni mümkün etmək üçün 12- və 23-əc speyser ardıcılıqlarında yerləşmişdir. (b) DNT RAG1/RAG2 kompleksinin təkamülə sələfi olan sancaq-əmələ gətirən bakterial və eukariotik transpozalarla kəsilə bilər. Burada, bir-

zəncirli qırıqın əmələ gəlməsi, ardınca da, sancaq və iki-zəncirli qırıqı əmələ gətirmək üçün yeni yaranmış 3' hidroksilin komplementar zəncirə hücumu göstərilir. [Verilənlər M. S. Kim et al., 2015, *Nature* **518**:507–511, PDB ID 4wwx; A. B. Hickman et al., 2014, *Cell* **158**:353-367, PDB ID 4d1q; və F. F. Yin et al., 2009, *Nat. Struct. Biol.* **16**:499-508, PDB ID 3gna-dən.]

Yüngül zəncirin müxtəlifliyi yalnız V və J gen seqmenytlərinin kombinatoral istifadəsindən yaranır, o həmçinin qovuşma yanılışlığından yaranır. Yüngül zəncirin üç-ölçülü quruluşunun yoxlanılması göstərir ki, qovuşma yanılışlığı nəticəsində yaranmış yüksək dərəcədə fərqli olan qovuşaqlar ilgək hissələrini – hiperdəyişkən rayon 3-ü (HV3) – yaradır, bu da antigen birləşdirmə mərkəzinə (saytına) doğru uzanır və antigenlə kontaktı əmələ gətirir (bax Şəkil 23-13b).

Ağır-Zəncir Lokusunun Yenidənqurulmasına V, D və J Gen Seqmentləri Daxildir

Ağır-zəncir lokusunun təşkili κ yüngül-zəncir lokusunun təşkilindən çox mürəkkəbdir. Ağır-zəncir lokusu yalnız V seqmentinin (hər biri özünün promotoru ilə təchiz olunmuş) və çoxsaylı J seqmentlərinin böyük tandem cərgəsinə deyil, o həmçinin çoxsaylı D (diversity - müxtəliflik) seqmentlərinə də malikdir (bax Şəkil 23-15b). V, D və J seqmentinin somatik rekombinasiyası ağır-zəncirin dəyişkən rayonunu (V_H) kodlaşdıran yenidən düzlənmiş ardıcılığı yaradır.

Ağır-zəncir DNT-sinin V seqmentinin 3' sonluğunda yüngül-zəncir DNT-sindəki rekombinasiya siqnal ardıcılıqlarına (RSS) oxşar olan, speyser DNT ilə ayrılmış konservativ heptamer və nonamer ardıcılıqlar vardır. Bu RSS-lər hər bir D seqmentinin 5' və 3' uclarının komplementar və antiparallel konfuqurasiyalarında da tapılmışdır (bax Şəkil 23-16a). J seqmentlər də eyni şəkildə 5' uclarında lazımlı RSS ilə təchiz olunmuşdur. Bu RSS-lərdə speyserin uzunluğu elədir ki, D seqmenti J seqmentlərə, V seqmentlər isə artıq yenidən təşkil olunmuş DJ seqmentlərə qovuşa bilər. Amma 12/23 speyser

qaydasına görə nə V-dən-J-yə, nə də D-dən-D-yə qovuşmaya imkan verilmir. Ağır-zəncirin yenidənqurulması yüngül-zəncirin yenidənqurulmasının yuxarıda təsvir olunan mexanizmi ilə davam edir.

B hüceyrələrin inkişafının gedişində ağır-zəncir lokusunun yenidənqurulması həmişə D-J yenidənqurulma ilə başlayaraq birinci baş verir. D-J yenidənqurulmanın ardınca V-D-J yenidənqurulma baş verir. D-J və V-D-J yenidənqurulmaların gedişində dezoksinukleotidiltransferaza (TdT) adlanan ferment nukleotidləri DNT-nin sərbəst 3' OH sonluğuna templeytdən-asılı olmayan formada əlavə edə bilər. *N-rayonu* və ya N-nukleotidlər adlanan on ikiyə qədər və ya daha artıq nukleotidlər istənilən zaman D-J və V-D-J yenidənqurulma baş verərkən əlavə edilə bilər və qovuşaqlarda əlavə ardıcılıq müxtəlifliyi yaradılır (bax Şəkil 23-16c, pillə 7). Üç yenidənqurulmadan yalnız biri yenidən düzlənmiş VDJ ardıcılığı üçün düzgün oxunan çərçivəni verir. Əgər yenidənqurulma funksional zülal kodlaşdıran ardıcılığı verirsə buna *məhsuldar (productive)* deyilir. Baxmayaraq ki, ağır-zəncir lokusu iki homoloji xromosomun hər ikisində mövcuddur, amma, bizim aşağıda görəcəyimiz kimi, yalnız birində məhsuldar yenidənqurulmaya imkan verilir.

J seqmentlərin klasterindən aşağıya istiqamətdə və sabit-rayon seqmentindən yuxarıya istiqamətdə yerləşən enhanser yenidən düzlənmiş VDJ ardıcılığının 5' sonluğundakı promotordan transkripsiyayı fəallaşdırır (bax Şəkil 23-15). Yenidən qurulmuş ağır-zəncir genindən istehsal olunan ilkin traskriptin splayinqi μ ağır zəncirini kodlaşdıran funksional mRNT-ni əmələ gətirir. Həm ağır zəncir həm də yüngül zəncir genləri üçün somatik rekombinasiya transkripsiyaya imkan vermək üçün promotoru V seqmentindən yuxarıya istiqamətdə,

enhanserlərin funksional çata biləcəyi məsafədə elə yerləşdirir ki, rüşeyim-xətti konfigurasiyada qalan V seqmentləri deyil, yalnız yenidən düzlənmiş VJ and VDJ ardıcılıqları transkripsiya olunusunlar.

Somatik Hipermutasiya Anticismlərin Yüksək Affinliklə Yaradılmasına və Seçilməsinə İmkan Verir

Somatik rekombinasiyadan və qovuşma yanılışlığından başqa, antigenlə-fəallaşan B hüceyrələr *somatik hipermutasiya* adlanan əlavə müxtəliflik-yaradan prosesə uğraya bilirlər. Antigenlərə məruz qoyulduqda və əksəriyyəti T hüceyrələr tərəfindən təmin olunan əlavə düzgün siqnalları alınan zaman, fəallaşma-ilə-induksiya olunan diaminazanın (AID) ekspresiyası işə salınır. Bu ferment sitozin qalıqlarını deaminləşdirərək onları urasilə çevirir. Bu zədələnməni daşıyan B hüceyrə replikasiya edəndə, o komplementar zəncirə adenin yerləşdirə bilər, beləliklə G-dən-A-ya keçidə səbəb olur (bax Şəkil 5-34). Alternativ olaraq, abeyzik sayt (pirimidin saytının itirilməsi) əmələ gətirmək üçün DNT qlikozilaza urasili kəsb çıxarır. Bu cürə abeyzik saytlar, kopyalandıqda, boşluğun əks tərəfindəki nukleotid hədəf sitozin ilə birləşən orijinal G olmadıqda, mümkün keçidlərə, eləcə də transversiyaya səbəb olur. Beləliklə B hüceyrənin hər dəfə ardıcıl bölünməsi ilə mutasiya toplanır, yenidən qurulmuş VJ və VDJ seqmentlərində çoxsaylı mutasiyaları yaradır. Nukleotid kəsilməsi ilə gedən reparasiyada əmələ gələn boşluqların DNT polimeraza tərəfindən səhv doldurulmaya meyilli olması da somatik hipermutasiyanın yaranmasına öz töhfəsini verir.

Somatik hipermutasiya prosesi limfositlər rüşeyim (başlangıç) mərkəzlər kimi tanınan xüsusiləşmiş mikroanatomik quruluşlarda yerləşəndə baş verir. Peyvənd zamanı ikinci limfoid orqanların follikulları daxilində yaranan bu quruluşlar sürətlə yayılan və hipermutasiya edən minlərlə B hüceyrələrin ocağından (mənbəyindən) ibarət olur. Rüşeyim (başlangıç) mərkəzlər B hüceyrələrdən başqa, B hüceyrələr tərəfindən alına bilən antigen üçün depo rolunu oynayan follikular dendrit hüceyrələrə və B hüceyrələrə nəzarət üçün selektiv siqnalları təmin edən ixtisaslaşmış kiçik sayda köməkçi T hüceyrələrə də malik olurlar. Somatik mutasiyaların AID ilə induksiya olunan çoxu kodlaşdırılan anticismlərin antigenlərə olan affiniyini azaltmaqla zərərliyə, amma bəziləri anticismlərin antigenlərə olan affiniyini artırır. Darvin təkamülünə analoji olan prosesdə affiniyi artıran mutasiyaları daşıyan B hüceyrələr follikular dendrit hüceyrələrdən antigeni götürməkdə selektiv üstünlüyə malikdirlər, bu onlara, 23.6 bölməsində müzakirə edildiyi kimi, başlangıç rüşeyim mərkəzində məskunlaşmış, məhdud sayda olan köməkçi T hüceyrələrdən gələn siqnallar üçün uğurlu rəqabət etməyə imkan verir. Beləliklə, bu siqnallar daha çox proliferasiya və əlavə mutasiyalar üçün yüksək-affinlikli B hüceyrələrin klonal seçilməsinə və eləcə də onların anticismifraz edən plazma hüceyrələrinə və ya yaddaş B hüceyrələrinə differensiasiya etməsinə işə salır. Son nəticə, istehsal etdiyi anticismlər antigenə yüksək affinlik göstərən B-hüceyrə populyasiyasının yaradılmasından ibarət olur.

İmmun cavabının gedişi zamanı, və ya təkrar peyvəndlər zamanı qazanılmış immün cavabı somatik hipermutasiyanın və seçmənin nəticəsi kimi *affinlik-yetkinliyi* — antigenə məruz qoyulduqdan sonrakı zaman müddətində anticismlərin antigenə

olan orta affiniyinin artırılmasını — nümayiş etdirir. Qazanılmış immün cavabının bu fazasının ardınca istehsal olunan anticismlər antigenlərə nanomolyar səviyyədə (və ya daha yaxşı) affinlik göstərirlər. Hələ də məlum olmayan səbəbdən, AID fəallığı yenidən təşkil olunmuş VJ və VDJ seqmentlərinə yönəlmişdir və bu hədəf olunma fəal transkripsiyanı tələb edə bilər. Somatik hipermutasiya prosesinin hamısı qəti şəkildə antigendən-asilirdir və B hüceyrələrlə müəyyən T-hüceyrə tipləri arasında qarşılıqlı əlaqənin mütləq tələb olunmasını göstərir.

B Hüceyrənin İnkişafı Sələf B-hüceyrə Reseptorundan Girişi Tələb Edir

Gördüyümüz kimi, immunoqlobulinləri sintez etmək üçün təyin edilmiş B hüceyrələr, funksional ağır-zəncir və yüngül-zəncir genlərini yaratmaq üçün lazım olan gen seqmentlərini yenidən qurmalıdırlar. Bu yenidənqurma B hüceyrələrin inkişafı zamanı ağır zəncirin yenidənqurulması ilə başlayaraq dəqiq nizamlanmış ardıcılıqla baş verir. Üstəlik, yenidən qurulmuş ağır zəncir əvvəlcə, yüngül-zəncir genlərinin sonrakı yenidənqurulmasına imkan verməklə, B hüceyrələrin daha sonrakı inkişafının idarə edilməsi (və anticismlərin sintezi) üçün lazım olan hüceyrənin müqəddaratı haqqında qərarı həyata keçirən membrana birləşmiş reseptorları qurmaq üçün istifadə edilir. Yalnız oxunan-çərçivədə VDJ kombinasiyasını yaradan məhsuldar yenidənqurma tamamlanmış μ ağır zəncirini yarada bilər. Bu μ zəncirin istehsalı, yenidənqurulması uğurla başa çatmış və qalan gen nüsxəsindəki ağır-zəncirli lokusun yenidənqurulması tələb olunmayan B hüceyrələr üçün siqnal kimi xidmət edə bilər. Yada salaq ki, hər bir limfosit sələfi iki immunoqlobulin lokusu ilə — homoloji xromosomları daşıyan rüşeyim-xəttindəki (düzlənməmiş) konfigurasiya ilə başlayır. Hər bir limfositin vahid antigenə məxsus olan bir reseptorla təchiz edilməsini təmin edən klonal seçmə nəzəriyyəsinə əsasən, davam edən yenidənqurma, arzuolunmaz nəticə gətirən, hər biri fərqli spesifikliyə malik olan iki fərqli ağır zəncirli B hüceyrələrinin istehsalı ilə nəticələncəkdir.

Beləliklə, ağır-zəncir lokusunda V, D və J seqmentlərinin uğurlu yenidənqurulması tam μ zəncirin sintezinə icazə verir. İnkişafın bu mərhələsində B hüceyrələrdə funksional yüngül-zəncir geninin toplanması tamamlanmadığından, ona görə də antigen-tanınmasında iştirak edə bilmədiklərindən onlar *pre-B hüceyrələr* adlanırlar. μ zəncir endoplazmatik şəbəkədə sintez olunur və ekspresiyası B hüceyrələrin inkişafının nizamlı şəkildə getməsi üçün vacib olan membrana birləşmiş siqnal reseptorlarının bir hissəsinə çevrilir.

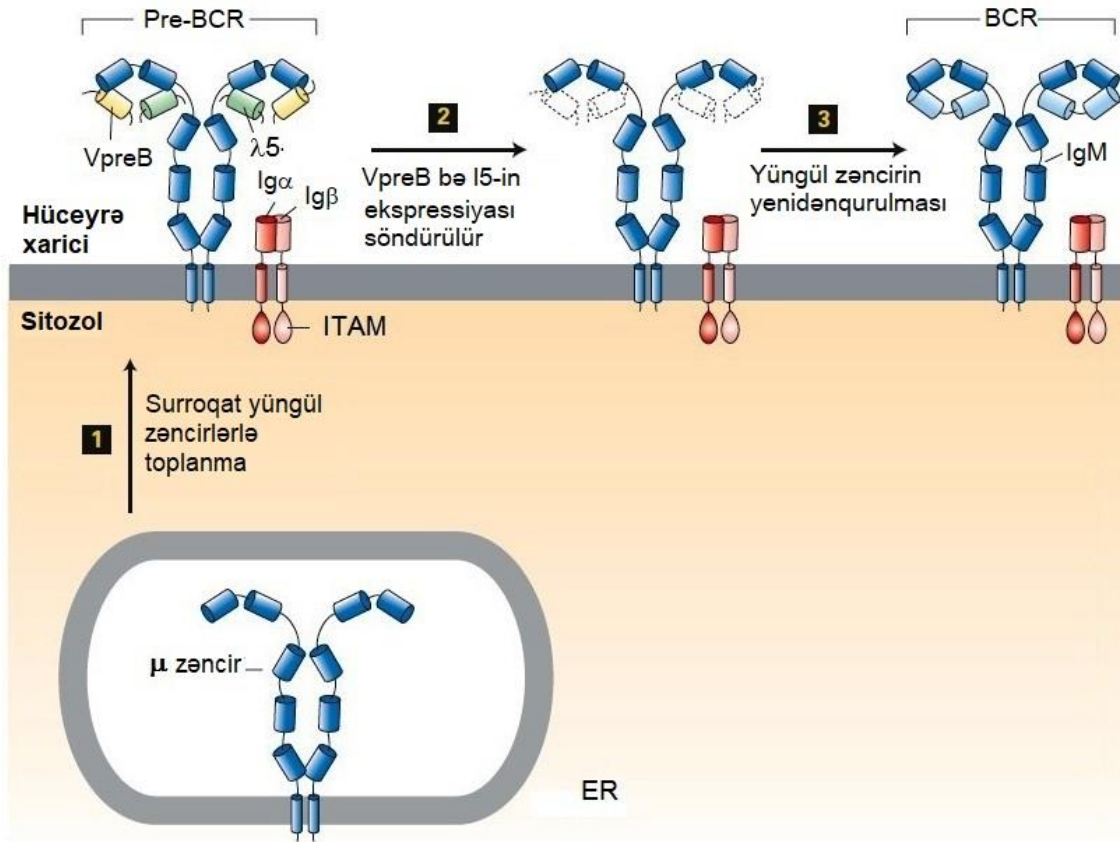
Pre-B hüceyrələrdə yeni yaradılmış μ zənciri *surroqat* (*əvəzedici*) adlanan $\lambda 5$ və VpreB yüngül zəncirlər ilə kompleks əmələ gətirir (bax Şəkil 23-18). μ zəncirin özündə heç bir sitoplazmatik quyruğu yoxdur, ona görə də, siqnal ötürülməsi məqsədi ilə sitoplazmatik komponentləri səfərbər etmə qabiliyyətinə malik deyil. Əvəzində, pre-B hüceyrələr Iga və Igb adlanan iki köməkçi transmembran zülalı ekspresiya edir və bunların hər biri öz sitoplazmatik quyruğunda immuno reseptor tirozin-əsaslı fəallaşdırıcı motif və yaxud ITAM daşıyır. μ zənciri, $\lambda 5$, VpreB, Iga və Igb daxil olmaqla tam kompleks *pre-B hüceyrə reseptorunu* (*pre-BCR*) təşkil edir. Bu reseptorun (məlum olmayan) uyğun siqnallarla əlaqələndirilməsi Src-ailəsi tirozinkinazaların səfərbər olunması və fəallaşması ilə

nəticələnir, o da ITAM-larda tirozin qalıqlarını fosforlaşdırır. ITAM-lar fosforlaşmış formalarında siqnal ötürülməsi üçün vacib olan başqa molekulaları səfərbər edir (bax aşağıda). Bu reseptorun hələ heç bir funksionnal yüngül zəncir hissəsi olmadığından, onun antigen tanımaqda aciz olduğu ehtimal edilir, çünki antigen-birləşdirmə sayının antigeni tanıması (dəvəkimildən başqa) ağır və yüngül zəncirlərin birgə təhfəsinin nəticəsidir (bax Şəkil 23-14).

Pre-B hüceyrə reseptoru bir sıra əhəmiyyətli funksiyaya malikdir. Birincisi, o RAG rekombinazaların ekspressiyasını dayandırır, beləliklə başqa (allel) ağır-zəncir lokusunun yenidənqurulması baş verə bilmir. *Allelik istisnası* adlanan bu hadisə tam μ zəncirdə ağır-zəncir lokusunun iki mümkün olan nüsxəsinin yalnız birinin yenidənqurulmasını və ekspressiya olunmasını təmin edir. İkincisi, pre-B hüceyrə reseptorları $Ig\alpha$ və $Ig\beta$ ilə assosiasiya etdiyinə görə, reseptor siqnal ötürən vahid kimi funksional olur. Pre-BCR-dən çıxan siqnallar, məhsuldar D-J və V-D-J rekombinasiyasına uğrayan B hüceyrələrinin sayını artırmaq üçün pre-B hüceyrələrin proliferasiyasını inisiyasa edir.

Bu genişlənmə zamanı, VpreB və $\lambda 5$ surroqat yüngül zəncirlərin ekspressiyası azalır. Hər bir növbəti hüceyrə bölünməsi nəticəsində VpreB və $\lambda 5$ surroqatın ardıcıl şəkildə durulaşdırılması endoplazmatik şəbəkədə kifayət etməyən miqdarda tam toplanmış pre-BCR-in olması ilə nəticələnir. Nəticədə ağır zəncir parçalanır (bax Fəsil 13 və 14) və pre-BCR siqnalın miqdarı azalır. Siqnal ötürülməsinin belə azalması RAG rekombinazanın ekspressiyasının yenidən inisiyasına imkan verir, indi o κ və λ yüngül-zəncir lokuslarını hədəf edir. Məhsuldar yüngül-zəncirin V-J yenidənqurulması da allel lokusun (allel istisnanın) yenidənqurulmasını dayandırır. V-J yüngül-zəncir yenidənqurulması uğurla tamamlandıqda B hüceyrə həm μ ağır zənciri həm də κ və ya λ yüngül zəncirləri yarada bilir və onları antigeni tanıya bilən funksional B hüceyrə reseptorunda (BCR) toplaya bilir (bax Şəkil 23-18).

B hüceyrə öz hüceyrə səthində tam BCR-i ekspressiya etdikdən sonra, o antigeni tanıya bilir və B hüceyrələrin fəallaşmasında və differensiasiyasındakı bütün sonra gələn pillələrdə BCR-in spesifik olduğu antigenlə əlaqəni tələb edir.



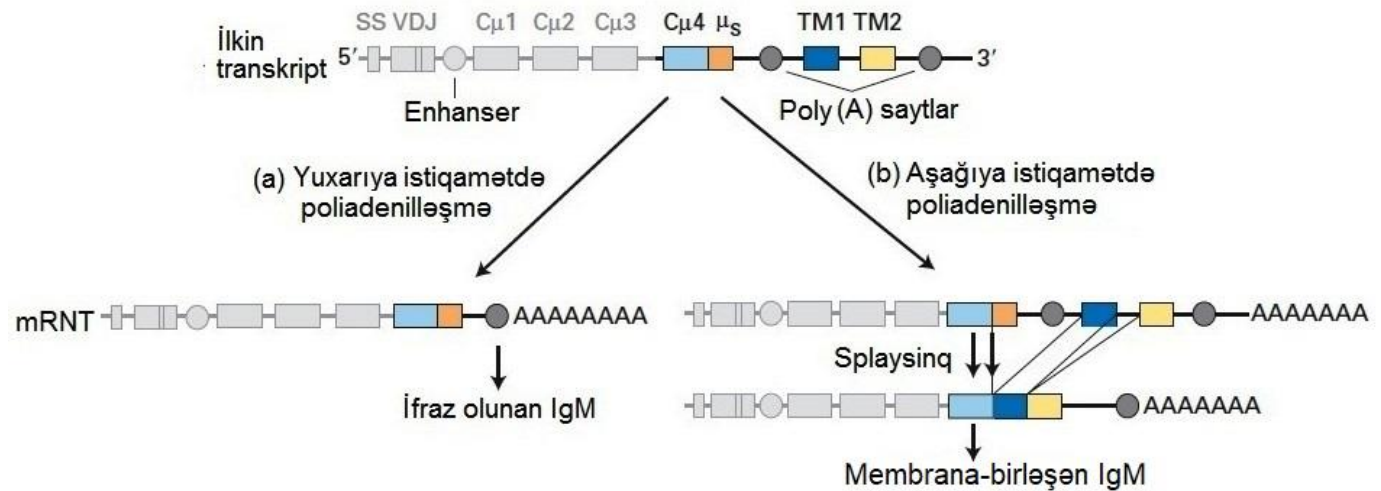
ŞƏKİL 23-18 Pre-B reseptorun quruluşu və onun B-hüceyrə inkişafında rolu. V, D və J ağır zəncir gen seqmentlərinin uğurlu yenidənqurulması pre-B hüceyrələrin endoplazmatik şəbəkəsində (ER) membrana-birləşmiş μ ağır zəncirlərin sintezinə imkan verir. Bu mərhələdə yüngül zəncir geninin yenidənqurulması baş vermir. Yeni yaranmış μ zəncirlər pre-B hüceyrə reseptoru pre-BCR-in alınması üçün $\lambda 5$ və VpreB-dən ibarət olan surroqat (əvəzedici) yüngül zəncirlərlə və $Ig\alpha/Ig\beta$ ilə toplanır (pillə 1). Bu reseptor onu daşıyan hüceyrələrin proliferasiyasını idarə edir. O həmçinin başqa xromosomdakı ağır-zəncir lokusunun yünidən qurulmasını supressiya

edir və beləliklə allelik istisnasını həyata keçirir. Proliferasuya gedişində $\lambda 5$ və VpreB sintezi dayandırılır (pillə 2), nəticədə mümkün olan surroqat yüngül zəncirlərin "durulaşdırılması" və pre-BCR-in ekspressiyasının azalması baş verir. Bunun nəticəsində, yüngül zəncir lokuslarının yenidənqurulması davam edə bilər (pillə 3). Əgər bu yenidənqurulma məhsuldar olarsa, B hüceyrələr yüngül zəncirləri sintez edə və membrana-birləşmiş IgM və onunla ssosiasiyada olan $Ig\alpha$ və $Ig\beta$ -dan ibarət olan B-hüceyrə reseptorunun (BCR) toplanmasını tamamlaya bilər. İndi B hüceyrə antigen-spesifik stimullaşmaya cavabverən olur.

BCR yalnız antigenlə uğurlu qarşılaşma zamanı B hüceyrə proliferasiyasının idarə olunmasında rol oynamır, o həmçinin tutulmuş antigenin proses olunmasında və onun siqnala çevrilərək kömək üçün T limfositlərə göndərilməsində çox vacib bir pillə olan reseptorla-vasitələnmə endositozda bir alət kimi fəaliyyət göstərir. B hüceyrələrinin bu antigen-təqdim etmə funksiyası sonrakı bölmələrdə təsvir olunur.

Qazanılmış İmmun Cavabı Zamanı B Hüceyrələr Membrana-Birləşmiş Ig Hazırlayan Formadan İfraz Olunan Ig Hazırlayan Formaya Keçirlər

Yuxarıda təsvir edildiyi kimi, B-hüceyrə reseptorları membrana-birləşmiş IgM-lər B hüceyrənin xüsusi bir antigeni tanıması qabiliyyətini, bu B hüceyrənin klonal seçilməsini və proliferasiyasını işə salan hadisəni təmin edirlər və beləliklə, həmin antigenə spesifik olan B hüceyrələrin sayını artırır (bax Şəkil 23-12). Amma, immunoqlobulinlərin antigenlərin neytrallaşdırılması və bakteriyaların məhv edilməsi kimi əsas funksiyaları tələb edir ki, həmin məhsullar B hüceyrələr tərəfindən buraxılsınlar, beləliklə onlar hüceyrəxarici mühitdə toplana bilərlər və istehsal olunduqları nahiyədən uzaq məsafədə fəaliyyət göstərə bilərlər.



Şəkil 23-19 İfraz olunan və membran IgM-lərinin sintezi. μ ağır zəncirin ilkin transkriptinin təşkili yuxarıda göstərilmişdir: $C_{\mu 4}$ dördüncü μ sabit-rayon domenini kodlaşdırən eqzondur, μ_s isə ifraz olunan IgM üçün unikal olan kodlaşdırıcı ardıcılıqdır; TM1 və TM2 μ zəncirində transmembran domeni müəyyən edən eqzonlardır. IgM-in membrana birləşmiş və ya ifraz olunan formasının yaradılması ilkin transkriptin prosesinqi zamanı hansı poli(A) saytın seçilməsindən asılıdır. (a) Əgər yuxarıya istiqamətdə yerləşən poli(A) istifadə

Membrana-birləşmiş və ya ifraz olunan immunoqlobulinlərin sintez olunması ağır-zəncirin əsas transkriptinin prosesinqi zamanı B hüceyrələrin seçimidir. Şəkil 23-19-da göstəriləyi kimi, μ lokusu iki eqzona (TM1 və TM2) malikdir, bunlar birlikdə IgM-i plazma membranına lövbər edən C-sonluq domenini kodlaşdırırlar. Bir poliadenilləşmə saytı bu eqzonlardan yuxarıya istiqamətdə tapılmışdır, ikinci poliadenilləşmə saytı isə aşağıya istiqamətdə yerləşir. Əgər aşağıya istiqamətdə poli(A) saytı seçilsə sonrakı prosesinqlər μ -nin membrana birləşmiş formasını kodlaşdırən mRNT alınır. (Yuxarıda təsvir edildiyi kimi, bu seçim membrana-birləşmiş IgM daxil olan B-hüceyrə reseptorunun əmələ gəlməsi üçün lazımdır.) Əgər, yuxarıya istiqamətdə poli(A) sayt seçilsə, prosesinq μ zəncirin ifraz olunan formasını kodlaşdırən mRNT-ni yaradır. Oxşar yenidənqur digər Ig sabit-rayonun gen seqmentləri (γ , ϵ , α) üçün də tapılmışdır və bunların hər biri membrana-birləşmiş və ya ifraz olunan ağır zəncir şəkilində ola bilərlər. Poliadenilləşmə saytından alternativ istifadə etməklə (alternativ splaysinq deyil) immunoqlobulin ağır zəncirlərinin membrana-lövbər etmiş və ifraz olunan formalar arasında keçidinin mümkünlüyü hələ ki, bu gen ailəsi məhsulları üçün unikaldir.

edilsə, alınan mRNT-yə bütün $C_{\mu 4}$ eqzon daxil olacaq və μ zəncirin ifraz olunan forması sintez olunacaq. (b) Əgər aşağıya istiqamətdə yerləşən poli(A) istifadə edilsə, splays donor sayt $C_{\mu 4}$ eqzonda transmembran eqzondlara splaysinqə imkan verir, membrana-birləşmiş μ zəncirin trans-membran formasını kodlaşdırən mRNT-ni əmələ gətirir. Oxşar mexanizmlər digər Ig izotiplərini ifraz olunan və membrana-birləşmiş formalarını yaradır. SS = siqnal ardıcılığı.

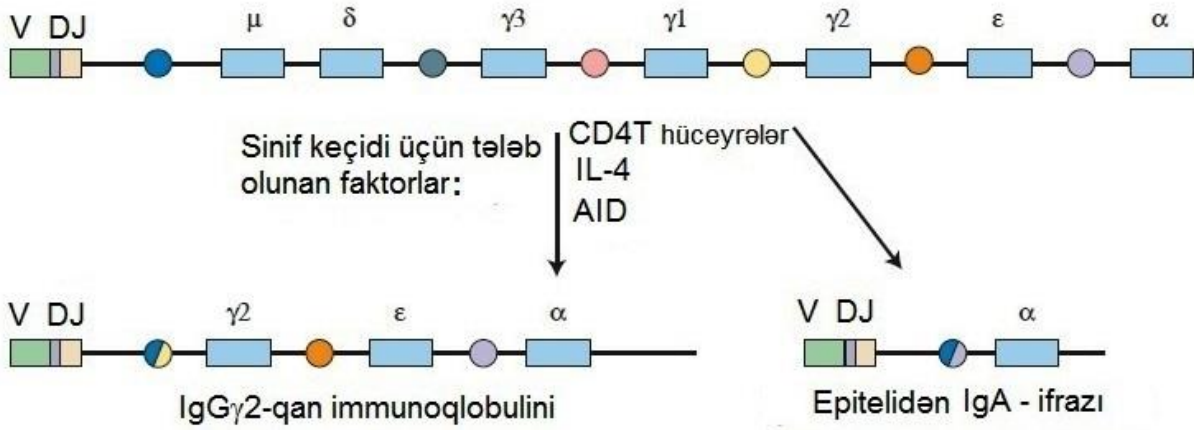
B hüceyrələrinin yalnız membranla-bağlı immunoglobulin sintezindən ifraz olunan immunoglobulin sintezinə keçid qabiliyyəti onların differensiasiyası zamanı qazanılır. *Plazma hüceyrələri* adlanan terminal differensiasiya etmiş B hüceyrələr, demək olar ki, yalnız ifraz olunan anticislərin sintezinə həsr olunurlar (bax Şəkil 23-7). Hər bir plazma hüceyrə bir saniyədə

bir neçə min anticism molekulunu sintez edə və ifraz edə bilər. Patogenlərin aradan götürülməsi və eyni patogenlə qarşı yoluxmalara qarşı qazanılmış immün cavabının effektivliyinin əsasında duran məhz ifraz olunan anticislərin genişlənməsi istehsalıdır. Anticislərin qoruyucu dəyəri onların dövrəediciləri (qan dövranı) sistemindəki qatılığı ilə mütənəsibdir. Həqiqətən də,

dövrə edən anticism səviyyəsi xüsusi bir patogenə qarşı peyvəndin uğurlu olmasının təyində əsas parametrdir. Plazma hüceyrələrinin böyük miqdarda immunoqlobulini ifraz etmə qabiliyyəti endoplazmatik şəbəkənin kütləvi genişlənməsini tələb edir, bu plazma hüceyrələrinin əlamətidir. Bükülməmiş zülal cavabı (bax Fəsil 13) ER-i genişləndirmək üçün və differensasiya edən B hüceyrəni yüksək dərəcədə fəal ifrazedici hüceyrə kimi onun gələcək vəzifələrinə hazırlamaq üçün vacib fizioloji mexanizm kimi B hüceyrələrdə inisiyasiya olunur. Bükülməmiş zülal reaksiyasına müdaxilə B hüceyrələrinin plazma hüceyrələrinə çevrilmə qabiliyyətini ləğv edir.

B Hüceyrələr Yaradıldıqları İmmunoglobulin İzotipini Dəyişə Bilirlər

İmmunoqlobulinin ağır-zəncir lokusunda μ zənciri kodlaşdıran eqzonlar yenidən təşkil olunmuş VDJ eqzonlarından dərhal



ŞƏKİL 23-20 İmmunoqlobulin ağır zənciri lokusunda sinif-keçidi rekombinasiyası. Sinif-keçidi rekombinasiyasına hər bir ağır zəncirin sabit-rayon genlərindən yuxarıya istiqamətdə təkrarlanan ardıcılıqlardan (rənglənmiş dairələr) ibarət olan keçid saytları daxildir. Rekombinasiya fiallaşma ilə induksiya olunan deaminazanı (AID), eləcə də T köməkçi hüceyrələr tərəfindən istehsal olunan sitokinləri (məsələn, IL-4) tələb edir. Rekombinasiya μ

Differensasiyası gedişində B hüceyrələr ardıcıl olaraq Ig siniflərini dəyişə bilirlər. Əhəmiyyətlidir ki, bu proses nə yüngül zəncirə nə də B hüceyrələrin bu yolda başladığı yenidən qurulan VDJ seqmentinə təsir etmir. Beləliklə, sinif-keçid rekombinasiya fərqli sabit rayonlara malik olan, amma, dəyişkən rayonu dəyişmədiyindən eyni antigen spesifikliyinə malik olan anticisləri yaradır. Hər bir immunoqlobulin izotipi özünün unikal sabit rayonu ilə xarakterizə olunur. Əvvəllər qeyd olunduğu kimi, bu sabit rayonlar fərqli izotiplərin funksional xassəsini müəyyən edir. Sinif-keçid rekombinasiyası fəallaşma ilə induksiya olunan deaminazanın fəallığından və antigenin, eləcə də köməkçi T hüceyrələrin mövcud olmalarından asılıdır. Somatik hipermutasiya və sinif-keçid rekombinasiyası eyni vaxtda baş verir və onların birləşdirilmiş təsiri, istehsal edilən anticislərin affiniyi və istifadə etdikləri effektor funksiyaları

aşağıya istiqamətdə yerləşir (Şəkil 23-20, yuxarıda). Onların ardınca δ zənciri müəyyən edən eqzonlar gəlir. Yenidən təşkil olunmuş immunoqlobulin ağır zəncir lokusunun transkripsiyası μ və δ sabit rayonların daxil olduğu tək ilkin transkripti verir. Bu böyük transkriptin splayinqi μ zəncirin yoxsa δ zəncirin istehsal olunacağını müəyyən edir. μ və δ eqzonlardan aşağıya doğru bütün başqa ağır zəncir izotiplərini kodlaşdırən eqzonlar durur. Fərqli izotiplərdən birini kodlaşdırən eqzonların hər bir klasterindən yuxarıya istiqamətdə (δ lokus istisna olmaqla) öz təkrarlanan təbiətinə görə rekombinasiyaya meyilli olan təkrarlanan ardıcılıq (keçirici rayon) durur. Hər bir B hüceyrəsi hökmən səth IgM ilə başladığından, bu saytları əhatə edən rekombinasiya, əgər bu baş verərsə, IgM-dən sabit-rayon genləri sırasında aşağıya istiqamətdə kodlaşdırılan digər izotiplərdən birinə *sinif keçidi* ilə nəticələnir (bax Şəkil 23-20). Müdaxilə DNTsi silinir.

eqzonlarından yuxarıya istiqamətdə keçid saytı ilə keçidin baş verdiyi sabit rayon arasındakı DNT seqmentini uzaqlaşdırır. Sinif keçidi, antigenə qarşı ilkin cavab kimi hazırlanmış IgM daşıyan B hüceyrələrdəki kimi eyni spesifikliyi olan, amma fərqli ağır-zəncir sabit-rayonlarına malik olan və ona görə də fərqli effektor funksiyaları olan anticism molekullarını yaradır.

ilə bağlı olaraq qazanılmış immun cavabının dəqiq nizamlanmasına imkan verir.

23.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Anticizm Müxtəlifliyinin Yaradılması və B-Hüceyrələrin İnkişafı

- Funksional anticism-kodlaşdıran genlər ağır-zəncir və yüngül-zəncir lokuslarında çoxsaylı DNT seqmentlərinin somatik yenidənqurulması yolu ilə yaradılır. Bu yenidənqurulmalara immunoqlobulin yüngül zəncirin V və J seqmentləri və immunoqlobulin ağır-zəncirin V, D və J seqmentləri daxildir (bax Şəkil 23-15).

- İmmunoqlobulin gen seqmentlərinin yenidənqurulmasına 12 və 23 əsas cütü ilə ayrılmış heptamerlərdən və nonamerlərdən ibarət olan konservativ rekombinasiya siqnal ardıcılığı (RSS) ilə nəzarət olunur (bax Şəkil 23-16). Yalnız müxtəlif uzunluqda speyserə malik olan seqmentlər uğurla yenidən qurula bilir: qovuşmalı olan iki seqment iki eyni uzunluqda deyil, məhz 12 və 23 əc uzunluqda speyserə malik olmalıdır.
- Yenidənqurulma prosesini aparan molekulyar mexanizmə yalnız limfositlərdə istehsal olunan zülallar (RAG1 və RAG2 rekombinazlar) daxildirlər, amma başqa tip hüceyrələrdə istifadə olunan digər zülallar DNT molekulunda qeyri homoloji ucların birləşməsində iştirak edirlər.
- Anticismlərin müxtəlifliyi rekombinasiya olunmalı Ig gen seqmentlərinin seçilməsi nəticəsində və yenidən düzlənmiş Ig genlərin istehsal etdikləri ağır və yüngül zəncirlərin uyğun olaraq çoxsaylı müxtəlif yüngül və ağır zəncirlərlə assosiasiya etmə qabiliyyəti ilə yaranır.
- Qovşaq uyğunsuzluğu somatik gen yenidənqurulması ilə bir yerə gətirilmiş gen seqmentlərinin qovuşduğu nahiyədə anticismlərin əlavə müxtəlifliyini yaradır.
- Daha çox anticism müxtəlifliyi B hüceyrələrin antigenlə qarşılaşmasından sonra, affinlik yetişməsi adlanan, yüksək-affinlikli anticism istehsal edən B hüceyrələrin seçilməsinə və proliferasiyasına səbəb olan somatik hipermutasiya nəticəsində yaranır.
- B hüceyrələrin inkişafı gedişində, birinci ağır-zəncir genləri yenidən qurulur, pre-B hüceyrə reseptorlarının ekspressiyasına səbəb olur. Sonra, yüngül zəncirin yenidənqurulması membrana-birləşmiş IgM B-hüceyrə reseptorlarının yığılması (assembling) ilə nəticələnir (bax Şəkil 23-18).
- Ağır-zəncir lokusunun və yüngül-zəncir lokusunun yalnız bir nüsxəsi yenidən qurulur (allel istisnası), B-hüceyrənin yalnız bir antigenə spesifik olan Ig istehsal etdiyini təmin edir.
- Ig əsas (ilkin) transkriptin müxtəlif poli(A) saytlarında poliadenilləşməsi membrana-birləşmiş və ya ifraz olunan anticismlərin hansı formasının sintez olunmasını təyin edir (bax Şəkil 23-19).
- İmmun cavabı zamanı, sinif keçidi B hüceyrələrə imkan verir ki, istehsal etdiyi anticismin sinifini nizamlasın və beləliklə, anticismlərin antigenə spesifikliyini saxlamaqla istehsal olunan immunoqlobulinin effektor funksiyasını nizamlasın (bax Şəkil 23-20).

23.4 MHC və Antigen Təqdimatı

Anticismlər digər molekulların iştirakı olmadan antigenləri tanıya bilir, antigen və anticismin mövcud olması onların qarşılıqlı təsiri üçün kifayətdir. B hüceyrələr özlərinin differensiasiyası zamanı aşağıda ətraflı təsvir ediləcək proseslə T hüceyrələrdən kömək alırlar. Sözünl əsil mənasında T-hüceyrə köməyi adlanan bu proses antigen spesifikdir, bu prosesə cavab verən T hüceyrələr isə *köməkçi T hüceyrələr* adlanır. Hərçənd ki, anticismlər bakterial və virus patogenlərinin uzaqlaşdırılmasında fəaliyyət göstərirlər, onlar həm də yeni virus zərrəciklərinin yaranmasının mənbəyi olan yoluxmuş

sahib hüceyrənin də dağıdılması üçün lazımdırlar. Bu tapşırıq *sitotoksik T hüceyrələr* tərəfindən yerinə yetirilir. Həm köməkçi T hüceyrələr həm də sitotoksik T hüceyrələr B hüceyrələrin immunoqlobulin genlərini yaratmaq üçün, o cümlədən gen yenidəntəşkili üçün istifadə etdiyi mexanizmə anoloji olan mexanizmlə yaranan genlə kodlaşdırılan antigen-spesifik reseptorlardan istifadə edirlər. Amma, T hüceyrələr öz doğma antigenlərini B hüceyrələrin istifadə etdiyi üsuldən tamamilə fərqli üsulla tanıyırlar. T hüceyrələrdə antigen-spesifik reseptorlar antigen zülalın qısa parçalarını tanıyırlar, amma bu yalnız o zaman baş verir ki, bu parçalar “antigeni təqdim edən” hüceyrənin xarici səthində mövcud olan qlikozülal kompleksinin hissələri olsunlar. Antigen parçalarını təqdim edən membran qlikozülal kompleksini kodlaşdırın genlər genom DNT-sində *əsas histouyğunluq kompleksi (major histocompatibility Complex – MHC)* adlanan rayonda mövcuddurlar. Müxtəlif antigen-təqdim edən hüceyrələr normal fəaliyyəti zamanı patogendən alınan zülalları (eləcə də öz zülallarını) dağıdırlar və sonra onların hüceyrə səthində zülal parçalarına (peptid) birləşmiş MHC zülalların fiziki komplekslərini təqdim edirlər. T hüceyrələr bu kompleksləri diqqətlə araşdırır bilir, onlar MHC molekullara birləşmiş patogendən alınmış peptidi aşkar edə bilirlər, sonra T hüceyrələr MHC-peptid kompleksini daşıyan hüceyrəni öldürmək kimi müvafiq tədbirləri həyata keçirirlər. Bu bölmədə biz MHC-ni və onun kodlaşdırdığı zülalı təsvir edirik, sonra MHC molekullarının antigenlərin təqdim olunmasında və antigenin T hüceyrələr tərəfindən tanınmasında necə iştirak etdiyini öyrənirik.

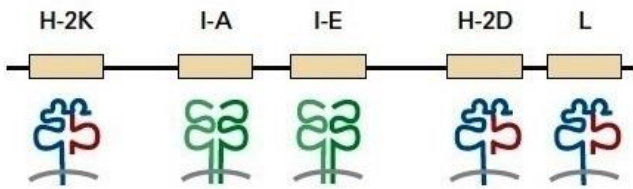
MHC Eyni Növn Əlaqəsi Olmayan İki Fərdinin Transplantı Qəbul Etmək və ya Rədd Etmək Qabiliyyətini Təyin Edir

Əsas histouyğunluq kompleksi, onun adından görüldüyü kimi, toxuma transplantatlarının qəbul edilməsinə və ya imtina edilməsinə nəzarət edən genetik lokuslar kimi aşkar edilmişdir. Hələ toxuma kulturasının şiş-mənşəli hüceyrə xəttinin laboratoriyada artırılı bilmək mərhələsinə qədər inkişaf etmədiyi zaman tədqiqatçılar şiş toxumasının in vivo ardıcıl əkilməsinə istinad edirdilər (bu şiş toxumasının bir şıçandan digərinə transplantasiyasıdır). Tezliklə müşahidə olunmuşdur ki, şıçanın bir nəsil xəttində spontan əmələ gələn şiş onun yarandığı ştammda uğurla yayıla bilir, amma genetik cəhətdən fərqli şıçan ştammda yaranmır. Aparılan genetik analizlər tezliklə göstərdi ki, tək bir əsas genetik lokus bu cür davranışa cavabdehdir. Buna oxşar olaraq, şıçanın eyni ştammi daxilində dəri transplantasiyası mümkün olmuşdur, amma transplantasiyanı qəbul edən fərd başqa ştammdan olduqda bu mümkün olmamışdır. Transplantın imtina edilməsinin genetik analizi transplantın qəbul olunması və ya imtina edilməsinə, immun reaksiyasına nəzarət edən vahid əsas lokusu – şişin imtina olunmasına cavab verən lokusu – aşkar etmişdir. Bizim indi bildiyimiz kimi, qazanılmış immun sisteminə malik olan bütün onurğalılar, iqlin olaraq şıçanda təyin edildiyi kimi əsas histouyğunluq kompleksinə uyğun gələn genetik rayona malikdirlər.

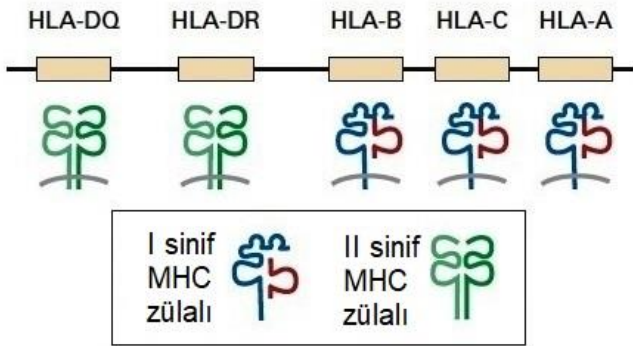
Şıçanda toxumanın imtina edilməsinə cavabdeh olan genetik rayon *H-2 kompleksi* adlanır (Şəkil 23-211a). İnsanlarda

MHC kodlaşdıran genetik rayon immun reaksiyasına səbəb olan çoxsaylı qanköçürməyə məruz qalan xəstələrdə aparılan tədqiqatlar zamanı aşkar edilmişdir. İnsanda MHC rayonu HLA kompleksi adlanır (Şəkil 23-21b). Məməlilərin tipik MHC tərkibində onlarla gen vardır, bunların çoxu immunoloji əhəmiyyətə malik olan zülalları kodlaşdırır. Baxmayaraq ki, ev toyuğunda, siçanda və insanda görüldüyü kimi, növlər arasında MHC-lərin dəqiq təşkili və gen tərkibi əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənir, onurğalılardan bütün MHC-ləri yüksək dərəcədə immunoloji zülallar dəstini kodlaşdırırlar. Onurğalılarda hüceyrələrin çoxu MHC zülallarını ekspressiya edir və beləliklə immun sisteminin tanınması üçün antigen peptidləri təqdim etmək potensialına malikdirlər.

(a) Siçanın MHC-si (H-2 kompleksi)



(b) İnsanın MHC-si (HLA kompleksi)



Şəkil 23-21 Siçanlarda və insanlarda əsas histouyğunluq kompleksinin təşkili. Əsas lokus aşağıda, kodlaşdırılan zülalların sxematik diaqramında təsvir edilmişdir. I sinif MHC zülalları MHC-kodlaşdıran, membranı bir dəfə kəşib keçən transmembran qlikozülaldan və onunla qeyri kovalent assosiasiyada olan, MHC-də kodlaşdırılmayan və membrana birləşməyən β 2-mikroqlobulin adlanan kiçik subvahiddən təşkil olunmuşlar. II sinif MHC zülalı, hər ikisi MHC-də kodlaşdırılan iki qeyri identik bir dəfə kəşib keçən transmembran qlikozülaldan ibarətdir.

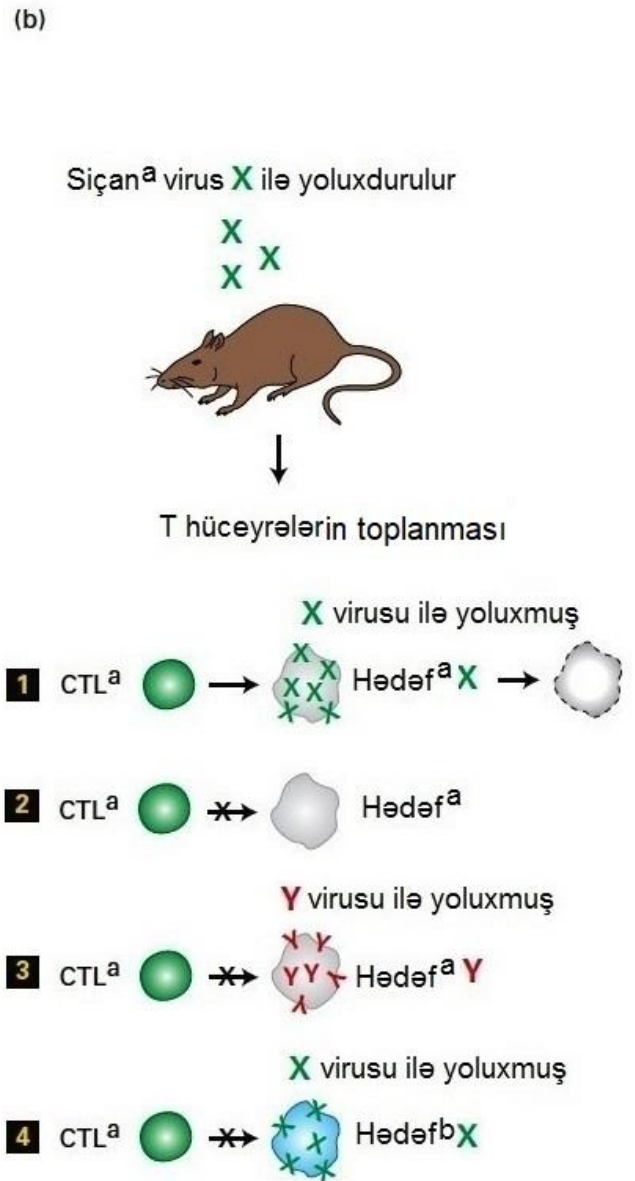
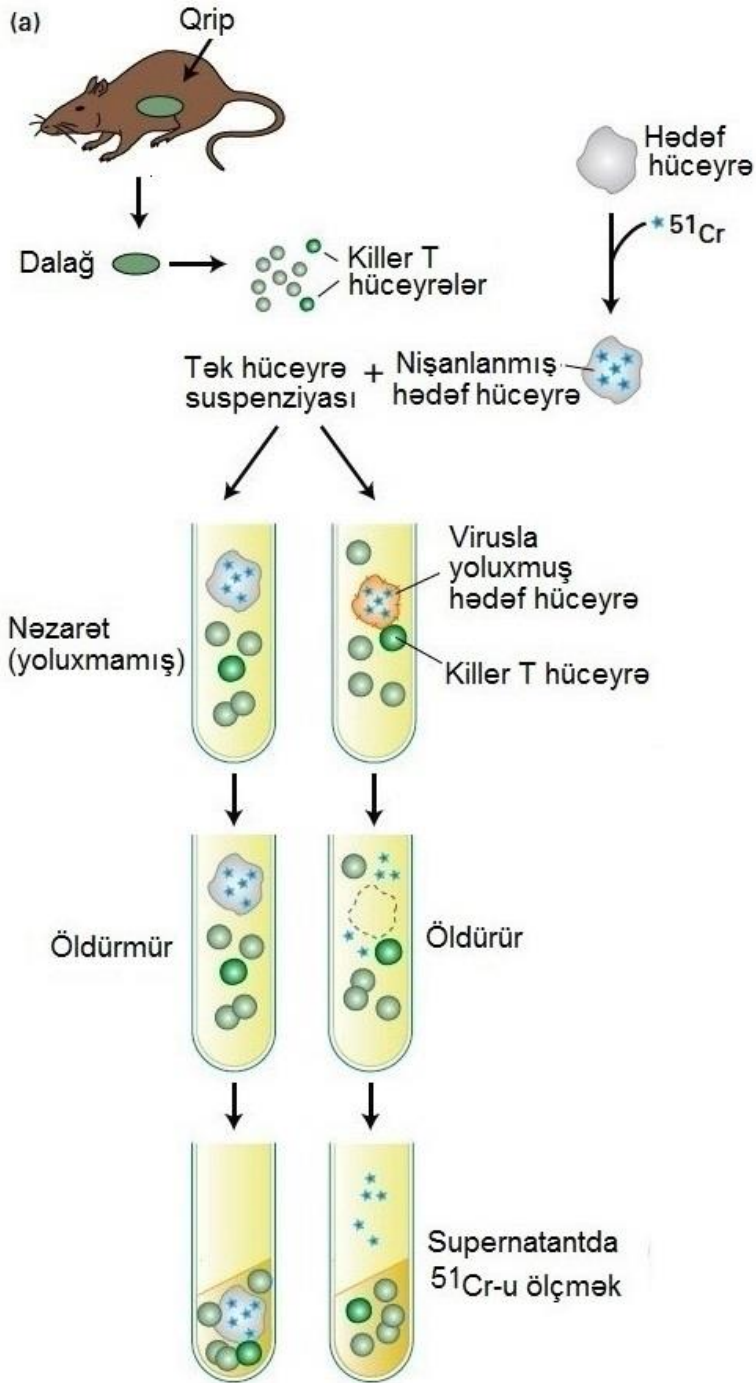
Maraqlıdır ki, insanın dölü ana üçün toxuma transplantı hesab edilə bilər: döl genetik materialın yalnız yarısını ana ilə bölüşür, qalan yarısı isə ata tərəfindən verilmişdir. Ata allelləri tərəfindən kodlaşdırılan anticism anada immun cavabını yarada biləcək dərəcədə ana allelərindən əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənə bilər. Bu cürə immun cavabı hamiləlik prosesinin gedişində yarana bilər, ananın qan dövrəsinə girən döl hüceyrələri ananın immun sisteminə ata antigenlərinə qarşı anticism cavab reaksiyasını gücləndirə bilər. Biz indi bilir ki, bu anticismlər insanın MHC tərəfindən kodlaşdırılan zülalları tanıyır. Dölün özü plasentanın ixtisaslaşdırılmış xüsusi təşkilliyinə görə, ana tərəfindən döl toxumasına qarşı immun reaksiyasının başlanmasına mane olaraq atılmaqdan azad olur.

Sitotoksik T Hüceyrələrin Öldürücü Fəaliyyəti Antigen Spesifikdir və MHC ilə Məhduddür

Aydındır ki, MHC molekulları cərrahi transplant mübadiləsinin qarşısını almaq üçün yaranıb inkişaf etməmişdir. MHC molekulları virusla yoluxmuş hüceyrələrin sitotoksik T hüceyrələr tərəfindən tanınmasında əhəmiyyətli rol oynayır, bunlara *sitotoksik T limfositlər (CTL)* də deyilir. Virusla yoluxmuş hüceyrələrdə MHC molekulları virusdan törənmiş zülal fraqmentləri ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir və bu fraqmentləri CTL-lərin tanıya biləcəyi hüceyrə səthində nümayiş etdirir. Belə antigen fraqmentlərinin necə yaranması və nümayiş etdirilməsi aşağıda təsvir ediləcək. Xüsusi bir peptid-MHC kompleksini tanıya bilən reseptorları olan CTL-lər letal (öldürücü) molekulları yoluxmuş hədəf hüceyrə üzərinə buraxır, hədəf hüceyrə membranını dağıdır. Bu hədəf hüceyrələrin dağıdılmasını onlar fiziki olaraq dağılarkən sitoplazmatik tərkiblərinin buraxılması ilə asanlıqla ölçmək olar. Beləliklə, yoluxmuş sahib hüceyrələri öldürən CTL: (1) sahib hüceyrə səthində patogendən antigen peptidin MHC ilə təqdim olunmasını, (2) öz səthində antigen-MHC-spesifik T hüceyrə reseptorlarını ekspressiya edən CTL-in MHC-antigen kompleksini tanıya bilməsini, (3) T hüceyrə reseptorları MHC-antigen kompleksinə birləşdikdən sonra CTL öldürücü məşinin fəallaşmasını tələb edir.

Xüsusi bir virus yoluxmasından sağalan siçanlar eyni virusla yoluxmuş hədəf hüceyrələri tanıyıb öldürə bilən CTL-lərin hazır mənbələridirlər. Əgər CTL qrip virusu ilə yoluxmadan uğurla təmizlənmiş siçandan alınmışsa, sitotoksik fəallıq qriplə-yoluxmuş hədəf hüceyrələrə qarşı müşahidə olunacaq, amma yoluxmamış nəzarət hüceyrələrinə qarşı olmayacaqdır (şəkil 23-22). Bundan başqa, qrip-spesifik CTL-lər vazikulyar stomatit virusu kimi digər virusla yoluxmuş hədəf hüceyrəni öldürməyəcək. CTL-lər qrip virusunun həтта çox yaxın olan ştammlarını da fərqləndirə bilər və bunu yüksək dəqiqliklə edir: virus antigenindəki bir amin turşusu fərqi onun CTL-lər tərəfindən tanınmasına və öldürülməsinə mane olmaq üçün kifayətdir. Bu eksperimentlər göstərir ki, CTL-lər həqiqətən də antigen-spesifikdirlər və sadəcə olaraq, virusun kimliyindən asılı olmayaraq bütün virusla-yoluxmuş hüceyrələrdə ortaqlıq olan bəzi atributu tanıyır.

Bu nümunədə, guman edilir ki, qriplə-yoluxmuş siçandan toplanmış CTL-lər siçanın eyni ştammindən (şəkil a) ayrılmış qriplə yoluxmuş hədəf hüceyrələrdə sınaqdan keçirilir. Amma, əgər tamamilə fərqli siçan ştammindən (şəkil b) alınmış hədəf hüceyrələr eyni virus ştammi ilə yoluxmuşsa və hədəf kimi istifadə olunmuşsa, siçanın a ştammindən ayrılan CTL yoluxmuş b ştamminin hədəf hüceyrələrini öldürməyəcək (Şəkil 23-22, 1-ə qarşı 4). Ona görə də, antigenin (qriplə törənmiş zülal) mövcud olması kifayət deyildir, antigenin CTL-lərlə tanınması siçanın ştam-spesifik elementləri ilə məhduddür. Genetik xəritələşdirmə göstərdi ki, bu məhdudlaşdırıcı elementlər MHC-də olan genlərlə kodlaşdırılır. Beləliklə, bir siçan ştammindən olan CTL-lər digər siçan ştammindən olan hüceyrələri o zaman öldürəcək ki, bu iki ştammin MHC lokusları müvafiq MHC molekullarına uyğun olsunlar. Ona görə də bu fenomenə *MHC məhdudluğu* və iştirak edən MHC molekullara *məhdudlaşdırıcı elementlər* deyilir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 23-22 Xromun (^{51}Cr) buraxılması analizi hüceyrələrin heterogen populyasiyasında sitotoksik T hüceyrələrin sitotoksikliyi və spesifikliyini birbaşa nümayiş etdirməyə imkan verir. (a) Sitotoksik (öldürücü) T hüceyrələrə malik olan dalağ hüceyrələrinin suspenziyası xüsusi bir virusa (məsələn, qrip virusuna) məruz qoyulmuş və yoluxmadan təmizlənmiş siçanlardan hazırlanmışdır. Eyni ştammdan olan siçandan alınmış hədəf hüceyrələri eyni virusla yoluxdurulmuş və ya yoluxdurulmamış şəkildə saxlanılmışdır. Yoluxmadan sonra, hüceyrə zülalları hədəf hüceyrənin ^{51}Cr ilə suspenziyasını inkubasiya etməklə qeyri spesifik nişanlanır. Radionişanlanmış hədəf hüceyrələr sitotoksik T hüceyrələrin suspenziyası ilə inkubasiya olunduqda yoluxmuş hədəf hüceyrələrin öldürülməsi ^{51}Cr nişanlanmış zülalların buraxılmasına səbəb olur. Yoluxmamış hədəf hüceyrələr öldürülmür və öz radioaktiv tərkib

hissələrini saxlayırlar. Ona görə də, hüceyrələrin sitotoksik T hüceyrələr vasitəsi ilə lizisi asanlıqla aşkar edilə bilər və supernatanta buraxılmış radioaktivliyi ölçməklə miqdarı analizi aparıla bilər. (b) X virusu ilə yoluxdurulmuş siçandan toplanmış sitotoksik T hüceyrələr (CTL) CTL-vasitəsilə öldürmənin spesifikliyini təyin etmək üçün müxtəlif hədəf hüceyrələrə qarşı sınaqdan keçirilə bilər. X-virusu ilə yoluxmuş hədəf hüceyrələri lizis etməyə qabil olan CTL (1), yoluxmuş hüceyrələri (2) və ya başqa virusla, Y virusu ilə yoluxmuş hüceyrələri (3) öldürə bilmir. Bu CTL-lər tamamilə fərqli MHC tipini daşıyan siçan ştamının (b ştamı) X-virusu ilə yoluxmuş hədəf hüceyrələrində sınaqdan keçirildikdə yenə də hədəf hüceyrələrin öldürülməsi müşahidə olunmur (4). Beləliklə, Sitotoksik T-hüceyrələr virus spesifikdirlər və MHC ilə məhdudlaşırlar.

Müxtəlif Funksional Xassəli T Hüceyrələr MHC Molekullarının İki Fərqli Sinifi ilə İdarə Olunur

MHC immun tanınması üçün vacib olan, ümumilikdə *sinif I* və *sinif II* kimi adlandırılan iki tip qlikozülali kodlaşdırır. Siçanın və İnsanın MHC genetik xəritələrinin müqayisəsi bir neçə *I* *sinif* MHC genlərinin və bir neçə *II* *sinif* MHC genlərinin mövcud olduğunu göstərir, hətta onların yenidəntəşkili iki növ arasında variasiyanın olduğunu göstərir (bax Şəkil 23-21). I *sinif* və II *sinif* MHC molekulardan başqa, MHC antigen-prosessinqinin və təqdimatı mexanizminin əsas komponentlərini də (məsələn proteoliz) kodlaşdırır. Nəhayət, tipik onurğalı MHC, komplement kaskadın komponentlərini də kodlaşdırır.

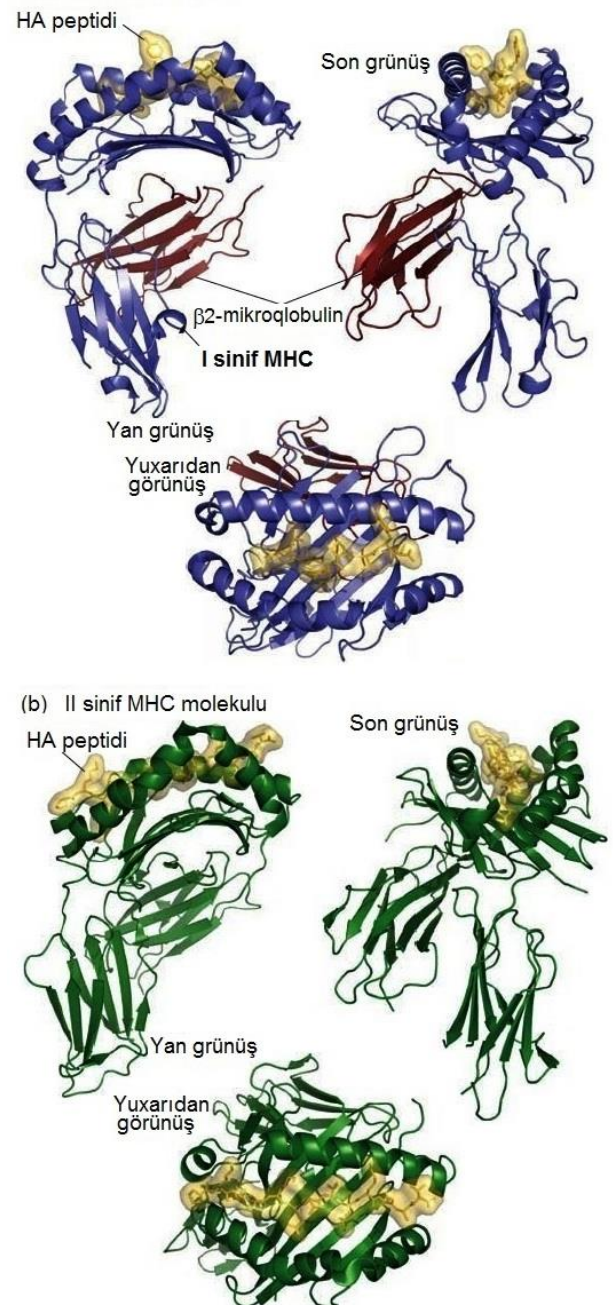
Həm I *sinif* həm də II *sinif* MHC zülalları antigenin T hüceyrələrə təqdim olunmasında iştirak edirlər, amma onlar geniş fərqli funksiyalara malikdirlər. I *sinif* MHC məhsulları antigenləri sitotoksik T hüceyrələrə təqdim edir, onların yoluxmuş hüceyrələri dağıtmasına imkan verirlər. Sitotoksik T hüceyrələr özlərinin əsas məhdudlaşdırıcı elementləri kimi I *sinif* MHC molekulalarını istifadə edirlər. Bu T hüceyrələr, CD8-i daşıyan T hüceyrələrin I *sinif* MHC məhsulları ilə qarşılıqlı əlaqəyə girmək qabiliyyətini təyin edən səth qlikozülalının ekspressiyası ilə xarakterizə olunurlar. Nüvəli hüceyrələrin əksəriyyəti, bəlkə də hamısı I *sinif* MHC molekulalarını konstitutiv ekspressiya edirlər və çoxu virusların replikasiyasına kömək edə bilər. Sonra, sitotoksik T hüceyrələr səthdə-əks etdirilən, virusla-yaranan antigeni (peptide) aşkar edən I *sinif* MHC molekulaları vasitəsilə yoluxmuş hüceyrələri tanıyır və məhv edir.

ŞƏKİL 23-23 I *sinif* və II *sinif* MHC molekulalarının üç-ölçülü

quruluşu. (a) Burada göstərilən antigen peptidlə (HA) birləşmiş I *sinif* MHC molekulunun rentgen-kristalloqrafiya yolu ilə təyin edilmiş quruluşudur. Peptid birləşmiş I *sinif* MHC molekulunun hissəsi β -zəncirlərdən təşkil olunmuş β vərəqdən ibarətdir və cinahdan iki α spiral yerləşir. Peptid-birləşdirən yarıq tamamilə MHC-kodlaşdırılan və başqa yerdə kodlaşdırılan kiçik subvahidlə (β 2-mikroqlobulin) qeyri kovalent assosiasiya edən böyük subvahiddən təşkil olunmuşdur. (b) II *sinif* MHC molekulaları quruluşuna görə I *sinif* molekulara oxşardır, amma bir sıra əhəmiyyətli fərqləri vardır. II *sinif* MHC molekulalarının həm α həm də β subvahidləri MHC tərəfindən kodlaşdırılır və peptid-birləşmiş yarığın əmələ gəlməsində kömək edirlər. II *sinif* MHC molekulalarının peptid-birləşdirən yarığı I *sinif* molekulalara nisbətən daha geniş sırada ölçüyə malik olan peptidləri özündə yerləşdirir. I *sinif* və II *sinif* MHC məhsullarının, hər ikisi I tip membran zülallarından olan, hüceyrəxarici hissəsi transmembran seqmentə və sitoplazmatik quyruğa malikdir (bax Şəkil 23-21, 23-26 və 23-29), kristalloqrafik analizə daxil edilməmişdir. [(a) hissəsi verilənlər D. N. Garboczi, 1996, *Nature* **384**:134, PDB ID 1ao7-dən. (b) hissəsi verilənlər J. Hennecke et al., 2000, *EMBO J.* **19**:5611, PDB ID 1 fyt-dən.]

II *sinif* MHC məhsulları yalnız ixtisaslaşmış antigen-təqdim edən hüceyrələrdə tapılmışdır, bunlar həmçinin *professional* APC-lər adlanırlar. Bu APC-lər antigenləri II *sinif* MHC molekulalar vasitəsilə köməkçi T hüceyrələr adlanan T limfositlər sinifinə təqdim edirlər. Bu təqdim olunma qazanılmış immun cavabının başlanmasıdır, bu həmçinin sitotoksik T hüceyrələrin öz hədəflərini öldürməsinə mümkün edir və B hüceyrələrə antigen-spesifik anticislərin istehsal olunmasında

yardımcı olurlar. Köməkçi T hüceyrələrin yardımı olmadan B hüceyrələr anticism-ifraz edən plazma hüceyrələrinə sona qədər differensasiya oluna bilmirlər. Köməkçi T hüceyrələr CD4 adlanan səth qlikozülalını ekspressiya edirlər və II *sinif* MHC molekulalarını məhdudlaşdırıcı elementlər kimi istifadə edirlər. II *sinif* MHC molekulalarının konstitutiv ekspressiyası B hüceyrələrin, dendrit hüceyrələrin və makrofaqların daxil olduğu *professional* APC-lərlə məhdudlaşır. (Bəzi epitelilər kimi bir sıra başqa hüceyrə tipləri müəyyən şərtlərdə II *sinif* MHC molekulalarını ekspressiya etmək üçün induksiya oluna bilərlər, amma biz onu müzakirə etməyəcəyik.) Yenə də, II *sinif* MHC molekulaları tərəfindən antigenin ekspressiyasının, toplanmasının və təqdim olunması üslubunun əsasında duran hüceyrə biologiyası, aşağıda göstərəcəyimiz kimi, bu funksional ixtisaslaşmaya daha uyğun gəlir.



Beləliklə, T limfositlərin funksiyasına görə fərqli olan iki əsas qrupu – sitotoksik T hüceyrələr və köməkçi T hüceyrələr – hüceyrə səthində göstərilən membran zülallarının unikal profilinə və onların məhdudlaşdırıcı element kimi istifadə etdiyi MHC molekullarına görə fərqləndirilə bilər:

- Sitotoksik T hüceyrələr: CD8 marker; I sinif MHC ilə məhduddur
- Köməkçi T hüceyrələr: CD4 marker; II sinif MHC ilə məhduddur

Həm CD4 həm də CD8, immun sisteminin B-hüceyrə və T hüceyrə reseptorları və polimer IgA reseptoru da daxil olmaqla çoxsaylı başqa zülallarla birlikdə immunoqlobulin (Ig) zülallar ailəsinə aiddirlər və bunların hamısı bir və ya daha artıq Ig domeninə malikdirlər. CD8-in ekspressiyası ilə I sinif MHC molekulların istifadəsi arasındakı kəskin korelyasiyanın və yaxud CD4-ün ekspressiyası ilə II sinif MHC molekulların istifadəsi arasında korelyasiyanın molekulyar əsasları MHC molekullarının quruluşu və fəaliyyət mexanizmi təsvir edildikdən sonra aşkar olunacaq.

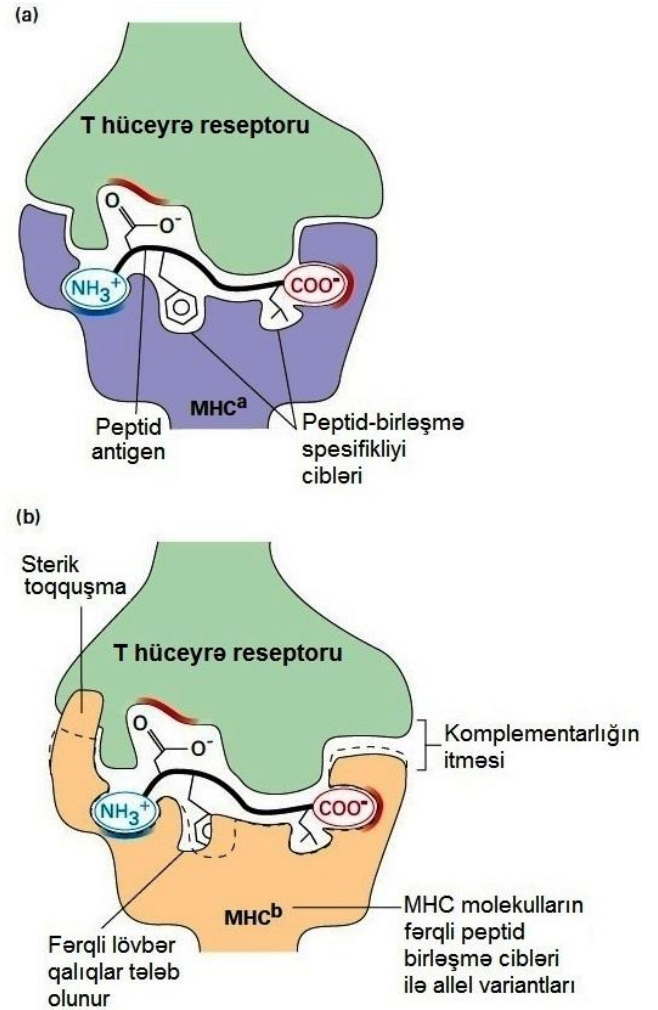
MHC Molekulları Peptid Antigenlərə Birləşir və T-Hüceyrə Rreseptoru ilə Əlaqəyə Girir

Həm I sinif həm də II sinif MHC molekulları yüksək dərəcədə polimorfduurlar, eyni növün fərdləri arasında çoxsaylı allel variantları mövcuddur. Onurğalılarda immun sistemi bu allel fərqlərə cavab verə bilər və onun allel MHC variantlarını tanıya bilmə qabiliyyəti qohum olmayan, genetik fərqli fərdlərdə transplant toxumanın immunoloji imtina edilməsi səbəbinin əsasında durur. Bununla belə, MHC molekullarının iki sinfi, quruluşuna görə, onların peptidlər və T hüceyrə reseptorları ilə qarşılıqlı təsiri kimi bir çox cəhətdən oxşardırlar (Şəkil 23-23).

I və II sinif MHC molekullarını kodlaşdıran genlərdə çox polimorfizmlər (məyyən bir lokusda çoxsaylı allel variantlardan ibarət olan genetik fərqlər) vardır. İnsanların bütün MHC molekulları üçün birlikdə 2000-dən artıq fərqli allellər vardır. MHC molekulları “özünün” toxumasını tanımaq və onu “özünün olmayan” materiyadan (və beləliklə mümkün olan patogendən) fərqləndirmək üçün xüsusilə əhəmiyyətlidir. Ümumiyyətlə, yaxın qohumlar istisna olmaqla, istənilən iki fərdin eyni MHC variantına sahib olmaq şansı çox aşağıdır. Transplantı qəbul edəndə və donorda MHC molekulundakı istənilən fərdlərarası fərqlər qəbul edən immun sistemi tərəfindən tanınacaq, transplantı yad cisim kimi qəbul edib, onu imtina etmək üçün təsir edəcək (transplantın imtina edilməsi). Transplant qəbul edənlə donorda, MHC allellər dəstində oxşarlıq daha çox olduqca transplantın daha çox qəbul olunma şansı olur. Ona görə də cərrahlar orqan verilməsi zamanı donor kimi MHC “uyğun gələn” fərdləri axtarır. Əgər donurun toxuma tipi (MHC alleli) qəbul edəninkinə tam uyğun gəlmirsə, o zaman orqanın imtina olunmasına mane olmaq üçün qəbul edən immun cavabını yatıran (supressiya edən) dərmanlardan istifadə etmək lazımdır.

İmmun sisteminin “özününkünü” “özününkü olmayan”dan (və ya patogeni qeyri patogendən) fərqləndirməyin inkişaf etdirilməsinin hüceyrə bioloji mexanizmləri mürəkkəbdir, amma onun başa düşülməsi lazımdır. İmmunitetin molekulyar və

hüceyrə əsaslarının anlaşılması təbabət və əhalinin sağlamlığı üçün həddən artıq böyük praktiki əhəmiyyət kəsb edir. Ona görə də biz bu molekulyar və hüceyrə mexanizmlərinə ətraflı baxacağıq.



ŞƏKİL 23-24 Peptid birləşməsi və MHC məhdudluğu. (a) I sinif molekullara birləşən peptidlər orta hesabla 8-10 amin turşusu uzunluqdadırlar, sonluğun düzgün yerləşməsinə tələb edirlər və iki və ya üç konservativ qalıqları vardır (lövbər qalıqları). Bir alleli digərindən fərqləndirən I sinif molekullardakı mövqelər (polimorf qalıqlar) peptid-birləşdirən yarıqların daxilində və ətrafında meydana çıxır. MHC-də polimorf qalıqlar həm peptid birləşdirmənin spesifikliyinə, həm də T-hüceyrə reseptorları ilə qarşılıqlı əlaqəyə təsir edir. Antigen peptidin – MHC kompleksin T-hüceyrə reseptorları ilə uğurlu “tanınması” reseptor, peptid və MHC molekulu arasında yaxşı uyğunluğu tələb edir. (b) Sterik toqquşma və lövbər qalıqları ilə MHC molekulu arasında komplementarlığın olmaması düzgün bağlanmaya mane olur. Beləliklə T-hüceyrə reseptorları spesifik peptid-MHC komplekslərinə bağlanmaqla məhdudlaşır.

I sinif MHC Molekulları Ig superailəsinə aid olan I sinif MHC molekulları iki polipeptid subvahiddən ibarətdir. Məməlilərin genomunda çoxsaylı MHC rayonunda çoxsaylı müstəqil gen nüsxələri olan böyük subvahid I tip membran qlikozülüdür (bax

Şəkil 13-10). Kiçik β 2-mikroqlobulin subvahidi MHC ilə kodlaşdırılmır və quruluşuna görə Ig domeninə uyğun gəlir. İnsanlarda I sinif MHC molekullarının böyük subvahidləri HLA-A, HLA-B və HLA-C lokusları ilə kodlaşdırılır (bax Şəkil 23-10) və bunların hər biri fərdlər arasında geniş allel variasiyasını nümayiş etdirirlər. Siçanda, I sinif MHC molekullarının böyük subvahidləri hər biri çoxsaylı məlum allel variantlarına malik olan H-2K və H-2D lokusları ilə kodlaşdırılır.

I sinif MHC molekullarının üç-ölçülü quruluşu iki membrana-yaxın olan domeni aşkar etdi (bax Şəkil 23-23a). Bu domenlər hər iki tərəfdən üstündə iki α spiral duran səkgiz-zəncirli β vərəqləri saxlayır. β vərəqlər və spirallar birlikdə hər iki ucu qapalı olan, içərisində peptid birləşən yarığı əmələ gətirirlər. I sinif MHC molekulları tərəfindən peptid birləşdirilməsi mexanizmi tələb edir ki, peptid 8-10 amin turşusu uzunluqda olsun, belə ki, peptidin ucları sonluqlarında yüklü karboksil və amin qruplarını yerləşdirən ciblərə yapışdırıla bilsin. Daha sonra, peptid hər biri xüsusi amin turşusu qalıqlarına dəqiq uyğun gələn MHC molekulunda ciblərdə yerləşmiş az sayda amin turşusu yan zəncirləri vasitəsilə peptid-birləşdirən yarıqlara lövbər edir (Şəkil 23-24a). Stabil peptid birləşməsinə imkan vermək üçün, orta hesabla iki belə “spesifiklik cibi” düzgün doldurulmalıdır, peptidlərin bu ciblərə yerləşə bilən yan zəncirlərlə birləşməsi məhdudlaşdırılır. Bu mexanizmdə, verilmiş MHC molekulunu böyük sayda, müxtəlif, amma hələ də məhdud ardıcılıqda peptidləri yerləşdirə bilər.

Bir allel MHC molekulunu digərindən fərqləndirən polimorf qalıqlar əsasən peptid-birləşdirən yarıq daxilində və ətrafında yerləşir. Ona görə də, bu qalıqlar peptid-birləşdirən cibin arxitekturasını və beləliklə peptid birləşdirənin spesifikliyini təyin edir. Daha sonra, bu polimorf qalıqlar MHC molekulların T-hüceyrə reseptorları ilə əlaqə yaradan səthinə təsir edir. Ona görə də, xüsusi bir I sinif MHC alleli ilə qarşılıqlı təsir yarada bilən T-hüceyrə reseptoru, bir qayda olaraq, fərqli səth arxitekturasına malik olduqlarına görə uyğun olmayan MHC molekulları ilə qarşılıqlı əlaqə yaratmırlar (Şəkil 23-24b), bu MHC məhdudiyyətinin molekulyar əsasıdır. Sitotoksik T-hüceyrələrdə CD8 molekulunu ko-reseptor kimi fəaliyyət göstərir, I sinif MHC molekulunda konservativ hissəyə birləşir. Beləliklə CD8-in mövcud olması onu daşıyan istənilən yetkin T-hüceyrəsinin I sinif MHC seçimini “müəyyənləşdirir”.

II Sinif MHC Molekulları II sinif MHC molekullarının hər iki subvahidi (α və β) Ig superailəsinin I tip membran qlikozülallarıdır. Tipik məmali MHC II sinif MHC molekullarını kodlaşdırən bir neçə lokusa malikdir (bax Şəkil 23-21). I sinif molekulların böyük subvahidi kimi, II sinif molekulların da həm α həm də β subvahidi genetik polimorfizmi nümayiş etdirir.

II sinif MHC molekullarının əsas üç-ölçülü dizaynı I sinif MHC molekullarınkına bənzəyir: iki membrana-yaxın Ig-bənzər domenlər peptid-birləşdirən yarıq peptid-birləşdirən hissəsinə kömək edir (bax Şəkil 23-23b). II sinif MHC molekullarında α və β subvahidlər peptid-birləşdirən yarıqın əmələ gəlməsinə bərabər şəkildə kömək edirlər. Bu yarıqın hər iki ucu açıqdır, ona görə də peptidlərin I sinif MHC molekullarına birləşən peptidlərdən daha uzun müddətli birləşməsinə kömək edir, çünki peptidlər yarıqın hər iki ucundan kənara çıxı bilərlər. Peptid birləşdirə mexanizmi spesifik peptid yan zəncirlərini yerləşdirən cibləri, həmçinin MHC molekulunun yan zəncirləri ilə ona bağlı peptidin əsas-zəncir atomları arasındakı təması

əhatə edir. I sinif MHC-də olduğu kimi, II sinif MHC polimorfizmləri əsasən peptid birləşdirən yarıqın daxilindəki və ətrafındakı qalıqlara təsir edir, belə ki, peptid-birləşdirən spesifiklik adətən müxtəlif allel məhsullar arasında fərqlənir. Xüsusi bir II sinif MHC molekulunu ilə qarşılıqlı təsirdə olan T-hüceyrə reseptoru bir qayda olaraq, yalnız allel MHC molekullarının peptid-birləşdirən spesifikliyindəki fərqlərə görə deyil, həm də T-hüceyrə reseptorları ilə əlaqədə olan qalıqlara təsir edən polimorfizmə görə fərqli II sinif MHC allel variantla qarşılıqlı əlaqəyə girməyəcək, I sinif MHC-yə gəldikdə isə, bu, II sinif MHC ilə antigenin məhdud tanınmasının əsasını təşkil edir.

Biz aşağıda görəyik ki, II sinif MHC molekulları daha böyük üstünlüklə endosomlarda və lizosomalarda yaranan zülalları təqdim etmək üçün yaranmışdır. Peptidlərin II sinif MHC molekullara birləşməsi həmin orqanoidlərdə baş verir və II sinif MHC molekulları endoplazmatik şəbəkədə sintez olunduqdan sonra həmin lokalizasiyalara hədəf olunurlar. Bu hədəflənmə, invariant zəncir adlanan II tip membran qlikozülalı (bax Şəkil 13-10) olan şaperon vasitəsilə həyata keçirilir. İnvariant zəncir (Ii) üzərində üç II sinif MHC $\alpha\beta$ heterodimerin toplandığı trimer quruluşu əmələ gətirməklə II sinif MHC molekulunun biosintezinin erkən mərhələlərində aparıcı rol oynayır. Beləliklə, toplanmış son məhsul doqquz polipeptiddən ibarət olur ($\alpha\beta Ii$)₃. Ii ilə $\alpha\beta$ heterodimer arasındakı qarşılıqlı əlaqə, II sinif MHC peptid-birləşdirən yarığı tutan, Ii-in CLIP seqmenti adlanan bir hissəsini əhatə edir. ($\alpha\beta Ii$)₃ kompleksi toplandıqdan sonra, kompleks ifrazat yoluna keçir və *trans*-Qolci şəbəkəsində endosomlara və lizosomlara yönəldilir (bax Şəkil 14-1). Bu yayınma üçün cavabdeh olan siqnallar Ii sitoplazmatik quyruq tərəfindən aparılır və açıq şəkildə lizosomal membran zülallarında tapılan endosomal hədəfləmə nümunəsinə və ya axtarış siqnallarına uyğun gəlmir. ($\alpha\beta Ii$)₃ komplekslərin bəziləri birbaşa hüceyrə səthinə yönəldilir, onlar bu yolla daxilə mənimsənilə bilər, amma böyük əksəriyyəti gecikən endosomlarda qurtarır.

Bizim I sinif MHC molekullarında və onların CD8 ko-reseptorunda gördüyümüz kimi, CD4 ko-reseptor II sinif MHC molekullarının konservativ xüsusiyyətlərini tanıyır. CD4 ko-reseptorunu daşıyan istənilən yetkin T hüceyrə antigeni tanımaq üçün II sinif MHC molekullarını istifadə edir.

Antigen Təqdimatı Zülal Fraqmentlərinin MHC Məhsulları ilə Kompleks Əmələ Gətirdiyi və Hüceyrə Səthinə Yerləşdirdiyi Prosesdir

Xarici materialın immun sistemə daxil edildiyi proses immun cavabının son nəticələrini təyin edən əsas pillədir. Anticislərin iatehsal olunmasını və köməkçi və sitotoksik T hüceyrələrin əmələ gəlməsini əhatə edən uğurlu qazanılmış (adaptiv) immun cavabı professional APC-lərin iştirakı olmadan inkişaf edə bilməz. Məhz bu hüceyrələrdir ki, antigeni əldə edir, onu emal edir və T hüceyrələr tərəfindən tanınma bilən formaya çatdırır. Antigenin T hüceyrələr tərəfindən tanınma bilən formaya çevrilməsi yolu *antigen emalı* və *təqdimatı* adlandırılır.

I sinif MHC yolu böyük üstünlüklə hüceyrənin özü tərəfindən sintez olunan zülalların (o cümlədən, yoluxmuş hüceyrələrdə patogenlə-kodlaşdırılan zülalların) təqdim olunmasına cəmlənir, halbuki II sinif MHC yolu APC

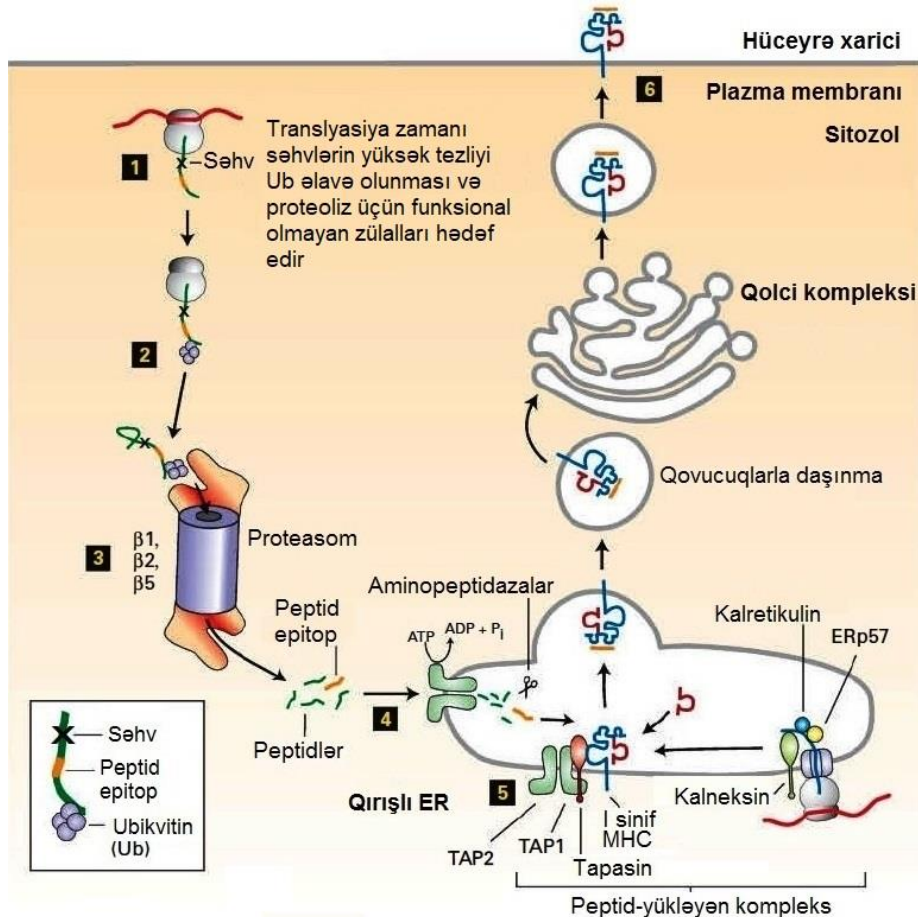
kənarından alınmış materiallar üzərində cəmlənmişdir. Yada salaq ki, bütün nüvəli hüceyrələr I sinif MHC məhsullarını ekspressiya edir və ya bunu etmək üçün induksiya oluna bilirlər, bu nüvəli hüceyrənin nuklein turşularını və eləcə də zülalları sintez etmək qabiliyyəti baxımından və beləliklə virus patogenin replikasiyasına kömək etmək faktı baxımından mənə kəsb edir. Hüceyrədaxili yolxucunun mövcud olması barədə immün sisteminin xəbərdarlıq edilməsi qabiliyyəti I sinif MHC-məhdud antigen təqdimatı ilə ayrılmaz şəkildə bağlıdır. APC-nin özü tərəfindən istehsal olunan materialların təqdimatı ilə hüceyrə xarcindən alınan antigenin prosessinqi və təqdimatı arasında fərqlilik heç bir şəkildə mütləq deyildir. Antigen prosessinqinin və təqdimatının I sinif və II sinif yolları birlikdə, patogenlərin mövcud olmasının araşdırılması üçün bütün kompartmentləri nümunə kimi götürür.

Antigen prosessinqi və təqdimatı həm I sinif həm də II sinif yollar üçün, bu yolların müqayisəsində istifadə oluna bilən altı diskret pilləyə ayrıla bilər: (1) antigenin əldə olunması, (2) antigenin dağıdılmaq üçün yarılmağı, (3) proteoliz, (4) peptidlərin MHC molekullara çatdırılması, (5) peptidlərin MHC molekullara birləşməsi və (6) peptid-birləşmiş MHC molekulların hüceyrə səthinə çıxarılaraq göstərilməsi. Burada biz hər bir yolun molekulyar detallarını təsvir edirik.

I Sinif MHC Yolu Sitozol Antigenlərini Təqdim Edir

Şəkil 23-25 virusla yoluxmuş hüceyrə nümunəsindən istifadə edərək I sinif MHC yolunun altı pilləsini ümumiləşdirir.

1 Antigenin Əldə Olunması: Virus yoluxması zamanı antigenin əldə olunması adətən yoluxma vəziyyəti ilə sinoniumdur. Viruslar sahibin biosintetik yolundan istifadə edərək yeni virus zülallarını yaradırlar. DNT replikasiyasından fərqli olaraq, zülal sintezi səhvə-meyilli prosesdir, belə ki, yeni inisiyasiya olunan polipeptid zəncir yetişməmiş terminasiya edə bilər və ya başqa səhvlərə uğraya bilər (amin turşularının səhv inkorporasiyası, ramka sürüşməsi, düzgün olmayan və ya gecikmiş bükülmə). Zülal sintezindəki bu səhvlər sahib hüceyrənin öz zülallarına, həmçinin virus genomu ilə dəyişdirilmiş zülallara bərabər şəkildə təsir edir. Belə səhvlərə malik olan zülallar tez şəkildə uzaqlaşdırılmalıdır ki, sitoplazmanı çirkləndirib tutmasınlar, tərəfdaş (partnyor) zülalları qeyri-məhsuldar qarşılıqlı əlaqələrə salmasınlar və ya hətta zülalın dominant mənfi versiyaları kimi çıxış etməsinlər. Düzgün bükülmüş zülallar da zədələnməyə malik ola bilər, bu da onların bükülməsinin qismən və ya tam açılmasına və onların aradan çıxarılmasının vacibliyinə səbəb olur. Bu səhv funksiyalı zülalların sitozolda proteolizinin sürəti zülalların sintezində və bükülməsində baş verən səhvlərin sürətinə uyğun olmalıdır. Bu zülallar I sinif MHC molekulları tərəfindən təqdim edilmək üçün təyin edilən peptidlərin çox əhəmiyyətli mənbələridirlər. Çapraz təqdim olunma adlanan (aşağıda müzakirə olunur) ixtisaslaşdırılmış proses istisna olmaqla, I sinif MHC yolu peptid-MHC komplekslərinin əmələ gəlməsi ilə nəticələnir, bu zaman peptidlər I sinif MHC-daşıyan hüceyrənin özü tərəfindən sintez edilən zülallardan əldə edilir.



ŞƏKİL 23-25 Antigen prosessinqi və təqdim olunmasının I sinif MHC yolu. Pillo 1: Antigenin alınması səhvləri olan zülal istehsalı (vaxtından əvvəl terminasiya, yanlış birləşmə) ilə sinonimdir. Pillo 2: Funksiyası pozulmuş zülallar ubikvitinləşmə vasitəsilə parçalanmaya hədəf olunur. Pillo 3: Proteoliz proteosomlar vasitəsilə aparılır. İnterferon γ -ya məruz qoyulmuş hüceyrələrdə proteosomların katalitik fəal olan β subvahidləri interferonla-induksiya olunan immun-spesifik

2 *Antigenin Dağıdılmaq Üçün Hədəf olunması:* Əksər hallarda, poliubikvitinləşmə zülalın parçalanmaq üçün hədəf olunmasına cavabdehdir (bax Fəsil 3 shhifə 99). Poliubikvitinləşmə sıx şəkildə tənzimlənən kovalent modifikasiyadır.

3 *Proteoliz:* Poliubikvitinləşmiş zülallar proteosomlarda proteoliz yolu ilə dağıdılır. Proteosom öz substratları ilə əlaqəyə girən proteazalardır və aralıq məhsullar olmadan son dağıdılma məhsulu kimi 20-30 amin turşusu uzunluğu civarında peptidləri əmələ gətirir (bax Şəkil 3-31). İltihaba cavabın gedişi zamanı və γ interferona cavab zamanı proteosomun katalitik fəal olan β subvahidləri ($\beta 1$, $\beta 2$ və $\beta 5$) üç immunospesifik subvahidlərlə: $\beta 1i$, $\beta 2i$ və $\beta 5i$ ilə əvəz oluna bilir. $\beta 1i$, $\beta 2i$ və $\beta 5i$ subvahidləri genomun MHC rayonunda kodlaşdırılır. Bu əvəz olunmanın son (xalis) nəticəsi, I sinif MHC molekulların peptid birləşdirmə tələbinə uyğun olan məhsul çıxımı (peptid məhsulların uzunluğu) *immunoproteasomun* yaradılmasıdır. İmmunoproteasom istehsal olunan peptid məhsulların ümumi uzunluğunu və doqranmanın baş verdiyi saytları nizamlayır. I sinif MHC molekulları tərəfindən təqdim olunan peptidlərin yaranmasında proteasomun mərkəzi rolunu nəzərə alaraq, proteasom inhibitorları I sinif MHC yolu ilə antigen prosessinqinə güclü mane olur.

4 *Peptidlərin I Sinif MHC molekullarına Çatdırılması:* Zülal sintezi, poliubikvitinləşmə və proteasomal proteoliz hamısı sitoplazmada baş verir, amma I sinif MHC molekulları tərəfindən peptid birləşdirilməsi endoplazmatik şəbəkənin (ER) lümenlərində baş verir. Beləliklə peptidlər I sinif molekullara çatmaq üçün ER membranını kəsb keçməlidirlər, bu proses ATP ilə işləyən nasosların ABC superailəsinin nümayəndəsi olan (bax Şəkil 11-15) heterodimer TAP kompleksi vasitəsilə həyata keçirilir. TAP kompleksi ER-in sitoplazmatik səthində peptidlərə birləşir və ATP birləşməsinin və hidrolizinin daxil olduğu tsikllə onları ER daxilində translokasiya edir. TAP kompleksinin spesifikliyi belədir ki, o bütün sitozol peptidlərinin yalnız bir yarım bölməsini, yəni I sinif MHC molekullarına uyğun gələn 5-10 amin turşusu uzunluqda olan bir hissəsini daşıya bilir. Siçanın TAP kompleksi leysin, valin, izoleysin və ya metionin qalıqları ilə qurtaran peptidlərə açıq şəkildə üstünlük verir, bu da I sinif MHC molekulları ilə birləşməyə daha çox uyğun gəlir. TAP kompleksini əmələ gətirən TAP1 və TAP2 subvahidlərini kodlaşdıran genlər MHC rayonunda yerləşirlər.

5 *Peptidlərin I Sinif MHC Molekullarına Birləşməsi:* ER daxilində yeni sintez olunmuş I sinif MHC molekulları peptid-yükləmə kompleksi hesab edilən çoxzülallı kompleksin hissəsidirlər. Bu kompleksə çaperonlar (kalneksin və kalretikulin) və oksidoreduktaza Erp57 daxildir. Başqa bir çaperon (tapasin) peptidi almaq üçün həm TAP kompleksi ilə həm də I sinif MHC molekulu ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir. TAP və

β subvahidlərlə əvəz olunur. Pillo 4: Peptidlər dimer TAP peptid transporterlər vasitəsilə endoplazmatik şəbəkə (ER) daxilində çatdırılır. Pillo 5: Peptid yeni hazırlanmış peptid-yükləmə kompleksi daxilində I sinif MHC molekullarına yüklənir. Pillo 6: Tam yığılmış I sinif MHC-peptid kompleksi ifrazat yolu vasitəsilə hüceyrə səthinə daşınır. Detallarına görə tekstə bax.

I sinif MHC molekullarının fiziki yaxınlığı tapasin vasitəsilə saxlanılır. Peptidin I sinif MHC molekuluyla yüklənməsi baş verdikdən sonra, konformasiya dəyişikliyi yüklənmiş I sinif MHC molekulu peptid-yüklənən kompleksdən buraxır. Bu təşkil olunma yalnız peptid-birləşmiş I sinif MHC molekulu səmərəli şəkildə ER-dən buraxılmasını və hüceyrə səthinə daşınaraq orada ekranlaşdırılmasını (aşkar edilməsini) təmin edir. Bu yolun ümumi səmərəliliyi ondadır ki, xüsusi bir polipeptiddən peptid daşıyan tək bir MHC-peptid kompleksinin yaranması üçün verilmiş zülülün təxminən 4000 molekulu dağıdılmalıdır.

6 *Peptid-Birləşmiş I Sinif MHC molekullarının Hüceyrə Səthində Ekranlaşdırılması:* Peptid yüklənməsi tamamlandıqdan sonra, I sinif MHC-peptid kompleksi peptid-birləşdirən kompleksdən buraxılır və konstitutiv ifrazat yoluna qoşulur (bax Şəkil 14-1). Qolciddən hüceyrə səthinə daşınma sürətlə baş verir və I sinif MHC-peptid kompleksinin biosintetik yolunu tamamlayır.

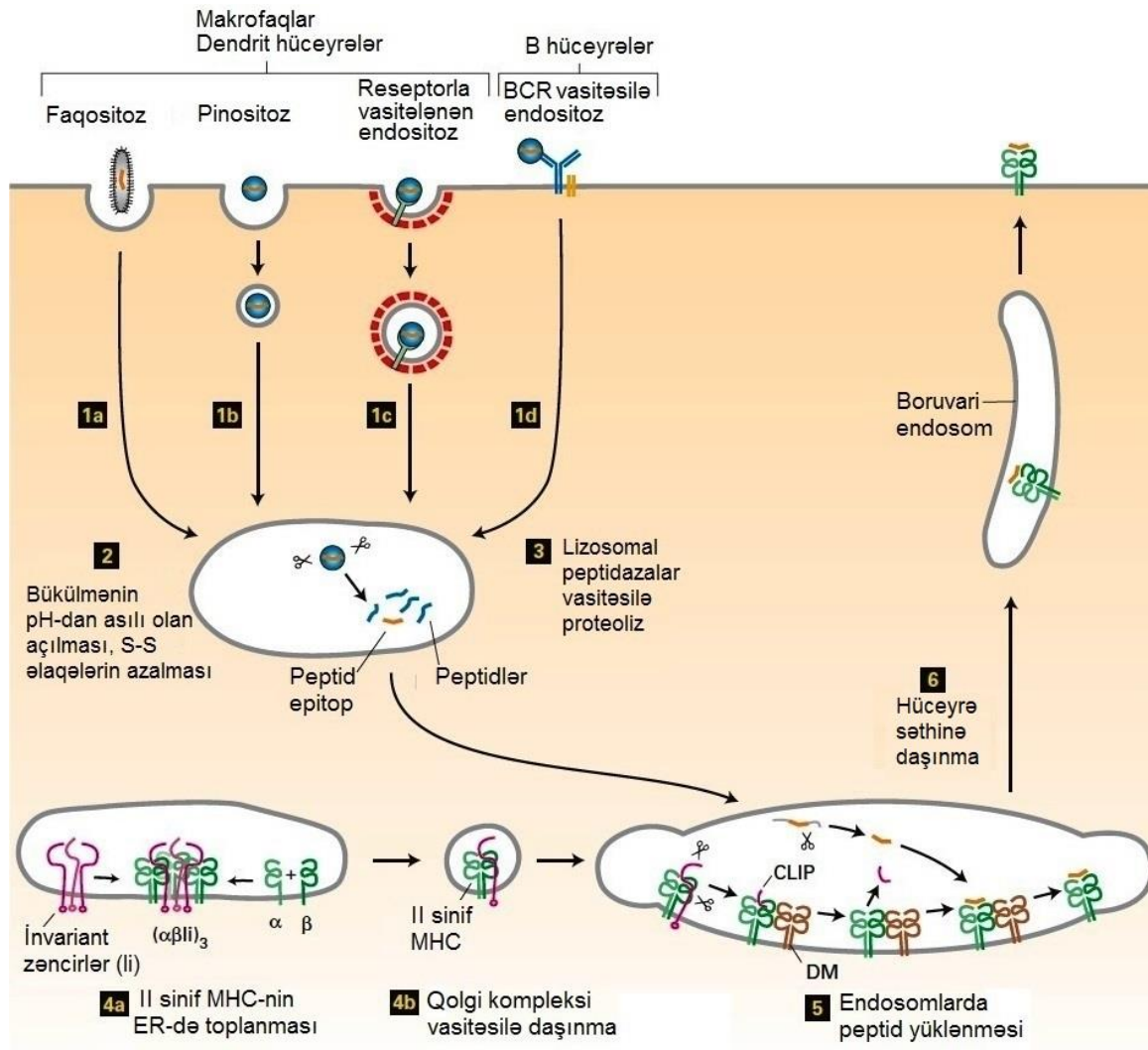
I sinif yolunda hadisələrin tam ardıcılığı, I sinif MHC molekullarını və onların tələb etdiyi zülalları ekspresssiya edən və ya bunu etmək üçün induksiya olunan bütün nüvəli hüceyrələrdə konstitutiv baş verir. Bizim gördüyümüz kimi, γ interferon kimi sitokinlərin təsirinə məruz qalmaq, I sinif MHC molekulları ilə təqdim olunan müvafiq peptidlərin istehsalının yüksək qabiliyyətinə malik olan immunoproteasomları yaratmaq üçün immun-spesifik proteasomal subvahidləri induksiya edir. Virus yoluxmaları olmadıqda zülal sintezi və proteolizi fasiləsiz davam edən və I sinif MHC molekullarına yüklənən peptid axını əmələ gətirir. Ona görə də, sağlam, normal hüceyrələr öz səthində özlərinin istehsal etdiyi zülallardan alınan peptidlərin seçilmiş nümunələrini nümayiş etdirirlər. Tipik nüvəli hüceyrənin səthində minlərlə fərqli MHC-peptid kombinasiyası nümayiş etdirilə bilər. Normal yoluxmamış hüceyrələrin öz səthində MHC-özünün-peptidi komplekslərinin nümayiş etdirilməsi immun sistemində çox vacib rol oynayır. Yalnız virus meydana gəldikdən sonra, virusdan əmələ gələn peptidlər peptid-MHC komplekslərinin hüceyrə səthlərində görünməsinə öz töhfəsini verməyə başlayırlar.

Yuxarıda qeyd ediləni kimi, düzgün fəaliyyət göstərən immun sistemi özünün (qeyri patogen) antigenlərini özününkü olmayan (potensial patogen) antigenlərdən fərqləndirə bilməlidir. İnsanlarda ürək səviyyəsində döş sümüyü yaxınlığında yerləşən timus adlanan kiçik orqan immun sisteminin özününkü olmayanı fərqləndirməsinə nəzarət olunmasında həlledici rol oynayır. Timusda inkişaf edən *timositlər* adlanan T hüceyrələr özlərinin antigen-spesifik reseptorlarını timus epitel hüceyrələrində yaranan MHC-peptid kompleksləri dəstinə kalibrovka edir və özünün-MHC

məhsullarını təlimat dayağı kimi və ya immunoloji baxımdan məhdudlaşdırıcı element kimi tanımağı öyrənir, bundan sonra onlar antigenin tanınmasına etibar etməlidirlər. Eyni zamanda, timusda özünün MHC molekulları vasitəsi ilə özünün peptidlərinin nümayiş etdirilməsi (göstərilməsi) inkişaf edən T hüceyrələrinin hansı peptid-MHC kombinasiyasının özünükindən-yarandığını tanımağı və ona görə də özünü-dağıtmaq kimi autoimmun reaksiyasından yan keçmək üçün onu nəzərə almamağı mümkün edir. Beləliklə, T-hüceyrələrin inkişafı özünün-peptidləri ilə yüklənmiş öz MHC molekulları ilə, T hüceyrələrin faydalı repertuarının düzəldilə biləcəyi "templeyt" ilə idarə olunur. **Sadə bir dillə desək,,** özünün-MHC-özünün-peptid komplekslərinə güclü reaksiya verən reseptoru daşıyan hər hansı T hüceyrə timusu tərk edərəkən

potensial təhlükəlidir və məhv edilməlidir. Bu seçim prosesi aşağıda müzakirə ediləcəkdir.

Sitotoksik T hüceyrələrin inkişafında həlledici rol oynayan antigen təqdimatının ənənəvi üslubuna aid bir istisna *çarpaz təqdimatdır*. Bu termin apoptoz hüceyrə qalıqlarının, anticismə birləşmiş antigenə ibarət olan komplekslərinin və antigenin mümkün olan başqa formalarının dendrit hüceyrələr tərəfindən faqositoz vasitəsilə əldə olunmasına aid edilir. Hələ tam anlaşılmayan yolla bu materiallar faqosomal və ya endosomal kompartmentlərdən yayınaraq sitozola keçirlər, onlar sonra burada yuxarıda təsvir edilən pillələrlə emal olunurlar. Dendrit hüceyrələr çarpaz təqdimat üçün çox vacibdir, belə ki, APC-nin özündən başqa digər hüceyrələrdən əmələ gələn peptidlərlə kompleksləşmiş I sinif MHC molekullarının yüklənməsinə imkan verirlər



ŞƏKİL 23-26 Antigen prosessinqi və təqdimatının II sinif MHC yolu. Pilla 1: Xüsusi xırdalanmış fərdi antigenlər faqositoz yolu ilə, xırdalanmamış antigenlər isə pinositoz və ya endositoz yolu ilə mənimsənilir. Pilla 2: Antigenin endosomların və lizosomların turş və reduksiya edici mühitinə məruz qoyulması antigeni proteolizə hazırlayır. Pilla 3: Antigen endosomla və lizosomal kompartmentlərdə müxtəlif proteazalarla xırdalanır. Pilla 4: ER-də öz subvahidlərindən toplanmış II sinif MHC molekulları assosiasiyada olan invariant (Ii) zəncirlərdən ibarət olan siqnal vasitəsilə endosomal və lizosomal

kompartmentlərə çatdırılır. Bu çatdırılma gecikən endosomları, lizosomları və erkən endosomları hədəf edir, II sinif MHC molekullarının bütün endositoz yolu boyu antigenin proteolitik parçalanma məhsullarına məruz qalmasının təmin edir. Pilla 5: Peptidin yüklənməsi II sinif MHC-yə-bənzər çaperon zülalı DM-in köməyi ilə həyata keçirilir. Pilla 6: Peptid yüklənmiş II sinif MHC molekulları hüceyrə səthində nümayiş etdirilir. Detallarına görə tekstə bax.

II Sınıf MHC Yolu Endositoz Yoluna Çatdırılan Antigenləri Təqdim Edir

Baxmayaraq ki, I sınıf MHC və II sınıf MHC molekulları təccübləndirici dərəcədə quruluş oxşarlığı göstərirlər, bu iki sınıfın peptidləri əldə etmək üsulu və onların antigeni tanıma funksiyası çox fərqlənir. I sınıf MHC molekullarının əsas funksiyası CD8-daşıyan sitotoksik T hüceyrələrin öz hədəf hüceyrələrinə (adətən yoluxmuş hüceyrələrə) yönəlməsinə bələdçilik etdiyi olduğu halda, II sınıf MHC molekulları CD4-daşıyan köməkçi T hüceyrələrin onların əlaqədə olduğu hüceyrələrə, ilk növbədə professional APC-lərə yönəlməsində fəaliyyət göstərir. Fəallaşmış köməkçi T hüceyrələr müdafiəni yalnız B hüceyrələrə anticism istehsal etməkdə kömək etməklə təmin etmir, o həmçinin istehsal etdiyi kompleks sitokinlər dəsti vasitəsi ilə faqositoz hüceyrələrini fəallaşdırmaqla və ya iltihab cavabını yaratmaqla edirlər.

Əvvəllər qeyd edildiyi kimi, II sınıf MHC molekulları, əsasən professional APC-lər: faqositik xassəyə malik olan dendrit hüceyrələr və makrofaqlar və bu xassəyə malik olmayan B hüceyrələr tərəfindən ekspressiya olunurlar. Beləliklə, antigenin prosessinqinin və təqdimatının II sınıf MHC yolu əsasən yalnız bu hüceyrələrdə olur. Bu yoldakı pillələr Şəkil 23-26-da verilmişdir.

1 *Antigenin əldə olunması:* II sınıf MHC yolunda antigen pinositoz, faqositoz və ya reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə əldə olunur. Daha çox qeyri-spesifik olan pinositoz membranın invaqinasiyası və ayrılması prosesi ilə hüceyrəxarici mayenin həcmninə onda həll olan molekulların çatdırılmasını əhatə edir. Faqositoz, bakteriya, virus və ölü hüceyrələrin qalıqları kimi zərrəcik maddələrinin udulmasını, daxil olan zərrəciyi yerləşdirmək üçün aktin əsaslı sitoskeletin geniş şəkildə yenidən qurulmasını əhatə edir. Baxmayaraq ki, faqositoz spesifik reseptor-liqand qarşılıqlı təsiri ilə inisiyasiya oluna bilər, amma bu həmişə tələb olunmur: hətta lateks zərrəcikləri və şüşə muncuq kimi digər hissəciklər də makrofaqlar tərəfindən çox səmərəli şəkildə qəbul edilə bilər. Anticismlərlə və müəyyən komplement komponentlərlə dekorasiya olunmuş patogenləri onları komplement komponentlər və ya immunoqlobulinlərin Fc zülalları üçün olan hüceyrə səth reseptorları vasitəsilə tanıyan makrofaqlar və dendrit hüceyrələri hədəf edirlər, sonra onları faqositoz yolu ilə udurlar (Şəkil 23-27). Makrofaqlar və dendrit hüceyrələr həm həllolan həm də xırdalanmış antigenləri tanıyan az selektiv reseptorları da (məsələn, C-tip lektin, Toll-bənzər reseptorlar, skavencer reseptorlar) ekspressiya edirlər, sonra bu hüceyrələr birləşmiş antigenləri reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə daxilə mənimsəyirlər. Faqositik xassəyə malik olmayan B hüceyrələr də antigenləri antigen-spesifik B hüceyrə reseptorundan istifadə edərək reseptorla-vasitələnən endositoz yolu ilə mənimsəyirlər (Şəkil 23-28). Nəhayət, sitozol antigenləri II sınıf MHC yola autofaqiya yolu ilə daxil ola bilərlər (bax Şəkil 14-35).

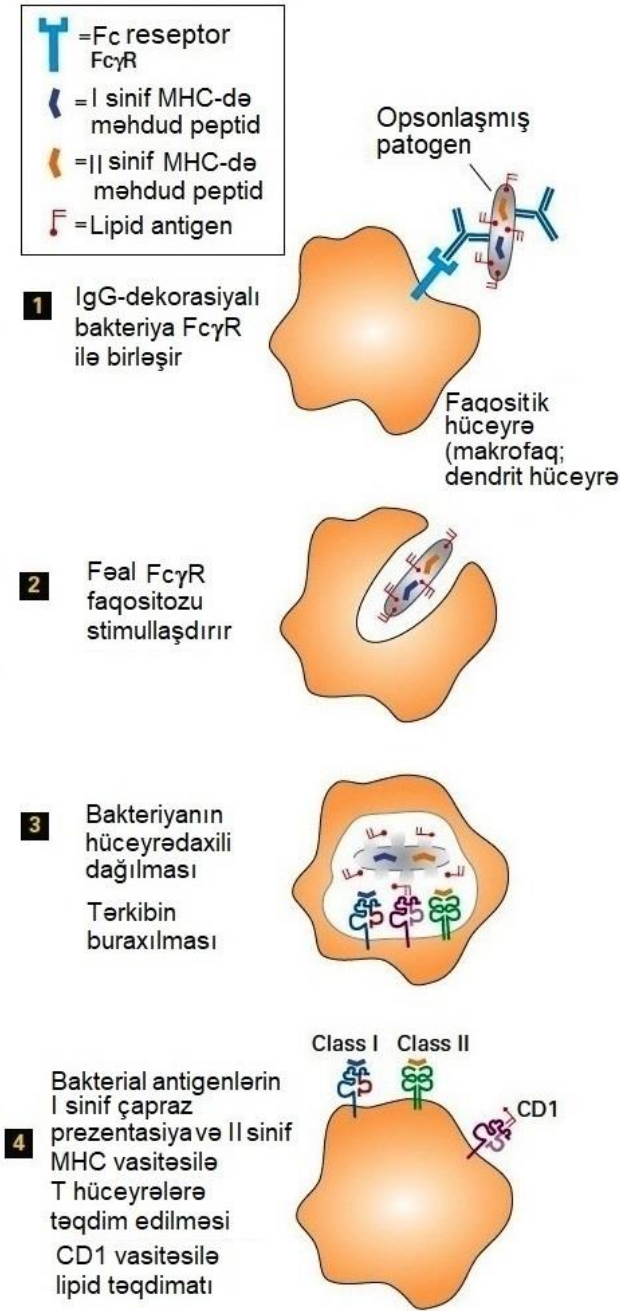
2 *Antigenlərin Dağıdılmaq Üçün Hədəf olunması.* Proteoliz intakt antigen zülalın II sınıf MHC molekullara birləşə bilən ölçüdə peptidlərə çevrilməsi üçün tələb olunur. Antigen zülalları zülalın endositoz yolu boyu irəliləyişi zamanı pH-ın kəskin düşməsi ilə baş verən zülal bükümünün progressiv açılması ilə parçalanmaq üçün hədəf olunurlar. Hüceyrəxarici

mühitin pH-ı 7.2 ətrafındadır, erkən endosomlarda bu pH 6.5 və 5.5 arasındadır, gecikən endosomlarda və loizosomlarda isə hətta pH 4.5-qədər düşə bilər. Bu turşulaşmanı endosom və lizosom membranlarında olan ATP ilə işləyən proton nasosu həyata keçirir (bax Fəsil 11-9). Neytral pH-da stabil olan zülallar aşağı pH-a məruz qoyulduqda hidrogen rabitələrinin qırılması və duz körpülərinin sabitliyinin pozulması yolu ilə zülal bükümünün açılmasına meyilli olurlar. Bundan başqa, endosomal və lizosomal kompartmentlərdə mühit reduksiyaedicidir, bu zaman lizosomlar reduksiyaedici ekvivalentin millimolyar qatılıq diapozonuna çatır. Çox hüceyrəxarici zülalların stabilliyini yaranan disulfid əlaqələrinin reduksiyası γ interferona məruz qalmaqla induksiya oluna bilən tioreduktaza vasitəsilə kataliz oluna bilər. Aşağı pH-ın və reduksiyaedici mühitin birlikdə fəaliyyəti antigenləri proteoliz üçün hazırlayır.

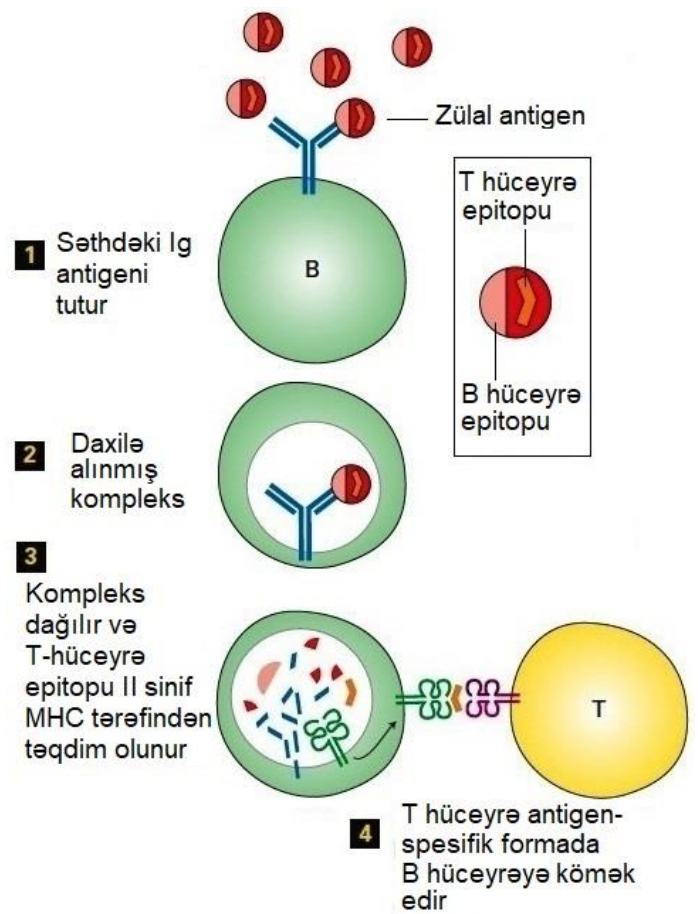
3 *Proteoliz:* II sınıf MHC yolunda zülalların parçalanması lizosomal proteazaların ümumilikdə katepsinlər adlanan böyük bir dəsti ilə aparılır, bunlar ya sistein ya da asparatil proteazalardır. Asparagin-spesifik endoproteazalar kimi başqa proteazalar proteolizə kömək edə bilərlər. Böyük diapozonda peptid fraqmentləri istehsal olunur və bunlardan bəziləri II sınıf MHC molekullarına birləşə bilər. Lizosomal proteazalar lizosomlar daxilində turş pH mühitdə optimal fəaliyyət göstərirlər. Nəticədə, turşuluğu qoruyub saxlayan V-sınıf proton nasoslarının fəaliyyətinə maneə törədən agentlər lizosomal proteazaların ingibitorları kimi antigen prosessinqinə (emalına) mane olurlar.

4 *Peptidlərin II Sınıf MHC Molekullarla Qarşılıqlılaşması:* Yada salmaq ki, endoplazmatik şəbəkədə sintez olunan II sınıf MHC molekullarının çoxu gecikən endosomlara yönəldilir. Proteoliz nəticəsində yaranmış peptidlər II sınıf MHC molekullarının özləri ilə eyni topoloji fəzada yerləşirlər, onlar I sınıf MHC molekulları ilə birləşən peptidlərdə (bax Şəkil 23-25) olduğu kimi, membranı kəsib keçməməlidirlər. Peptidlərin və II sınıf MHC molekullarının rastlaşmasına imkan vermək üçün $(\alpha\beta\text{Ii})_3$ kompleksi ifrazat yolu vasitəsilə endosomal kompartmentlərə daşınır.

5 *Peptidlərin II Sınıf Molekullara Birləşməsi:* Endosomal kompartmentlərə çatdırılan $(\alpha\beta\text{Ii})_3$ kompleksi peptidə birləşmə qabiliyyətinə malik deyil, çünki II sınıf molekulda peptid-birləşdirən yarıq invariant zəncirlə (Ii) tutulmuşdur. Eyni səbəbdən, yeni toplanmış $(\alpha\beta\text{Ii})_3$ komplekslər TAP vasitəsilə ER-ə çatdırılan I sınıf MHC-təyinətli zülallar üçün rəqabət etmir, onları peptid-birləşdirən mərkəzi artıq Ii ilə tutulmuşdur. Yada salmaq ki, ER həm I sınıf həm də II sınıf MHC molekullarının toplandığı yerdir. Yeni sintez olunan II sınıf MHC kompleksində Ii-nin mövcud olması II sınıf MHC molekullarının ER-də peptidlə birləşməməsini təmin edir. Endosomlarda və lizosomlarda daxilə mənimsənilmiş antigenlərə təsir edən və onları peptidlərə parçalayan eyni proteazalar həm də $(\alpha\beta\text{Ii})_3$ kompleksinə təsir edir, nəticədə, yalnız CLIP seqment adlanan kiçik bir hissə istisna olmaqla Ii molekulunun kompleksdən uzaqlaşdırılmasına səbəb olur. CLIP II sınıf MHC molekullarının peptid-birləşdirən yarığına möhkəm şəkildə yapışdığından, o proteolitik hücumu davamlı olur.



ŞƏKİL 23-27 Opsonlaşdırılmış antigenin faqositik hüceyrələr tərəfindən təqdim olunması. Makrofaqlar və Dendrit hüceyrələri kimi xüsusilaşmış faqositik hüceyrələr öz hüceyrə səthində nümayiş etdirdiyi Fc γ R kimi Fc reseptorlar vasitəsilə hüceyrə səthində anticislərlə dekorasiya olunmuş patogenlərə birləşə və onları uda bilirlər (opsonizasiya). Faqositoz olunmuş zərrəciklər (məsələn, immun kompleksləri, bakteriya, virus) dağıldıqdan sonra, patogenlərin fraqmentləri də (narıncı) daxil olmaqla yaranan peptidlərin bəziləri II sinif MHC molekullarına (yaşıl) yüklənir. Səthdə nümayiş etdirilən II sinif MHC-peptid kompleksləri bu MHC-peptid kombinasiyasına spesifik olan T hüceyrələrin fəallaşmasına imkan verir. Lipid antigenlər I sinif MHC-yə-bənzər molekul CD1-ə çatdırılır (çəhrayı), onun birləşmə saytı lipid yerləşdirilməsi üçün ixtisaslaşmışdır. Bəzi patogendən-törənən peptidlər (bənövşəyi) çarpaz-təqdimolunma yolu ilə I sinif MHC məhsullarına (mavi) çatdırıla bilər. Çarpaz-təqdimolunma yolunun əsasında duran mexanizm hələ tam aydın deyil.



ŞƏKİL 23-28 Antigenin B hüceyrələr vasitəsilə təqdim olunması. B hüceyrələr antigeni hətta onun ən aşağı qatılığında olsa da B-hüceyrə reseptorlarına və ya səth Ig-yə birləşdirir. Nəticədə əmələ gələn immun kompleksi daxilə mənimsəlinir, sonra o endosomal və ya lizosomal kompartimentlərə çatdırılır və burada dağıdılır. Antigen zülalının fraqmentləri də daxil olmaqla immun kompleksindən azad olmuş peptidlər II sinif MHC-peptid kompleksi şəkilində hüceyrə səthində nümayiş etdirilir. Nümayiş etdirilən kompleksə spesifik olan köməkçi T hüceyrələr indi B hüceyrələrə kömək edə bilər. Bu kömək MHC ilə məhdudlaşdırılır və antigen spesifikdir.

II sinif MHC molekulları özləri də endositoz yolunda üstünlük təşkil edən şəraitdə quruluş pozulmasına və proteolitik hücumlara dözümlüdürlər. CLIP seqmenti DM çaperonu vasitəsilə $\alpha\beta$ heterodimerdən uzaqlaşdırılır. II sinif MHC molekulunun yeni boşalmış peptid-birləşdirən yarığı artıq endositoz yolunda bol olan peptidləri birləşdirə bilər. Hərçənd ki, DM zülalı MHC-də kodlaşdırılır və quruluşuna görə II sinif molekullara çox oxşardır, amma özü heç zaman peptidlərə birləşmir. Lakin, yeni formalaşmış II sinif MHC-peptid komplekslərinin özləri DM tərəfindən "redaktə" olunmağa həssasdırlar, bu da II sinif molekulun DM ilə uzaqlaşdırıla bilməyəcək güclü şəkildə birləşmiş peptidi əldə etməsinə qədər, artıq birləşmiş vəziyyətdə olan peptidi sıxışdırıb çıxara bilər. Nəticədə yaranan II sinif MHC-peptid kompleksləri çox stabil olurlar, ehtimal olunan yarımparçalanma dövrü 24 saati keçir.

6 II Sinif MHC-Peptid Komplekslərinin Hüceyrə Səthində Nümayiş Etdirilməsi: Yeni yaradılmış II sinif MHC-

peptid kompleksləri əsasən çoxqovucuqlu endosomların (və ya cismlərin) daxil olduğu gecikən endosomal kompartmentdə yerləşirlər (bax Şəkil 14-33). Çoxqovucuqlu cismlərin daxili qovucuqlarının sərhədləşdirici (delimiting) membrana səfərbər olunması onların səth sahəsini genişləndirir: mikroborucuqlar boyu uzanan boruvari (tubulyar) membranların yaranması ilə bu kompartmentlər elonqasiya edir və sonda membran qovuşması ilə II sinif MHC-peptid komplekslərini səthə çatdırır. Bu hadisələr sıx şəkildə tənzimlənir: dendrit hüceyrələrdə və makrofaqlarda II sinif MHC molekullarının borulması (tubulyasiyası) və səthə çatdırılması onların yoluxmaya qarşı cavabı kimi yaranmış, professional APC-lərin səthində Toll-bənzər reseptorlarla aşkar olunan bakterial lipopolisaxaridlər kimi siqnallarla, eləcə də CD4-ekspressiya edən köməkçi T hüceyrələrin istehsal etdiyi γ interferon kimi iltihab sitokinləri ilə fəallaşmasının ardınca artır.

Yuxarıdakı pillə professional APC-lər üçün konstitutivdir—həmişə baş verir—amma onlar mikrob agentləri və sitokinlərə məruz qalmaqla modulyasiya oluna bilirlər. Burada I sinif və II sinif MHC məhsulları təsvir olunan yollardan başqa, lipid antigenlərinin təqdim olunmasına ixtisaslaşan I sinif MHC-yə-bənzər molekullar kateqoriyası, CD1 zülalları da mövcuddur. CD1 molekullarının quruluşu I sinif MHC molekullarının quruluşuna oxşardır: böyük subvahid β 2-mikroqlobulinlə kompleks əmələ gətirir. Çox bakteriyalar kimyəvi quruluşu onların məməli sahiblərində tapılmayan lipidləri istehsal edirlər. Bu lipidlər CD1 molekullarına təqdim olunanda antigen kimi fəaliyyət göstərə bilirlər, CD1 konseptual olaraq əksər MHC molekullarına oxşar olan lipid-birləşdirən cib vasitəsilə onlara birləşir. CD1-in böyük subvahidinin sitoplazmatik quyruğunda siqnallar bu molekulları endosomal və ya lizosomal kompartmentlərə hədəf edir, burada antigen lipidlərlə yüklənməyə baş verir. CD1-lipid kompleksləri T hüceyrələrin nisbətən az rast gəlinən siniflərinə, hər ikisi aşağıda təsvir olunan NKT adlanan hüceyrələrə və eləcə də $\gamma\delta$ T hüceyrələrə cəlb olunurlar. NKT hüceyrələr sitokinlərin istehsalında əhəmiyyətli rol oynayır və sitokin çıxışı ilə qazanılmış immun cavablarını təşkil edirlər.

23.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

MHC və Antigenin Təqdimatı

- Genetik rayon kimi aşkar edilən MHC, toxuma köçürülməsinin qəbul edilməsi və ya rədd edilməsi üçün cavabdehdir, immun cavabında iştirak edən çoxsaylı müxtəlif zülalları kodlaşdırır. Bu zülallardan ikisi, I sinif və II sinif MHC molekulları yüksək dərəcədə polimorfduurlar, çox allel variasiyalarda rast gəlinirlər (bax Şəkil 23-21).
- I sinif və II sinif MHC zülallarının funksiyası peptid antigenlərə birləşmək və onları hüceyrə səthində elə nümayiş etdirməkdir ki, antigen-MHC zülal kompleksi T hüceyrələrdəki antigen-spesifik T-hüceyrə reseptorları ilə əlaqəyə girsin. Antigen-təqdim edən hüceyrədəki antigen-MHC zülal kompleksi T hüceyrədə onun komplementar olduğu T-hüceyrə reseptoruna birləşəndə T hüceyrə fəallaşaraq, sitokinləri istehsal edən və ya virusla-yoluxmuş hüceyrələri öldürə bilən effektor funksiyasını yerinə yetirir. I

sinif MHC molekulları əksər nüvəli hüceyrələrdə tapıldığı halda II sinif MHC molekullarının ekspressiyası əsasən dendrit hüceyrələr, makrofaqlar və B hüceyrələr kimi professional APC-lərlə məhdudlaşır.

- I sinif və II sinif MHC molekullarının quruluşu və təşkili oxşardır və geniş müxtəliflikdə peptidlərin birləşməsi üçün ixtisaslaşmış peptid-birləşdirən yarığı əhatə edir (bax Şəkil 23-23).
- MHC molekullarının fərqli allel variantları müxtəlif peptidlər dəstinə birləşir, çünki bir allel formanı digərindən fərqləndirən fərqlər peptid birləşən yarığın arxitekturasını müəyyən edən qalıqlara malikdirlər (bax Şəkil 23-24). Allel variasiyaya MHC molekulundakı müvafiq T-hüceyrə reseptoru ilə birbaşa əlaqə yaradan qalıqlar da daxildir. MHC molekulundakı belə müxtəlif allel variantlar, onlar hətta identik peptidə birləşdikdə belə, eyni T-hüceyrə reseptoruna reaksiya vermirlər. Bu hadisəyə MHC məhdudiyəti deyilir.
- I sinif və II sinif MHC molekulları müxtəlif hüceyrədəxili kompartmentlərdə peptidlərə birləşirlər: I sinif molekullar böyük üstünlüklə sitoplazmatik materiallara birləşirlər, halbuki II sinif molekullar faqositoz, pinositoz və ya reseptorla-vasitələnən endositozla daxilə mənimsənilmiş hüceyrəxarici materiallara birləşirlər.
- Zülal antigenlərin mənimsənilməsi proses, peptidlərin emal olunması və səthdə nümayiş etdirilən MHC-peptid komplekslərinə çevrilməsi antigen prosessinqi və təqdimatı adlandırılır. Bu proses müvafiq MHC molekullarını ekspressiya edən hüceyrələrdə fasiləsiz şəkildə fəaliyyət göstərir, amma immun cavabı zamanı modulyasiya oluna bilər.
- Antigen prosessinqi və təqdimatı altı diskret pilləyə ayrılır: (1) antigenin əldə olunması; (2) antigenin dağıdılmaq üçün hədəf olunması; (3) proteoliz; (4) peptidlərin MHC molekulları ilə qarşılaşması; (5) peptidlərin MHC molekulları ilə birləşməsi; (6) peptid-yüklənmiş MHC molekullarının hüceyrə səthində nümayiş etdirilməsi (bax Şəkil 23-27).

23.5 T Hüceyrələr, T-Hüceyrə Reseptorları və T-hüceyrə İnkişafı

T limfositlər MHC molekulları ilə spesifik qarşılıqlı əlaqə yaratmaqla antigeni tanıyırlar. Bu vəzifənin həvalə olunduğu müxtəlif, antigen-spesifik T-hüceyrə reseptorları quruluşuna və biosintezinə görə immunoglobulinlərin F(ab) hissəsi ilə əlaqəlidirlər. Antigen spesifik T-hüceyrə reseptorlarının böyük bir repertuarını yaratmaq üçün, T hüceyrələr antigen-spesifik T-hüceyrə reseptor subvahidlərini kodlaşdıran genləri, mahiyyətə B hüceyrələrdə immunoglobulin genlərinin yenidən qurulması üçün istifadə olunanlarla identik olan somatik rekombinasiya mexanizmi ilə yenidən qurur. T hüceyrələrin inkişafı isə, B hüceyrələrdə olduğu kimi, funksional T-hüceyrə reseptorunu yaratmaq üçün somatik gen yenidənqurulmasının uğurla tamamlanmasından güclü şəkildə asılıdır. Bu bölmədə, biz antigen-spesifik tanınmanı həyata keçirən reseptor subvahidlərini, onların siqnal ötürülməsi üçün vacib olan

membran qlükozulalları ilə necə cütləşdiyini və bu komplekslərin MHC-peptid kombinasiyalarını necə tanıdığına təsvir edirik.

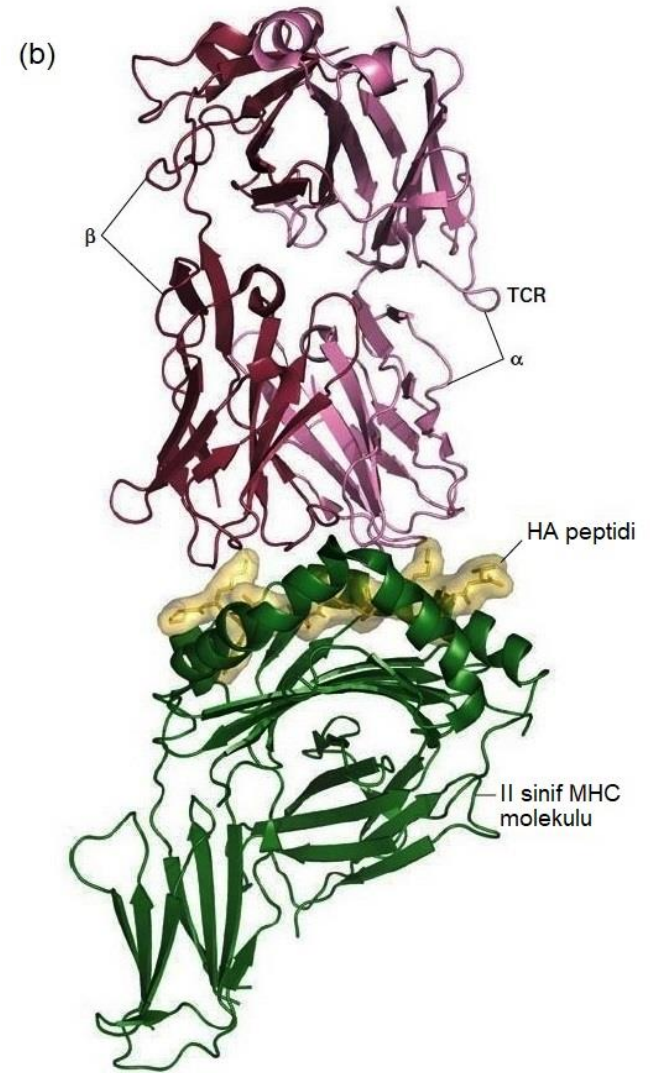
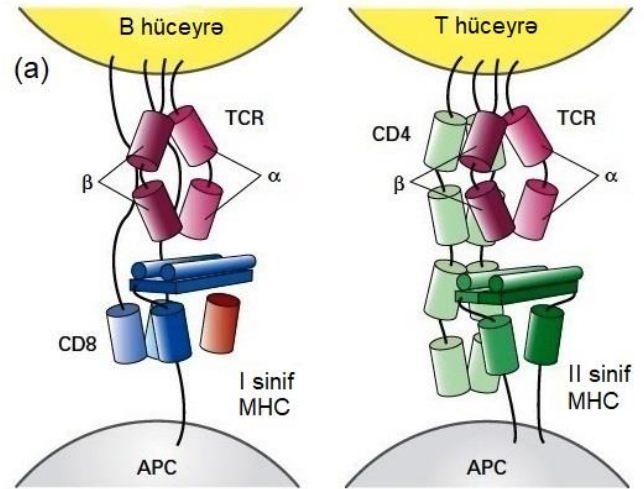
Əvvəlki bölmələrdə göstərildiyi kimi, fərdin T hüceyrələri peptid antigenlərini onlar yalnız bu fərddə mövcud olan polimorf MHC molekulları ilə birləşmiş vəziyyətdə olduqda tanıyır. T-hüceyrələrin inkişafının gedişi zamanı, T hüceyrələr bu “özünün” MHC molekullarının kimliyini tanımağı “öyrənməlidir” və hansı MHC-peptid kombinasiyasının nəzərə alınmaması barədə təlimatı almalıdırlar, bu yolla o yeni yaranmış T hüceyrələrin fərdin öz toxuması ilə potensial təhlükəli (katastrofik) reaksiyalarından (autoimmunitet) yan keçməlidir.

T-Hüceyrə Reseptorunun Quruluşu İmmunoqlobulindəki F(ab) Zülalına Bənzəyir

B hüceyrələrin çoxu antigeni tanımaq və klonal artmaya aparın hüceyrədaxili siqnalları yaratmaq üçün öz səthlərində B-hüceyrə reseptorlarından istifadə etdikləri kimi, T hüceyrələr də özlərinin immun cavabındakı iştirakını inisiasiya etmək üçün öz **T-hüceyrə reseptorundan (TCR)** asılıdır. Bu antigen-spesifik reseptorlarla fəallaşan T hüceyrələr proliferasiya edir və antigen-daşıyan hədəf hüceyrələri öldürmək qabiliyyətini alır (sitotoksik T hüceyrələr olan halda) və ya B hüceyrələrə onların differensiasiyasında kömək edən sitokinləri ifraz edir (köməkçi T hüceyrələr olan halda). TCR MHC-molekullara birləşmiş peptidləri tanıyır.

TCR iki qlükozulal subvahidindən ibarətdir (Şəkil 23-29), bunların hər biri somatik yenidənqurulmuş genlər tərəfindən kodlaşdırılır. Reseptor ya α və β subvahidlərindən, ya da γ və δ subvahidlərdən təşkil olunmuşdur. Bu subvahidlərin quruluşu immunoqlobulinlərdə F(ab) zülalların quruluşuna oxşardır: N-sonluq ucunda dəyişkən rayon yerləşir, onun ardınca sabit rayon və transmembran seqment gəlir. TCR subvahidlərin sitoplazmatik quyruqları qısadır və sitoplazmatik siqnal ötürən molekullarla birbaşa əlaqədə olmurlar. Əvəzində, TCR γ , δ , ϵ və ζ zəncirlərdən təşkil olunmuş membran qlükozulallar dəsti olan CD3 kompleksi ilə assosiasiya edir. (TCR-in γ və δ subvahidləri CD3 kompleksin eyni adlı subvahidləri ilə qarışdırılmamalıdır.)

ŞƏKİL 23-29 T-hüceyrə reseptorunun və onun ko-reseptorlarının quruluşu. (a) Antigen-spesifik T-hüceyrə reseptoru (TCR) iki zəncirdən – V-J və V-D-J rekombinasiyalarının müvafiq istehsalı olan α və β subvahidlərindən təşkil olunmuşdur. α və β subvahidləri siqnalın ötürülməsi üçün CD3 kompleksi ilə assosiasiya etməlidir (bax Şəkil 23-31). Bütün TCR $\alpha\beta$ -CD3 kompleksinin əmələ gəlməsi səth ekspressiyası üçün tələb olunur. T-hüceyrə reseptoru daha sonra antigen-təqdim edən hüceyrələrdə ko-reseptorla, müvafiq olaraq I sinif MHC və II sinif MHC molekullarının konservativ xüsusiyyətləri ilə qarşılıqlı əlaqəyə imkan yaradan CD8 (açıq mavi) və ya CD4 (açıq yaşıl) ilə assosiasiya edir. (b) II sinif MHC-peptid kompleksinə birləşmiş T-hüceyrə reseptorunun rentgen-kristalloqrafiya ilə təyin edilmiş quruluşu. [(b) hissəsi verilənləri J. Hennecke, 2000, *EMBO J.* 19:5611, PDB ID 1 fyt-dən.]

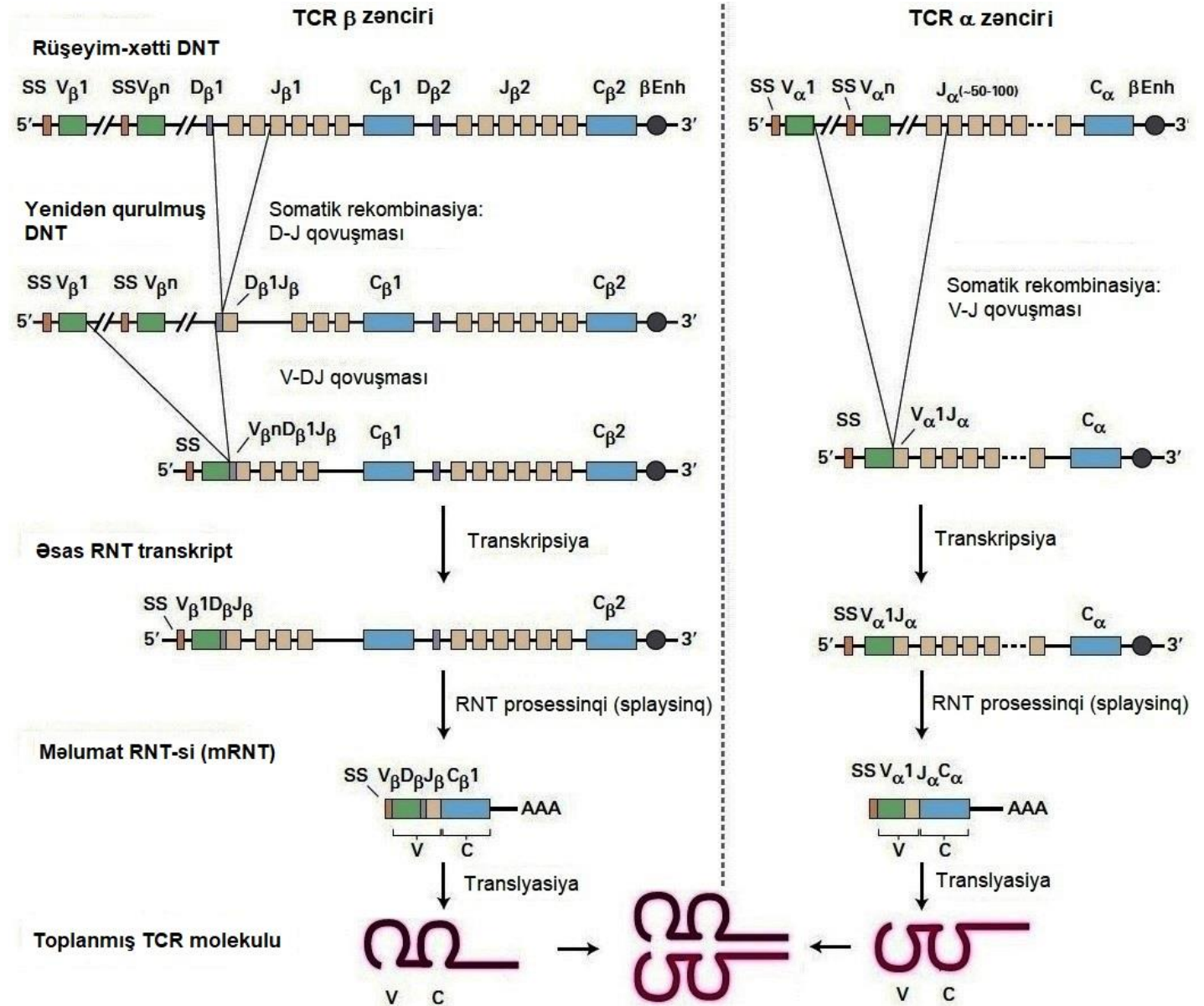


ϵ zəncir γ və ya δ zəncirlərlə qeyri kovalent dimer əmələ gətirərək $\delta\epsilon$ və $\gamma\epsilon$ komplekslərini əmələ gətirir. CD3 subvahidlərinin hüceyrəxarici domenləri immunoqlobulin domenlərinə homolojidir və hər birinin sitoplazmatik domenində tirozin qalıqlarının fosforlaşması zamanı adaptor

zülallarının səfərbər oluna biləcəyi ITAM-1 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif - immunoreseptor tirozin-əsaslı fəallaşdırma motifi) vardır. ζ zəncir disulfid-əlaqəli homodimer kimi CD3-TCR kompleksi daxilinə inteqrasiya edir və hər bir ζ zəncir üç ITAM-a malikdir.

TCR Genlər İmmunoglobulin Genləri ilə Eyni Qaydada Yenidən Qurulur

Praktiki olaraq, somatik rekombinasiya nəticəsində əmələ gələn bütün antigen spesifik reseptorlar V-D-J rekombinasiyasının məhsulu olan subvahidə (məsələn, Ig ağır zəncir, TCR α zəncir) malikdir. TCR üçün V-D-J və V-J rekombinasiyanın mexanizmi immunoqlobulin genlər üçün təsvir olunanlarla eyni dərəcədə identikdir və qeyri homoloji son-birləşmə mexanizminin bütün komponent zülallarını — RAG1, RAG2, Ku70, DNT-dən asılı olan proteinkinazanın katalitik subvahidi, XRCC4, DNT liqaza IV və Artemis — tələb edir. Rekombinasiya siqnal ardıcılıqları (RSS) tələb olunur və rekombinasiya 12/23-əc speyser qaydasına riayət edir (Şəkil 23-30).



ŞƏKİL 23-30 TCR lokusunun təşkili və rekombinasiyası. TCR lokusunun təşkili prinsipinə immunoqlobulin lokusunun təşkilinə oxşardır (bax Şəkil 23-15). *Solda:* TCR β-zənciri lokusuna V seqmentlərin klasteri, D seqmentlərin klasteri və bir sıra J seqmentlərin klasteri və bunlardan aşağıya istiqamətdə gələn iki sabit rayon daxildir. Rekombinasiya siqnalının təşkili elədir ki, yalnız D-J qoşulmasına

deyil, həmçinin V-D-J qoşulmasına imkan verilir. TCRβ lokusunda birbaşa V-J qoşulması müşahidə olunmamışdır. *Sağda:* TCR α-zənciri lokusu V seqmentlərin və böyük sayda J seqmentlərin klasterlərindən təşkil olunmuşdur. SS = eqzon kodlaşdıran siqnal ardıcılığı; Enh = enhanser.

Bir sıra diqqətəlayiq xüsusiyyətlər TCR lokusun təşkilini və yenidənqurulmasını xarakterizə edir. Birincisi, RSS-in təşkili Ig olan haldan fərqli olaraq, D-dən-D-yə yenidənqurulmaya imkan verilən haldadır. İkincisi, terminal dezoksinukleotidiltransferaza (TdT) TCR genlərin yenidənqurulması zamanı fəaldır, ona görə də bütün yenidən qurulmuş TCR genlərdə N nukleotidlər mövcud ola bilər. Üçüncüsü, insanlarda və siçanda, TCR δ lokusu TCR α lokusu daxilində batmışdır (yükənmişdir). TCR yenidənqurulma baş verərkən bu yenidənqurulma aralığında yerləşdirilmiş δ lokusun tam itirilməsi ilə nəticələnir, beləliklə, yenidənqurulma üçün TCR α lokusun seçilməsi silinmə (delesiya) ilə itirilən δ lokusun istifadə edilməsinin qarşısını alır. $\alpha\beta$ reseptoru ekspressiya edən T hüceyrələr və $\gamma\delta$ reseptoru ekspressiya edən hüceyrələr fərqli funksiyalara malik olan hüceyrə xətləri hesab edilir. $\gamma\delta$ reseptorlarını ekspressiya edən T hüceyrələr arasında bəziləri lipid antigenlərin təqdim olunmasında ixtisaslaşmış CD1 molekulunun yenidənqurulma qabiliyyətinə malik olur. $\gamma\delta$ hüceyrələr fərqli anatomik saytlarda (məsələn, cinsiyyət yolunu örtən epitelidə, dəridə) məskunlaşmaq üçün proqramlaşdırılmışdır və bu saytlarda çox tapılmış patogenlərə qarşı sahibin müdafiə rolunu oynayır.

Rekombinasiya aparatının RAG rekombinaza kimi əsas komponentinin çatışmaması TCR genin yenidən qurulmasının qarşısını alır. Bizim B hüceyrələrdə gördüyümüz kimi, limfositlərin inkişafı antigen-reseptor genlərin yenidənqurulmasından kəskin şəkildə asılıdır. RAG1 və ya RAG2-dən istənilən birinin çatışmaması B-hüceyrə və T-hüceyrə inkişafına mane olur. Homoziqot RAG geni nokaut olan siçan çox hallarda B və T hüceyrələrin fizioloji və patofizioloji proseslərdə rolunu qiymətləndirmək üçün istifadə edilir

TCR-lərin Dəyişkən Qalıqlarının Çoxu V, D və J Gen Seqmentlərinin Qovşaqlarında Kodlaşdırılır

TCR genlərin somatik rekombinasiyası ilə yaranan müxtəlifliyin 10^{10} unikal reseptordan çox olduğu təxmin edilir. Müxtəlif V, D və J gen seqmentlərinin kombinator istifadəsi, artıq immunoglobulin gen yenidənqurulmasında müzakirə olunan qovşaq qeyri dəqiqliyi və N-nukleotid əlavə edilməsi mexanizmlərində olduğu kimi, bu müxtəlifliyə böyük töhfə verir. Xalis (son) nəticə V rayonlarında dəyişkənlik dərəcəsidir, bu da immunoqlobulinlərdəkinə uyğun gəlir (bax Şəkil 23-13). Həqiqətən də, TCR dəyişkən rayonların hər birinə BCR-dəkilərə ekvivalent olan üç hiperdəyişkən rayon (CDR-lər) daxildir. Amma, immunoqlobulin genlərindən fərqli olaraq, TCR genləri somatik hipermutasiyaya məruz qalmırlar. Ona görə də, immun cavabının gedişi zamanı TCR-lər anticislərin affini yetişməsinə ekvivalent heç bir şey nümayiş etdirmirlər, nə də reseptorların həll olunan və membrana birləşmiş versiyasını yaratmaq üçün sinif keçid rekombinasiyası və ya alternativ poliadenilləşmə sahələrinin istifadəsi mövcud deyil.

I sinif MHC-peptid və ya II sinif MHC-peptid kompleksləri ilə birləşmiş TCR-lərin çoxsaylı kristal quruluşu təyin edilmişdir. Bu quruluşlar TCR-in MHC-peptid kompleksinə ilə necə uc-uca birləşməsində variasiyanın olduğunu göstərir, amma somatik cəhətdən fərqli CDR3 rayonunda ən geniş əlaqələr kompleksin mərkəzindəki peptidə-malik olan hissə ilə, MHC molekulalarının α spirali ilə əlaqə quran, rüseyim xətti ilə

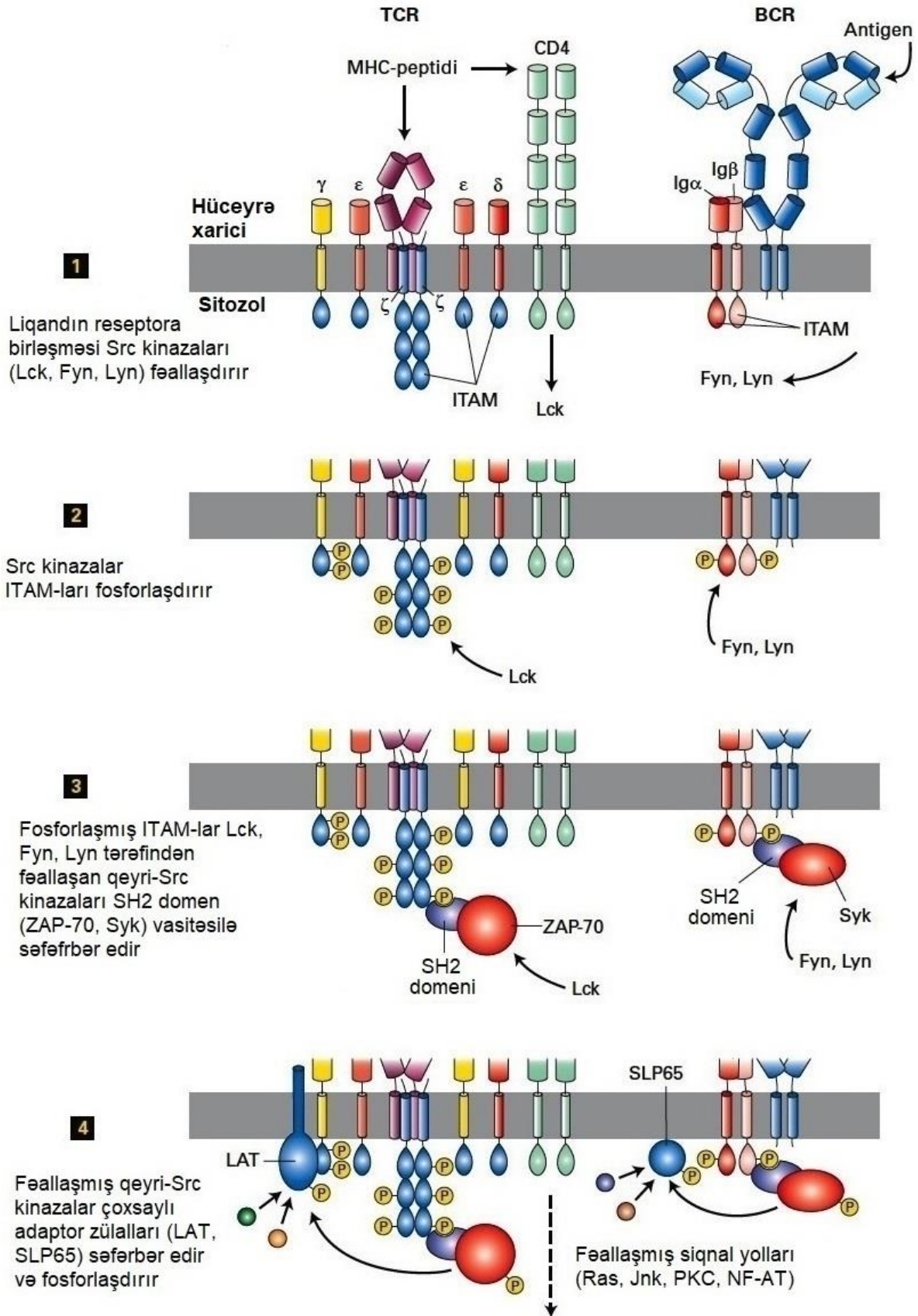
kodlaşdırılmış CDR1 və CDR2 ilə edilir. Quruluşu təyin edilmiş TCR-lərin çoxu MHC-peptid kompleksinin peptid-birləşdirən hissəsi boyunca diaqnal üzrə birləşirlər. Nəticədə, TCR peptidlə və eləcə də onun birləşdiyi MHC molekulunun α spirali ilə geniş əlaqə yaradır. Allel MHC molekulalarının birinin digərindən fərqləndiyi mövqelər çox zaman TCR ilə birbaşa əlaqədə olan qalıqlardır, beləliklə, yaxın (əlaqəsi) olmayan allel MHC məhsullarının sıx bağlanması qarşısını alır.

Bir MHC allelini digərindən fərqləndirən amin turşusu fərqləri də peptid birləşdirən yarıqın arxitekturasına təsir edir. Hətta, TCR ilə birbaşa qarşılıqlı əlaqədə olan MHC qalıqları iki MHC allel molekulaları tərəfindən bölüşürsə, onların peptid-birləşdirən spesifikliyi peptid-birləşdirən yarıqdakı amin turşusu qalıqlarının fərqlərinə görə fərqlənməlidir. Nəticədə, TCR ilə stabil əlaqə üçün vacib olan birləşmiş peptidlər tərəfindən təmin edilən TCR kontakt qalıqları "səvh" MHC-peptid kombinasiyasında olmayacaqdır. TCR ilə məhsuldar qarşılıqlı fəaliyyətin bundan sonra baş verməsi ehtimalı azdır.

Antigen-Spesifik Reseptorlar Vasitəsilə Sıqnal Verilməsi T və B Hüceyrələrin Proliferasiyasını və Differensiasiyasını İşə Salır

B və T hüceyrələr vasitəsilə həyata keçirilən immun cavabları onların antigen-spesifik hüceyrə-səth reseptorlarının (TCR-lər və BCR-lər) müvafiq liqandlarına birləşməsi ilə fəallaşmasından sonra inisiasiya olunur. TCR-lər üçün liqandlar APC-lərin səthində ekspressiya olunan MHC-peptid kompleksləridir. BCR-lər üçün liqand MHC-nin müdaxiləsinə ehtiyacı olmadan və reseptorlara birləşən və təqdim edən hüceyrə ilə assosiasiya etməyən antigenlərdir. TCR və BCR-lərin öz antigenləri ilə fəallaşması, bizim artıq öyrəndiyimiz sıqnal ötürülməsi kaskadının fəallaşdığı sıqnal reseptorlarının (G zülallarla cütləşən reseptorlar, tirozinkinaza reseptorları; bax Fəsil 15 və 16) fəallaşmasına oxşardır. Bir sıra inteqral membran zülalları və eləcə də həllolan sitozol zülalları TCR və BCR sıqnal ötürülməsində iştirak edirlər. Bəzi hallarda, bu membran-assosiasiyalı zülallara reseptorların aksilyar (yan) subvahidləri kimi baxmaq olar. Bu aksilyar zülalların sıqnal ötürülməsində necə iştirak etmələri üzrə nümunələr Şəkil 23-31-də göstərilir. Antigen-spesifik reseptorların sitozol hissəsi özlüyündə çox qısa və ya, plazma membranının sitozol vərəqəsindən çoxda qabarıb çıxır və aşağıya doğru sıqnal molekulalarını səfərbər etmək qabiliyyətində deyildir. Əvəzində, əvvəllər müzakirə edilmiş kimi, antigen-spesifik reseptorlar ITAM-lara malik olan aksilyar subvahidlərlə assosiasiya edirlər. Antigen-spesifik reseptorların liqandla bağlanması reseptor yaxınlığında bir sıra hadisələri: kinaza fəallaşması, ITAM-ların modifikasiyası və digər aşağıya istiqamətdə sıqnal molekulalarının cəlb olunması üçün skafolt rolunu oynayan adaptor zülallarının sonrakı cəlb olunmalarını inisiasiya edir.

Şəkil 23-31-də təsvir edilən antigen-spesifik reseptorların liqandla birləşməsi tirozinkinazaların Src ailəsini (məsələn, köməkçi T hüceyrələrdə Lck, B hüceyrələrdə isə Lyn və Fyn) fəallaşdırır. Bu kinazalar antigen-spesifik reseptorların çox yaxınlığında və ya onlarla fiziki assosiasiyada tapılmışdır. Fəal kinazalar antigen-spesifik reseptorların aksilyar subvahidlərində ITAM-ları fosforlaşdırırlar. ITAM-lar özlərinin fosforlaşmış formasında qeyri-Src-ailesi tirozinkinazaları (T -



ŞƏKİL 23-31 T-hüceyrə reseptorundan (TCR) və B-hüceyrə reseptorundan (BCR) siqnal ötürülməsi. T hüceyrələrin (*solda*) və B hüceyrələrin (*sağda*) antigen-spesifik reseptorların ötürdüüyü siqnal yolları konseptual olaraq oxşardırlar. Bu şəkildə ilkin mərhələlər

göstərilmişdir, aşağıya istiqamətdə siqnal hadisələri gen ekspressiyasında antigenlə-stimullaşan limfositlərin proliferasiyası və differensiasiyası ilə nəticələnən dəyişikliyə aparır. Müzakirələr üçün tekstə bax.

hüceyrələrdə ZAP-70, (B hüceyrələrdə Syk) və eləcə də başqa adaptor zülallarını cəlb edərək fəallaşdırırlar. Bu cəlb olunma və fəallaşma fosfoinozotid-spesifik fosfolipaza $C\gamma$ -nı və PI-3 kinazanı əhatə edir. Buna parallel olan, müvafiq aşağıya istiqamətdə siqnal ötürülməsi hadisələri Fəsil 16-da torozinkinaza reseptorunun siqnal yolunda təsvir edilmişdir. B və T hüceyrələrində antigen-spesifik reseptor yəqin ki, liqand tanıyan vahidləri və kinaza domenlərini ayrıca molekullarla daşıyan “modulyar” reseptor tirozinkinazalar kimi çox yaxşı xarakterizə olunmuşdur. Sonda, antigen-spesifik reseptorlarla siqnal ötürülməsi fəallaşmış limfositin müqəddaratını – proliferasiyasını və differensiasiyasını – təyin edən transkripsiya proqramını inisiyasiya edir.

T hüceyrələr klonal artma üçün sitokin interleykin 2-dən (IL-2) son dərəcə asılıdır. T hüceyrəsinin antigenlə stimullaşdırılmasından sonra ilk işə salınan genlərdən biri IL-2 olur. T hüceyrə özünün ilk IL-2 yaranmasına cavab verir və daha çox IL-2 yaratmaqda davam edir, bu autokrin stimullaşmanın və müsbət geriə əlaqənin bir nümunəsidir. IL-2-nin sintezinin induksiya olunması üçün tələb olunan əhəmiyyətli transkripsiya faktoru NF-AT (fəallaşmış T hüceyrələrin nüvə faktoru) zülalıdır. Bu zülal fosforlanmış formada sitoplazmada ayrılır və defosforlaşmadan nüvəyə daxil ola bilmir. Buna cavab verən fosfataza, Ca^{2+} ilə fəallaşan ferment kalsineurindir. Kalsineurinin fəallaşmasına səbəb olan sitozol Ca^{2+} ilkin artması PI(4,5) P_2 hidrolizi və bununla müşayiət olunan IP_3 yaranması ilə ER-də olan Ca^{2+} ehtiyatının mobilizasiyasının nəticəsidir (bax Şəkil 15-34, pillə 2-4).



İmmunosupressant dərman tsiklosporin kalsineurinə birləşib onu ingibirləşdirən tsiklosporin-tsiklofillin kompleksinin yaranması ilə kalsineurinin fəallığını ingibirləşdirir. Əgər NF-AT-nin defosforlaşması supressiya olunursa, NF-AT nüvəyə daxil ola və IL-2 gennin transkripsiyasını induksiya edə bilmir. Bu antigen-stimulyaşdırılmış T hüceyrələrin klonal genişlənməsinə (artmasına) maneə törədir və beləliklə immunosupressiyaya səbəb olur, bu yaxın olmayan donorlar və resipientlərin (genetik baxımdan fərqli olan və buna görə də fərqli MHC məhsullarını ekspressiya edən şəxslər) daxil olduğu orqan transplantasiyasının uğurlu olmasına töhfə verən ən vacib müdaxilədir və allergenik toxuma transplantasiyası hesab edilir. Hərçənd ki, transplantasiyanın uğurlu olması istifadə olunan orqandan asılı olarad dəyişilir, tsiklosporin kimi güclü immunosupressantların mövcud olması kliniki transplantasiyaların imkanlarını hədsiz dərəcədə genişləndirmişdir. ■

MHC Molekullarını Tanıya Bilən T Hüceyrələri Müsbət və Mənfi Seçmə Prosesi ilə İnkişaf Edirlər

Funksional T hüceyrə reseptorlarını kodlaşdırmaq üçün yığılmış gen seqmentlərinin yenidən təşkili sonda reseptorların qarşılıqlı təsir göstərməli olduğu MHC molekulları barədə əvvəlcədən heç bir məlumatı olmadan T hüceyrəsinin bir hissəsində tamamlanan təsadüfi (stoxiatik) hadisədir. B hüceyrələrdə Ig ağır-zəncir lokusunun somatik rekombinasiyasında olduğu kimi, TCR β zəncirində yenidən qurulmalı olan ilk gen seqmentləri D və J

elementləridir, V seqmenti isə yeni rekombinasiya olunmuş DJ-yə qoşulur (bax Şəkil 23-30). T-hüceyrə inkişafının bu mərhələsində məhsuldar yenidənqurulma pre-T α subvahidlə assosiasiya edərək pre-TCR-ə daxil olan TCR β zəncirinin sintezinə imkan verir. Bu pre-TCR B-hüceyrə inkişafında pre-BCR-in funksiyasına ciddi şəkildə analoji olan funksiyanı yerinə yetirir: T hüceyrələrə bildirir ki, o məhsuldar yenidənqurulmanı uğurla tamamlamışdır, homoloji xromosomdakı genlərdə sonrakı düzəlişlərə ehtiyac yoxdur. Pre-TCR uğurla yenidənqurmaya məruz qalan pre-T hüceyrələrinin klonal artmasına imkan verir və bir qayda olaraq müəyyən bir T hüceyrə və onun nəsiləri üçün vahid funksional TCR β subvahidinin yaranmasını təmin etmək üçün, allel istisnalarının edilməsini tələb edir. RAG ekspressiyası pre-T hüceyrələrin artma mərhələsi tamamlanana qədər azalır, bundan sonra o, TCR α lokusunun yenidən qurulmasına imkan vermək üçün yenidən işə salınır, nəticədə tam yığılmış TCR-ə malik olan T hüceyrələrin yaranmasına səbəb olur. Şəkil 23-32 T və B hüceyrələrin inkişafında analoji pillələri təsvir edir.

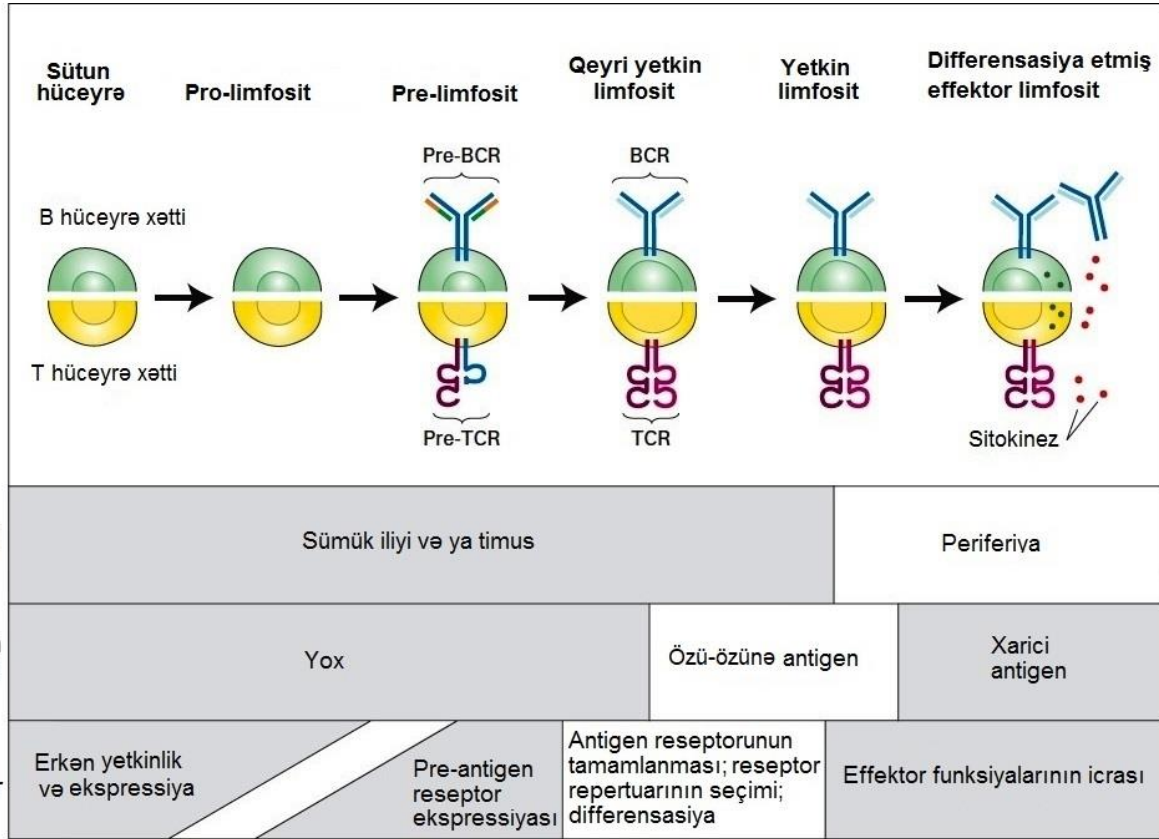
Geniş müxtəliflikdə pre-TCR-ləri olan T hüceyrələrin yeni yaranan repertuarı özünün-MHC-peptid kompleksləri ilə məhsuldar qarşılıqlı əlaqənin əmələ gəlməsi üçün necə differensiasiya edir? Gen yenidənqurulması prosesinin təsadüfi (nizamsız) təbiəti və bunun nəticəsində yaranan həddən artıq böyük müxtəliflik TCR-lərin çox böyük və müxtəlif dəstlərini yaradır və bunların böyük əksəriyyəti sahib MHC məhsulları ilə məhsuldar əlaqəyə girə bilmir, ona görə də yararsız olurlar. İmmun sistemi MHC-peptid kompleksi ilə məhsuldar əlaqə yarada bilməyən TCR-ləri istehsal edən T hüceyrələrini aradan çıxarmaq üçün seçmə prosesini yaradib inkişaf etdirmişdir. Seçmə timusda özünün-MHC-özünün-peptidi kompleksləri ilə güclü əlaqəyə girən TCR-i olan T hüceyrələri də aradan çıxarır, çünki belə T hüceyrələr normal sağlam toxumaları da dağıda bilən potensial özünə-reaktivliyə malik olurlar (autoimmunitet). Timusda affiniyi bu iki hədd arasında olan peptid-MHC komplekslərini tanıyan TCR-ləri olan T hüceyrələr sağ qalmaq siqnalı alırlar və müsbət seçimli olurlar. Xatırladaq ki, antigen processingi və təqdimatı konstitutiv prosesdir, belə ki, timusda bütün özünün-MHC molekulları özünün-zülallarından alınmış peptidlərlə mütləq tutulur. I sinif və II sinif MHC molekulları ilə kompleks əmələ gətirən özünün-peptidlərinin bu kombinasiyaları “özünün” kim olmasını və nəyin nəzərə alınmamasını təyin etmək üçün yeni yaranmış T-hüceyrə reseptorları dəsti tərəfindən istifadə edilən substratı təşkil edirlər

Seçim mərhələsində olan T hüceyrələrinə təqdim olunan peptid-MHC komplekslərinin heterogenliyi siqnalın T hüceyrə reseptoru tərəfindən yalnız keyfiyyət (qüvvə, müddət) baxımından deyil, həm də additiv şəkildə interpretasiyası ehtimalını artırır: fərqli MHC-özünün-peptidi kombinasiyalarının birləşmə enerjisinin cəmlənməsi seçiminin nəticələrini təyin etməyə kömək edir. Bu fenomen *T hüceyrə seçiminin avidlik modeli* adlanır.

T hüceyrələr apoptozla öldürülür, yalnız, əgər özünün müvafiq antigeni MHC-peptid kompleksi formasında timusda kifayət qədər təmsil olunursa. İmmun sistemi timusda yaranan T hüceyrələrinin normal halda bu yerdə ekspressiya olunmayan öz antigenlərini nəzərə almamağı öyrənməsini necə təmin edir? Mədəaltı vəzin β hüceyrələrindəki insulinin və ya sinir

sistemindəki myelin təbəqənin komponentləri kimi toxuma-spesifik formada və ya timusun inkişafından sonra ekspressiya olunan zülallar açıq şəkildə bu kateqoriyaya uyğun gəlir. Amma, AIRE (autoimmun tənzimləyicisi) adlanan faktor timusda epiteli hüceyrələrinin bir qrupunda belə toxuma-spesifik antigenlərin ekspressiyasına imkan verir. AIRE-nin bunu necə etməsi tam aydın deyil, amma timusda və ikinci dərəcəli limfoid orqanların seçilmiş saytlarında müvafiq genlərin transkripsiyasının birbaşa

tənzimləməsi çoxlarını şübhələndirir. AIRE-də qüsurlu olduqda timusda belə toxuma-spesifik antigen ekspressiyası baş vermir. AIRE-ni ekspressiya edə bilməyən fərdlərdə T hüceyrələr timusda potensial özünə-reaktiv T hüceyrələrin məhv edilməsinə aparan göstərişlərin tam dəstini ala bilmir. Nəticədə, bu şəxslər geniş yayılmış toxuma zədələnməsinə və xəstəliklərə səbəb olan təccübləndirici dərəcədə geniş sırada autoimmun reaksiyalarını göstərir.



ŞƏKİL 23-32 T-hüceyrə və B-hüceyrə inkişafının müqayisəsi. Hüceyrə təyinin qərarları ya yenidən qurulmuş μ zəncirdən (pre-BCR) ya da yenidən qurulmuş β zəncirdən (pre-TCR) ibarət olan reseptorlar tərəfindən yerinə yetirilir. Pre-BCR və pre-TCR oxşar funksiyaları yerinə yetirirlər: yenidənqurmada və allel istisnasından uğurla çıxan hüceyrələrin klonal artması signalını verirlər. Limfosit inkişafının bu fazası antigen tanınmasını tələb etmir. Həm pre-BCR həm də pre-TCR-a, hər bir reseptor tipi üçün unikal olan subvahidlər daxil olur, yetkin limfositlərdə tapılmış antigen-spesifik reseptorlarda

isə olmur: pre-BCR üçün V_{preB} və $\lambda 5$ (narıncı, yaşıl); pre-TCR üçün isə pre-T α (mavi). Genişlənmə (ekspansiya) fazası başa çatdıqda antigen-spesifik reseptorun qalan subvahidini kodlaşdıran genin ekspressiyası başlayır: Ig yüngül zəncir (açıq mavi) BCR üçün; TCR α zəncir (açıq qırmızı) TCR üçün. Limfosit inkişafı və differensasiyası fərqli anatomik saytlarda baş verir və yalnız tam toplanmış antigen-spesifik reseptorlar (BCR, TCR) antigeni tanıyır. Yetkin limfositlər onların fəallaşması üçün antigen tanınmasından güclü surətdə asılıdır.

T hüceyrələr Timusda CD4 və ya CD8 Xəttinə Qoşulur

TCR geninin yenidən qurulması co-reseptorların əldə olunması ilə üst-üstə düşür. T hüceyrə inkişafında əsas intermediat TCR ko-reseptorların hər ikisini, CD4 və CD8-i, eləcə də funksional TCR-CD3 kompleksini ekspressiya edən timositdir. İkiqat müsbət ($CD4CD8^+$) hüceyrələr adlanan bu hüceyrələr yalnız timusda inkişafın intermediatları kimi tapılmışdır. T hüceyrə yetişən kimi, onlar CD4 və ya CD8-i itirir və tək-müsbət hüceyrəyə çevrilirlər. Hansı ko-reseptorun (CD4 və ya CD8) ekspressiya olunmasının seçilməsi T hüceyrənin I sinif yaxud II

sinif MHC molekullarını tanıyacağını təyin edir. $CD4CD8^+$ hüceyrəsinin CD8 (I sinif MHC ilə məhdudlaşan) T hüceyrə və ya CD4 (II sinif MHC-ə məhdudlaşan) T hüceyrə olması üçün necə təlimatlandırıldığı sualı hələ tam həll olunmamışdır, amma biz bilir ki, ThPOK və Runx3 transkripsiya faktorları fundamental rol oynayırlar. ThPOK və Runx3 TCR signalı ilə tənzimlənir. ThPOK-u keçici ekspressiya edən hüceyrələr CD4 hüceyrə xəttinə bağlı olacaqdır və Runx3-un ekspressiyasını repressiya edəcəkdir. Digər tərəfdən, ThPOK-un ekspressiyası induksiya olunmursa, Runx3-ün ekspressiyası yüksək olur və hüceyrələr CD8 hüceyrə xəttinə bağlı olur. Siçanlarda, ThPOK genində

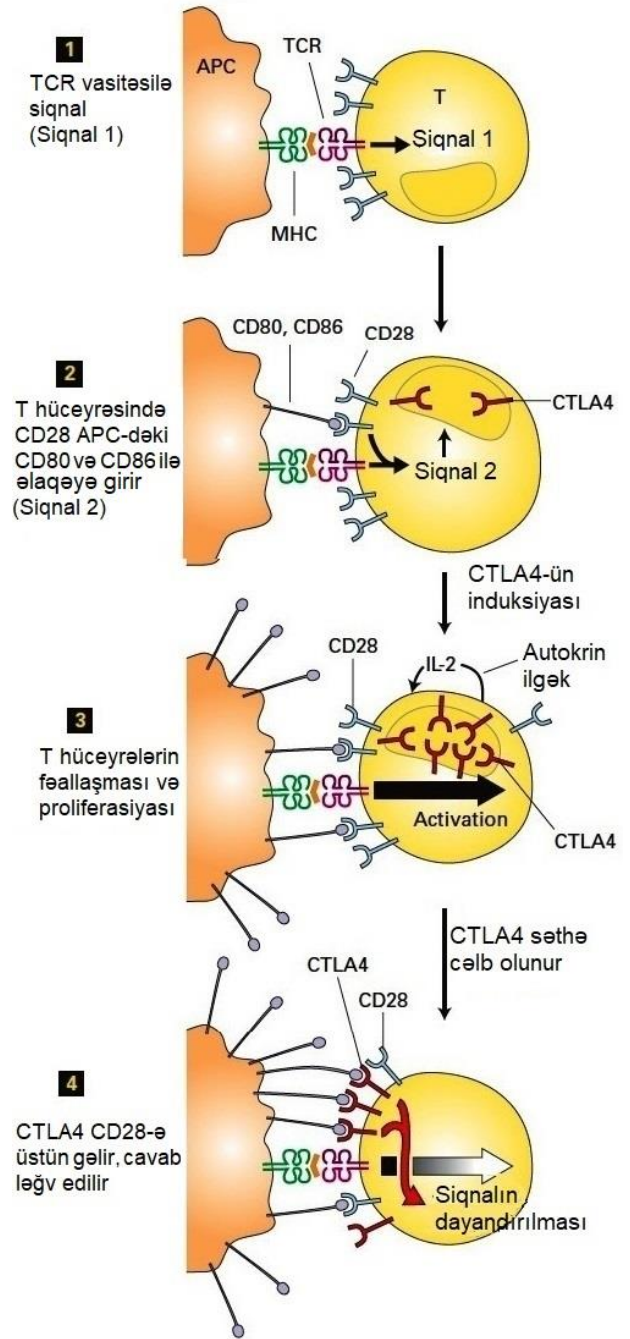
funksiyanın-itirilməsi mutasiyası CD4 T hüceyrə inkişafını ləğv edir və bütün timositlər CD8-ekspressiya edən T hüceyrəyə çevrilirlər.

CD4 T hüceyrələrinin üçüncü tipi də timusda inkişaf edir və təbii (və ya timusdan törənmiş) tənzimləyici T hüceyrələr (Treg) adlanırlar, amma onların funksiyası, aşağıda təsvir edildiyi kimi, klassik ənənəvi CD4 köməkçi T hüceyrələrindən fərqlənir. Təbii Treg-lərin inkişafı və funksiyası FoxP3 transkripsiya faktorunun iştirakını tələb edir, o isə müəyyən mənada TCR siqnalı ilə tənzimlənir. Hərçənd ki, T hüceyrə seçiminin hərislik (avidlik) modeli təbii Treg-lərin inkişafına da aid olur, lakin mənfi seçimin həddi təbii Treg-lər üçün daha yüksək görünür: özünün antigenini yüksək affinliklə tanıyan, amma mənfi seçimdən qaçan timositlər sonra təbii Treg hüceyrə xəttinə keçirlər. Nəhayət, timus, NK hüceyrə markeri olan NK1.1-i ekspressiya edən və lipid antigenlərini təqdim edən qeyri klassik MHC molekul CD1-də seçilən və eləcə də gələcəkdə bağırsağın selikli səthində koloniyaları əmələ gətirəcək epitelidaxili limfositlərdə seçilən invariant təbii killer T hüceyrələr (iNKT) kimi qeyri adi (və az saylı) T hüceyrə tipinin yaranmasına səbəb olur. Yetişmənin son mərhələlərindən sonra, bütün tip T hüceyrələr periferial limfoid orqana eksport olunurlar.

T Hüceyrələr Tam Fəallaşmaq Üçün İki Tip Siqnalı Tələb Edir

Bütün T hüceyrələr fəallaşmaq üçün öz TCR-ləri vasitəsilə siqnalı tələb edir, amma bu siqnal kifayət deyildir, T hüceyrə ko-stimullaşdırıcı siqnalları da tələb edir. Bu ko-stimullaşdırıcı siqnalları qavramaq üçün, T hüceyrələr öz səthlərində bir sıra əlavə reseptorları daşıyırlar, bunlardan CD28 yaxşı məlum olan nümunədir. CD28 T hüceyrələrin qarşılıqlı əlaqədə olduqları professional APC-lər üzərindəki iki səth qlikozüləli CD80 və CD86 ilə qarşılıqlı əlaqə yaradır. Bu APC-lər özləri düzgün stimullaşdırıcı siqnalı aldıqda, məsələn, öz Toll-bənzər reseptorlarını (TLR) cəlb etdikdə CD80 və CD86-nın ekspressiyası artır. CD28 vasitəsilə T hüceyrələrə çatdırılan siqnallar, hamısı T-hüceyrənin tam fəallaşdırılması üçün tələb olunan, ona doğma olan özünün-MHC-peptid antigen kompleksinə birləşərəkən TCR-dən çıxan siqnallarla qarşılıqlı təsirdə olur (sinergizə olunur) (Şəkil 23-33).

T hüceyrələr fəallaşdıqdan sonra, tamamilə eyni ko-stimullaşdırıcı molekulları tanıyarkən zəiflədən və ya mane olan siqnalları təmin edən reseptorları da ekspressiya edir, bununla mənfi geriye əlaqə tənzimləməni təmin edir. Yalnız T hüceyrələr stimullaşan zaman onlarda ekspressiyası artan CTLA4 zülalı CD80 və CD86 ilə birləşmək üçün CD28 ilə rəqabətə girir. CTLA4-ün CD80 və CD86 zülallara affiniyi CD28-in affiniyinə nisbətən yüksək olduğundan CTLA4-dən gələn ingibirləşdirici siqnallar CD28-dən gələn stimullaşdırıcı siqnalları məhv edəcək. Beləliklə, ko-stimullaşdırıcı molekullar ya stimullaşdırıcı ola bilər, ya da sonradan nomenklatura düzəlişləri olmadan aşkar edildiyi kimi, inginirləşdirici ola bilər, buna görə də onlar T-hüceyrə reaksiyasının fəallaşma vəziyyətinə (statusuna) və müddətinə nəzarət etmək üçün vacib bir vasitəni təmin edir.



ŞƏKİL 23-33 T hüceyrələrin fəallaşmasında və onun dayandırılmasında iştirak edən siqnallar. T hüceyrələrinin fəallaşmasında iştirak edən iki siqnal modelinə siqnal 1-i təşkil edir MHC-peptid kompleksinin T-hüceyrə reseptoru tərəfindən tanınması (pillə 1), və ko-stimulyator molekulların (CD80, CD86) antigen təqdim edən hüceyrələrin səthində tanınması, siqnal 2 (pillə 2), daxilidirlər. Əgər ko-stimullaşma təmin olunmursa, yeni cəlb olunmuş T hüceyrə qabliyyətsiz (anergik) olur. Həm T-hüceyrə reseptoru vasitəsilə siqnal 1-in, həm də CD28 vasitəsilə CD80 və CD86-nın qoşulması yolu ilə siqnal 2-nin təmin olunması tam fəallaşmaya imkan verir. Öz növbəsində, tam fəallaşma CTLA4-ün ekspressiyasını gücləndirir (pillə 3). T-hüceyrə səthinə çıxdıqdan sonra, CTLA4 CD80 və CD86 ilə birləşir, T-hüceyrə cavabının ingibirləşməsinə səbəb olur (pillə 4). CTLA4-ün CD80 və CD86-ya olan affiniyi CD28-in affiniyiindən yüksək olduğundan, T hüceyrə fəallaşması sonda dayandırılır.

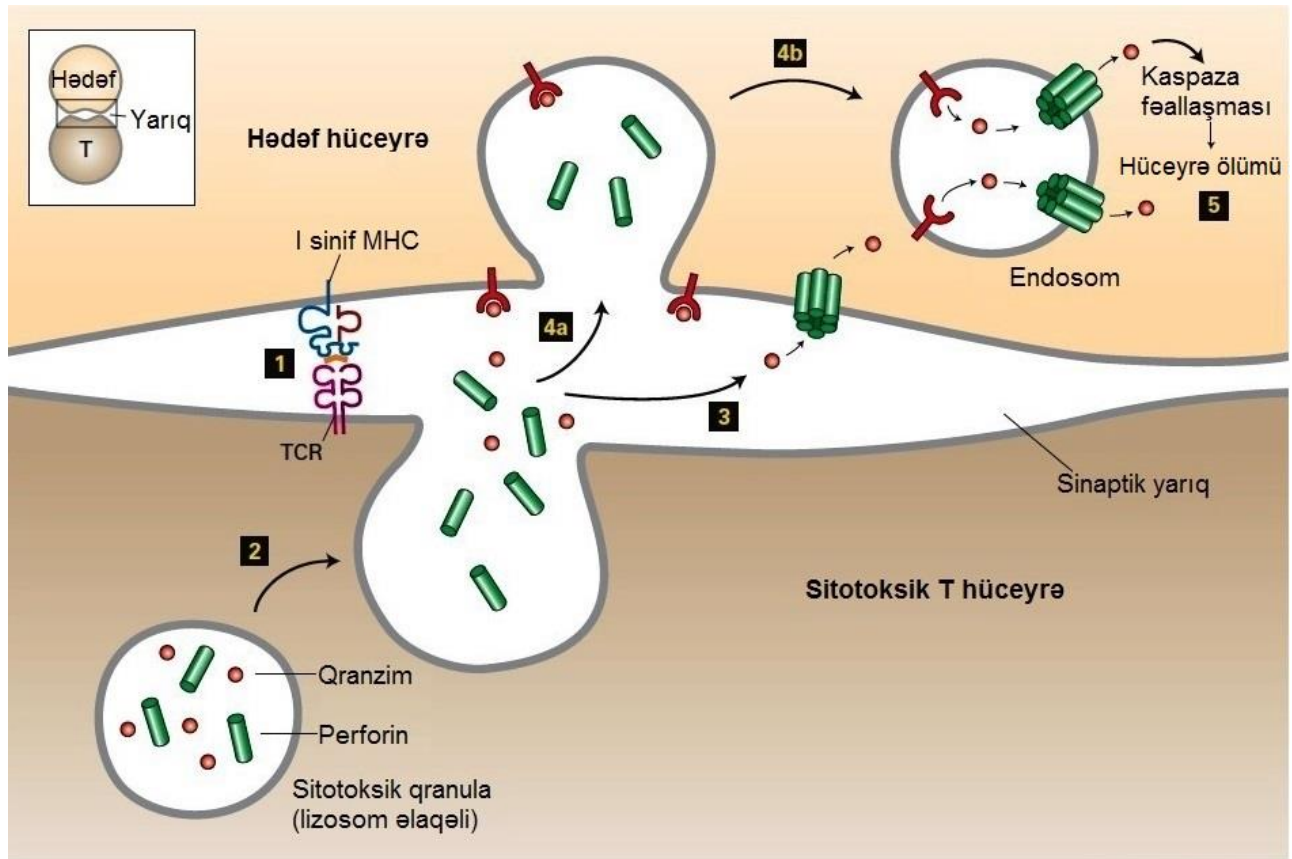
Sitotoksik T Hüceyrələr CD8 Ko-reseptoru Daşıyır və Öldürmək üçün İxtisaslaşmışlar

Artıq bizim gördüyümüz kimi, sitotoksik T hüceyrələr (CTL) əsasən öz səthlərində CD8 adlanan TCR ko-reseptor qlikozülallarını ekspressiya edirlər. Bu CD8⁺ T hüceyrələri öz doğma I sinif MHC-peptid kombinasiyasını nümayiş etdirən hədəf hüceyrələri öldürür və bunu incə həssaslıqla edirlər: tək bir MHC-peptid kompleksi kifayətdir ki, düzgün fəallaşdırılmış CTL-in onu daşıyan hədəf hüceyrəsini öldürməsinə imkan versin.

CTL vasitəsilə öldürmək mexanizmində sinergetik fəaliyyət göstərən iki sinif zülallar daxildir: perforinlər və qranzimler (Şəkil 23-34). Membran hücum kompleksini təşkil edən komplement kaskadın terminal komponentlərinə homolojiya nümayiş etdirən perforinlər membranı keçən 20 nm-ə qədər məsələləri əmələ gətirir və onlar buna yapışırlar. Elektrolitlərin və digər kiçik həllolan maddələrin itirilməsinə

səbəb olan, intakt keçiricilik baryerinin dağıdılması hüceyrə ölümünə kömək edir. Qranzimler serin proteazalardır, kaspazaları fəallaşdırır və bu yolla hədəf hüceyrənin proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünü sürətləndirir (apoptoz, bax Fəsil 21).

Perforinlər və qranzimler sitotoksik T hüceyrələr daxilində saxlanılan sitotoksik qranulalarda bükülür. T-hüceyrə reseptorunun öz doğma I sinif MHC-antigen kompleksinə birləşməsi zamanı TCR-dən siqnal ötürülməsi sitotoksik qranulaların və onların tərkibinin sitotoksik T hüceyrələrlə hədəf hüceyrələr arasında yaranan və immunoloji sinaps adlanan hüceyrəxarici boşluğa buraxılmasına səbəb olur. Hüceyrələr qranzimleri və perforinləri sinaps daxilində buraxan zaman öldürülməkdən necə yan keçirlər, məlum deyil. Təbii killer hüceyrələr həm də sitotoksik fəallıq göstərirlər və onların hədəflərini öldürməkdə perforin və qranzimlərə etibar edirlər (bax Şəkil 23-6).



ŞƏKİL 23-34 Sitotoksik T hüceyrələrin perforin- və qranzim-vasitəsi ilə hüceyrələri öldürməsi. Hədəf hüceyrələri tanıyanda (pillə 1) sitotoksik T hüceyrə hədəf hüceyrə ilə sıx antigen-spesifik əlaqəni yaradır. Bu sıx əlaqə sinaptik yarığın əmələ gəlməsi ilə nəticələnir və perforinlərin və qranzimlərin də daxil olmaqla sitotoksik qranulaların tərkibi onun daxilində buraxılır (pillə 2). Perforinlər membranlarda məsələləri əmələ gətirir və özləri də buraya adsorbsiya olunurlar,

qranzimler isə serin proteazalardır və perforin məsələləri vasitəsilə daxil olurlar (pillə 3). Belə hesab edilir ki, perforinlər yalnız hədəf hüceyrələrin səthində deyil, həm də perforin molekulları hüceyrə səthindən daxil keçdikdən sonra endosomal kompartimentlərin səthində də fəaliyyət göstərirlər (pillə 4). Sitoplazmaya keçdikdən sonra, qranzimler proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünü inisiyasiya edən kaspazaları fəallaşdırırlar (pillə 5).

T Hüceyrələr Başqa İmmun-Sistemi Hüceyrələrinə Sıqalları Təmin Edən Sitokinlər Sırasını İstehsal Edirlər

Çox limfositlər və limfoid toxumada olan başqa hüceyrələr sitokinləri istehsal edirlər. Bu kiçik ifraz olunan zülallar limfosit səthində olan spesifik sitokin reseptorlara birləşərək limfosit fəallığına nəzarət edirlər və limfositlərə proliferasiya etməyə və yaxud sitotoksikliyə (sitotoksik T hüceyrələr) yardımçı olmağa (köməkçi T hüceyrələr) və ya anticism-ifraz edən (B hüceyrələr) fəallığı göstərən effektor hüceyrələrə differensasiya etməyə imkan verən transkripsiya proqramını inisiyasiya edirlər. Əsasən leykositlərdə istehsal olunan və ya fəaliyyət göstərən sitokinlər interleykinlər adlanırlar, ən azı 35 interleykin aşkar edilərək molekulyar səviyyədə xarakterizə olunmuşlar. Hər bir interleykin reseptor tipi digərləri ilə quruluş oxşarlığına malikdir, Quruluşları daha çox oxşar olan bu interleykinlər doğma reseptorlarına görə tanına bilirlər. İnterleykin-2 reseptoru xüsusilə yaxşı xarakterizə olunmuşdur. T-hüceyrələrin boy faktoru olan interleykin-2 (IL-2) T hüceyrələr stimullaşarkən istehsal olunan ilk sitokinlərdən biridir. IL-2 autokrin (özünə-təsir edən) və parakrin (qonşu hüceyrələrə təsir edən) boy faktoru kimi fəaliyyət göstərir və fəallaşmış T hüceyrələrin klonal artmasını idarə edir.

Köməkçi T hüceyrələrin istehsal etdiyi interleykin 4 (IL-4) fəallaşmış B hüceyrələri proliferasiya etmək və sinif keçirici rekombinasiyaya və somatik hipermutasiyaya uğramaq üçün induksiya edir. Sümük iliyində stromal hüceyrələrin istehsal etdiyi interleykin 7 (IL-7) T və B hüceyrələrin inkişafı üçün vacibdir. Həm IL-7, həm də IL-15, antigenə yenidən məruz qaldıqda çağırılı bilən antigen-təcrübəli T hüceyrələri olan *yaddaş hüceyrələrinin* saxlanmasıda rol oynayır. Sonra, bu yaddaş hüceyrələri sürətlə proliferasiya edir və yenidən hücum edən patogenlərlə mübarizə aparır. IL-2, IL-4, IL-7 və IL-15-in reseptorları siqnal ötürülməsində ümumi bir subvahidə əsaslanırlar, ümumi γ zəncir (γ_c) α subvahidi (IL-2, IL-15 üçün) və β subvahid (IL-2, IL-4, IL-7 və IL-15 üçün) ilə liqand spesifikliyini təmin edir. γ_c -də genetik qüsurlar demək olar ki, limfosit inkişafının tamam itməsilə nəticələnir, bu da bu sitokinlərin yalnız immun cavabının effektor fazasında deyil, həm də IL-7-nin xüsusilə əsas rol oynadığı limfosit inkişafının gedişində əhəmiyyətini əks etdirir.

Sitokin reseptorlarla JAK/STAT yolu ilə siqnal ötürülməsi mexanizmi Fəsil 16-da təsvir edilmişdir (Şəkil 16-1-də təsvir edilir). İnterleykinlər və STAT yolunun nəzarəti altında olan çox genlər arasında sitokin siqnalının supressorlarını kodlaşdıran genlər və ya SOCS zülalları kodlaşdıran genlər vardır. Özləri də sitokinlərlə induksiya olunan bu zülallar, JAK-in fəallaşmış formasına birləşirlər və onu proteosomal parçalanmaya hədəf edirlər (bax Şəkil 16-13).

Köməkçi T Hüceyrələr Onlarda Sitokin İstehsalına və Səth Markerlərin İstehsalına Göre Fərqli Yarımbölmələrə Ayrılırlar

CD4-ekspressiya edən T hüceyrələr B hüceyrələrə kömək edən və onların plazma hüceyrələrinə differensasiya etməsinə bələdçi olan köməkçi T hüceyrələrdir. Bu funksiya həm IL-4 kimi sitokinlərin istehsalını fə ifraz olunmasını, həm də köməkçi T

hüceyrələrlə onların kömək etdiyi B hüceyrələr arasında birbaşa əlaqənin olmasını tələb edir.

Köməkçi T hüceyrələrin ikinci sinifi onun əsas funksiyası kimi, iltihablaşdırıcı mühiti yaradan sitokinləri ifraz edir. Bu cürə iltihablaşdırıcı T hüceyrələrin çoxsaylı yarımtipləri istehsal etdikləri müxtəlif sitokinlərin spektrinə və immun reaksiyalarının tənzimlənməsində müvafiq rollarına görə təsnif edirlər. Bütün fəallaşan T hüceyrələr IL-2-ni istehsal edə bildikləri halda digər sitokinlər yalnız xüsusi köməkçi T hüceyrə yarımtipləri tərəfindən istehsal olunurlar. Bu köməkçi T hüceyrələr interferon γ və şiş nekrozis faktorunu (TNF) istehsal edən T_H1 hüceyrələr, IL-4 və IL-10 istehsal edən T_H2 hüceyrələr kimi təsnifləşdirilirlər. T_H1 hüceyrələr γ interferonun istehsalı vasitəsi ilə makrofaqları fəallaşdırır və iltihab cavabını inisiyasiya edə bilirlər. *İltihab T hüceyrələri* kimi də hesab edilən T_H1 hüceyrələr anticism istehsalında da əhəmiyyətli rol oynayır, IgG1 və IgG3 kimi komplement-təyinatlı anticismlərin istehsalını əhəmiyyətli dərəcədə asanlaşdırırlar. T_H2 hüceyrələr IL-4-ün istehsalı ilə, IgG1 və IgE izotiplərin sinif keçirilməsi (yuxarıda müzakirə edilmişdir) daxil olan B hüceyrə cavabında əhəmiyyətli rol oynayırlar. Xatırladaq ki, B hüceyrələrdə fəallaşma-ilə-induksiya olunan deaminləşmənin (AID) induksiya olunması B hüceyrələrini sinif-keçirici rekombinasiyasına və somatik hipermutasiyaya hazırlayır. Bu induksiya köməkçi T hüceyrələr tərəfindən istehsal olunan sitokinlərin dəqiq qarışığının və fəallaşdırılmış T hüceyrəsində olan CD40 səthi membran zülalının B hüceyrə səthində olan CD40 liqand zülalına (CD40L) bağlanması nəticəsidir.

Adi köməkçi T hüceyrələr həm də IL-17 istehsal edən T_H17 hüceyrələrə və *induksiya olunan tənzimlənən T hüceyrələrə* differensasiya oluna bilirlər (induksiya olunan Treg-lər timusda yaranan təbii Treg-lərdən fərqlənirlər). Hər iki tip Treg hüceyrə başqa tip T hüceyrələrə supressiv təsir etməklə immun cavablarını yavaşdırırlar. Təbii Treg-lər potensial özünə-reaktiv T hüceyrələrin fəallığını cilovlayır və periferial tolerantlığı saxlamaq (öz antigenlərinə qarşı immun sisteminin olmaması) üçün əhəmiyyətlidirlər, halbuki induksiya olunmuş Treg-lər, guman edilir ki, xarici anticismlərə qarşı həddən artıq güclü immun cavablarını tənzimləyir. T_H17 hüceyrələr bakteriyalara qarşı (xüsusilə hüceyrəxarici bakteriyalara qarşı) mühafizə üçün əhəmiyyətlidir və autoimmun xəstəliklərində patogen rolunu oynayırlar.

Leykositlər Kemokinlər Tərəfindən Təmin Olunan Kimyəvi Maddələrə Cavab Olaraq Hərəkət Edirlər

İnterleykinlər limfositlərin ixtisaslaşmış effektor funksiyalarını qazanmasına imkan verən transkripsiya proqramını hazırlamaqla limfositlərə nə edəcəklərini deyirlər. Digər tərəfdən kemokinlər leykositlərə hara getməyi deyir. Çox hüceyrələr kemokinlər şəklində kemotaktik təsirləri buraxırlar. Toxuma zədələnməsi baş verdikdə, rezident (sakin) fibroblastlar kemokin IL-8-i istehsal edirlər, bunlar neytrofilləri zədələnmə saytına cəlb edirlər. Limfositlərin limfa düyünləri daxilində hərəkətinin tənzimlənməsi dendrit hüceyrələrinin T hüceyrələri cəlb etməsi üçün və T hüceyrələri ilə B hüceyrələrin bir araya gəlməsi üçün vacibdir. Belə çatdırılma pillələrinin hamısı kemokinlərlə nəzarət olunur.

Təxminən 40 müxtəlif kemokin və onlarla kemokin reseptorlar mövcuddur. Bir kemokin birdən artıq reseptora birləşə bilər, tək bir reseptor isə bir neçə müxtəlif kemokina birləşə bilər. Bu elastiklik böyük bir mürəkkəbliyə malik olan kemotaktik təsirlərin kombinatorial kodunu yaratmaq imkanı yaradır. Bu kod, leykositlərin sümük iliyyində əmələ gəldikləri yerdən hədəf yerinə qədər aparılmasında qan dövrəsinin yönləndirilməsi üçün (bələdçisi kimi) istifadə olunur.

Bəzi kemokinlər limfositləri limfa dövrəsindən çıxmağa və limfoid orqanlarda məskunlaşmağa yönləndirir. Bu miqrasiyalar normal limfoid inkişafının bir hissəsi kimi baş verdiyindən, belə kemokinlərə *homeostatik kemokinlər* deyilir. Leykositlərin iltihab və toxuma zədələnməsi saytlarına səfərbər olunması məqsədi kimi xidmət edən kemokinlər *iltihablaşma kemokinləri* adlanırlar.

Kemokin reseptorlar G zülalla-cütləşən reseptorlardır, hüceyrə adgeziyasının və hüceyrə miqrasiyasının tənzimlənməsinin vacib komponentidirlər. Qan damarları ilə hərəkət edən leykositlər bu hərəkəti çox sürətlə edirlər və yüksək hidrodinamik hərəkət qüvvəsinə məruz qalırlar. Leykositlərin endoteliyadan keçməsi və limfa düyünlərində məskunlaşması və ya toxumada yoluxma yerini axtarması üçün əvvəlcə onlar sürətini yavaşıtmağa meyllidirlər, bu proses selektinlər adlanan glikozülal səth reseptorlarının səthilərdə olan və təbiətinə görə əsasən karbohidrat olan öz liqandları ilə qarşılıqlı təsirini tələb edir. Əgər, kemokinlər hüceyrəxarici matrisə adsorbsiya olunurlarsa və əgər leykositlər bu sitokinlər üçün reseptora malik olurlarsa, onun kemokin reseptorunun fəallaşması leykositlərlə daşınan inteqrinlərin konformasiya dəyişikliyinə uğramasına imkan verən signala verir. Bu dəyişilmə inteqrinin öz liqandına olan affinliyini artırır və leykositin möhkəm tutulmasına səbəb olur. İndi leykosit *ekstravazasiya* kimi məlum olan proseslə qan damarından çıxmağa bilər (bax Şəkil 20-40).

23.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

T Hüceyrələr, T-Hüceyrə Reseptorları və T-Hüceyrə İnkişafı

- Antigen-spesifik T-hüceyrə reseptorları α və β subvahidlərindən və ya γ və δ subvahidlərindən ibarət olan dimer zülallardır. T hüceyrələr qlikozülal ko-reseptoru CD4 və CD8-i ekspressiya etmələrinə görə təyin edilən iki əsas sinifdə rast gəlinirlər (bax Şəkil 23-29).
- Antigeni tanımaq üçün I sinif MHC molekulları bələdçi kimi (immunoloji dildə desək məhdudlaşdırıcı element) istifadə edən hüceyrələr CD8-i daşıyırlar, II sinif MHC molekullarını istifadə edənlər isə CD4-ü daşıyırlar. T hüceyrələrin bu sinifləri funksiyalarına görə fərqlənirlər: CD8 T hüceyrələr sitotoksik T hüceyrələrdir, CD4 T hüceyrələr isə B hüceyrələrə kömək edirlər və sitokinlərin çox əhəmiyyətli mənbəyidirlər.
- TCR subvahidlərini kodlaşdıran genlər V və J seqmentlərinin (α zəncir) və V, D, J seqmentlərinin (β zəncir) somatik rekombinasiyası yolu ilə yaranırlar; onların rekombinasiyası B hüceyrələrində Ig genlərin təşkilində olduğu kimi eyni qaydaya riayət edirlər (bax Şəkil 23-30). TCR genlərin

yenidənqurulması limfositlər timusda mövcud olduqda baş verir və yalnız o hüceyrələr T limfositlər olmaq üçün təyin edirlər.

- Tam T hüceyrə reseptoruna yalnız antigen və MHC tanınmasını həyata keçirən α və β subvahidlər daxil olmur, həmçinin CD3 kompleksi kimi adlanan və siqnal ötürülməsi üçün tələb olunan aksesuar subvahidləri də daxildirlər. CD3 kompleksinin hər bir subvahidi öz sitoplazmatik quyruğunda bir və ya üç ITAM domenlərini daşıyır. Bu ITAM-lar fosforlaşanda siqnal ötürülməsində iştirak edən adaptor zülallarını səfərbər edirlər (bax Şəkil 23-31).
- T hüceyrə inkişafının gedişində, ilk növbədə TCR β lokusunun yenidənqurulması baş verir. Əgər lokus funksional β subvahidini kodlaşdırırsa, o pre-T α zəncirə pre-TCR daxilinə inkorporasiya olunur (bax Şəkil 23-32). Pre-BCR kimi, pre-TCR da, allellərin xaric edilməsinə, yəni iki alleldən yalnız biri ilə kodlaşdırılmış funksional olaraq yenidən qurulmuş T-hüceyrə reseptorunun ekspressiyasına və uğurlu TCR β yenidənqurulmasını həyata keçirən bu hüceyrələrin proliferasiyasına vasitəçilik edir.
- Özünün-MHC molekullarını tanıya bilməyən inkişafda olan T hüceyrələr sağ qalmaq signalları olmadığından ölürlər. İnkişafın gedişi zamanı qarşılaşdıqları özünün-peptidi-özünün-MHC kompleksləri ilə güclü qarşılıqlı təsirdə olan T hüceyrələr ölmək üçün təlimat alırlar (mənfi seçim), özünün-peptidi-özünün-MHC komplekslərinə orta affinliyi olanlara yetişmək üçün imkan verilir (müsbət seçim) və timusdan periferiyaya (ətrafa) eksport olunurlar.
- T hüceyrələr hara getmək barədə kemokinlər şəkilində kemotaksis signalları ilə təlimatlandırılırlar (hüceyrə miqrasiyası). Kemokinlərin reseptorları G zülallarla-cütləşən reseptorlardır və kemokinlərə birləşmələrinə görə bəzi müxtəlifliyi göstərirlər. Kemokin-kemokin reseptoru birləşməsinin mürəkkəbliyi həm limfoid orqanlarında həm də periferiyada leykositlərin hərəkətinin dəqiq nizamlanmasına imkan verir.

23.6 Qazanılmış İmmun Cavabında İmmun Sistemi Hüceyrələrinin Əməkdaşlığı

Qazanılmış immün cavabının səmərəli olması B hüceyrələrin, T hüceyrələrin və APC-lərin mövcud olmasının tələb edir. B hüceyrələr sinif keçid rekombinasiyasını və somatik hipermutasiyanı – yüksək-affinlikli anticislərin istehsalının şərtlərini – yerinə yetirmək üçün fəallaşdırılmış T hüceyrələrinin köməyini tələb edirlər. Bu T hüceyrələr öz növbəsində dendrit hüceyrələr kimi professional APC-lərlə fəallaşdırıla bilərlər. Dendrit hüceyrələr TLR-lər və polisaxarid və karbohidrat determinantlarını tanıya bilən digər C-tip lektinlər kimi patogen-tanıyan reseptorlar vasitəsilə patogenin mövcudluğunu hiss edirlər. Ouna görə də, anadangəlmə və qazanılmış immün sistemlərinin komponentləri arasındakı əlaqə qazanılmış immunitetin çox vacib bir aspektidir. Anadangəlmə və qazanılmış immunitetin bu təbii təbii qabliyyətli erkən immuniteti təmin edir, həm də istənilən mövcud olan davamlı patogenə qarşı spesifik cavab üçün qazanılmış immün sistemini işə salır. Bu

bölmədə biz, bu müxtəlif elementlərin necə fəallaşdırıldığını və müvafiq hüceyrə tiplərinin qarşılıqlı əlaqələrini təsvir edirik.

Toll-Bənzər Reseptorlar Müxtəlif Patogen Mənşəli Makromolekulyar Nümunələri Qəbul Edirlər

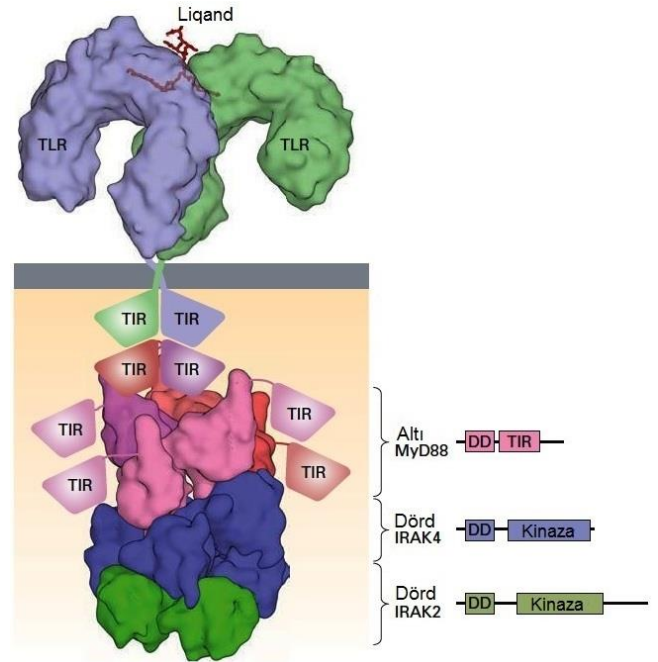
Anadangəlmə immun sisteminin əhəmiyyətli hissəsi onun mikrob hücumlarını dərhal aşkar etmək və ona qarşı cavab verə bilmək qabiliyyətidir. Bu cavaba hücum edən birbaşa məhv edilməsi daxildir, amma o eyni zamanda məməlilərin sahib hüceyrələrini düzgün qazanılmış immun cavabına hazırlayır, xüsusilə də professional APC-lərin fəallaşması yolu ilə. Bu APC-lər böyük ehtimalla patogenlərlə əlaqədə olmağın baş verə biləcəyi bütün epiteli boyu (hava yollarında, mədə-bağırsaq traktında, cinsiyyət traktında), yerləşirlər. Dəridə *Langerhans hüceyrələri* adlanan dendrit hüceyrələr şəbəkəsi bu maneəni pozan patogenin professional APC-lər ilə təmasdan yan keçməsinə faktiki olaraq qeyri-mümkün edir. Dendrit hüceyrələr və başqa professional APC-lər bakteriya və virusun mövcud olmasını Toll-bənzər reseptor (TLR) ailəsinin nümayəndələri vasitəsilə aşkar edirlər. Bu zülallar *Drosophyla*-nın Toll zülalının adına əsasən adlandırılmışdır, çünki onlar arasında quruluşuna və funksiyasına görə homoloji mövcuddur. *Drosophyla*-da Toll onun meyvə milçəyinin dorsal/ventral profilindəki mühüm roluna görə kəşf edildi, amma, oxşar reseptorların həşəratlarda və eləcə də onurğalılarda da anadangəlmə immun cavabı verə bilmək qabiliyyətində olduğu aşkar edilmişdir.

TLR Quruluşu Toll özü və bütün TLR-lər *leysinlə-zəngin təkrarılardan* ibarət olan oraş-şəkilli hüceyrəxarici domenə malikdirlər, bu domen siqnal tanınmasında iştirak edir. TLR-in sitoplazmatik hissəsi siqnal ötürülməsini mümkün etmək üçün adaptor zülallarının səfərbər olunmasına cavabdeh olan domenə malikdir. TLR-lər ilə əlaqəli siqnal yolları reseptorların IL-1 sitokini üçün istifadə etdiyi çoxsaylı eyni komponentə (nəticələrə) malikdirlər (Şəkil 23-35).

Drosophyla-nın Toll zülalı, *Drosophyla* üzərində olan yırtıcı göbələklərin hüceyrə divarlarının komponentləri tərəfindən inisiasiya olunan, proteolitik çevrilmənin məhsulu olan öz liqandı Spaetzle ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir. Milçəkdə Toll-un fəallaşması sonda antimikrob peptidləri kodlaşdıran genlərin fəallaşmasına nəzarət edən siqnal kaskadını işə salır. Hüceyrə səthində olan fəallaşmış reseptor TLR-lər ilə onların fəallaşdırdığı transkripsiya faktorları arasında yerləşən aşağıya istiqamətdə kinazaları fəallaşdıran bir sıra adaptor zülalları vasitəsilə transkripsiya aparatı ilə əlaqəyə girir. Əsas pillə Kaktus zülalın ubikvitindən-asılı olan proteazalar vasitəsilə proteosomal parçalanmasıdır. Onun sıradan çıxarılması Dif zülalının nüvəyə daxil olmasına və transkripsiyamı inisiasiya etməsinə imkan verir. Bu yol öz fəaliyyətinə və quruluş tərkibinə görə məməlilərdəki NF-κB yolu ilə yüksək dərəcədə homolojiya təşkil edir (bax Şəkil 16-35).

TLR-lərin Müxtəlifliyi Məməlilərdə müxtəlif mikrob məhsulları ilə fəallaşma bilən ondan artıq TLR mövcuddur və onlar müxtəlif hüceyrə tiplərində ekspressiya olunurlar. TLR funksiyası dendrit hüceyrələrin və makrofaqların fəallaşması üçün çox vacibdir. Neytrofillər də TLR-ləri ekspressiya edirlər. TLR-lər tərəfindən tanınan mikrob məhsullarına bakteriyamın

hüceyrə qabığına tapılmış lipopolisaxaridlər, flagellinlər (bakterial flaqellanın subvahidləri) və bakterial lipopeptidlər kimi makromolekullar daxildir. Bu makromolekullardan ən azı bir neçəsinin TLR-lərlə birbaşa birləşməsi müvafiq komplekslərin kristalloqrafik analizləri ilə nümayiş etdirilmişdir. Mikrob mənşəli molekulların fərqli siniflərinin mövcud olması fərqli TLR-lərlə hiss edilir: məsələn, lipopolisaxaridlər üçün TLR4; lipopeptidlər üçün TLR1 ilə 2-nin və TLR2 ilə 6-nın heterodimerləri; flagellin üçün TLR5. Bütün bu bakterial qabıq komponentlərinin tanınması hüceyrə səthində baş verir.

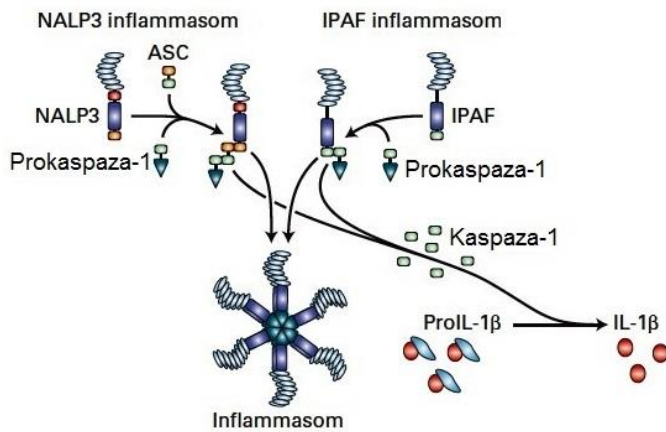


ŞƏKİL 23-35 Toll-bənzər reseptorun fəallaşması. TLR-lərin hüceyrəxarici hissəsi geniş müxtəliflikdə kimyəvi təbiətə malik olan liqandları (nuklein turşuları, lipopolisaxaridləri) tanıyır. TLR-lərin TIR (Toll/IL1β reseptor homolojiyası) domenlər adlanan sitoplazmatik hissəsi adaptor zülalı MyD88 ilə assosiasiya edir, hər bir kompleksdə altı nüsxədə mövcud olur və hər iki nümayəndəsi IPAK ailəsinə aid olan iki tip kinazanı səfərbər edir. Şəkildə göstərilirdiyi kimi, bu kompleks qarşılıqlı əlaqələr, TIR domenləri və ölüm domenləri (DD) ilə saxlanılır. Sitoplazmatik tərəfdə toplanmış kompleks midsosom adlandırılır. Bax J. Y. Kang and J.-O. Lee, 2011, *Annu. Rev. Biochem.* **80**:917. [Verilənlər M. S. Jin et al., 2007, *Cell* **130**:1071, PDB ID 2z7x-dən və S. C. Lin et al., 2010, *Nature* **465**:885, PDB ID 3mop.]

TLR-lərin ikinci dəsti – TLR3, TLR7 və TLR9 – patogen-törəməli nuklein turşularının mövcud olmasını hiss edir. Onlar bunu hüceyrə səthində etmir, əksinə onlar bunu bu reseptorların məskunlaşdığı endosomal kompartiment daxilində edirlər. Məməlilərin DNT-si çoxsaylı CpG dinukleotidlərində metilləşdiyi halda, mikrobların DNT-sində əsasən bu modifikasiya olmur. TLR9 metilləşməmiş CpG-yə malik olan mikrob DNT-si ilə fəallaşır. Buna oxşar olaraq, bəzi virusla-yoluxmuş hüceyrələrdə mövcud olan iki-zəncirli RNT molekulları TLR3-ün fəallaşmasına səbəb olur. Nəhayət sonda, TLR7 müəyyən tək-zəncirli RNT-lərin mövcud olmasına

cavab verir. Beləliklə, məməlilərin TLR-lərinin tam dəsti bakteriyaların, virusların və ya göbələk patogenlərinin və malarিয়া kimi patogenlərin mövcudluğu üçün diaqnostik olan müxtəlif makromolekulların tanınmasına imkan verir

İnflammasom Virus RNT-sini tanıyan və quruluşuna görə TLR-lərdən fərqli olan, RNT və DNT üçün müxtəlif hüceyrə daxili reseptorlar təsvir edilmişdir. Həm patogen mənşəli, həm də sahib hüceyrə DNT-sindən törəmiş DNT-ləri tanıya bilən sitoplazmatik reseptorların siyahısı artmaqda davam edir. Bu reseptorların bir neçəsi inflammasomların toplanmasında iştirak edir (Şəkil 23-36), bunların əsas funksiyası prokaspaza-1 ferment sələfinin fəal kaspaza-1-ə çevrilməsidir. Kaspaza-1 güclü iltihab cavabını yaradan sitokin pro-IL-1 β -ni fəal IL-1 β -ya çevirən proteazadır. İnflammasomların əsas komponentləri leysinlə-zəngin təkrarlara malik olan zülallar, apoptozun neyronal inhibitorları (NALP) ailəsi zülallarının nümayəndələri və nukleotid oliqomerləşmə domeninin mövcud olmasına görə NOD adlandırılan zülallarıdır. Apaf-1 molekuluna yaxın olan Ipaf-1 apoptozda iştirak edir (bax Fəsil 21), prokaspaza-1 ilə kompleksin əmələ gəlməsində vasitəçi olan ASC adaptor zülalının səfərbər olunmasına imkan verir. Bu çoxsubvahidli kompleksin toplanması prokaspaza-1-in fəal kaspaza-1-ə və pro-IL-1 β -nın fəal IL-1 β -ya çevrilməsinə imkan verir. Silisium, sidik turşusu kristalları və asbest hissəcikləri daxil olmaqla bir-biri ilə əlaqəli olmayan bir çox maddələr inflammasomun yaranmasına və fəallaşmasına səbəb ola bilər. Buna müvafiq olaraq, inflammasom siqnal kaskadının ingibirləşməsi və ya IL-1 β üçün reseptorun blok olunması müxtəlif iltihablı xəstəliklərinin müalicəsi üçün terapevtik vədləri verir.



ŞƏKİL 23-36 İnflammasom. İnflammasom sitoplazmada patogen mənşəli nuklein turşusunun mövcud olmasını hiss edən kompleks tipidir və sidik turşusu kristalları və ya hətta asbest kimi xüsusi maddələrin daxil olduğu digər təhlükəli siqnallarla da fəallaşma bilər. Müxtəlif tərkibli iltihab şişlərinin (inflammasomları) əmələ gəlməsini həyata keçirən bu komplekslərin əmələ gəlməsində iştirak edə bilən təxminən bir neçə on müxtəlif zülal vardır ki, bunlardan ikisi burada sxematik şəkildə təmsil olunur. Sonda, tam toplanmış inflammasom kaspaza-1-i fəallaşdırır, bu ferment pro-IL-1 β -ni fəal, kəsilməmiş sitokin IL-1 β -ya çevrir. NALP3 = NACHT, LRR və PYD domenlərinin mövcud olması ilə xarakterizə olunan zülal ailəsinin nümayəndəsidir; ASC = CARD-a (kaspaza səfərbər edən domenə) malik olan apoptoz-assoosiyalı Spek-bənzer zülaldır.

TLR Siqnal Kaskadı Şəkil 23-35-də göstərilədiyi kimi, məməlilərin TLR-lərinin cəlb olunması adaptor zülalı MyD88-in səfərbər olunmasına səbəb olur, o isə öz növbəsində IPAK (interleukin 1 reseptor-assoosiyalı kinaza) zülalının birləşməsinə və fəallaşdırmasına imkan verir. IPAK TNF-reseptor-assoosiyalı faktor 6-nı (TRAF6) fosforlaşdırıqdan sonra, aşağıya istiqamətdə bir sıra kinaza meydana gəlir, fəal NF-kB transkripsiya faktorunun sitoplazmadan nüvəyə translokasiya olunmaq üçün buraxılmasına səbəb olur, burada NF-kB müxtəlif hədəf genləri fəallaşdırır (bax Şəkil 16-35). Bu hədəf genlərə iltihablaşmaya kömək edən IL-1 β və IL-6-nı kodlaşdıran genlər və eləcə də TNF və IL-12-ni kodlaşdıran genlər daxildir. Antivirus təsirlərinə malik olan kiçik zülal I tip interferonun ekspressiyası da TLR siqnalına cavab olaraq işə düşür.

TLR siqnalına hüceyrənin cavabı kifayət qədər müxtəlif olur. Professional APC-lər üçün bu cavaba yalnız sitokinlərin istehsalı deyil, həm də, hələ antigenlə qarşılaşmamış T hüceyrələrin (bunlar naiv T hüceyrələr hesab edilir) tam fəallaşması üçün əhəmiyyətli olan səth zülalları ko-stimulyator molekulların artan-tənzimlənməsi daxildir. TLR siqnal dendrit hüceyrələrə onların patogenlə rast gəldikləri yerdən bu yerləri böşaldan limfa düyünlərinə miqrasiya etməsinə imkan verir və burada onlar naiv limfositlərlə əlaqəyə girə bilərlər. Bütün fəallaşmış TLR-lərin hamısı eyni cavabı yaratmırlar. Dendrit hüceyrələrdə hər bir fəallaşmış TLR xüsusi sitokin dəstəsinin istehsalına nəzarət edir. Hər bir cəlb olunmuş TLR üçün ko-stimulyator molekullarının və TLR cəlb olunması ilə induksiya olunan sitokin profilinin kombinasiyası unikal fəallaşmış-dendrit-hüceyrə fenotipini yaradır. Dendrit hüceyrələri ilə qarşılaşan mikrob antigenlərinin kimliyi fəallaşmalı olan TLR-lərin profilini müəyyən edir. Bu profil öz növbəsində, istehsal olunan sitokinlərə, nümayiş etdirilən səth molekullarına və dendrit hüceyrələrinin cavab verdiyi kemotaktik siqnallara təsir etməklə fəallaşmış dendrit hüceyrələrinin differensasiya yolunu formalaşdırır. Dendrit hüceyrənin və cavab olaraq onun istehsal etdiyi sitokinlərin fəallaşma üslubu unikal lokal mikromühiti yaradır ki, bunun daxilində T hüceyrələri differensasiya edir. Bu mikromühit daxilində, qonşu T hüceyrələr ilk növbədə TLR-lərin cəlb olunmasına səbəb olan, yolxucu agentlərə qarşı mübarizə üçün tələb olunan funksional xüsusiyyəti qazanır.

Toll-Bənzer Reseptorlar Antigen-Təqdim Edən Hüceyrələrin Fəallaşmasına Səbəb Olur

Professional APC-lər fasiləsiz davam edən endositoza cəlb olunur və patogenlər olmadıqda onlar öz səthində öz zülallarından alınan peptidlərlə yüklənmiş I sinif və II sinif MHC molekullarını nümayiş etdirirlər. Patogenlər mövcud olduqda, bu hüceyrələrdə TLR-lər fəallaşır, APC-ləri fəallaşdıraraq hərəkətli vəziyyətə gətirirlər: onlar kemokinlər tərəfindən verilən istiqamətləndirici siqnallara riayət etməklə ətrafdakı substratlardan qopurlar və boşalan limfa düyünlərinə tərəf miqrasiya etməyə başlayırlar. Məsələn, fəallaşmış dendrit hüceyrələri özlərinin antigen mənimsəmə sürətini azaldır, endosomal və lizosomal proteazaların fəallıqlarını artırır və II sinif MHC-peptid komplekslərinin yüklənmə kompartimentindən hüceyrə səthinə keçirilməsi sürətini artırır.

Nəhayət, fəallaşmış professional APC-lər CD80 və CD86 ko-stimulyator molekullarının ekspressiyasını artan istiqamətdə tənzimləyir, onların T hüceyrələri daha səmərəli şəkildə fəallaşdırmasına imkan verir. Beləliklə, professional APC-nin patogenlə ilkin əlaqəsi onun naiv T hüceyrələrini tam fəallaşdırma bilmək qabiliyyəti vəziyyətində boşalan limfa düyünlərinə miqrasiyası ilə nəticələnir. Antigen peptid-MHC kompleksləri formasında nümayiş etdirilir, ko-stimullaşdırıcı molekullar bol miqdarda mövcud olur və T hüceyrələrinin fəallaşdırılması üçün düzgün proqramın qurulmasına kömək edən sitokinlər istehsal olunur.

Antigen-yüklənmiş dendrit hüceyrələr proliferasiyaya və differensiasiyaya cavab verən antigen-spesifik T hüceyrələri cəlb edir. Bu ilkin reaksiya zamanı istehsal olunan sitokinlər CD4 ekspressiya edən T hüceyrənin iltihab və ya klassik köməkçi T hüceyrə fenotipi istiqamətində polyarlaşacağını təyin edir. Əgər qarşılıqlı təsir (cəlb olunma) I sinif MHC molekulları vasitəsilə olarsa, CD8-ekspressiya edən T hüceyrə sələf sitotoksik T hüceyrədən tam fəal sitotoksik T hüceyrəyə inkişaf edə bilər. Fəallaşmış T hüceyrələr hərəkətlidir və limfa düyünləri vasitəsilə B hüceyrələrin axtarışına gedir və ya bədənə başqa bir yerində effektor funksiyalarını yerinə yetirmək üçün dövrə edici sistemə daxil olur.

Yüksək-Affinlikli Anticismlərin İstehsalı B və T Hüceyrələr Arasında Əməkdaşlığı Tələb Edir

Antigenlərə möhkəm bağlanmaq və patogenlərin səmərəli neytrallaşdırmaq üçün lazım olan yüksək-affinlikli anticismlərin yaradılmasında B hüceyrələr T hüceyrələrin köməyini tələb edir. B-hüceyrə fəallaşması həm BCR-i cəlb etmək üçün antigenin mənbəsini həm də fəallaşmış antigen-spesifik T hüceyrənin mövcud olmasını tələb edir.

Həllolan antigen afferent limfatik damarlar vasitəsilə periferiyadan limfa düyününə çatdırılır (bax Şəkil 23-7). Bakteriyaların çoxalması antigen kimi xidmət edə bilən mikrob materiallarının buraxılması ilə müşayiət edilir. Əgər yoluxma lokal toxumanın dağılması ilə baş verirsə, komplement kaskadın fəallaşması bakteriyaların öldürülməsi və onunla bərabər bakterial zülalların buraxılması ilə nəticələnir və bunlar da limfatik damarlarla boşalan limfa düyünlərinə çatdırılır. Komplement sistemin zülalları ilə kovalent modifikasiya olunmuş antigenlər, B-hüceyrə reseptorları üçün ko-reseptorlar rolunu oynayan hüceyrələrin komplement reseptorlarını cəlb etməklə B hüceyrələrin fəallaşmasında modifikasiya olunmamış rəqiblərindən üstündür. Öz BCR-ləri vasitəsi ilə antigenləri əldə edən B hüceyrələr endositoz yolu ilə antigen-anticism kompleksini daxilə mənimsəyir və onu II sinif MHC yolu ilə təqdim etmək üçün emal edir. Antigeni uğurla cəlb edən B hüceyrələr onu hüceyrə səthində ekspressiya olunan II sinif MHC-peptid kompleksi formasında T hüceyrəyə yardım çağırışına çevirir (Şəkil 23-37, pillə 2). Qeyd edək ki, antigen molekulundakı B-hüceyrə reseptoru tərəfindən tanınan peptid sonda hüceyrə səthində II sinif MHC molekulu ilə assosiasiya olunmuş şəkildə nümayiş etdirilən peptiddən kifayət qədər fərqli ola bilər. B hüceyrə epitopu və II sinif MHC ilə təqdim olunmuş peptid—T-hüceyrə epitopu—fiziki cəhətdən əlaqəli olduqda, uğurlu B hüceyrə differensiasiyasına və anticism istehsalına başlanıla bilər.

Bu əlaqəli tanınma anlayışı, yəni B hüceyrəsinin BCR-i tərəfindən antigenin cəlb edilməsi və antigen-törəməli fraqmentlərin II sinif MHC molekullar vasitəsilə T hüceyrələrə cəlb edilməsi, bizim aşağıda görəcəyimiz kimi, nəyə görə yüksək-affinlikli anticism cavabının uğurla alınması üçün molekulların istifadə oluna bilən minimum ölçüsünün olmasını izah edir. Belə immunogen molekullar bir neçə kriteriyaya yerinə yetirməlidirlər: onlar B-hüceyrə reseptoruna birləşən epitopa malik olmalıdırlar, onlar endositoza və proteolizə uğramalıdırlar, zülalın proteoliz olunmuş fraqmenti isə T-hüceyrə köməyinə çağırış kimi II sinif MHC-peptid kompleksi kimi təqdim olunmaq üçün xidmət edən II sinif allel MHC molekuluna birləşməlidir.

Çox hallarda tədqiqatçılar böyük bir zülalda kiçik bir peptid fraqmentini tanıyan anticism yaratmaq istəyirlər (ya poliklonal ya da monoklonal). Bu cürə anticismlər hədəf molekulun immunofluoressensiya və ya immunoçökdürmə yolu ilə aşkar edilməsi kimi müxtəlif eksperimentlərdə istifadə edilə bilər. Belə anticismlərə anti-peptid anticismləri deyilir. Əgər peptid təklidə immunogen kimi istifadə edilərsə (anticismi yaratmaq üçün heyvana inyeksiya olunursa [məsələn, dovşana, keçiyə, və ya siçanə]), yəqin ki, hətta peptidlə mükəmməl birləşə bilən BCR-i olan B hüceyrələr olsa belə, o güclü anticism əmələ gəlməsini uğurla induksiya etməyəcək. Bunun səbəbi odur ki, bu B hüceyrələrin proliferasiyanı və affinlik yetkinliyini idarə edən köməkçi T hüceyrələri səfərbər edə bilən eyni peptid ilə II sinif MHC kompleksini yarada bilməsi inandırıcı deyildir. Bu səbəbdən, anticismləri ayırmaq üçün istifadə edilən sintetik peptidlər daşıyıcı zülallara konyuqasiya edilərək onların immunogenliyi yaxşılaşdırılır, burada daşıyıcı zülal II sinif MHC məhsullarla təqdim olunmaq üçün peptidin mənbəyi rolunu oynayır. Yalnızca belə bir II sinif MHC-peptid kompleksinin T hüceyrə reseptoru vasitəsi ilə tanınması sayəsində T hüceyrə B hüceyrənin güclü və yüksək affinlikli anticism istehsalına gətirib çıxaran tam differensiasiya yolunu davam etdirməsi üçün lazım olan köməyi edə bilər.

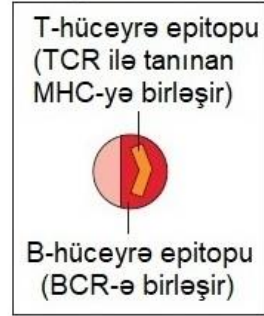
Bu konsepsiya zülallar və ya peptidlər üzərində edilən müəyyən dəyişiklikləri tanımağa qadir olan B hüceyrələrinə eyni dərəcədə tətbiq olunur. Kinazaların fosforlaşmış formasını tanıyan anticismlər adətən eksperimental heyvanların daşıyıcı zülala konyuqasiya edilmiş, fosforlaşdırılmış öyrənilən peptidin immunizasiyasından alınır. Müvafiq olaraq, spesifik B hüceyrə maraq peptidində fosforlaşmış saytı tanıyır, fosforlaşmış peptidi və daşıyıcını daxilə mənimsəyir və sonra daşıyıcının endosomal proteolizi yolu ilə peptidlərin kompleks dəstini yaradır. Bu peptidlər arasında həmin B hüceyrə tərəfindən daşınan II sinif MHC molekuluna birləşə bilən, ən azı biri olmalıdır. Əgər B hüceyrə səthində düzgün nümayiş etdirilərsə, bu II sinif MHC-peptid kompleksi II sinif MHC molekulunun və daşıyıcı-törəməli peptidlərin kompleksini tanıya bilən reseptorlarla təchiz olunmuş köməkçi T hüceyrələr tərəfindən təmin edilən T hüceyrə yardımına çevrilir.

Köməkçi T hüceyrə öz TCR-i vasitəsilə, B hüceyrəsinin nümayiş etdirdiyi II MHC-peptid kompleksi vasitəsilə antigen təcübəli B hüceyrəni təyin edir. B hüceyrə fəallaşmış T hüceyrələrinin istehsal etdikləri sitokinlər (məsələn, IL-4) üçün ko-stimullaşdırıcı molekulları və reseptorları da nümayiş etdirir. Bu B hüceyrələr T hüceyrələrlə qarşılıqlı təsirə girdikdən sonra proliferasiya edirlər. Onlardan bəziləri plazma hüceyrələrinə

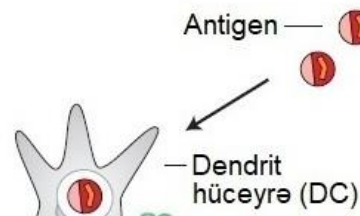
differentiasiya edir, digərləri kənar qalaraq yaddaş B hüceyrələrinə çevrilir. Onların istehsal etdikləri ilkin anticism həmişə IgM olur. Sinifin başqa izotiplərə keçməsi və somatik hipermutasiya (yüksək affinlikli anticism istehsalı və seçilməsi üçün lazımdır) antigenin davamlılığını və ya antigenə dəfələrlə təkrar məruz qalmanı tələb edir. B hüceyrələr bu prosesi inisiyasi etmək üçün sitokirlərdən başqa hüceyrə-hüceyrə əlaqələrini də tələb edir. Bu əlaqələrə B hüceyrədə olan CD40 zülalı və T hüceyrədə olan CD40L zülalı daxildir. Bu zülallar

TNF-TNF reseptorlar ailəsinin nümayəndələridirlər. HIV üzərində aparılan son zamanların tədqiqatları göstərir ki, geniş hipermutasiya geniş neytrallaşdırıcı anticismlərin (yüksək dərəcədə dəyişkən olan HIV izotiplərinin geniş seçimini neytrallaşdırıcı bilən anticismlər) yaranması üçün vacib şərtidir. Profilaktik məqsədlə, belə arzuolunan anticismləri yarada bilmək qabiliyyətində olan antigen(lər)in təbiətini başa düşmək üçün somatik hipermutasiyanın nəzarət olunmasında daha çox biliklər tələb olunacaqdır.

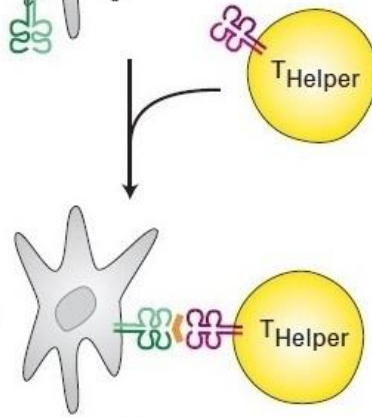
Antigen



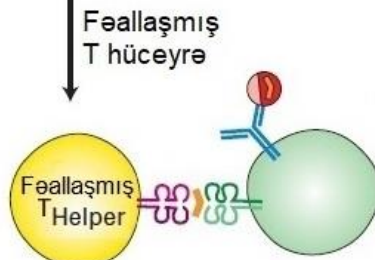
1 DC antigeni əldə edir və limfa düyününə keçir



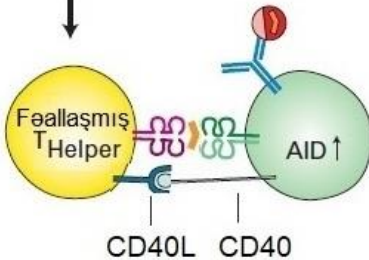
2 DC antigeni emal edib CD4 T hüceyrəyə təqdim edir



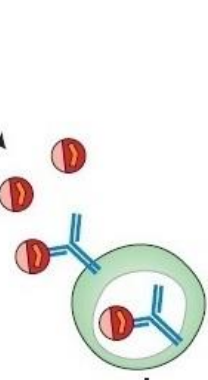
3a T hüceyrə, TCR-MHC qarşılıqlı təsir ilə B hüceyrə ilə əlaqəyə girir



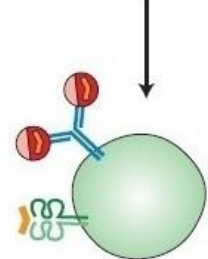
3b T hüceyrə, TCR-MHC vasitəsilə CD40L-CD40 qarşılıqlı təsirlə B hüceyrə ilə qarşılıqlı əlaqə qurur



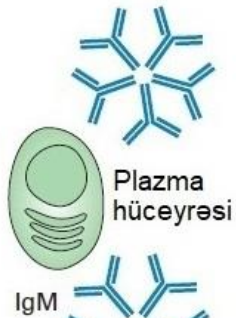
1 B hüceyrə antigeni əldə edir



2 B hüceyrə antigeni proses edir və səthdə II sinif MHC-peptid kompleksləri göstərir

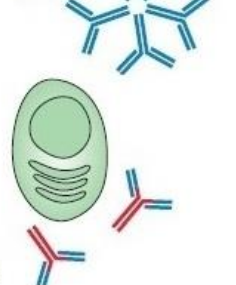


4a B hüceyrə fəallaşır və IgM ifraz edir



4b Hipermutasiya Sinif-keçirici rekombinasiya

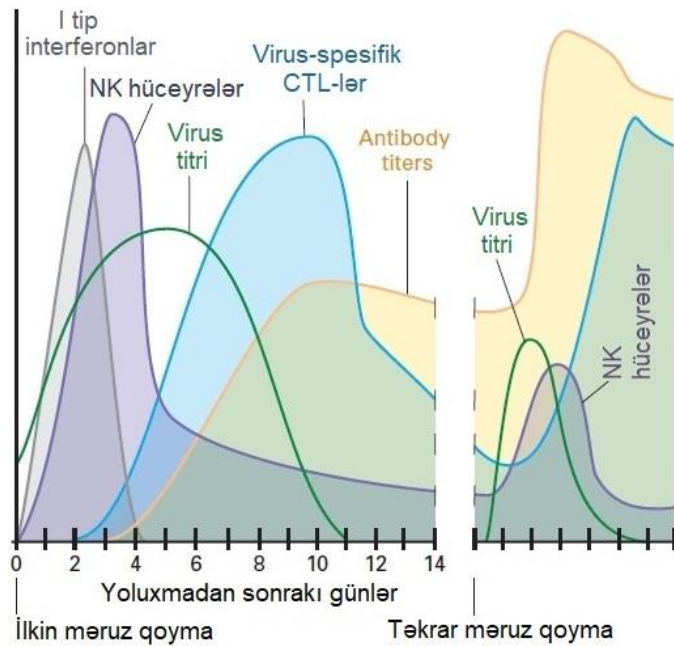
Başqa izotiplər
Yüksək-affinlikli immunoqlobulin



ŞƏKİL 23-37 T və B hüceyrələr arasında əməkdaşlıq anticismlərin istehsalını inisiyaya etmək üçün tələb olunur. Solda: T hüceyrələrin antigen-yüklənmiş dendrit hüceyrələr (DC) vasitəsilə fəallaşması. Sağda: B hüceyrələr vasitəsilə və onların sonrakı fəallaşması ilə antigenin alınması. Pilla 1: Professional antigen-təqdim edən hüceyrələr (dendrit hüceyrələr, B hüceyrələr) antigeni əldə edirlər. Pilla 2: Professional APC-lər antigeni daxilə mənimsəyir və emal edir. T-hüceyrə fəallaşması dendrit hüceyrələr antigeni T hüceyrələrə təqdim etdikdə baş verir. Pilla 3a: Fəallaşmış T hüceyrələr B hüceyrələrin səthində nümayiş etdirilən peptid-MHC kompleksləri

Peyvəndlər Müxtəlif Patogenlərə Qarşı Qoruyucu İmmuniteti Yaradır

Şübhəsiz ki, immunoloji prinsiplərin ən vacib praktiki tətbiqi peyvəndlərdir. Peyvəndlər yaradılmış zərərsiz olan materiallardır, amma o patogenin yoluxucu versiyasının çağırışlarına qarşı müdafiə məqsəd ilə immun cavabını yarada bilir (Şəkil 23-38). Peyvəndlərin nəyə görə olduqları qədər belə uğurlu olması həmişə məlum olmayıb, amma çox hallarda patogeni (virusları) neytrallaşdıran və ya mikrobiosid (mikrob öldürən) təsirləri göstərən anticismin yaradılmasının mümkünüyü uğurlu peyvəndin yaxşı göstəricisidir.



ŞƏKİL 23-38 Virus yoluxmasının zaman gedişi. Yoluxucu hissəciklərin sayının artdığı zaman görünən ilkin antiviral cavabı, təbii kiler (NK) hüceyrələrin fəallaşdırılmasını və I tip interferonların istehsalını əhatə edir. Bu cavablar qazanılmış immun cavabının bir hissəsidir. Anticismlərin istehsalı və sitotoksik T hüceyrələrin (CTL) fəallaşması nəticədə yoluxmanı təmizləyir. Eyni virusa təkrar məruz qoyma anticismlərin daha sürətlə və kəskin istehsalına və sitotoksik T hüceyrələrin daha tez fəallaşmasına səbəb olur. Müvəffəqiyyətli peyvənd immun cavabını, müəyyən mənada patogena ilk məruz qalmaya oxşar olaraq, amma xəstəliyin simptomlarını əhəmiyyətli dərəcədə əmələ gətirmədən induksiya edir. Əgər peyvənd olunmuş şəxs sonra eyni patogena məruz qalırsa, qazanılmış immun sistemi çox cəld və güclü cavab vermək üçün hazır olur.

vasitəsilə antigen təcrübəli B hüceyrələrini cəlb edir. Pilla 3b: Davamlı şəkildə fəallaşan T hüceyrələri CD40 ligandını (CD40L) ekspressiyasını inisiyaya edir, bu da B hüceyrələrin tam fəallaşmasını və sinif-keçid rekombinasiyanı və somatik hipermutasiyanı inisiyaya edərək fermentativ məşin (AID) işə salması üçün bir şəhətdir. Pilla 4a: Müvafiq təlimatı CD4 köməkçi T hüceyrələrdən CD40-CD40L qarşılıqlı əlaqələr formasında və uyğun sitokinlər şəkilində alan B hüceyrə digər immunoqlobulin izotipinə keçə və somatik hipermutasiyaya cəlb oluna bilər.

Bir sıra strategiyalar uğurlu peyvəndə apara bilər. Patogenin toxuma kulturasında ardıcıl serial keçirilməsi və ya bir heyvandan digərinə keçirilməsi çox zaman hələ də molekulyar əsası tam aydın olmayan *zəifləməyə* aparır. Peyvəndlər virulent patogenlərin canlı zəifləndirilmiş variantlarından ibarət ola bilər. Patogenin zəifləndirilmiş forması xəstəliyin zəif formasının və ya simptomlarının yaranmasına səbəb olur. Amma qazanılmış immun sisteminin bütün komponentlərini səfərbər etməklə belə zəifləndirilmiş canlı peyvəndlər anticismin müdafiə edən səviyyədə istehsalına səbəb ola bilər. Anticismin bu səviyyəsi yaşla bağlı olaraq dəyişə bilər, çünki immunoloji yaddaşa cavabdeh olan limfositlər məhdud yaşama dövrünə malik olurlar, ona görə də, tam mühafizəni təmin etmək üçün təkrar peyvəndə ehtiyac olur. Canlı zəifləndirilmiş peyvəndlər qrip, qızılca, məxmərək və vərəm kimi xəstəliklərə qarşı istifadə edilir. Sonrakı hallarda, xəstəlik törədən mikobakteriyanın zəifləndirilmiş ştamını istifadə edilir (Bacille Calmette-Guerin; BCG). Canlı zəifləndirilmiş poliovirus yaxın vaxtlara qədər peyvənd kimi istifadə olunsada, mutasiya nəticəsində poliovirusun daha çox canlı ştamlarının yenidən toplanma riski faydasından üstün olduğu üçün istifadəsi dayandırıldı. Hal-hazırda, Birləşmiş Ştatlarda və Avropada öldürülmüş polioviruslar peyvənd seçimi kimi istifadə olunsada, başqa yerlərdə zəifləndirilmiş canlı polivirus peyvəndlər istifadə edilməkdə davam edir.

İnsanda çiçək xəstəliyini yaranan insan variola virusuna (təbii çiçək virusu) yaxın qohum olan inək çiçəyi virusuna əsaslanan peyvəndlər çiçəyin aradan qaldırılmasında istifadə edilmişdir, bu yoluxucu xəstəliklərin aradan qaldırılmasının ilk nümunəsidir. Poliomeilit üçün də oxşar uğurlu cəhətlər başa çatmaq üzrədir, sosial-iqtisadi və siyasi faktorlar və ya silahlı toqquşmalar çox zaman peyvəndlərin daxil edilməsini çətinləşdirir, son zamanlar Asiyada görüldüyü kimi, xəstəliyin yenidən yayılmasına səbəb olur.

Peyvəndin başqa bir əsas tipi subvahid vaksin adlanır. Yoluxucu bakteriyanın və ya virusun canlı zəifləndirilmiş ştamından yalnız onun bir və ya bir neçə komponentindən (bütöv bir patogenin subvahidindən) istifadə edilməklə immunitet yaradılır. Müəyyən hallarda, bu yanaşma peyvənd üçün istifadə edilən antigenin canlı, virulent mənbəyi ilə yaranan problemə qarşı davamlı müdafiəni təmin etmək üçün kifayətdir. Bu yolla hepatit B virusu ilə yoluxmaların qarşısının alınmasında uğur qazanıldı. Qripə qarşı çox istifadə olunan peyvəndlər əsasən virusun qabıq zülalları neyroaminidaz və hemaqlutininə ibarətdir (bax Fəsil 3-11), bu peyvəndlər neytrallaşdırıcı anticismlərin yaradılmasına səbəb olur. Uşaqlığın boyun xırçənginin yaranmasına səbəb olan, insan papillomavirusu HPV 16 serotipinə qarşı peyvənd üçün virusun

kapsid quruluş zülallarından ibarət olan, amma onun genetik materiallarından məhrum edilmiş virusabənzər hissəciklər yaradılmışdır, bu hissəciklər yolxucu deyildir, amma bir çox cəhətdən bütöv virusu təqlid edir. Artıq insanlarda istifadə olunmaq üçün lisenziya alan HPV peyvəndi, uşaqlığın boyun xərçənginə hassas populyasiyada bu xəstəliyə tutulmanın təxminən 80 faizə qədər qarşısının alınması gözlənilir, bu vaksinin müəyyən bir xərçəng növünün qarşısını alan peyvəndin ilk nümunəsidir.

Əhalinin sağlamlığı baxımından ucuz istehsal olunan və geniş yayılmış peyvəndlər yolxucu xəstəliklərin qarşısını almaq və ya hətta aradan qaldırmaq üçün nəhəng vasitədir. Hazırkı cəhdlər başqa cürə səmərəli müalicə üsulu olmayan xəstəliklərə (Ebola virusu) qarşı və ya sosial-iqtisadi şəraitin dərmanların çatdırılmasında problemlər yaratdığı (malaria, HIV) yerlərdə peyvəndlərin istehsalına yönəlmişdir. İmmunitet sisteminin necə işlədiyini daha dolğun şəkildə anlamaqla, mövcud peyvəndlərin dizaynını yaxşılaşdırmaq və bu prinsipləri hazırda heç bir uğurlu peyvəndi olmayan xəstəliklərə qarşı yaymaq lazımdır. Qalan problem patogenlərin ala biləcəyi kütləvi genetik dəyişmələrdir: HIV-in səhvə-meylli geriye transkriptazası virus replikasiyanın hər bir ardıcıl dövrəsində mutasiyaları daxil edir və saysız-hesabsız variantları yaradır. Həyat qabliyyətli belə mutasiyaları daşıyan variasiyalar immun sistemi tərəfindən aşkar olunmaqdan yayına bilir. Ona görə də, səmərəli peyvəndlərin dizayn olunması mutasiyalara dözməyən və qazanılmış immun sistem tərəfindən "görünə bilən" bu quruluş elementlərinə yönəlməlidir. ■

İmmun sistemi xərçəngə qarşı mühafizə edir

İmmun sistemi yalnız patogenlərlə yoluxmadan yaranan nəticələrə qarşı müdafiəni yaratmır, o həmçinin xərçəngdən qorunmağa qarşı da kömək edir. Bizim artıq gördüyümüz kimi, qazanılmış immun sistemi mənfii seçim yolu ilə çoxsaylı özünə-reaktiv B və T hüceyrələrindən təmizlənir. Bu prosedən yayınan özünə-reaktiv limfositlər adətən susurlar, çünki onlar müvafiq ko-stimulyator siqnallarla təmin olunmurlar. RAG somatik rekombinasiya mexanizmi və ya HIV ilə yaranan immun çatışmazlığı kimi kəskin immunosupressiyaya səbəb olan şəraitlərdə, yalnız transformasiya olunmuş xərçəng əmələ gətirən viruslarla deyil, həmçinin karsinogenlə yaranan xərçəngin əmələ gəlməsi ehtimalı artır. Bu müşahidələr xərçəngdən-öncəki hüceyrələrin nəzarət olunmasında immun cavabının rolunu müəyyən edir.

Yada salmaq ki, B və T hüceyrələr fəallaşmaq üçün yalnız onların antigen-spesifik reseptorlarını deyil, həmçinin ko-stimullaşdırıcı siqnalları da (məsələn, T hüceyrələrdə CD28-in cəlb olunmasını da) tələb edir. Bu ko-stimullaşdırıcı siqnalların tutulub saxlanması T hüceyrələrin seçilməsi zamanı silinmədən (**delesiyadan**) yan keçən istənilən özünə-reaktiv limfosit susdurur və ya antigenə cavabsız qalmağa vadar edir. Şiş hüceyrələri onları doğuran əcdad hüceyrələrə həddən çox oxşadığından (bax Fəsil 24) və xərçəngin əmələ gəlməsinə səbəb olan yalnız çox az mutasiyalar ("sürücü" genlərdə) tələb olunduğundan, immunitetin tanınmasının xərçəngdən öncəki T hüceyrələrin daha böyük şişlərə çevrilmək şansları olmadan aradan qaldırılmasına necə kömək etməsi dərhal aydın deyildir.

Bununla belə, somatik mutasiyalar—hətta o mutasiyalar ki, təsadüfi olurlar və xərçəngin əmələ gəlməsində birbaşa iştirak etmirlər—inkışaf edən şiş hüceyrəsində antigen-spesifik reseptorlar tərəfindən tanınan qondarma neo-antigenləri yarada bilirlər. Öz ağciyərlərini bütün məhsullarına məruz qoyan, ağır siqaret çəkən adamların qarşılaşdığı kimi, kimyəvi mutagenlər yalnız tümorogenizi idarə edən sürücü genlərdə mutasiyanın yaranmasına səbəb olmur, o həmçinin başqa genlərdə də mutasiyaya (sənişin mutasiyalarına) səbəb olur, inkışaf edən immun sisteminin heç zaman məruz qalmadığı dəyişilmiş gen məhsullarının geniş spektrini təmin edir. Bu mutagenlə-induksiya olunan neo-antigenlərdə immun tolerantlığı olmazsa, onlar sahibin immun sisteminin tanınması üçün hədəfə çevrilə bilirlər.

Tez-tez hallarda, transformasiya olunmuş fenotip ilə müşayət olunan gen ekspressiyasının tənzimlənməsinin pozulması inkışafın çox erkən vəziyyəti üçün xarakterik olan, differensiasiya edən antigenlərin yenidən ekspressiyası ilə nəticələnir. Əgər bu differensiasiya antigenləri inkışafın immun sisteminin tam yetişmədiyi mərhələsində ekspressiya olunarsa, belə differensiasiya antigenlərinə qarşı immun tolerantlığı yarana bilmir. Ona görə də belə antigenlər immun tanınması üçün hədəf ola bilirlər. Nəhayət, müəyyən gen məhsullarının səviyyəsi artıq xərçəng hüceyrələrində düzgün tənzimlənmə bilmir və çox azalmış səviyyələrdə olsa da, normal halda sahib tərəfindən hazırlanan zülalların olmasına baxmayaraq, immun tanınması üçün tələb olunan həddi keçə bilirlər.

Beləliklə, xərçəng hər şeydən əvvəl mutasiyaların səbəb olduğu və təsiri epigenetik hadisələr tərəfindən dəyişdirilən xəstəlik hesab edilə bildiyi üçün (bax Fəsil 24), xərçəng hüceyrələrinin immuniteti tanıma potensialı vardır. Bundan başqa, virusa və ya bakteriyaya qarşı immun cavabının immun-sistemi tərəfindən artıq tanınmayan variantlarının artmasına səbəb ola biləcəyi eyni şəkildə, immun sistemi tərəfindən edilən selektiv təzyiç mümkün olan şiş antigeninin ekspressiyasını itirən xərçəng hüceyrələrinin variantlarının yaranmasına səbəb ola bilər. Məsələn, bir-çox yoğun bağırsağ xərçəngi I sinif MHC məhsullarının azalmış səviyyəsini və ya ekspressiyasının tamamilə itirilməsini göstərir və beləliklə sitotoksik T hüceyrələrə görünməz olurlar.

Şişin mikromühiti stromal hüceyrələrdən: fibroblastlardan və makrofaqlar daxil olmaqla myeloid-törəməli hüceyrələrdən ibarətdir. Məlumdur ki, limfositlər neytrofillər etdiyi kimi şişə hücum edirlər. Şiş hüceyrələri ilə bu hüceyrələrin yerləşdiyi mikro mühit arasındakı əlaqə, hətta şiş hüceyrələrinin özlərinin tanınmaq üçün kifayət qədər antigenik olaraq fərqlənməsinə baxmayaraq, şiş əleyhinə müvəffəqiyyətli immun reaksiyasına mane olan immunosupressiv şərait yarada bilirlər. İmmunosupressiv mühitin qurulmasında vacib rol oynayanlar, ekspressiyası T hüceyrələrin tam fəallaşması və yetkinləşməsi zamanı artan CTLA4 kimi immunoloji nəzarət nöqtələri adlandırılan molekulardır. Normal halda, CTLA4 immun cavabının dayandırılmasında rol oynayır, amma onun şiş-spesifik T hüceyrələrində ekspressiyası onun şişə qarşı fəaliyyətini təhlükə altında qoyacaqdır. Bundan başqa, timus və periferik limfoid kompartimentlər digər T hüceyrələrinin fəaliyyətini boğmağa qadir olan Treg hüceyrələrini istehsal edirlər. Treg hüceyrələrinin bolluğu başqa T hüceyrələrin şişə hücumunun qarşısını alır. Eyni məntiq ilə, bu Treg hüceyrələr

autoimmün xəstəliyin başlanmasının qarşısını almaq və ya şiddətini azaltmaq üçün bir vasitə kimi potensial özünə-reaktiv T hüceyrələri nəzarətdə saxlaya bilir.

İmmun cavabının iki əsas ingibitoru T hüceyrələrdə PD-1 və T hüceyrə hədəflərində PDL-1-dir. Bu zülallar cütü T-hüceyrə funksiyasını ingibirləşdirir. Xərçəngin müalicəsində möhtəşəm bir irəliləyiş ingibirləşdirici CTLA4 və PD-1 zülallarını hədəf edən anticismlərin istifadə edilməsidir. Metastatik melanoma xəstələrinin başqa müalicələrə reaksiya verməyən 30-50 faizə qədər bu anticismlə müalicəyə reaksiya verirlər, bu da xəstəliyin tam zəifləməsi və hətta müalicəsi ilə nəticələnir. Oxşar yanaşmalar ağciyər və böyrək xərçənginin müxtəlif formalarını müalicə etmək üçün aparılır. Anti-CTLA4 ilə müalicə, şiş antigenlərini tanımaqla yanaşı, Treg hüceyrələrinin fəaliyyətini də ləğv edə bilən sitotoksik T hüceyrələrinin repertuarını genişləndirir. Anti-PD-1 ilə müalicə şişin T-hüceyrə tərəfindən tanınmasını gücləndirir. Bəlkə də buna istehza ilə yanaşılır ki, tütün məhsullarına güclü şəkildə məruz qalmış siqaret çəkənlər xərçəngdə daha çox mütləq yükünün olmasına görə müalicənin bu formasından daha çox bəhrələnmə bilirlər.

23.6 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Qazanılmış İmmun Cavabında İmmun Sistemi Hüceyrələrinin Əməkdaşlığı

- Dendrit hüceyrələri kimi antigen-təqdim edən hüceyrələr onların Toll-bənzər reseptorlarına çatdırılan siqnallar vasitəsilə fəallaşmanı tələb edirlər. Bu reseptorlar geniş şəkildə, bakteriyalar və viruslar tərəfindən istehsal olunan makromolekullara spesifikdirlər. TLR-lərin cəlb olunması NF-κB siqnal yolunu fəallaşdırır ki, bunun da nəticələrinə iltihab sitokinlərinin sintezi daxildir (bax Şəkil 23-35).
- Fəallaşma zamanı, dendrit hüceyrələri miqrasiya edirlər və limfa düyünlərinə keçirlər, T hüceyrələrlə qarşılaşmağa hazır olurlar. Dendrit hüceyrələrin fəallaşması həm də onların

Açar sözlər

affinlik yetişməsi
antigen
antigen prosessinqi və təqdimatı
autoimmunitet
B hüceyrələr
B-hüceyrə reseptoru (BCR)
dendrit hüceyrələr
epitop
əsas histouyğunluq kompleksi (MHC)
əsas limfoid orqan
Fc reseptor
ikinci limfoid orqan
iltihab
immunoqlobulinlər
inflammasom
interleykinlər
izotiplər
kemokinlər

MHC-peptid komplekslərini nümayiş etdirməsini və T-hüceyrə cavabının inisiyasyonu üçün tələb olunan ko-stimullaşdırıcı molekulların ekspressiyasını gücləndirir.

- B hüceyrələri tam differensiasiya proqramını həyata keçirmək və plazma hüceyrələrinə çevrilmək üçün T hüceyrələrin köməyini tələb edir. B hüceyrələrinə antigen-spesifik kömək B hüceyrələrin səthində olan II sinif MHC-peptid komplekslərini tanıyan fəallaşmış T hüceyrələr tərəfindən edilir. Bu B hüceyrələr antigeni BCR-lə vasitələnmə endositoz yolu ilə daxilə mənimsəyərək müvafiq MHC-peptid komplekslərini yaradırlar, ardınca da antigen prosessinqi (emalı) və II sinif MHC yolu ilə təqdim olunmağa baş verir (bax Şəkil 23-37).
- Fəallaşmış T hüceyrələri tərəfindən istehsal olunan sitokinlərdən başqa, B hüceyrələri somatik hipermutasiyanı və sinif-keçid rekombinasiyasını inisiyasyon etmək üçün fəallaşmış hüceyrə-hüceyrə əlaqələrini də tələb edirlər. Bu əlaqələr B hüceyrələrdə CD40 və T hüceyrələrdə CD40L daxildir.
- T və B hüceyrələri arasında əməkdaşlığın immunoloji konsepsiyasının əhəmiyyətli təbiiqinə peyvəndlər daxildir. Peyvəndlərin ən geniş yayılmış formalarına patologiyaya səbəb olmadan müdafiə edici immün cavabını yaradan zəiflədilmiş canlı viruslar və ya bakteriyalar və subvahid vaksinlər daxildir.
- Qazanılmış immün sistemi çox hallarda normal hüceyrələri və onların xərçəng versiyalarını fərqləndirə bilər. İmmun-sisteminin xərçəng hüceyrələrini aşkar etməsini çətinləşdirən çox hallarda normal və transformasiya olunmuş hüceyrələr arasında nisbətən kiçik fərqlərin olmasıdır.
- İmmunoloji yoxlama məntəqələri normal vəziyyətdə immün reaksiyasını söndürmək və ya nəzarət etmək üçün antigen-spesifik T hüceyrələrinin fəaliyyətini zəiflədir.

klonal seçmə nəzəriyyəsi
komplement
köməkçi T hüceyrələr
qovşaq yanılışlığı
limfositlər
makrofaqlar
neytrofillər
opsonizasiya
plazma hüceyrələri
sitokinlər
sitotoksik T hüceyrələr
somatik rekombinasiya
T hüceyrələr
təbii killer (NK) hüceyrələr
T-hüceyrə reseptorları (TCR)
Toll-bənzər reseptor (TLR)
transsitoz
yaddaş hüceyrələri

Konsepsiyalara Baxış

1. Aşağıdakı patogenlərdən hər birinin öz sahib orqanizmində immun sistemini susdurmaq və ya öz xeyirinə istismar etmək yollarını təsvir et:
 - a. *Staphylococcus*-un patogen ştammi;
 - b. Qabıqlı virus.
2. Leykositlər orqanizmdə öz fəaliyyətini yerinə yetirərkən onların bütün bədən boyu hərəkət yollarını izlə.
3. Daxili toxumaları mikrob hücumundan müdafiə edən əsas mexaniki və kimyəvi mühafizələri təyin et.
4. Komplement fəallaşmanın klassik yolunun alternativ yolla ziddiyyətini müqayisə et.
5. 1905-ci ildə hansı sübutlar Emil von Behrinqin anticisləri və komplement sistemləri aşkar etməsinə səbəb oldu?
6. Oponizasiya nədir? Bu prosesdə antibiotiklərin rolu nədən ibarətdir?
7. B hüceyrələrində hansı mexanizm yalnız yenidəntəşkil olunmuş V genlərin transkripsiyasını təmin edir?
8. Pro-B hüceyrələrdə məhsuldar ağır-zəncirin yenidənqurulması baş verdikdən sonra immunoqlobulin ağır-zəncir gen seqmentlərinin daha da yenidən qurulmasına mane olan nədir?
9. B hüceyrələri IgM anticislərini istehsal edən formadan istənilən digər Ig izotipini istehsal edən sinifə keçməyə necə və nəyə görə uğrayırlar?
10. Anticisim cavabının affinlik yetişməsinin əsasında hansı biokimyəvi mexanizm durur?
11. I sinif və II sinif MHC molekullarının quruluşunu müqayisə et və qarşı-qarşıya qoy. Hər bir MHC molekulu sinifini hansı hüceyrələr ekspressiya dirlər? Onların funksiyası nədir?
12. Antigen prosessinqinin altı pilləsini və onların I sinif MHC yolu ilə təqdimatını təsvir et.
13. Antigen prosessinqinin altı pilləsini və onların II sinif MHC yolu ilə təqdimatını təsvir et.
14. Özünə-reaktiv T hüceyrələrin timusdan çıxmasına mane olan nədir?
15. Nəyə görə T hüceyrələr vasitəsilə autoimmun xəstəliklərinin II sinif MHC genlərin xüsusi allelləri ilə bağlı olduğunu izah et.
16. Antigen-təqdim edən hüceyrələr və T hüceyrələr B-hüceyrə fəallaşmasında necə iştirak edirlər?
17. Patogen daxil olan andan onun təmizlənməsinə qədər anadangəlmə və qazanılmış immun cavablarındakı hadisələri təsvir et.
18. Passiv immunizasiyanı təyin et və buna aid nümunəni göstər.
19. Xəstəni yoluxdurmaq imkanı ilə QİÇ (HIV) yoluxmasına qarşı peyvəndi necə yaradardın?
20. Qripə qarşı illik peyvənd vurulması ya canlı zəiflədilmiş qripə virusudur ya da virusun subvahidləridir (qabıq zülalları neuraminidaza və hemaqqlutanin). Qripə qarşı illik peyvənd sizi yoluxmadan necə müdafiə edir?
21. Maraş zülalına qarşı monoklonal və ya poliklonal anticislərin yaradılması protokolu tərtib et.
22. Plazma hüceyrəsinin heç biri fəaliyyət göstərməyən insanı təsvir et. Bu şərait insanın qazanılmış immun sistemində hansı

təsirləri biruzə verəcəkdir? Yaxud anadangəlmə immun sistemində hansı təsirləri biruzə verəcək?

Ədəbiyyat

Sahibin müdafiəsinə ümumi baxış

Akira, S., K. Kiyoshi Takeda, and T. Kaisho. 2001. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunol.* **2**:675–680.

Heyman, B. 2000. Regulation of antibody responses via antibodies, complement, and Fc receptors. *Annu. Rev. Immunol.* **18**:709–737.

Immunoqlobulinlər: Quruluşu və Funksiyası

Amzel, L. M., and R. J. Poljak. 1979. Three-dimensional structure of immunoglobulins. *Annu. Rev. Biochem.* **48**:961–997.

Williams, A. F., and A. N. Barclay. 1988. The immunoglobulin superfamily—domains for cell-surface recognition. *Annu. Rev. Immunol.* **6**:381–405.

Anticisim Müxtəlifliyinin Yaradılması və B-Hüceyrə İnkişafı

Hozumi, N., and S. Tonegawa. 1976. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**:3628–3632.

Jung, D., et al. 2006. Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. *Annu. Rev. Immunol.* **24**:541–570.

Schatz, D. G., M. A. Oettinger, and D. Baltimore. 1989. The V(D)J recombination activating gene, RAG-1. *Cell* **59**:1035–1048.

MHC və Antigen Təqdimatı

Bjorkman, P. J., et al. 1987. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* **329**:506–512.

Brown, J. H., et al. 1993. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* **364**:33–39.

Peters, P. J., et al. 1991. Segregation of MHC class II molecules from MHC class I molecules in the Golgi complex for transport to lysosomal compartments. *Nature* **349**:669–676.

Rudolph, M. G., R. L. Stanfield, and I. A. Wilson. 2006. How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. *Annu. Rev. Immunol.* **24**:419–466.

Zinkernagel, R. M., and P. C. Doherty. 1974. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature* **248**:701–702.

T hüceyrələr, T-Hüceyrə Reseptorları və T-Hüceyrə İnkişafı

Dembic, Z., et al. 1986. Transfer of specificity by murine alpha and beta T-cell receptor genes. *Nature* **320**:232–238.

Kisielow, P., et al. 1988. Tolerance in T-cell-receptor transgenic mice involves deletion of nonmature CD4+8+ thymocytes. *Nature* **333**:742–746.

Miller, J. F. 1961. Immunological function of the thymus. *Lancet* **30**(2):748–749.

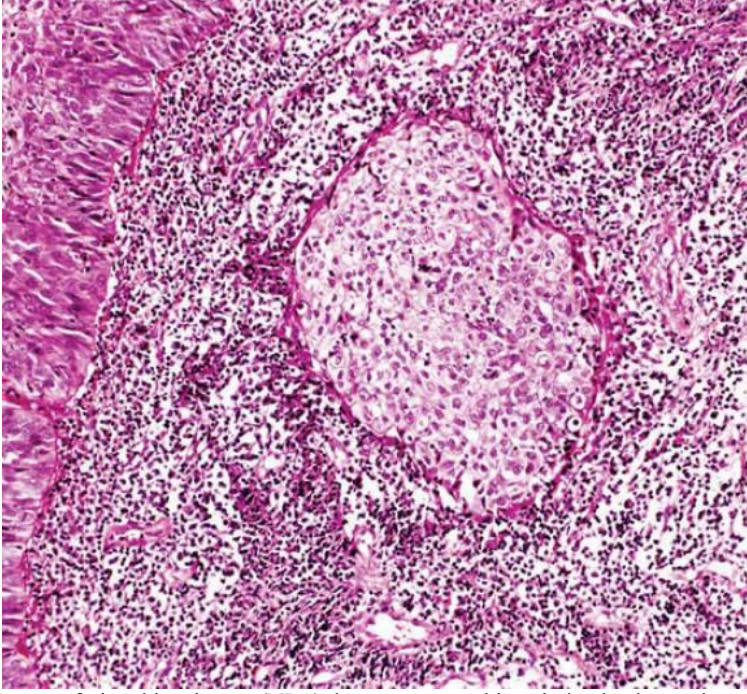
Qazanılmış İmmun Cavabı zamanı İmmun-Sistemi

Hüceyrələrinin Birgə Fəaliyyəti

Banchereau, J. 2002. The long arm of the immune system. *Sci. Am.* **287**:52–59.

Plotkin, S. A., and W. A. Orenstein. 2003. *Vaccines*, 4th ed. Saunders. Smith, Jane S. 1990. *Patenting the Sun: Polio and the Salk Vaccine*. Morrow.

20 years of HIV science. 2003. *Nat. Med.* **9**:803–843. A collection of opinion pieces on the prospects for an AIDS vaccine.



XƏRÇƏNG

Bu nazofaringal karsinoma (NPC), boğazın yuxarı hissəsində olan boğaz-burun epitelisinin selikli qişasında yaranan bədxassəli şişdir. NPC-lər siqaret çəkməkdən, və ya nitrozaminlə zəngin qidalarla (duzlu balıq kimi) qida ilə qidalanmadan və ya Epstein-Barr virusu (EBV) ilə yoluxmadan yarana bilər. Kəsikdə köstərilən hematoksin və eozinlə rənglənmişdir. [Biophoto Associates/Science Source.]

Hər il Birləşmiş Ştatlarda baş verən ölüm hallarının beşdə birinə xərçəng səbəb olur. Dünyada il ərzində hər 100000 ölən insandan 100-dən 350-ə qədəri xərçəngdən olur. Xərçəng adətən hüceyrənin böyüməsinə və proliferasiyasına nəzarət edən mexanizmin işləməməsi nəticəsində yaranır. Normal inkişafın gedişində və bütün yetkinlik dövründə mürəkkəb genetik nəzarət sistemləri, böyümə siqnallarına, böyüməni- ingibirləşdirən siqnallara və ölüm siqnallarına cavab olaraq hüceyrənin doğulması və hüceyrənin ölümü arasındakı tarazlığı tənzimləyir. Hüceyrənin doğulması və ölümü sürəti onun artma sürətini və yetkin bədən ölçüsünü təyin edir. Bəzi yetkin toxumalarda hüceyrə proliferasiyası konstant toxumayeniləşməsi strategiyası kimi fasiləsiz şəkildə davam edir. Məsələn, bağırsağ epitel hüceyrələri yalnız bir neçə gün yaşayaraq ölür və yeniləri ilə əvəz olunur, bəzi ağ qan hüceyrələri çox sürətlə əvəz olunurlar, dəri hüceyrələri isə yalnız 2-4 həftə yaşaya bilər. Amma, çox yetkin toxumalarda hüceyrələr sağalma prosesi istisna olmaqla normal halda proliferasiya etmirlər. Belə stabil hüceyrələr (məsələn, hepatositlər, ürək əzələ hüceyrələri, neyronlar) uzun müddət, hətta bütün orqanizmin tam həyatı boyu funksional qala bilərlər. Normal proliferasiya sürətini saxlayan mexanizmlər düzgün fəaliyyət göstərməyib hüceyrənin hədsiz dərəcədə bölünməsinə səbəb olanda xərçəng xəstəliyi əmələ gəlir.

İCMAL

24.1 Şiş Hüceyrələri Normal Hüceyrələrdən Necə Fərqlənir

24.2 Xərçəngin İnkişafının Mənşəi

24.3 Xərçəngin Genetik Əsasları

Əksər və ya bütün xərçəngin yaranmasına səbəb olan hüceyrə tənzimlənməsinin itirilməsi çox hallarda şiş əmələ gətirən kimyəvi maddələrin, hormonların və bəzi hallarda virusların səbəb olduğu genetik zədələnmənin nəticəsidir. Genlərin üç geniş sinifində mutasiyalar xərçəngin başlanmasında iştirak edirlər. **Protoonkogenlər** normal halda hüceyrənin böyüməsinə təşviq edir, mutasiyalar onları gen məhsulları hüceyrə artmasının təşviq olunmasında hədsiz dərəcədə fəal olan **onkogenlərə** çevirir. Onkogen mutasiyalar adətən ya gen ekspressiyasının artması ya da hiperfəal gen məhsullarının istehsalı ilə nəticələnir. **Şiş-supressor genlər** normal halda hüceyrənin artmasına mane olur, belə ki, onları fəalsızlaşdırən mutasiyalar müvafiq olmayan hüceyrə bölünməsinə imkan verir. Çox zaman xərçənglə əlaqəli olan, **genomun qorunub saxlanması genləri** adlanan üçüncü sinif genlər genomun bütövlüyünün qorunub saxlanılmasında iştirak edirlər. Bu genlər fəalsızlaşanda hüceyrələr sürətlə hüceyrə böyüməsinin və artmasının tənzimlənməsini pozan mutasiyaların daxil olduğu əlavə genetik dəyişiklikləri qazanır və xərçəngin yaranmasına səbəb olur. Bu üç sinifə daxil olan çox genlər hüceyrə proliferasiyasının tənzimlənməsinə (məsələn, hüceyrə tsikli yolu ilə çoxalma) və ya apoptoz yolu ilə hüceyrə ölümünə kömək edən zülalları kodlaşdırır, digərləri DNT zədələnmələrinin reparasiyasında (bərpaşında) iştirak edən zülalları kodlaşdırır.

24.4 Xərçəngdə Hüceyrə Artmasının və Ölümünün Düzgün Tənzimlənməməsi

24.5 Xərçəngdə Hüceyrə Tsikli və Genomun Qorunub Saxlanması Yollarının Tənzimlənməsi

Xərçəngin *onkogenез* və ya *tumorigenez* adlanan əmələgəlmə prosesi genetik və ətraf mühit arasındakı qarşılıqlı əlaqədir. Əksər xərçənglər genlərin **karsinogenlər** adlanan xərçəng-əmələgətirən kimyəvi maddələr tərəfindən dəyişməsi nəticəsində və ya onların nüsxələrinin köçürülməsi zamanı baş verən səhvlər nəticəsində yaranır. Genetik zədələnmə hətta bir hüceyrədə baş versə də bu hüceyrənin bölünməsi zədələnməni əmələ gələn yeni qız hüceyrələrə də ötürür, zədələnməmiş hüceyrənin klonunun əmələ gəlməsinə səbəb olur. Amma, nadir hallarda tək bir gendəki mutasiya xərçəngin yaranmasına səbəb ola bilər. Tipik olaraq, çoxsaylı genlərdə olan mutasiyalar seriyası progressiv və daha sürətlə proliferasiya edən, normal hüceyrə məhdudiyətlərindən qaçan hüceyrə tiplərini yaradır, əlavə mutasiyaların baş verməsinə imkanlar yaradır. Hüceyrələr normal epitelidən yan keçmək qabiliyyəti və oksigen əldə etmək üçün damarların artırılmasını stimullaşdırmaq qabiliyyəti kimi onlara üstünlük verən başqa xüsusiyyətləri də qazanırlar. Tədricən sonda koloniya böyüyərək şişə çevrilir. Bəzi hallarda, hüceyrələr əsas şişdən çıxaraq yeni sahələrə miqrasiya edir və orada ikinci dərəcəli şişləri yaradırlar, bu prosesə **metastaz** deyilir. Əksər xərçəng ölümləri invaziv, sürətlə böyüyən metastaz şişlərin hesabına olur.

Xərçəngdə zaman çox əhəmiyyətli rol oynayır. Hüceyrənin şiş əmələ gətirməsi üçün tələb olunan çoxsaylı mutasiyaların toplanması uzun illər hesabına başa gələ bilər, ona görə də xərçənglərin çoxu həyatın son dövrlərində meydana gəlir. Çoxsaylı mutasiyalar üçün olan tələbat həm də yalnız bir mutasiyanın səbəb ola biləcəyi onkogenin əmələ gəlməsi ilə müqayisədə xərçəngin tezliyini azaldır. Amma əslində, çox sayda hüceyrə mutagenləşir və ömrümüz boyu dəyişdirilmiş böyümə üçün sınaqdan keçir, bu mutagenləşmiş hüceyrələrin xeyrinə güclü bir seçimdər, biz onu bu vəziyyətdə istəmirik. Daha sürətlə proliferasiya edən hüceyrələr daha sürətlə çoxalırlar, daha sonrakı genetik dəyişikliyə uğrayırlar və çox progressiv təhlükəli hala çevrilə bilərlər. Bundan başqa, xərçəng çoxalma yaşından sonrakı dövrdə daha tez-tez rast gəlinir, buna görə də reproduktiv uğurda az rol oynayır. Beləliklə, xərçəng geniş yayılmış haldır, müəyyən mənada getdikcə artan daha uzun insan ömrünü əks etdirir, eyni zamanda xəstəliyə qarşı seçimli təzyiğin olmamasını əks etdirir.

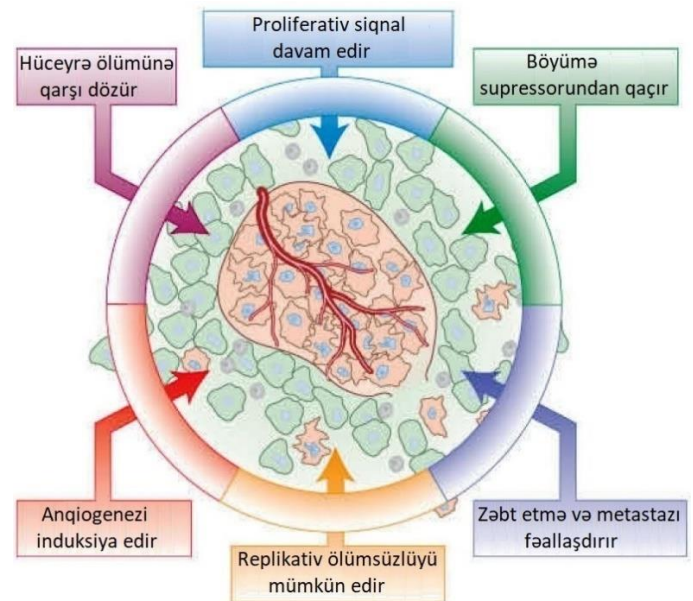
Kliniki cəhətdən xərçənglər onların yarandığı toxumanın embrionik mənşəyinə görə təsnifləşdirilirlər. Endodermadan (bağırsağ epitelisi) və ya ektodermadan (dəri və sinir epitelisi) törəyən toxumalarda yaranan bəd xassəli şişlər *karsinomalar*, mezodermadan (əzələ, qan, birləşdirici toxuma səəfləri) törəyən toxumada yarananlar isə *sarkomalar* adlanır. Karsinomalar bəd xassəli şişlərin daha çox yayılan ümumi formasıdır (90- faizdən çoxu). Şişlərin əksəriyyəti bərk kütlədən ibarətdir, amma sarkomaların bir tipi olan *leykemiya*larda qanda fərdi hüceyrələr şəkilində artır. (*Leykemiya* adı Latınca "ağ qan" sözündən götürülmüşdür: leykemik hüceyrələrin kütləvi proliferasiyası xəstələrdə qanın süd şəkilinə düşməsinə səbəb olur.)

Bu fəsildə biz, əvvəlcə xərçəngdə hüceyrə homeostazının hər bir aspektlərini və hüceyrələrin öz ətraf mühiti ilə qarşılıqlı əlaqəsini necə dəyişməsinə işıqlandırmaqla şiş hüceyrələrinin xassələrini təqdim edirik. Sonra biz xərçəngin mənşəyini müzakirə edirik və bəd xassəli şişin, çox zaman metastatik xərçənglərin yaranmasına səbəb olan təkamül prosesini təsvir edirik. Ardınca, biz xərçəng hüceyrələrinin unikal

xarakteristikasına aparan genetik dəyişikliklərin ümumi tiplərinə və somatik və irsi mutasiyalar arasındakı əlaqələrə baxırıq. Növbəti bölmə həm böyüməni-təşviq edən həm də böyüməni-ingibirləşdirən proseslərə təsir edən mutasiyaların necə hüceyrə proliferasiyasını artması ilə nəticələnməsini ətraflı tədqiq edir. Biz fəsili hüceyrə tsiklinin pozulmasının xərçəngdə rolunun müzakirəsi və genomun bütövlüyünün qırılmasının tümorogenin əmələ gəlməsinə köməyinin müzakirəsi ilə yekunlaşdırırıq.

24.1 Şiş Hüceyrələri Normal Hüceyrələrdən Necə Fərqlənir

Xərçəngin genetik əsaslarını detalları ilə tədqiq etməzdən öncə, şiş hüceyrələrinin onları normal hüceyrələrdən fərqləndirən əsas xassələrinə baxaq. Normal hüceyrədən xərçəng hüceyrəsinə dəyişmə ümumiyyətlə çoxsaylı pillələrdən keçir, hər bir pillə hüceyrəyə onun şiş əmələ gətirməsinə imkan verən bir xassəni təqdim edir. Onkogenin əsasında duran genetik dəyişmələr hüceyrənin bir sıra fundamental xassələrini dəyişdirir, bu hüceyrələrin normal böyümə nəzarətindən yan keçməsinə imkan verir və sonda hüceyrənin tam xərçəng fenotipinə çevrilməsini təmin edir (Şəkil 24-1). Xərçəng hüceyrələri proliferasiya etmək üçün xarici induksiyaedici siqnala ehtiyacı olmayan idarə olunma imkanını qazanır. Onlar hüceyrə bölünməsinə məhdudiyətlər qoyan siqnalları hiss etmir və ölməli olduqları zamanda belə yaşamaqda davam edirlər. Onlar çox zaman ətrafdakı hüceyrələrə və ya hüceyrəxarici matrisaya yapışmaq qabiliyyətini dəyişirlər, toxumada öz mənşəyindən uzaqlaşmaq



ŞƏKİL 24-1 Hüceyrələrdəki xərçəngə səbəb olan dəyişikliklərin ümumi baxış. Karsinogenез zamanı, altı fundamental hüceyrə xassəsi, normal toxuma daxilində böyüyən bu şişdə göstərilədiyi kimi, əsasən dağıdıcı olan tam xərçəng fenotipini yaratmaq üçün dəyişdirilir. Bu dəyişikliklərin yalnız bir hissəsi baş verdikdə nisbətən az təhlükəli şişlər meydana gəlir. Bu fəsildə biz belə dəyişmiş hüceyrə xassələrini əmələ gətirən genetik dəyişiklikləri tədqiq edirik. Bax D. Hanahan and R. A. Weinberg, 2011, *Cell* 144:646–674.

üçün onu qıraraq azad olurlar. Şişlər xarakterik olaraq *hipoksikdirlər* (oksigen görə acdırlar), ona görə də, daha kiçik ölçüdə böyümək üçün şişlər qan tədarükü almalıdırlar. Onlar bunu çox zaman şiş toxuması daxilində yeni qan damarlarının artmasını indiksiya etməklə edirlər. Xərçəng inkişaf edir, şiş anormal orqana çevrilir, böyüməyə və ətraf toxumalara soxulmağa həddən artıq yaxşı uyğunlaşır və çox hallarda bədənin uzaq hissələrinə yayılır.

Bu bölmədə, biz xərçəng hüceyrələrinin xüsusiyyətlərini təsvir edirik. Biz əvvəlcə xərçəng hüceyrəsinin bütün hüceyrə funksiyalarına təsir edən, xərçəng hüceyrəsinin proliferasiyanın tənzimlənməsindən yayınaraq qeyri-müəyyən bölünmə qabiliyyətini əldə etməsinə imkan verən genetik quruluşundakı dəyişmələri müzakirə edirik. Daha sonra şiş hüceyrəsindəki genetik dəyişikliklərin və onun ətraf mühitlə qarşılıqlı əlaqələrinin, bir zamanlar tərkib hissəsi olduğu toxuma məhdudiyətlərindən xilas olmasını necə asanlaşdırdığını və qonşu toxumalara hücum etməsini və bədəndəki uzaq yerləri zəbt etməsini təmin etdiyini görürük.

Əksər Xərçəng Hüceyrələrinin Genetik Tərkibi Dramatik Şəkildə Dəyişir

İgirminci əsrin əvvəllərində David von Hansemann və Teodor Boveri xərçəng hüceyrələrinin bizim indi bildiyimiz universal hesab edilə bilən xüsusiyyətlərini ilk dəfə sənədləşdirdilər: onların tam genetik tərkibi normal hüceyrələrdəkindən kəskin şəkildə fərqlənirlər. Şiş bütün tip genetik dəyişiklikləri – nöqtəvi mutasiyaları, kiçik və böyük amplifikasiyaları və silinmələri (delesiyaları), translokasiyaları və abberant sayda xromosomları – ümumiyyətlə aneoploidia kimi məlum olan çoxsaylı şəraitləri özündə toplayır (Şəkil 24-2). Son zamanlar çoxsaylı insan şişlərinin genomunun oxunması spesifik xərçənglərdə bu genetik dəyişikliklərin baş verməsi tezliklərində yeni bilikləri təmin etdi və mutasiya mexanizmlərinin yeni tiplərini identifikasiya etdi. Tipik xərçəng hüceyrələri tam xromosomun və ya xromosom çiyininin, o cümlədən onların genomunun dördə birinin qazanılması və ya itirilməsini nümayiş etdirirlər. Lokal amplifikasiya və ya delesiya xərçəng hüceyrəsi genomunun 10 faizə qədər təsir edə bilər. Yəqin ki, xərçənglərdə nukleotid ardıcılığının oxunması ilə aşkar edilmiş daha çox təccübləndirici nəticələr müxtəlif xərçənglərdə mutasiya sürətinin variasiya dərəcəsidir. Uşaq xərçənglərində mutasiyalar nadirdir, əvəz etmə nisbətləri bir meqəəsasdə 0,1 əsas dəyişikliyə azdır, amma bu nisbətlər ağciyər xərçəngi və melanoma kimi mutagenlə-indiksiya olunan xərçənglərdə bir meqəəsasa görə 100 əsas dəyişikliyə qədər ola bilər.

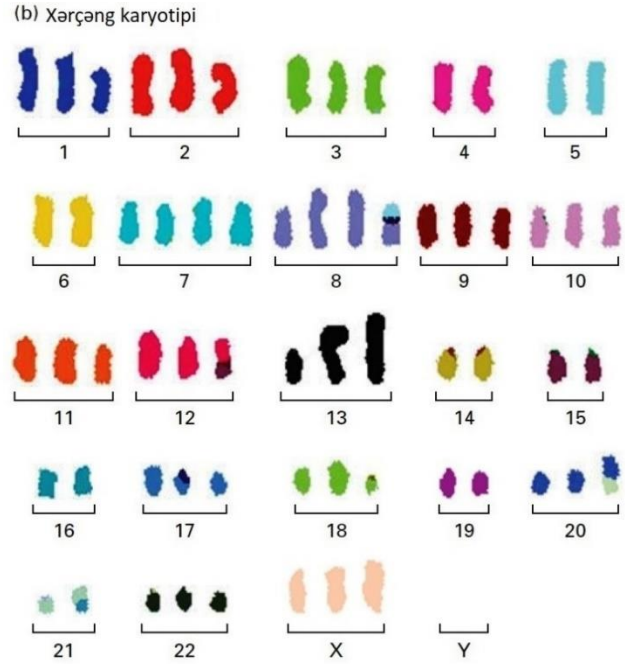
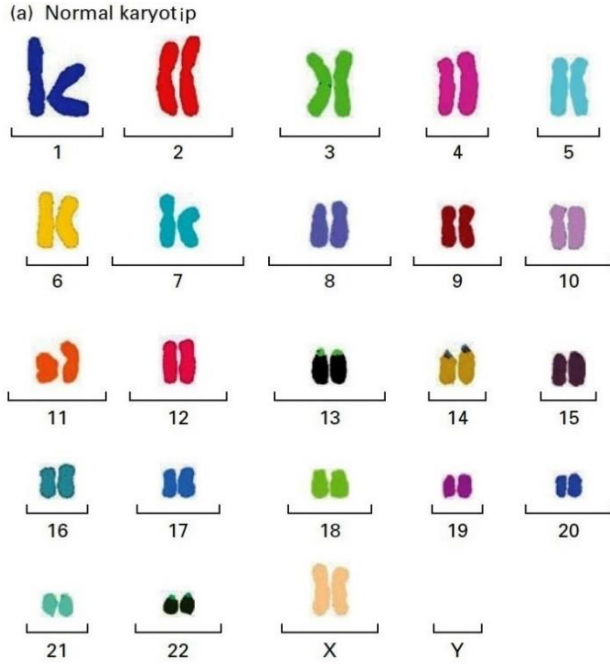
DNT replikasiyası və xromosom seqreasiyası səhvləri aneuploideyaya və xromosom dirsəklərinin qazanılmalarına itirilmələrinə səbəb ola bilər. Replikasiyanın dəqiqliyinin azalması və mutagenlər də xərçəng genomuna güclü təsir edir. Yaxşı öyrənilmiş bu genomun qeyri-sabitliyini induksiya edən mexanizmlərdən başqa, xərçəng genomu ardıcılığının oxunması insan xərçəngində müşahidə olunan dramatik genom dəyişikliklərinə səbəb olan digər yeni, qeyri-adi mexanizmləri təyin etmişdir. Translokasiyası qırılma nöqtələri yaxınlığında çoxsaylı əsas cütlərinin əvəz olunması ilə xarakterizə olunan hipermutasiya aşkar edilmişdir. *Kataegis* (Yunan sözü “şimşək”

mənasında) adlanan belə dramatik lokal genom dəyişməsinin əsasında duran mexanizm hələ məlum deyil, amma ehtimal ki, buraya Fəsil 23-də müzakirə olunan anticism müxtəlifliyinin yaranmasında əsas rol oynayan, fəallaşma-ile-induksiya olunan deaminaza (AID) fermenti daxildir. İnsan xərçənginin 2-3 faizində rast gəlinən, amma aqressiv neyroblastomanın (sinir hüceyrə şişi tipi) 18 faizində yayılmış başqa bir yüksək dərəcədə qeyri-adi mutasiya mexanizmi *xromotripsis*dir. Burada bütün xromosomlar və ya onların böyük hissələri parçalanır (*thripsis* Yunanca “parçalamaq” mənasını verir) və onların yenidən təsadüfi şəkildə birləşməsi, onlarla bəzən də yüzlərlə yenidən təşkilə səbəb olur. Fərdi xromosomların bu cürə parçalanması və bir yerə tikilməsi xromosomların və ya onların hissələrinin nüvəyə daxil olmadığı, əksinə öz mikronüvəciklərini əmələ gətirdiyi zaman meydana çıxır. Replikasiya az effektiv olur, xromosomların qırılması və DNT hissələrinin uçları ilə bir yerə qovuşduğu DNT reparasiyasının bir forması olan qeyri-homoloji uçların qoşulması yolu ilə xromosom hissələrinin təsadüfi üslubda bir yerə tikilməsi baş verir. Bizim növbəti bölmələrdə görəyimiz kimi, xərçəng hüceyrələrində baş verən genetik dəyişikliklər virtual olaraq hüceyrə homeostazının, proliferasiyasının, toxuma təşkilinin bütün aspektlərinə, həmçinin miqrasiya etmə xassələrinə və eləcə də bədəndə yad saytlarda sağ qalmasına və proliferasiyasına təsir edir.

Hüceyrənin Evdarlıq Funksiyaları Xərçəngdə Fundamental Şəkildə Dəyişir

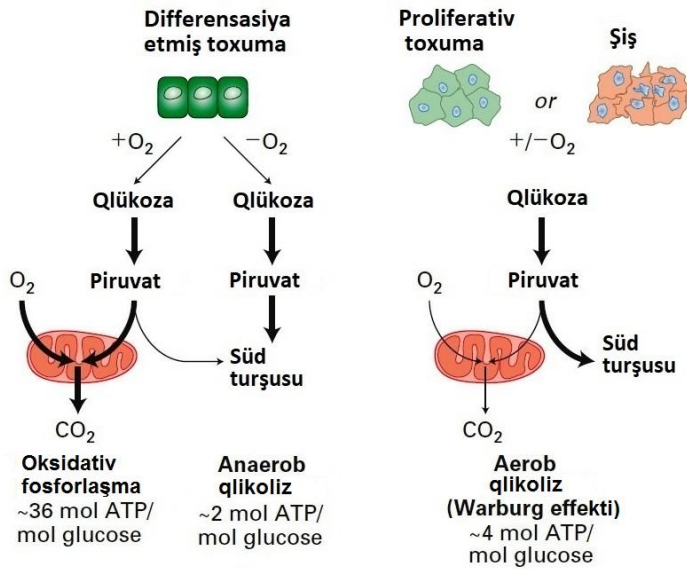
Çox zaman xərçəng hüceyrələri mikroskopik müayinə ilə normal hüceyrələrdən fərqləndirilə bilər. Onlar normal hüceyrələrdən daha pıss differensiasiya olunmuşlar. Xərçəng hüceyrələri tez-tez hallarda sürətlə böyüyən hüceyrələrin xüsusiyyətlərini nümayiş etdirirlər: nüvənin sitoplazmaya qarşı böyük nisbəti, tez nəzərə çarpan nüvəcik, mitotik hüceyrələrin artan tezliyi və nisbətən az ixtisaslaşmış quruluşun olması.

Şiş hüceyrələri normal hüceyrələrdən yalnız görünüşlərinə görə deyil, həmçinin tam zülal tərkibinə görə də fərqlənirlər. Genlərin geniş genom ekspressiyası və zülalların tərkibi analizləri göstərdi ki, bu vaxta qədər öyrənilmiş bütün orqanizmlərdə gen nüsxələrinin sayının artırılması ilə müvafiq olaraq gen ekspressiyası artır. (Bu müşahidədə nəzərə çarpacaq istisnaya cinsiyyət xromosomlarında olan genlər aiddir.) Beləliklə xərçəng hüceyrələri üçün xarakterik olan genom dəyişməsi – tam xromosomun və ya xromosom hissəsinin itirilməsi və ya qazanılması – hüceyrənin zülal tərkibinin formalaşmasına və bununla da hüceyrə funksiyalarının əksəriyyətinə bəlkə də hamsına dərin təsir göstərir. Bu isə öz növbəsində xərçəng hüceyrələrinin yaşadığı zülal disbalansını aradan qaldırmağa yönəlmiş stress reaksiyasına səbəb olur. Məsələn, xərçəng hüceyrələri sağ qalmaları üçün onların dramatik şəkildə dəyişilmiş xromosom tərkibinin birbaşa nəticəsi kimi zülal bükülməsi və parçalanması mexanizmlərindən güclü şəkildə asılıdır. Sağ qalma üçün xərçəng hüceyrələrinin proteomanın saxlanması yollarından belə asılılığı bu yolların tərkib hissələrini dərman preparatları üçün gözəl hədəf edir



ŞƏKİL 24-2 Xərçənglərin yüksək dərəcədə karyotipləri var. Xromosomların təsvirləri (a) normal insan hüceyrələrindən alınmış xarakterik 23 cüt xromosomlardan və (b) SW403 kolorektal adenomakarsinoma hüceyrələrinin xromosomlarından alınmışdır. Hər bir fərdi xromosom cütünün fərqli rəngləri vardır. Xərçəng hüceyrələrinin iki xüsusiyyəti aydın görünür. Birincisi, fərdi xromosomların sayı normal hüceyrələrlə müqayisədə dəyişilmişdir.

İkincisi, çox xromosomlar fərqli xromosomların hissələrindən təşkil olunmuşlar. [(a) hissəsi Prof. Philippe Vago, ISM/Phototake. (b) hissəsi *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001 **98**(5):2538-43, Fig. 3c-dən. Spektral karyotipləmə kolorektal xərçəngin xromosom yenidən təşkili ilə xarakterizə olunan əlavə yarımbölmələrini göstərir. By Abdel-Rahman et al. müəllif hüquqları (2001) ABŞ Milli Elmlər Akademiyası.]



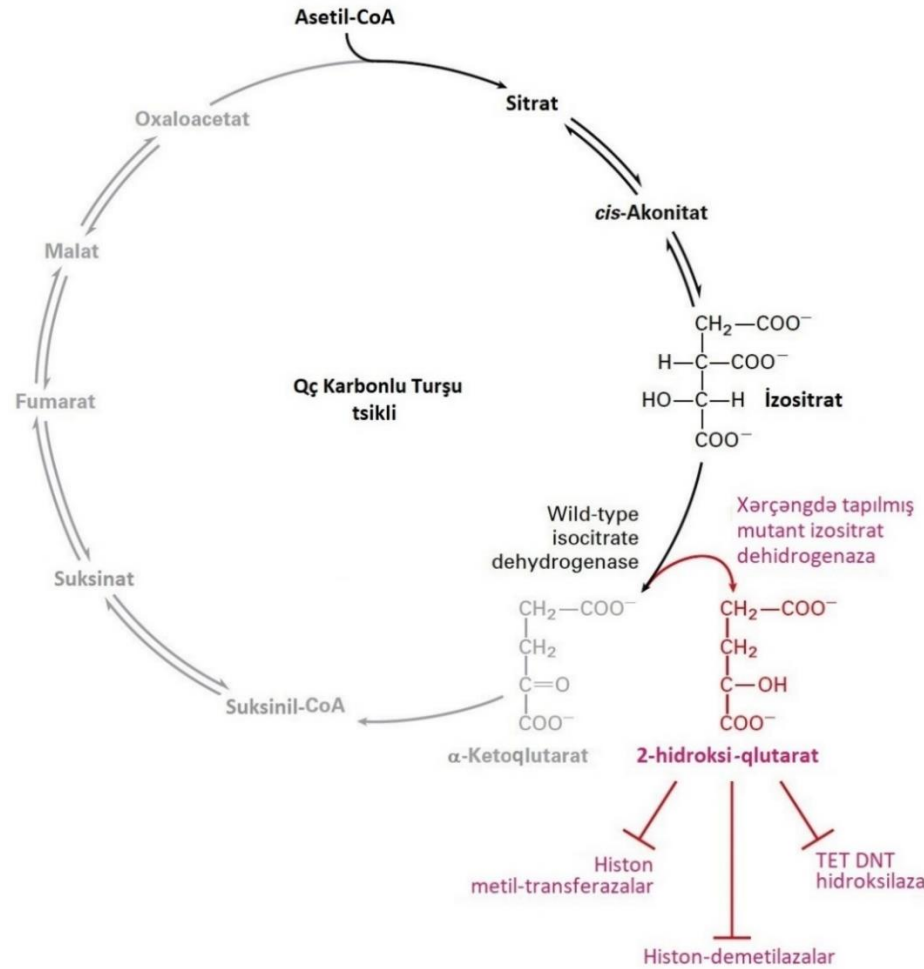
qlikolizə gedir və böyük miqdarda laktat istehsal edirlər. Amma, əksər xərçəng hüceyrələr enerji istehsalı üçün oksigen səviyyəsinin aşağı və ya yuxarı olmasından asılı olmayaraq qlikolizdən istifadə edirlər (Şəkil 24-3). Hətta oksigenin iştirakı ilə enerji istehsal etmək üçün, aerob qlikoliz adlanan qlikolizdən istifadə olunması ilk dəfə biokimyəçi Otto Varburq tərəfindən xərçəng hüceyrələrində aşkar edilmişdir, ona görə də buna Varburq effekti deyilir. Qlükozanın laktata metabolizmi hər qlükoza molekulundan yalnız iki ATP molekulunu istehsal edir, halbuki oksidativ fosforlaşma hər qlükoza molekuluna görə 36 molekula qədər ATP istehsal edir. Amma, hüceyrələr qlikolizin intermediatlarını makromolekulların və lipidlərin istehsalında istifadə edə bilirlər. Beləliklə, qlükoza mübadiləsinin yenidən qurulması makromolekul biosintezi və xərçəng hüceyrələrinin proliferasiyası üçün lazım olan enerji mənbəyini təmin edə bilər.

Xərçəng hüceyrələrinin başqa bir görkəmli xüsusiyyəti, onların qeyri-adi enerji yaradan bir mexanizmdən istifadə etməsidir. Normal differensiasiya etmiş hüceyrələr öz enerji ehtiyaclarını təmin etmək üçün mitoxondrial oksidativ fosforlaşmadan istifadə edirlər. Hüceyrələr qlükozanı mitoxondridə piruvat şəkilində üç-karbonlu turşular tsikli yolu ilə oksidləşdirməklə karbon iki oksidə qədər parçalayırlar (bax Fəsil 12). Normal hüceyrələr yalnız anaerob şəraitdə anaerob

ŞƏKİL 24-3 Xərçəng hüceyrələrində aerob qlikoliz yolu ilə enerji istehsalı. Oksigen olan halda proliferasiya etməyən (differensiasiya etmiş) hüceyrələr qlükozanı qlikoliz yolu ilə piruvata qədər parçalayırlar. Sonra piruvat mitoxondriyə çatdırılır, burada o TCA tsiklinə qoşulur. Oksidativ fosforlaşma zamanı son elektron akseptoru üçün oksigen tələb olunur. Beləliklə, oksigen çatışmayanda, hüceyrələr piruvatu laktata qədər dəyişirlər (mübadilə edirlər), NADH-ın geriə NAD⁺-a reduksiya olunması ilə qlikolizin davam etməsinə imkan verirlər. Xərçəng hüceyrələri və proliferasiya edən hüceyrələr oksigenin mövcud olub olmamasından asılı olmayaraq qlükozanın əsas hissəsini laktata çevrirlər. Oksigenin iştirakı zamanı laktatın istehsalı aerob qlikoliz adlanır. Bax M. G. Vander Heiden et al., 2009, *Science* **324**:1029

Xərçəng hüceyrələri yalnız metabolik yolları yenidən qurmurlar, bəzi xərçəng tipləri həmçinin xəstəlikdə kritik rol oynayan yeni metabolitləri istehsal edirlər. Qlioblastomaların, oliqodendroqliomaların və astrositomaların (bütün beyin xərçəngləri) yetmiş faizi və kəskin myeloid leykemiyanın 25 faizi izositratı α -ketoqlutarata çevirən üçkarbonlu turşu tsiklinin izositrat dehidrogenazasında (IDH) mutasiyaları toplayır (Şəkil 24-4). Bu xərçənglərdə tapılmış IDH mutasiyalar izositratı yeni metabolitə – 2-hidroksiqlutarata çevirir, onun səviyyəsi xərçəng

hüceyrələrində 5-35 mM qədər yüksəlir! Bəs 2-hidroksiqlutarat tümörogenezi necə təşviq edir? O, histonların metilləşməsi vəziyyətini tənzimləyən zülallar da daxil olmaqla öz funksiyasında α -ketoqlutaratı tələb edən bir neçə fermenti ingibirləşdirir. Bu yolla 2-hidroksiqlutaratın xərçəng-spesifik metabolitlərin sırasında yeganə nümunə olub-olmaması və ya onun yeni sinif *onkometabolitlər* sırasında birinci olması tədqiq olunmalıdır.



ŞƏKİL 24-4 2-Hidroksiqlutarat xərçəng-spesifik metabolitdir. İzositrat dehidrogenaza (IDH) üçkarbonlu turşular tsiklinin fermentidir. O izositratı α -ketoqlutarata çevirir, sonuncu isə öz növbəsində suksinil-CoA-ya çevrilir. Çox beyin xərçənglərində tapılmış, IDH-in bəzi mutant formaları α -ketoqlutaratdan yeni metaboliti, 2-hidroksiqlutaratı (2HG) yaradır. 2-Hidroksiqlutarat bu hüceyrələrdə həddən artıq yüksək səviyyədə toplanır və fəaliyyətində α -ketoqlutaratı tələb edən zülalların fəallığını ingibirləşdirir. İngibirləşən bu fermentlərdən çoxu DNT hidroksilazaların TET ailəsi kimi gen ekspressiyasına və ya histon metil transferazalar və dimetilazalar kimi histonların metilləşmiş vəziyyətinə nəzarət edirlər.

Nəzarət Olunmayan Proliferasiya Xərçəngin Universal Əlamətidir

Normal toxumalarda hüceyrə proliferasiyası möhkəm nəzarət olunan prosesdir. Böyüməni-təşviq edən faktorlar, yalnız toxumanın doldurulması üçün hüceyrələrin proliferasiyasını təmin etməklə yüksək nəzarət olunan formada buraxılır. Xərçəng hüceyrələri belə möhkəm nəzarətdən yayınmaq üçün mexanizmləri yaratmışlar. 24.4 bölməsində detalları ilə müzakirə edəcəyimiz kimi, xərçəng hüceyrələri böyüməni-təşviq edən yolu artan istiqamətdə tənzimləyir, eyni zamanda, böyüməni-ingibirləşdirən yolu və hüceyrə ölüm yolunu azalan istiqamətdə tənzimləyir. Bu münvalla, xərçəng hüceyrələri fasiləsiz şəkildə proliferasiya etmək xüsusiyyətini qazanır. Bu

qabiliyyət xərçəng hüceyrəsi populyasiyasının genişlənməsinə gətirib çıxarır. Biz görəcəyik ki, mutasiyaların nəzarət olunmayan proliferasiyaya səbəb olan selektiv hədəf olunması müəyyən tip xərçəngin müalicə olumması üçün uğurlu yanaşma olacaqdır.

Proliferasiyanı-təşviq edən siqnalların artması və proliferasiyanı-ingibirləşdirən siqnalların azalması xərçəng hüceyrələrinin sonsuz proliferasiya etmək üçün əmələ gətirdiyi yeganə dəyişiklik deyildir. Xərçəng hüceyrələrinin proliferasiyası zamanı xromosom ucları mühafizə olunmalıdır. Xətti xromosomların fiziki ucları olan telomerlər (Fəsil 8-də müzakirə olunmuşdur) onurğalılarda TTAGGG qısa DNT ardıcılığının trandem təkrarlarının düzülüşündən ibarətdir. RNT templetinə malik geriyə transkriptaza olan *telomeraza* insan

xromosomlarının uclarını dekorasiya edən 3-20-kə uzunluqda rayonu uzunatmaq və saxlamaq üçün TTAGGG ardıcılığını təkrar-təkrar xromosom uclarına əlavə edir. Embriyon hüceyrələri, rüşeyim xətti hüceyrələri və sütun hüceyrələr telomerazanı istehsal edirlər, amma insanın əksər somatik hüceyrələri yalnız S fazaya keçəndə çox az miqdarda telomerazanı istehsal edirlər. Onların bəsit telomeraza fəallığı nəticəsində telomerlər hüceyrə tsikli ilə bağlı olaraq tədricən qısalmır. Telomerlərin çox qısalması hüceyrə tərəfindən iki-zəncirli qırıqlar kimi tanınır və uyğun olaraq hüceyrənin arrest olunması və apoptozu işə salınır. Şiş hüceyrələri bundan yayınmaq üçün telomerazaları istehsal edirlər. Çox tədqiqatçılar inanırlar ki, telomerazanın ekspressiyası şiş hüceyrələrinin ölümsüzləşməsi üçün çox vacibdir. Həqiqətən də, telomeraza-istehsal edən transgenlərin telomeraza fermentinə malik olmayan kultura olunan insan hüceyrələrinə daxil edilməsi telomer uzunluğunu bərpa etməklə onların həyat dövrünü 20 bölünmə qədər artırır. Çox xərçənglərin telomerazanın fəaliyyətinin artmasından asılılığı bəzi tədqiqatçılara telomeraza inhibitorlarının yüksək effektiv xərçəng müalicəsi agentləri ola biləcəyini təklif etmələrinə səbəb oldu.

Xərçəng Hüceyrələri Toxuma Məhdudluğundan Xilas Olurlar

Normal hüceyrələr başqa hüceyrələrlə əlaqədə olduqda (toxunanda) böyüməni dayandırır, tədricən sonda yaxşı-nizamlanmış hüceyrələrin təbəqəsini əmələ gətirirlər (Şəkil 24-5a). Xərçəng hüceyrələri az yapışqan olurlar və hüceyrələrin üçölçülü klasterini əmələ gətirirlər (*fokus*), bu da mikroskop altında müşahidə oluna bilər (Şəkil 24-5). Toxuma quruluşunun belə itirilməsi *in vitro* modelləşdirilə bilər. Siçanın 3T3 hüceyrələr adlanan kultura olunan fibroblastları normal halda başqa hüceyrələrə toxunanda böyüməni dayandırır, tədricən sonda proliferasiyanı dayandıran yaxşı nizamlanmış hüceyrələrin birqatlı təbəqəsini əmələ gətirir və hüceyrə tsiklinin sakitlikdə olan G₀ fazasında qalırlar (bax Şəkil 24-5a). İnsanın sidik kisəsi xərçəng hüceyrələrinin DNT-si kultura olunan 3T3 hüceyrələrə keçirildikdə təxminən hər bir million hüceyrədən biri eqzogen DNT-nin fenotipik dəyişiklikləri əmələ gətirən müəyyən seqmentini inkorporasiya edir. Təsir olunmuş hüceyrənin nəsilləri normal hüceyrələrlə müqayisədə daha çox yumuru, bir-birinə və kultura qablarına daha az yapışqan olurlar (bax Şəkil 24-5b). Başqa hüceyrələrə toxunduqda bölünməni dayandırmayan hüceyrələrə artıq “kontakla ingibirləşməyən” və onkogen transformasiya olunanlar deyilir. Son zamanların tədqiqatları E-kadherin, hüceyrə polyarlıq faktorları, aktin sitoskelet tənzimləyiciləri kimi adgeziya molekullarını və hüceyrə-hüceyrə kontaktları yaranarkən hüceyrə tsiklinin arrest olunmasını həyata keçirən Hippo yolunu əhatə etmişdir. Amma, bunların baş verdiyi dəqiq mexanizm hələ də öyrənilməmiş qalmaqdadır.

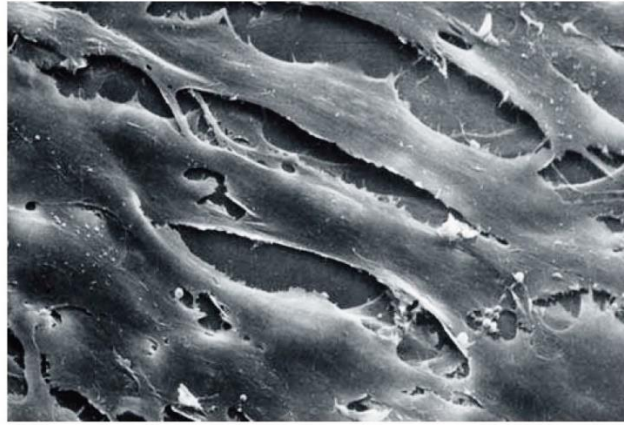
Şişlər Onların Ətraf Mühitləri Tərəfindən Yaradılmış Heterogen Orqanlardır

Şişlərin hamısı, hətta onlar vahid bir hüceyrədən törənsələr də, birformalı hüceyrələrdən təşkil olunmayıblar. Məsələn, bəzi şiş tiplərində *xərçəng sütun hüceyrələri* adlanan bəzi hüceyrələr yeni şişləri səpmək (əkmək) qabiliyyətinə malikdir. Bu şişlər daxilində bəzi hüceyrələr bölünməni dayandırır, digərləri isə davam edərək xərçəngin yaranmasına səbəb olurlar. Əlbəttə ki, sonrakılar xərçəngə qarşı müalicə vasitəsilə məhv etmək üçün daha təhlükəlidir və vacibdir. Guman olunur ki, xərçəng sütun hüceyrələri daha yüksək bölünmə qabiliyyətinə malik olan bəzi hüceyrələri, başqaları isə məhdud bölünmə potensialına malik olan hüceyrələri yaradırlar. Bu xərçəng sütun hüceyrələrinin mənşəyi aydın deyildir. Bəzi xərçənglərdə normal toxuma sütun hüceyrələri xərçəng sütun hüceyrələrini yarada bilər. Başqalarında terminal differensasiya etmiş hüceyrələrin nəsillərini yaratmaq üçün differensasiya etməsi xərçəng sütun hüceyrələrinin yaranmasına səbəb ola bilər. Xərçəng sütun hüceyrələri onların mənşəyindən asılı olmayaraq gen ekspressiyası əlamətlərini normal toxuma sütun hüceyrələri ilə eynilə bölüşürlər, bu da onların sütun hüceyrəyə bənzər hüceyrələr kimi təyinatlarına səbəb olur.

Şişin ən yaxın ətraf mühiti – *şiş mikromühiti* – şiş daxilində hüceyrələrin heterogenliyinə yardım edir, xərçəng sütun hüceyrələrinin və ümumilikdə şiş hüceyrələrinin davranışına təsir edir. Bəzi qonşu hüceyrələr şişin böyüməsi üçün başqalarına nisbətən daha yaxşı təsir göstərirlər. Şiş mikromühitinin əhəmiyyəti ətraf mühitin şiş hüceyrəsinə ən çox yayılmış təsirlərinin birinə, iltihab hüceyrələrinə aiddir. İndi geniş şəkildə qəbul edilmişdir ki, immun sistemi hüceyrələri şişlə qarşılıqlı təsirdə olur. CD8⁺ sitotoksik T limfositlər və təbii killer hüceyrələr çox zaman şişi əhatə edib onun daxilində miqrasiya edirlər və guman olunur ki, burada onlar şişin əmələ gəlməsini ingibirləşdirirlər. İmmun sisteminin bu və digər komponentlərindən məhrum olan siçan normal siçana nisbətən karsinogenlə-induksiya olunan şişlərə daha çox meyilli olur. Bu kəşf belə bir ideyanın yaranmasına səbəb olmuşdur ki, immun sistemi xərçəng hüceyrələrini sıradan çıxarır. İmmun sisteminin belə nəzarətindən xərçəng hüceyrələrinin necə yayınmasının öyrənilməsi kritik vacib olan sualdır.

Getdikcə daha da artan dəlillər immun-sistemi hüceyrələrinin tumorogen xassəyə də malik ola bilməsini təsdiq edir. Uzun müddətdir ki, xərçəngin tez-tez hallarda yaralanmalar və xroniki yoluxmalar nahiyəsində yarandığı məlumdur. Belə təxmin edilir ki, xərçəng hallarının 20 faizə qədər xroniki yoluxmalarla bağlıdır. Məsələn, davam edən şəkildə *Helicobacter pylori* ilə yoluxma mədə xərçəngi ilə əlaqəlidir. Bağırsaqlarda yaranan autoimmun xəstəliyi olan Kruhn xəstəliyi yoğun bağırsağın xərçəngi ilə bağlıdır. B və C hepatit virusu ilə yoluxma qaraciyər xərçənginin, qaraciyər-hüceyrə karsinomasının yaranması riskini artırır. İmmun sistemi hüceyrələri yaralanma və ya yoluxma nahiyəsinə miqrasiya edir və boy faktorlarını istehsal edir, bununla da şiş hüceyrələrinin proliferasiyasını stimullaşdırırlar. Onlar həmçinin qan damarlarının artmasını induksiya edən faktorları istehsal edirlər, bu da bizim növbəti müzakirəmizdə olduğu kimi, şişin böyüməsi və uzaq məsafələrə yayılması üçün çox vacib aspektidir.

(a)



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-5 Skanedici elektron mikrofotusu normal və transformasiya olunmuş 3T3 hüceyrələr arasında onların təşkilini və morfoloji fərqlərini aşkar edir. (a) Şişanın 3T3 hüceyrələr adlanan kultura olunmuş hüceyrələri normal halda uzanır (elonqasiya edir), düzlənir və nizamlı və sıx şəkildə yığılırlar. (b) Rous sarkoma virusla kodlaşdırılan onkogenlə transformasiya olunmuş 3T3 hüceyrələr yumuru forma alırlar və kiçik, tükə bənzər

(b)



çıxılıntılarla və qabarıq uzantılarla örtülülər. Transformasiya olunmuş hüceyrələr normal hüceyrələrin yan-yanı düzülmək qabiliyyətini itirirlər və bir-birinin üstündə bitirlər. Bu transformasiya olunmuş hüceyrələr çox xassələrinə görə bəd xassəli hüceyrələrlə oxşardır. Oxşar dəyişikliklərin insanın *ras*^D onkogenə malik olan xərçəng hüceyrələrindən alınmış DNT ilə transfeksiya olunmuş hüceyrələrdə də görünür. [Lan Bo Chen.]

Şişin Böyüməsi Yeni Qan Damarlarının Yaranmasını Tələb Edir

Şişlər böyük ölçüyə qədər artmaq üçün yeni qan damarlarını səfərbər etməlidir. Qan təchizatı çatmayanda, şiş 10^6 hüceyrəyə qədər, təxminən 2 mm diametrə qədər böyüyə bilər. Bu halda şiş kütləsinin xaricində olan hüceyrələrin bölünməsi kifayət qədər qidalandırıcıların olmaması üzündən şişin ortasında olan hüceyrələrin ölməsi ilə tarazlaşır. Bu şişlər, hormon ifraz etmələri istisna olmaqla az problemin yaranmasına səbəb olurlar. Amma, şişlərin əksəriyyəti yeni qan damarlarının yaranmasını induksiya edirlər, bunlar da şişin daxilinə sirayət edir və onun qidalanmasını təmin edirlər, bu prosesə *anjiogenez* deyilir. Bu mürəkkəb proses bir neçə diskret pilləni: yaxınlıqdakı kapillyarları əhatə edən bazal membranın dağıdılmasını, kapillyarları daxildən örtən endotelial hüceyrələrin şiş daxilinə miqrasiyasını, endotelial hüceyrələrin bölünməsinə, yeni elonqasiya etmiş (uzanmış) kapillyarların ətrafında bazal membranın yaranmasını tələb edir.

Çox şişlər anjiogenezə stimullaşdıran boy faktorlarını istehsal edirlər, başqa şişlər isə necəsə belə faktorları istehsal və ifraz etmək üçün ətrafdakı normal hüceyrələri induksiya edirlər. Əsas fibroblast boy faktoru (β -FGF), transformasiya edən boy faktoru α (TGF- α), vazikulyar endotelial boy faktoru (VEGF) kimi faktorlar çox şişlərdə ifraz olunurlar və hamısı anjiogenez xassəsinə malikdirlər. Yeni qan damarları şişin ölçüsünün artmasına imkan verir və beləliklə yeni zərərli mutasiyaların yaranması baş verir. Yaxınlıqda belə qan damarlarının mövcud olması metastaz prosesinin baş verməsini asanlaşdırır.

Tirozinkinazalar olan VEGF reseptorlar qan damarlarının endotelial hüceyrələrin sağ qalması və artması, endotelial hüceyrələrin miqrasiyası, və damar divarlarının keçiriciliyi kimi artmasının bir sıra aspektlərini tənzimləyir. VEGF ekspressiyası onkogenlə və oksigenin 7 mm Hg sütunundan aşağı parsial (qismən) təzyiqlə təyin edilən hipoksiya ilə induksiya oluna bilər. Hipoksiya siqnalı hipoksiya ilə-induksiya olunan faktor 1

(HIF-1) adlanan, aşağı oksigen şəraitində induksiya olunan, VEGF genə və əksəriyyəti şişin böyüməsində iştirak edən 30-a qədər başqa genlərə birləşərək onların transkripsiyasını induksiya edən transkripsiya faktoru vasitəsi ilə həyata keçir. HIF-1 fəallığı normal O_2 səviyyəsində fəal olan, amma O_2 -dən məhrum olduqda qeyri fəal olan prolin hidrosilazadan təşkil olunan oksigen sensoru ilə nizamlanır. HIF-1-in hidrosilləşməsi transkripsiya faktorunun ubikvitinləşməsinə və parçalanmasına səbəb olur və bu proses aşağı O_2 səviyyəsində blok olunur. Anjiogenezə ingibirləşdirən birləşmələr potensial müalicə agentləri kimi daha çox maraq doğurur, amma onların uğurları klinikada hələ ki çox məhduddur.

Zəbt etmək və Metastaz Şiş Əmələgəlmənin (Tumorogenezin) Son Mərhələləridir

Şişlər çox tez-tez əmələ gəlir, xüsusilə də yaşlı fərdlərdə, amma əksəriyyəti az risk yaradır, çünki onlar kiçik və lokal olurlar. Biz belə şişləri xoşxassəli (**benign**) şişlər adlandırırıq, buna dəridə xoş-xassəli şiş olan ziyili nümunə kimi göstərə bilərik. Xoşxassəli şişləri əmələ gətirən hüceyrələr normal hüceyrələrə çox oxşayırlar və onlar kimi fəaliyyət göstərə bilərlər. Toxumaları bir yerdə saxlayan hüceyrə-adeziya molekulları xoşxassəli şiş hüceyrələrini normal hüceyrələr kimi onların əmələ gəldiyi lokal nahiyədə bir yerdə saxlayırlar. Adətən, lifli (fibroz) kapsula xoşxassəli şişin dərəcəsini müəyyənləşdirir və onu cərrah üçün asan hədəf edir. Xoşxassəli şişlər o zaman təhlükəli tibbi problem olur ki, onların əsas çoxluğu normal funksiyaya mane olur və ya onlar hormonlar kimi bioloji fəal maddələri artıq miqdarda ifraz edirlər. Məsələn, akromeqaliya – başın, əllərin, ayaqların həddən artıq böyüməsi xoşxassəli hipofiz şişinin həddindən artıq boy hormonu istehsalına səbəb olduğu zaman baş verə bilər.

Xoşxassəli şişlərin əksinə olaraq bəd xassəli şiş hüceyrələri yaxınlıqdakı toxumalara da sirayət edir, hüceyrələr dayanmadan

proliferasiya etdiyindən yayıla və yeni şişləri inkişaf etdirə bilirlər (Şəkil 24-6). Bu qabiliyyət bədxassəli şişləri xoşxassəli şişlərdən fərqləndirən əsas xüsusiyyətdir. Yumurtalıqdakı və süd vəzindəki şişlər kimi bəzi bədxassəli şişlər lokal olurlar və ən azı müəyyən zaman ərzində örtülmüş şəkildə qalırlar. Amma, bu şişlər inkişaf etdikdə hüceyrələr ətrafdakı toxumalara yayılırlar və metastaz edirlər (Şəkil 24-7a).

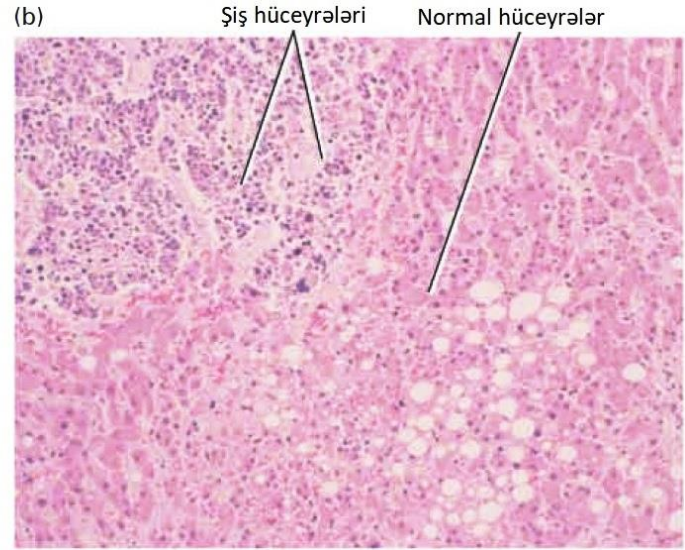
Normal hüceyrələr onların orqan və ya toxumada yerləşdikləri mövqedə hüceyrə-hüceyrə adgeziyası və epiteli təbəqəsinin altında yerləşən, həmçinin qan damarlarının epiteli hüceyrələrini əhatə edən (bax Fəsil 20) *bazal membranın* əmələ gətirdiyi fiziki baryerlərlə məhdudlaşırırlar. Əksinə, xərçəng hüceyrələri *invadopodium* adlanan hüceyrə protruziyasından (çixıntılarından) istifadə edərək bazal membrana nüfuz etmək və bədəndə uzaq sahələrə miqrasiya etmək qabiliyyətini qazanmışlar (Şəkil 24-7b). Ehtimal olunur ki, **epitelidən-mezenximaya keçid (epithelial-to-mesenchymal transition — EMT)** adlanan inkişaf prosesi bəzi xərçənglərin metastazında həlledici rol oynayır. Normal inkişafın gedişi zamanı epiteli hüceyrələrinin mezenxim hüceyrələrinə çevrilməsi bəzi orqan və toxumaların formalaşmasında bir pillədir. EMT gen ekspressiyasının profilində fərqli dəyişmələri tələb edir və

hüceyrə morfolojiyasında hüceyrə-hüceyrə adgeziyasının itirilməsi kimi, polyarlıqın itirilməsi və miqrasiya etmə kimi, həmçinin invaziv (sirayət etmək) xassələrin qazanılması kimi dəyişmələrlə nəticələnir. Guman olunur ki, metastaz zamanı, EMT tənzimləyici yollar tək miqrasiya edən hüceyrələri istehsal edən şişin invaziv ön hissəsində fəallaşdırılır. EMT-nin mərkəzində iki transkripsiya faktoru - Snail və Twist durur. Bu transkripsiya faktorları hüceyrə miqrasiyasında iştirak edən genlərin ekspressiyasını təşviq edir, E-kadherin kimi hüceyrə-adgeziyası faktorlarının azalan-tənzimlənməsini işə salır və bazal membranı dağıdan proteazaların istehsalını artırır, beləliklə onun şiş hüceyrələrinə olan keçiriciliyini mümkün edir. Məsələn, çox şiş hüceyrələri qan zərdabı plazminogen zülalını fəal plazmin protezaya çevirən zülalı (plazminogen aktivatoru) ifraz edir. Əhəmiyyətlidir ki, EMT-nin, *SNAIL1* və *SNAIL2* kimi bir çox vacib aparıcılarının (drayverlərinin) ekspressiyası, göstərdiyi kimi, xəstəliklərin təkrarlanması və süd vəzi, yoğun bağırsağ və yumurtalıq xərçəngi də daxil olmaqla bir çox xərçəng xəstələrinin sağ qalması ehtimalının azalması ilə korelyasiya edir. EMT-nin meydana gəlməsi zəif klinik nəticənin olacağını proqnozlaşdırır.



ŞƏKİL 24-6 Normal qaraciyər toxumasına sirayət edən şişin iri həcmli və mikroskopik görünüşü. (a) Metastaz vermiş ağciyər xərçənginin inkişaf etdiyi insan qaraciyərinin ümumi morfologiyası. Qaraciyərin səthində ağ rəngli çixıntılar şişin əmələ gətirdiyi kütlədir.

Bazal membran parçalanan kimi bəzi şiş hüceyrələri qana daxil olur, amma ilkin şişdən ayrılan hər 10000 hüceyrədən 1-i qədər az bir hissəsi sağ qala və başqa toxumayı zəbt edə bilər və ikinci metastatik şişi əmələ gətirir. Hal-hazırda müalicə dərmanlarının çoxu qan damarlarında dövrə edən nadir şiş hüceyrələrinin təyininə həsr olunur. Bu *dövrə edən şiş hüceyrələrinin* tutulmasının mümkün olması yalnız xərçəngin erkən aşkar edilməsi üçün qeyri invaziv aləti deyil, həmçinin onların analizi xəstəliyin təbiəti haqqında yeni bilikləri təmin edəcək və onun müalicəsi haqqında məlumatların yaranmasına səbəb olacaqdır.

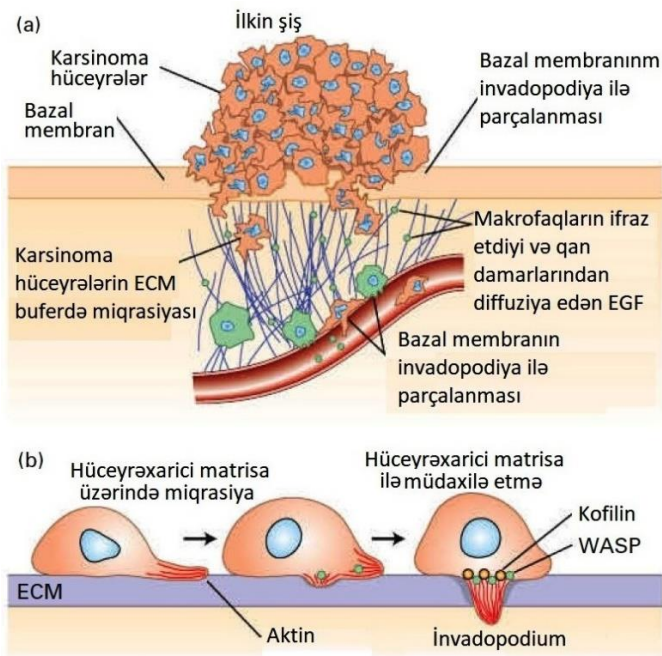


(b) (a)-da göstərilən şişin kəsinin işıq mikroskopundakı görünüşü, kiçik, tünd-boyanmış şiş hüceyrələrinin böyük, açıq-boyanmış normal qaraciyər hüceyrələrinə sirayət etdiyi sahələr göstərilir. [Nəzakətə Jonatan Braun]

Metastazı əmələ gətirmək üçün şiş hüceyrələri yalnız qan axınına düşməli deyil, həmçinin yeni məkanda qan damarlarının daxili örtük hüceyrələrinə yapışmağı və **ekstravazasiya** adlanan proseslə altdakı toxumaya miqrasiya etməyi bacarmalıdır (bax Fəsil 20). Metastazı uzaq məsafələrdə səpmək üçün şiş hüceyrələri tək yayılmağı deyil, o hə də xarici toxuma mühitinə uyğunlaşmağı bacarmalıdır. Ən azı ilkin olaraq, metastatik şiş hüceyrələri yeni mühitə yaxşı uyğunlaşa bilmirlər, amma guman olunur ki, onlar xarici şəraitdə törəyib sağ qalmağa üçün inkişaf edirlər. Bu uyğunlaşmanı asanlaşdıran molekulyar yollar haqqında çox az şey məlumdur, amma getdikcə artan sübutlar

göstərir ki, xərçəng hüceyrələrinin kolonizasiyası üçün bəzi ətraf mühit amilləri digərlərinə nisbətən daha çox əlverişlidir.

Metastaz xərçənglə bağlı olan xəstəliyin əsas səbəbi olduğundan ən böyük cəhdlər hansı şişlərin metastatik olacağını və metastazın necə baş verməsinin başa düşülməsinə edilir. Ənənəvi olaraq, normal və şiş hüceyrələrinin xassələri mikroskopik alətlərlə təyin edilir və bir çox şişlər üçün proqnoz müəyyən məhdudiyət daxilində onların histologiyasından təyin edilə bilər. Amma, hüceyrələrin tək görünüşü məhdud məlumat məzmununa malikdir və hüceyrələrin xüsusiyyətlərini aşkar etməyin daha yaxşı yolları həm tumorigenezi anlamaq, həm də proqnoz və müalicə ilə əlaqədar mənalı və dəqiq qərarlar qəbul etməkdir. RNT, zülal, lipid və metabolit istehsalının şiş nümunəsini qiymətləndirmək üsullarının meydana gəlməsi şiş xüsusiyyətlərini daha müfəssəl araşdırmağa imkan verir. Təccüblü deyildir ki, ilkin şiş RNT-lərə və onların istehsal etdikləri zülallara görə metastatik şişdən fərqləndirilə bilər. Gen ekspressiyasının qlobal profilinin analizi (Fəsil 6-da təsvir edilir) xəstənin nəticələrini proqnozlaşdırılmasında və çox xərçənglərin müalicəsi istiqamətinin yaxşı təyin edilməsində müntəzəm olaraq geniş istifadə edilir və tezliklə onlar müalicə seçiminin müəyyən edilməsində standart çəvriləcəkdir.



Şəkil 24-7 Metastaz. (a), Südə vəzi karsinoması hüceyrələri nümunəsində metastazın ilkin pillələri. Xərçəng hüceyrələri əsas şişi tərk edirlər və qan damarlarına çatmaq üçün hüceyrəxarici matrisa (ECM) liflərindən istifadə edərək bazal membrana hücum edirlər. Xərçəng hüceyrələri makrofaqlar tərəfindən ifraz olunan epidermal boy faktoru (EGF) siqnalları tərəfindən cəlb oluna bilərlər. Onlar qan damarlarında damarların divarını təşkil edən endotelial hüceyrələr qatına daxil olaraq qan axınına düşürlər. (b) Karsinoma hüceyrələri yol açmaq üçün matrisa metaloproteazalarını və digər proteazları istehsal edən "invadopodiya"ni genişləndirərək hüceyrəxarici matrisaya və qan damarı divarına nüfuz edirlər. [H. Yamaguchi et al., 2005, *Curr. Opin. Cell Biol.* 17:559-dan uyğunlaşdırılmışdır.]

24.1 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Şiş Hüceyrələri Normal Hüceyrələrdən Necə Fərqlənir

- Xərçəng hüceyrələrinin əksəriyyətinin genomu nöqtəvi mutasiyalardan başlayaraq silinmələrə (delesiyalara) və amplifikasiyalara qədər, tam xromosomun qazanılması və ya itirilməsinə qədər güclü dəyişikliklərə məruz qalır. Genetik tərkibdəki bu dəyişikliklər virtual olaraq bütün hüceyrə funksiyasına təsir edir.
- Nəzarət olunmayan proliferasiya və törəndiyi toxuma hüdudlarından qaçmaq xərçəng hüceyrələrinin iki universal əlamətidir.
- Şişlər maksimal artma üstünlüyünü qazanmaq üçün ətraf mühitlə qarşılıqlı təsirdə olan müxtəlif hüceyrə tiplərindən təşkil olunmuş mürəkkəb orqanlardır.
- Həm ilkin həm də ikinci dərəcəli şişlər böyük kütləyə qədər artmaq üçün anqiojenezi, yeni qan damarlarının yaranmasını tələb edirlər.
- Bəzən xərçəng hüceyrələri ətrafdakı toxumalara soxulurlar, çox hallarda bunu toxumanın sərhədlərini müəyyən edən bazal membranı qıraraq edirlər və ikinci şişi əmələ gətirilmək üçün bütün bədən boyu yayılırlar, bu prosese metastaz deyilir.
- Metastatik şiş hüceyrələri epitelidən-mezenximaya keçid adlanan proseslə miqrasiya etmək qabiliyyətini qazanırlar.

24.2 Xərçəngin mənşəi və inkişafı

Şişlər qonşu hüceyrələrin edə bilmədiyi proliferasiya etmək qabiliyyətini qazanmış tək bir hüceyrədən meydana gəlirlər. Sonra onlar bir sıra təkamül pillələrini keçərək əmələ gəldikləri toxuma məhdudiyətindən çıxmaq, bədənin dövrəedicilərdə sağ qalmaq və sonda uzaq saytlarda kolonizasiya etmək qabiliyyətini qazanırlar. Bu bölmədə biz tumorigenez (şiş əmələgəlmə) prosesini öyrənəcəyik. Əvvəlcə biz karsinogenozun tumorigenezi necə induksiya etdiyini öyrənirik. Sonra xərçəngin "multi-hit modeli" kimi məlum olan və xərçəngin yalnız çoxpilləli xəstəlik yolu olduğunu deyil, həmçinin onun əsasən yaşlı dövrün xəstəliyi olduğu faktını izah edən fərziyyəni təqdim edirik. Biz bu bölməni tumorigenezin molekulyar əsaslarının izah edilməsində alət kimi istifadə edilən hüceyrə-əsaslı modellərin və siçan modellərinin müzakirəsi ilə yekunlaşdırırıq.

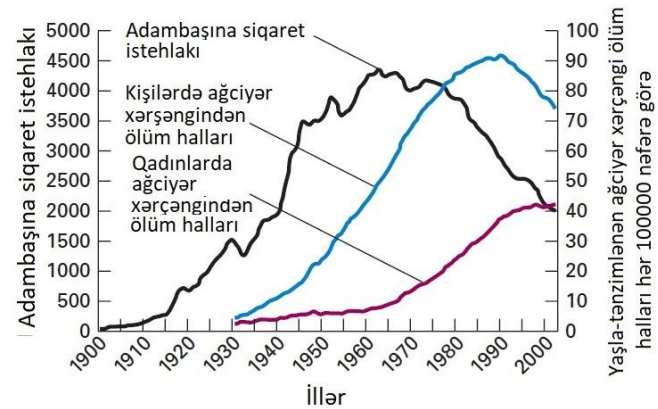
Karsinogenoz DNT-ni Zədələməklə Xərçəngi Induksiya Edir

Kimyəvi karsinogenlərin xərçəngi induksiya etmək qabiliyyəti onların səbəb olduğu DNT zədələnməsindən və eləcə də, bu zədələnməni bərpa (reparasiya) edərkən hüceyrənin DNT-yə daxil etdiyi səhvlər üzündən meydana gəlir. Beləliklə, karsinogenlər də mutagenlərdir. Karsinogenlərin mutagenizasiya yolu ilə təsir etməsinin çox güclü sübutu hüceyrənin karsinogenlərə məruz qoyulmasından meydana gələn hüceyrə DNT-sinin dəyişilməsinin kultura olunan hüceyrələrin və ya siçana implantasiya olunmuş hüceyrələrin tez-böyüyən

xərçəngə-bənzər hüceyrələrə dəyişə bilməsi müşahidələrindən gəlir. Karsinogenin mutagen effekti təxminən onun hüceyrələri transformasiya etmək və heyvan modellərində xərçəngi induksiya etmək qabiliyyətinə mütənəsbidir.

Baxmayaraq ki, karsinogen kimi identifikasiya olunan maddələr aydın birləşdirici xüsusiyyətlərə malik olmayan geniş sırada kimyəvi quruluşa malikdirlər, onların hamısı iki ümumi kateqoriyada təsnifləşdirilirlər. **Birbaşa-fəaliyyət göstərən karsinogenlər**, onlar çox azdırlar, reaktiv *elektrofillərdir* (digər birləşmələrdə elektron-zəngin mərkəzləri axtarıb ona birləşən maddələrdir). Bu birləşmələr DNT-də azot və oksigen atomları ilə kimyəvi reaksiyaya girərək DNT əsaslarını elə modifikasiya edib bilirlər ki, normal əsas cütü əmələgətirmə pozurlur. Əgər modifikasiya olunmuş nukleotidlər bərpa (reparasiya) olunmazsa onlar hüceyrə replikasiyası zamanı səhv nukleotidin birləşməsinə imkan yaradacaq. Bu sinif karsinogenlərə etilmetan sulfonat (EMS), dimetil sulfat (DMS) və azot xardalı daxildirlər.

Bunun əksinə, *dolayı-fəaliyyət göstərən kanserogenlər* ümumiyyətlə reaktiv deyillər. Çox hallarda suda həllolan birləşmələrdirlər, yalnız elektrofil mərkəzə daxil olduqdan sonra potensial xərçəng induksiya edicisi kimi təsir edirlər. Heyvanlarda *sitoxrom P-450 fermentləri* əksər hüceyrələrdə endoplazmatik şəbəkədə yerləşirlər, qara ciyər hüceyrələrində xüsusilə yüksək səviyyədə olurlar. P-450 fermentlər normal halda OH qrupları kimi elektrofill mərkəzləri müəyyən insektisidlər və müalicə preparatları kimi qeyri polyar xarici maddələrə əlavə edərək, onları həllolan vəziyyətə gətirib bədənə xaric etmək üçün fəaliyyət göstərir. Amma, P-450 fermentlər zərərli kimyəvi maddələri karsinogenə çevirə də bilirlər. Həqiqətən də, əksər kimyəvi karsinogenlər hüceyrə fermentləri tərəfindən modifikasiya olunana qədər çox az mutagen təsirə malik olurlar.



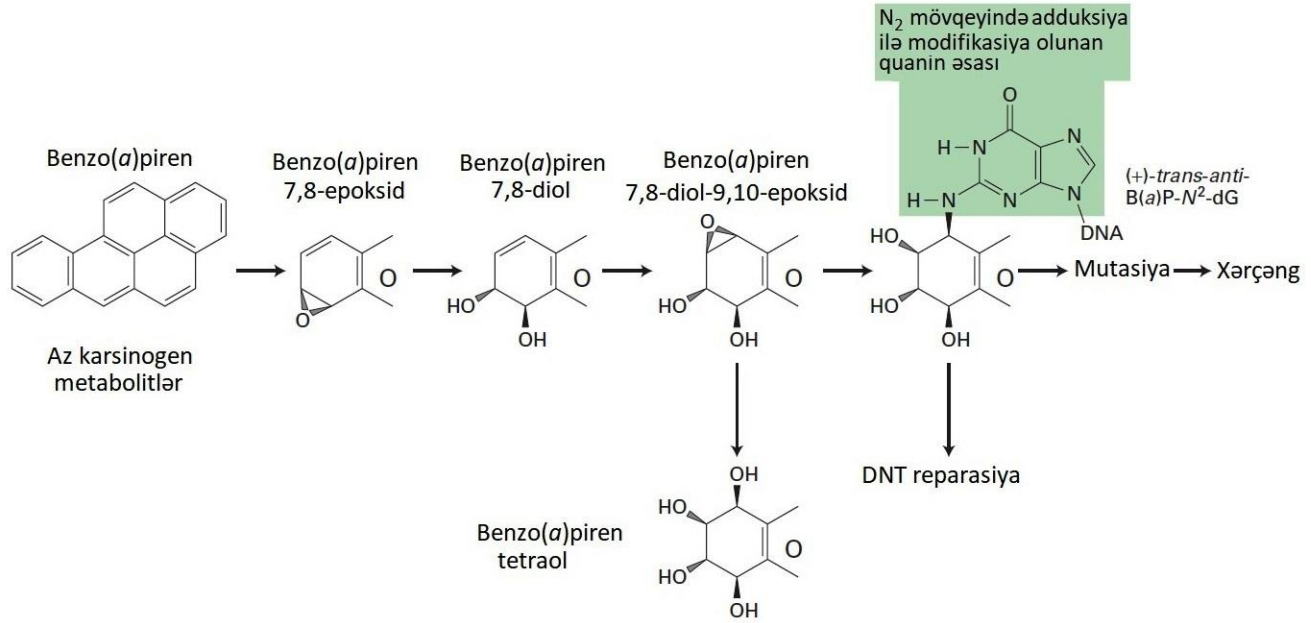
ŞƏKİL 24-8 Tütün tütüsü ilə kimyəvi karsinogenez. Sığaret çəkmək kimyəvi karsinogenezin öldürücü formasının təmiz nümunəsidir. Ağciyər xərçənginin rastgəlmə dərəcələri sığaret şəkmi dərəcəsini təqribən 30 illik fərq ilə izləyir. Qadınların kütləvi şəkildə sığaret çəkməsi 1960-cı illərdən başlamışdır, 1990-cı illərdə isə ağciyər xərçəngindən ölən qadınların sayı süd vəzi xərçəngindən ölən qadınların sayını ötürüb küçüşmüşdür. Eyni zamanda, kişilərdə 1960-cı illərdən etibarən sığaret çəkənlərin tədricən azalması ağciyər xərçənginin azalması nisbətində öz əksini tapmışdır. [Verilənlər Amerika Xərçəng Cəmiyyətindən alınmışdır.]

Bəzi Karsinogenlər Spesifik Xərçənglə Əlaqəlidirlər

Xərçəngin yaranmasının ilk günlərində aydın olur ki, xərçənglərin ən azı bəziləri ətraf mühitin zəhərlənməsindən yaranır. Məsələn, 1775-ci ildə bildirilmişdir ki, bacanın (tüstü turbasının) hisi xayalıq xərçənginin yaranmasına səbəb olur, 1791-ci ildə isə göstərilmişdir ki, qoxu tabağının istifadəsi burun xərçənginin yaranmasına səbəb olmuşdur. Heyvanlarda aparılan eksperimental tədqiqatlar nəticəsində xərçənglə ətraf mühitin kimyəvi maddələri əlaqələndirilmişdi. Klassik eksperimentdə siçanın arxasına test maddəsi ilə dəfələrlə yayılmış və heyvanda lokal və ya sistematik şişlərin inkişafı axtarılmışdır. Bu cürə aparılan sınaqlar 1933-cü ildə daş kömür qatranından təmizlənmiş kimyəvi təmiz benzo(a)piren karsinogen maddənin alınmasına səbəb olmuşdur.

Radiasiyanın xromosomların zədələnməsində rolu ilk dəfə 1920-ci ildə γ -şüalandırılmış *Drosophila*-dan istifadə etməklə nümayiş etdirilmişdir. Sonralar radiasiyanın xərçəngə, xüsusilə leykemiya səbəb olmasının mümkünlüyü II Dünya Müharibəsi zamanı atom bombasının (ionlaşdırıcı radiasiya) atıldığı zonalarda leykemiya xərçənginin artmasına görə və daha son zamanlar günəş işığına (ultrabənövşəyi radiasiya) daha çox məruz qalan şəxslərdə melanomanın (dəri xərçəngi) artmasına görə dramatik şəkildə nümayiş etdirildi.

Hərçənd ki, kimyəvi karsinogenlərin çox insan xərçəngləri üçün risk faktorları olmasına inanılsa da, spesifik xərçənglə olan birbaşa əlaqə yalnız bir neçə dəfə qeydə alınmışdır, bunların ən əhəmiyyətli olanı ağciyər xərçəngi və siqaret çəkməklə əlaqəli olan başqa (qırtlaq, udlaq, mədə, qaraciyər, mədəaltı vəz, uşaqlıq boynu və sair) xərçənglərdir. Epidemioloji tədqiqatlar (Şəkil 24-9) ilk dəfə göstərdi ki, siqaret çəkmək ağciyər xərçənginin əsas əmələgəlmə səbəbidir, amma bu səbəb insanın ağciyər xərçənginin 60 faizə qədərində, tezliklə bizim görəcəyimiz kimi, şiş-supressoru geni olan p53 genində fəalsızlaşdırıcı mutasiyanın aşkar edilməsinə qədər aydın deyildir. Siqaret tütüsündə, həmçinin kömür qatranında tapılmış, kimyəvi maddə *benzo(a)piren* ağciyərdə metabolik fəallaşmaya uğrayır (Şəkil 24-9), qvanin (G) nukleotidinin timinə (T) çevrilməsinə səbəb olan transversiya mutasiyasını əmələ gətirən potensial mutagenə çevrilir. Kultura olunan bronxial epitel hüceyrələrinə tətbiq olunarkən fəallaşmış *benzo(a)piren p53* genində çox mutasiyaları, o cümlədən 175, 248 və 273-cü kodonlarda mutasiyaları induksiya edir. Zülalın DNT-birləşdirən domenində olan bu eyni mövqelər insanın ağciyər xərçəngində rast gəlinən əsas mutasiya nöqtələridir. Faktiki olaraq, şiş hüceyrələrində tapılmış *p53* genində (və xərçənglə-əlaqəli başqa genlərdə) mutasiyaların təbiəti bizə xərçəngin mənşəyi kimi ipucu verir. Məsələn, *benzo(a)pirenin* əmələ gətirdiyi G-dən-T-ə transversiya mutasiyası siqaret çəkən xərçənglərin təxminən üçdə-birinin *p53* genində mövcuddur. Bu tip mutasiya başqa tip xərçəng şişlərinin *p53* genində nisbətən azdır. Karsinogen öz izini buraxır. Beləliklə, siqaret tütüsündə təyin olunan kimyəvi kanserogen ilə insan xərçəngi arasında güclü bir əlaqə vardır. Çox ehtimal ki, siqaret tütüsündə 60-dan çox karsinogen maddələr olduğundan onun təkibində olan başqa kimyəvi maddələr başqa genlərdə mutasiyaları induksiya edir.



ŞƏKİL 24-9 Benzo(a)pirenin daha güclü mutagen və karsinogenə fermentativ çevrilməsi. Qaraciyər fermentləri, xüsusilə p-450 fermenti benzo(a)pireni bir sıra reaksiyalarla modifikasiya edir, Qvanin əsasında N₂ atomunda DNT ilə reaksiya girən yüksək dərəcəli potensial mutagen 7,8-diol-9,10-epoksidi istehsal edir. Nəticədə alınan (+)-trans-anti-B(a)P-N²-dG məhsul (adduct) polimerazanın

modifikasiya olunmuş G əsasına qarşısına C əvəzinə A-nı yerləşdirməsinə səbəb olur. Növbəti dəfə DNT replikasiya etdikdə A əsasının qarşısına T daxil edilir və beləliklə mutasiya tamamlanır. Üfiqi oxlar reduksiya olunmuş toksiklik istiqamətində dəyişmələri göstərir. Böyük "O" işarəsi soldakı tam benzo(a)piren molekulunda olan çox-həlqəli quruluşun qalan hissəsini göstərir

Ağciyər xərçəngi təmiz-risk faktorunun identifikasiya olunduğu yeganə əsas insan xərçəngi deyildir. Asbestə məruz qalma da başqa bir tip ağciyər xərçənginə, mezoteliomaya aparır. Kif göbələyində tapılmış göbələk metaboliti **afلاتoksin** qaraciyər xərçəngini induksiya edir. Bundan başqa, ətin çox yüksək temperaturda bişirilməsi potensial heyvan modelində süd vəzi və yoğun bağırsağ (colon) xərçənglərinin əmələ gəlməsinə səbəb olan **heterotsiklik aminlərin** (HCA) əmələ gəldiyi reaksiyanın baş verməsinə səbəb olur. Başqa geniş yayılmış xərçənglərin (məsələn, süd vəzi, bağırsağ, prostat xərçəngi və leykemiya) qarşısını almağa kömək edə bilən pəhriz və ətraf mühitin risk faktorlarına dair dəlil, ümumiyyətlə yoxdur.

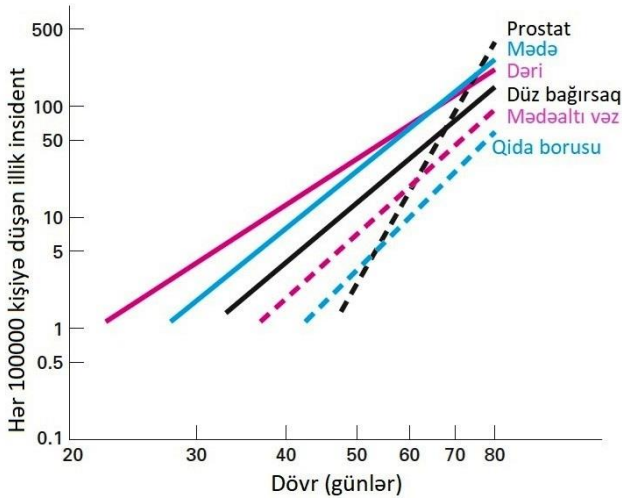
Multi-Hit Model Xərçəngin İnkişafını İzah Edə Bilir

Bizim indicə öyrəndiyimiz kimi, mutasiyalar xərçəngin yaranmasına səbəb olur. Amma, xöşbəxtlikdən normal bədən hüceyrəsini bədxassəli hüceyrəyə çevirmək üçün çoxsaylı mutasiyalar tələb olunur. *Multi-hit (zərbə) modelə* görə xərçəng, böyük populyasiyada ayrı-ayrı heyvanların seçilməsindən fərqli olaraq, təkamül klonal seçmə (və ya daha güclünün sağ qalması) prosesinə görə yaranır. Burada bütün xərçənglərə tətbiq oluna və olunmaya bilən senari verilir: bir hüceyrədə mutasiya ona yüngülcə böyümə üstünlüyü verir. Onun yeni nəsill hüceyrələrindən biri sonra ikinci mutasiyaya məruz qalır, bu da onun daha da nəzarət oluna bilməyən artmasına və kiçik xoşxassəli (benign) şişin yaranmasına gətirib çıxarır. Bu şiş daxilindəki hüceyrədə üçüncü mutasiya ona başqalarını da artırmağa və mikromühitin məhdudluqlarını dağıtmağa vadar etmək imkanı verir və onun nəsli bu üç genetik dəyişikliklərə

sahib olan hüceyrə kütləsini əmələ gətirir. Bu hüceyrələrin birində əlavə bir mutasiyanın baş verməsi onun nəslinin daha uzaq sahələrdə qız koloniyalarını əmələ gətirməsinə imkan verir, bu metastaz verən xərçəngin nişanıdır (hallmark).

Bu model sınaqdan keçirilə bilən iki proqnozlaşdırmanı verir. Birinci, verilmiş şişdə olan bütün hüceyrələr ən azı bəzi ümumi genetik dəyişmələrə malik olmalıdır. İnsanın fərdi şişlərindən alınan hüceyrələrin sistematik analizi şişdə bütün hüceyrələrin tək bir əcdaddan törəndiyini göstərən proqnozlaşdırmanı dəstəkləyir. İkinci, xərçəng halları yaşla bağlı olaraq artır, çünki çoxsaylı mutasiyaların baş verməsi üçün onilliklər lazım olur. Hesab edək ki, həyat dövründə mutasiyanın sürəti sabitdir, əgər normal hüceyrənin bədxassəli hüceyrəyə çevrilməsi üçün yalnız bir mutasiya kifayət edərsə, o zaman əksər mutasiya tiplərinin baş verməsi yaşdan asılı olmamalıdır. Şəkil 24-10 verilənlərində göstərilirdi kimi, insan xərçənginin çox tipinə meyl yaşla bağlı olaraq kəskin şikildə artır. Faktiki olaraq, hazırki hesablamalar göstərir ki, beşdən altıya qədər "hit" və ya mutasiya toplanmalıdır ki, ən təhlükəli xərçəng hüceyrələri yaransınlar.

Şişin induksiyası üçün çoxsaylı mutasiyaların tələb olunması barədə birbaşa sübutlar transgen siçanlarla aparılan eksperimentlərdən alınmışdır, göstərilmişdir ki, xərçəngin əmələ gəlməsində onkogenlərin müxtəlif kombinasiyaları birgə fəaliyyət göstərilir. Məsələn, hər bir halda retrovirusun məmə-hüceyrə-spesifik promotor/enhanser nəzarəti altında ya mutant *ras^{V12}* dominant onkogenini (*ras^D*-nin bir versiyası) ya da *MYC* proto-onkogenini daşıyan siçan yaradılmışdır. Bu promotor endogen hormon səviyyəsi və toxuma spesifik tənzimləyicilərlə induksiya olunur, *MYC* və ya *ras^{V12}*-nin superekspressiyasına səbəb olur



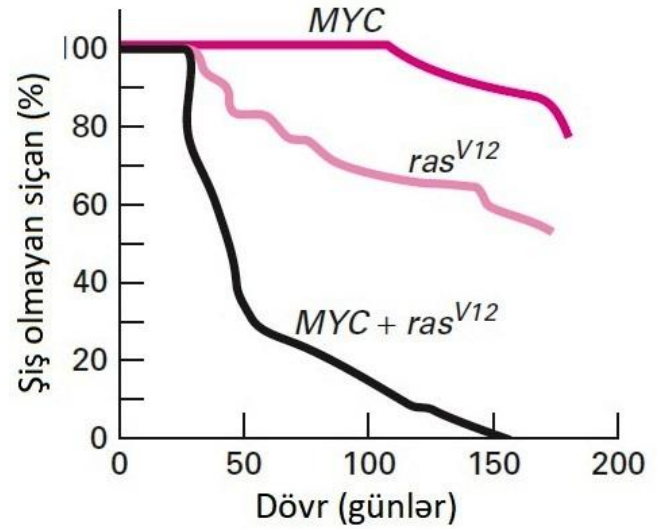
EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-10 İnsanın xərçənglərinin başvermə tezliyi yaşla əlaqədar olaraq artır. Xərçəngin əmələ gəlməsində qeyd olunan yaşla əlaqədar yüksəlmə xərçəngin induksiya olunmasının multi-hit (zərbə) modeli ilə uyğunlaşır. Qeyd edək ki, illik xərçəng hadisəsinin loqarifmi yaş loqarifminə qarşılıqdır. [Verilənlər B. Vogelstein and K. Kinzler, 1993, *Trends Genet.* 9:138–141-dən.]

MYC zülalı transkripsiya faktorudur, hüceyrə tsiklinin G₁ fazasından S fazasına keçmək üçün tələb olunan çox genlərin ekspressiyasını induksiya edir. Bu siçanda MYC-nin yüksələn transkripsiyası əvvəllər identifikasiya olunmuş, MYC transkripsiyasını yüksəldən onkogen mutasiyaları təqlid edir, proto-onkogeni onkogenə çevirir. Özlüyündə, *MYC* transgeni yalnız 100 gündən sonra və yalnız bir neçə siçanda şişin əmələ gəlməsinə səbəb olur, aydındır ki, məmə hüceyrələrinin MYC istehsal edən kiçik bir fraksiyası bədxassəli hüceyrələrə çevrilirlər. Mutant Ras^{V12} zülalının istehsalı özü şişin erkən əmələ gəlməsinə səbəb olur, lakin hələ də yavaş-yavaş və 150 gün ərzində təxminən 50 faiz səmərəliliklə. Amma, *MYC* və *ras*^{V12} superekspressiya edən transgenlər çarpazlaşanda onlardan əmələ gələn nəsildə bütün məmə hüceyrələri həm MYC həm də Ras^{V12}-ni artıq miqdarda istehsal edirlər, şiş daha erkən meydana gəlir və bütün heyvanlar xərçəngə tutulurlar (Şəkil 24-11). Belə eksperimentlər çoxsaylı onkogenlərin sinergetik təsirini vurğulayır. Onlar həmçinin göstərir ki, hətta ikiqat transgen siçanda, şiş əmələ gəlməsinin uzunsürən latentliyi (gecikməsi), görünür yeni əlavə mutasiyanın tələb olunması ilə bağlıdır.

Ardıcıl Onkogen Mutasiyalar Yoğun Bağırsağ Xərçənglərində İzlənİLə Bilər

Hal-hazırda xərçəngin induksiya olunmasının multi-hit modeli üçün yoğun bağırsağ xərçənglərinin tədqiqatı ən inandırıcı dəlilləri təmin edir. Cərrahlar çox insan xərçəngindən kifayət qədər təmiz nümunələr əldə edə bilirlər, lakin şiş yalnız bir dəfə müşahidə edildiyindən onun inkişafının dəqiq mərhələsi asanlıqla təyin edilə bilmir. İstisna yaxşı xarakterizə olunan fərqli morfoloji mərhələlərdən keçərək inkişaf edən yoğun bağırsağ (colon) xərçəngidir. Onun aralıq mərhələləri — poliplər, xoşxassəli şişlər, adenomalar və karsinomalar — cərrahi yolla ayrılabilir, bu mərhələlərin hər birində meydana gələn mutasiyalar təyin edilə bilər. Çoxsaylı tədqiqatlar göstərdi ki,

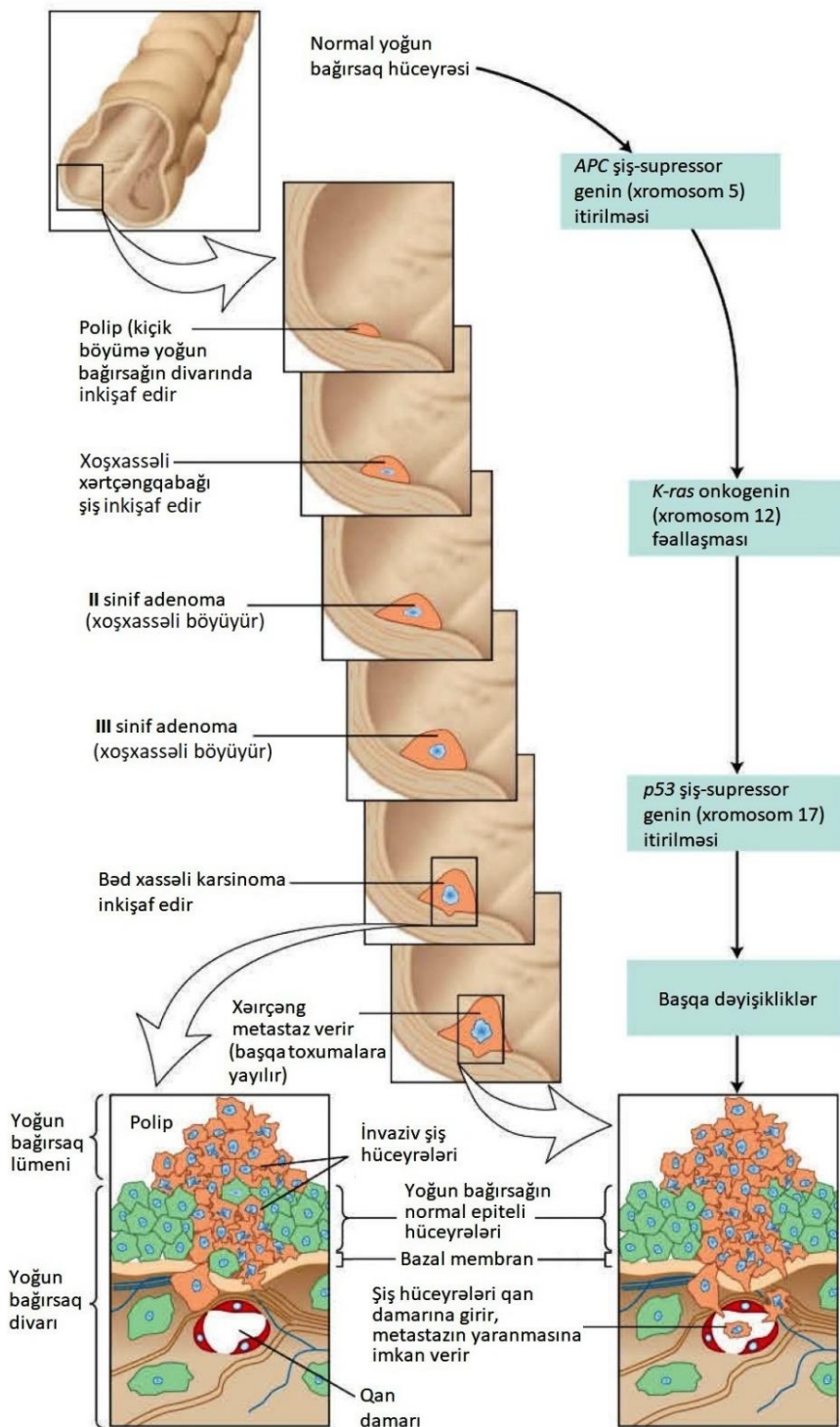
yoğun bağırsağ xərçəngi ümumilikdə yaxşı təyin edilmiş ardıcılıqla yaranan bir sıra mutasiyalar sırasından əmələ gəlir və bu multi-hit modelini güclü şəkildə təsdiq edir (Şəkil 24-12).



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-11 Bir və ya iki transgeni daşıyan dişi siçanlarda şiş əmələ gəlməsinin kinetikası xərçəngin induksiya olunmasında çoxsaylı mutasiyaların kooperativ təbiətini göstərir. Transgenlərin hər biri siçanın məmə şişi virusunun (MMTV) süd vəzi-spesifik promotoru ilə idarə olunmuşdur. Hamiləliklə bağlı olan hormonal stimullaşma MMTV promotoru fəallaşdırır və beləliklə məmə toxumasında transgenin superekspressiyasını fəallaşdırır. Qrafik *MYC* və ya *ras*^{V12} daşıyan siçanda və eləcə də, onlardan alınan hər iki transgenə malik olan nəsildə tümorogenezin zamandan asılılıq gedişini göstərir. Nəticə çoxsaylı mutasiyaların xərçəngin induksiya olunmasında rolunu açıq şəkildə nümayiş etdirir. Bax E. Sinn et al., 1987, *Cell* 49:465.

Yoğun bağırsağ xərçənginin inkişafına dair biliklər ilk dəfə **ailəvi adenomatoz polipoz (familial adenomatous polyposis, FAP)** kimi yoğun bağırsağ xərçənginə irsi meyilliliyin tədqiqatlarından meydana gəldi. Wnt siqnal yolunda mutasiyaların bu sindromların çoxunda aşkar olunmuşdur və indi belə hesab olunur ki, Wnt siqnal yolunun tənzimlənməsinin pozulması yalnız irsi polipoz sindromlu fərdlərdə deyil, həm də yoğun bağırsağ xərçənginin sporadik (qeyri irsi) formalarından əziyyət çəkən fərdlərin də yoğun bağırsağ divarlarında polip (xərçəngqabağı artma) əmələ gəlməsi ilə nəticələnir. APC (bağırsağın adenomatoz polipozu – *adenomatous polyposis coli*) zülalı Wnt siqnalının mənfi (neqativ) tənzimləyicisidir (bax Fəsil 16), *MYC* geninin ekspressiyasını fəallaşdırmaqla hüceyrə tsiklinə girişi təşviq edir. Beləliklə, funksional APC zülalının olmaması MYC-nin uyğun olmayan (yersiz) istehsalına səbəb olur, APC mutasiyasına homoziqot olan hüceyrələr normal halda yüksək sürətlə proliferasiya edir və polipsi əmələ gətirir. *APC* genində funksiyanın itirilməsi mutasiyaları yoğun bağırsağ xərçənginin erkən vaxtlarında daha çox rast gəlinən mutasiyalardır. Polipdə hüceyrələrin əksəriyyəti *APC* genində olan, onun funksiyasını itirən və ya fəalsızlaşdıran eyni bir və ya iki mutasiyanı daşıyır, bu göstərir ki, onlar ilkin mutasiyanın baş verdiyi hüceyrənin klonudur. Beləliklə *APC* şiş-supressor genidir və polip əmələ gəlməsi üçün *APC* geninin hər iki alleli fəalsızlaşdırıcı mutasiyanı daşmalıdır, çünki bir təbii-formalı

APC geninə malik olan hüceyrə normal fəaliyyət göstərmək üçün kifayət qədər APC zülalını ekspressiya edəcəkdir.



ŞƏKİL 24-12 İnsanın kolorektal xərcənginin inkişafı və metastazı və onun genetik əsasları. Tək epiteli hüceyrəsində APC şiş-repressor genindəki mutasiya hüceyrənin bölünməsinə (hərçənd ki, ətrafdakı hüceyrələr bölünmür), lokal xoşxassəli şiş hüceyrələrinin polip adlanan kütləsinin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Sonrakı mutasiyalar konstitutiv fəal Ras zülalının ekspressiyasına və şiş-supressor geni p53-ün itirilməsinə gətirib çıxarır. Bu mutasiyalar, hələ ki, identifikasiya olunmamış əlavə genetik dəyişilmələrlə birlikdə bəd xassəli hüceyrələri yaradır. Hüceyrə bölünməkdə davam edir və onun yeni nəslə toxumanı əhatə edən bazal membrana zəbt edir, amma kapillyarların bazal membranına keçmir (aşağıda solda). Bəzi şiş hüceyrələri qan damarlarına yayılırlar və uzaq toxumada proliferasiya edirlər. Bax B. Vogelstein and K. Kinzler, 1993, Trends Genet. 9:138-141.

Polipdə hüceyrələrin biri başqa bir mutasiyaya uğrayır, bu dəfə *ras* genində fəallaşdırıcı mutasiya sonra adenomanın yaranmasına səbəb olur, onun törətdiyi nəsəl daha da nəzarət oluna bilməyən formada bölünür və böyük adenomanı əmələ gətirir. *p53* geninin fəalsızlaşması davam edir və normal tənzimlənmənin tədricən itirilməsi ilə və bədxassəli karsinomanın yaranması ilə nəticələnir (bax Şəkil 24-12). *p53*

zülalı DNT zədələnməsinə və digər streslərə cavab olaraq hüceyrə tsikli boyunca irəliləməni dayandıran şiş supressorudur. Burada sadalanan üç "hit" ("zərbə"), şübhəsiz ki, təsvirin vacib hissələridir, amma əlavə genetik hadisələrin də olma ehtimalı vardır. Amma, sonrakı mutasiyaları yoğun bağırsağ xərcənginin hər biri qazanmır və ya Şəkil 24-12-də göstərilən ardıcılıqda

qazanmır. Beləliklə mutasiyanın müxtəlif kombinasiyaları eyni fenotiplə nəticələnə bilər.

İnsanın müxtəlif yoğun bağırsağ karsinomasından alınan DNT əsasən burada qeyd olunan hər üç gendə olan mutasiyaları — şiş suppressorları *APC* və *p53*-də funksiyasının itirilməsi mutasiyalarını və *K-ras* (ras ailəsi genlərindən biri) onkogendə fəallaşdırıcı (funksiyasını qazanılması) mutasiyanı — saxlayır, bu göstərir ki, eyni hüceyrədə xərçəngin formalaşması üçün çoxsaylı mutasiyalar lazımdır. Bu mutasiyalardan bəziləri şişin inkişafının ilkin mərhələlərində böyümə üstünlüklərini verir, digər mutasiyalar isə sonrakı mərhələləri, bəd xassəli fenotipin tələb etdiyi zəbt etməni (invaziyayı) və metastazı təşviq edir. Yoğun bağırsağ xərçənginin inkişafı üçün lazım olan mutasiyaların sayı əvvəlcə təccüblü görünə bilər və tümorigenez üçün təsirli bir maneə kimi görünə bilər. Amma, bizim genomlarımız daima hücum altındadır. Son zamanların təxminləri göstərir ki, sporadik yaranan poliplər hər bir hüceyrədə 11000 qədər genetik dəyişilmələrə malikdir, hərçənd ki, bu dəyişilmələrin çox az hissəsi onkogenezlə bağlıdır. Xərçəng hüceyrələrinin əlaməti olan genetik qeyri-sabitlik şişin sonrakı inkişafını təşviq edir, şiş hüceyrələrinin özünə-ərxayın sürətlə yaranmasına və metastaz etmək qabiliyyətinə imkan yaradır.

Yoğun bağırsağ karsinoması xərçəngin multi-hit modelinin nümunəsini təmin edir. Bu modelin xərçəngə tətbiq olunma dərəcəsi əsasən son zamanlar öyrənilməyə başlanmışdır, amma artıq aydındır ki, çox xərçəng tipləri çoxsaylı mutasiyalara malik olurlar.

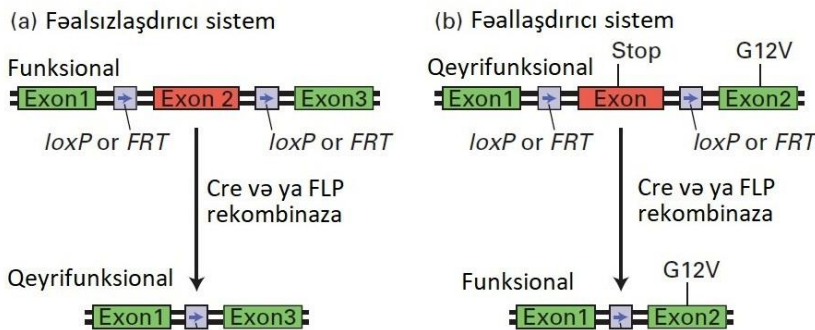
Xərçəngin İnkişafı Kultura Olunan Hüceyrələrdə və Heyvan Modellərində Öyrənilə Bilir

Əksər kultura olunan hüceyrələr sonlu ömrə malikdir (bax Fəsil 4). İnsan hüceyrələri təxminən 50 bölünmədən sonra telomerlərinin qısalması səbəbindən bölünməni dayandırır və nəticədə ölür (bax Şəkil 4-1a). Bəzi hüceyrələr isə bu

müqəddaratdan qaçaraq ölümsüz olurlar; yəni qeyri -müəyyən müddətə bölünmə qabiliyyətini qazanırlar. Ölümsüzləşmə, hüceyrə tsiklinin və hüceyrənin sağ qalma qabiliyyətinin tənzimləyiciləri olan *p19ARF* və ya *p53* genlərindəki funksiya itirilməsi də daxil olmaqla bir neçə növ mutasiya vasitəsi ilə həyata keçirilir. Bu mutasiyalar, hüceyrələrin vaxtaşırı durulaşdırıldıqları və qida maddələri ilə təmin edildikləri şəraitdə kultura qeyri-məhdud müddətdə artmasına imkan verir (bax Şəkil 4-1b).

Ölümsüz hüceyrələr tam-yetişmiş hüceyrələr deyildir. Bunları immuniteti pozulmuş (immun defisitli) siçana daxil etdikdə, onlar şiş əmələ gətirə bilmirlər. Amma, daha sonra onkogen mutasiyalar daxil ediləndə, onlar xərçəng hüceyrələrinə çevrilirlər. Məsələn, Ras zülalının hiperfəal forması *ras^D*-ni kodlaşdıran mutant *ras* geni ölümsüz hüceyrəyə yeridiləndə onları xərçəng hüceyrələrinə transformasiya edirlər. Bizim Fəsil 24.3-də görəcəyimiz kimi, ölümsüzləşmiş hüceyrələri xərçəng hüceyrələrinə transformasiya etmək qabiliyyətində olan *ras^D* kimi zülalları kodlaşdıran istənilən gen onkogen hesab edilir. Hüceyrə kulturası eksperimentləri yalnız onkogenlərin xərçəngi əmələ gətirmələri haqqında bilikləri təmin etmədi, o həmçinin normal hüceyrənin xərçəng hüceyrəsinə transformasiya edilməsi üçün çoxsaylı “hit”lərin lazım olması ideyasını da dəstəklədi.

Genetik mühəndislik yolu ilə yaradılmış siçan şişin başlanması və inkişafı pillələrinə də misli görünməmiş bilikləri verdi. Amma, xərçəngi öyrənmək üçün siçan modelindən istifadə etmək həmişə sadə olmur. Çox şiş-supressor genləri siçanın normal inkişafında vacib funksiyaları yerinə yetirir, beləliklə bu genlərin hər iki nüsxəsini itirmiş siçanlar sağ qala bilmirlər. Embriogenezin erkən dövründə bu genlərin vacib funksiyası şişin inkişaf etməsində onların rolunu öyrənməyə çətinlik törədir. Bu problemi aradan qaldırmaq üçün tədqiqatçılar müəyyən toxumada və ya inkişafın müəyyən mərhələsində genin hədəf olunmuş fəallaşması və ya fəalsızlaşmasına imkan verən şərti “nok-in” və “nokaut” strategiyasını tətbiq etdilər.



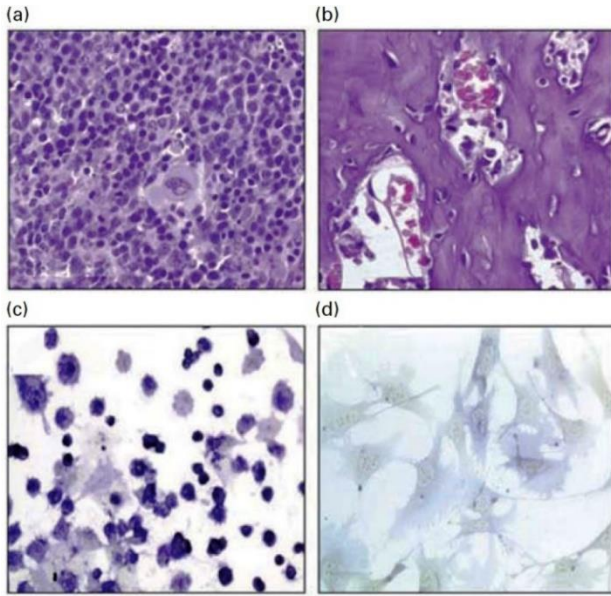
ŞƏKİL 24-13 Xərçəngin şərti siçan modelləri.

Fəalsızlaşdırıcı sistemdə (a), görüldüyü kimi, maraq eqzonuna cinahdan iki sayt, *loxP* və ya *FRT* saytları durur. *Cre* və ya *FLP* rekombinazının ekspressiyası müvafiq olaraq *loxP* və *FRT* saytlar arasında homoloji rekombinasiyanın yaranmasına səbəb olur. Bu rekombinasiya eqzonların kəsilməsinə gətirib çıxarır, və geni qeyri funksional vəziyyətə salır. Bu eqzona *loxP* və *FRT* saytlar cinahdır. *Cre* və *FRP* rekombinaza induksiya olunduqda, stop kodon-saxlayan eqzon sıradan çıxır və maraq geni ekspressiya olunur.

Şərti siçan modelində, xüsusi bir onkogenin və ya şiş-supressor genin alleli onkogen kimyəvi maddələrlə və ya viruslarla toxuma- və ya zaman-spesifik üsulla fəallaşana və ya fəalsızlaşana qədər təbii forma tipində olur. Belə şərti sistemlərin mərkəzində *Cre* və *FLP* rekombinazalar durur. Bu rekombinazalar uyğun olaraq *loxP* və *FRT* saytları arasında homoloji rekombinasiyanı asanlaşdırır (Şəkil 24-13, həmçinin

bax Şəkil 6-39). Rekombinazalar toxuma-spesifik promotorun nəzarəti altında olanda, rekombinasiya yalnız rekombinazın istehsal edən toxumalarda baş verir. Rekombinaza metodu iki yolla istifadə edilə bilər. Birinci, rekombinaza hədəf saytları eqzona cinah ola bilər. Rekombinasiyanın induksiyası zamanı, eqzon itir və gen fəalsızlaşır (Şəkil 24-13a). Bu metod xüsusilə şiş-supressor genin toxuma-spesifik üslubda fəalsızlaşması üçün

faydalıdır. İkinci, onkogen daxilinə geni qeyri funksional edən stop kodona malik olan əlavə eqzonu daxil etməklə onkogenin ekspresiyasına nəzarət oluna bilər. Amma, əgər əlavə eqzon rekombinaza hədəf saytları ilə cınah olursa, onkogen rekombinazanın induksiya olunması zamanı ekspressiya olunacaqdır (Şəkil 24-13b). Bu sistemdən istifadə edərək, tədqiqatçılar siçanda Ras zülalının onkogen formasının rolunu araşdırdılar və şərti onkogen *ras* alleldən istifadə etməklə insanın ağciyər xərçənginin siçan modelinin yaradılmasına nail oldular.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-14 Şişin böyüməsi üçün MYC fasiləsiz şəkildə lazımdır. MYC ekspresiyasının Tet-Off sistemi ilə idarə olunduğu transgen siçan yaradılmışdır. Belə siçanların bir faizində osteogen sarkomalar inkişaf edir. Təbii-formalı siçan onlarda xəstəliyin əmələ gəlməsinə səbəb olan osteogen sarkoma ilə transplantasiya olunur. Transplantasiya olunan siçanda MYC-nin ekspresiyası siçana doksitsiklinlə təsir etməklə repressiya olunur. Doksitsiklinlə işləmə osteogen sarkomanın proliferasiya etməsini dayandırır (a) və onu yetkin osteositə differensasiya edir (b). MYC ekspresiyası dayandırıldıqdan sonra şiş hüceyrələri, osteogen sarkomaların markeri olan qələvi fosfataza fəallığını da itirir (c, d). Təccüblüdür ki, MYC zülalının yenidən ekspresiyası sarkoma vəziyyətinin yaranmasına səbəb olmadı. [AAAS razılığı ilə Jain, M., et al., "Sustained loss of a neoplastic phenotype by brief inactivation of MYC," *Science*, 2002, **297**(5578)102-4-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsilə alınmışdır.]

Eqzogen əlavə edilmiş kimyəvi maddələr vasitəsilə tənzimlənə bilən promotorların yaradılması eksperimental heyvanlarda gen ekspresiyasının nəzarət olunmasının əlavə güclü metodunu təmin etdi. Bu metodlardan ən geniş istifadə olunanları Tet-On və Tet-Off sistemləridir. Bu sistemlərin hər biri iki hissədən təşkil olunmuşdur: maraqlı genin ekspresiyasını tənzimləyən Tet operon promotordan və promotora birləşən transkripsiya faktorunun iki versiyasının birindən – ya transaktivator tTA (Tet-Off olan halda) və ya geriye transaktivator rtTA-dan (Tet-On olan halda). Hər iki transkripsiya faktoru gen ekspresiyasını induksiya etmək üçün Tet operatora birləşir və hər ikisi alimlərin öz

eksperimentlərində çox istifadə etdikləri tetratsiklinlə və ya tetratsiklin analoqu doksitsiklinlə tənzimlənilir. İki sistem arasında fərq tTA və rtTA-nın doksitsiklinin birləşməsinə olan cavabındadır. Doksitsiklin tTA-nın promotora birləşməsini ingibirləşdirir, beləliklə Tet-Off sistemində doksitsiklinin əlavə edilməsi transkripsiyanı dayandırır. Tet-On sistemində, rtTA doksitsiklin olmadan promotora birləşə bilər, dərmanın əlavə edilməsi transkripsiyanı induksiya edir. Doksitsiklin heyvana sadəcə olaraq onun təmin olunduğu suya əlavə etməklə yeridilə bilər. Tet transkripsiya tənzimləyicisinin toxuma-spesifik promotorun nəzarəti altında yerləşdirilməsi buna görə gen ekspresiyasının zamana və məkana görə tənzimlənməsinə imkan yaradır.

MYC ekspresiyasına nəzarət olunması üçün Tet-Off sistemin istifadə olunması ilə tədqiqatçılar tapdılar ki, şişin sağ qalması MYC zülalının fasiləsiz şəkildə davam edən ekspresiyasından asılıdır. MYC-nin ekspresiyası hətta qısa zaman ərzində qırıldıqda osteogen sarkoma hüceyrələri bölünməni dayandırdı və inkişaf edib yetkin osteositlərə çevrildilər (Şəkil 24-14). İndi aydındır ki, onkogenlərin fasiləsiz davam edən fəallığı çox şiş tiplərinin sağ qalması üçün tələb olunur. Şişlərin onkogenlə-kodlaşdırılan zülalların davam edən şəkildə istehsalından **onkogen asılılıq** adlanan belə asılılığı müalicə üçün yeni imkanları təmin edə bilər. Bu onkogenlə-kodlaşdırılan zülalların spesifik ingibitorları, hətta keçici (qısa müddətdə) tətbiq olunduğu halda xəstəliyin repressiyasına (qayıtmasına) səbəb ola bilər.

24.2 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Xərçəngin mənşəi və inkişafı

- DNT ardıcılığında dəyişilmələr DNT köçürmələrindəki səhvlərin və karsinogen effektlərin nəticəsində yarana bilər. Bütün karsinogenlər mutagenlərdirlər, onlar DNT-də bir və ya daha artıq nukleotidin dəyişilməsinə səbəb olurlar.
- Karsinogenlərin daha geniş yayılan tipi olan dolayı fəaliyyət göstərən karsinogenlər DNT-ni zədələməkdən öncə fəallaşmalıdırlar. Heyvanlarda metabolik fəallaşma sitoxrom P-450 sistemi ilə baş verir, bu zərərli xarici kimyəvi maddələrdən xilas olmaq üçün ümumiyyətlə hüceyrələr tərəfindən istifadə edilən bir yoldur. EMS və DMS kimi birbaşa işləyən karsinogenlər DNT-ni zədələmək üçün bu cürə hüceyrə modifikasiyalarını tələb etmir.
- Siqaret tüstüsünün komponenti olan benzo(a)piren *p53* genində fəalsızlaşdırıcı mutasiyaya səbəb olur, beləliklə insanın ağciyər şişinin yaranmasına səbəb olur.
- Xərçəngin əmələ gəlməsi üçün çoxsaylı mutasiyaların tələb olunmasını irəli sürən multi-hit (zərbə) model, verilmiş şişdən alınan hüceyrənin genetik homogenliyi ilə, yaşla bağlı olan insan xərçənginə tutulma hallarının müşahidə edilən artması ilə və siçanlarda şiş əmələ gəlməsinə onkogen transgenlərin və şiş-supressor gen mutasiyalarının kooperativ təsiri ilə uzlaşır.
- Yoğun bağırsağ xərçəngi xüsusi şiş-supressor genlərində və proto-onkogenlərdə mutasiya ilə əlaqəli fərqli morfoloji mərhələlərlə inkişaf edir.

- Onkogen və şiş-suppressor genlərini zaman- və toxuma-spesifik şəkildə ekspressiya edə bilən kultura olunan hüceyrələr və siçanlar, bizi xərçəngin necə əmələ gəlməsi və bu genlərin xəstəliyin yaranmasına və inkişafına necə töhfə verməsi barədə öyrədirlər.

24.3 Xərçəngin Genetik Əsasları

Bizim qeyd etdiyimiz kimi, üç böyük sinif gendə – proto-onkogenlər (məsələn, *RAS*), şiş-supressor genləri (məsələn, *APC*) və genomun qorunub saxlanması genlərində mutasiyalar xərçəngin induksiya olunmasında əsas rol oynayır (Cədvəl 24-1). Bu genlər böyüməni və proliferasiyanı nizamlayan çox zülalları kodlaşdırırlar (Şəkil 24-15). Virtual olaraq bütün insan şişləri normal halda gen məhsulları hüceyrə tsiklinin müxtəlif **yoxlama nəzarət nöqtəsi yollarında**, əvvəlki pillələr düzgün getməmişsə və ya DNT zədələnməsi baş vermişsə hüceyrə tsikli yolu ilə hüceyrənin inkişafını dayandırmaq üçün fəaliyyət göstərən genlərdə fəalsızlaşdırıcı mutasiyaya malikdirlər. Məsələn, xərçənglərin çoxu normal halda hüceyrə tsiklinin G1 fazasında inkişafı məhdudlaşdıran bir və ya daha artıq zülalı kodlaşdıran genlərdə və ya bütün hüceyrə tsikli boyu hüceyrəni idarə edən zülalları kodlaşdıran genlərdə fəalsızlaşdırıcı mutasiyalara malikdirlər. Eynilə, müxtəlif mənşəli insan şişlərində konstitutiv fəal *RAS* və ya digər fəallaşmış siqnal ötürən zülallar olur. Beləliklə, bədxassəlilik və Fəsil 19-da müzakirə olunan hüceyrə tsiklinin idarə olunmasının mürəkkəb prosesləri eyni sikkənin iki üzüdür. Şişin böyüməsinə səbəb olan hadisələr sırasında, onkogenlər şiş-supressor mutasiyalarla birləşək, əvvəlki bölmələrdə təsvir olunan şiş-hüceyrə

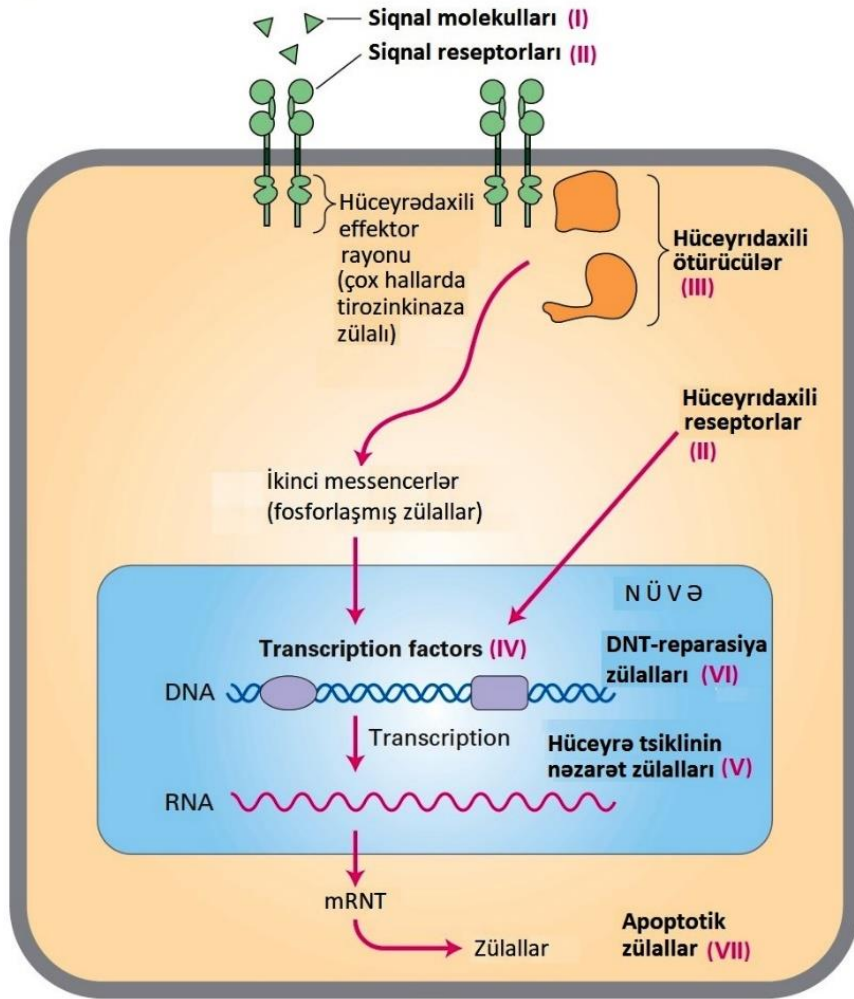
xüsusiyyətlərinin tam spektrini əmələ gətirirlər. Bu bölmədə biz, xərçəngi əmələ gətirən mutasiyaların əsas tiplərinə baxırıq və nəyə görə irsən keçmiş mutasiyaların xərçəng riskini artırmasını izah edirik. Biz bölməni şişlərin molekulyar analizinin xərçəngin müalicə üsulunu necə dəyişdiriyinin təsviri ilə bitiririk. Fərdiləşdirilmiş təbabət – fərdi şişlərin diaqnozunun molekulyar səviyyədə mümkünlüyü və xəstənin spesifik xərçənginə qarşı müalicənin təyin edilməsi – yəqin ki, iyirmi birinci əsrdə reallığa çevriləcəkdir.

Funksiyanın-Qazanılması Mutasiyaları Proto-Onkogenləri Onkogenlərə Çevirir

Kulturada hüceyrələri, adətən başqa hüceyrə dəyişmələri ilə kombinasiyada transformasiya etmək qabiliyyətinə malik olan, və ya heyvanlarda xərçəngi induksiya edən istənilən zülalı kodlaşdıran gen onkogen hesab edilir. Məlum olan çox onkogenlərin yalnız bir neçəsindən başqa hamısı təbii-tipli məhsulları hüceyrələrin proliferasiyasını və ya xərçəng üçün vacib olan digər xüsusiyyətləri inkişaf etdirən normal hüceyrə genlərindən (yəni, proto-onkogenlərdən) alınmışdır. Məsələn, əvvəllər müzakirə olunan *RAS* geni proto-onkogendir, hüceyrə bölünməsinə təşviq edən hüceyrədaxili siqnal ötürən zülalı kodlaşdırır, *RAS*-dan alınan mutant *ras^D* geni onkogendir, onun zülal məhsulu həddən artıq və ya nəzarət olunmayan proliferasiyanı təşviq edən siqnalı təmin edir. Başqa proto-onkogenlər artmanı-təşviq edən siqnal molekulları və onların reseptorlarını, anti apoptoz (hüceyrənin sağ qalması) zülalları və transkripsiya faktorlarını kodlaşdırırlar.

CƏDVƏL 24-1 Xərçəngin yaranmasında iştirak edən genlərin sinifləri

	Genlərin normal funksiyası	Gen məhsullarının nümunələri	Mutasiyanın təsiri	Mutant genlərin genetik xassələri	Mutasiyanın mənşəyi
Proto-onkogenlər	Hüceyrənin sağ qalması və proliferasiyasını təşviq edir	Anti-apoptik zülallar, proliferasiya nəticəsində yaranan siqnal və siqnal ötürən zülalların komponentləri, transkripsiya faktorları	Funksiyanın-qazanılması mutasiyası nizamlanmayan hüceyrə proliferasiyasına və sağ qalmasına imkan verir	Mutasiyalar genetik dominantdırlar	Nöqtəvi mutasiya, xromosom translokasiyası, amplifikasiyası ilə yaranır
Şiş-supressor genləri	Hüceyrənin sağ qalmasını və proliferasiyasını ingibirləşdirir	Apoptozu-təşviq edən zülallar, hüceyrə tsiklinin ingibitorları, DNT/xromosomal zədələnmələri tapan yoxlama nəzarət nöqtəsi zülalları, hüceyrə proliferasiyasını dayandıran siqnal yollarının komponentləri	Funksiyanın-itirilməsi mutasiyası nizamlanmayan hüceyrə proliferasiyasına və sağ qalmasına imkan verir	Mutasiyalar genetik resessivdir	Delesiya, nöqtəvi mutasiya, metilləşmə ilə yaranır
Genomun saxlanması genləri	DNT zədələnməsini reparasiya edir və ya mane olur	DNT reparasiyası fermentləri	Funksiyanın-itirilməsi mutasiyası mutasiyaların toplanmasına imkan verir	Mutasiyalar genetik resessivdir	Delesiya, nöqtəvi mutasiya, metilləşmə ilə yaranır



Şəkil 24-15 Xərçəng yeddi tip zülalın mutant formalarının ekspressiyası nəticəsində yarana bilər.

Normal halda hüceyrənin böyüməsini təşviq edən zülalların quruluşunu və ya ekspressiyasını dəyişən mutasiyalar dominant fəaliyyət göstərən onkogenlərin yaranmasına səbəb olur. Hüceyrəxarici siqnal molekullarının (I), siqnal reseptorlarının (II), siqnal-ötürən zülalların (III) və transkripsiya faktorlarının (IV) çoxu, amma hamısı deyil, bu kateqoriyadadırlar. Hüceyrə proliferasiyasını dayandırmaq üçün fəaliyyət göstərən hüceyrə tsiklinin nəzarət zülalları (V) və DNT reparasiya zülalları (VI) şiş-supressor genləri tərəfindən kodlaşdırılır. Bu genlərdə mutasiyalar resessiv fəaliyyət göstərir, mutant hüceyrələrin şiş hüceyrələrinə çevrilmə və ya mutasiyanın başqa gen siniflərində baş vermə ehtimallarını artırır. Apoptoz zülallarına (VII) apoptozu təşviq edən şiş supressorlar və sağ qalmanı təşviq edən onkozülallar daxildir.

Proto-onkogenlərin *fəallaşma* kimi də adlanan onkogenlərə çevrilməsi, ümumiyyətlə *funksiyanın-bərpa-olunması* mutasiyalarını əhatə edir. Ən azı dörd mexanizm müvafiq proto-onkogenə onkogenləri istehsal edə bilər:

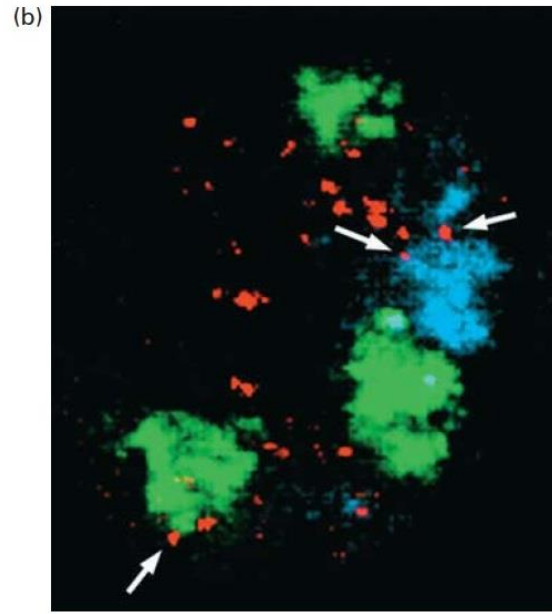
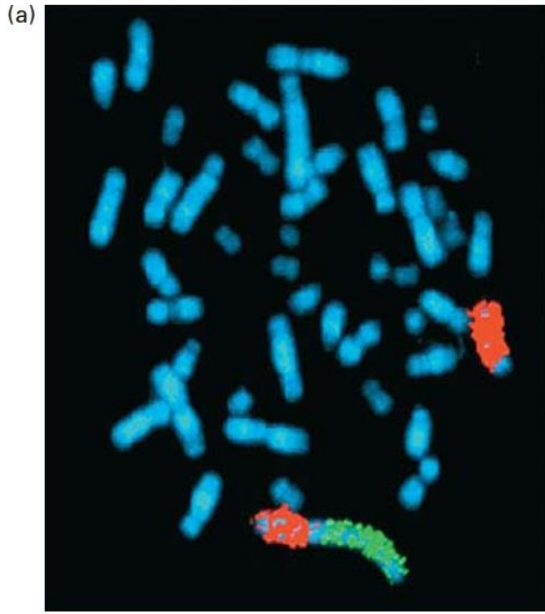
1. Proto-onkogenə *nöqtəvi mutasiyalar* (başqa sözlə, bir əsas cütündə dəyişilmə), hiper-fəal və ya konstitutiv fəal zülal məhsulunun yaranması ilə nəticələnir.
2. *Xromosomal translokasiya*, iki geni bir yerə qovşaşdırır, fəallığı valideyin zülallardan fərqli olaraq konstitutiv olan ximer zülal kodlaşdıran geni istehsal edir.
3. *Xromosomal translokasiya*, böyüməni tənzimləyən geni alternativ enhanserin nəzarəti altına gətirir və qeyri müvafiq gen ekspressiyasına səbəb olur.
4. *Amplifikasiya* (başqa sözlə, anormal DNT replikasiyası), proto-onkogen daxil olmaqla DNT seqmenti elə amplifikasiya olunur ki, onların çoxsaylı nüsxələri mövcud olur, beləliklə kodlaşdırılan zülalın həddən artıq istehsalı baş verir.

Birinci iki mexanizmin istənilən biri ilə yaranan onkogen müvafiq proto-onkogen tərəfindən kodlaşdırılan normal zülaldan fərqlənən *onkozülal* kodlaşdırır. Əksinə, digər iki mexanizm zülal məhsulu normal zülalla identik olan onkogenləri yaradır, onların onkogen təsiri onların normal

səviyyədə daha yüksək səviyyədə istehsal edilmələrinə görədir və ya normal halda istehsal olunmadıqları hüceyrələrdə istehsal olunmalarına görədir.

DNT-nin verilmiş rayonunun yüzlərlə nüsxəyə malik olan böyük miqdarda lokal amplifikasiyası (adətən bu rayonlar yüzlərlə kiloəsas ölçüdə uzanır) şişlərdə tapılmış ümumi genetik dəyişiklikdir. Normal halda belə hadisələr reparasiya olunmalıdır və ya hüceyrələr hüceyrə nəzarət yolları tərəfindən hüceyrə tsiklindən çıxarılmalıdır, beləliklə bu cürə yaralanma DNT reparasiya sistemində defektin bir növüdür. Bu amplifikasiyalar iki formadan biri ilə baş verir: duplikasiya olunmuş DNT xromosomunun bir saytında baş verə bilər və ya o sərbəst mini-xromosoma-bənzər quruluşda meydana gələ bilər. Birinci forma, amplifikasiya saytında işıq mikroskopunda görünə bilən homogen boyanma rayonlarına (homogeneously staining region - HSR) aparır; ikinci forma, normal xromosomlardan ayrı olan, boyanmış xromosom preparatlarından ibarət əlavə "kiçik" xromosomları yaradır (Şəkil 24-16)

Onların necə ortaya çıxmasından asılı olmayaraq, onkogenlərin mərkəzi aspekti proto-onkogenləri onkogenlərə çevirən funksiyaların-qazanılması mutasiyalarının genetik olaraq üstünlük təşkil etməsidir, yəni xərçəngin induksiya olunması üçün mutasiyanın iki alleldən yalnız birində olması kifayətdir.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-16 Boyanmış xromosomlarda DNT amplifikasiyası iki formada baş verir, hər ikisi işıq mikroskopu altında görünür. (a) İnsanın neuroblastoma hüceyrələrində homogen boyanmış rayonlar (Homogeneously staining regions - HSR). Xromosomlar bərabər şəkildə mavi rəglə elə boyanmışdır ki, hamısı görünə bilər. Spesifik DNT ardıcılığı fluoressent in situ hibridləşmədən (FISH) istifadə etməklə aşkar edilmişdir, bu zaman fluoressent nişanlanmış DNT klonları xromosomdakı denaturasiya olunmuş DNT ilə hibridləşmişlər. 4-cü xromosom cütü xromosom boya probu ilə 4-cü xromosomun uzun çiyininə in situ hibridləşmə yolu ilə qeyd olunmuşdur (qırmızı). 4-cü xromosomun birində, HSR nöroblastoma hüceyrəsində amplifikasiya olunan N-MYC geninin

(yaşıl) prob ilə hibridləşdikdən sonra görünür. (b) İnsanın ikiqat-küçük adlanan xromosomlara malik olan neuroblastoma hüceyrəsinin nüvədən kəsib keçən optik kəsiyi. Normal xromosomlar yaşıl və mavi quruluşdadırlar, ikiqat-küçük xromosomlar çox kiçik qırmızı nöqtələrdir. Oxlar xromosomun səthi və ya daxili ilə assosiasiyada olan ikiqat-küçük xromosomları göstərir. [John Wiley and Sons, Inc., razılığı ilə Solovci, I., et al., "Topology of double minutes (dmns) and homogeneously staining regions (HSRs) in nuclei of human neuroblastoma cell lines," *Genes, Chromosomes Cancer*, 2000, 29(4):297-308-dən yenidən çap olunur; razılıq Copyright Clearance Center, Inc vasitəsilə alınmışdır.]

Xərçəng-Əmələgətirən Viruslar Onkogenlərə Malikdirlər və ya Hüceyrənin Proto-onkogenlərini Fəallaşdırırlar

Peyton Rousun 1911-ci ildən başlayaraq apardığı pioner tədqiqatlar göstərdi ki, müvafiq sahib heyvan orqanizmi daxilinə yeridilmiş virus xərçəngin yaranmasına səbəb ola bilər. Çox illər sonra, molekulyar bioloqlar göstərdilər ki, Rous sarkoma virusu (RSV) **retrovirus**dur, onun RNT genomu DNT-yə geriye-transkripsiyaya olunur, o isə sonra sahib-hüceyrənin genomuna daxil olur (bax Şəkil 5-48). Bütün retroviruslarda mövcud olan "normal" genlərlə yanaşı, RSV kimi onkogen transformasiya edən viruslar onkogenlərə, RSV olan halda *v-src* geninə malik olurlar. RSV-nin mutant forması ilə aparılan sonrakı tədqiqatlar göstərdilər ki, başqa virus genləri deyil, yalnız *v-src* geni xərçəngin induksiya olunması üçün tələb olunur.

1970-ci illərin sonunda alimlər təccübləndirici bir kəşf edərək göstərdilər ki, toyuğun və başqa növlərin normal hüceyrələri RSV virusun *v-src* geninə çox yaxın olan onkogenə malikdirlər. Normal hüceyrə geni olan proto-onkogen ümumilikdə virus *src* genindən "hüceyrə" ("cellular") üçün "c" ön-şəkilçinin əlavə olunması ilə fərqlənir (*c-SRC*). Guman olunur ki, RSV və digər onkogen transformasiya edən viruslar normal sahib hüceyrənin proto-onkogeninin onların genomuna daxil olması (inkorporasiyası) ilə yaranmışdır. İnkorporasiya edən gendə sonrakı mutasiyalar onu hətta sahib hüceyrənin

normal *c-SRC* proto-onkogeninin mövcud olduğu halda belə sahib hüceyrəni transformasiya edə bilən dominant fəaliyyət göstərən onkogenə çevirdi. Bu fenomen ilk dəfə aşkar ediləndə, bu təhlükəli virusların sahib orqanizmin öz genlərini onlara qarşı çevirdiyini görəndə çox təccübləndirici oldu.

RSV genomu potensial *v-src* onkogen daşdığından, o bir neçə gün ərzində şişin əmələ gəlməsini induksiya edir. RSV kəskin retrovirus adlanır. Əksinə, onkogen retrovirusların əksəriyyəti xərçəngi yalnız aylar və ya illər müddətində induksiya edir. Zəif onkogen olan belə *yavaş-təsir edən retrovirusların* genomu RSV kimi virusların genomundan həlledici bir baxımdan fərqlənir: onlarda onkogen yoxdur. Bütün zəif təsir edən və ya "uzun müddət latent" olan retroviruslar sahib hüceyrənin DNT-sinə onun proto-onkogeni yaxınlığında inteqrasiya etmək və onun ekspressiyasını fəallaşdırmaqla xərçəngin yaranmasına səbəb olurlar. İnteqrasiya etmiş retrovirus DNT-sində uzun terminal təkrar (LTR) ardıcılıqlar hüceyrənin yaxınlıqdakı geni üçün enhanserlər və ya promoterlər kimi fəaliyyət göstərir, beləliklə onun transkripsiyasını stimullaşdırır. Məsələn, avian leykozis virusunun (*ALV*) törətdiyi xərçəngin hüceyrələrində retrovirus DNT-si *MYC* geni yaxınlığına keçirilmişdir. Bu hüceyrələr həddən artıq *MYC* zülalını istehsal edirlər, əvvəllər qeyd edildiyi kimi, *MYC*-nin həddən artıq istehsal olunması hüceyrənin anormal dərəcədə sürətli proliferasiyasına səbəb olur. Yavaş-

təsir edən viruslar iki səbəbdən yavaş fəaliyyət göstərirlər: hüceyrənin proto-onkogeni yaxınlığına inteqrasiya (məsələn, *MYC*) nizamsızdır (təsadüfidir), seyrək hallarda baş verir, tamformalaşmış şişin əmələ gəlməsi üçün əlavə mutasiyaların baş verməsi lazımdır.

Təbii quş və siçan populyasiyalarında yavaş-təsir edən retroviruslar Rous sarkoma virusu kimi onkogen retroviruslara nisbətən daha çox ümumdür. Bu daxil edilən proto-onkogen fəallaşma demək olar ki, retrovirusların xərçəngi əmələ gətirdiyi əsas mexanizmdir. Baxmayaraq ki, insanın T-hüceyrə limfotrofik virusu (HTLV) insanda xərçəng əmələ gətirən yeganə retrovirusdur, retrovirusların öyrənilməsinə edilən böyük sərmayə həm hüceyrə onkogeninin kəşfi ilə, həm də sonralar QİÇS əmələ gətirən HIV virusunun öyrənilməsinə gətirib çıxaran retrovirusların daha dərindən başa düşülməsi ilə özünü doğrultdu.

Bir neçə DNT virusu da onkogendir. Bu virusların normal replikasiya tsiklində sahib hüceyrə genomuna inteqrasiya etmək yoxdur, amma virus DNT-si hüceyrənin DNT reparasiyası prosesi ilə sahib hüceyrənin xromosomuна inteqrasiya edə bilir. Hərçənd ki, bu çox nadir hallarda baş verən hadisədir, bu virusun letallıq dövrüdür, əgər virus DNT-si onkogen ekspressiya edirsə sahib hüceyrə xərçəngə çevrilə bilər. Məsələn, çox ziyillər və epitel hüceyrələrinin digər xoş xassəli şişləri insanın DNT-yə-malilik olan papilomovirusları (HPV) tərəfindən törənir. HPV ilə yoluxmanın tibbi cəhətdən daha təhlükəli məhsulu, qadınlarda ağciyər və süd vəzi xərçəngindən sonra üçüncü çox rast gəlinən uşaqlıq boynunun xərçəngidir. Guman olunur ki, uşaqlıq toxuma nümunəsinin alınması və mümkün olan xərçəngin ekranlaşdırılması üçün istifadə edilən Sıyıq yaxma (**Pap smear**) uşaqlıq xərçəngindən olan ölüm hallarını 70 faiz azaldır. HPV onkogenlər haqqında biz bu fəsildə daha sonra öyrənəcəyik.

Normal hüceyrə genlərindən törənən və virusun şişlərdə yayılmasına imkan verməkdən başqa heç bir funksiyası olmayan retrovirus onkogenlərdən fərqli olaraq, məlum olan DNT viruslarının onkogenləri virus genomun ayrılmaz (inteqral) hissəsidir və virusun replikasiyası üçün tələb olunurlar. Bizim sonra görəcəyimiz kimi, yoluxmuş hüceyrələrdə inteqrasiya etmiş virus DNT-sindən ekspressiya olunan onkozülallar hüceyrənin böyüməsini və proliferasiyasını stimullaşdırmaq üçün müxtəlif yollarla təsir edirlər.

Şiş-Supressor Genlərində Funksiyanın-İtirilməsi Mutasiyaları Onkogen Mutasiyalardır

Şiş-supressor genləri əsasən bu və ya digər yolla hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirən zülalları kodlaşdırırlar. Bu proliferasiya ingibitorları zülallarının birində və ya daha çoxunda *funksiyanın-itirilməsi* mutasiyalarının baş verməsi çox xərçənglərin yaranmasında öz töhfəsini verir. Şiş-supressoru genlərinin kodlaşdırdığı zülalların sinifləri arasında beş məşhur olanlar bunlardır:

1. Hüceyrə tsiklinə daxil olmanı ingibirləşdirən və ya tənzimləyən hüceyrədaxili zülallar (məsələn, p16 və Rb).
2. Hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirən inkişaf siqnalları və ya ifraz olunan hormonlar üçün reseptorlar və ya siqnal ötürücüləri (məsələn, TGF-β).

3. DNT zədələnmərsə hüceyrə tsiklinə arrest qoyan yoxlama-nəzarət yollarının zülalları (məsələn, p53).

4. Apoptozu təşviq edən zülallar.

5. DNT reparasiyasında iştirak edən fermentlər.

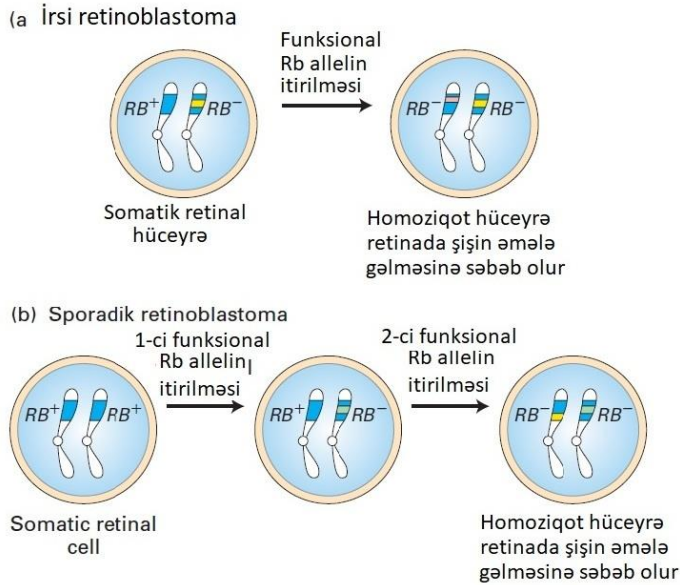
Ümumiyyətlə, şiş-supressor genin bir nüsxəsi hüceyrə proliferasiyasına nəzarət etmək üçün kifayət edir, beləliklə şişin əmələ gəlməsini təşviq etmək üçün şiş-supressor geninin *hər iki* alleli itirilməli və ya fəalsızlaşmalıdır. Beləliklə, şiş-supressor genlərində tumorigenezi-təşviq edən funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları *resesiv*dirlər (bax Cədvəl 24-1). Bu mövzuda *resesiv* bildirir ki, hətta genin bir işləyən nüsxəsi zülal məhsulunun adi miqdarının yarısını istehsal edir və şişin əmələ gəlməsinə mane olunur. Amma, bəzi genlər üçün, gen məhsulunun normal miqdarının yarısı kifayət etmir, məhz bu halda iki gen nüsxəsindən birind funksiyasının-itirilməsi xərçəngin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Bu tip genlərə *haplo-yetərsiz* genlər deyilir. Genin bir nüsxəsinin itirilməsi son fenotip üçün həlledicidir (desessivdir), beləliklə bu tip mutasiya dominantdır. Yada salmaq lazımdır ki, xərçəng-əmələ gətirən genləri dominant edən iki proses: (1) haplo-yetərsiz şiş-supressor genin bir nüsxəsinin itirilməsi hüceyrə proliferasiyasına nəzarət etmək üçün yetərsiz miqdarda məhsulun istehsalı ilə nəticələnir; (2) hətta bir normal allel mövcud olduqda belə, hüceyrə proliferasiyasına səbəb olan genin və ya zülalın fəallaşması – bu (əvvəlki bölmədə müzakirə olunduğu kimi) dominant onkogendir. Çox xərçənglərdə, şiş-supressor genləri istənilən zülalın istehsalına mane olan və ya qeyri funksional zülalın istehsalına səbəb olan delesiyalara və ya nöqtəvi mutasiyalara malik olurlar. Şiş-supressor genlərinin fəalsızlaşması üçün başqa bir mexanizm onların promotorlarında və ya başqa nəzarət elementlərində sitozin qalığının onların transkripsiyasını ingibirləşdirən metilləşməsidir. Belə metilləşmə, ümumiyyətlə DNT-nin transkripsiya olunmayan rayonlarında tapılmışdır (bax Fəsil 9).

Şiş-Supressor Genlərində İrsən Keçmiş Mutasiyalar Xərçəng Riskini Artırır

Şiş-supressor genlərində irsən keçmiş mutasiyalara malik olan fərdlərdə müəyyən xərçənglərə irsi meyillilik vardır. Belə fərdlər ümumiyyətlə genin bir allelində rüşeyim-xətti mutasiyanı irsən alır, ikinci allelin somatik mutasiyası şişin əmələ gəlməsini asanlaşdırır. Bunun klassik nümunəsi, ilk dəfə identifikasiya olunmuş şiş-supressor geni *RB*-də funksiyanın itirilməsi mutasiyası ilə yaranan retinablastomadır. Fəsil 19-da müzakirə edildiyi kimi, *RB* ilə kodlaşdırılan zülal hüceyrə tsiklinə girişi tənzimləyir.

İrsən keçmiş retinablastomalı uşaqlar çox zaman 13-cü xromosomda iki nüsxənin birində kiçik delesiya kimi görünən, *RB* genin bir qüsurlu nüsxəsini irsən alır. Bu uşaqlarda həyatın ilkin dövründə və ümumiyyətlə hər iki gözündə çoxsaylı retinal şişlər inkişaf edir. Digər xromosomda *RB* genində itirilmə və ya fəalsızlaşma şiş əmələ gəlməsində vacib pillədir, hüceyrənin qeyri funksional *RB* zülalı istehsal etməsinə səbəb olur (Şəkil 24-17a). Sporadik retinablastomalı fərdlər, əksinə, irsən iki normal *RB* allelini alır, bunların hər biri somatik funksiyanın-itirilməsi mutasiyasına uğrayır və ya tək retinal hüceyrənin

itirilməsinə məruz qalır (Şəkil 24-17b). *RB* genin hər iki nüsxəsinin itirilməsi bir nüsxəsinin itirilməsi ehtimalından çox az olduğundan sporadik retinoblastoma nadir hallarda olur və adətən bir gözə təsir edir.



Şəkil 24-17 Spontan somatik mutasiyanın retinoblastomada rolu. Bu xəstəlik iki mutant *RB* alleli daşıyan hüceyrələrdən meydana gələn retinal şişlə qeyd edilmişdir. (a) İrsi (ailə) retinoblastomada uşaq bir valideyindən normal *RB*⁺ alleli digər valideyindən isə mutant *RB*⁻ alleli alır. Heteroziqot somatik retinal hüceyrədə ikinci normal allel itən zaman, istənilən *Rb* gen funksiyası itirilmiş hüceyrə yaranır. (b) Sporadik retinoblastomada uşaq irsən iki normal *RB*⁺ alleli alır. Bütün *Rb* funksiyasını itirən hüceyrənin alınması üçün xüsusi bir retinal hüceyrədə iki ayrıca *Rb* itirilməsi hadisəsi baş verməlidir.

Əgər retinal şişlər bəd xassəliyə keçməzdən öncə çıxarılıb atılsa, irsən retinoblastomalı uşaqlar çox zaman yetkinlik dövrünə qədər sağ qalırlar və döl verə bilirlər, amma həyatın sonrakı dövründə başqa tip şişlərin əmələ gəlməsinin yüksək riski altında olurlar. Onların rüşeyim xətti bir normal və bir mutant *RB* allelə malik olduğundan, bu fərdlər mutant alleli övladlarının bir yarısına normal alleli isə digər yarısına ötürəcəkdir. İrsən normal alleli almış uşaqlar əgər onların digər valideyini iki normal *RB* allelə malikdirsə sağlam olacaqlar. Amma, irsən mutant alleli almış uşaqlar, hətta digər valideyindən normal *RB* alleli alsalar da onlar retinal şişləri əmələ gətirməyə mutant valideyini kimi eyni dərəcədə meyilli olacaqlar. Beləliklə, retinoblastomanı əmələ gətirmək *tendensiyası* irsən dominant əlamət kimi ötürülür: bir mutant nüsxə fərdin xərçəng əmələ gətirməsi üçün meyilli olmasına kifayət edir.

Biz tezliklə görəəcəyik ki, çox insan şişləri (yalnız retinal şişlər deyil) mutant *RB* allelə və ya *Rb* yolunda mutasiyanın təsir etdiyi digər komponentlərə malik olurlar, bu şişlərin əksəriyyəti somatik mutasiyanın nəticəsində yaranır. Baxmayaraq ki, hər il

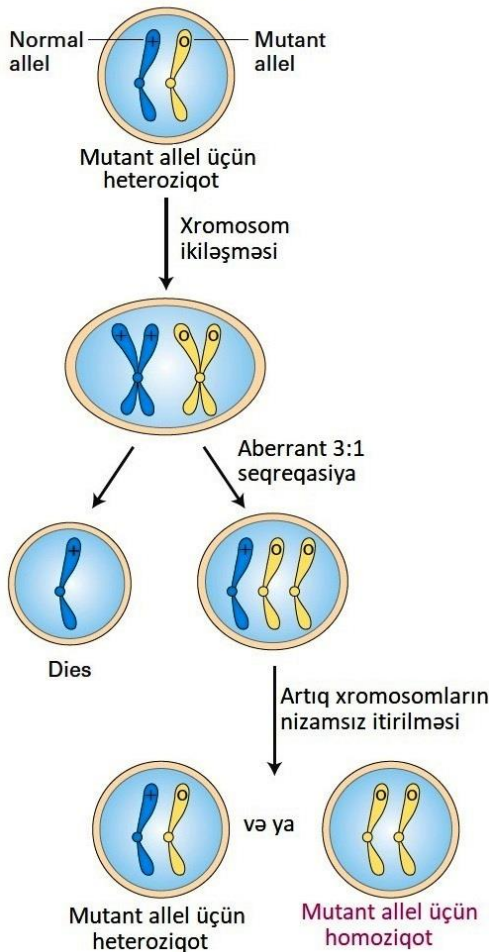
irsə retinoblastoma halları Birləşmiş Ştatlarda təxminən 100 nəfərdir, hər il döl əmələgəlmədən sonra *RB* mutasiyalarla qazanmış xərçəng hadisələri təxminən 100000 nəfərə qədər çatır.

Başqa xərçənglərin də oxşar irsi meyilliliyi başqa şiş-supressor genlərinin irsən keçmiş mutasiyaları ilə bağlıdır. Məsələn, bir *APC* allelində rüşeyim-xətti mutasiyanı irsən almış fərddə minlərlə xərçəngəqədər bağırsağ polipləri yaranır (bax Şəkil 24-12). Bu poliplərdən birinin və ya daha artığının bədxassəliyə inkişaf etmə ehtimalı yuxarı olduğundan belə fərdlərdə 50 yaşa qədər müddətdə yoğun bağırsağ xərçənginin inkişaf etmə riski yuxarıdır. Poliplərin kolonoskopiya yolu ilə skriningi, hətta *APC* mutasiyanın olmadığı məlum olan halda belə 50 və yuxarı yaşlı fərdlər üçün yaxşı ideyadır. Eynilə, başqa bir şiş-supressor genin *BRCA1*-in bir allelinin mutant formasını irsən alan qadında 50 yaşına qədər müddətdə 60 faiz ehtimalla süd vəzi xərçənginin inkişaf etmə riski vardır, o fərdlər ki, iki normal *BRCA1* allelini irsən almışdır onların 2 faizə gədər ehtimalla süd vəzi xərçənginin inkişaf etmə ehtimalı vardır. Heteroziqot *BRCA1* mutantlarında bütün ömürü boyu 2 faizdən 15-40 faizə qədər yumurtalıq xərçənginin yaranması təhlükəsi də vardır. *BRCA1* zülalı DNT zədələnmələrinin radiasiya ilə induksiya olunan reparasiyasında iştirak edir. Bir *BRCA1* mutant allelini irsən almış qadında "mammary" kanal hüceyrəsinin bəd xassəli olması üçün başqa mutasiyalarla birlikdə ikinci *BRCA1* allelinin itirilməsi də tələb olunur. Amma, *BRCA1* ümumiyyətlə sporadik süd vəzi xərçəngində mutasiya olunmur.

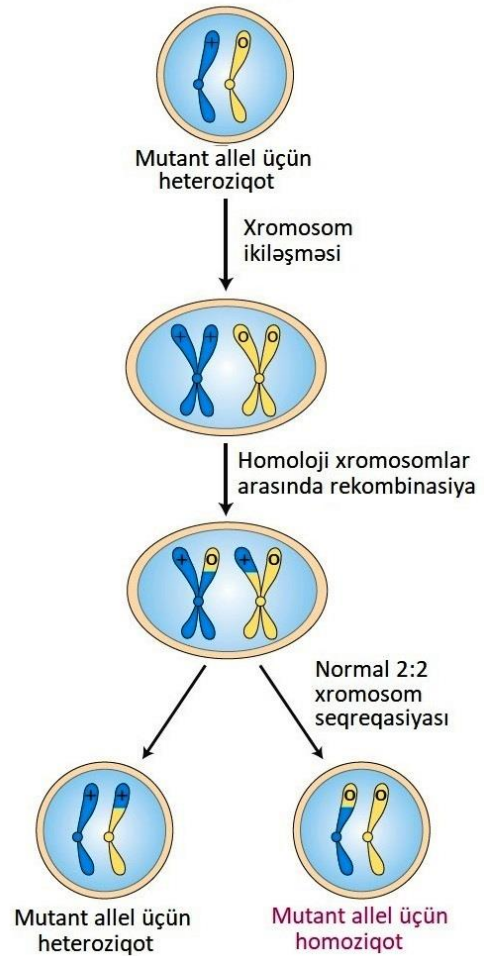
Təxmini hesablamalar dəyişkən ola bilər, amma irsi xərçənglərin (genin irsən alınmış bir versiyasının iştirakı ilə əlaqədar yaranan xərçənglər) insan xərçənginin təxminən 10 faizini təşkil etdiyi ehtimal olunur. İnsan genlərinin iştirakını araşdıran daha sonrakı işlər, görünür bu faizi artıracaq. Amma, yadda saxlamaq çox əhəmiyyətlidir ki, irsən alınmış rüşeyim-xətti mutasiya təklidə xərçəngin yaranması üçün kifayət deyildir. Xərçəngin inkişafı üçün yalnız irsən alınmış normal şiş-supressor allelinin itirilməsi və ya fəalsızlaşması deyil, həmçinin başqa genlərə təsir edən mutasiyalar da baş verməlidir. Beləliklə, resessiv şiş-supressor genin mutasiyası olan fərd ətraf mühitin radiasiya kimi mutagenlərinə qarşı həddən artıq həssas olur.

Şiş-supressor genin yalnız bir nüsxəsindəki mutasiya özlüyündə xərçəngi əmələ gətirmir, çünki qalan ikinci normal allel aberrant (azğın) çoxalmaya mane olur. Amma, somatik hüceyrədə olan normal allelin sonrakı mutasiyası və ya fəalsızlaşması *heteroziqotluğun itirilməsi (LOH)* adlanır və xərçəngin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Normal allelin itirilməsinin üç mexanizmi mövcuddur. Birinci, normal allel de nova fəalsızlaşma və ya delesiya nəticəsində qeyri fəal ola bilər. İkinci, xromosomun səhv-seqreqasiyası, Şəkil 24-18a-da göstəriləndi kimi, normal alleli daşıyan xromosomun itirilməsinə səbəb ola bilər. Bu mexanizmlərin heç biri tez-tez baş vermir. İndiyə qədər LOH üçün ən çox rast gəlinən mexanizm normal alleli daşıyan xromatidlə mutant alleli daşıyan homoloji xromatid arasındakı mitotik rekombinasiyadır. Şəkil 24-18b-də işıqlandırıldığı kimi, sonrakı xromosom seqreqasiyası mutant şiş-supressor allelinə görə heteroziqot olan qız hüceyrəsinə yarada bilər.

(a) Seqreqasiyanın baş verməməsi



(b) Mitotik rekombinasiya



ŞƏKİL 24-18 Şiş-supressor genlərinin heteroziqotluğunun itirilməsinin (LOH) iki mexanizmi. Şiş-supressor geninin bir normal və bir mutant allelinə malik olan hüceyrə əsasən fenotipik normal olur. (a) Əgər mitotik şpindelin yaranması qüsurlu olarsa, normal və mutant allelləri daşıyan ikiləşmiş xromosomlar aberrant 3:1 nisbətində seqreqasiya edirlər. Bu tipdə üç xromosom alan qız hüceyrəsi birini itirir, normal $2n$ xromosom sayını bərpa edə bilər. Nəticədə yaranan hüceyrələr bəzən bir normal və bir mutant allele malik oluraqadır, bəzən isə mutant allel üçün homoziqot olacaqdır.

Belə aneuploidiya (anormal xromosom tərkibi) orqanizmin çoxsaylı mürəkkəb quruluşlarına differensasiya edən nisbətən differensasiya etməmiş hüceyrələrə əsasən zədələyici və ya letal olur, amma tez-tez hallarda məhdud taleyə və funksiyaya malik olan hüceyrələrin koloniyasında tolerant ola bilər. (b) Təbii formalı və mutant allelli xromosom arasında mitotik rekombinasiyanın ardınca xromosom seqreqasiyası mutant allelin iki nüsxəsinə malik olan hüceyrələri yaradır.

Epigenetik dəyişilmələr Tumorogenezə kömək Edə Bilir

Biz indi mutasiyaların şiş-supressor genlərini fəalsızlaşdırmaqla hüceyrələrin çoxalmasına nəzarəti necə poza bilməsini gördük. Amma, bu tip genlər onların ekspressiyasını repressiya etməklə də susdurula bilər. DNT metilləşməsində və eləcə də *histon-modifikasiya fermentlərində* və ya *xromatin-remodelinq komplekslərində* dəyişilmələr indi tumorogenezin əsas aparıcıları hesab edilir.

Fəsil 9-dan gördüyümüz kimi, DNT metilləşməsi, əsasən promotor zonasında olan CpG adalardakı sitozinlərdə baş verir. Kolorektaal xərçənglərin böyük bir hissəsi, DNT hipermetilləşməsi ilə xarakterizə olunurlar. DNT hipermetilləşməsi xərçəngin də nişanəsidir. Xərçəngdə iştirak

edən genlərin əksəriyyətinin promotoru hipermetilləşmiş olur və ona görə də bunların nəzarəti altında genlərin ekspressiyası artır. Məsələn, kəskin myeloid leykemiyanın 25 faizi onlarda CpG dinukleotidlərində metilləşməni kataliz edən fermentdə fəalsızlaşdırıcı mutasiya nəticəsində baş verən DNT hipometilləşməsi ilə xarakterizə olunur. Son zamanlar aşkar edilmiş, DNT metilləşməsinə aid olan DNT modifikasiyasına CpG adalarda 5-metilsitozinin hidrosilləşmiş variantına (5-hidroksimetilsitozin) çevrilməsi daxildir. Bu tip DNT modifikasiyası xərçəngdə də iştirak edir. Bu çevrilməni kataliz edən fermentlər DNT hidrosilazaların TET ailəsi nümayəndələridir. Bu fermentlər kofaktor kimi α -ketoqlutaratı tələb edirlər və onkometabolit 2-hidroksiqlutaratla ingibirləşirlər (bax Şəkil 24-4).

Xromatin modifikatorları və tənzimləyicilərini kodlaşdıran genlər də tumorigenezin aparıcıları kimi də meydana çıxırlar. Çox şiş tiplərinin tam-genom ardıcılıq analizi epigenetik tənzimləyiciləri kodlaşdıran təxminən 40 gendə yüksək təkrarlanan dəyişikliyi aşkar etdi. Təkrarlanan mutasiyalar histonları modifikasiya edən və ya bunu posttranslyasiya modifikasiyalarında tətbiq edən fermentləri kodlaşdıran genlərdə tapılmışdır. Histon metiltransferazaları, histon demetilazaları, və histon asetiltransferazaları kodlaşdıran genlərin geniş müxtəliflikdə şişlərdə mutasiya olunduqları aşkar edilmişdir. Maraqlıdır ki, şişlər adətən xromatin remodeling fermentini kodlaşdıran genlərin yalnız bir mutasiya olmuş allelini saxlayır, bu mutasiyaların haplo-qeyri-kafi (**haplo-insufficient**) olduqlarını göstərir. Çox güman ki, hər iki allelin itirilməsi hüceyrəni öldürməli olardı, amma, yalnız bir funksional allelin olması, tumorenezisin təşviq edilməsi üçün hədəf genlərin ekspressiyasını dəyişdirə bilər.

Xərçəngin əmələ gəlməsində iştirak edən xromatin-modelinq faktorları arasında mərkəzdə duran SWI/SNF kompleksləridir. Mərkəzində ATP-dən asılı olan helikazaya malik olan böyük və müxtəlif çoxzülallı komplekslər çox zaman histon modifikasiyalarına və xromatin remodelinginə nəzarət edir (bax Fəsil 9). Məsələn, onlar nukleosomların mövqeyində və quruluşunda dəyişikliyə səbəb olur, genləri transkripsiyayı nizamlayan DNT-birləşdirən zülallara əlçatan və əlçatmayan edir. Əgər normal halda hədəf gen SWI/SNF- ilə vasitələnən xromatin dəyişilməsi ilə fəallaşsın və ya repressiya olunursa SWI və ya SNF zülallarını kodlaşdıran genlərdə mutasiyalar bu genlərin ekspressiyasında dəyişilmələrə səbəb olacaq. Transgen nsişanlarla aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, *E2F* genlərin ekspressiyasının repressiyasında SWI/SNF mühüm rol oynayır və bu yolla hüceyrə-tsikli boyunca inkişafa mane olur. Beləliklə, məhz Rb funksiyası kimi, SWI/SNF-in itirilməsi həddən artıq böyüməyə və yəqin ki, xərçəngin yaranmasına səbəb olur. Həqiqətən də, siçanda, Rb zülalı *E2F*-ləri kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını repressiya etmək üçün SWI/SNF zülallarını səfərbər edir.

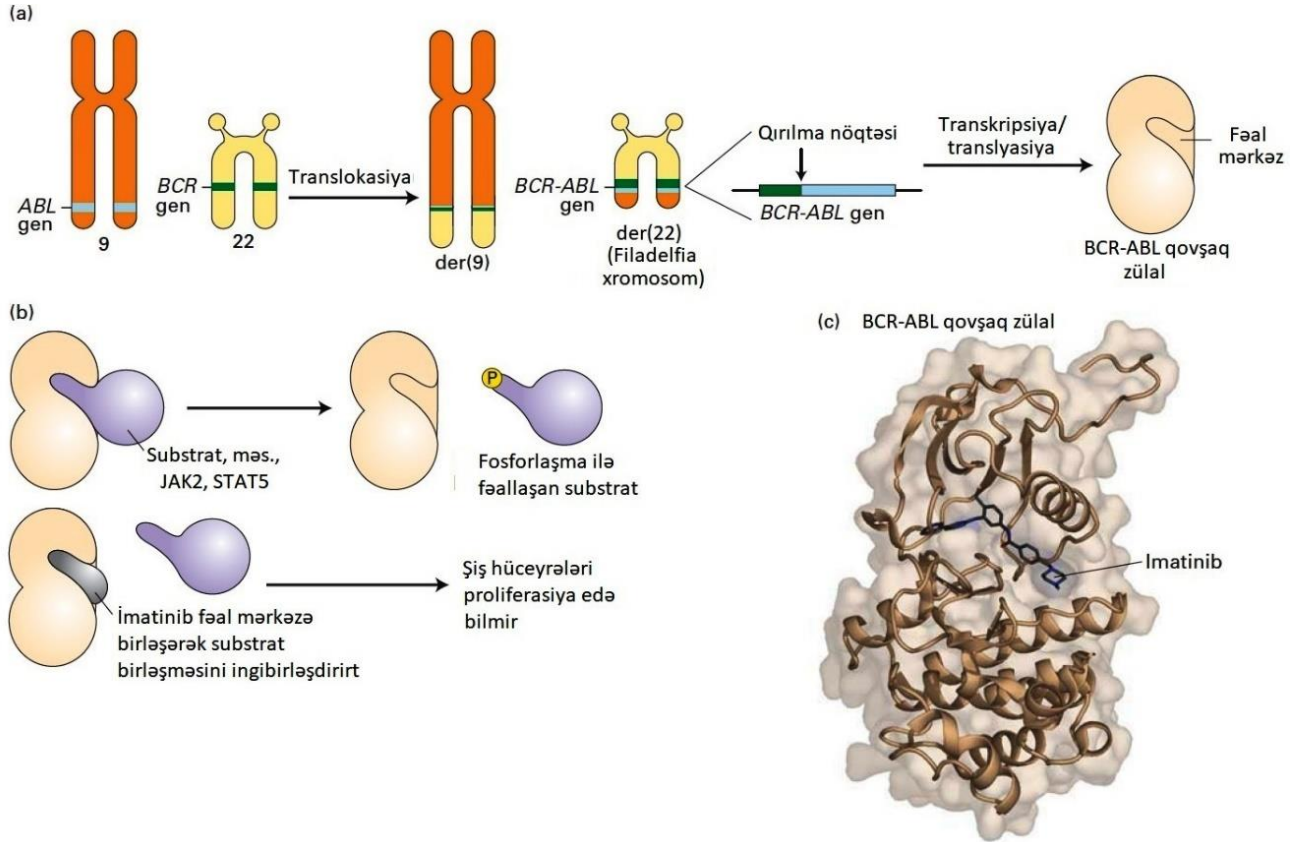
Son zamanlar insandan və siçandan alınmış tədqiqat dəlilləri *SNF5* genin xərçəngə güclü təsirini sübut etdi. *SNF5* zülalı SWI/SNF kompleksin mərkəzi üzvlərindəndir. İnsanlarda fəalsızlaşdırıcı somatik *SNF5* mutasiyalar əsasən böyrəklərdə yaranan və beyində və digər orqanlarda şişlərin irsən keçmə (ailə-nəsil) meyilliyi olan rabdoid şişlərin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Sonrakı tədqiqatlar SWI/SNF kompleksinin subvahidlərindən olan və böyrək xərçənginin 40 faizində, yumurtalıq xərçənginin 50 faizində, qaraciyər və sidik kisəsi xərçənglərinin böyük fraksiyasında mutasiya olan BAF zülallarını kodlaşdıran genləri də aşkar etdi. Ümumilikdə, epigenetik səhv tənzimlənmə tumorigenezin əsas töhfə-verəni kimi ortaya çıxdı. Geriyə nəzər saldıqda, bu konsepsiya, ehtimal ki, epigenetik tənzimlənmənin eyni zamanda bir çox faktorları və tənzimləmə yollarının ekspressiyasını dəyişdirməyə imkan verdiyini nəzərə alsaq təəccüblü deyil.

Mikro RNTlər Tumorigenezi İngibirləşdirə və Təşviq Edə Bilir

Son əsirdə, onkogen faktorların yeni sinifi meydana gəldi. Kodlaşdırmayan RNT-lər (zülal kodlaşdırmayan RNT-lər), xüsusilə mikro-RNT-lər (miRNT-lər) tumorigenezdə kritik rol oynayırlar. miRNT-lərin yaranması tipik olaraq, bir sıra processing mərhələlərindən keçərək 20-22 nukleotid uzunluqda yetkin miRNT-yə kəsilərək sələf RNT-nin transkripsiyasından meydana gəlir. Adətən yetkin miRNT hədəf RNT-nin 3' translyasiya olunmayan rayonu (3'-UTR) ilə əcəc cütü əmələ gətirir və onun translyasiyasını ingibirləşdirir və ya bəzən onun parçalanmasına səbəb olur. Bu vaxta qədər insanda 1500 qədər miRNT identifikasiya olunmuşdur və hüceyrənin proliferasiya, differensiasiya və apoptoz kimi proseslərində fundamental rolu olan 30 faizə qədər böyük miqdarda mRNT-lərin tənzimlənməsində rol oynayırlar. Həmçinin, göstərilmişdir ki, miRNT-lər şiş-supressor geni və ya onkogen kimi fəaliyyət göstərir.

Tumorigenezdə miRNT-nin ilk məlum olan rolu 13q14.3 xromosomal rayonun analizi zamanı aşkar edilmişdir. Xronik limfosit leykemiyanın (CLL), prostat xərçənginin və hipofiz adenomasının əksər hallarında bu genom rayonunun silindiyi tapılmışdır. Xəstəliyi törədən silinmənin xarakterizə olunması göstərdi ki, iki miRNT-nin, miR-15-a və miR-16-1-in olmaması CLL-in yaranmasına səbəb olur. Hər iki miRNT-sində mutasiya olan siçanda CLL inkişaf edir. Bu iki miRNT-nin proliferasiya genlərinə nəzarət etdiyi aşkar edilmişdir. Onlar olmadıqda hüceyrənin proliferasiyası artır. Buna oxşar olaraq, miRNT-lərin *let-7* ailəsi ağciyər, yoğun bağırsağ, süd vəzi, və yumurtalıq xərçəngində iştirak edir. *Let-7* miRNT Ras zülalının translyasiyasını azalan istiqamətdə tənzimləyir. Beləliklə, miRNT-lər olmadıqda Ras fasiləsiz şəkildə normadan artıq istehsal olunur və tumorigenezə kömək edir. *Let-7* miRNT-nin, bizim növbəti bölmədə detalları ilə müzakirə edəcəyimiz onkogen transkripsiya faktoru MYC kimi başqa hədəfləri də vardır. Xərçəngdə miRNT-nin tədqiqatlarında ortaya çıxan əsas mövzu odur ki, hər bir miRNT-nin çoxsaylı hədəfləri vardır və ona görə də, tumorigenezə kömək etmək üçün geniş imkanları vardır.

Tumorigenezdə iştirak edən zülallar kimi, miRNT-lər də şiş supressorları və ya onkogenlər kimi fəaliyyət göstərə bilərlər. miR-15-a və miR-16-1 kimi miRNT-lər şiş supressoru kimi fəaliyyət göstərir, onlar normal halda hüceyrə proliferasiyasını ingibirləşdirir, onların çatışmaması isə hüceyrə artmasına gətirib çıxarır. Amma, xərçəng zamanı bəzi miRNT-lərin superekspressiya olunması da aşkar edilmişdir və bunların analizi göstərir ki, onlar onkogenlər kimi fəaliyyət göstərir. Xüsusi maraq doğuran, qlioblastomalar və süd vəzi, ağciyər, mədəaltə vəz və yoğun bağırsağ şişləri kimi bərk şişlərin əksəriyyətində superekspressiya olunan miR-21-dir. Bu miRNT bir neçə şiş-supressor genlərini hədəf edir, onlar arasında PTEN fosfatazını kodlaşdıran gen də vardır. miRNT-lərin tumorigenezə necə töhfə verməsini bilmək üçün daha çox tədqiqatlar aparılmalıdır, bununla belə aydındır ki, onların çoxsaylı müxtəlif genləri tənzimləyə bilmək qabiliyyətinə görə xəstəliyin gedişinə birdən daha artıq yolla təsir edə bilərlər.



ŞƏKİL 24-19 BCR-ABL proteinkinaza. (a) Filadelfia xromosomunun 9 və 22-ci xromosomların uclarının translokasiyasından törəməsi və bu translokasiyadan əmələ gələn onkogen qovşağ zülal. (b) BCR-ABL qovşağ zülalı çoxsaylı siqnal ötürən zülalları fosforlaşdıraraq konstitutiv fəal kinazdır. İmatinib

BCR-ABL-in fəal mərkəzinə birləşir və onun kinaza fəallığını ingibirləşdirir. (c) İmatinib BCR-ABL-in fəal mərkəzinə birləşmişdir. [Verilənlər B. Nagar et al., 2002, *Cancer Research* 62:4236, PDB ID 1iep-dən.]

Tədqiqatçılar Tumorogenezin Aparıcılarını İdentifikasiya Edirlər

Bizim gördüyümüz kimi, böyüməni-təşviq edən genlərdə və anti-apoptoz genlərində fəallaşdırıcı mutasiyalar və böyüməni ingibirləşdirən və hüceyrə ölümü genlərində funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları onkogen transformasiyaya aparır. Bu mutasiyaların identifikasiyası və onların təsir etdiyi genlərin necə fəaliyyət göstərməsinin başa düşülməsi tumorogenez prosesinin gedişinə və ona qarşı müalicə yollarının tapılması üçün yeni anlayışları təmin edir. Ona görə də təccüblü deyildir ki, tədqiqatçılar uzun müddətdir onkogenləri və şiş-supressor genlərini öyrənirlər.

1960-cı illərdə alimlər ilk dəfə aydınlaşdırdılar ki, bəzi xərçənglər xarakterik xromosom dəyişikliklərini saxlayırlar. İnsanlarda çox yayılmış leykemiya olan xroniki myelogen leykemiyanın (CML) 9 və 22-ci xromosomlar arasındakı tğtranslokasiya nəticəsində yaranan *Fildadelfiya xromosomu* ilə bağlı olduğu (Şəkil 24-19a) aşkar olmuşdur. Xromosomlar öz terminal rayonlarını dəyişirlər, bu da 22-ci xromosomun ölçüsünün işıq mikroskopunda aşkar edilə bilən xarakterik dəyişilməsinə səbəb olur. Bu translokasiyanın qırılma nöqtəsində, yeni qovşağ zülal BCR-ABL qovşağı yaranır, yeni yaranmış qovşağ proteinkinaza normal halda təbii formalı ABL proteinkinazının fosforlaşdırma bilmədiyi zülalları fosforlaşdırır,

bununla da bir sıra hüceyrədaxili siqnal ötürən zülalları stimullaşdırır. Əgər bu translokasiya sümük iliylindəki hematopoetik hüceyrələrdə baş verirsə ximer BCR-ABL onkogenin fəallığı, ağ qan hüceyrələrinin sayının artması ilə xarakterizə olunan CML-in başlanğıc fazası ilə nəticələnir. BCL-ABL qovşağı daşıyan hüceyrədə ikinci funksiyanın-itirilməsi mutasiyasının (məsələn, şiş-supressoru *p53* və ya *RB*) yaranması çox zaman fatal sonluqla qurtaran kəskin leykemiya ilə nəticələnir.

CML xromosom translokasiyası leykemiyanın müəyyən formaları ilə əlaqəli olan xromosom translokasiyalarının uzun fərqli və ya "imza" seriyalarının yalnız birincisi idi. Bu translokasiyaların çoxu transkripsiya tənzimləyicilərini, xüsusilə də embrional inkişaf zamanı hüceyrə proliferasiyası və differensiasiyası üçün tələb olunan transkripsiya faktorları qrupu Hox genlərin transkripsiya tənzimləyicilərini kodlaşdıran genləri əhatə edir. Tapılan hər bir əlaqə xəstəliyin daha dərinədən başa düşülməsi, erkən diaqnoz və yeni müalicələr üçün imkanları təqdim edir. CML olan halda, bizim tezliklə görəcəyimiz kimi, uğurlu müalicə üçün artıq ikinci addım atılmışdır.

DNT ardıcılığının oxunması texnologiyalarının inkişafı xərçəng genlərinin axtarışında inqilab etdi. Yüksək ötürmə qabiliyyətli ardıcılıq oxunması metodlarının xüsusi olaraq məlum zülal kodlaşdıran ardıcılığa malik olan genom DNT-sini tutmağa imkan verən metodlarla birləşdirilməsi insan şişlərini

sistematik analiz etməyi asanlaşdırdı. Bu gün bizdə artıq virtual olaraq insanın bütün şiş tiplərinin DNT ardıcılıq məlumatları vardır. Bundan başqa, müəyyən bir tipin çox şişlərindən DNT ardıcılıq məlumatlarının toplanması, müəyyən şiş tiplərinə xas olan mutasiyaların, amplifikasiyaların, silinmələrin (delesiya) və translokasiyaların hərtərəfli siyahısını hazırlamağın başlanğıcıdır. Meydana gələn təsvir göstərir ki, istənilən spesifik xərçəng tipində yalnız bir neçə xərçəng genləri yüksək nisbətdə (proporsiyada) mutasiya olunur. Əksəriyyəti yalnız xüsusi bir tipin 2-10 faiz şişlərində mutasiya olunur. Bu profil bir çox xərçəng “sənişin mutasiyalar” arasında xərçəng “aparıcı mutasiyalarının” identifikasiyasını çətinləşdirir, amma alimlər şiş ardıcılıq oxunmalarının getdikcə artan sayı və statistik üsulların inkişafı ilə xərçəng genlərinin hərtərəfli kataloqunu yaratmağa və fərdi xərçəng genlərinin çox da uzaq olmayan gələcəkdə xəstəliyə töhfə verəcəyi dərəcələri təyin etməyə ümid edirlər.

Xərçəng genom ardıcılığının oxunması həm də göstərdi ki, müxtəlif şiş tipləri dramatik dərəcədə fərqli genetik dəyişikliyə malik olurlar, bəzi xərçəng tipləri yalnız bir neçə genetik dəyişikliyi topladığı halda digərləri yüksək dərəcədə mürəkkəb (kompleks) mutasiya profilini nümayiş etdirirlər. Həmçinin, görünür ki, müəyyən şiş tipləri xarakterik mutasiya profili ilə bağlı olur. Məsələn, məhz xərçəng genom ardıcılığının oxunması cəhdləri aqressiv neyroblastomanın xarakterik xüsusiyyəti kimi, fərdi xromosomların dağıdılması və onların təsadüfi (nizamsız) tikilməsini, xromotripsisi aşkar etdi. Şiş genom ardıcılığının oxunması yalnız yeni xərçəng genlərinin aşkar edilməsini vəd etmir, o həmçinin bizim sonra görəcəyimiz kimi, xəstəliyin müalicəsinin ayrılmaz bir vasitəsinə çevrilir.

Molekulyar Hüceyrə Biologiyası Xərçəngin Necə Diaqnoz Olunmasını və Müalicəsini Dəyişir



Tümörogenezin aparıcılarının təyin edilməsi bizi yalnız xərçəngin necə yaranması və inkişafının molekulyar anlaşılması ilə təmin etmədi, o həmçinin xərçəngin diaqnoz olunması və müalicəsi yolunda da inqilab etdi. Xərçəng hüceyrələri ilə normal hüceyrələr arasında hər bir fərq yalnız xərçəng hüceyrələrini öldürən və ya ən azı onların nəzarət olunmayan çoxalmasını dayandıran spesifik dərmanın müalicənin təyində yeni imkanları təmin edir. Beləliklə, şişin molekulyar hüceyrə biologiyası üzrə əldə edilən biliklər xərçəngə qarşı xərçəng hüceyrələrini daha dəqiqliklə hədəf edən müalicənin hazırlanmasında tədqiqatçılar tərəfindən istifadə olunan kritik informasiyadır.

Süd vəzi xərçəngi molekulyar hüceyrə biologiyası metodlarının həm müalicəvi həm də palliativ təsir etməsi barədə daha yaxşı nümunəsini təqdim edir. Siqaret çəkən qadınlarda ağciyər xərçənginin yaranması hallarının artmasına qədər süd vəzi xərçəngi qadınlar arasında daha çox yayılmış öldürücü xərçəng idi və hazırda da qadınlar arasında ikinci ən çox ölüm halları ilə nəticələnən xərçəng olaraq qalır. Süd vəzi xərçənginin əmələ gəlmə səbəbi aydın deyil, amma əgər müəyyən mutasiya baş verirsə əmələ gəlmə tezliyi artır. Süd vəzi xərçənginə müntəzəm mammogram (rentgen) müayinələri zamanı diaqnoz

qoyulur. Tipik olaraq, diaqnoz etmək üçün 1-2 sm³ toxuma küyləsi biopsi etmək üçün götürülür və estrogen və ya progesteron reseptorlarının yüksək səviyyəsinə qarşı anticislərlə yoxlanılır. Bu steroid reseptorlar şişin əmələ gəlməsini stimullaşdırmaq qabiliyyətinə malikdirlər və bəzi hallarda süd vəzi xərçəngi hüceyrələrində həddən artıq yüksək səviyyədə ekspressiya olunurlar. Əgər onların hər birinin reseptoru mövcuddursa onlar müalicəyə məruz qoyulur. Estrogen reseptorunu ingibirləşdirən, tamoksifen adlanan dərman şiş hüceyrələrini böyüməni artıran hormondan məhrum etmək üçün istifadə edilə bilər. Biopsi həmçinin, bizim Fəsil 16-da gördüyümüz kimi, EGF reseptor 2-ni kodlaşdıran proto-onkogen HER2/NEU üçün yoxlanılır. HER2 üçün spesifik olan monoklonal anticism xərçəng hüceyrələrinin HER2-ni yüksək dərəcədə ekspressiya edən bir yarım-bölməsinin müalicəsində təcüblü dərəcədə uğurlu olmuşdur. Qana yeridilmiş HER2 anticism HER2 reseptorunu tanıyır, onun daxilə mənimsənilməsinə səbəb olur, orta miqdarda HER2 istehsal edən normal süd vəzi hüceyrələrinə (və başqa hüceyrələrə) təsir etmədən xərçəng hüceyrələrini selektiv öldürür. EGFR ingibitoru erlotiniblə müalicə bu tip ağciyər xərçəngi xəstələrinin ömrünü dramatik şəkildə artırdı.

Süd vəzi xərçəngi radiasiyanın, cərrahi əməliyyatın və kemoterapiyanın birlikdə köməyi ilə müalicə olunur. Birinci pillədə cərrahi yolla şişin çıxarılıb uzaqlaşdırılması və xəstəliyin əsas mənfi proqnostik faktoru kimi metastaz verilməsinə əmin olmaq üçün limfa düyünlərinin yoxlanılması olur. Sonrakı müalicəyə üç müxtəlif tip maddə ilə 8 həftə müddətində kemoterapiya və 6 həftə müddətində radiasiya ilə müalicə daxildir. Müalicənin bu sət metodları bölünən xərçəng hüceyrələrini öldürmək üçün hazırlanmışdır, bununla birlikdə, qan hüceyrə istehsalının pozulması, saç tökülməsi, ürək bulanması və nevropatiya da daxil olmaqla müxtəlif yan təsirlərə səbəb olur. Bu təsirlər immun sistemini zəiflədə bilər, yoluxma riskini artırır, və oksigen təminatının azalmasına görə zəifliyin yaranmasına səbəb olur. Bu təsiri aradan qaldırmaq üçün xəstələrə neytrofilin (bakterial və göbələk yoluxmaları ilə mübarizə aparan ağ qan hüceyrələrinin bir növü) əmələ gəlməsini stimullaşdırmaq üçün böyümə faktoru G-CSF və qırmızı qan hüceyrələrinin əmələ gəlməsini stimullaşdırmaq üçün eritropoetin (Epo) verilir. Bütün bu müalicələrə baxmayaraq, orta riskli-qadının (60 yaş, 2 sm³ şiş, 1 müsbət limfa düyünü) 30-40 faiz 10 il xərçəngə tutulma riski var. Bu risk, xərçəng hüceyrələrində mövcud olan hormon reseptorunu göstərən molekulyar məlumatları istifadə edərək, tamoksifenlə hormon-blok edən müalicə ilə 10-15 faiz azaldıla bilər. Ölüm halları HER2/NEU onkozulala qarşı anticislə müalicə olunmaqla daha 5-10 faiz azalır. Beləliklə, molekulyar biologiya, süd vəzi xərçəngi qurbanlarının sağ qalma nisbətlərinə böyük təsir göstərir, hərçənd ki, bu hələ arzu olunanlardan daha azdır.

Filadelfia xromosomunun və onun törətdiyi kritik onkogenin, həmçinin BCL-ABL qovşağın aşkar edilməsi ABL zülalın molekulyar fəaliyyətinin aşkar edilməsi ilə birlikdə CML üçün çox güclü yeni müalicənin əsasını qoydu. Çox zəhmətlə aparılan tədqiqatlardan sonra, ABL kinazanın imatinib (Gleevec) adlı ingibitoru 1990-cı illərin əvvəllərində CML üçün mümkün olan müalicə vasitəsi kimi təyin olundu. ABL kinazanın fəallıq mərkəzinə birləşən və onun kinaza fəallığı

ingibirləşdirən imatinib normal hüceyrələri saxlamaqla CML hüceyrələri üçün çox öldürücü olur (bax Şəkil 24-19b, c). Bəzi yan təsirlərinə baxmayaraq, imatinibin CML müalicəsində olduqca təsirli olduğunu göstərən klinik araşdırmalardan sonra, FDA tərəfindən 2001-ci ildə şiş hüceyrələrinə xas olan siqnal ötürən zülalə yönəlməmiş ilk xərçəng dərmanı olaraq təsdiqləndi. Imatinib, müxtəlif xərçənglərdə iştirak edən bir sıra digər tirozin kinazları ingibirləşdirərək mədə-bağırsaq şişləri də daxil olmaqla, bu xəstəliklərin müalicəsində uğurlu olmuşdur. İnsan genomunda kodlaşdırılan 90 funksional tirozin kinaz vardır, buna görə imatiniblə əlaqəli dərmanlar bütün bu zülalların fəaliyyətini nəzarətdə saxlaya bilər. Davam edən problemlərdən biri, şiş hüceyrələrinin imatinibə və digər bu kimi dərmanlara qarşı davamlı formalarının yaranıb inkişaf etməsidir, bu da alternativ dərmanların axtarılıb yaradılmasını zəruri edir. ■

Yeni müalicə üçün istifadə edilə bilən, şiş üçün unikal olan daha çox genetik dəyişiklikləri tapmaq üçün, indi tədqiqatçılar fəalsızlaşan zaman şiş hüceyrələrinin ölümünə səbəb olan, amma normal hüceyrələrə təsir etməyən genləri identifikasiya etmək üçün RNTi və genom redaktəsi texnologiyalarından istifadə edirlər. Özlüyündə letal olmayan, müxtəlif genetik dəyişikliklər arasındakı sintetik letal qarşılıqlı əlaqələri müəyyənləşdirən bu yanaşma ilk dəfə tumurcuqlayan mayada tətbiq edilmişdir. Geniş-genom kiçik sancaq RNT (**genome-wide small hairpin RNA – shRNT**) kitabxanasının yaradılıb inkişaf etdirilməsi (insan genomunda hər bir geni hədəf edən RNTi konstruktlarının kolleksiyası) və CRISPR-Gas9 sistem (bax Fəsil 6) kimi digər genom redaktə metodologiyalarının inkişafı ilə bu yanaşma indi insan hüceyrələrində də mümkün olmuşdur. Şiş hüceyrələri və normal hüceyrələr hər biri “bar-code” kimi tanınan unikal ardıcılıq yarlıqını birləşdirən shRNT konstruktlarının toplusu ilə yoluxdurulur. Böyümə dövründən sonra, RNT konstruktlar ayrıla bilir və topludan itirilmiş shRNT qalan konstruktların ardıcılığını oxumaqla təyin edilə bilər. Topludan itirilmiş shRNT-lər hədəf genin onun itirildiyi hüceyrə tiplərinin həyat qabiliyyəti üçün vacib olduğuna işarə edir. Şiş hüceyrələrində letallıq yaradan, amma normal hüceyrələrdə yaratmayan shRNT konstruktları göstərir ki, onların hədəf etdiyi genlər normal hüceyrələr üçün deyil, şiş hüceyrələrin sağ qalması üçün vacibdirlər. Məsələn, bu yanaşma, xərçəng hüceyrələrində fəalsızlaşan zaman onkogen formalı *RAS*, *K-ras* onkogen ilə birləşərək selektiv letallıq yaradan genləri identifikasiya etmək üçün istifadə edilmişdir. Bu genlərlə kodlaşdırılan zülallar *RAS*-ın onkogen formasından inkişaf edən şişlərdə yeni müalicənin inkişafı üçün yeni hədəfləri təmin edirlər.

Təbabətin gələcəyinə baxış ondan ibarətdir ki, müasir DNT ardıcılığı oxunması texnologiyaları, həmçinin geniş-genom RNT və zülal analizi texnologiyaları (bax Fəsil 3 və 6) həkimlərə şişi təsnifləşdirməyə və xərçəngin yaranmasına səbəb olan onkogen zədələnmələrin hərtərəfli siyahısını təyin etməyə imkan verəcək. Bundan sonra, müalicə hər bir xərçəng xəstəsinin unikal xüsusiyyətlərinə uyğunlaşdırılacaqdır. Süd vəzi xərçəngi və CML kimi bir çox xərçənglərdə biz artıq bu gələcəyin necə formalaşacağını görə bilərik.

24.3 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Xərçəngin genetik əsasları

- Proto-onkogenlərdə dominant funksiyanın-qazanılması mutasiyaları və şiş-supressor genlərində funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları onkogen mutasiyalardır.
- Proto-onkogenlərin kodlaşdırdığı zülallar arasında böyüməni təşviq edən siqnal zülalları və onların reseptorları, siqnal ötürən zülallar, transkripsiya faktorları və antiapoptoz zülalları vardır.
- Proto-onkogenlərin iki allelindən birindəki fəallaşdırıcı mutasiya onu onkogenə çevirir. Bu nöqtəvi mutasiya, gen amplifikasiyası, gen translokasiyası və ya səhv ekspressiya ilə baş verə bilər.
- Şiş-supressor genləri, əvvəlki pillələr səhv baş verərsə hüceyrə tsiklinə arrest qoyan keçid yolu zülalları, böyüməni ingibirləşdirən siqnal yollarının komponentləri və pro-apoptoz zülalları kimi, şişin inkişafına hüceyrə tsikli yolu ilə birbaşa və ya dolaylı yolla nəzarət edən, zülalları kodlaşdırır.
- İlk tanınan şiş-supressor geni *RB* retinoblastomalarda və çoxsaylı başqa şişlərdə mutasiya olunur, Rb yolunun bəzi komponenti əksər şişlərdə mutasiya olunur.
- *RB*-nin tək mutant allelinin irsən qazanılması, çoxsaylı digər şişsupressor genlərində (məsələn, *APC* və *BRCA1*) olduğu kimi, spesifik tipli xərçəngin yaranması ehtimalını güclü şəkildə artırır.
- Şiş-supressor gen mutasiyasında heteroziqot doğulan fərdlərdə, somatik hüceyrə normal allelin silinməsi və ya mutasiya olunması yolu ilə, xromosom miss-seqreqasiyası yolu ilə, mitoz rekombinasiya və ya genetik susdurulma yolu ilə heteroziqotluğun itirməsinə (LOH) məruz qala bilər.
- Histon modifikasiya edən fermentlər və ya xromatin dəyişdiricilər kimi epigenetik tənzimləyicilərin mutasiyaları müxtəlif şişlərlə bağlıdır.
- Mikro-RNT-lər çoxsaylı onkozülalların ekspressiyasına təsir etməklə tumorogenezi təşviq edə və ya ingibirləşdirə bilərlər.
- Yeni ardıcılıq oxunması texnologiyaları xərçəngdə iştirak edən genlərin aşkar olunmasını güclü şəkildə sürətləndirdi və xərçəngin diaqnozu və müalicəsinə dərin təsir göstərdi.
- Fərdi şişləri xarakterizə edən molekulyar metodların meydana gəlməsi, müəyyən bir şişin xüsusiyyətlərini hədəf edən dərmanlar və anticismlər vasitəsilə müalicələri tətbiq etməyə imkan verir. Bu strategiya fərdi xəstələrin daha təsirli müalicəsinə imkan verir və təsirsiz və ya toksik ola bilən anticismlərin və dərmanların istifadəsini azaldır. Bu düzəlişlər süd vəzi xərçəngi ölümünün əhəmiyyətli dərəcədə azaldılmasına imkan verdi.
- Yeni shRNT və genom redaktəsi metodları xüsusi olaraq xərçəng hüceyrələrinin sağ qalması üçün tələb olunan genlərin identifikasiyasına imkan verdi, bununla da yeni müalicə hədəflərinin aşkar olunmasını asanlaşdırdı.

24.4 Xərçəngdə Hüceyrə Artmasının və Ölümünün Düzgün Tənzimlənməməsi

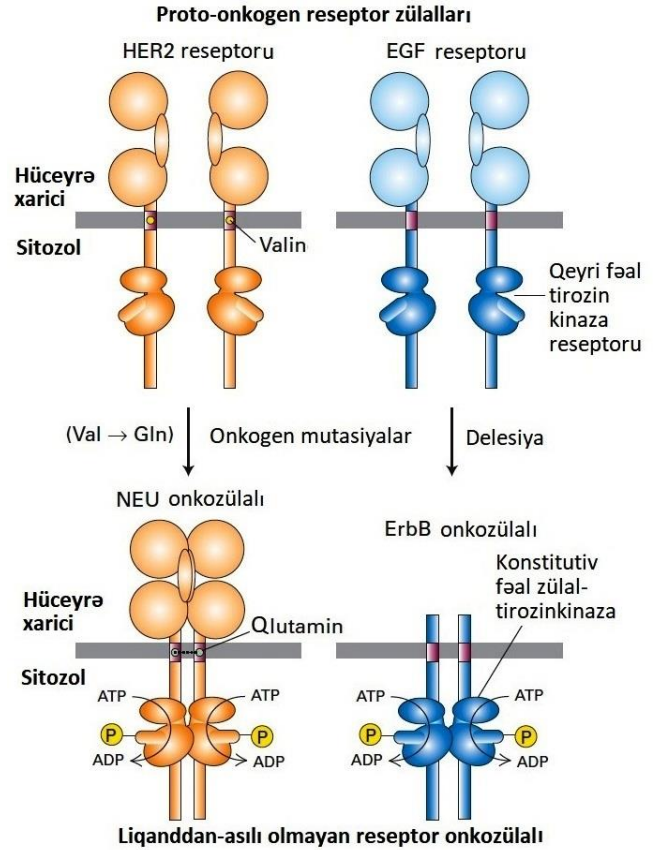
Bu bölmədə biz böyüməni-təşviq edən və böyüməni-ingibirləşdirən siqnal yollarının tümörogeneza necə kömək etdiklərini daha ətraflı müzakirə edirik. Biz əvvəlcə müəyyən zülalların tənzimlənməyən, konstitutiv fəallıqları nəticəsində və ya onların həddən artıq istehsalı nəticəsində yaranan mutasiyaların hüceyrə proliferasiyasını və transformasiyasını necə təşviq etdiyini müzakirə edirik. Sonra biz differensasiya yollarında funksiyasının-itirilməsi mutasiyasının tümörogeneza necə kömək etdiyini müzakirə edirik. Biz bu bölməni proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünə aparan p53 kimi, tümörogenezin aparıcı genlərinin səhv tənzimlənməsinin təsviri ilə sona çatdırırıq.

Onkogen Reseptorlar Xarici Boy Faktorları Olmadan Proliferasiyanı Təşviq Edə Bilir

Zülaldakı dəyişilmə hesabına böyüməni-induksiya edən siqnal zülalının hiperfəallaşması xərçəngin mexanizminə oxşar görünür, amma faktiki olaraq bu nadir hallarda olur. Yalnız bir belə təbii baş vermiş onkogen, *sis* aşkar edilmişdir. Trombosit-törədən boty faktorunun (PDGF) dəyişilmiş formasını kodlaşdıran *sis* onkogen yüksək səviyyədə ekspressiya olunarkən normal halda PDGF reseptorunu ekspressiya edən hüceyrələrin proliferasiyasını sonsuz dərəcədə stimullaşdırır. Daha çox rast gəlinən hadisə odur ki, xərçəng hüceyrələri dəyişilməmiş boy faktorlarını istehsal etməyə başlayır, bu faktor da onu istehsal edən hüceyrəyə təsir edir. Bu hadisəyə autokrin stimullaşma deyilir.

Bunun əksinə, böyüməni-təşviq edən siqnalları ötürən hüceyrə-səth reseptorlarını kodlaşdıran onkogenlər bir neçə xərçəng tipləri ilə bağlı olur. Bu reseptorlardan çoxu öz sitozol domenində fəallaşana qədər sükunətdə qalan daxili tirozin proteinkinaza fəallığına malikdirlər. Bu **reseptor tirozinkinazalarda (RTK)** hüceyrəxarici domenlərə liqandın birləşməsi onların dimerləşməsinə və kinaza fəallığının fəallaşmasına səbəb olur, hüceyrədaxili siqnal yolunu inisiyasiya edir və sonda proliferasiyanı təşviq edir. Bəzi hallarda, normal RTK-nın nöqtəvi mutasiyası onu həтта liqand iştirak etmədən dimerləşməyə və konstitutiv fəal olmağa çevirir. Məsələn, tək bir mutasiya insanın normal EGF reseptoru 2-ni (HER2) NEU onkozülalına çevirir ("NEU" onun ilk məlum olan roluna neyroblastomaya görə adlanır), bu ta müəyyən siçan xərçənglərini inisiyasiya edir (Şəkil 24-20, *solda*). Eynilə, insanın *çoxsaylı endokrin neoplaziya tip 2* adlanan şişləri hüceyrəxarici domenində nöqtəvi mutasiya nəticəsində meydana gələn fəal dimer gliya-mənşəli neyrotrofik faktor (GDNF) reseptorunu istehsal edir. GDNF reseptor və HER2 reseptor hər ikisi tirozin proteinkinazadır, ona görə də onların konstitutiv fəal forması onlardan aşağıya istiqamətdə hədəf zülallarını hədsiz dərəcədə fosforlaşdırırlar. Digər hallarda, hüceyrəxarici liqand-birləşdirən domenlərin çox hissələrinin silinməsi konstitutiv fəal onkogen reseptoru istehsal edir. Məsələn, normal EGF reseptorun hüceyrəxarici domeninin silinməsi (Şəkil 24-20, *sağda*) onu dimer ErbB (*eritro-blastosis viruslardan*, ilk dəfə dəyişilmiş genin virus versiyası identifikasiya olunmuşdur) onkozülalına çevirir. Normal RTK-nın həddən artıq istehsalına səbəb olan mutasiya da onkogen ola bilər. Məsələn, insanın çox süd vəzi xərçəngləri normal HER2 reseptorunu onun kodlaşdırdığı geni amplifikasiya etməklə həddən artıq istehsal

edirlər. Nəticədə, hüceyrələrin proliferasiyası EGF-in və oxşar hormonların normal hüceyrələrin proliferasiyasını stimullaşdırma bilmək üçün həddən artıq kiçik olan qatılıqlarında stimullaşır (bax Fəsil 16).

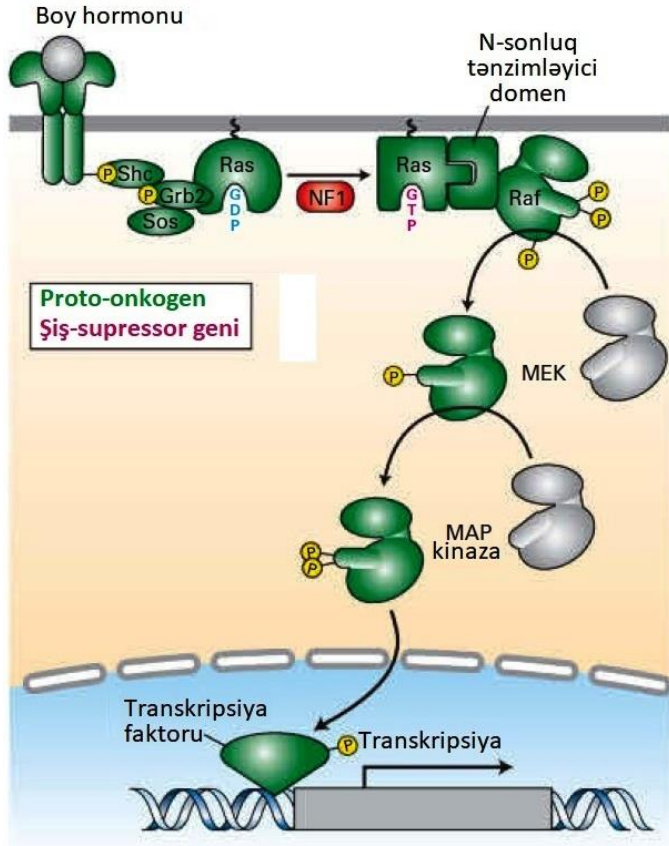


ŞƏKİL 24-20 Onkogen mutasiyaların hüceyrə-səth reseptorlarını koslaşdıran proto-onkogenlərə təsiri. *Solda:* HER2 reseptorun transmembran rayonunda tək bir amin turşusunu dəyişən (valini qlutaminə) mutasiya reseptorun EGF liqandlar olmayan halda belə dimerləşməsinə səbəb olur, onu konstitutiv fəal kinazaya, NEU onkozülalına transformasiya edir. *Sağda:* EGF reseptordakı hüceyrəxarici liqand-birləşdirən domeninin itirilməsinə səbəb olan silinmə baş verən ErbB onkozülalın kinaza fəallığının naməlum səbəbdən konstitutiv fəallaşmasına səbəb olur.

Çox Onkogenlər Konstitutiv Fəal Siqnal-Ötürən Zülalları Kodlaşdırır

Böyük sayda onkogenlər proto-onkogenlərdən törəyirlər, o proto-onkogenlərdən ki, onların kodlaşdırdığı zülallar siqnal ötürən yolların, onlardan ən məşhur olanı Ras yolunun tənzimləyicilərinin komponentləridir. Bizim Fəsil 16-da gördüyümüz kimi, Ras siqnalların fəallaşmış reseptordan proteinkinazalar kaskadına ötürüldüyü yolun əsas komponentdir. Bu yolun birinci yarısında siqnal fəallaşmış RTK-dan iki adaptor zülal vasitəsilə RAS zülalına aparılır, onu GTP-birləşmiş fəal formaya çevirir (bax Şəkil 16-21). Yolun ikinci hissəsində, fəallaşmış RAS siqnalı iki intermediat (aralıq) proteinkinazalar vasitəsilə MAP-kinazaya ötürür. Fəallaşmış MAP kinaza çox əhəmiyyətli böyümə və proliferasiya

zülallarının sintezini induksiya edən (bax Şəkil 16-26) bir sıra transkripsiya faktorlarını fosforlaşdırır. Virtual olaraq bu RTK/Ras/MAP kinaza siqnal kaskadının hər bir komponenti onkogen və ya şiş-supressor geni kimi identifikasiya olunmuşdur (Şəkil 24-21).



ŞƏKİL 24-21 Çox hallarda xərçəngdə RTK/Ras/MAP kinaza yolunun komponentləri susdurulur. İnsan xərçəngində onkogen mutasiyanın identifikasiya olunduğu bu RTK/Ras/MAP kinaza yolunun komponentləri yaşıl rənglə vurğulanmışdır. Xərçəng hüceyrələrində genlərin fəalsızlaşmasına səbəb olan, mutasiya olunduğu tapılmış komponentlər qırmızı rənglə vurğulanmışdır.

Yaxşı öyrənilmiş onkogenlər arasında *ras^D* genlərinin özləri var, onlar ilk dəfə tanınan qeyri virus onkogenlərdir (bax **Klassik eksperiment 24-1**). RAS-da çoxsaylı dəyişiklikdən istənilən biri onun nəzarət olunmayan və ona görə də dominant olan fəallaşmasına səbəb olur. Xüsusilə də, əgər nöqtəvi mutasiya RAS ardıcılığında istənilən bir amin turusunu qlisin ilə əvəz edirsə normal zülal digər konstitutiv fəal onkozülalə çevrilir (bax Fəsil 16). Bu sadə mutasiya zülalın GTP-aza fəallığını azaldır, beləliklə RAS GTP-birləşmiş fəal vəziyyətdə saxlanılır. RAS mutasiyalarının fəallaşması RTK yolunun birinci hissəsinə qısa-qapanma verir, siqnal yolunun yuxarıya istiqamətdə fəallaşmasının başlanması üçün liqandın reseptora birləşməsinə lazımsız edir. Konstitutiv fəal RAS onkozülallar, sidik kisəsinin, yoğun bağırsağın, məmə (mammary), dəri və ağciyər karsinomaları, neyroblastomalar və leykomiya kimi insan şişlərinin çox tipləri tərəfindən istehsal olunur.

RAS-ın konstitutiv fəallaşması GTP-aza-fəallaşdıran zülalın (GAP) funksiyasının itirilməsi mutasiyası nəticəsində də baş verir. GAP-ın normal funksiyası GTP hidrolizini sürətləndirmək və beləliklə fəal GTP-birləşmiş RAS-ı qeyri fəal GDP birləşmiş RAS-a çevirməkdir (bax Şəkil 3-34). GAP-ın itirilməsi aşağıya istiqamətdə siqnal ötürən zülalların RAS-la dayanıqlı fəallaşmasına səbəb olur. Məsələn, sinir hüceyrələrini əhatə edən qabıq hüceyrələrinin xoşxassəli şişi neyrofibromatozis RAS GAP-tipli zülalları (bax Şəkil 8-20) kodlaşdıran *NF1*-in hər iki allelinin itirilməsi nəticəsində yaranır. Neyrofibromatozly fərdlər irsi olaraq bir *NF1* allelini alırlar, başqa alleldəki sonrakı somatik mutasiya neyrofibromaların yaranmasına səbəb olur. Beləliklə, *RB* kimi, *NF1* də şiş-supressor genidir və neyrofibromatozisi əmələ gətirmək meyilliliyini irsi retinablastomada olduğu kimi, autosomal dominant əlamət kimi irsən alır.

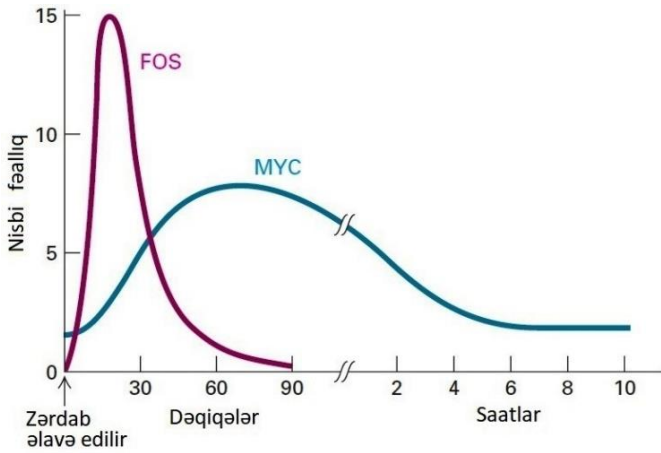
RTK/RAS/MAP kinaza yolunun digər dəyişilmiş komponentlərini də kodlaşdıran onkogenlər aşkar edilmişdir (bax Şəkil 24-21). Məsələn, RAF-ın fəal forması melanomaların təxminən 50 faizində tapılmışdır. RAS-ın konstitutiv fəal formalarında olduğu kimi, mutant RAF formaları da hüceyrə səthindən gələn tənzimləyici siqnallara cavab vermir və hüceyrənin davamlı şəkildə böyüməsi və proliferasiyasına siqnal verir.

RTK/RAS/MAP kinaza yolunun tərkib hissələrindən başqa, tez-tez hallarda sitoplazmatik proteinkinaza da xərçəngdə mutasiya olunur. Həqiqətən də, ilk aşkar edilən onkogen Rous sarkoma virusundan *v-src* tirozikinazasının konstitutiv formasını kodlaşdırır. Ən azı məməlilərin səkkiz proto-onkogeni SRC zülallara yaxın olan qeyri reseptor tirozikinazalar ailəsinə kodlaşdırır. Başqa nümunələrdə, kinazalar başqa zülallarla qovşaq olurlar, proteinkinazalara yeni spesifikliyi bəxş edirlər. BCR-ABL qovşaq zülalı belə *onkokinazalara* bir nümunədir. Yuxarıda təsvir edildiyi kimi, hiperfəal kinazalar və onkokinazalar xərçəng müalicəsi zamanı hədəf olunurlar.

Nüvə Transkripsiya Faktorlarının Uyğunolmayan İstehsalı Transformasiyaya Səbəb Olur

Onkogeni əmələ gətirən və ya şiş-supressor genlərini zədələdən mutasiyalar sonda gen ekspressiyasında dəyişikliyə səbəb olurlar. Bu dəyişilmələr normal hüceyrələrdə və şiş hüceyrələrində müxtəlif mRNT-lərin miqdarını müqayisə etməklə ölçülə bilər. Gen ekspressiyasına birbaşa təsirlərin çoxu transkripsiya faktorları vasitəsilə göstərildiyindən, təcüblü deyildir ki, çox onkogenlər transkripsiya faktorlarını kodlaşdırırlar. Buna iki nümunə JUN və FOS, ilk dəfə transformasiya edən retroviruslarda identifikasiya olunmuşlar və sonralar bəzi insan şişlərində həddən artıq ekspressiya olunduqları tapılmışdır. *JUN* və *FOS* proto-onkogenlər çox genlərin promotorlarında və enhanserlərindəki ardıcılıqlara birləşən, AP1 adlanan heterodimer transkripsiya faktorunu əmələ gətirmək üçün assosiasiya edən zülalları kodlaşdırırlar (bax Şəkil 9-3a və Fəsil 16). Bu zülallar böyüməni təşviq edən zülalları kodlaşdıran əsas genlərin transkripsiyasını fəallaşdırmaqla və ya böyüməni repressiya edən genlərin transkripsiyasını ingibirləşdirməklə onkozülallar kimi fəaliyyət göstərirlər.

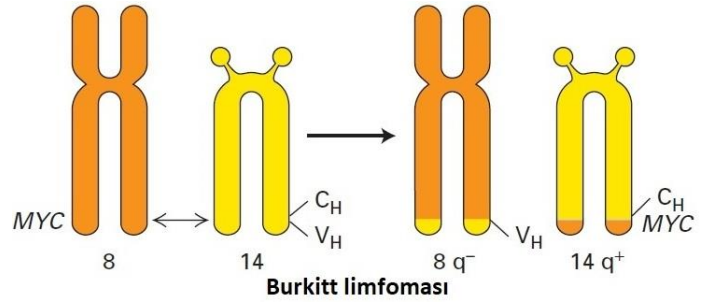
Çox nüvə proto-onkogen zülalları normal hüceyrələr böyümək üçün stimullaşan zaman da istehsal olunurlar, bu böyüməyə nəzarətdə onların birbaşa rolunu göstərir. Məsələn, siçanın sakit (hərəkətsiz) 3T3 hüceyrələrinin PDGF ilə işlənilməsi onlarda *FOS* və *MYC* proto-onkogenlərin məhsulu olan *FOS* və *MYC* transkripsiya faktorlarının istehsalını 50 dəfə artırır. İlkin olaraq *FOS*-un keçici artması baş verir, sonra isə *MYC*-nin daha uzunmüddətli artması baş verir (Şəkil 24-22). Hər iki zülalın səviyyəsi bir neçə saatin ərzində enir, bu tənzimləyici effekt normal hüceyrələrdə xərçəngin qarşısını almağa kömək edir. *FOS* və *MYC* zülalları hüceyrə tsiklinin G_1 fazadan keçməsinə və G_1 -S-keçidini təşviq edən zülalları kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır.



EKSPERİMENTAL ŞƏKİL 24-22 Qan zərdabının sakitlikdə (hərəkətsiz) olan 3T3 hüceyrələrə əlavə edilməsi iki proto-onkogen məhsulun – *FOS* və *MYC*-nin fəallığını nəzərə çarpacaq dərəcədə artırır. Qan zərdabında sakitlikdə olan hüceyrələri stimullaşdıran trombositdən-törənən boy faktoru (PDGF) kimi faktorlar vardır. Boy faktorlarının ən erkən təsirlərindən biri, koslaşdırdığı zülalın, *FOS* və *MYC* transkripsiya faktorlarının ekspressiyasını induksiya etməkdir. [Verilənlər M. E. Greenberg and E. B. Ziff, 1984, *Nature* **311**:433-dən.]

Normal hüceyrələrdə *FOS* və *MYC* mRNT-lər və onların kodlaşdırdığı zülallar daxilən qeyri stabildirlər və genlər transkripsiya olunduqdan sonra sürətlə parçalanırlar. *FOS*-u normal gəndən onkogenə çevirən bəzi genetik dəyişikliklərə ardıcılıqda normal halda *FOS* mRNT-ni və zülalı qısa-ömürlü edən bəzi delesiyalar daxildir. *MYC* proto-onkogenin onkogenə çevrilməsi başqa mexanizmlə baş verir. İnsanın *Burkit limfoması* adlanan şişinin hüceyrələrində *MYC* geni, normal halda anticism-istehsal edən ağ-qan hüceyrələrində fəal olan, anticismin ağır-zəncir geninin yaxınlığındakı sayta translokasiya edir (Şəkil 24-23). *MYC*-nin translokasiyası anticism-istehsal edən hüceyrələrdə yetişmə zamanı baş verən normal DNT yenidəndqurulmasında baş verən nadir aberrasiyadır (uzaqlaşmadır). İndi translokasiya olunan *MYC* gen anticism-geninin enhanseri tərəfindən tənzimlənərək yüksək dərəcədə ekspressiya olunur və hüceyrənin xərçəngə çevrilməsinə səbəb olur. Bir sıra insan şişlərində baş verən, *MYC* geninə malik olan DNT seqmentinin lokal amplifikasiyası da başqa halda normal

olan *MYC* zülalının arzuolunmayan dərəcədə yüksək istehsalına səbəb olur.



ŞƏKİL 24-23 Burkitt limfomasında xromosomal translokasiya. Xromosom 8 və 14 arasında baş verən translokasiya nəticəsində *MYC* geni anticismin ağır zəncirinin (C_H) geninə yaxın yerləşdirilir, limfositlərdə *MYC* zülalının həddən artıq istehsalına və beləliklə limfomanın əmələ gəlməsinə səbəb olur.

MYC geni müxtəlif kombinasiyalarda dimerləşə bilən, DNT-yə birləşən və hədəf genin transkripsiyasını koordinasiya olunmuş şəkildə tənzimləyən qarşılıqlı təsirdə olan zülallar dəstəsinin bir hissəsi kimi fəaliyyət göstərən əsas spiral-İlgək-spiral zülalları kodlaşdırır. Bu zülallar dəstəsinin başqa nümayəndələrinə *MAD*, *MAX* və *MNT* daxildir. *MAX* zülalı *MYC*, *MAD* və *MNT* ilə heterodimerləşə bilir. *MYC*-*MAX* dimeri tsiklin kimi proliferasiyaya nəzarət edən genləri tənzimləyir. *MAD* zülalları *MYC* zülallarını ingibirləşdirir, bu da şiş əmələ gəlməsinə kömək edən həddən artıq yüksək *MYC* fəallığını cilovlamaq üçün *MAD* zülallarının və ya *MAD* zülallarını stimullaşdıran dərmanların istifadəsinə maraqlı doğurmuşdur. *MYC* zülal kompleksləri histon asetiltransferazaya malik olan xromatin-modifikasiya edən kompleksləri (hansıki, adətən transkripsiyayı stimullaşdırır, bax Fəsil 9) *MYC* hədəf genlərə səfərbər etməklə transkripsiyaya təsir edirlər. *MAD* və *MNT* transkripsiyanın blok olunmasına kömək edən histon deasetilazanı götürmək üçün *SIN3* ko-repressor zülalla işləyir. Bütün bu zülallar birlikdə hüceyrə proliferasiyasına nəzarət etmək üçün, zülal-zülal assosiasiyasını, DNT birləşməsində variasiyaları və transkripsiya səviyyəsində tənzimlənməni istifadə edən tənzimləyici şəbəkəni əmələ gətirirlər. *MYC* zülal tiplərinin həddən artıq istehsalı hüceyrə böyüməsi və bölünməsinin xeyrinə yönəlmişdir.

İnkişafa Nəzarət Edən Sinyal Yollarındakı Aberrasiyalar Çox Xərçənglərlə Bağlıdır

Normal inkişaf zamanı, Hedgehog (Hh), Wnt, və TGF- β kimi ifraz olunan siqnallar hüceyrələri sürətli mitozun daxil olduğu xüsusi bir inkişaf müqəddarına yönəltmək üçün istifadə edilir. Bu cürə siqnalların təsiri elə tənzimlənəlidir ki, artma düzgün zamanda və düzgün məkanda məhdudlaşdırılsın. Belə güclü inkişaf siqnallarının təsirinə dayandırılması üçün mümkün olan mexanizmlər arasında induksiya edilə bilən hüceyrədaxili antaqonistlər, reseptor blokerləri və rəqabət siqnalları vardır. Bu cürə dayandırma mexanizmlərinin fəaliyyətinə mane olan mutasiyalar yəqin ki, onkogendirlər, arzuolunmayan çoxalmanın və ya xərçəngin yaranmasına səbəb olurlar.

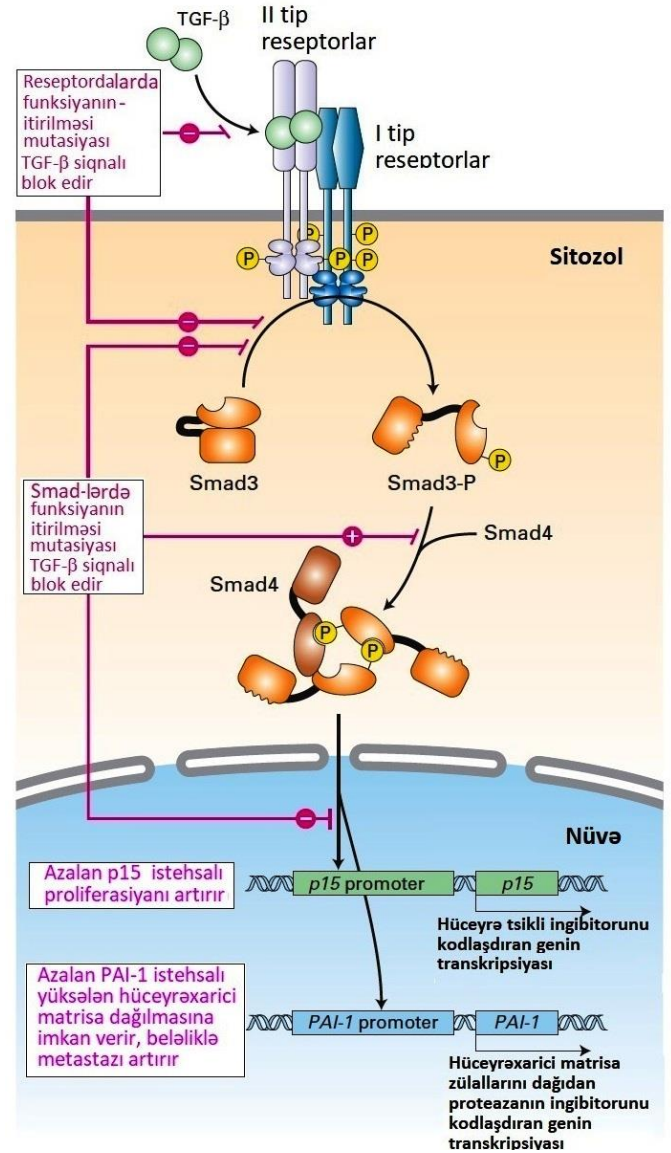
İnkişafın gedişi zamanı hüceyrə müqəddaratına nəzarət etmək üçün təkrar-təkrar istifadə edilən Hedgehog siqnal yolu xərçəngin induksiya olunmasında iştirak edən siqnal yolunun yaxşı nümunəsidir. Dəridə və beyincikdə, insanın Hh zülallarından biri Sonic Hedgehog Pəçd1 (**Patched1** – PTC1) adlanan membran zülalına birləşərək onu fəalsızlaşdırmaqla hüceyrə bölünməsinə stimullaşdırır (bax Şəkil 16-34). *PTC1*-də funksiyanın itirilməsi mutasiyası Hh siqnalı olmadan belə, hüceyrə proliferasiyasına imkan yaradır, beləliklə, *PTC1* şiş-supressor genidir. İrsən *PTC1*-in yalnız bir işləyən nüsxəsini alan insanlarda dəri və beyin xərçənginin əmələ gəlməsi meyilliliyi olur, qalan allel də zədələndikdə bu xərçənglərdən istənilən biri baş verir. Başqa insanlar da bu genin hər iki nüsxəsini itirirsə onlar da bu xəstəliklərə tutula bilərlər. Beləliklə, bu xəstəliklərin retinoblastomalarda olduğu kimi, həm nəsil (ailə) həm də sporadik halları mövcuddur. Hh siqnal yolunun bşqa genlərində olan mutasiyalar da xərçənglə bağlıdır. Belə mutasiyalardan bəziləri Hh hədəf genlərini arzuolunmayan şəkildə işə salan onkogenləri yaradır, digərləri *PTC1* kimi mənfi (neqativ) tənzimləyicilərə təsir edən resessiv mutasiyalardır. Çox sayda başqa şiş-supressor genlərində olduğu kimi, *PTC1* zülalı inkişafın gedişi üçün tələb olunduğundan onun funksiyasının tam itirilməsi dölün erkən ölümünə səbəb ola bilər, ona görə də homoziqot (*ptc1/ptc1*) olan yalnız şiş hüceyrələridir.

Başqa fəsilərdə təsvir edilən çoxsaylı başqa siqnal yolları da həmçinin embrional inkişafa və yetkin toxumada hüceyrə proliferasiyasına nəzarət olunmasında rol oynayır. Son illər, bu siqnal yollarının komponentlərinin əksəriyyətinə təsir edən mutasiyalar xərçənglə bağlı olmuşdur. Həqiqətən də, inkişaf yolunda bir gen insan xərçənginin bir tipi ilə əlaqəli olduqda, bu yol barədə qurd, milçək və ya siçan kimi model orqanizmlərdən alınan bilikləri xərçəngin digər hallarında əlavə yol genlərinin (**additional pathway genes**) mümkün iştirakı ilə bağlı olan tədqiqatları aparmağa imkan verir. Məsələn, yoğun nbağırmaq xərçəngi yolunda mutasiya olunan gen *APC*, indi Wnt siqnal yolunun (bax Fəsil 16) bir hissəsi olduğu bilinir. Öz növbəsində, bu biliklər yoğun bağırsağ xərçəngində β -katenin mutasiyalarının aşkar olunmasına gətirib çıxardı.

Şiş-supressor inkişaf genlərində mutasiyalar toxumalarda şiş əmələ gəlməsini təşviq edir, amma normal halda təsir olunan bu gen artmanın dayandırılmasına kömək edir. Beləliklə bu mutasiyalar inkişaf tənzimləyicilərinin əsas rolunun hüceyrə müqəddaratına nəzarət etmək olduğu – hansı tip hüceyrənin inkişaf etməli olduğu – amma hüceyrə bölünməsinin olmadığı toxumalarda xərçəng əmələ gətirmirlər. İnkişaf proto-onkogenlərində mutasiyalar təsir olunmuş genin normal halda hüceyrə proliferasiyasını təşviq etdiyi toxumalarda və ya genin aberrant (yolunu azmış) şəkildə fəal vəziyyət aldığı başqa toxumalarda şiş əmələ gəlməsini induksiya edə bilər.

Transformasiya edən boy faktoru (TGF- β), adına baxmayaraq, çox hüceyrə növünün, o cümlədən epiteli və immun sistemi hüceyrələrinin çoxalmasına mane olur. TGF- β -nin öz reseptoruna birləşməsi sitozol Smad transkripsiya faktorlarını fəallaşdırır (bax Şəkil 16-3). Nüvəyə translokasiya etdikdən sonra, Smad-lər, G₁-ə arrest qoyan kalsiumdan-asılı olan kinaza 4-ün (CDK4) inhibitoru p15-i kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını təşviq edir. TGF- β siqnalı həmçinin hüceyrəxarici matrisə zülallarını kodlaşdıran genlərin və matrisanın plazminlə-kataliz olunan parçalanmasını azaldan

plazminogen aktivatorun inhibitorlarını (PAI-1) kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını təşviq edir. TGF- β reseptorların və ya Smad-lərin istənilən birində funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları hüceyrə proliferasiyasını təşviq edir və demək olar ki, şiş hüceyrələrinin invazivliyinə və metastazına kömək edir (Şəkil 24-24). Faktiki olaraq belə mutasiyalar müxtəlif insan xərçənglərində tapılmışdır. Məsələn, *Smad4* geninin silinməsi (delesiyası) insanın müxtəlif mədəaltı vəz xərçənglərində tapılmışdır, retinoblastoma və yoğun bağırsağ xərçəng hüceyrələri TGF- β reseptorlarını itirir, ona görə də TGF- β artma inhibitoruna qarşı cavab vermirlər.



ŞƏKİL 24-24 TGF- β -siqnalın itirilməsinin təsiri. Anti-böyümə faktoru TGF- β -nin öz reseptoruna birləşməsi Smad transkripsiya faktorlarının fəallaşmasına səbəb olur. Reseptorun mutasiyası və ya Smad-in mutasiyası səbəbindən fəal TGF- β -siqnalı olmayanda, hüceyrənin proliferasiyası və ətrafdakı hüceyrəxarici matrisəyə hücum artır. Bax X. Hua et al., 1998, Genes and Dev. 12:3084.

Apoptozu Tənzimləyən Genlər Proto-onkogenlər və ya Şiş-Supressor Genləri Kimi Fəaliyyət Göstərir

Normal inkişaf zamanı, bir çox hüceyrələr apoptoz kimi məlum olan (bax Fəsil 21) proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü üçün də təyin edilirlər. Mitozdakı səhvlər, DNT zədələnməsi və ya fəaliyyət göstərən orqanın inkişafı üçün lazım olmayan hüceyrələrin həddən artıq çox olması da daxil olmaqla bir sıra anormallıqlar apoptozu işə sala bilər. Bəzi hüceyrələr üçün apoptoz standart vəziyyət kimi görünür və siqnal hüceyrənin sağ qalması üçün tələb olunur. Hüceyrələr sağ qalmaq üçün təlimatı və ölmək üçün təlimatı ala bilirlər, belə müxtəlif növ informasiyalar mürəkkəb tənzimləyici sistem tərəfindən inteqrasiya olunur.

Əgər hüceyrələr ölməli olduqları halda sağ qalırlarsa və proliferasiya etməkdə davam edərlərsə şiş əmələ gələ bilər. Məsələn, xroniki limfoblast leykomiya (CLL) ölməli olan hüceyrələrin sağ qalması üzündən yaranır. Hüceyrələr yavaş-yavaş toplanır (akkumulyasiya olunur) və əksəriyyəti fəal şəkildə bölünür, amma onlar ölmürlər. CLL hüceyrələrində, bizim indi apoptozun kritik blokeri kimi tanıdığımız *BCL2* adlanan geni (bax Şəkil 21-38) fəallaşdıran xromosomal translokasiya baş verir. Nəticədə *BCL2* zülalın müvafiq olmayan həddən artıq istehsalı normal apoptozu mane olur və bu şiş hüceyrələrinin sağ qalmasına imkan verir. Ona görə də CLL şişlər hüceyrə ölümünün uğursuzluğu ilə bağlıdır. Normal olaraq mənfə tənzimləyən apoptozda iştirak edən, daha başqa onlarla proto-onkogenin onkogen halına gəlməsi üçün mutasiya edildiyi aşkar edilmişdir. Onların kodlaşdırdığı zülalların həddindən artıq miqdarda istehsalı hətta xərçəng hüceyrələrinin artmasını dayandırmaq üçün lazım olsa belə apoptozun qarşısını alır.

Əksinə, zülal məhsulu apoptozu stimullaşdıran genlər şiş supressoru kimi fəaliyyət göstərir. Buna nümunə Fəsil 16-da müzakirə olunan *PTEN* genidir. Bu genin kodlaşdırdığı fosfataza AKT-nin fəallaşdırılmasında fəaliyyət göstərən ikinci messenger (bax Şəkil 16-29) fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfatı defosforlaşdırır. *PTEN* fosfatazaya malik olmayan hüceyrələr fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfatın yüksək səviyyəsinə və hüceyrənin sağ qalmasını, böyüməsini və proliferasiyasını təşviq edən fəal AKT-yə malik olurlar. Beləliklə, *PTEN* AKT-nin anti-apoptoz xüsusiyyətini və proliferasiya-təşviq edən təsirini azaltmaqla pro-apoptotik şiş supressoru kimi fəaliyyət göstərir.

İnsan xərçəngində ən çox iştirak edən ümumi şiş-supressor geni *p53*-dir. *p53* ilə fəallaşan genlər arasında bir neçəsi *BAX* kimi bir sıra pro-apoptotik zülalları kodlaşdırılır (bax Şəkil 21-38). Bizim tezliklə 24.5 bölməsində müzakirə edəcəyimiz kimi, hüceyrə geniş DNT zədələnməsindən və hipoksia kimi bir sıra başqa stresslərdən əziyyət çəkəndə, pro-apoptoz zülalların *p53*-ilə induksiya olunan ekspressiyası onların tez məhv olmasına gətirib çıxarır. Apoptoz DNT zədələnməsinə qarşı əsaslı (drastic) cavab kimi görüldüyü halda, o çoxsaylı mutasiyaları toplamış hüceyrələrin proliferasiyasına mane olur. *p53*-ün funksiyası itəndə, apoptoz induksiya oluna bilmir və xərçəngin yaranması və inkişafı üçün tələb olunan mutasiyaların yığılıb toplanması ehtimalı daha böyük olur.

24.4 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Xərçəngdə Hüceyrə Artmasının və Ölümünün Səhv Tənzimlənməsi

- Boy faktorları reseptorlarının normal liqandları olmayan halda dimerləşməsinə imkan verən mutasiyalar konstitutiv reseptor fəallaşmasına səbəb olur (bax Şəkil 24-20). Boy-faktoru reseptorlarının həddən artıq istehsalı eyni təsirə malik ola bilər və anormal hüceyrə proliferasiyasına səbəb olur.
- Əksər şiş hüceyrələri hüceyrədaxili siqnal ötürən zülalların birinin və ya daha artığının konstitutiv fəal formasını istehsal edir, normal boy faktoru olmayan halda belə, böyüməni-təşviq edən siqnalın yaranmasına səbəb olur (bax Şəkil 24-21).
- *FOS*, *JUN* və *MYC* kimi nüvə transkripsiya faktorlarının müvafiq olmayan istehsalı transformasiyanı induksiya edə bilər. Burkits limfoma hüceyrələrində *MYC* geni anticism geninə çox yaxın translokasiya olunur, *MYC*-nin həddən artıq istehsalına səbəb olur (bax Şəkil 24-23).
- Normal inkişaf proseslərini tənzimləyən çox genlər müxtəlif siqnal yollarında fəaliyyət göstərən müxtəlif zülalları kodlaşdırırlar. Bu genlərin böyümənin harada və nə vaxt baş verdiyini tənzimləyən normal rolları, onların mutasiya olunduğu zaman meydana gələn şişlərin xarakterində əks olunur.
- Böyümənin mənfə tənzimləyicisi $TGF-\beta$ ilə siqnal verilməsinin itirilməsi hüceyrə proliferasiyasını və bəd xassəliliyin inkişafını təşviq edir (bax Şəkil 24-24).
- Anti-apoptoz genlərin həddən artıq ekspressiyası və ya pro-apoptik genlərin itirilməsi tümorogenezi təşviq edir. Çox zaman xərçənglərdə pro-apoptik gen *p53* mutasiya olunur.

24.5 Xərçəngdə Hüceyrə Tsikli və Genomun Qorunub Saxlanılması Yollarının Tənzimlənməsi

Eukariot hüceyrə tsiklini tənzimləyən kompleks mexanizmlər onkogen mutasiyanın əsas hədəfidirlər. Həm mənfə həm də müsbət təsir edən zülallar hüceyrələrin hüceyrə tsiklinə daxil olmasını və orada irəliləməsinə dəqiqliklə nizamlayırlar. Bundan başqa, hüceyrələr nəzarət mexanizminə malikdirlər, bu hüceyrəni əmin edir ki, əvvəlki faza tam dəqiqliklə tamamlanmadan yeni fazaya keçməsin. Məsələn, DNT-sində zədələnmə olan hüceyrələr DNT-si replikasiya etmədən və ya xromosom seqreasiyasından öncə G_2 -də arrest olunurlar. Hüceyrənin bu arresi DNT zədələnməsinin bərpa olunması, reparasiyası üçün zmana imkan verir, alternativ halda hüceyrə apoptoz yolu ilə özünü-məhvə məhkum edilir. Hüceyrə tsiklinin nəzarəti və yoxlama nöqtələri sistemləri hüceyrənin xərçəngə çevrilməsinin qarşısını alır. Gözlənilə bildiyi kimi, bu sistemdə mutasiya çox hallarda anormal inkişafa və ya xərçəngin əmələ gəlməsinə kömək edir.

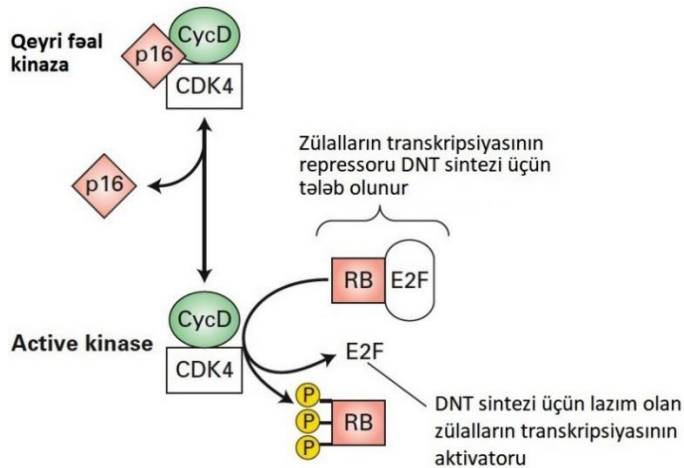
Bu bölmədə biz, xərçəngin təsir etdiyi hüceyrə tsiklinin nəzarət nöqtələrinin yollarını müzakirə edirik. Biz əvvəlcə hüceyrə tsiklinə daxil olmanı tənzimləyən nəzarət nöqtəsi yollarının əksər insan xərçənglərində necə mutasiya edildiyini və

tənzimlənmədiyini izah edirik. Sonra biz, p53-ün hüceyrənin DNT zədələnmələrinə qarşı cavabına kömək etməklə tümörögenəzə necə mane olduğunu təsvir edirik. Biz bölməni DNT reparasiya fermentlərindəki qüsurların hüceyrənin DNT zədələnmələrini bərpa etmə qabiliyyətini pozaraq xərçəngə necə töhfə verdiyini müzakirə etməklə sona çatdırırıq.

G1-dən S Fazasına Tənzimlənməyən Keçidi Təşviq Edən Mutasiyalar Onkogendirler

Hüceyrə G₁-də məhdudlaşdırma nöqtəsi adlanan müəyyən bir nöqtədən keçdikdən sonra, o geriye dönməyən şəkildə S fazasına keçmək və DNT-ni replikasiya etmək imkanını qazanır (bax Şəkil 19-12). Tsiklin D-lər, tsiklindən asılı olan kinazalar (CDK) və Rb zülal – bunlar hamısı məhdudlaşdırma nöqtəsindən keçməni tənzimləyən nəzarət sisteminin elementləridirlər.

Belə hesab edilir ki, hüceyrə tsiklinə daxil olmanı nizamlayan yol insan xərçənglərinin təxminən 80 faizində yanlış tənzimlənir. Bu yolun mərkəzində tsiklin D-CDK4/6 kompleksləri və transkripsiya ingibitoru RB dururlar (Şəkil 24-25). Tsiklin D genlərinin ekspressiyası çox hüceyrəxarici boy faktorları və ya *mitogenlər* ilə induksiya olunurlar. Bu tsiklinlər, öz partnyoru CDK4 və ya CDK6 ilə bir yerə toplanaraq kinaz fəallığı G₁ ilə irəliləməni təşviq edən katalitik fəal tsiklin-CDK komplekslərini yaradırlar. Məhdudlaşdırma nöqtəsindən keçməzdən əvvəl mitogenin geriye alınması iki CDK ingibitorunun toplanmasına səbəb olur. Fəsil 19-da təsvir edildiyi kimi, bu iki zülal p15 və p16 tsiklin D-CDK4/6 komplekslərə birləşir, onların fəallığını ingibirləşdirməklə G₁ fazasında arrestə səbəb olur. Transkripsiya ingibitoru RB tsiklin D-CDK4/6 kompleksinin fosforlaşması ilə nəzarət olunur. Fosforlaşmamış RB E2F transkripsiya faktorlarına birləşir, DNT sintezi üçün tələb olunan zülalları kodlaşdıran genlərin transkripsiyasını stimullaşdırır. Normal şəraitdə, RB zülalının fosforlaşması G₁ ilə yolun yarısında fəal tsiklin D-CDK4/6 kompleksləri vasitəsilə inisiyasiya olunur. RB-nin tam fosforlaşması G₁-in sonunda tsiklin E-CDK2 kompleksləri vasitəsilə tamamlanır, E2F-lərin buraxılmasına və fəallaşmasına imkan verir və G1-dən S fazasına keçməsinə imkan yaradır. RB-nin tam fosforlaşması və onun E2F-dən dissosiasiyası hüceyrəni geriye dönməyən şəkildə DNT sintezinə yönəldir.



Əksər şişlər, S fazaya keçidə nəzarət edən yolun komponentlərindən birinin həddən artıq istehsalı və ya itirilməsinə səbəb olan onkogen mutasiyaya malik olur, beləliklə hüceyrələr düzgün hüceyrəxarici böyümə signalı olmadan S fazaya keçirlər. Məsələn, çox insan xərçənglərində tsiklin D-lərdən birinin, tsiklin D1-in səviyyəsinin yüksəlməsi tapılmışdır. Anticisim-istehsal edən B limfositlərin müəyyən şişlərində *tsiklin D1* geni elə translokasiya olunur ki, onun transkripsiyası anticisim-gen enhanserinin nəzarəti altında olur, hüceyrəxarici siqnalların olmasından asılı olmayaraq hüceyrə tsikli yolu ilə tsiklin D1 istehsalının artmasına səbəb olur. (Bu fenomen, əvvəllər müzakirə olunmuş, Burkitts limfoma hüceyrələrindəki *MYC* translokasiyasına analogidir.) Tsiklin D1-in onkozülal kimi işləyə bilməsi, *tsiklin D1* genini siçanın **mammari** kanal hüceyrələrinin xüsusi bir enhanserinin nəzarəti altında yerləşdirildiyi transgen siçanlar ilə aparılan tədqiqatlarda göstərilmişdir. Əvvəlcə kanal hüceyrələri hiperproliferasiyaya məruz qaldı və sonda bu transgen siçanlarda süd vəzi şişləri əmələ gəldi. Tsiklin D-nin həddən artıq istehsalına səbəb ola biləcək ikinci bir mexanizm gen amplifikasiyasıdır. *Tsiklin D1* geninin amplifikasiyası və onu müşayiət edən D1 zülalının həddən artıq istehsalı insanın süd vəzi xərçəngi üçün ümumi haldır, ekstra tsiklin D1 hüceyrələrdə hüceyrə tsiklinin gedişinə kömək edir.

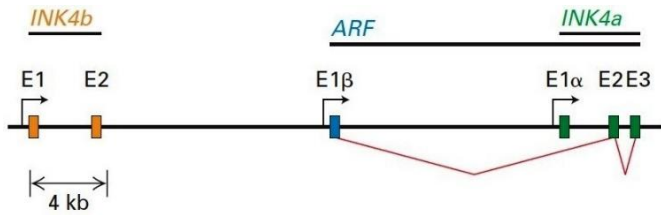
Biz artıq gördük ki, hər iki *RB* allelində fəalsızlaşdırıcı mutasiyalar nisbətən seyrək rast gəlinən xərçəngin, uşaqlıq retinoblastomanın yaranmasına səbəb olur, Amma, *RB* genin funksiyasının itirilməsi də həyatın sonrakı dövrlərində meydana gələn bir sıra çox yayılmış xərçənglərdə (məsələn, ağciyər, süd vəzi və sidik kisəsi karsinomalarında) rast gəlinmişdir. Retinal toxumadan fərqli olaraq bu toxumalar, yəqin ki, başqa zülalları (məsələn, quruluşuna görə hər ikisi *RB*-yə yaxın olan p107 və p130) istehsal edirlər, onların funksiyası *RB* funksiyası ilə həddən artıq yaxındır və beləliklə, bu toxumalarda xərçəngin qarşısını almaq üçün *RB* elə də vacib deyildir. Amma, retinada hüceyrə tsiklinə daxil olmanın tənzimlənməsi son dərəcə *RB* zülalına əsaslanır, buna görə də əvvəlcə *RB* geninə görə heterozigot olan xəstələrin bu toxumasında şişlər əmələ gəlir. *RB* funksiyası yalnız fəalsızlaşdırıcı mutasiya ilə deyil həmçinin, virus istehsal edən toxuma yaratmaq üçün başqa xoşagəlməz virus texnikası olan, insanın papilovirusu (HPV) tərəfindən kodlaşdırılan və E7 kimi adlandırılan ingibirləşdirici zülalın birləşməsi ilə də yox edilə bilər. Hal-hazırda bu birləşmənin yalnız uşaqlıq boynu və orofaringeal (boğaz) xərçənglərdə baş verdiyi məlumdur.

ŞƏKİL 24-25 Məhdudlaşdırma nöqtəsi nəzarəti.

Fosforlaşmamış *RB* zülal ümumilikdə E2F-lər adlanan transkripsiya faktorlarına birləşir, zülal məhsulu DNT sintezi üçün tələb olunan (məsələn, DNT polimeraza) çox genlərin E2F- ilə vasitələndirən transkripsiya fəallığının qarşısını alır. Tsiklin D-CDK4/6-nın kinaza fəallığı *RB*-ni fosforlaşdırır, beləliklə *RB*-ni fəalsızlaşdıraraq E2F-ləri fəallaşdırır. Tsiklin D-CDK4/6 fəallığı p16 ilə ingibirləşir. Müsbət tənzimləyici tsiklin D-nin həddən artıq istehsal olunması, və ya mənfə tənzimləyicilərin, p16 və *RB*-nin itirilməsi insan xərçənglərində çox rast gəlinəndir.

Tsiklin-CDK ingibitorlar kimi fəaliyyət göstərən zülallar hüceyrə tsiklinin tənzimlənməsində əhəmiyyətli rol oynayırlar.

Xüsusilə, p16-nın tsiklin D-CDK4/6 kinaza fəallığını ingibirləşdirməsinə mane olan funksiyasının itirilməsi mutasiyaları bir sıra insan xərçənglərində ümumi haldır. Şəkil 24-25-dən aydın olduğu kimi, p16-nın itirilməsi tsiklin D-lərin itirilməsini təqlid edir. Beləliklə, p16 normal halda şiş supressoru kimi fəaliyyət göstərir. Baxmayaraq ki, *p16* şiş supressoru kimi bəzi insan xərçənglərində silinir, amma digərlərində *p16* ardıcılıq normal olur. Bu sonrakı xərçənglərin bəzilərində (məsələn, ağciyər xərçəngində) *p16* geni və ya digər əlaqədar zülalları kodlaşdıran genlər, onun promotor rayonunun transkripsiyasına mane olan hipermetilləşməsi ilə fəalsızlaşır. *p16*-nın metilləşməsində bu dəyişilmənin nəyin hesabına təşviq edildiyi məlum deyil, amma o hüceyrə tsiklinə nəzarət edən bu zülalın istehsalına mane olur.

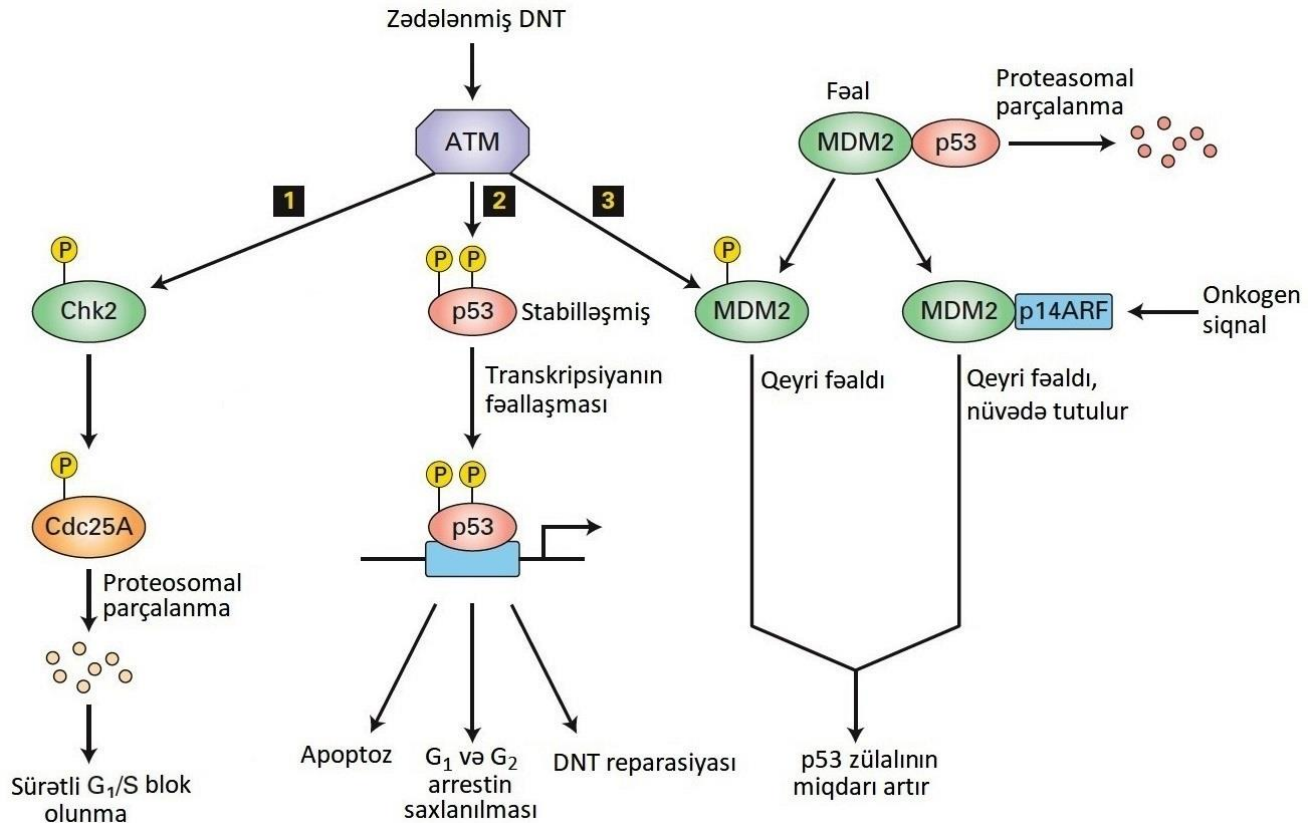


ŞƏKİL 24-26 *INK4b-ARF-INK4a* lokusu üç şiş-supressor genini kodlaşdırır. Eqzonlar E kimi işarələnir. İki *INK4b* eqzonu (narıncı) *ARF-INK4a* lokusundan yuxarıya istiqamətdə yerləşir. *ARF* (mavi) unikal *E1β* eqzonu ilə kodlaşdırılır amma *E2* və *E3* eqzonları *INK4a* (yaşıl) ilə bölüşürlər. *INK4b* və *INK4a* müvafiq olaraq p15 və p16-nı kodlaşdırırlar. *ARF* isə p53 fəallaşdırıcını (aktivatoru) kodlaşdırır. [Verilənlər C. Sherr, 2006, *Nat. Rev. Cancer* 6:663-673-dən.]

p16-nı kodlaşdıran lokus ona görə yüksək dərəcədə qeyri adidir ki, o üçdən az olmayan şiş-supressor genlərini kodlaşdırır, bu da onu insan genomunda onkogen dəyişikliklərə həssas (zəif) lokus edir. O, p16 kodlaşdıran *INK4a* (*CDKN2A*) gen ilə yanaşı, dərhal yuxarıya istiqamətdə yerləşən başqa bir tsiklin D-CDK4/6 ingibitoru p15-i kodlaşdıran *INK4b* (*CDKN2B*) lokusuna da malikdir (Şəkil 24-26). Bundan əlavə, lokus p53 şiş supressorunun əsas aktivatorunu kodlaşdırır. Bu zülal, p14ARF (siçanda p19ARF) birinci *INK4a* eqzonundan yuxarıya istiqamətdə yerləşən eqzonla kodlaşdırılır və özünün 2-ci və 3-cü eqzonlarını *INK4a* ilə bölüşür. Sonra görəcəyimiz kimi, bu zülal p53-ün stabilliyini idarə edir. Beləliklə, bu lokusda mutasiyalar hüceyrədə iki əsas şiş-supressor yoluna, RB və p53 yollarına eyni zamanda təsir edə bilər.

p53-ün İtirilməsi DNT-nin Zədələnməsinin Yoxlama-Məntəqəsini Ləğv Edir

p53 zülalı tümörogenezdə mərkəzi rol oynayır. Belə guman olunur ki, insan şişlərinin əksəriyyətində, bəlkə də hamısında ya p53-ün özündə ya da p53-ün fəallığını tənzimləyən zülallarda mutasiya baş verir. Funksional p53-ə malik olan hüceyrələr DNT-zədələyən radiasiyaya məruz qoyulduqda G1-də arrest olduğu halda p53-ə malik olmayanlar arrest olunmurlar. Başqa hüceyrə tsikli zülallarından fərqli olaraq p53 normal hüceyrələrdə çox aşağı səviyyədə mövcud olur, çünki o həddən artıq qeyri stabildir və sürətlə parçalanır. p53 çatışmazlığı olan siçanlar, çox saylı şiş tiplərini inkişaf etdirmə meylliliyi istisna olmaqla, olduqca canlı və sağlam olurlar.



ŞƏKİL 24-27 DNT zədələnməsinə cavab kimi G1-də arrest.

Müxtəlif stresslərdən (məsələn UV şüalanmadan, istilikdən) meydana gələn DNT zədələnməsinə cavab kimi ATM-in kinaza fəallığı fəallaşır. Fəallaşmış ATM sonra G1-də arrestə səbəb olan üç yolu işə salır. 1. Chk2 fosforlaşır və öz növbəsində, Cdc25A-nı fosforlaşdırır, bununla onu parçalanmaq üçün nişanlayır və onun CDK2-nin fəallaşdırılmasında rolunu blok edir. 2. İkinci yolda, p53-ün fosforlaşması onu stabilləşdirir, G1-də arrestə səbəb olan zülalları kodlaşdıran genlərin p53-lə-fəallaşan ekspressiyasına imkan verir, apoptozu təşviq edir və ya DNT reparasiyasında iştirak edir. 3. Üçüncü yol p53 miqdarını idarə edən başqa bir yoldur. MDM2 zülalı özünün fəal formasında p53-lə kompleks əmələ gətirə bilir, transkripsiya

Normal şüalanmada, p53 zülalının miqdarı yalnız UV və ya γ -şüalanmaya məruz qalmaya, istilik və ya hipoksiya kimi stress vəziyyətinə post-transkripsiya cavabı kimi yüksəlir. γ -şüalanma şüalanma DNT-də zədələnmələr əmələ gətirir. ATM və ya ATR serinkinazalar bu zədələnmə saytlarına səfərbər olunur və fəallaşır. Sonra, onlar p53-ü onun N-sonluğundakı serin qalığında fosforlaşdırırlar. Fosforlaşma zülalın ubikvitinlə vasitələnən parçalanmadan yayınmasına kömək edir, onun qatılığının nəzarət çarpacaq dərəcədə artmasına səbəb olur (Şəkil 24-27). Stabilləşmiş p53 məməlilərdə tsiklin E-CDK2-yə birləşib onu ingibirləşdirən p21-i kodlaşdıran genin transkripsiyasını fəallaşdırır. Nəticədə, zədələnmiş DNT-si olan hüceyrələr G1-də arrest olunur, Fəsil 5-də müzakirə olunan mexanizmlə DNT reparasiyası üçün zamana imkan verilir, və ya birdəfəlik arrest olunur və qocalmış hesab edilir. Amma, p53-ün fəallığı hüceyrə tsikli arrestini induksiya etməklə məhdudlaşmır. Bundan əlavə, o çoxməqsədli şiş suppressoru pro-apoptoz zülallarının (biz bunu tezliklə görəyik) və DNT reparasiya fermentlərinin istehsalını stimullaşdırır (bax Şəkil 24-27). Faktiki olaraq, şiş əmələgəlmənin qarşısını p53-ün almasında qocalma və apoptoz çox əhəmiyyətli vasitə ola bilər.

Normal halda p53-ün fəallığı MDM2 adlanan zülallar vasitəsilə aşağı səviyyədə saxlanılır. MDM2 p53-ə birləşəndə, o p53-ün transkripsiya-fəallaşdırmaq qabiliyyətini ingibirləşdirir, eyni zamanda, onun E3 ubikvitin liqaza fəallığı olduğundan p53-ün ubikvitinləşməsinə kataliz edir və beləliklə onu proteosomal parçalanmaya hədəf edir. ATM və ya ATR vasitəsilə p53-ün fosforlaşması birləşmiş MDM2-ni p53-dən çıxarır və beləliklə onu stabilləşdirir. MDM2 genin özünün transkripsiyası p53-lə fəallaşdığından, MDM2 p53 ilə birlikdə, yəqin ki, p53 funksiyasının normadan artıq olmasına mane olmaqla avtotənzimlənmə geriyə əlaqə ilgəyində fəaliyyət göstərir. MDM2 genini çox sarkomalarda və normal p53 geninə malik olan başqa insan şişlərində amplifikasiya olunur. Hətta, baxmayaraq ki, bu şiş hüceyrələri funksional p53-ü istehsal edirlər, MDM2 səviyyəsinin yüksəlməsi şüalanmaya cavab olaraq p53 ilə induksiya olunan G1 arresti ləğv etmək üçün p53-ün qatılığını kifayət qədər azaldır. MDM2-nin əsas tənzimləyicisi, həmçinin INK4 zülalları ekspressiya edən multi-şiş-supressor lokusu tərəfindən ekspressiya olunan p14ARF zülalıdır. p14ARF zülalı MDM2-yə birləşərək, onu nüvədə p53-dən kənar saxlayır. Toxumada p14ARF-in normal səviyyəsi o qədər aşağı olur ki, zülal çətinliklə aşkar edilir, əks halda o p53-ün yığılıb toplanmasına və beləliklə hüceyrə tsiklinin arrestinə və ya apoptoza səbəb olardı. Amma, onkogen siqnala cavab olaraq – bu proliferasiya siqnallarının mövcud olan yüksək səviyyəsindədir – p14ARF-in transkripsiyası E2F transkripsiya

faktorunu ingibirləşdirir, onun ubikvitinləşməsinə və sonra da proteosomal parçalanmasına səbəb olur. MDM2-ni fəalsızlaşdırmaq üçün ATM onu fosforlaşdırır, p53-ün stabilliyinin artmasına səbəb olur. Bundan əlavə, MDM2-nin səviyyəsi MDM2-yə birləşərək onu nüvədə saxlayan və p53-ü ona əlçatmaz edən p14ARF (siçanda p19ARF) ilə nizamlanır. p14ARF geni, boy-faktoru siqnal yollarında onkogen mutasiyaları daşıyan hüceyrələrdə müşahidə edilən, yüksək səviyyədə olan mitogen siqnalla induksiya olunur. İnsanın MDM2 geni tez-tez hallarda sarkomalarda amplifikasiya olunur və böyük ehtimalla, p53-in həddən artıq fəalsızlaşmasına səbəb olur. Eynilə, p14ARF-in də bəzi xərçənglərdə mutasiya edilmiş vəziyyətdə olduğu tapılmışdır.

faktoru ilə induksiya olunur. Beləliklə, p14ARF tümorogenezin çox vacib ingibitorudur, çünki o siqnal yollarındakı hiperfəallaşdırıcı mutasiya nəticəsində proliferasiya-edən siqnalın verilməsi yüksək fizioloji səviyyəni otub keçdikdə p53-ün fəallaşmasını induksiya edir. Pro-proliferasiya siqnal yollarının nəzarət olunmayan proliferasiyanı əmələ gətirməsi üçün, xərçəngdə görüldüyü kimi, p53-ün belə yüksələn tənzimlənməsi baş verməməlidir. Ona görə də təcübli deyildir ki, p53-ün özünün funksiyasını itirilməsinə, p53 funksiyasının p14ARF kimi müsbət tənzimləyicinin azalan-istiqamətdə tənzimlənməsinə, və ya MDM2 kimi p53-ün mənfi tənzimləyicilərinin yüksələn istiqamətdə tənzimlənməsinə görə, əksər insan şişlərində p53 qeyri fəaldır.

p53-ün fəallığı insanın papilovirusunun (HPV) F6 adlanan zülalı da ingibirləşdirir. HPV onun kultura olunan müxtəlif hüceyrələrdə stabil transformasiyanı və mitozu induksiya etmək qabiliyyətinə kömək edən iki zülalı kodlaşdırır. Bu zülallar, E6 və E7 müvafiq olaraq p53 və RB şiş-supressorlarla birləşərək onları ingibirləşdirir. E6 və E7 birlikdə fəaliyyət göstərərək, hüceyrə proliferasiyasının tənzimləyici zülallarında mutasiyalar olmadan transformasiyanı induksiya etmək üçün kifayətdir.

p53-ün fəal forması dörd identik subvahidin tetrameridir. Hüceyrədə iki p53 allelin birində missens nöqtəvi mutasiya, demək olar ki, bütün p53 fəallığına ləğv edir, çünki virtual olaraq bütün oluqomerlər ən azı bir qüsurlu subvahidə malik olacaqlar və belə oliqomerlər transkripsiyanı məhdud fəallaşdırma qabiliyyətinə malik olacaqdır. Beləliklə onkogen p53 mutasiya dominant-mənfi üslubda fəaliyyət göstərir və tək bir mutant allel funksiyanın itirilməsinə səbəb olur. Funksiyanın itirilməsi tam deyildir, ona görə də şiş hüceyrələri daha sürətlə artmaq üçün hələ də bəzən qalan funksional allelləri də itirirlər (heteroziqotluğun itirilməsi). Fəsil 6-da bizim öyrəndiyimiz kimi, dominant-mənfi mutasiyalar fəal formaları multimer olan zülallarda və ya funksiyası başqa zülallarla qarşılıqlı təsirdən asılı olan zülallarda baş verə bilər. Əksinə, başqa şiş suppressor genlərində (məsələn, RB) funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları resessivdirlər, çünki kodlaşdırılan zülallar monomerlər kimi fəaliyyət göstərir və tək bir alleldəki mutasiya kiçik funksional nəticəyə malik olur.

p53 zülalı onkogen transformasiyaya qarşı əsas müdafiə mexanizmidir. Bu, p53 genində funksiyanın-itirilməsi mutasiyalarının insan xərçənginin 50 faizindən çoxunda baş verməsinin müşahidələri ilə yaxşı təsvir edilmişdir. p53 bizi nədən qoruyur? Uyğun olmayan proliferasiyanın qarşısını alan Rb-dən fərqli olaraq, p53 hüceyrəni genetik dəyişikliklərdən qoruyur. p53 G1 yoxlama nöqtəsi düzgün fəaliyyət

göstərməyəndə, zədələnmiş DNT replikasiya edə bilir, DNT yenidənqurulmasında qız hüceyrələrə ötürülə bilən, onları metastatik hüceyrələrə transformasiya edən mutasiyaları əmələ gətirir. Məsələn, p53-ün funksiyasının itirilməsi gen amplifikasiyasının tezliyini yüzlərlə dəfə və ya daha çox artırır. Eyni zamanda, p53-ün funksiyasının itirilməsi apoptoza mane olur, transformasiya olunmuş hüceyrələrin yaranmasına kömək edir. Onun tümörogenezdəki mərkəzi roluna görə, tədqiqatçılar geniş müxtəliflikdə insan şişlərinin müalicəsi üçün p53 funksiyasını bərpa edə bilən birləşmələri son dərəcə ciddi cəhdlə axtarırlar.

DNT-Reparasiya Sisteminin İtirilməsi Xərçəngə Səbəb Olabilir

Bizim əvvəlki müzakirələrimizdə göstəriləndi kimi, DNT-də şiş-supressor zülallarının düzgün fəaliyyət göstərməsinə və onkozülalların istehsalına səbəb olan dəyişilmələr əksər xərçənglərin yaranmasının əsasında durur. Əsas böyümə və hüceyrə tsikli genlərindəki bu onkogen mutasiyalara insersiyalar, delesiyalar (silinmələr), əsasların əvəz olunması, həmçinin xromosomal amplifikasiyalar və translokasiyalar daxildir. DNT-reparasiya sisteminlərdə zədələnmə (bax Fəsil 5), bu genetik dəyişilmələrin sürətini artırır. DNT reparasiya mexanizmlərində qüsurlar olan hüceyrələrdə yığılıb toplanan çox mutasiyalardan bəziləri hüceyrə tsiklinin tənzimləyicilərinə, bəziləri hüceyrə adgeziyasına, bəziləri isə fəsilin əvvəlində müzakirə ediləndi kimi, bazal membrandan miqrasiya etmək qabiliyyətinə təsir edir. Bu cür mutasiyaların toplandığı hüceyrələr xərçəngə çevrilə bilirlər. Bundan başqa, bəzi DNT-reparasiya mexanizmlərinin özləri səhvə meyilli olurlar (bax Şəkil 6-37). Bu səhvlər də onkogenezin başlanmasına səbəb ola bilirlər. Şiş hüceyrələrinin genomun bütövlüyünü (toxunulmazlığını) saxlaya bilməməsi bəd xassəli hüceyrələrin heterogen populyasiyasının yaranmasına səbəb olur. Bu səbəbdən, tək bir genə yönəldilmiş, və ya genlər qrupuna yönəldilmiş kemoterapiya bütün bədxassəli hüceyrələrin silinib atılması üçün təsirsiz olacaqdır. Bu problem şiş hüceyrələrinə qan təchizatının təmin olunmasına müdaxilə edən, aneuploid hüceyrələri hədəf edən və ya çoxsaylı şiş hüceyrə tiplərinə təsir edən müalicə maraqlarını əlavə edir.

Normal bölünən hüceyrələr adətən xərçəngin yaranmasına apara bilən zərərli mutasiyaların toplanmasına mane olmaq üçün bir sıra mexanizmlərdən istifadə edirlər. Mutasiyalara qarşı müdafiənin bir forması sütun hüceyrələr üçün onların nisbətən aşağı sürətlə bölünməsidir, bu DNT replikasiyası və mitoz zamanı DNT zədələnmələrinin mümkünlüyünü azaldır. Bundan başqa, sütun hüceyrələrin törətdiyi nəsil sonsuz dərəcədə bölünmək qabiliyyətinə malik olmur. Bir neçə bölünmə dövrəsindən sonra, onlar hüceyrə tsiklindən çıxırlar, təhlükəli şişlərlə bağlı olan hüceyrə bölünməsinin mutasiya ilə induksiya olunan səhv tənzimlənməsinin mümkünlüyünü azadırlar. Bununla belə, çoxsaylı mutasiyalar, qan təminatının səfərbər olunması, qonşu toxumalara soxulmaq və metastaz etmək şişin böyüməsi üçün tələb olunursa, replikasiyanın aşağı sürəti mutasiyanın aşağı sürəti (10^{-9}) ilə kombinasiyada xərçəngdən daha da qorunmanı təmin edir. Amma, hüceyrələrə güclü bir mutagen çatarsa və ya DNT reparasiyasına güzaştə gedilsə və mutasiyanın yaranma sürəti artarsa bu təminatlar aradan

qaldırıla bilər. Sütun-hüceyrəyə-bənzər artma xassəsi olan hüceyrələr ətraf mühitin zəhərləri ilə mutasiya olunarsa və zədələnməni səmərəli şəkildə reparasiya edə bilməzsə o zaman xərçəng əmələ gəlir.

Hətta ətraf mühitin istənilən karsinogenlərinə və ya mutagenlərinə məruz qoyulmadan normal bioloji proses böyük miqdarda DNT zədələnmələrini əmələ gətirir. Bu zədələnmələr hamısı DNT-nin dəyişilməsinə səbəb olan depurinləşmə reaksiyaları, alkilləşmə reaksiyaları və oksigen radikalları kimi reaktiv nümunələrin yaranması səbəbindən baş verir. Belə ehtimal olunur ki, hər bir hüceyrədə, hər gün reaktiv oksigen nümunələrindən və depurinləşmədən DNT-də 20000-dən artıq dəyişilmələr baş verir. Beləliklə, DNTnin reparasiyası genetik dəyişilmələrə qarşı və xərçəngə qarşı çox kritik müdafiə sistemidir.

Genomun qorunub saxlanılması genlərinin normal rolunu DNT zədələnməsinə mane olmaq və ya onu reparasiya etməkdir. Fəsil 5-də təsvir olunmuş, yüksək-dəqiqlik DNT reparasiya sistemlərinin itirilməsi xərçəngin əmələ gəlməsi riskinin artması ilə korrelyasiya edir. Məsələn, uyğunsuzluğun reparasiyası (mismatch-repair) və ya kəsilməklə reparasiya zülallarını kodlaşdıran genlərdə mutasiyanı irsən almış insanlar müəyyən xərçənglərə tutulmanın həddən artıq yüksək ehtimalına malikdirlər (Cədvəl 24-2). Düzgün DNT reparasiyası olmadan kseroderma-piqmentozumlu (XP) insanlar və ya irsi qeyri polipozis kolorektal xərçəng (HNPCC – həmçinin Link sindromu kimi məlumdur) olan insanlar istənilən başqa genlərdə, o cümlədən hüceyrə böyüməsini və proliferasiyasını nizamlayan genlərdə mutasiyanı toplamağa yüksək dərəcədə meyilli olurlar. XP ilə təsir olunmuş insanlar normal halla müqayisədə min dəfə yüksək sürətlə dəri xərçənginin əmələ gəlməsinə səbəb olurlar. Məlum olan səkkiz XP genlərindən yeddisi kəsilməklə-reparasiya (excision-repair) maşınının komponentlərini kodlaşdırır və bunların reparasiya mexanizmi işləməyəndə hüceyrə tsiklini nizamlayan genlər və ya hüceyrə artmasına və ölümünə nəzarət edən genlər mutasiya olunurlar. HNPCC genləri uyğunsuzluğun reparasiyası sisteminin komponentlərini kodlaşdırır və bu genlərdə olan mutasiyalar sporadik yoğun bağırsağ xərçənginin 20 faizində tapılmışdır. Xərçəngin xoş xassəli polipdən tam yetkin şişlərə qədər inkişafı adi haldan daha sürətlə irəliləyir, yəqin ona görə ki, ilkin xərçəng hüceyrələri uyğunsuzluğun mutagenizindən reparasiya olunmadan keçirlər.

Uyğunsuzluğun reparasiyasının olmaması üzündən, yoğun bağırsağ xərçəngində tez-tez hallarda mutasiya olunan bir gen TGF- β üçün II tip reseptoru kodlaşdırır (bax Şəkil 24-24). Bu reseptoru kodlaşdıran genin bir sırada 10 adenini vardır. Replikasiya zamanı DNT polimerazanın “sürüşməsinə” görə çox zaman bu ardıcılıq 9 və ya 11 adenindən ibarət olan mutasiyaya uğrayır. Əgər mutasiya uyğunsuzluğun reparasiyası sistemi ilə bərpa olunmazsa nəticədə zülal kodlaşdıran ardıcılıqda yaranan çərçivə sürüşməsi normal reseptor zülalının sintezini ləğv edir. Əvvəllər qeyd ediləndi kimi, bu cürə fəalsizləşdirici mutasiyalar hüceyrələri böyümənin TGF- β ilə ingibirləşməsinə qarşı davamlıdır, bununla da, bu şişlərin tənzimlənməyən artma xarakterinə kömək edir. Bu tapıntı, başqa bir şəkildə hüceyrələrin nəzarətsiz yayılmasına səbəb ola bilən genetik zədələnmənin bərpasında uyğunsuzluğun reparasiyasının vacibliyini göstərir.

Cədvəl 24-2 İnsanın bəzi irsi xəstəlikləri və xərçənglər DNT reparasiyasının qüsurları ilə əlaqədirlər

Xəstəlik	DNT reparasiyası Təsir olunan sistem	Həssaslıq	Xərçəngə tutulma	Simptomlar
NÖQTƏVİ MUTASIYALARIN, İNSERSİYALARIN, SİLİNMƏLƏRİN QARŞISININ ALINMASI				
İrsi qeyri polipoz kolorektal xərçəng	DNT uyğunsuzluğun reparasiya	UV şüalanma, kimyəvi mutagenlər	Yoğun bağırsaq, yumurtalıq	Şişin erkən inkişaf dövrü
Kseroderma pigmentozum	Nukleotid kəsilməsi reparasiyası	UV şüalanma, nöqtəvi mutasiya	Dəri karsenoması, melanomalar	Dəri və göz fotohəssaslıq keratozis
İKİZƏNCİRLİ QIRIĞIN REPARASIYASI				
Bluum sindromu	İkizəncirli qırıqın homoloji rekombinasiya ilə reparasiyası	Orta alkülləmiş agentlər	Karsinomalar, lekomalalar, limfomalalar	Fotohəssaslıq, üz telangiektazaları, xromosom dəyişiklikləri
Fankoni anemiyası	İki-zəncirli qırıqların homoloji rekombinasiya ilə bərpası	DNT çarpaz əlaqələnmə agentləri, reaktiv oksidləşdirici maddələr	Kəskin myeloid leykemiya, yastı hüceyrələrin karsinoması	İnkişaf anormallıqları, o cümlədən dölsüzlük və skeletin deformasiyası; anemiya
İrsi süd vəzi xərçəngi, BRCA1 və BRCA2 çatışmazlığı	İki-zəncirli qırıqların homoloji rekombinasiya ilə bərpası		Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi	Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi

Mənbə: A. Kornberg and T. Baker, 1992, *DNA Replication*, 2d ed., W. H. Freeman and Company, p. 788-dən modifikasiya olunmuşdur; J. Hoeijmakers, 2001, *Nature* **411**:366; and L. Thompson and D. Schild, 2002, *Mutat. Res.* **509**:49.

Bütün DNT-reparasiya mexanizmləri DNT zədələnmələrini reparasiya etmək üçün standart Pol α , Pol δ , və Pol ϵ replikativ DNT polimerazalardan fərqli olan DNT polimerazalar ailəsini istifadə edirlər. Bu polimerazaların doqquzu, o cümlədən *DNT polimeraza β* adlanan biri DNT əlavələrinə və modifikasiyalarına, hətta əsasları itirilmiş templeytləri istifadə etmək qabiliyyətinə malikdir. Bu fermentlərə *zədələnməni-yan keçən* DNT polimerazalar deyilir. Bu polimerazalar ailəsinin hər bir nümayəndəsi DNT zədələnmələrinin xüsusi tipini köçürə bilmək kimi fərqli qabiliyyətlərə malikdir. Ehtimal ki, belə polimerazalar daha dözümlüdür, çünki çox zaman istənilən reparasiya onun olmamasından daha yaxşıdır. Onlar polimerazaların son vasitələridirlər, daha əhəmiyyətli və dəqiq polimerazaların yerinə yetirə bilmədiyi hallarda istifadə edilənlərdir və mutagen replikasiya prosesini həyata keçirirlər. DNT Pol β doğruluğu oxumur və müəyyən şişlərdə həddən artıq dərəcədə ekspressiya olunurlar, ola bilsin ki, artan mutasiya yükü qarşısında hüceyrələrin ümumiyyətlə bölünməsi üçün yüksək səviyyədə lazımdır. Guman olunur ki, səhvlərə meyilli olan reparasiya sistemləri kimyəvi maddələrin və radiasiyanın karsinogen təsirlərinin çoxuna, bəlkə də hamısına vasitəçilik edir, çünki irsi mutasiya yalnız reparasiyadan sonra mövcud olur. Getdikcə artan dəlillər göstərir ki, DNT Pol β -da mutasiyalar şişlərlə bağlıdır. 189 şiş yoxlanılarkən, onlardan 58-ində DNT Pol β genində mutasiya aşkar olunmuşdur və bu mutasiyaların heç biri nə eyni xəstənin normal toxumasında nə də müxtəlif insanlarda tapılmış mutasiyaların normal spektrində aşkar edilməmişdir. Siçan hüceyrələrində iki mutant polimeraza formalarının ekspressiya edilməsi onların transformasiya olunmuş görünüşdə və ocaq əmələ gətirmə qabiliyyətində böyüməsinə səbəb oldu.

İki-zəncirli qırıqlar xüsusilə kəskin zədələnmələrdir, çünki DNT-nin iki zəncirinin yenidən səhv birləşməsi hibrid genin istehsalını və ya böyümə tənzimləyicisini fərqli promotor və enhanserlərin nəzarəti altına gətirən kobud xromosomal yenidənqurulmasına və transloqkasiyasına səbəb ola bilər. Tez-

tez hallarda belə zədələnmənin reparasiyası homoloji xromosomun bələdçi kimi istifadə edilməsindən asılıdır (bax Şəkil 6-39). İmmun sisteminin B və T hüceyrələri, immunoglobulin və ya T-hüceyrə reseptorları genlərinin yenidən düzlənməsi zamanı yaranan ikiqat zəncirli qırıqlar nəticəsində əmələ gələn DNT yenidən-qurulmalarına xüsusilə həssasdırlar, bu da leykemiya və limfomalarda bu lokusun tez-tez iştirak etməsini izah edir. İnsanın süd vəzi və yumurtalıq xərçənginə cəlb olan BRCA1 və BRCA2 DNT qırıqlarının reparasiyası sistemlərinin vacib komponentlərini kodlaşdırır. BRCA genin istənilən birinin funksiyasından məhrum olan hüceyrələr reparasiya üçün templeytlərin homoloji xromosomlar tərəfindən təmin edildiyi DNT-ni reparasiya etmək qabiliyyətinə malik deyillər.

24.5 BÖLMƏNİN ƏSAS KONSEPSİYALARI

Xərçəngdə Hüceyrə Tsikli və Genomun Qorunub Saxlanması Yollarının Tənzimlənməsi

- Tsiklin D1-i kodlaşdıran proto-onkogenin həddən yüksək ekspressiya olunması və ya p16 və RB-ni kodlaşdıran şiş-supressor genlərinin itirilməsi uyğunsuzluğun məhdudlaşma (restriksiya) nöqtəsindən, tənzimlənməyən şəkildə keçməyə səbəb olur. Belə anormallıqlar insan şişlərinin 80 faizində çoxunda görünür.
- RB və p53 yollarına nəzarət edən, *INK4-ARF* lokusu insanlarda ən çox mutasiya olunan şiş-supressor lokusunu təmsil edir.
- p53 zülalı çoxfunksiyalı şiş supressoru olub DNT zədələnməsinə cavab olaraq G1-də arresti və DNT reparasiyasını və ya apoptozu təşviq edir.

- *p53* genində funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları insan xərçənglərinin 50 faizindən çoxunda baş verir. Normal halda *p53*-ün fəallığını ingibirləşdirən zülal, MDM2-nin həddən artıq istehsalı və ya MDM2-nin fəallığını artıran *p14ARF*-in fəalsızlaşması normal *p53* zülalını ekspressiya edən bir sıra xərçənglərdə baş verir. Beləliklə, bu və ya digər şəkildə, şişin böyüməsinə imkan vermək üçün *p53* stresə-cavab yolu fəalsızlaşır.
- İnsanın papilomavirusu (HPV) iki onkogen zülalı, *p53*-ü ingibirləşdirən E6-nı və RB-ni ingibirləşdirən E7-ni kodlaşdırır.
- Genomun saxlanılması genləri DNT reparasiyasını aparan fermentləri kodlaşdırır və ya başqa bir yolla DNT zədələnməsi baş verən zaman xromosomun tamlığını qoruyur. Genomun qorunması genlərində mutasiyalar genomun nəzarət olunmayan hüceyrə proliferasiyasına səbəb olan və metastatik xərçəngin inkişafı ilə nəticələnən əlavə mutasiyaların toplanmasına aparan mutagenizin yüksək sürətinə səbəb olur.
- Bir sıra insan xəstəliklərində tapılmış DNT reparasiya proseslərinin irsən ötürülmüş qüsurları müəyyən xərçənglərə qarşı həssaslığın artması ilə bağlıdır.

Açar sözlər

anqioqenez
bədxassəlilik
Burkits limfoması
epitelidən-mezenximaya keçid
Filadelfia xromosomu
heteroziotluğun itirilməsi
xərçəng sütun hüceyrəsi
xoşxassəli (şiş)
karsinogen
karsinoma
leykemiya
metastaz
multi-hit model
mutagen

onkogen
onkogen asılılığı
p53 zülalı
proto-onkogen
Rac zülalı
RB (retinoblastoma) zülalı
sarkoma
şiş mikromühiti
şiş-supressor geni
transformasiya
tümorogenez
Varburq effekti
yavaş təsir edən retrovirus

Konsepsiyalara Baxış

1. Mənşəyindəki fərqlərə baxmayaraq, xərçəng hüceyrələri onları normal hüceyrələrdən fərqləndirən bir sıra ümumi xüsusiyyətlərə malikdir. Bunları təsvir edin.
2. Hansı xüsusiyyətlər xoş xassəlini bəd xassəli şişdən fərqləndirir?
3. Şiş hüceyrələrinin hansı əhəmiyyətli xüsusiyyətlərini Otto Varburq aşkar etmişdir?
4. Oksigenə və qidalanmaya olan tələbatına görə hüceyrələr toxumada qan damarlarından 100 µm məsafə daxilində yerləşməlidirlər. Bu məlumata əsaslanaraq, nəyə görə əksər bədxassəli şişlərin çox hallarda *βFGF*, *TGF-α* və *VEGF* genlərində funksiyanın-itirilməsi mutasiyasına malik olduqlarını izah edin.
5. Xərçənglə ölüm hallarının doxsan faizi ilkin şişlərdənsə metastatik şişlər hesabına olmuşdur. *Metastazi* təsvir edin. Aşağıdakı yeni xərçəng müalicəsinin məqsədyönlüyünü izah edin: (a) matrisa metaloproteazların və plazminogen aktivator reseptorlarının ingibitoru olan batimastat, (b) hüceyrələrin bazal membrana və müxtəlif toxumaların hüceyrəxarici matrisasına yapışmasını həyata keçirən inteqral membran zülalları inteqrinlərin fəaliyyətinə maneə törədən anticicmlər.
6. Metastaz zamanı EMT-nin əhəmiyyəti nədən ibarətdir?
7. Hansı fərziyyə insanın xərçəngə tutulma hadisələrinin yaşla əlaqədar olaraq eksponensial artması müşahidələrini izah edir?
8. Proto-onkogenlərlə şiş-supressor genləri fərqləndir. Xərçəngi təşviq etmək üçün proto-onkogenlər ya şiş-supressor genləri funksiyanın-qazanılması mutasiyalarına yoxsa funksiyanın-itirilməsi mutasiyalarına uyğrayırlar? Aşağıdakı genləri proto-onkogenlər və ya şiş-supressor genləri kimi təsniflədin: *p53*, *ras*, *BCL-2*, *JUN*, *MDM2* və *p16*.
9. Genomun saxlanılması faktorlarındakı mutasiyaların tümorogenezi necə təşviq etdiyini təsvir edin. Nəyə görə uyğunsuzluğun reparasiyası genlərinin fəalsızlaşması yoğun bağırsağ xərçənginin yaranmasına səbəb olur?
10. İrsi retinoblastoma əsasən uşaqların hər iki gözünə təsir edir, halbuki spontan retinoblastoma adətən yetkinlik dövründə yalnız bir gözədə baş verir. Reinoblastomanın bu iki formasının epidomoloji fərqlərinin genetik əsaslarını izah edin. Görünən paradoksu izah edin: şiş-supressor genlərdə funksiyanın-itirilməsi mutasiyaları resessiv təsir edir, amma irsi retinoblastoma autosomal dominant olaraq irsən alınır.
11. Heteroziotluğun itirilməsi (loss of heterozygosity – LOH) konsepsiyasını izah edin. Nəyə görə xərçəng hüceyrələrinin çoxu bir və ya daha artıq gendə LOH nümayiş etdirirlər? Şpindel

toplanmasının yoxlama nöqtəsinin uğursuzluğu heterozigotluğun itirilməsinə necə səbəb olur?

12. Çox bədxassəli şişlər bir və ya daha artıq boy-faktoru reseptorlarının fəallaşması ilə xarakterizə olunurlar. EGF reseptoru kimi transmembran boy-faktoru reseptorları ilə əlaqəli katalitik fəaliyyət nədir? HER2 reseptorunun transmembran rayonu daxilində valini glutaminə çevirən nöqtəvi mutasiyasının müvafiq boy-faktoru reseptorunun fəallaşmasına necə səbəb olduğunu izah edin.

13. RAS və NF-1-i kodlaşdıran genlərdə xərçəngi-təşviq edən mutasiyalara məruz qalan ümumi siqnal ötürülməsi hadisəsini təsvir edin. Nəyə görə xərçəng xəstəliklərində RAS-dakı mutasiyalar NF-1-dəki mutasiyalardan daha çox rast gəlinir?

14. Burkitt limfomasında MYC onkogenini istehsal edən mutasiya hadisəsini təsvir edin. Nəyə görə onkogen MYC-nin yaradılmasının xüsusi bir mexanizmi başqa tip xərçənglə deyil, məhz limfoma ilə nəticələnir? Onkogen MYC-nin yaradılmasının başqa mexanizmini təsvir edin.

15. Mədəaltı vəzin xərçəngində çox hallarda Smad4 zülalını kodlaşdıran gendə funksiyasının-itirilməsi mutasiyaları baş verir. Bu mutasiyalar böyümənin ingibirləşməsinin itməsini və mədəaltı şişlərdə görünən yüksək dərəcədə metastatik fenotipin yaranmasını necə təşviq edir?

16. Nəyə görə INK4 lokusundakı mutasiyalar çox təhlükəlidir?

17. Epigenetik dəyişikliklərin tümörogeneza necə töhfə verdiyini izah edin.

18. İnsanın papiloma virusunun (HPV) bir sıra ştammları uşaqlıq boynu xərçənginin yaranmasına səbəb olur. Bu patogen ştammlar sahib hüceyrənin transformasiyasına səbəb olan üç zülal istehsal edirlər. Bu üç virus zülalları hansılardır? Bunların hər birinin öz sahib hədəf zülalı ilə necə qarşılıqlı əlaqə yaratmasını izah edin.

19. p53-ün funksiyasının itməsi insan şişlərinin əksəriyyətində baş verir. p53-ün funksiyasının itməsinin bədxassəli fenotipin əmələ gəlməsinə təsirinin iki yolunu adlandırın. p53-ün funksiyasının itirilməsinə benzo(a)pirenin necə səbəb olduğunu izah edin.

İstinadlar

Giriş

Weinberg, R. A. 2006. *The Biology of Cancer*. Garland Science.

Şiş Hüceyrələri Normal Hüceyrələrdən Necə Fərqlənirlər

De Bock, K., M. Mazzone, and P. Carmeliet. 2011. Antiangiogenic therapy, hypoxia, and metastasis: risky liaisons, or not? *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **8**(7):393–404.

Desgrosellier, J. S., and D. A. Cheresh. 2010. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Cancer* **10**(1):9–22.

Giancotti, F. G. 2013. Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation. *Cell* **155**(4):750–764.

Grivennikov, S. I., F. R. Greten, and M. Karin. 2010. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* **140**(6):883–899.

Hanahan, D., and R. A. Weinberg. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**:646–674.

Joyce, J. A., and J. W. Pollard. 2009. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat. Rev. Cancer* **9**(4):239–252.

Korbel, J. O., and P. J. Campbell. 2013. Criteria for inference of chromothripsis in cancer genomes. *Cell* **152**(6):1226–1236.

Nguyen, D. X., P. D. Bos, and J. Massague. 2009. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat. Rev. Cancer* **9**(4):274–284.

Pfau, S. J., and A. Amon. 2012. Chromosomal instability and aneuploidy in cancer: from yeast to man. *EMBO Rep.* **13**(6):515–527.

Sethi, N., and Y. Kang. 2011. Unravelling the complexity of metastasis—molecular understanding and targeted therapies. *Nat. Rev. Cancer* **11**(10):735–748.

Thiery, J. P., et al. 2009. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* **139**(5):871–890.

Vander Heiden, M. G., L. C. Cantley, and C. B. Thompson. 2009. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* **324**(5930):1029–1033.

Xərçəngin Mənşəi və İnkişafı

Heyer, J., et al. 2010. Non-germline genetically engineered mouse models for translational cancer research. *Nat. Rev. Cancer* **10**:470–480.

Khaled, W. T., and P. Liu. 2014. Cancer mouse models: past, present and future. *Semin. Cell Dev. Biol.* **27**:54–60.

Kinzler, K. W., and B. Vogelstein. 1996. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* **87**:159–170.

Loechler, E. L. 2002. Environmental carcinogens and mutagens. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing.

Wogan, G. N., et al. 2004. Environmental and chemical carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.* **14**:473–486.

Xərçəngin Genetik Əsasları

Dawson, M. A., and T. Kouzarides. 2012. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell* **150**(1):12–27.

Garraway, L. A., and E. S. Lander. 2013. Lessons from the cancer genome. *Cell* **153**(1):17–37.

Grisendi, S., and P. P. Pandolfi. 2005. Two decades of cancer genetics: from specificity to pleiotropic networks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **70**:83–91.

Lujambio, A., and S. W. Lowe. 2012. The microcosmos of cancer. *Nature* **482**(7385):347–355.

Morrow, P. K., and G. N. Hortobagyi. 2009. Management of breast cancer in the genome era. *Annu. Rev. Med.* **60**:153–165.

Sellers, W. R. 2011. A blueprint for advancing genetics-based cancer therapy. *Cell* **147**(1):26–31.

Vogelstein, B., et al. 2013. Cancer genome landscapes. *Science* **339**:1546–1558. doi: 10.1126/science.1235122.

Xərçəngdə Hüceyrələrin Böyüməsi və Ölüm Yollarının Səhv Tənzimlənməsi

Cotter, T. G. 2009. Apoptosis and cancer: the genesis of a research field. *Nat. Rev. Cancer* **9**(7):501–507.

Dang, C. V. 2012. MYC on the path to cancer. *Cell* **149**(1):22–35.

Holderfield, M., et al. 2014. Targeting RAF kinases for cancer therapy: BRAF-mutated melanoma and beyond. *Nat. Rev. Cancer* **14**(7):455–467.

Jiang, J., and C. Hui. 2008. Hedgehog signaling in development and cancer. *Dev. Cell* **15**(6):801–812.

Pickup, M., S. Novitskiy, and H. L. Moses. 2013. The roles of TGFβ in the tumour microenvironment. *Nat. Rev. Cancer* **13**(11):788–799.

Pylyayeva-Gupta, Y., E. Grabocka, and D. Bar-Sagi. 2011. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat. Rev. Cancer* **11**(11):761–774.

Shaulian, E., and M. Karin. 2002. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nature Cell Biol.* **4**:E131–E136.

Shaw, A. T., et al. 2013. Tyrosine kinase gene rearrangements in epithelial malignancies. *Nat. Rev. Cancer* **13**(11):772–787.

Xərçəngdə Hüceyrə Tsikli və Genomun Saxlanılması Yollarının Tənzimlənməsi

- Biegging, K. T., S. S. Mello, and L. D. Attardi. 2014. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. *Nat. Rev. Cancer* **14**(5):359–370.
- Bunting, S. F., and A. Nussenzweig. 2013. End-joining, translocations and cancer. *Nat. Rev. Cancer* **13**(7):443–454.
- Burkhardt, D. L., and J. Sage. 2008. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat. Rev. Cancer* **8**(9):671–682.
- Curtin, N. J. 2012. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nat. Rev. Cancer* **12**(12):801–817.
- Daley, J. M., and P. Sung. 2014. 53BP1, BRCA1, and the choice between recombination and end joining at DNA double-strand breaks. *Mol. Cell Biol.* **34**(8):1380–1388.
- Jiricny, J. 2006. The multifaceted mismatch-repair system. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **7**:335–346.
- Malumbres, M., and M. Barbacid. 2001. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. *Nat. Rev. Cancer* **1**:222–231.
- Manning, A. L., and N. J. Dyson. 2012. RB: mitotic implications of a tumour suppressor. *Nat. Rev. Cancer* **12**(3):220–226.
- Moody, C. A., and L. A. Laimins. 2010. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat. Rev. Cancer* **10**(8):550–560.

GLOSSARY – LÜĞƏT

Təyin etmə daxilində qalın (yağlı) hərflərlə verilmiş terminlər də bu lüğətdə müəyyən edilmişdir. Təyin edilmiş terminləri göstərən rəqəmlər və cədvəllər mötərizələrdə qeyd olunur.

AAA ATPaza ailəsi ATP hidrolizini adətən zülal substratlarının bükülməsinin açılması və ya çoxsubvahidli zülal komplekslərinin dağılması ilə bağlı olan böyük molekulyar hərəkətlərlə birləşdirən zülallar qrupu.

ABC ailəsi Geniş müxtəliflikdə molekulları (məsələn, fosfolipidləri, xolesterini, şəkərləri, ionları, peptidləri) hüceyrə membranından keçərək daşımaq üçün ATP-ilə-təmin olunan **membran nəqliyyat zülalları** kimi fəaliyyət göstərən inteqral membran zülallarının böyük bir qrupu. (Şəkil 11-15)

asetil CoA koenzim A (CoA) ilə əlaqəli olan, asetil qrupundan təşkil olunmuş kiçik, suda-həllolun metabolit. Sitr turşusu (limon turşusu) tsiklində asetil qrupu limon turşusuna ötürülür və yağ turşularının, steroidlərin və başqa molekulların sintezində karbon mənbəyi kimi istifadə edilir. (Şəkil 12-15)

açıq oxunan çərçivə (ORF) Triplet oxunan çərçivələrdən birində stop kodonlar ilə qırılmayan DNT ardıcılığı rayonu. Start kodundan (adətən AUG) başlayan və 100 və ya daha çox kodon qədər uzanan ORF *uzun açıq oxunan çərçivə* adlanır və yüksək dərəcədə zülalın kodlaşdırma ehtimalı vardır.

adaptor zülallar Adaptor zülallar bir zülalın fiziki olaraq başqa bir zülalla hər ikisinə birləşməklə əlaqələndirir. Adaptor zülallar birbaşa və ya dolaylı yolla (başqa bir adaptor zülal vasitəsilə) hüceyrə adgeziya molekullarını və ya adgeziya reseptorlarını hüceyrə sitoskeletinin elementlərinə və ya hüceyrədaxili siqnal molekullarına birləşdirir.

adenilil tsiklaza müəyyən liqandların öz hüceyrə-səth reseptorlarına birləşməsi ilə fəallaşan bir sıra fermentlərdən biridir və ATP-dən **tsiklik AMP**-ni (cAMP) əmələ gəlməsini kataliz edir, həmçinin *adenilat tsiklaza* adlanır. (Şəkil 15-25 və 15-26)

adenozin trifosfat (ATP) Bax ATP.

adgeziya reseptoru Heyvan hüceyrələrinin plazma membranında **hüceyrəxarici matrisanın** komponentlərinə birləşən, beləliklə hüceyrə-matrisa adgeziyasının həyata keçməsinə vasitələndirən zülal. İnteqrinlər əsas adgeziya reseptorlarıdır. (Şəkil 21-1, [5])

ADP (adenozin difosfat) Qeyri üzvi fosfata birlikdə ATP-ya vasitəsilə ATP hidrolizinin məhsulu.

aerob oksigen qazından (O₂) istifadə edən metabolik prosesi və ya O₂ şəraitində bitən və ya böyüyən hüceyrə və ya orqanizm hesab edilir

aerob oksidləşmə Şəkərlərin və yağ turşularının O₂ və H₂O-ya qədər oksigen tələb edən metabolizmi

afferent neyronlar Periferial toxumalardan mərkəzi sinir sistemində siqnalı ötürən sinirlər

akson Neyronların hüceyrə cismindən uzanan, hüceyrə cismində yaranan və onun şaxələnən uzaq ucuna (akson sonluğu) ötürülən elektrik impulslarını keçirmək qabiliyyətinə malik olan (təsir potensialı) uzun çıxıntı. (Şəkil 22-1)

aksonal nəqliyyat Sinir hüceyrələrinin aksonlarında mikrorucuqlar boyunca orqanoidlərin və qovucuqların motor zülallar vasitəsi ilə nəqliyyatı. *Anterograd* nəqliyyat hüceyrə cismindən akson sonluğuna doğru, *retrograd* nəqliyyat isə akson sonluğundan hüceyrə cisminə doğru baş verir. (Şəkil 18-16 və 18-17)

aksonem Kirpiciklərdə və qamçılarda mövcud olan və onların quruluşunda və hərəkətində məsul olan mikrorucuqlar dəsti və assosiasiyalı zülallar. (Şəkil 18-31)

Akt PI 3,4-difosfatın və 3,4,5-trifosfatın birləşməsi ilə fəallaşan sitozol serin/treonin kinaza, həmçinin *proteinkinaza B* adlanır.

aktin Eukaryotik hüceyrələrdə zəngin quruluş zülalları olub çoxsaylı başqa zülallarla qarşılıqlı əlaqədə olur. Monomer qlobulyar forması (*G-aktin*) aktin filamentləri (*F-aktin*) əmələ gətirmək üçün polimerləşir. Əzələ hüceyrələrində F-aktin əzələ dartılması zamanı **myozin** zülalı ilə qarşılıqlı əlaqədə olur. Həmçinin **mikrofilamentə** bax. (Şəkil 17-5)

Aktivator Transkripsiyayı stimullaşdıran spesifik transkripsiya faktoru.

Akuorin *Aequorea victoria*-dan ayrılmış və kalsium ionlarının birləşməsi ilə fəallaşan biolüminesent zülal.

akvaporinlər Suyun və qliser kimi bir sıra kiçik yüksüz molekulların biomembranlardan keçməsinə imkan yaradan membran nəqliyyat zülalları ailəsi. (Şəkil 11-8)

aqonist Təbii molekulun (məsələn, hormonun) bioloji funksiyasını yansılayan, çox zaman sintetik olan molekul.

Aqrin əzələ hüceyrələrində MuSK kinaza fəallığını artıran, sinir-əzələ qovşaqlarının inkişafına imkan yaradan inkişafda olan motor neyronların sintez etdiyi qlikozülal.

alfa (α) spiral Zülalın ümumi **ikinci quruluşunda** amin turşularının xətti ardıcılığı polipeptid özülündəki karboksil və amid qrupları arasındakı hidrogen rabitələri ilə stabilləşən sağ-əl spiralinə bükülür. (Şəkil 3-4)

alfa karbon atomu (Cα) Amin turşularında, yan zəncirlər və ya R qrup da (qlisin istisna olmaqla) daxil olmaqla dörd müxtəlif kimyəvi qrupa birləşən mərkəzi karbon atomu. (Şəkil 2-4)

allel Genin iki və daha artıq alternativ formasının biri. Diploid hüceyrələr hər bir genin **homoloji xromosomların** müvafiq sayında (lokusunda) yerləşən iki allelinə malikdir.

allosterik Hüceyrədə **allosteriya** ilə tənzimlənən zülal və hüceyrə proseslərinə deyilir.

allosteriya kiçik molekulun spesifik tənzimləyici sayta birləşməsi ilə induksiya olunan, zülalın fəallığında dəyişikliyə səbəb olan, zülalın üçüncü və ya dördüncü quruluşunun dəyişilməsi

alternativ splaysinq Bir pre-mRNT-nin eqzonlarının müxtəlif kombinasiyalarda bir yerə splays olunduğu, tək bir pre-mRNT-dən iki və ya daha artıq fərqli mRNT-lərin əmələ gəldiyi proses. (Şəkil 5-16)

amfifilik Bax **amfipatik**.

amfipatik Həm **hidrifib** həm də **hidrofil** hissələrə malik olan molekulla və ya quruluşa aid edilir.

amfitelek qoşulma Bacı xromatidlərin əks qütblərdən uzanan mikroborucuqlara qoşulduğu yerdə xromosomların mitoz şpindelində düzgün qoşulmasını təsvir edir. (Şəkil 19-22)

amin turşusu Ən azı bir amin qrupuna və karboksil qrupuna malik olan üzvi birləşmə. Zülalların qurulması üçün **monomer** olan amin turşularında amin qrupu və karboksil qrupu mərkəzi karbon atomu, müxtəlif yan zəncirlərin birləşdiyi α karbon ilə bağlanır. (Şəkil 2-4 və 2-14)

aminoasil-tRNT Zülal sintezində istifadə edilən, yüksək enerjili efir rabitəsi ilə **tRNT** molekulunda 3'-hidroksil qrupuna bağlanan amin turşusundan ibarət olan, asmin turşusunun fəallaşmış forması. (Şəkil 5-19)

amiotrof lateral skleroz (ALS) Mərkəzi sinir sistemini əzələlərlə birləşdirən motor neyronlarının progressiv ölümü ilə xarakterizə olunan Lou Çeri qəstəliyi.

amplifikasiya Hüceyrə siqnalı ötürülərkən siqnalın intensivliyinin artırılması.

anaerob Qaz şikilində oksigenin (O_2) iştirakı olmadan fəaliyyət göstərən hüceyrə, orqanizm və ya metabolik proses hesab edilir.

anaerob tənəffüs Elektron nəqliyyat zəncirində elektronların son akseptoru kimi molekulyar oksigenin deyil sulfatlar və ya nitratların istifadə edildiyi tənəffüsdür.

anafaza Mitoz zamanı bacı **xromatidlərin** (və ya meyoza I-də ikiləşmiş homoloqların) ayrılaraq (seqreqasiya edərək) şpindel qütblərinə doğru uzaqlaşdığı mərhələ. (Şəkil 18-37).

anafaza-təşviq edən kompleks və ya tsiklosom (APC/C) Anafazanın başlanğıcından növbəti hüceyrə tsiklinə girişə qədər protosomal parçalanma üçün sekurini, mitotik tsiklinləri və digər zülalları hədəf edən ubikvitin liqaza.

aneoploidiya xromosomların bir və ya daha artıq əlavə nüsxələrinin mövcud olduğu və ya normal nüsxələrin itdiyi, xromosomların normal diploid sayındakı istənilən kənarlanma.

anion Mənfə yüklənmiş ion.

anticism antigenə qarşı cavab kimi normal istehsal olunan, eyni antigendə onun xüsusi bir saytı ilə (epitop ilə) əlaqəyə girən və onun bədənədən təmizlənməsini asanlaşdıran zülal (immunoqlobulin). (Şəkil 3-21).

antigen İmmun cavabının əmələ gəlməsinə səbəb olan material (çox zaman xarici material). Antigen B hüceyrələrdə spesifik olaraq eyni antigenə birləşən anticismnin əmələ gəlməsini meydana, T hüceyrələrdə isə antigen **sitokinlərin** istehsalı ilə və ya sitotoksik fəallığın artması ilə proliferativ cavabın yaranmasına səbəb olur.

antigen-təmsil edən hüceyrə (antigen-presenting cell - APC) Antigeni kiçik peptidlərə parçalayan və peptidləri onların T hüceyrələr tərəfindən tanınma biləcəyi hüceyrə səthində II sinif MHC molekulularla assosiasiyada ekranlaşdıran istənilən hüceyrə. *Professional APC*-lər (dendrit hüceyrələr, makrofaqlar və B hüceyrələri) konstitutiv olaraq II sinif MHC molekulalarını ekspressiya edirlər. (Şəkil 23-25 və 23-26)

antikodon mRNT-də kodona komplementar olan, tRNT-də üç nukleotidin ardıcılığı. Zülalın sintezi zamanı kodon ilə antikodon arasında əsas cütünün əmələ gəlməsi müvafiq amin turşusunu uzunayan polipeptidə əlavə etmək üçün daşıyan tRNT-ni düzləndirir. (Şəkil 5-20)

antiport Membran zülalının (*antiporter*) iki müxtəlif molekulu ionu membrandan keçərək əks istiqamətlərdə daşdığı **ko-transport** tipi. Həmçinin bax **simporter**. (Şəkil 11-2, [3C])

antoqonist Təbii molekulun (məsələn, hormonun) bioloji funksiyasını blok edən, çox zaman sintetik olan molekullar.

aparıcı zəncir Replikasiya zamanı **replikasiya çəngəlində** iki qız DNA zəncirindən fasiləsiz davam edən 5'→3' istiqamətində sintezlə yaranan biri. Aparıcı zəncir sintezinin istiqaməti replikasiya çəngəlinin hərəkəti istiqaməti ilə eynidir. Həmçinin **gecikən zəncir**ə baxın. (Şəkil 5-29)

apikal Hüceyrənin, orqanın və ya başqa bədən quruluşunun ucu (apeks) hesab edilir. Bu halda epitel hüceyrələrinin apikal səthi bədənin xaricinə və ya orqanizmin daxili boşluğunu (məsələn, bağırsağ lümeninə və ya kanala) baxır. (Şəkil 20-10)

apoptosom Apoptoz siqnallarına cavab olaraq toplanan və inisiator və effektor kaspazları üçün fəallaşma məşini rolunu oynayan, məməlilərdə Apaf-1-in disk-şəklili böyük heptameri. (Şəkil 21-41)

apoptoz İnkişaf zamanı və ya xəstəliklər zamanı spesifik toxumalarda baş verən, əksər hüceyrə komponentlərinin dağılması və bir sıra yaxşı təyin edilmiş morfoloji dəyişmələrin baş verməsi ilə qeyd olunan genetik tənzimlənən proses, bu zaman hüceyrə özünü məhv edir, buna həmçinin *proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü* də deyilir. Həmçinin bax kaspazalar. (Şəkil 21-33 və 21-40)

aptamer Tək zəncirli RNT və ya DNT-nin spesifik olaraq kiçik molekullara birləşən mürəkkəb üç-ölçülü quruluşda bükülən, təxminən ~70-120 əc uzunluqda rayonu. (Şəkil 9-8)

aralıq filament Toxuma-spesifik oxşar subvahid zülalların, o cümlədən **keratinlərin**, **laminlərin** və **neyrofilamentlərin** polimerləşməsi nəticəsində əmələ gələn Sitoskeletal lif (diametri 10 nm). (Şəkil 18-47; Cədvəl 18-1)

arxea Bugünkü orqanizmlərdə üç fərqli təkamül xəttinin birini əmələ gətirən **prokariotların** sinifi, bunlar həmçinin *arxeobakteriyalar* və *arxealar* da adlanır. Bəzi mənada arxealar

bakteriyalardan daha çox eukariotlara oxşarırlar (eubakteria). (Şəkil 1-1)

asanlaşdırılmış daşınma (facilitated transport) Hüceyrə membranında ionun və ya kiçik molekulun **sadə diffuziya** ilə əldə edildəndən daha yüksək sürətlə onun qatılıq qradientinin azalan istiqamətində zülal köməyi ilə daşınması, buna *asanlaşdırılmış difuziya* da deyilir. (Cədvəl 11-1)

asetilxolin (Ach) Onurğalılarda neyroəzələ qovşaqlarında və beyinin və periferial sinir sisteminin müxtəlif neyron-neuron sinapslarında fəaliyyət göstərən neyrotransmitter (neyroötürücü). (Şəkil 22-25)

asimetrik karbon atomları Dörd müxtəlif atoma və ya kimyəvi qrupa birləşmiş karbon atomu, buna *n xiral karbon atomu* da deyilir. Rabitə iki müxtəlif yolla qurula bilər, bir-birinin güzgüdəki əksi olan stereoisomeri əmələ gətirir. (Şəkil 2-4)

assosiasiya etmiş konstant (K_a) Bax **tarazlıq konstantı**.

aster Mitoz zamanı sentrosomlardan radial xaricə uzanan mikrorucuqlardan (astral liflər) ibarət olan quruluş. (Şəkil 18-37)

astrositlər Beyində və onurğa beynində, beyin-qan baryerini yerinə yetirən endotelial hüceyrələrin saxlanması, hüceyrəxarici ion tərkibinin qorunub saxlanması və qida maddələrinin neyronlarda təmin olunması kimi çox funksiyaları yerinə yetirən ulduz formalı qlial hüceyrələr.

asağı sıxlıqlı lipozülal (LDL) Toxumalar arasında, xüsusilə də qaraciyərə xolesterinin xolesterin efrələri şəklində olun əsas daşıyıcısı apolipozülal B-100 malik olan **lipozülal** sinfi. (Şəkil 14-27)

asağıya istiqamət (1) Gen üçün, 5'-hidroksil qrupu ilə templeyit DNT zəncirinin sonuna doğru transkripsiya zamanı RNT polimerazanın hərəkət etdiyi istiqamət. +1 mövqedən (ilk transkripsiya edən nukleotid) aşağıya istiqamətdə nukleotidlər +2, +3 və s. kimi təyin edilir. (2) Sonrakı mərhələlərdə (məsələn, siqnal yolunda) baş verən hadisələr. Həm də yuxarıya istiqamətə baxın.

asağıya istiqaməti fəallaşdırıcı ardıcılıq (upstream activating sequence - UAS) Mayada və digər sadə eukariotlarda maksimal gen ekspressiyası üçün lazım olan istənilən zülal birləşdirən tənzimləyici ardıcılıq, ali eukariotlarda enhanserə və ya promotora-yaxın elementə ekvivalent. (Şəkil 9-23)

ATM/ATR DNT zədələnməsi ilə fəallaşan iki yaxın proteinkinaza zülalı. Onlar fəallaşdıqdan sonra, DNT zədələnməsinə qarşı hüceyrə cavabını inisiyasiya etmək üçün başqa zülalları fosforlaşdırırlar.

ATP (adenozin trifosfat) Hüceyrələrdə sərbəst enerjinin turulması və daşınması üçün çox əhəmiyyətli molekul olan nukleotid. ATP-də iki **fosfoanhidrid əlaqəsinin (rabitəsinin)** hər birinin hidrolizi, enerji tələb edən hüceyrə proseslərini aparmaq üçün böyük miqdarda sərbəst enerjini buraxır. (Şəkil 2-31)

ATP ilə işləyən nasos ATP-ə fəallığına malik olan və ATP hidrolizindən ayrılan enerjini ion və ya kiçik molekulun membrandan keçərək elektrokimyəvi qradientin əksinə fəal daşınması ilə birləşdirən istənilən transmembran zülal, çox zaman sadəcə olaraq *nasos* adlandırılır. (Şəkil 11-9)

ATP sintaza Daxili mitoxondrial membrana, xloroplastların tilakoid membranına və bakteriaların plazma membranına birləşmiş, oksidativ fosforlaşma və fotosintez zamanı ATP sintezini kataliz edən multimer zülal kompleksidir, həmçinin *F₀F₁ kompleks* adlanır. (Şəkil 12-26a)

ATPaza ATP-ni hidroliz edərək ADP və qeyri üzvi fosfata əmələ gətirən və böyük miqdarda sərbəst enerjini buraxan fermentlərin böyük bir qrupu. Həmçinin bax **Na⁺/K⁺ ATPaza** və **ATP ilə işləyən nasos**.

ATR Bax **ATM/ATR**

Aurora B kinaza Kinetoxor daxilində mikrorucuq-birləşən komponentləri fosforlaşdırmaqla qüsurlu mikrorucuq-kinetoxor qarşılıqlı əlaqəsinin stabilliyini pozur.

Aurora kinazalar Serin/treonin kinazalar olub xromatid seqreqasiyasına nəzarət etməklə hüceyrə bölünməsinə kritik rol oynayır. **Aurora B kinaza** kinetoxor daxilində mikrorucuq-birləşən komponentləri fosforlaşdırmaqla qüsurlu mikrorucuq-kinetoxor qarşılıqlı əlaqəsinin stabilliyini pozur.

autofaqiya Tam mənası ilə "özünü yemək"; sitozol zülallarının və orqanoidlərin lizozoma çatdırılması, parçalanması və təkrar emalı. Autofaqiya, autofagosom və ya autofaq qovucuqlar adlanan iki-membranlı qovucuqların əmələ gəlməsinə ihatə edir. (Şəkil 14-35)

autofagosom Hüceyrələrin amin turşusu açığı zamanı qapalı membranla əhatə olunmuş çoxsaylı ribosomların və mitoxondrin udulduğu böyük sitoplazma rayonu. Autofagosomlar lizosomlarla birləşir, burada autofagosomun tərkib hissələri sitoplazmaya daşınan amin turşularına və digər qidalara parçalanır.

autokrin Hüceyrənin siqnal molekulunu (məsələn, boy faktoru) istehsal etdiyi. sonra ona birləşdiyi və cavab verdiyi siqnal mexanizminə deyilir.

autoradiografiya Bir nümunədəki radioaktiv molekulları (məsələn, toxuma hissəsində və ya elektroforetik gəldə) fotoqrafiya filmi (emulsiya) və ya iki ölçülü elektron detektorunu nümunəyə məruz qoymaqla vizuallaşdırıcı texnika. Məruz qoyulmuş film *autoradiogram* və ya *autoradiografiya* adlanır.

autosom Cinsiyyət xromosomundan başqa istənilən xromosom.

ayrılmama (nondisjunction) mitoz zamanı xromosomların aneuploidiya və ya trisomiya ilə nəticələnən səhv seqreqasiyası.

B hüceyrə Sümük iliyində yetişən və antigen-spesifik reseptorları (membrana birləşmiş **immunoqlobulin**) ekspressiya edən limfosit. Antigenlə qarşılıqlı təsirə girdikdən sonra, B hüceyrə proliferasiya edərək anticism-ifraz edən *plazma hüceyrələrinə* differensiasiya edir

B hüceyrə reseptoru Antigen-spesifik membrana-birləşmiş immunoqlobulin molekulundan və əlaqədə olan siqnal ötürən Igα və Igβ zəncirlərdən ibarət olan kompleks. (Şəkil 23-18)

bacı xromatidlər DNT-nin replikasiyası zamanı yaranan iki eyni DNT molekulu və assosiasiyada olan xromosom zülalları. DNT-nin replikasiyasından sonra hər bir xromosom iki bacı xromatiddən ibarət olur.

bacı xromatidlərin ayrılması Profaza zamanı bir-birinə sarınmış bacı xromatidlərin açılması prosesi.

bakteria Müasir dövrün orqanizmlərinin üç fərqli təkamül xəttinin birini təşkil edən prokariotlar sinifi, həmçinin *eubakteriyalar* adlanır. Filogenetik olaraq axealardan və eukariotlardan fərqlənir. (Şəkil 1-1)

bakteriofaq (faq) Bakterial hüceyrəni yoluxduran istənilən virus. Bəzi faqlar **DNT klonlaşdırılmasında** vektorlar kimi istifadə edilir.

bazal Bax **bazolateral**.

bazal cism Aksonem əmələ gətirən mikroborucuqların toplandığı kirpik və qamçının əsasındakı (altındakı) zülal quruluş. Quruluşuna görə sentriola bənzəyir. (Şəkil 8-31)

bazal lamina Heyvan epitelisinin və digər mütəşəkkil hüceyrə qruplarının (məsələn, əzələnin) əsasını təşkil edən, onları birləşdirici toxumadan və ya digər hüceyrələrdən ayıran hüceyrə xaricindəki matrisa komponentlərinin nazik təbəqəyə bənzəri şəbəkəsi. (Şəkil 20-21 və 20-22)

bazolateral Qütbləşmiş (polyarlaşmış) hüceyrənin, orqanın və ya digər bədən quruluşunun əsasına (bazal) və yan (lateral) tərəflərinə istinad edilir. Epiteli hüceyrələrində, bazolateral səth qonşu bitişik hüceyrələrə və altındakı bazal laminaya dirənir. (Şəkil 20-10)

beta (β) dönmə Zülallarda qısa U şəkilli **ikincil quruluş**. (Şəkil 3-6)

beta (β) vərəq (təbəqə) İki fərqli polipeptid zəncirində və ya tək qatlanmış bir zəncirin seqmentlərində özül atomları arasında hidrogen rabitəsi ilə bağlanma nəticəsində əmələ gələn zülallarda yastı ikincil quruluş. (Şəkil 3-5)

beta (β)-adrenergik reseptorlar Adrenalin və oxşar molekulara birləşən, adenilil tsiklazaanın fəallaşmasına səbəb olan yeddi dəfə membrana sarınan, G zülalla-cütləşən reseptorlar.

bədxassəli (malignant) Ətrafdakı normal toxumayı zəbt edən və/və ya **metastaz** verə bilən şiş və ya şiş hüceyrələrinə aid edilir. **Xoşxassəliyə** də baxın.

blastocyst Məməlilərin iki hüceyrə tipinə - embrionxarici toxumaları əmələ gətirəcək **trofokododerma** və embrionun düzgün əmələ gəlməsinə səbəb olan **daxili hüceyrə kütləsinə** ayrılan ≈ 64 hüceyrədən ibarət olan embrion mərhələsi, bu mərhələ uşaqlıq divarına implantasiya olunur və digər heyvan embrionlarındakı *blastulaya* uyğun gələn mərhələdir. (Şəkil 21-3)

blastopore İkitərəfli (bilateral) simmetrik heyvanlarda embriogenez zamanı əmələ gələn və sonradan bağırısağa

çevrilən ilk açılış. Gələcəkdə bu boşluq ya ağız, ya da anus ola bilər.

boşluq qovşağı Hüceyrələr arasında ionların və kiçik molekulların keçməsinə imkan verən qonşu heyvan hüceyrələrinin sitoplazmalarını birləşdirən zülal örtüklü kanal. Həmçinin **Plazmodesmataya** baxın. (Şəkil 20-21)

boy (böyümə) faktoru Hüceyrə-səth reseptoruna birləşərək hüceyrədaxili siqnal yolunu işə salan hüceyrəxarici polipeptid molekulu, ümumiyyətlə hüceyrələrin proliferasiyasına (çoxalmasına) səbəb olur.

boy (böyümə) hormonu (GH) Hipofizin ön hissəsi tərəfindən ifraz olunan, müxtəlif hüceyrələrin proliferasiyasını stimullaşdıran sitokin.

bromodomain Asetillənmiş lizin qalıqına bağlanan, ~120 amin turşusunun uzunluqda zülal domeni; transkripsiyanın fəallaşmasında iştirak edən xromosom-assosiasiyalı zülallarda tapılmışdır.

bufer Birləşmənin pK_a qiyməti yaxınlığındakı pH qiymətinə az miqdarda güclü turşu və ya qələvi əlavə etdikdə, kiçik pH dəyişikliyinə uğrayan birləşməni əmələ gətirən turşusu (HA) və qələvi (A^-) məhlulu.

CAP sayt Bakteriyada katobalit fəallaşdırıcı zülalın (catabolite activator protein - CAP) birləşdiyi DNT ardıcılığı, bu həçsinin tsiklik AMP tənzimləyici zülal kimi məlumdur. (Şəkil 9-4)

Cdc14 fosfataza Mitotik CDK fəalsızlaşmasını və mitozun sona çatmasını işə salan ikiqat spesifikliyə malik olan zülal fosfatazdir.

Cdc25 fosfataza CDK-ləri treonin 14 və tirozin 15-də defosforlaşdıran, bununla da CDK-ləri fəallaşdıran zülal fosfataza.

CDK ingibitor (CKI) Tsiklin-CDK kompleksə birləşir və onun fəallığını ingibirləşdirir.

CDK-fəallaşdırıcı kinaza (CAK) CDK-ləri fəal mərkəz yaxınlığındakı treonin qalıqında fosforlaşdırır. Bu fosforlaşma CDK fəallığı üçün vacibdir.

cinsiyət hüceyrəsi Cinsi yolla çoxalan orqanizmlərdə, cinsiyət hüceyrələri və yetişməmiş sələfləri də daxil olmaqla nəslin əmələ gəlməsinə potensial qaməti təmin edə biləcək hər hansı bir hüceyrə; həmçinin *cinsiyət hüceyrə xətti* adlanır. Somatik hüceyrəyə də baxın.

COPI İfrazat yolunda qovucuqları nəql edən zülal sinfi. COPI ilə örtülmüş qovucuqlar zülalları Qolcidən endoplazmik şəbəkəyə və daha sonra Qolci sisternalarına köçürür. (Cədvəl 14-1)

COPII İfrazat yolunda nəql edən qovucuqları örtən zülal sinfi. COPII örtüklü qovucuqlar zülalları endoplazmik şəbəkədən Qolciyə köçürür. (Cədvəl 14-1)

CpG adacıqlar Onurğalılarda DNT-sində CG ardıcılığının qeyri-adi dərəcədə yüksək tezlikdə rast gəlinən ~100-dən ~1000 əc-ə qədər olan rayonları. Çox CpG adacıqlar, transkripsiyanın başlanması üçün promotor kimi adətən hər iki istiqamətdə fəaliyyət göstərir.

CRISPR Çoxsaylı bakterial hüceyrələr tərəfindən xarici DNT-nin işğalından qorunmaq üçün istifadə etdiyi bir mexanizmdir, qruplaşdırılmış müntəzəm paylanmış qısa palindrom təkrarlamalara (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat*) əsasən adlandırılmışdır. Laboratoriyada metazoan orqanizmlərin genom DNT-sini redaktə etmək üçün bu mexanizmdən istifadə edilmişdir.

çaperon Hədəf zülalın səhv bükülməsinin (qatlanmamasının) qarşısını alan və ya natamam bükülmüş hədəf zülalının müvafiq olaraq düzgün şəkildə bükülməsini asanlaşdıran iki növ zülal - *molekulyar çaperonlar* və çaperoninlər - üçün ümumi termindir. (Şəkil 3-17 və 3-18)

çaperonin Bax çaperone.

çəşidləmə signalı Zülal içərisində, ifrazat və ya endositik yolda donor membranından çıxarkən zülalı xüsusi nəqliyyat qovucularına yönəldən nisbətən qısa amin turşusu ardıcılığı. (Cədvəl 14-2)

çox adgeziyalı matrisa zülalları Hüceyrə xaricindəki matrisanın digər komponentlərinə və hüceyrə səthindəki reseptorlara birləşərək, bununla matris komponentlərini hüceyrə membranına çarpaz bağlayan uzun elastik zülallar qrupu. Buna nümunə olaraq bazal laminanın əsas komponenti olan **laminin** və çox toxumalarda mövcud olan **fibronektini** göstərmək olar.

DAG Bax **diasilqliserol**.

daxili hüceyrə kütləsi (inner cell mass - ICM) Erkən embrionun, plasenta da daxil olmaqla, embrion xaricindəki toxumaları əmələ gətirməyən, düzgün şəkildə embrionu meydana gətirən bir hissəsi.

daxili mitoxondrial membran Dərhal xarici mitoxondrial membranın altında yerləşən və sərhəd membranının, kristanın və krista qovşağının daxil olduğu yüksək dərəcədə invaqinasiya olunmuş membran.

dalton Molekulyar kütlənin təxminən vahid hidrogen atomunun kütləsinə bərabər (1.66×10^{-24} q) ölçüsü.

denaturasiya Bəzi kimyəvi maddələrin təsiri ilə və ya qızdırmaqla müxtəlif qeyri kovalent qarşılıqlı təsirlərin pozulması nəticəsində zülalların və ya nuklein turşusunun konformasiyasında baş verən kəskin dəyişiklik; adətən bioloji funksiyanın itirilməsi ilə nəticələnir.

dendrit Hüceyrə cismindən (bədəninədən) uzanan, nisbətən qısa və tipik olaraq şaxələnən və digər neyronların aksonlarından signal alan neyron prosesi. (Şəkil 22-1)

dendrit hüceyrələr Müxtəlif toxumalarda yaşayan və Toll tipli reseptorlar vasitəsi ilə geniş patogen marker nümunələrini aşkar edə bilən fagositik peşəkar antigeni təqdim edən hüceyrələr. Antigeni toxuma zədələnməsi və ya yoluxma yerində yerləşdikdən sonra limfa düyünlərinə köçür və T hüceyrələrinin fəallaşdırılmasına başlayırlar. (Şəkil 23-7)

depolyarizasiya Normal halda sakitlikdə olan hüceyrənin plazma membranında mövcud olan sitozol üzə mənfə elektrik potensialının azalması, daxili daha az mənfə və ya daxili-müsbət membran potensialının yaranması ilə nəticələnir.

determinant Anticismin antigeni tanınması kontekstində, zülal üzərində anticismin birləşdiyi rayon. Bu kontekstdə o epitop ilə sinonimdir.

deuterosomal Anusu blastopora yaxın yerdə inkişaf edən və dorsal onurğa beyni olan ikitərəfli simmetrik heyvanların qrupu. Bu qrupa bütün xordalılar (balıq, suda-quruda yaşayanlar, sürünənlər, quşlar və məməlilər) və exinodermalılar (dəniz ulduzları, dəniz kirpiləri) daxildir.

dezoksiribonuklein turşusu Bax DNT-yə.

diasilqliserol (DAG) Membranla-birləşmiş ikinci mesencer, müəyyən hüceyrə-səth reseptorlarının stimullaşmasına cavab olaraq fosfoinozitolin parçalanması ilə yarana bilir. (Şəkil 15-6 və 15-33)

dineinlər Mikro borucuqların (-) ucuna doğru irəliləmək üçün ATP hidrolizi ilə ayrılan enerjiden istifadə edən motor zülalları sinifi. Dineinlər, qovucuları və orqanoidləri daşıya bilir, kirpici və qamçıların hərəkət etmələrini həyata keçirir və mitoz zamanı xromosomların hərəkətində rol oynayır. (Şəkil 18-24 və 18-25)

diploid İki tam homoloji xromosom dəstinə və bu səbəbdən hər bir genin və ya genetik lokusun iki nüsxəsinə (allelər) sahib olan bir orqanizmə və ya hüceyrəyə deyilir. Somatik hüceyrələr növ üçün xarakterik olan diploid sayda xromosom (2n) sayına malikdir. Həmçinin baxın haploid.

dipol Fəzada bərabər, lakin əks mənfə yükəndən ayrılmış müsbət yük.

dipol momenti Kimyəvi rabitə üçün hər atomdakı qismən yükün və iki atom arasındakı məsafənin məhsulu olan dipolun yük-ayrılma dərəcəsinin və ya gücünün kəmiyyət ölçüsü.

disakarid Kovalent şəkildə qlikozid əlaqələrlə birləşən iki monosaxariddən ibarət kiçik karbohidrat (şəkər). (Şəkil 2-19)

dissosiasiya sabiti (Kd) tarazlıq sabitinə bax.

disülfid əlaqəsi (-S-S-) Fərqli polipeptidlərdə və ya eyni polipeptidin fərqli hissələrindəki iki sistein qalıqındakı kükürd atomları arasında ümumi bir kovalent rabitə.

DNT (dezoksiribonuklein turşusu) Dörd növ dezoksiriboza nukleotiddən ibarət olan uzun xətti polimer, genetik məlumatın daşıyıcısıdır. Ayrıca baxın ikiqat spiral, DNT. (Şəkil 5-3)

DNT kitabxanası Tam genomun fraqmentlərindən (*genom kitabxanası*) və ya uyğun klonlaşdırma vektoruna daxil edilmiş hüceyrə tipi (*kDNT kitabxanası*) tərəfindən istehsal olunmuş bütün mRNT-lərin DNT nüsxələrindən ibarət klonlaşdırılmış DNT molekullarının toplusu.

DNT klonlaşdırma Xüsusi kDNT və ya genom DNT fraqmentlərinin klonlaşdırma vektoruna daxil edildiyi rekombinant DNT metodu, daha sonra kultura olunmuş sahib hüceyrələrə daxil edilir və sahib hüceyrələrin bölünüb çoxalması zamanı saxlanılır; həmçinin *gen klonlaşdırılması* adlanır. (Şəkil 6-14)

DNT liqaza Bir DNT fraqmentinin 3' ucunu digərinin 5' ucu ilə birləşdirən və fasiləsiz davam edən zənciri əmələ gətirən bir ferment.

DNT microarrey Mikroskop şüşəsində və ya başqa bir bərk səthdə düzülmiş minlərlə fərqli nükleotid ardıcılığının dəsti; müxtəlif inkişaf mərhələlərində və ya fərqli şəraitlərdə müxtəlif hüceyrə tiplərində və ya müəyyən bir hüceyrə tipində gen ekspressiyası nümunələrini təyin etmək üçün istifadə edilə bilər. (Şəkil 5-29 və 5-30)

DNT polimeraza DNT-nin bir zincirinin (templeyt zənciri) sürətini çıxararaq, komplementar zənciri yaratmaq üçün yeni iki-zəncirli DNT molekulunu əmələ gətirən ferment. Bütün DNT polimerazlar əvvəlcədən mövcud olan qısa DNT və ya RNT praymer zəncirinin 3' ucuna 5'→3' istiqamətində bir-bir deoksiribonukleotidləri əlavə edirlər.

DNT rekombinasiyası Oxşar ardıcılıqlı iki DNT molekulunun cüt zəncirlərinin qırılmaya məruz qalması və sonra yenidən hər bir valideyn DNT-nin hissələrindən ibarət olan ardıcılıqla iki rekombinant DNT molekulunu yaratmaq üçün birləşmə prosesi. (Şəkil 5-41 və 5-42)

DNT zədələnməsinə cavab sistemi DNT-nin zədələnməsini hiss edən və hüceyrə tsiklinin dayandırılmasını və DNT-nin bərpa (reparasiya) yollarını induksiya edən yol.

DNT-birləşdirən domen Transkripsiya faktorunun bir-biri ilə əlaqəli, spesifik DNA ardıcılığına birləşən domeni.

doğranma (cleavage) Embriogenezdə, mayalanmadan sonra kiçik hüceyrə böyüməsi ilə meydana gələn və getdikcə daha kiçik hüceyrələri istehsal edən sürətli hüceyrə bölünməsi seriyası; məməlilərdə blastosist və ya digər heyvanlarda blastulanın yaranması ilə sona çatır. Həm də, molekuların hidrolizinin sinonimi kimi istifadə olunur. (Şəkil 21-3)

doğranma şırımı (cleavage furrow) Sytokinezin başlanğıc pillələrində təmsil edən plazma membranında yarıqla.

doğranma/poliadeniləşmə kompleksi 3' poly (A) sahəsindəki pre-mRNT-nin doğranmasını və poli(A) quyruğu əmələ gətirmək üçün adenilat (A) qalıqlarının ilkin əlavə edilməsini kataliz edən böyük, çox zülallı kompleks. (Şəkil 10-15)

domen Fərqli və çox zaman müstəqil funksiyaya və ya quruluşa sahib olan və ya zülalın qalan hissəsinə nisbətən fərqli bir topologiyaya sahib olan zülal rayonu.

dominant Genetikada, heteroziqot fenotipdə ekspressiya olunan genin allelini bildirir, ekspressiya olunmamış allel resessivdir; eyni zamanda dominant allellə əlaqəli fenotipə də aid edilir. Dominant allelləri əmələ gətirən mutasiyalar əsasən funksiyanın artması ilə nəticələnir. (Şəkil 6-2)

dominant-mənfi Genetikada dominant şəkildə fəaliyyət göstərən, amma funksiyasının itirilməsinə bənzər bir təsiri yaradan aleldir; ümumiyyətlə normal zülalın funksiyasını ya ona, ya da bu yolda ondan yuxarıya istiqamətdə və ya aşağıya istiqamətdə yerləşən zülal birləşərək blok edən mutant zülalı kodlaşdıran aleldir.

doymamış (unsaturated) Bir karbon-karbon əlaqəsi iki- və ya üç-qat rabitədən ibarət olan birləşmələrə deyilir

doymuş Bütün karbon-karbon əlaqələrinin tək rabitə olduğu birləşməyə (məsələn, yağ turşusu) aid edilir.

dördüncü quruluş Multimer (çox-subvahidli) zülallarda polipeptid zəncirlərinin sayı və nisbi mövqeləri. (Şəkil 3-11b)

E2F transkripsiya faktoru kompleksi G1/S faz tsiklinlərin və funksiyası S fazası üçün tələb olunan bir çox başqa genlərin transkripsiyasını təşviq edən transkripsiya faktoru.

EF-ə1 Ca²⁺ birləşdirən kalmodulin zülalı kimi bir çox zülallarda meydana gələn spiral-dönmə-spiral quruluş motifinin bir növü. (Şəkil 3-10b)

effektor Ötürülən siqnala cavab verən siqnal ötürməsi yolunun son komponenti.

effeent neyronlar Mərkəzi sinir sistemindən əzələlər və endokrin hüceyrələr kimi periferik toxumalara siqnal ötürən sinirlər.

exon-qovşaq kompleksi (exon-junction complex – EJC) Pre-mRNT splayinqindən sonra eqzon-eqzon qovşağında birləşən zülal kompleksi. EJC-lər tam işlənmiş nüvə mRNP-lərinin nüvədən eksportunu stimullaşdırır və düzgün işlənmiş mRNT-lərin nonsens-vasitəçiliyi ilə parçalanması prosesində iştirak edirlər.

eksizyon-reparasiya sistemi, DNA Spontan (kortəbii) depurinləşmə və ya dezaminləşmə və ya **kanserogen** maddələrə məruz qalma səbəbindən DNT zədələnməsini bərpa etmək üçün bir neçə mexanizmdən biridir. Bu reparasiya sistemləri normal olaraq yüksək dərəcədə dəqiq işləyir və onların itirilməsi müəyyən xərçəng riskinin artması ilə bağlı olur.

ekspressiya vektoru Geni və ya kDNT-ni müvafiq sahib hüceyrəyə aparın və orada kodlaşdırılan zülalın sintezini istiqamətləndirən modifikasiya olunmuş plazmid və ya virus; maraq geni üçün DNT kitabxanasını yoxlamaq və ya klonlaşdırılmış gendən çoxlu miqdarda zülalı istehsal etmək üçün istifadə olunur (Şəkil 6-28 və 6-29)

ektoderma Heyvan embrionunun üç əsas hüceyrə qatından ən kənardakı; epidermal toxumaları, sinir sistemini və xarici hissiyat orqanlarını yaradır. Endoderma və mezodermaya da baxın.

eqzogen Mənfi ΔG -yə malik olan və beləliklə davam etdikcə sərbəst enerjini buraxan reaksiyalara və proseslərə aid edilir; endogenə əksdir.

eqzon Eukariotik genin (və ya onun əsas transkriptinin) yetkin mRNT, rRNT və ya tRNT molekulunun bir hissəsi kimi sitoplazmaya gedib çatan seqmenti. Həmçinin introna baxın.

eqzon qarışdırılması (exon shuffling) İki ayrı genin intronları arasında rekombinasiya yolu ilə və ya mobil DNT elementlərinin köçürülməsi yolu ilə əvvəlcədən mövcud olanlardan yeni genlərin (yəni yeni ekzon birləşmələrinin) yaradılmasındakı təkamül prosesi. (Şəkil 8-18 və 8-19)

eqzoplazmatik üz Hüceyrə membranının sitozoldan kənara baxan üzü. (Şəkil 7-5)

eqzositoz Membranla əhatə olunmuş qovucuq içərisində olan hüceyrədaxili molekulaların (məsələn, hormonlar, matrisa zülalları) hüceyrənin plazma membranına qovucuğun birləşməsi ilə sərbəst buraxılması.

eqzosom Birləşdirilmiş intronları və nüvədəki düzgün proses olunmamış pre-mRNT-ləri və ya sitoplazmadakı qısaldılmış poli (A) quyruqları olan mRNT-ləri parçalayan eqzonukleaza-tərkibli böyük kompleks. (Şəkil 10-1)

eqzotermik *Entalpiyada* və ΔH -da mənfi dəyişiklik göstərən və beləliklə davam etdikdə istilik buraxan reaksiyalara və proseslərə aid edilir; **endotermik** əksidir.

elektrik potensialı Müsbət və mənfi yüklərin ayrılması ilə bağlı olan enerji. Elektrik potensialı, demək olar ki, bütün hüceyrələrin plazma membranında yaradılıb saxlanılır.

elektroforez Makromolekulların güclü elektrik sahəsinə məruz qalan gel və ya digər mühitdə miqrasiyasına əsaslanan ayrılması üçün istifadə edilən metolardan hər hansı biri. (Şəkil 3-38)

elektrokimyəvi qradient İonun (və ya yüklü molekulun) membrandan keçən, energetik cəhətdən əlverişli istiqamətini təyin edən hərəkətverici qüvvə. O ionun membrandan keçən qatılıq qradientinin və membran potensialının birgə təsirini təmsil edir.

elektron daşıyıcısı Donor molekullarından elektronları qəbul edən və birləşdiyi oksidləşmə və reduksiya reaksiyalarında akseptor molekullara ötürən hər hansı bir molekul və ya atom. (Cədvəl 12-4)

elektron nəqliyyat zənciri Daxili mitoxondrial membrandakı dörd böyük çox-zülallı kompleksləri, üstəlik diffuziya edə bilən və elektronların reduksiya olunmuş elektron donorlarından (məsələn, NADH) O_2 -yə axdığı sitoxrom *c* və koenzim Q. Zəncirin hər bir üzvü bir və ya daha çox sayda birləşmiş elektron daşıyıcısına malikdir. (Şəkil 12-22)

elektron nəqliyyatı Elektronların bir sıra elektron daşıyıcıları vasitəsilə reduksiya olunmuş elektron donorlarından (məsələn, NADH) daxili mitoxondrial membrandakı O_2 -yə və ya bitki xloroplastlarının tirakoid membranındakı H_2O -dan $NADP^+$ -a qədər hərəkəti. (Şəkil 12-19 və 12-38)

elonqasiya faktoru (EF) İnisiasiyadan sonra mRNT-nin davam edən translyasiyası (zülal sintezi) üçün lazım olan qeyri-ribosomal zülallar qrupundan biri. (Şəkil 5-25)

elonqasiya, transkripsiya Komplementar DNT-nin kodlaşdırıcı zənciri kimi templeyt boyunca nükleotidlərin polinükleotid zəncirinə əlavə edilməsi. (Şəkil 5-11)

embrion sütun (ES) hüceyrələri İstər in vitro, istərsə də təkrarən sahib embriona daxil edildikdən sonra geniş hüceyrə tiplərinə differensasiya edə bilən, embrionların çox erkən dövründə onlardan alınan kultura olunan hüceyrələr xətti. (Şəkil 21-5)

ENCODE (DNT Elementlərinin Ensiklopediyası) İnsanın DNT nəzarət elementlərinin və müxtəlif hüceyrə tiplərində bunlara birləşən transkripsiya faktorlarının, ChIP-seq ilə və digər əlaqəli metodlarla xəritələnmiş histon post-translyasiya modifikasiyalarının, DNaza I hiperhəssas saytların, tənzimləyici lncRNT-lərin və onların genomda birləşmə yerlərinin, habelə “genin fəal olduğu şərtlərdə hüceyrələri idarə edən” yeni aşkar edilmiş tənzimləyici elementlərin geniş yayılmış, açıq bir məlumat bazası.

endoderma Heyvan embrionunun üç əsas hüceyrə qatının ən daxildə olanı; bağırsağı və tənəffüs yollarının çox hissəsini yaradır. Ektoderma və mezodermaya baxın.

endogen Müsbət ΔG -yə malik olan və beləliklə davam etmək üçün sərbəst enerjinin daxil edilməsini tələb edən reaksiyalara və proseslərə aid edilir; əks proseslər **eqzogen** adlanır.

endokrin Hədəf hüceyrələrinin, adətən vəzidə (məs., hipofiz və ya tiroid vəzi) mövcud olan ixtisaslaşmış uzaq ifrazat hüceyrələrinin qana buraxdığı **hormona** birləşərək ona cavab verdiyi siqnal mexanizminə aid edilir.

endoplazmatik (retikulum) şəbəkə (ER) Xarici nüvə qabığına bitişik olan eukaryot hüceyrələrin sitoplazması daxilində bir-birinə bağlı membran quruluşların şəbəkəsi. Ribosomlarla assosiasiyada olan *kobud* (*qırıqlı*) ER ifrazat zülallarının və membran zülallarının sintezi və prosesinqində fəaliyyət göstərir; ribosomlardan məhrum olan *hamar* ER lipid sintezində fəaliyyət göstərir. (Şəkil 1-12)

endosimbiont Eukariotik hüceyrə içərisində qarşılıqlı sərfəli tərəfdaşlıq kimi məskunlaşan bakteriya. Endosimbiont nəzəriyyəsinə görə həm mitoxondriyə, həm də xloroplastlar endosimbiontlardan törəmişlər. (Şəkil 12-7)

endositik yol Membran nəqliyyat zülalları tərəfindən daxilə mənimsənilməyə üçün həddən artıq böyük olan hüceyrəxarici materialı daxilə mənimsəyən reseptorla vasitələnən endositozun və reseptor zülallarının fəallığını aşağı səviyyədə tənzimləmək üçün onların hüceyrə səthindən çıxarılmasının daxil olduğu hüceyrə yolu. (Şəkil 14-29)

endositoz Plazma membranını invaginasiyası ilə hüceyrə xaricindəki materialın daxilə mənimsənilməsinin ümumi adlandırılması; reseptor-vasitəsilə endositoz, faqositoz və pinositoz bura daxildirlər.

endosom Membranla bağlı iki tip kompartimentdən biri: reseptor-vasitəsilə endositoz zamanı plazma membranından tumurcuqlayıb ayrılan *erkən* endosomlar (və ya endositik qovucuqlar) və daxili turş pH-a malik olan və zülalların lizosomlara çeşidlənməsində fəaliyyət göstərən gecikən endosomlar. (Şəkil 14-1 və 14-29)

endoteli Qan və limfa damarlarının daxili səthini örtən nazik hüceyrə təbəqəsi.

endotermik *Entalpiya* və ΔH -da müsbət dəyişilməyə malik olan və beləliklə davam etmək üçün istiliyi udan reaksiyalara və proseslərə aid edilir, **eqzotermik** əksidir.

enerji yükü $([ATP] + 0.5 [ADP]) / ([ATP] + [ADP] + [AMP])$ bərabər olan “yüksək enerjili” fosfoanhidrit əlaqələrinə malik olan ümumi adenozin fosfatların fraksiyasının ölçüsü.

enhanser Eukariotik DNT-də nəzarət etdiyi gəndən uzaq məsafədə və ya hətta kodlaşdıran ardıcılıq daxilində yerləşə bilən, tənzimləyici ardıcılıq. Spesifik zülalların enhansərə birləşməsi assosiasiyada olduğu genin transkripsiyasını tənzimləyir. (Şəkil 9-23)

enhansesom Transkripsiya faktorlarının (fəallaşdırıcı və repressorların) DNT-birləşdirən zülalların köməyi ilə **enhanserdə** öz birləşmə saytlarına kooperativ birləşərək

toplanmasından əmələ gələn böyük nukleoprotein kompleks. (Şəkil 9-34)

entalpiya (H) İstilik; kimyəvi reaksiyada reagentlərin və ya reaksiya məhsullarının entalpiyası onların ümumi (total) birləşmə enerjisinə bərabərdir.

entropiya (S) Sistemdəki nizamsızlıq və ya təsadüflik dərəcənin ölçüsü; entropiya nə qədər yüksəkdirsə, nizamsızlıq da bir o qədər artır.

epidermal boy faktoru (epidermal growth factor – EGF) İfraz olunan siqnal molekullarının bir ailəsi (*EGF ailəsi*), əksər və ya bütün heyvanların əksər toxumalarının inkişafında istifadə edilir. EGF siqnallar **tirozinkinaza reseptorları** ilə birləşir. EGF siqnal ötürən komponentlərdə mutasiyalar insanlarda xərçənglə, o cümlədən beyin xərçəngi ilə nəticələnir. Bax **HER ailəsi**.

epigenetik Xüsusi genlərin ekspressiyasına təsir edən və irsi olaraq qız hüceyrələr tərəfindən alınan, amma DNT ardıcılığında bir dəyişikliyi əmələ gətirməyən prosesə aid edilir.

epinefrin Adrenal vəzi tərəfindən və stressə cavab olaraq bəzi neyronlar tərəfindən ifraz olunan katekolamin; həmçinin *adrenalin* adlanır. Həm hormon, həm də neurotransmitter (neyroötürücü) kimi fəaliyyət göstərir, "mübarizə və ya qaçış" ("fight or flight") reaksiyalarına vasitəçilik edir (məsələn, qanda qlükozanın səviyyəsini və ürəyin döyülmə dərəcəsini artırır).

epiteli (cəmdə, epitelilər) Xarici və daxili bədən səthlərində bir-birinə yapışan sıx hüceyrələrin bir və ya daha çox qatından ibarət olan vərəq (təbəqə) şəkilli örtük. (Şəkil 20-10)

epitelial-mezenximal keçid (epithelial-to-mesenchymal transition – EMT) Epiteli hüceyrələrinin mezenximal hüceyrələrin xüsusiyyətlərini əldə etdiyi inkişaf proqramını təsvir edir. Hüceyrələr yapışqan xüsusiyyətlərini itirir və hərəkətliyə əldə edir

epitop Antigen molekulunun B və ya T hüceyrələrindəki antigen-spesifik reseptorla və ya anticismə birləşən hissəsi. Böyük zülal antigenləri ümumiyyətlə fərqli spesifikliyə malik olan anticismlərlə birləşən çoxsaylı epitoplara malikdirlər.

eritropoietin (Epo) Sümük iliyindəki eritroid əcdad hüceyrələrin çoxalmasına və differensiasiyasına səbəb olaraq qırmızı qan hüceyrələrinin istehsalını işə salan sitokin. (Şəkil 16-8 və 21-23)

euxromatin İnterfaza xromosomlarında mövcud olan daha az qatılmış xromatinin hissələri; transkripsiya baxımından ən fəal rayonları əhatə edir. Həmçinin **heteroxromatinə** baxın. (Şəkil 8-28a)

eukariotik translyasiyanın inisiyasiyası faktoru (eIF) Eukariotik hüceyrələrdə zülal sintezinin başlanması üçün lazım olan zülallar. (Şəkil 5-24)

eukariotlar Müasir orqanizmlərin üç ayrı təkamül xəttində birini təşkil edən, membranla qapalı nüvə və orqanoidləri olan bir və ya daha çox hüceyrədən ibarət olan orqanizmlər sinfi; həmçinin *eukarya* adlanır. **Viruslar** və **prokariotlar** istisna olmaqla bütün orqanizmləri əhatə edir. (Şəkil 1-1)

əcdad (progenitor) hüceyrələr Müvafiq siqnallarla təmin edildikdə blünərək bir və ya bir neçə hüceyrə tipinə differensiasiya edən differensiasiya olunmamış hüceyrə tipi.

əlaqə Genetikada eyni xromosomdakı iki fərqli lokusun birlikdə irsi olma meyliliyi. İki lokus nə qədər yaxındırsa, aralarındakı **rekombinasiya** tezliyi də o qədər azdır, əlaqələri isə daha çoxdur.

əlaqəni qıran (uncoupler) Daxili mitoxondrialı membrandan və ya xloroplastların tilakoid membranından keçən **proton-hərəkətverici qüvvəni** qıran və beləliklə **ATP sintezini** ingibirləşdirən istənilən təbii birləşmə (məsələn, termogenin zülalı) və ya kimyəvi agent (məsələn, 2,4-dinitrofenil).

ərimə (melting) Baxın **denatürasiya**.

əsas (base) Çox zaman azot saxlayan, turşudan protonu (H⁺) qəbul edə bilən istənilən birləşmə. DMT və RNT-də purin və pirimidinləri də adlandırmaq üçün çox istifadə edilir.

əsas cütü DNT və ya RNT molekulunda iki komplementar nukleotidin onların əsas komponentləri arasındakı hidrogen rabitələri ilə stabilləşmiş assosiasiyası. Adenin timinlə və ya urasillə cütləşir (A•T, A•U), qvanin isə sitozinlə cütləşir (G•C). (Şəkil 4-3b)

əsas histouyğunuq kompleksi (major histocompatibility complex - MHC) I və II sinif MHC molekullarını və antigen təqdimatı üçün lazım olan digər zülalları və bəzi tamamlayıcı zülalları kodlaşdıran bitişik genlər dəsti; siçanlarda *H-2 kompleksi*, insanlarda isə *HLA kompleksi* adlanır. (Şəkil 23-21)

əsas kirpicik Hüceyrədən kənar siqnalları aşkar etmək üçün hissedici orqanoid kimi xidmət edən, demək olar ki, bütün onurğalı hüceyrələrində mövcud olan tək hərəkətsiz kirpicik.

əsas spiral-ilgək-spiral Bax **spiral-ilgək-spiral, əsas**.

F₀F₁ kompleksi Bax **ATP sintezi**

FAD (flavin adenin dinukleotid) Donor molekulundan iki elektronu və məhluldan iki H⁺ qəbul edərək elektron daşıyıcısı kimi fəaliyyət göstərən kiçik üzvi molekuldur. (Şəkil 2-33b)

fagosit Patogenləri və digər hissəcikli antigenləri udma və məhv edə bilən hər hansı hüceyrə. Əsas fagositlər neytrofillər, makrofaqlar və dendrit hüceyrələrdir.

fagositoz Aktin sitoskeletin geniş şəkildə yenidən qurulmasını əhatə edən bir proses nisbətən böyük hissəciklərin (məsələn, bakteriya hüceyrələrinin) eukaryot hüceyrələr tərəfindən mənimsənilməsi prosesi; **reseptor vasitəsi ilə endositozdan** fərqlidir. (Şəkil 17-19)

fenotip Hüceyrənin və ya orqanizmin onun **genotipi** ilə təyin olunan aşkar edilə bilən fiziki və fizioloji xüsusiyyətləridir; həmçinin, müəyyən bir **alel** ilə əlaqəli olan spesifik xüsusiyyətdir.

ferment (enzyme) Spesifik substratın və ya kiçik sayda oxşar substratların daxil olduğu xüsusi bir kimyəvi reaksiyanı kataliz edən zülal.

feromon Bir fərd tərəfindən buraxılan, eyni növün digər fərdlərinin davranışını və ya gen ekspressiyasını dəyişdirə bilən

siqnal molekulu. Maya α və α cütləşmə-tipli faktorlar yaxşı öyrənilmiş nümunələrdir.

fəal daşınma İon və ya kiçik molekulun membrandan keçərək onun qatılıq qradientinə və ya elektrokimyəvi qradientə qarşı ATP hidrolizi ilə idarə olunan zülalla-vasitələnən daşınması. (Cədvəl 11-2, [1]; Cədvəl 11-1)

fəal mərkəz (active site) fermentin substrat molekul(lar)una birləşən və birləşdiyi substratda kimyəvi dəyişilməni təşviq edən xüsusi rayonu. (Şəkil 3-23)

fəallaşma domeni DNT-birləşdirən domenə bağlandıqda transkripsiyanı stimullaşdıran fəallaşdırıcı transkripsiya faktorunun rayonu

fəallaşma enerjisi Kimyəvi reaksiyanı başlamaq (manəni aşmaq) üçün tələb olunan enerjinin daxil olması. Ferment fəallaşma enerjisini azaltmaqla reaksiyanın sürətini qaldırır. (Şəkil 2-3)

fəallaşma ilqəyi Tirozinkinaza zülallarının əksəriyyətinin, fosforlaşarkən kinaza fəallığını artıran tirozin qalıqlarına malik olan rayonu.

FG-nukleoporinlər Nüvə məsamə kompleksinin daxili səthindəki, məsamə quruluşunun bir hissəsini təşkil edən və fenilalanin və glisinlə zəngin olan qısa təkrarlara malik nizamsız qlobulyar domeni olan zülallar. (Şəkil 8-20)

FISH Bax **Fluorescent in situ hibridləşmə**.

fibroblast Kollageni və **hüceyrəxarici matrisanın** digər komponentlərini ifraz edən birləşdirici toxuma hüceyrəsinin ümumi tipi; yaraların yaxşılaşması zamanı və toxuma kulturasında miqrasiya edir və çoxalır.

fibronektin Müxtəlif hüceyrə tiplərində alternativ birləşmə nəticəsində yaranan çoxsaylı izoformlarda meydana gələn zəngin **çox-yapışan (multi-adhesive) matrisa zülalı**. Hüceyrəxarici matrisanın və integrin adgeziya reseptorlarının bir çox digər komponentlərini birləşdirir. (Şəkil 20-33)

flavin adenin dinukleotid Baxın **FAD**.

flippaza Membran lipidlərinin fosfolipid ikiqatlısının bir tərəfindən digər tərəfəyə hərəkətini asanlaşdıran zülalı. (Şəkil 11-15)

fluorescent boyama Xüsusi maraq komponentinə birləşən fluorescent boya ilə nişanlanmış vasitə ilə (məsələn, anticism) hüceyrələri və ya toxumaları müalicə edərək hüceyrə komponentlərini vizuallaşdırmaq üçün və nümunəni fluorescent mikroskopu ilə müşahidə etmək üçün ümumi metod.

flüorescent in situ hibridləşdirmə (FISH) Hüceyrə və toxumalarda spesifik DNT və ya RNT ardıcılığını aşkar etmək üçün bir sıra əlaqəli üsullardan hər hansı biri, bu zaman nümunələrə maraq ardıcılığına hibridləşən floresan problemlə təsir edilir və nümunələr floresan mikroskopu ilə müşahidə edilir.

fosfataza Hidroliz yolu ilə fosfat qrupunu substratdan çıxaran ferment. Fosfozülal fosfatazları (proteinfosfatazalar) bir çox hüceyrə zülalının fəaliyyətini idarə etmək üçün proteinkinazlar ilə birgə fəaliyyət göstərirlər. (Şəkil 3-35)

fosfoanhidrid əlaqələri ATP-dəki γ və β fosfatlar, həmçinin β və α fosfatlar kimi iki fosfat qrupu arasında əmələ gələn **yüksək enerjili əlaqə** (rabitə) növü. (Şəkil 2-31)

fosfodiefir rabitəsi DNT və RNT-də bitişik nükleotidlər arasındakı kimyəvi əlaqə; biri fosfatın 5' tərəfində, digəri isə 3' tərəfində olan iki fosfoefir əlaqəsindən (rabitəsindən) ibarətdir. (Şəkil 5-2)

fosfoinozitidlər Fosforlaşmış inositol törəmələrinə malik olan bir qrup membrana-bağlı lipidlər; bəziləri bir neçə siqnal ötürülməsi yolunda **ikinci mesencer** kimi fəaliyyət göstərir. (Şəkil 15-33 və 16-28)

fosfoqliseridlər Ümumiyyətlə qliserində iki hidrosil qrupuna efişmiş iki yağ asil zəncirindən və fosfata birləşmiş baş qrupdan ibarət olan qliserol 3-fosfatın amfipatik törəmələri; bunlar biyomembranlarda ən çox olan lipidlərdir. (Şəkil 2-20 və 10-8a)

fosfolipaza Fosfolipidlərin hidrofilyar ucunda müxtəlif əlaqələri qıran bir neçə fermentdən biridir. (Şəkil 7-12)

fosfolipaza C (PLC) İki ikinci mesenceri, DAG və IP₃ yaratmaq üçün membran lipidi fosfatidilinozitol 4,5-difosfatı doərayan, G_{aq} və ya G_{ao} tərəfindən fəallaşan membranla assosiasiyada olan fosfolipaza. (Şəkil 15-33 və 15-34a)

fosfolipid Biomembranlarda mövcud olan, **fosfoqliseridlər** və **sfinqolipidlər** də daxil olmaqla əsas lipidlər sinfi. (Şəkil 7-8a, b və 2-20)

fosfolipid ikiqatlısı Fosfolipidlərin polyar baş qruplarının hər iki tərəfdəki sulu mühitə məruz qaldıqları və qeyri polyar yağ asil zəncirlərinin mərkəzdə olduğu iki təbəqəli, vərəq şəklində bir quruluş; bütün biomembranların əsasını təşkil edir. (Şəkil 7-3a, b)

fosforlaşma Fosfat qrupunun şəkər və ya zülal kimi molekula kovalent əlavə edilməsi. ATP-nin hidrolizi çox hallarda fosforlaşma ilə müşayiət olunur, reaksiyanı və hədəf molekuluna kovalent əlavə olunan fosfat qrupunu idarə etmək üçün enerjini təmin edir. Fosforlaşmanı kataliz edən fermentlərə kinazalar deyilir.

fotoelektron nəqli Fotosintezdə sonrakı hadisələri hərəkətə gətirən tilakoid membranı boyunca yük ayrılmasını yaradan işıqla-trənən elektron nəqli. (Şəkil 12-35)

fotosintez Bəzi bakteriyalarda və CO₂-dən karbohidrat istehsal etmək üçün işıq enerjisinin istifadə olunduğu bitki xloroplastlarında, adətən H₂O istifadəsi və O₂ istehsalı ilə baş verən kompleks reaksiyalar seriyası.

fotosistemlər Bütün fotosentetik orqanizmlərdə mövcud olan, xlorofillərə malik olan işıq yığan komplekslərdən və fotoelektron nəqlinin baş verdiyi reaksiya mərkəzindən ibarət olan çoxsaylı zülal kompleksləri. (Şəkil 12-44a)

fototənəffüs ATP-dən istifadə edərək CO₂ əmələ gətirərək CO₂ fiksasiyası ilə (Calvin tsikli) rəqabətdə olan, beləliklə fotosintezin səmərəliliyini azaldan reaksiya yolu. (Şəkil 12-49)

fraqmoplast Bitkilərdə telofaza zamanı əmələ gələn, membranları qız hüceyrələrin plazma membranlarına çevrilən

və tərkibi onların arasındakı yeni hüceyrə divarına çevrilən müvəqqəti bir quruluşdur. (Şəkil 18-46)

funksional komplementasiya Müəyyən bir mutantdakı qüsurlu genin funksiyasını bərpa edən təbii tipli geni müəyyənləşdirmək üçün DNT kitabxanasının yoxlanılması (skrininqi) qaydası. (Şəkil 6-16)

G zülalla-cütləşən reseptor (GPCR) Epinefrin, qlükaqon və maya cütləşmə faktorlarının reseptorları daxil olmaqla hüceyrə-səthi siqnal reseptorlarının böyük bir sinfinin nümayəndəsi. Bütün GPCR-lərdə yeddi transmembran spiral var. Ligandın birləşməsi cütləşmiş trimer G zülalının fəallaşmasına gətirib çıxarır və bununla da hüceyrədaxili siqnal yollarını inisiyasiya edir. (Şəkil 15-14 və 15-15)

G₀, G₁, G₂ fazaları Bax hüceyrə tsikli

G₁ CDK-lər Hüceyrə tsiklinə girişi təşviq edən Tsiklin-CDK kompleksləri

G₁/S faza CDK-lər G₁ CDK-lərlə birlikdə hüceyrə tsiklinə girişi təşviq edən Tsiklin-CDK kompleksləri

gamet Sələf cinsiyyət hüceyrələrinin **meyozu** ilə əmələ gələn ixtisaslaşmış haploid hüceyrə (heyvanlarda ya sperma, ya da yumurta); cinsi çoxalmada sperma ilə yumurtanın birləşməsi yeni fərdin inkişafına başlanğıc verir.

gecikən endosom Bax endosome.

gecikən zəncir Replikasiya zamanı, iki qızı DNA zəncirinin **replikasiya çəngəlinə** 5'→3' istiqamətində sintez olunan və daha sonra birləşdirilən qısa, kəsikli seqmentlər (Okazaki fraqmentləri) kimi yaranan biri. Həm də **aparıcı zəncirə** baxın. (Şəkil 5-29)

gen Məlumatı nəsildən nəsilə ötürən fiziki və funksional irsiyyət vahidi. Molekulyar baxımdan, funksional polipeptidin və ya RNT-nin istehsalı üçün lazım olan **ekzonlar**, **intronlar** və **transkripsiyaya nəzarət rayonları** da daxil olmaqla bütün DNT ardıcılığıdır. Həmçinin **transkripsiya vahidinə** baxın.

gen ailəsi Ümumi əcdad geninin təkrarlanması nəticəsində və nükleotid ardıcılığındakı kiçik dəyişikliklərin səbəb olduğu sonrakı divergensiyə nəticəsində yaranan genlər toplusu. (Şəkil 8-21)

gen çevrilməsi DNT ardıcılığının eyni hüceyrədəki ikinci homoloji DNT ardıcılığına çevrildiyi DNT rekombinasiya tipi.

gen ekspressiyası Gendə kodlaşdırılan məlumatların müşahidə edilə bilən **fenotipə** (ən çox halda zülalın istehsalına) çevrildiyi ümumi proses.

gen nəzarəti Gen ekspressiyasının tənzimlənməsində iştirak edən bütün mexanizmlər. Ən çox yayılmışı transkripsiyanın tənzimlənməsidir, hərçənd ki, mRNT-nin prosesinqinə, stabilizməsinə və translyasiyasına təsir edən mexanizmlər də gen ekspressiyasına nəzarətə kömək edir.

gen nokautu Xüsusi bir genin başqa bir normal orqanizmdə işləyən (pozulmuş) bir alleli ilə əvəz edilməsi ilə selektiv fəalsızlaşması.

genetik kod DNT və ya RNT-dəki nükleotid tripletlərin (kodonların) zülallarda amin turşularını təyin etdiyi qaydalar dəsti. (Cədvəl 5-1)

genetik komplementasiya Haploid hüceyrələrdən yaranan, hər biri kodlaşdırdığı zülalın eyni biokimyəvi yolda tələb olunduğu fərqli gendə mutasiyanı daşıyan diploid heteroziqot hüceyrələrdə təbii formalı funksiyanın bərpası. Komplementasiya analizləri eyni mutant fenotipə malik olan iki mutantdakı resessiv mutasiyaların eyni və ya fərqli genlərdə olub olmadığını müəyyən edə bilər. (Şəkil 6-7)

geniş-genom miqyasında assosiasiya tədqiqatları (genome-wide association study - GWAS) İnsan xəstəlikləri və ya genetik heterogenlik nümayiş etdirən və ya poligen ola bilən digər xüsusiyyətlər üçün genlərin müəyyənləşdirilməsində əlaqə qeyri-bərabərliyinə əsaslanan statistik metod.

genom Hüceyrə və ya orqanizm tərəfindən daşınan ümumi genetik məlumat.

genomika Fərqli orqanizmlərdən alınan tam genom ardıcılığının müqayisəli analizi və gen ekspressiyasının qlobal nümunələrinin təyin edilməsi; növlər arasındakı təkamül əlaqələrini qiymətləndirmək və orqanizmin yaratdığı RNT-lərin sayını və ümumi tiplərini proqnozlaşdırmaq üçün istifadə olunur.

genomun saxlanması genləri DNT zədələnməsini aşkarlayan və ya bərpa (reparasiya) edən genlər.

genotip Fərdi hüceyrənin və ya orqanizmin bütün genetik quruluşu, adətən bir və ya daha çox xüsusi lokusdakı xüsusi allellərə vurğu etmək.

geriyə transkriptaza Ferment, retroviruslarda rast gəlinən, bir zəncirli RNT templeytindən iki-zəncirli DNT-nin sintez edildiyi kompleks reaksiyanı kataliz edən ferment. (Şəkil 8-14)

glia Sinir toxumasının neyronlardan fərqli olaraq elektrik impulsun keçirməyən dəstəkləyici hüceyrələri; bunlara *glial hüceyrələr* də deyilir. Dörd növdən *Şvann hüceyrələri* və *oligodendrositlər* **miyelin qabıqları** əmələ gətirirlər, *astrotsitlər* **sinaps** əmələ gəlməsində fəaliyyət göstərir və *mikroqliyalar* **trofik faktorları** yaradırlar və immunitet reaksiyalarına xidmət edirlər. (Şəkil 22-17)

glikogen Yalnız qlükoza vahidlərindən ibarət olan, heyvanlarda əsas saxlama karbohidratı olan çox uzun, şaxələnməmiş polisaxarid; əsasən qaraciyər və əzələ hüceyrələrində tapılmışdır.

GLUT zülalları Qlükozanı (və bir neçə digər şəkəri) hüceyrə membranları boyunca qatılıq qradientinin azalan istiqamətində daşıyan, membrana sarıyan 12 spirallı olan transmembran zülal ailəsi. (Şəkil 11-5)

GLUT4 saxlama qovucuğu (GLUT4 storage vesicle - GSV) Membranında GLUT4 daşıyıcıları olan hüceyrədaxili qovucuq. İnsulinin stimullaşdırılması ilə GSV-lər hüceyrə membranı ilə birləşir və GLUT4-ləri hüceyrə xaricindəki boşluğa məruz qoyur, onlardan qlükozanı sitosola daşıyırlar.

GTP-aza super ailəsi GDP ilə birləşmiş olan qeyri fəal vəziyyətlə GTP birləşmiş fəal vəziyyət arasında dövrə edən

hüceyrədaxili keçirici zülalların qrupu. **Trimer (böyük) G zülallarının** G α subvahidini, **monomer (kiçik) G zülallarının** (məs., Ras, Rab, Ran və Rac) və zülal sintezində istifadə olunan müəyyən **elonqasiya faktorlarını** əhatə edir. (Şəkil 3-34)

haploid Hər cüt homoloji xromosomun yalnız birinə və bu səbəbdən hər genin və ya genetik lokusun yalnız bir nüsxəsinə (allelə) sahib olan orqanizmə və ya hüceyrəyə aid edilir. Qamətlər və bakteriya hüceyrələri haploiddir. Həmçinin **diploidə** axın.

Hechoq (Hedgehog - Hh) Geniş müxtəliflikdə heyvan növlərində əksər toxuma və orqanların inkişafının vacib tənzimləyiciləri olan ifraz olunan siqnal zülalları ailəsi. Hh siqnal ötürmə komponentlərindəki mutasiyalar insan xərçəngi və doğuş qüsurları ilə nəticələnir. Pəç olunmuş (Patched) transmembran reseptor zülalıdır. (Şəkil 16-32, 16-33 və 16-34)

heksoza Altı karbonlu monosaxarid.

helikaza (1) İki zənciri ayırmaq (açmaq) üçün ATP hidrolizindən ayrılan enerjiden istifadə edərək DNT duplesi boyunca hərəkət edən istənilən bir ferment; DNT replikasiyası üçün tələb olunur. (2) Translyasiyanın inisiasiyası zamanı mRNT-də ikincil quruluşları açma bilən müəyyən inisiasiya faktorlarının fəallığı.

HER ailəsi İnsanlarda siqnal molekullarının epidermal boy faktoru (EGF) ailəsi nümayəndələrinə birləşən **reseptor tirozinkinaza (RTK)** sinfinə aid olan reseptorlar qrupu. HER2 zülalının həddindən artıq ekspresiyası bəzi süd vəzi xərçənglərinin yaranması ilə əlaqələndirilir. (Şəkil 16-17)

heteroxromatin İnterfaza zamanı yüksək dərəcədə qatılaşdırılmış və transkripsiya baxımından qeyri fəal olan xromatinin rayonları. (Şəkil 8-28a)

heterotrimer G zülalları Alfa, beta və qamma polipeptidlərindən ibarət olan, müəyyən hüceyrə-səth reseptorlarla birləşən və fəallaşan GTPaza keçirici zülallar qrupu. Fəallaşdıqda, heterotrimer G zülalları GDP-ni buraxır və GTP-ni birləşdirir.

heterozigot Müəyyən bir genin iki fərqli allelinə malik olan diploid hüceyrə və ya orqanizmə aid edilir.

hədəf ardıcılığı Zülalı hüceyrə daxilində müəyyən bir yerə yönəldən zülal daxilindəki nisbətən qısa amin turşusu ardıcılığı; həm də *siqnal peptidi*, *siqnal ardıcılığı* və *mənimsəmə hədəfləmə ardıcılığı* adlanır. (Cədvəl 13-1)

həyəcanlandırıcı sinaps Neyrotransmitterin təsir potensialının yaranmasına üstünlük verən postsinaptik hüceyrənin depolyarlaşmasını induksiya etdiyi sinaps.

hibridləşmə, nuklein turşusu İki RNA zəncirindən və ya bir DNT və bir RNT zəncirindən ibarət ola bilən iki-zəncirli molekulları əmələ gətirmək üçün iki **komplementar** DNT zəncirinin assosiasiyası. Xüsusi DNT və ya RNT ardıcılığını aşkar etmək üçün müxtəlif yollarla eksperimental olaraq istifadə olunur.

hibridoma Ölmsüz olan və monoklonal anticism istehsal edən hibrid hüceyrələrin klonu; normal anticism istehsal edən B

hüceyrəsinin miyeloma hüceyrəsi ilə qovuşması nəticəsində əmələ gəlir. (Şəkil 4-6)

hidrofil Su ilə effektiv qarşılıqlı əlaqədə olma. Həmçinin **polyara** baxın.

hidrofob Su ilə təsirli qarşılıqlı əlaqə qurmamaq; ümumiyyətlə, suda az həll olunmaq və ya tamamilə həll olunmamaq. Həmçinin **qeyri-polara** baxın.

hidrofob təsir Qeyri-polyar molekulların və ya molekulların hissələrinin su ilə birbaşa qarşılıqlı təsirlərini minimuma endirmək üçün sulu məhlulda bir-biri ilə birləşmə meyli; ümumiyyətlə *hidrofob qarşılıqlı təsir* və ya *əlaqə (rabitə)* adlanır. (Şəkil 2-11)

hidrogen əlaqəsi (rabitəsi) Qismən mənfə yük daşıyan atom (ümumiyyətlə oksigen və ya azot) ilə qismən müsbət yük daşıyan hidrogen atomu arasındakı qeyri-kovalent qarşılıqlı əlaqə. Zülalların konformasiyasını sabitləşdirməkdə və nuklein turşusu zəncirləri arasında əsas cütlərinin yaranması üçün vacibdir. (Şəkil 2-8)

hiperpolarlaşma Normal hada sakitlikdə olan hüceyrənin plazma membranı boyunca mövcud olan sitozol üzündə mənfə elektrik potensialının qiymətinin artması, daha çox mənfə olan membran potensialı ilə nəticələnir.

hipertonik Suyun osmos təzyiqi ilə hüceyrələrdən çıxmasına səbəb olacaq qədər duz qatılığı yüksək olan xarici məhlula aid edilir.

hipotonik Suyun osmos yolu ilə hüceyrələrə keçməsinə səbəb olacaq qədər duz qatılığı aşağı olan xarici məhlula aid edilir.

Hippo yolu Toxumaların kontekstində hüceyrələrin böyüməsini idarə edən siqnal ötürülməsi yolu.

histon Nükleosomdakı DNT ilə əlaqəli olan, bütün eukaryotik hüceyrələrin xromatinində olan bir neçə kiçik, yüksək dərəcədə konservativ əsas zülallardan biridir. (Şəkil 8-24)

Holliday quruluşu DNT-nin dörd DNT zənciri ilə rekombinasiyasında bir aralıq vasitə (intermediat). (Şəkil 5-42)

homeodomen Çoxsaylı inkişaf əhəmiyyətli transkripsiya faktorlarında tapılmış konserativ (saxlanılmış) DNT-birləşdirən **quruluş motivi** (spiral-dönmə-spiral).

homolog Bax **homoloqlara (homologous)** See **homologs.**

homologiya Ortaq bir təkamül mənşəyini əks etdirən xüsusiyyətlərdəki oxşarlıq (məsələn, zülal və nuklein turşusu ardıcılığı və ya orqanın quruluşu). Homologiya nümayiş etdirən zülallar və ya genlər homoloji və bəzən homoloq adlandırılır. Bunun əksinə olaraq, *anologiya* ümumi bir təkamül mənşəyini əks etdirməyən quruluş və ya funksiyadakı oxşarlıqdır.

homologlar Diploid hüceyrədə mövcud olan hər bir morfoloji tip xromosomun ana və ata nüsxələri; eyni zamanda *homoloq* adlanır.

homoloji xromosom Diploid hüceyrədə mövcud olan hər morfoloji tip xromosomun iki nüsxəsindən biri; homoloq da deyilir. Hər homoloq fərqli bir valideynden əldə edilir.

homoloji rekombinasiya Bax **rekombinasiya.**

homoloq Ortaq əcdadı bölüşən və bu səbəbdən ardıcılığı və / və ya quruluşu ilə başqa bir zülalə oxşar olan zülal.

homoziqot Müəyyən bir genin iki eyni alleli olan diploid hüceyrə və ya orqanizmə aid edilir.

hormon Ümumiyyətlə, hədəf hüceyrələrdə spesifik reaksiyaları induksiya edən hər hansı bir hüceyrəxarici maddə, xüsusilə, qan daillində dolaşan və **endokrin** siqnallara vasitəçilik edən siqnal molekulları.

hüceyrə bölünməsi Hüceyrənin iki qız hüceyrəyə ayrılması. Ali eukariotlarda buraya nüvənin bölünməsi (mitoz) və sitoplazmanın bölünməsi (sitokinez) daxildir. Çox zaman mitozu həm nüvənin həm də sitoplazmanın bölünməsi kimi hesab edirlər.

hüceyrə divarı Hüceyrəni qoruyan və onun formasını saxlayan, plazma membranının yanında yerləşən, hüceyrə xaricində ixtisaslaşmış sərt bir matrisa; göbələklərin, bitkilər və prokaryotların əksəriyyəti üçün məşhurdur, əksər çoxhüceyrəli heyvanlarda yoxdur. (Şəkil 20-41)

hüceyrə xətti Hüceyrələrin sonsuz bir müddətə böyüməsinə imkan verən genetik dəyişikliyə məruz qalan bitki və ya heyvan mənşəli, kultura olunan hüceyrələrin populyasiyası. (Şəkil 4-1b)

hüceyrə kommunikasiyası İnformasiyanın siqnal molekulları və ya ionlar şəkilində bir hüceyrədən digər hüceyrəyə ötürülməsi.

hüceyrə qovşaqları hüceyrə səthindəki hüceyrələrin bir-birinə və ya hüceyrə-xarici matrisaya qoşulduğu ixtisaslaşmış rayonlar. (Şəkil 20-11; Cədvəl 20-3)

hüceyrə polyarlığı Hüceyrələrin öz daxili quruluşlarını təşkil etmə qabiliyyəti, nəticədə hüceyrə şəklini dəyişir və plazma membranının fərqli zülal və lipid tərkibli rayonları yaranır.

hüceyrə səthi reseptoru Plazma membranına batan (daxil olan) ş liqand adlanan hüceyrə-xarici molekul(lar)la birləşən hüceyrə-xarici domenə malik zülal. Çoxsaylı hüceyrə səth reseptorları hüceyrəxarici siqnal molekullarına birləşir, bu cürə birləşmə reseptorda konformasiya dəyişikliklərini əmələ gətirir və reseptorun hüceyrədaxili domeninin fəaliyyətini dəyişdirir və siqnal hüceyrənin daxilinə ötürülür.

hüceyrə ştammi Məhdud yaşama müddətinə malik olan və ümumiyyətlə 25-50 nəsildən sonra ölən, bitki və ya heyvan mənşəli orqanizmlərin, kultura olunan hüceyrələrinin populyasiyası. (Şəkil 4-1a)

hüceyrə tənəffüsü Bax **tənəffüs**.

hüceyrə tsikli Eukariotik hüceyrələrin öz xromosomlarını ikiləşdirdiyi və ikiyə bölündüyü hadisələrin nizamlanmış ardıcılığı. Hüceyrə tsikli normal halda dörd fazadan ibarətdir: G₁ faza, DNT sintezindən öncə baş verir; S faza, DNT replikasiyasının baş verdiyi faza; G₂ DNT sintezindən sonra baş verən faza; M faza. Hüceyrə bölünməsinin baş verdiyi və iki qız hüceyrənin əmələ gəldiyi faza. Müəyyən şəraitlər altında, hüceyrələr erkən G₁ fazasında hüceyrə tsiklindən çıxır və bölünməyən hüceyrələr kimi G₀ fazasında qalırlar. (Şəkil 1-16 və 19-1)

hüceyrə-adgeziya molekulları (CAM) Hüceyrələrin plazma membranında olan və başqa hüceyrələrdəki oxşar zülallara birləşən, bu yolla hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını həyata keçirən zülallar. CAM-ların dörd əsas sinifinə kadherinlər, IgCAM-lar, integrinlər və selektinlər daxildir. (Şəkil 20-1, 20-2)

hüceyrə-adgeziya zülalları Bax **hüceyrə-adgeziya molekulları (CAM)**.

hüceyrəxarici matrisa (ECM) Hüceyrələr tərəfindən öz aralarındakı boşluqlara ifraz olunan zülalların və polisaxaridlərin mürəkkəb şəbəkəsi. Toxumalarda quruluşun saxlanılmasını təmin edir və hüceyrələrin inkişafına və biyokimyəvi funksiyalarına təsir göstərə bilər. (Cədvəl 20-1)

hyaluronan Hüceyrə xaricindəki matrisanın əsas tərkib hissəsi olan böyük, yüksək dərəcədə hidratlaşmış qlikosaminoglikan (GAG); həmçinin *hialuron turşusu* və *hialuronat* adlanır. Bir çox birləşdirici toxuma tipləri üçün sürtünmə keyfiyyəti ilə yanaşı sərtlik və möhkəmlik verir. (Şəkil 20-29a)

xarici mitokondrial membran Mitokondriyanın hamar xarici sərhədidir.

xərçəng Hüceyrələri böyüyərək normal hala nisbətən sürətlə bölünən, yaxınlıqdakı ytoxumaları “zəbt” edən və çox hallarda digər sahələrə yayılan (metastaz), müxtəlif bəd xassəli şişlərin istənilən birinin ümumi adlandırılması

xlorofillər Fotosintezdə kritik əhəmiyyətli olan işıq-udan porfirin piqmentləri qrupu. (Şəkil 12-39)

xloroplast Bitki hüceyrələrində ikiqat membranla əhatə olunmuş və içərisində xlorofil olan membranlara (tirakoidlər) malik olan fotosintezin işıq-udan reaksiyalarının baş verdiyi xüsusi orqanoid. (Şəkil 12-37)

xolesterin Dörd halqalı steroid quruluşa malik olan, halqaların birində hidroksil qrupu olan; bir çox eukaryotik membranın tərkib hissəsi və steroid hormonlarının, öd turşularının və D vitamininin sələfidir. (Şəkil 7-8c)

xoşxassəli (şiş) Normal hüceyrələrə çox oxşar olan hüceyrələrdən ibarət olan şişə deyilir. Xoşxassəli şişlər tuxymada yarandıqları yerdə qalırlar, amma fasiləsiz davam edən böyümələri ilə ziyanlı olurlar. Həmçinin bax **bədxassəli**.

xromatid Hüceyrə tsiklinin S fazasında əmələ gələn, təkrarlanan xromosomun digər nüsxəsinə bağlanan, həmçinin bacı xromatid adlanan replikasiya etmiş xromosomun bir nüsxəsi. Mitoz zamanı iki xromatid ayrılır və hər biri iki qızı hüceyrədən birinin xromosomuna çevrilir. (Şəkil 8-35)

xromatin Ekaryotik xromosomların əmələ gəldiyi DNT, histonlar və histon olmayan zülalların kompleksi. Mitoz zamanı xromatinin kondensasiyası görünən metafaza xromosomlarını verir. (Şəkil 8-23 və 8-25)

xromatoqrafiya, maye Molekullar qarışığını (məsələn, fərqli zülalları) kütlələrinə (gel filtrasiya xromatoqrafiyası), yüklərinə (ion mübadiləsi xromatoqrafiyası) və ya digər molekullara xüsusi bağlanma qabiliyyətinə görə ayırmaq üçün biokimyəvi üsullar qrupu. (Şəkil 3-38)

xromosom Eukaryotlarda genetik materialın tək, xətti ikiqat zəncirli DNA molekulundan və onunla əlaqəli zülallardan ibarət olan quruluş vahidi. Əksər prokaryotlarda genetik materialın əsas hissəsini tək dairəvi bir iki-zəncirli DNT molekulu təşkil edir. Xromatin və karyotipə də baxın.

IgCAM-lər Çoxsaylı immunoqlobulin (Ig) domenini əhatə edən və Ca^{2+} -dan asılı olmayan hüceyrə-hüceyrə qarşılıqlı təsirlərini təşkil edən hüceyrə adgeziya molekulları ailəsi. IgCAM-lər müxtəlif toxumalarda istehsal olunur və **sıx qovşaqların** tərkib hissələridir. (Şəkil 20-2)

IP₃ Bax inositol 1,4,5-trisfosfat.

ifrazat yolu Həll olunan və membran zülallarının, plazmatik membran zülallarının və sonda hüceyrədən kənara ifraz olunan zülalların sintezi və endoplazmatik şəbəkəyə, Qolgiyə və lizozomlara lokallaşdırılmış çeşidlənməsi üçün hüceyrə yolu. (Şəkil 14-1)

iki yönümlü (orientasiyalı) Əks şpindel qütblərindən uzanan mikroborucuqlara **bacı xromatidlərin** kinetoxorlarının yapışdığını göstərir.

ikiqat zəncirli DNT İki polinükleotid zəncirinin bir-birinə antiparalel olduğu və komplementar əsasların hidrogen rabitələri ilə bir-birinə sarıldığı hüceyrə DNT-si üçün ən geniş yayılmış üç ölçülü quruluşdur. (Şəkil 5-3)

ikiqat-zəncirli qırıq DNT-nin hər iki fosfat-şəkər özülünün kəsildiyi yerdəki DNT zədələnməsi forması.

ikinci quruluş Zülallarda, polipeptid zəncirinin, α spiral və β dönmələr daxil olmaqla müntəzəm quruluşlarda lokal bükülməsi.

ikinci messenger Kiçik hüceyrədaxili molekul (məsələn, cAMP, cGMP, Ca^{2+} , DAG və IP₃), hüceyrə xaricindəki siqnalın bağlanması cavab olaraq qatılığı artır (və ya azalır) və siqnal ötürülməsində işləyir. (Şəkil 15-6)

ilkin (əsas) transkript Eukaryotlarda, **intron** və **ekzonlara** malik olan ilkin RNT məhsulu, DNT-nin transkripsiyası ilə istehsal olunur. Bir çox ilkin transkriptlərin fizioloji cəhətdən fəal RNT növlərini yaratmaq üçün RNT prosesinqindən keçməsi lazımdır.

ilkin quruluş Zülallarda amin turşularının polipeptid zənciri daxilində xətti düzülüşü (ardıcılığı).

iltihab İmmun sistemi hüceyrələrinin fəallaşmasına və onların təsir olunmuş sahəyə cəlb olunmasına səbəb olan zədələnmə və ya yoluxmaya loal cavab verən reaksiya; dörd klassik əlamətlərlə - qızartı, şiş, istilik və ağrı ilə qeyd olunur. (Şəkil 23-7)

immünçökdürmə (immunoprecipitation - IP) Hədəf molekulunu böyük aqreqata çarpaz bağlayaraq məhluldakı mürəkkəb qarışıqda olan hədəf molekulunu digər molekulardan ayırmaq üçün anticislərdən istifadə edən və asanlıqla ayrılma və analiz edilə bilən həll olunmayan qatı maddəni (çöküntünü) əmələ gətirən metod.

immunoblotinq Elektroforez ilə ayrılan zülalların nitroseluloza və ya digər membrana yapışdırıldığı (keçirildiyi)

və daha sonra nişanlanmış anticislərin istifadəsi ilə spesifik zülalların aşkar edildiyi hibridləşmə metodu; *Vestern blotinq* də adlandırılır.

immunoqlobulin (Ig) Tama differensasiya olunmuş **B hüceyrələri** tərəfindən istehsal olunan, anticism kimi fəaliyyət göstərə bilən zərdab zülallarından hər hansı biri; **B hüceyrə reseptorunun** bir hissəsi olaraq membrana bağlı formada da meydana gəlir. İmmunoqlobulinlər fərqli funksional xüsusiyyətləri nümayiş etdirən beş əsas sinifə (izotiplərə) bölünürlər. Həmçinin anticismə baxın. (Şəkil 23-9 və 23-10)

immunoqlobulin (Ig) bükülməsi T hüceyrə reseptoru anticislərdə və antigenlə xüsusi tanıma ilə birbaşa əlaqəli olmayan çoxsaylı eukaryot zülallarda tapılan, təkamülcə qədim quruluş motifi; *Ig domeni* də deyilir. (Şəkil 23-13b)

in situ hibridləşdirmə Hüceyrələrdə və toxumalarda spesifik DNT və ya RNT ardıcılığını, maraq ardıcılığına hibridləşən bir zəncirli RNT və ya DNT problemləri ilə nümunələri hibridləşdirərək müəyyən etmək üçün hər hansı bir metod. (Şəkil 6-25)

in vitro Hüceyrənin xaricində aparılan təcrübə və ya manipulyasiyalara (hüceyrə fraqmentləri, lizatlar və ya təmizlənmiş molekul daxildir) və yaxud hüceyrələrdən petri qabında və ya sınaq tyubunda yaradılmış süni mühitdə, sözün həqiqi mənasında *şüşə qablarda* yerləşdirilməsinə aid edilir.

in vivo Hüceyrə fraqmentləri, lizatlar və ya təmizlənmiş molekulardan istifadə olunaraq aparılan təcrübələrdən fərqli olaraq intakt orqanizm və ya intakt hüceyrə kontekstində, sözün əsl mənasında, *canlı orqanizmdə* aparılan təcrübələrə və ya manipulyasiyalara aid edilir.

induksiya olunan pluripotent sütun (iPS) hüceyrələr Bir və ya daha çox transkripsiya faktorunun və ya pluripotentlik verən digər genlərin ekspressiyası ilə diferensasiya etmiş hüceyrə tipindən əmələ gələn embrion sütun hüceyrəsinin xüsusiyyətlərinə malik olan məməli hüceyrəsi.

ingibitor sinapsı Neyrotransmitteri postsinaptik hüceyrənin hiperpolyarlaşmasına səbəb olan və təsir potensialının yaranmasını mane olan sinaps.

inisiyasiya faktoru (initiation factor - IF) Ribosomların və mRNT-nin müvafiq assosiasiyasını təşviq edən və translyasiyanın başlaması üçün tələb olunan (zülal sintezi) qeyri-ribosomal zülal qrupundan biri. (Şəkil 5-24)

inisiyasiya, transkripsiya RNT polimerazının DNT zəncirlərini ayırması və RNT-nin fəal saytına daxil olan DNT zəncirini templeyt kimi istifadə edərək RNT zəncirinin ilk fosfodiefir əlaqəsini sintez etməsi. (Şəkil 5-11)

inozitol 1,4,5-trisfosfat (IP₃) Bəzi hüceyrə səthindəki reseptorların stimullaşdırılmasına cavab olaraq membran lipidi fosfatidilinozitol 4,5-difosfatın parçalanması ilə istehsal olunan hüceyrədaxili ikinci messenger. Endoplazmik şəbəkədə saxlanılan Ca^{2+} -un buraxılmasını işə salan IP₃, bioloji cəhətdən fəal olan **fosfoinozidlərdən** biridir. (Şəkil 15-6; Cədvəl 15-4)

insulin Mədəaltı vəzin β -adacıq hüceyrələrində əmələ gələn zülal hormonu, qlükozanın əzələ və yağ hüceyrələrinə qəbulunu (sorulmasını) stimullaşdırır; qanda qlükozanın səviyyəsini tənzimləməyə kömək edən qlükaqon ilə fəaliyyət göstərir. İnsulin eyni zamanda bir çox hüceyrə üçün boy (böyümə) faktoru rolunu oynayır.

inteqral membran zülalı Membranda fosfolipid ikiqatlısının özəyinə daxil edilmiş bir və ya daha çox hidrofob seqmenti olan hər hansı bir zülal; bunlara *transmembran zülal* da deyilir. (Şəkil 13-10)

inteqrinlər Adgeziya (yapışqan) reseptorları kimi fəaliyyət göstərən, hüceyrə-matrisa yapışmasını təşviq edən və ya hüceyrə-adgeziya molekulları kimi fəaliyyət göstərən, hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını təşviq edən heterodimer transmembran zülalların böyük bir ailəsi. (Cədvəl 20-4)

interfaza Bir M (mitoz) faza ilə digər M faza arasında olan, G1, S və G2 fazaları da daxil olmaqla, hüceyrə tsiklinin uzun dövrü. (Şəkil 1-16 və 19-1)

interferonlar (IFN) Hədəf hüceyrələrində hüceyrə-səth reseptorlarına birləşən, antiviral vəziyyətin yaranmasına və ya immun cavabı üçün əhəmiyyətli olan digər hüceyrə cavablarının yaranmasına səbəb olan gen ekspressiyasında dəyişilmələri induksiya edən sitokinlərin kiçik qrupu.

interleykinlər (IL) T-hüceyrələrinin və immun sisteminin anticism istehsal edən B hüceyrələrinin çoxalmasını və funksiyasını təşviq edən, iltihaba cavab olaraq buraxılan sitokinlərin böyük bir qrupu.

interneyronlar Başqa sinir hüceyrələrindən siqnal alan və öz növbəsində siqnalı digər sinir hüceyrələrinə ötürən sinirlər.

intron RNT prosessinqi zamanı **ilkin (əsas) transkriptin** (və ya onu kodlaşdıran DNT-nin) splayinqi nəticəsində çıxarılaq atılan və yetkin, funksional mRNT, rRNT və ya tRNT-yə daxil olmayan hissəsi.

ion qarşılıqlı təsirlər Müsbət yüklü ion (kation) və mənfi yüklü ion (anion) arasındakı qeyri-kovaleent qarşılıqlı əlaqə; ümumilikdə *ion rabitəsi* adlanır.

irsiyyət Genetik olaraq təyin olunmuş xüsusiyyətlərin bir nəsiləndən digərinə ötürülməsi.

izoelektrik nöqtə (pI) Həll olmuş zülalın və ya digər potensial yüklü molekulun xalis yükü sıfıra bərabər olan və bu səbəbdən də elektrik sahəsində hərəkət etməyən məhlulunun pH-ı. (Şəkil 3-39)

izoforma Amin turşusu ardıcılığı bir qədər fərqlənən və ümumi fəaliyyətləri oxşar olan eyni zülalın bir neçə formasından biridir. İzofomlar fərqli genlər tərəfindən və ya əsas transkriptində alternativ splayinqə uğrayan tək bir gen tərəfindən kodlaşdırıla bilər.

izotonik Həll olan maddənin qatılığının hüceyrələrin daxilində və ya xaricində suyun dəqiq hərəkətinə səbəb olmayan məhluluna istinad edilir.

JAK kinaza Sitokin reseptorlarının sitozol domeninə birləşən və sitokin birləşdikdən sonra fəallaşdırılan zülal tirozinkinaz sinfi.

JAK/STAT yolu Bir sıra sitokin reseptoru tərəfindən istifadə olunan hüceyrə siqnal yolu, burada JAK kinaza reseptorla əlaqəli olan STAT transkripsiya faktorunu fosforlaşdırır və transkripsiyayı fəallaşdırmaq üçün nüvəyə hərəkət etmək üçün induksiya edir.

kadherinlər Adheren qovşaqlara və desmosomlara aqreqasiya olunan və Ca^{2+} -dan asılı olan hüceyrə-hüceyrə homofil qarşılıqlı əlaqələrə vasitəçi olan dimer **hüceyrə-adgeziya molekulları** ailəsi. (Şəkil 202-2)

kalmodulin Dörd Ca^{2+} ionunu birləşdirən kiçik tənzimləyici sitozol zülalı. Ca^{2+} /kalmodulin kompleksi çox zülallara birləşərək onları ya fəallaşdırır ya da ingibirləşdirir. (Şəkil 3-33)

Kalvin tsikli Bax **karbon fiksasiyası**.

kanallar Suyu, ionları və ya kiçik hidrofilyk molekulları qatılıq və ya elektrik potensialı qradientlərinin azalan istiqamətində aşağıya doğru membranlardan keçirən membran zülalları.

kapsid Virus nuklein turşusunu örtən, bir və ya daha artıq zülalın çoxsaylı nüsxələrindən ibarət olan **virusun** xarici zülallı örtüyü.

karbohidrat Müəyyən polisaxaridlərin və ya onlardan törəmiş birləşmələrin ümumi adlandırılma forması olub adətən ümumi bir formulaya malikdir (CH₂O)_n. Bu birləşmənin əsas tipi heyvan hüceyrələrində enerjinin ehtiyat saxlanılmasında və təmin edilməsində istifadə edilir. (Şəkil 2-18)

karbohidrogen Yalnız karbon və hidrogen atomlarında əmələ gələn hər hansı birləşmə.

karbon fiksasiyası Fotosintez zamanı CO₂-ni karbohidratlara qədər çevirən (fiksasiya edən) əsas metabolik yoldur, buna *Kalvin tsikli* də deyilir. O dolayı yolla işıqdan asılıdır, amma həm işıqda həm də qaranlıqda baş verə bilər. (Şəkil 12-48)

karsinogen Hüceyrələr və ya orqanizmlər məruz qalarkən xərçəngin əmələ gəlməsinə səbəb olan istənilən kimyəvi və fiziki agent

karyoferin Nüvə nəqliyyat zülalları ailəsinin biri olub **importin, exportin** və ya bəzən hər ikisi kimi fəaliyyət göstərir. Hər karyoferin, nüvə daxilinə və ya xaricinə hərəkət edən yük zülallarında spesifik siqnal ardıcılığına bağlıdır.

karyotip Eukaryotik hüceyrənin bütün **metafaza** xromosomlarının sayı, ölçüləri və formaları. (Fəsil 8 açılış şəkli)

kaspazlar Qurğalılarda apoptozda işləyən və hər bir tipi növbəti tipi fəallaşdıran kaskad şəkilində fəaliyyət göstərən, zülal-parçalayan fermentlərinin (proteazlar) bir sinfi. (Şəkil 21-35 və 21-40)

katabolizm Hüceyrədə, adətən enerjinin sərbəst buraxılması ilə müşayiət olunan, mürəkkəb molekulların daha sadə molekullara parçalanmasıdır. *Anabolizm*, daha sadə molekullardan mürəkkəb molekulları sintez etmək üçün enerjinin istifadə olunduğu əks prosesdir.

katalizator Quruluşunda daimi qalan bir dəyişiklik etmədən kimyəvi reaksiya sürətini artıran maddədir. Fermentlər katalitik fəallığa malik olan zülallardır və ribozimlər katalizator kimi fəaliyyət göstərə bilən RNT-lərdir. (Şəkil 3-22)

kation Mənfi yüklənmiş iondur

kDNT (komölementar DNT) Geriyə transkriptaza yolu ilə mRNT molekulundan nüsxəsi çıxarılan, ona görə də genom DNT-də olan intronlara malik olmayan DNT molekuludur.

keçid vəziyyəti kimyəvi reaksiya zamanı sistem özünün ən yüksək enerji səviyyəsində olarkən reagentlərin vəziyyəti, bu həmçinin **keçid-vəziyyəti intermediatı** kimi də adlanır.

kemiosmozis Bu prosesi və bunun nəticəsində membranın üzərindəki elektrokimyəvi proton qradienti (pH üstə gəl elektrik potensialı), ATP sintezi kimi enerji tələb edən bir prosesi idarə etmək üçün istifadə olunur; bununla həmçinin *kemiosmotik cütləşmə* də deyilir. Proton hərəkətverici qüvvəyə də baxın. (Şəkil 12-2)

kemokin Leykositlər üçün kemotatik işarələr kimi fəaliyyət göstərən çoxsaylı kiçik, ifraz olunmuş zülallardan hər hansı biri.

kemotaksis Hüceyrənin və ya orqanizmin müəyyən kimyəvi maddələrə doğru və ya ondan uzaqlaşması.

keratinlər Heteropolimer liflərə birləşən epitel hüceyrələrində tapılmış bir qrup **aralıq filament** zülalları. (Şəkil 18-49)

kəşişən-exon tanıma kompleksi RNT-birləşdirən SR zülalların və ali eukaryotların pre-mRNT-lərində eqzonların ayrılmasını və RNT-nin düzgün birləşməsinə təmin edən digər komponentlərin daxil olduğu böyük toplanma (assembly). (Şəkil 10-13)

kimyəvi potensial enerji Molekullardakı atomları birləşdirən rabitələrdə yığıl saxlanılan enerji.

kimyəvi tarazlıq Düzünə və əksinə reaksiyaların sürətləri bərabər olduğunda bütün məhsulların və reaktivlərin qatılığının sabit olduğu kimyəvi reaksiya vəziyyətidir.

kinaza ATP-dən terminal (γ) fosfat qrupunu substrata köçürən ferment. Xüsusi serin, treonin və ya tirozin qalıqlarını fosforlaşdıraraq proteinkinazlar çox hüceyrə zülallarının fəaliyyətinin tənzimlənməsində kritik rol oynayır. Həmçinin **fosfatazlar** baxın. (Şəkil 3-33)

kinetik enerji Molekulların hərəkəti kimi hərəkət enerjisi.

kinetoxr Hər bir mitotik xromosomun **sentromerində** və ya onun yaxınlığında yerləşən, mikrobiorucuların hüceyrənin şpindel qütblərinə doğru uzandığı çox laylı zülal quruluşu; anafaza zamanı xromosomların qütblərə doğru hərəkətində fəal rol oynayır. (Şəkil 18-40)

kinezinlər ATP hidrolizi ilə sərbəst buraxılan enerjini **mikrotuboruğun** (+) ucuna doğru hərəkət etmək üçün istifadə edən **motor zülallar** sinifi. Kinesinlər qovucuqları və orqanoidləri daşıya bilir və mitoz zamanı xromosom hərəkətində rol oynayır. (Şəkil 18-18 - 18-20)

kirpicik (cəmdə kirpiciklər) Eukaryot hüceyrələrin səthində uzanan və özəklilik mikrobiorucuq dəstinə malik olan qısa,

membranla örtülül quruluş. Ümumiyyətlə kirpicik qrup şəklində meydana gəlir və hüceyrənin (məsələn, birləşən orqanizmi) hərəkət etməsi və ya kiçik hissəcikləri və ya mayeni səth boyunca hərəkət etdirməsi üçün ritmik olaraq döyünür (məsələn, traxeya hüceyrələri). Axonema və qamçıya baxın.

klattrin Birləşən zülalların köməyi ilə membranın sitozol tərəfindəki spesifik bölgələrdə qəfəsə bənzər şəbəkədə polimerləşən və bununla da qovucuq əmələ gətirən klattrin örtüklü batığı yaradan bibrilyar zülal (Şəkil 14-18; Cədvəl 14-1)

klon (1) Genetik cəhətdən eyni hüceyrələrin, virusların və ya ortaq bir əcdaddan gələn orqanizmlərin populyasiyası. (2) **DNT klonlaşdırması** yolu ilə yaradılan və saxlanılan bir gen və ya DNT parçasının birdən çox eyni nüsxəsi.

K_m Fermentin substratına affinliyini təsvir edən və maksimal reaksiya sürətinin yarısını verən substrat qatılığına bərabər arametr (göstərici), həm də *Mixayles sabiti (konstantı)* adlandırılır. Oxşar parametrlər, nəqliyyat zülalının nəql olunan molekula affinliyini və ya reseptorun ligandına olan affinliyini təsvir edir. (Şəkil 3-24)

ko-aktivator Transkripsiyanın fəallaşması üçün lazım olan, DNT-yə birbaşa birləşməyən zülal və ya zülal kompleksi. Bunun əksinə olaraq, aktivatorun DNT-birləşdirən domeni var və birbaşa DNT-də transkripsiyasının nəzarət ardıcılığına birləşir.

kodon Zülal sintezi zamanı müəyyən bir amin turşusunu təyin edən DNT və ya mRNT-də üç nükleotidin ardıcılığı. 64 mümkün kodondan üçü amin turşularını kodlaşdırmayan və sintezin sona çatmasına səbəb olan stop kodonlarıdır. (Cədvəl 5-1)

kohezis Cüt bacı xromatidləri bir yerdə saxlayan zülal kompleksi.

kohezis kompleksi Bacı xromatidlər arasında koheziyanı yaradan zülal kompleksi.

kollagen Hüceyrə xaricindəki matrisa və birləşdirici toxumaların əsas tərkib hissəsi olan qlisin və prolin ilə zəngin olan üçqat spirallı qlikozülal. Toxuma paylanması və birləşdikləri hüceyrə xaricindəki komponentlərdə və hüceyrə səthindəki zülallarda olan çox saylı subtipləri fərqlənirlər. (Şəkil 20-24; Cədvəl 20-4)

komplement Birbaşa mikrob və ya göbələk səthlərinə birləşən, bununla da *sitolitik membrana hücum kompleksinin* əmələ gəlməsi ilə sona çatan proteolitik kaskadı fəallaşdıraraq qrup konstitutiv zərdab (serum) zülal qrupu. (Şəkil 23-5)

komplementar (1) Bir-biri ilə mükəmməl əsas cütləri yarada bilən iki nuklein turşusu ardıcılığına və ya zəncirlərinə aiddir. (2) Bir-birinə təsir göstərən iki molekulda (məsələn, ferment və onun substratı) kilidlə açar şəkilində bir-birinə uyğun gələn rayonları təsvir edir.

komplementar DNT (kDNT) Bax kDNT.

komplementasiya Bax **genetik komplementasiya** və **funksional komplementasiya**.

kondensis Xromosom kondensasiyasını təşviq edən zülal kompleksi.

kondensin kompleksi Xromosomları sıxlaşdırın və mitoz zamanı onların ayrılması üçün zəruri olan kohezirlərlə əlaqəli zülal kompleksi.

konformasiya Molekuldakı atomların məkan yerləşməsindən qaynaqlanan üç ölçülü bir zülalın və ya digər makromolekulun dəqiq forması. (Şəkil 3-8)

konneksinlər Onurğalılarda boşluq qovşağı yaradan transmembran zülallar ailəsi. (Şəkil 20-21)

konstitutiv Hüceyrənin molekulunun fasiləsiz istehsalına və ya fəaliyyətinə, yaxud daxili və ya xarici siqnallarla tənzimlənməyən hüceyrə prosesinin fasiləsiz davam edən işinə (məsələn, konstitutiv ifrazat) aid edilir.

koordinasiyalı şəkildə tənzimlənmə Tək bir bakterial operondakı genlərdə olduğu kimi, ekspressiyası eyni zamanda induksiya edilən və repressiya edilən Genlər. (Şəkil 5-13)

ko-orientasiyalı Bacı kinetoxorların qarşı şpindel qütbindən deyil, *eyni* şpindel qütbindən çıxan mikroborucuqlara birləşməsini göstərir.

ko-repressor Transkripsiya repressiyası üçün lazım olan, birbaşa DNT-yə birləşməyən zülal və ya zülal kompleksi. Bunun əksinə olaraq, bir repressorun DNT ilə birləşdirmə domeni var və birbaşa DNT-nin transkripsiyasına nəzarət ardıcılığına birləşir.

kotranslyasiya-translokasiyası Yeni yaranmaqda olan zülalın hələ ribosomla əlaqəli olduğu və elonqasiya etdiyi halda ifrazat zülalının eyni vaxtda endoplazmik şəbəkəyə daşınması. (Şəkil 13-6)

kotransport İkinci molekulun eyni (simport) və ya əks (antiport) istiqamətdə qatılıq qradientinin azalan istiqamətində aşağıya doğru hərəkəti ilə birləşən, ion və ya kiçik molekulun qatılıq qradientinə qarşı membran üzərindəki zülalla vasitələnmə hərəkəti. (Şəkil 11-2, [3B, C]; Cədvəl 11-1)

kovalent rabitə Bir və ya daha artıq elektron cütünün bölüşərək molekulardakı atomları bir yerdə saxlayan sabit kimyəvi qüvvə. Həmçinin qeyri-kovalent qarşılıqlı əlaqəyə baxın. (Şəkil 2-2 və 2-6)

krista Əhatə edən hüddud membranından mitoxondrinin mərkəzinə tərəf uzanan vərəqə (təbəqəyə) bənzər və boruya bənzər invaginasiyalar.

kritik hüceyrə ölçüsü Hüceyrələrin hüceyrə tsiklinə daxil ola biləcəyi hüceyrə ölçüsü. Kritik hüceyrə ölçüsü qıdanın mövcudluğuna görə dəyişir.

krossinq over Rekombinasiya olunmuş xromosomları əmələ gətirmək üçün meyoza zamanı ana və ata xromatidləri arasında genetik materialın mübadiləsi. Rekombinasiyaya da baxın. (Şəkil 6-10)

kseroderma piqmentozum DNT nukleotid eksizion (kəsilməsi) reparasiyasında iştirak edən zülalları kodlaşdırın yeddi genin istənilən birində fəalsızlaşdırıcı mutasiyası nəticəsində meydana gələn nadir irsi xəstəlikdir. Bu xəstələr gün işığında ultrabənövşəyi şüalara anormal dərəcədə həssas olurlar və tez-tez hallarda çoxsaylı müxtəlif dəri xərçənginə rast gəlinir.

qabıq Bax nüvə qabığı və ya virus qabığı

qalıq Polimerdə monomer sələflərin kovalent birləşməsindən sonra mövcud olan təkrarlanan vahidlərin ümumi adlandırılması.

qamçı (cəmdə. **qamçılar**) Bəzi eukariotik hüceyrələrin (məsələn, spermanın) səthindən uzanan uzun hərəkətverici (lokomotor) quruluş (adətən hər hüceyrədə bir dənə), qamçı kimi bükülməli-açılma hüceyrəni maye mühitdə itələyir. Bakterial qamçı daha kiçik və daha sadə quruluşlardır. Həmçinin baxın **aksoneme** və **kirpicik**. (Şəkil 18-31)

qatılıq qradienti Hüceyrə biologiyasında bir hüceyrənin və ya embrionun müxtəlif bölgələrində və ya hüceyrə membranının fərqli tərəflərində bir maddənin qatılığında fərq.

qayğı-göstərici (qəyyum) gen Kodlaşdırdığı zülal zədələnmiş DNT-nin bərpaşında (reparasiyasında) iştirak edərək genomun bütövlüyünün qorunmasına kömək edən hər hansı bir gen. Bir qəyyum genin funksiyasının itirilməsi mutasiya dərəcələrinin artmasına səbəb olur və kanserogenezi inkişaf etdirir.

qeyri homoloji sonluqların birləşməsi (nonhomologous end joining -NHEJ) DNT-də homoloji templeyətə ehtiyac olmadan qırılmış ucların birbaşa liqasiya olunduğu iki-zəncirli qırıqları reparasiya bir yol.

qeyri-kovalent qarşılıqlı təsir elektronların yaxın şəkildə paylaşılmasını əhatə etməyən istənilən nisbətən zəif kimyəvi qarşılıqlı təsir. (Şəkil 2-6 və 2-12)

qeyri-polyar Hər hansı bir xalis elektrik yükünə və ya müsbət və mənfi yüklərin asimmetrik paylanmasına malik olmayan molekula və ya quruluşu bildirir. Qeyri polyar molekulun ümumiyyətlə suda polyar molekulara nisbətən daha az həll olur və ya çox vaxt suda həll olunmur.

qıvcırma (fermentasiya) Qlükoza kimi üzvi molekul qida maddələrindəki enerjinin bir hissəsinin, bu maddələrin süd turşusu və ya etanol kimi üzvi molekul "tullantı" məhsullarına oksidləşmə yolu ilə ATP-yə çevrilməsi, bunlar tipik olaraq NAD⁺/NADH-in eyni zamanda tsiklik azalması və oksidləşməsini əhatə edir.

qısa səpələnmiş (interspersed) elementlər (SINE-lər) Məməlilərdə, təkamül dövründə genom boyunca uzun səpələnmiş element (LINE) ilə kodlaşdırılan zülallar tərəfindən eyni orqanizmdə yerləşdirilmiş 150 (siçanda) –300 (insanlarda) əsas cüt ardıcılığında əlaqəli təkrarlanan ardıcılıqlar. (Şəkil 8-8; Cədvəl 8-1)

qlikolipid Qısa karbohidrat zəncirinin kovalent şəkildə bağlı olduğu hər hansı bir lipid; adətən əksər plazma membranında rast gəlinir.

qlikoliz ATP istehsalı ilə sitosoldakı şəkərlərin anaerob şəkildə laktat və ya piruvata parçalandığı metabolik yol. (Şəkil 12-3)

qlikozaminoqlikan (GAG) Tez-tez hallarda çox qalıqları sulfatlaşmış təkrarlanan disaxaridlərin uzun, xətti, yüksək dərəcədə yüklənmiş polimeri. Ümumiyyətlə GAG-lar, proteoqlikanların tərkib hissəsi kimi, hüceyrə xaricindəki matrisanın əsas komponentləridir. (Şəkil 20-29)

qlikozid rabitələri Bir şəkərdəki karbon atomu, bir su molekulunun xalis sərbəst buraxılması ilə ikinci şəkər üzərindəki hidroksil qrupu ilə reaksiya verdikdə əmələ gələn iki monosaxarid qalıqı arasındakı kovalent əlaqə. (Şəkil 2-13)

qlikozülal Bir və ya daha çox oliqosaxarid zəncirinin kovalent şəkildə bağlı olduğu istənilən zülal. Ən çox ifraz olunan zülalları və əksər membran zülalları qlikozülallardır.

qlükaqon Mədəaltı vəzin adacıq hüceyrələrində əmələ gələn peptid hormonu, qaraciyər tərəfindən qlikogenin qlükozaya çevrilməsinə səbəb olur; qanda qlükoza səviyyəsinə nəzarət etmək üçün **insulinlə** təsir göstərir.

Qolci kompleksi Digər hüceyrə bölmələri üçün və ya ifrazat üçün nəzərdə tutulmuş zülalların və lipidlərin prosesinqində və çeşidlənməsində fəaliyyət göstərən eukaryotik hüceyrələrdəki yastı, bir-birinə bağlı membranla əlaqəli kompartimentlərin (sisternaların) yığınları; Qolci aparatı da deyilir. (Şəkil 4-32)

qranulosit koloniyası-stimullaşdırıcı faktor (G-CSF) Sümük iliyyindəki qranulosit əcdad hüceyrəsinin bölünməsinə və qranulositlərə differensiasiya etməsinə induksiya edən sitokin.

quruluş motifi Çoxsaylı zülallarda rast gəlinən və hər zaman deyil, amma tez-tez hallarda spesifik funksiya ilə assosiasiyada olan, fərqli üç ölçülü quruluşu əmələ gətirən iki və ya daha çox ikinci quruluşun xüsusi bir kombinasiyası.

laminin Bütün **bazal laminalarda** tapılan, böyük heterotrimer çox yapışqanlı matrisa zülalı. (Şəkil 20-23)

laminlər Nüvə qabığının daxili səthində lifli şəbəkəni əmələ gətirən, **nüvə laminasını** təşkil edən bir sıra **aralıq filament** zülalları.

lateral Bax **bazolateral**.

lateral ingibirləşmə Hüceyrələrin bitişik ekvivalent və ya ekvivalentə yaxın olan fərqli müqəddaratı alması ilə nəticələnən siqnalla vasitələnən mühüm inkişaf prosesi.

lektin Möhkəm şəkildə xüsusi şəkərlərlə birləşən istənilən zülal. Lektinlər endoplazmik şəbəkədəki bəzi qlikozülalların düzgün bükülməsinə kömək edir və affinlik xromatografiyasında qlikozülalları təmizləmək üçün və ya onları in situ aşkar etmək üçün reagentlər kimi istifadə edilə bilər.

leysin zipper Spesifik homo- və ya heterodimerləri əmələ gətirən iki spiraldan ibarət spirallaşmış-spiral **quruluş motifi**; bir sıra eukaryot transkripsiya faktorunda tapılmış ümumi motif. Həmçinin **spirallaşmış spirala** baxın. (Şəkil 9-30c və 3-10)

liqand Adətən möhkəm şəkildə zülal birləşən ferment **substratından** başqa, makromolekula birləşmiş, ümumiyyətlə makromolekul-liqand kompleksi yaradan hər hansı bir molekul.

limfositlər Xarici molekulları (**antigenləri**) tanıya bilən və immun reaksiyalarına vasitəçilik edə bilən ağ qan hüceyrəsinin iki sinfi. B limfositləri (B hüceyrələri) anticism istehsalını həyata keçirirlər; T limfositlər (T hüceyrələri) virus və bakteriya ilə yoluxmuş hüceyrələrin, xarici hüceyrələrin və xərçəng hüceyrələrinin məhv edilməsini həyata keçirirlər.

limon (sitrat) turşusu tsikli Asetil qruplarının oksidləşdiyi, CO₂ əmələ gətirən və ATP istehsalında istifadə olunan reduksiya olunan aralıq məhsulların əmələ gəldiyi mitoxondrinin matrisasında meydana gələn doqquz ardıcıl reaksiyaların birgə dəsti. *Krebs tsikli və trikarboksilli turşu* (TCA) tsikli də adlanır. (Şəkil 12-16)

lipid Suda zəif həll olan və ya demək olar ki, həll olunmayan, amma polyar olmayan üzvi həlledicilərdə həll olan istənilən üzvi molekul. Əsas siniflərinə **yağ turşuları**, **fosfolipidlər**, **steroidlər** və **trigliseridlər** daxildir.

lipid lövbərli membran zülalı Fosfolipid ikiqatlısına batmış bir və ya daha çox lipid qrupları ilə kovalent şəkildə birləşərək hüceyrə membranına bağlanmış istənilən zülal. (Şəkil 10-19)

lipid sal Plazma membranında xolesterin, sfingomiyelin və müəyyən zülallarla zəngin olan mikro domen.

liposom Fosfolipidlərdən in vitro əmələ gələn və membran zülallarına malik ola bilən, daxili akvatik (sulu) olan süni sferik **fosfolipid ikiqatlı** quruluş. (Şəkil 7-3c)

lipozülal Bütün bədən boyu lipidlərin kütləvi ötürülməsində fəaliyyət göstərən hər hansı bir böyük, suda-həll olan zülal və lipid kompleksi. **Aşağı sıxlıqlı lipozülala** (LDL) də baxın.

lizis Plazma membranının dağıdılması və tərkibinin sərbəst buraxılması ilə hüceyrənin məhv edilməsi.

lizosom Daxili pH-ı 4-5 malik olan kiçik orqanoid lizosom, hidrolitik fermentlərə malikdir və endositozla mənimsənilmiş materialların və autofaqiya olunmuş hüceyrə komponentlərinin parçalanmasında rol oynayır. (Şəkil 1-12 və 4-13)

lizogen Bakterial virusun (bakteriofaqın) DNT-sinin sahib hüceyrə genomuna daxil edildiyi və bakteriya DNT-si ilə birlikdə çoxaldığı, lakin ekspressiya edilmədiyi fenomen. Sonrakı fəallaşma yeni virus zərrəciklərin əmələ gəlməsinə gətirib çıxarır, nəticədə hüceyrənin lizisinə səbəb olur.

lövbər edən qovşaqlar Hüceyrə səthində **hüceyrə adgeziya molekullarına** və ya **adgeziya reseptorlarına** malik olan ixtisaslaşmış rayon malik olan; bunlara bütün hüceyrə-hüceyrə adgeziyasını həyata keçirən *adherent qovşaqlar* və *desmosomlar*, hüceyrə-matrisa adgeziyasını həyata keçirən hemidesmosomlar aiddirlər. (Şəkil 20-14 və 20-16)

lümen Orqanoidin sulu (akvatik) daxili hissəsi.

M faza (mitozda) Bax **hüceyrə tsikli**.

makrofaqlar Geniş müxtəliflikdə profilli patogenləri **Toll-bənzər reseptorlarla** aşkar edən faqositoz edici leykositlər. Onlar **mütəşəkkil antigen-təqdim edən hüceyrələr** kimi fəaliyyət göstərir və **sitokinlərin** əsas mənbəyidirlər.

makromolekul Adətən polimer olan, molekul kütləsi bir neçə min daltondan yüksək olan, istənilən böyük molekul (məsələn, zülal, nuklein turşusu, polisaxaridlər).

maksimal sürət Baxın V_{max} .

MAP kinaz Bir çox fərqli boy faktorlarının hüceyrəni stimullaşdırılmasına cavab olaraq fəallaşan və spesifik transkripsiya faktorlarını və digər hədəf zülallarını

fosforlaşdıraraq hüceyrə reaksiyalarına vasitəçilik edən proteinkinazalar ailəsindən hər hansı biri. (Şəkil 16-25 və 16-26)

matrisa Mitoxondrinin daxili hissəsinin lümeni; həmçinin hüceyrənin xaricindəki lifli (fibrous) zülallar və karbohidratlar (hüceyrə xaricindəki matrisa adlanır).

matrisa metalloproteazları (MMP) Matrisa metalloproteazları, fəal mərkəzlərində sink metalını istifadə edən proteolitik fermentlərdir. Hüceyrəxarici matrisadakı zülalları və bəzən digər zülalları (məsələn, bəzi hüceyrə səthindəki reseptorları) kəsdikləri yerdən kənarında hüceyrəxarici məkanda fəaliyyət göstərir.

Mediator Enhanserlə əlaqəli olan transkripsiya aktivatorları ilə **promotora** bağlanmış RNT polimeraz II arasında molekulyar körpü əmələ gətirən çox böyük multizülal kompleks; transkripsiyanın stimullaşdırılmasında koaktivator kimi fəaliyyət göstərir. (Şəkil 9-39 və 9-40)

mexanosensor Müxtəlif toxumaların içərisinə daxil olan (batan) və toxunmaya, əzələlərin və başın mövqelərinə və hərəkətlərinə, ağrıya və istiliyə cavab verən bir neçə növ hissiyat (sensor) quruluşlarından hər hansı biri.

membran nəqliyyat zülalı Nəqliyyat mexanizmindən asılı olmayaraq bir və ya daha çox spesifik ionun və ya kiçik molekulun hüceyrə membranı boyunca hərəkətinə vasitəçilik edən hər hansı bir membran zülalı üçün ümumi adlandırma. (Şəkil 11-2)

membran potensialı Membranın bir tərəfində müsbət ionların (kationların), digər tərəfində mənfi ionların (anionların) cüzi artıqlığına görə yaranan voltla ifadə olunan elektrik potensial fərqi. (Şəkillər 11-18 və 11-19)

membranlararası boşluq daxili və xarici mitoxondrial membranlar arasındakı, krista içərisindəki boşluqların davamı olan mitoxondrial kompartiment.

meristem Bitkilərdə böyüyən tumurcuqların və köklərin uclarında saxlanılan bölünən hüceyrələrin differensiasiya olunmamış mütəşəkkil qrupu. Bütün yetkin orqanlar meristemlərdən yaranırlar.

merotellik qoşulma Tək bir kinetoxorun iki qarşı şpindel qütblərindən çıxan mikroböyüklərə birləşdiyini göstərir.

metafaza Kondensasiya olunmuş xromosomların mitoz şpindel qütbləri arasında eyni məsafədə düzüldüyü, amma hələ də şpindel qütblərinə doğru seqreasiyanın (ayrılmanın) başlanmadığı mitoz mərhələsi. (Şəkil 18-37)

metastaz Xərçəng hüceyrələrinin əmələ gəldiyi mənşə yerlərindən yayılması və ikincil çoxalma sahələrinin yaradılması.

metazoanlar Sinir və əzələlər kimi differensiasiya etmiş toxumaları olan bütün çoxhüceyrəli heyvanları əhatə edən heyvanlar aləminin bir yarım qrupu.

meoz Eukaryotlarda, cinsi hüceyrələrin yetişməsi zamanı meydana gələn xüsusi hüceyrə bölünməsi; yalnız bir DNT replikasiyası ilə iki ardıcıl nüvə və hüceyrə böünməsindən ibarətdir. İlkin diploid hüceyrədən genetik cəhətdən qeyri-

bərabər dörd haploid hüceyrənin (**gamet**) istehsalı ilə nəticələnir. (Şəkil 6-3)

mezenxima Heyvanlarda **mezodermadan** və ya **ektodermadan** yaranan, sərbəst təşkil olunmuş və sərbəst (zəif) şəkildə bağlanmış hüceyrələrdən ibarət olan yetişməmiş embrion birləşdirici toxuması.

mezenximal sütun hüceyrə Sümük iliyindəki yağ hüceyrələrinə, osteoblastlara (sümük əmələ gətirən hüceyrələrə) və qığırdaq əmələ gətirən hüceyrələrə differensiasiya edə bilən sütun hüceyrə sinfi; bəziləri eyni zamanda əzələ və digər başqa tip hüceyrələri əmələ gətirə bilər.

mezoderma Heyvan embrionunda ektoderma və endoderma arasında yerləşən üç əsas hüceyrə qatı; xordanı, birləşdirici toxumaları, əzələni, qan və digər toxumaları əmələ gətirir.

məhv boks APC/C substratlarında tanınma motifi.

məlumat RNT-si Bax **mRNT**.

mənfi geriyə əlaqə mexanizmi Bir yolun məhsul çıxışının öz istehsalına maneə törətdiyi proses.

MHC Baxın **əsas histouyğunluq kompleksi**.

MHC molekulaları Xaricdən alınan (və özündəki) zülallardan əldə edilən peptidləri hüceyrələrin səthində göstərən və **T hüceyrələrə** antigen təqdimatı üçün lazım olan qlikozülallar. *I sinif* molekulalar, demək olar ki, bütün nüvəli hüceyrələrdə konstitutiv ekspressiya olunur; *II sinif* molekulalar peşəkar (professional) antigen təqdim edən hüceyrələr tərəfindən ekspressiya olunur. (Şəkil 23-21 və 23-22)

Mixail sabiti (konstantı) Bax K_m .

mikroböyüklük Quruluş və funksional polyarlıq nümayiş etdirən, α , β -tubulin monomerlərinin polimerləşməsi nəticəsində əmələ gələn sitoskeletal lif (diametri 25 nm). Mikroböyüklük kirpici, qamçı, mitoz şpindel və digər hüceyrə quruluşlarının vacib hissəsidir. (Şəkil 18-2 və 18-3)

mikroböyüklük ilə əlaqəli zülal (MAP) Mikroböyüklüklərlə birləşən və onların sabitliyini tənzimləyən istənilən zülal. (Şəkil 18-13, 18-14 və 18-15)

mikroböyüklük-təşkil olunan mərkəzi Baxın **MTOC**.

mikrofilament Monomerik qlobulyar **aktinin** (G) polimerləşməsi nəticəsində əmələ gələn mikrofilament Sitoskelet lifi (diametri ≈ 7 nm); bunlara *aktin filamenti* də deyilir. Mikrofilamentlər əzələ yığılmasında, sitokinezdə, hüceyrə hərəkətində və digər hüceyrə funksiyaları və quruluşlarında mühüm rol oynayır. (Şəkil 17-4)

mikro-RNT Baxın **miRNT**.

mikrosatellitlər Sadə-ardıcılıqlı təkrarlanan DNT-nin 1-13 əsas uzunluğunda (əksəriyyəti < 5 əc) ardıcılıqları, insan təkamülündə 150 və ya daha az tandem təkrarlarda meydana gəlir.

mikrovillus (cəm. mikrovilli) Aktin liflərin özəyini təşkil edən, heyvan hüceyrəsinin səthindən kiçik, membranla örtülmüş çıxıntı (proyeksiya). Bağırsağ epiteliyə hüceyrələrinin udma

səthində çox sayda mikrovillilər var və qida maddələrinin daşınması üçün səth sahəsini artırır. (Şəkil 17-4 və 20-10)

miRNT (mikro-RNT) Uzun sələf RNT-lərdə sancaq ikinci quruluşların ikiqat zəncir rayonundan proses olunmuş, 20-30 nukleotid uzunluğunda çoxsaylı kiçik, endogen hüceyrə RNT-lərindən hər hansı biri. Yetkin miRNT-nin tək bir zənciri, bir neçə zülal ilə assosiasiya edərək, miRNT-nin qüsursuz hibridləşdiyi və hədəf mRNT-nin translyasiyasını ingibirləşdirən RNT-ilə-induksiya olunan susdurucu (saylensinq)-kompleksi (RISC) əmələ gətirir. Translyasiyanı ingibirləşdirmək üçün bir neçə miRNT tək bir mRNT-yə hibridləşməlidir. Həmçinin **siRNT**-yə baxın. (Şəkil 10-28a və 10-29)

miselli Suda spontan şəkildə həll olunan fosfolipidlərin və ya digər amfipatik molekulların su məhlulunda əmələ gətirdiyi sferik aqreqatı. (Şəkil 10-3c)

mitogen Hüceyrə proliferasiyasını təşviq edən bir boy böyümə) faktoru kimi istənilən hüceyrəxarici molekul.

mitoxondri (pl. mitoxondriya) İki fosfolipid iki-qatlı membranlarla əhatə olunmuş, DNT-yə malik olan və oksidləşdirici fosforlaşmanı həyata keçirən və bununla da ATP-nin böyük hissəsini eukariot hüceyrələrdə istehsal edən böyük orqanoid. (Şəkil 1-20 və 12-6)

mitoxondri ilə assosiasiyalı membranlar (MAM) Mitoxondrinin rayonları ilə yaxından təmasda olan, mitoxondri formasına, funksiyasına və bölünməsinə təsir göstərən endoplazmik şəbəkənin hissələri.

mitoz Eukariot hüceyrələrdə, nüvənin bölünməsi və diploid xromosom sayı ilə genetik cəhətdən ekvivalent olan iki qız nüvə istehsal edilməsi. **Sitokinez** və **meyoza** da baxın. (Şəkil 18-36)

mitoz CDK-ləri Mitoza daxil olmanı və onun inkişafını təşviq edən tsiklin-CDK kompleksləri.

mitoz spindeli Mitoz zamanı eukariot hüceyrələrdə mövcud olan, xromosomları tutan və sonra onları bölünən hüceyrənin əks qütblərinə tərəf itələyən və çəkən xüsusi müvəqqəti bir quruluş; *mitotik aparat* da adlanır. (Şəkil 18-37)

mobil (transozon) DNT elementləri Nüvənin bütün fərdlərində eyni xromosom nahiyəsində mövcud olmayan və **transpozisiya** yolu ilə yeni mövqeyə keçə bilən istənilən DNT ardıcılığı, bu həmçinin *mobil DNT elementləri* və *səpələnmiş təkrar (interspersed repeat)* adlanır. (Cədvəl 8-1)

mobil DNT elementi Baxın **transpozon DNT elementi**.

model orqanizm Genləri, zülalları və hüceyrə funksiyalarını öyrənmək üçün istifadə olunan qeyri-insan növü. Model orqanizmlər, model orqanizm yolu ilə edilən kəşflərin digər orqanizmlər haqqında fikir yürütməyə imkan verəcəyini gözlədiklərinə görə seçilir.

molekulyar komplementarlıq İki molekulun və ya onların hissələrinin formaları, yükləri, hidrofobluğu və / və ya digər fiziki xüsusiyyətləri arasında uyğun məsafədə aralarında çoxsaylı **onkovalent qarşılıqlı təsirlərin** yaranmasına imkan verən kilid-və-açar tipi. (Şəkil 2-12)

molekulyar markerlər, DNT əsası Eyni növün fərdləri arasında dəyişən və genetik əlaqə tədqiqatlarında faydalı olan DNT ardıcılığı (*DNT polimorfizmləri*); SNP və SSR-ları əhatə edir.

molekulyar şaperon Bax **şaperon**.

monoklonal anticism Tək bir B hüceyrəsinin nəslinin yaratdığı və beləliklə tək bir antigeni (epitopu) tanıyan homogen zülal anticismdir. Eksperimental olaraq **hibridomadan** istifadə edərək istehsal edilə bilər. (Şəkil 4-6)

monomer Polimer əmələ gətirmək üçün eyni tipli digərləri ilə kimyəvi əlaqələndirilə bilən istənilən kiçik molekul. Onların nümunələrinə amin turşuları, nukleotidlər və monosaxaridlər daxildir.

monomer (kiçik) G zülal Bir əlaqəli GTP-nin GDP-yə və fosfata hidroliz etməklə öz konformasiyasını dəyişdirən Ras zülalına bənzər quruluşa malik olan monomer GTPaza. (Şəkil 15-5)

monopolin kompleksi Tumurcuqlayan mayada meyoza I zamanı bacı xromatidlərin koordinasiyasını inkişaf etdirən zülal kompleksi.

monosaxarid Kimyəvi formulası $(CH_2O)_n$ olan hər hansı bir sadə şəkər, burada $n = 3-7$.

monotel qoşulma Bacı kinetoxor cütüyündən yalnız birinin mikroborucuqlara yapışmış olduğunu göstərir.

monoubikvitinləşmə Bir ubikvitin molekulunun hədəf zülalına kovalent əlavə edilməsi.

morfoqen Qatılığı differensiasiya edən hədəfi hüceyrələrin taleyini təyin edən siqnal molekul.

motor zülalı ATP hidrolizindən ayrılan enerjini ya xətti, ya da fırlanma hərəkətini yaratmaq üçün istifadə edən xüsusi mexaniko-kimyəvi fermentlərin hər hansı bir nümayəndəsi; həmçinin *molekulyar motor* adlanır. **Dineinlər, kinezinlər** və **miyozinlərə** da baxın.

mRNP-eksporter mRNT ilə birləşən, tərkibində ribonukleoprotein zərrəcikləri (mRNP) olan və nüvə məsəmə kompleksindəki **nukleoporinlərlə** müvəqqəti əlaqəyə girərək onların daşınmasını nüvədən sitoplazmaya yönəldən heterodimer zülal. (Şəkil 10-24)

mRNT (məlumat RNT-si) Zülaldakı amin turşularının ardıcılığını (yəni birinci quruluşunu) təyin edən hər hansı bir RNT. DNT-nin RNT polimeraza vasitəsilə **transkripsiyası** ilə istehsal olunur. Eukariotlarda ilkin RNT məhsulu (birincil transkript) funksional mRNT əldə etmək üçün prosesinq olunur. **Translyasiya** da baxın. (Şəkil 5-15)

mRNT nəzarəti Düzgün prosesinq olunmamış mRNT-nin və ya pre-mRNA-nın parçalanmasına səbəb olan proseslər.

MTOC (mikroborucuq təşkil edən mərkəz) Hüceyrələrdə mikroborucuqları təşkil edən hər hansı bir quruluş üçün ümumi termin (məsələn, sentrosom, spindel qütbü, bazal cism). (Şəkil 18-5)

multimer Bir neçə polipeptid zənciri (və ya subvahidi) olan zülallar.

multiubikvitinləşmə Hər biri aralı məsafədə olmaqla bir neçə tək ubikvitin molekulunun tək hədəf zülalına kovalent əlavə edilməsi.

MuSK Mutasiyaları induksiya edən kimyəvi və ya fiziki agent

mutasiya Genetikada xromosomlardakı DNT-nin nukleotid ardıcılığında irsən ötürülən daimi dəyişiklik, adətən vahid gendə baş verir, ümumiyyətlə genin məhsulunda funksiyanın dəyişməsinə səbəb olur.

müxtəliflik İmmuni sistemi tərəfindən kodlaşdırılmış antigen-spesifik reseptorların bütün dəsti.

müsbət geriye əlaqə mexanizmi Bir yolun (siqnal və ya metabolik) məhsul çıxışının öz istehsalını təşviq etdiyi proses.

myelin örtük Onurğalılarda **aksonları** ətrafında izolyasiya edici təbəqəni əmələ gətirən və impuls ötürülməsinin sürətini artıran bir yerə yapışmış xüsusiləşmiş hüceyrə membranları. (Şəkil 22-18)

myofibril Əzələ hüceyrələrinin sitoplazması daxilində nazik incə quruluşlar olub, qalın (**myozin**) və nazik (**aktin**) filamentlərdən təşkil olunmuş **sarcomerlərin** müntəzəm təkrarlanan düzülüşündən ibarətdir. (Şəkil 17-30)

myozinlər Aktinlə stimullaşan ATP-ə fəallığına malik olan **motor zülallar** sinifi. Əzələ dartılması və sitokinez zamanı myozinlər aktin **mikrofilamentlər** boyunca hərəkət edirlər, həmçinin qovucuların translokasiyasını həyata keçirirlər. (Şəkil 17-22)

Na⁺/K⁺ ATPaza Na⁺ ionlarının eksportu (ixracı) və K⁺ ionlarının importu (idxalı) üçün bir ATP molekulunun hidrolizini birləşdirən P-sınıf ATP-ilə işləyən nasos; heyvan hüceyrələrində Na⁺ (aşağı) və K⁺ (yüksək) normal hüceyrədaxili qatılıqlarının qorunub saxlanması üçün yüksək dərəcədə məsuliyyət daşıyır, ümumi olaraq *Na⁺/K⁺ nasosu* adlanır. (Şəkil 11-13)

NAD⁺ (nikotinamid adenin dinukleotid) Donor molekulundan iki elektronu və məhluldan bir H⁺ qəbul edərək elektron daşıyıcısı kimi fəaliyyət göstərən kiçik üzvi molekul. (Şəkil 2-33a)

NADP⁺ (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) Biosentetik yollarda və fotosintez zamanı elektron daşıyıcısı kimi geniş istifadə olunan NAD⁺-in fosforlaşmış forması.

nasos Bax **ATP ilə işləyən nasos**.

nekrotoz Hüceyrəxarici hormonlar tərəfindən iltihablaşmaya səbəb olan nekroz növüdür.

nekrozis Toxuma zədələnməsi və ya digər patologiya nəticəsində hüceyrə ölümü. Adətən hüceyrələrin öz tərkibinin sərbəst buraxılaraq şişməsi və partlaması ilə qeyd olunur. Apoptoza qarşı qoyulur (ilə ziddiyyətlidir).

neoblastlar Planariyada bədən hüceyrələrinin çoxunu və ya hamısını çoxalda və bərpa edə bilən sütun hüceyrələr.

neurofilamentlər (NF) Aksonal quruluşa və aksonların təsir potensialının ötürülmə sürətinə kömək edən, yalnız neyronlarda tapılan bir sıra **aralıq filament zülalları**. (Şəkil 18-2b)

neyron (sinir hüceyrəsi) Sinir sisteminin impuls-keçirən hüceyrələrindən hər hansı biri. Tipik neyron hüceyrə cisminə, çox qısa, şaxələnmiş proseslərə (**dendritlərə**) və bir uzun prosesə (**aksona**) malik olur. (Şəkil 22-1)

neurotransmitter Presinaptik neyron tərəfindən kimyəvi sinapsda sərbəst buraxılan və siqnalın postsinaptik hüceyrəyə ötürülməsini təmin edən hüceyrəxarici siqnal molekulu. Neurotransmitter tərəfindən ya həyəcanlandırıcı və ya ingibirləşdirici reaksiya postsinaptik hüceyrədəki reseptor tərəfindən təyin olunur. (Şəkil 22-25 və 22-26)

neurotrofinlər Quruluş və funksiyasına görə trofik faktorlarla yaxın olan, və neyronların həyatda sağ qalması üçün tələb olunan Trk adlanan reseptorlarla birləşən faktorlar ailəsi; sinir boy faktoru (NGF) və beyin-mənşəli neurotrofik faktor (BDNF) bura daxildir.

neytrofillər Toxuma zədələnməsi nahiyyəsinə cəlb olunan və toxuma daxilinə miqrasiya edən faqositik lökositlər. Fəallaşdırıldıqdan sonra neytrofillər müxtəlif kemokinləri, sitokinləri, bakteriyaları məhv edən fermentləri (məsələn, lizozim) və **iltihaba** kömək edən və “işğalçı” patogenlərin təmizlənməsinə kömək edən digər məhsulları ifraz edirlər.

nəqliyyat zülalları Bax **membran nəqliyyat zülalları**.

nəqliyyat (transfer) RNT Bax **tRNT**.

nəqliyyat qovucuğu Həllolan və **ifrazat yolunda** membran “yük” zülallarını irəliyə və geriye istiqamətdə daşıyan kiçik, membrana birləşmiş kompartiment. Qovucuq donor orqanoiddən tumurcuqlamaqla yaranır və özünün hədəf membranı ilə qovuşaraq daxilindəkiləri oraya buraxır.

N-əlaqəli oliqosaxarid Qlikozidlər; içindəki asparagin qalığının yan zəncirdəki amino qrupuna qoşulmuş şaxələnən oliqosaxarid zənciri. Həmçinin *O-əlaqəli oliqosaxaridə* bax.

nəzarət nöqtəsi Ekaryotik hüceyrə tsiklində hüceyrənin növbəti mərhələyə keçməsinin şərtləri uyğun gələndə qədər dayandırılı biləcəyi bir neçə nöqtədən hər hansı biri.

nəzarət nöqtəsi yolu Hüceyrənin bölünməsindəki hər bir pillənin, asılı olduğu əvvəlki pillələr tamamlanana və əməliyyat zamanı meydana gələn səhvlər düzəldilənə qədər başlamasına mane olan nəzarət mexanizmi.

NF-κB Sitozolda ingibitor zülalın parçalanana qədər ayrılan transkripsiya faktoru.

nikotinamid adenin dinukleotid Bax **NAD⁺**.

nikotinamid adenin dinukleotid fosfat Bax **NADP⁺**.

nişasta Yalnız qlükoza vahidlərindən ibarət olan, bitki hüceyrələrindəki əsas enerji saxlayan karbohidrat olan çox uzun, şaxələnmiş polisaxariddir. (Şəkil 12-36)

nokaut, gen Baxın **gen nokautu**.

nokdaun (knockdown – yığılma), siRNT bax **siRNT nokdaun**.

nonsens-vasitəsilə dağılma (nonsense-mediated decay - NMD) Hüceyrələrin son eqzon-eqzon qovşağından əvvəl meydana gələn stop kodon olan düzgün prosessinq olunmamış və ya mutant mRNT-ləri aşkar edib məhv etmək üçün nəzarət mexanizmi.

Norzerin blotting Nişanlanmış DNT problemlərindən istifadə edərək elektroforezlə ayrılmış spesifik RNT-lərin hibridləşdirmə yolu ilə aşkarlanması üçün metod. Sauzerin blottingə də baxın.

nosiseptor Mexaniki travma, istilik, elektrik və ya zərərli kimyəvi maddələr nəticəsində bədən toxumalarının zədələnməsi ilə əlaqəli ağrılara cavab verən mexanosensor.

nöqtəvi mutasiyası Xüsusilə zülal kodlaşdıran rayonda DNT-də tək bir nükleotidin dəyişməsi ilə baş verir; fərqli bir amin turşusu və ya stop kodunu təyin edən kodonun yaranması ilə nəticələnə bilər. Tək bir unükleotidin əlavə edilməsi və ya silinməsi oxunan çərçivənin dəyişməsinə səbəb olacaqdır.

nuklein turşusu Bir-biri ilə fosfodiefir əlaqələri ilə birləşən nükleotidlərin polimeri. DNT və RNT hüceyrədəki əsas nuklein turşularıdır.

nuklein turşusu hibridləşməsi Bax hibridləşmə, nuklein turşusu.

nukleokapsid Vurus kapsidi üstə gəlmiş nüklein turşusu.

nukleoporinlər Zülalların nüvə məsaməsi kompleksini əmələ gətirən böyük qrupu. Bunların bir sinifi (FG-nukleoporinlər) nüvə importu və eksportunda iştirak edirlər.

nukleosom Disk formalı histon zülallarından və onların ətrafında sarıyan 147 əsas cütündən ibarət olan DNT-dən təşkil olunmuş xromatin quruluş vahidi. (Şəkil 8-24)

nukleotid Bir və ya daha artıq fosfat qrupu efiir əlaqəsi ilə şəkər qalıqına, əsasən 5' karbon atomuna birləşmiş nükleozid. DNT və RNT müvafiq olaraq dezoksiribozaya və ribozaya malik olan nükleotidlərin polimeridir. (Şəkil 2-16 və Cədvəl 2-3)

nukleozid Pentoza (riboza və ya dezoksiriboza) ilə əlaqəli olan purin və ya pirimidin əsaslarından təşkil olunan kiçik molekul. (Şədvəl 2-3)

nüvə Eukariot hüceyrələrdə membranla əhatə olunmuş böyük orqanoid; daxilində xromosomlarda təşkil olunmuş DNT-yə malikdir. RNT-lərin sintezi və prosessinqi, həmçinin ribosomların toplanması nüvədə baş verir.

nüvə cismi Nüvədə təxminən sferik şəkildə olan, funksional olaraq ixtisaslaşmış, tərkibində xüsusi zülallar və RNT-lər; ribonukleozülal (RNP) komplekslərindən təşkil olunmuş xüsusi rayon. Ən məşhur növü nüvəcikdir.

nüvə qabığı Nüvəni əhatə edən ikiqat-membran quruluş, xarici membran qatı endoplazmatik şəbəkənin davamıdır və iki membran nüvə məsamələri kompleksi ilə nüvəni dəşir. (Şəkil 1-12a)

nüvə laminası Nüvə qabığının daxili səthini örtən aralıq filament liflərindən ibarət olan fibrilyar (lifli) şəbəkə. (Şəkil 19-19)

nüvə məsamələri kompleksi (NPC) Əsasən nüvə qabığını hər iki tərəfə keçərək genişlənən nukleoporinlərdən təşkil olunmuş böyük çoxzülallı quruluş. İonlar və kiçik molekullar NPC-lərdən asanlıqla diffuziya edib keçə bilərlər, böyük zülallar və böyük ribonukleozülal (ribonukleoprotein) zərrəciklər həllolan zülalların kməyi ilə NPC-lərdən selektiv daşınırlar. (Şəkil 13-33a və b)

nüvə reseptoru Lipiddə həllolan molekullara (məsələn, steroid hormonlara) birləşən, transkripsiyayı fəallaşdıran liqand-reseptor kompleksini əmələ gətirən hüceyrədaxili reseptorlar sinifinin nümayəndəsi; bunlara *steroid reseptor superailəsi* də deyilir. (Şəkil 9-45d)

nüvəcik Eukariot hüceyrələrin nüvəsində böyük quruluş, burada rRNT sintezi və ribosom subvahidlərinin yığılması baş verir. (Şəkil 8-28a)

O-əlaqəli oligosaxarid Qlikozülallarda serin və ya treonin qalıqlarındakı yan zəncirin hidroksil qrupuna birləşmiş oligosaxarid zənciri. Həmçinin **N-əlaqəli oligosaxaridlərə** baxın.

O-GlcNA-silləşmə Serin və ya treoninin yan zəncirinin hidroksil qrupuna N-asetilqlukozamin (GlcNAc) şəkərinin əlavə edilməsi ilə hüceyrədaxili zülalın geriyyə dönmə bilən, posttranslyasiya kovalent modifikasiyası. O-GlcNA-silləşmə modifikasiya olunmuş zülalın fəaliyyətini dəyişdirə bilər.

oxunma çərçivəsi mRNT-də translyasiyanın xüsusi start kodundan başlayaraq stop kodonuna qədər uzanan nükleotid tripletlərin (kodonların) ardıcılığı. Bəzi mRNT-lər iki fərqli oxunma çərçivəsində oxunaraq fərqli polipeptidlərə çevrilə bilər. (Şəkil 4-18)

Okazaki fraqmentləri DNT replikasiyası zamanı gecikən zəncirin sintezində əmələ gələn və fasiləsiz davam edən DNT zəncirini yaratmaq üçün DNT liqazı ilə sürətlə birləşdirilən qısa (<1000 baz), tək zəncirli DNT fraqmentləri. (Şəkil 5-29)

oksidləşdirici fosforlaşma ADP-nin fosforlaşması, bakteriyalarda və mitoxondridə elektronların oksigenə (O₂) kreçirilməsi ilə idarə olunan ATP-ni əmələ gətirir. Elektron nəqliyyatı zamanı **proton hərəkətverici qüvvəsinin** yaranmasını və ardınca da onun **ATP sintezinin** gücləndirilməsi üçün istifadə edilməsini əhatə edir.

oksidləşmə Hidrogen atomu molekuldan çıxarıldıqda və ya oksigen əlavə edildikdə meydana gələn kimi elektronun atomdan və ya molekuldan itirilməsi, **reduksiyanın** əksidir.

oksidləşmə potensialı Atom və ya molekul elektronu itirəndə gərginlik dəyişməsi; molekulun elektronu itirməyə meyilliyinin ölçüsü. Verilmiş oksidləşmə reaksiyası üçün oksidləşmə potensialı geriyyə (reduksiya) reaksiyası üçün **reduksiya potensialı** ilə eyni böyüklüyə, amma əks işarəyə malikdir.

oligopeptid Peptid əlaqələri ilə birləşmiş amin turşularından ibarət olan kiçik və orta ölçülü xətti polimer. *Peptid* və *oligopeptid* terminləri tez-tez bir-birinin əvəzinə istifadə olunur.

oncogene Gen məhsulu ya kulturadakı hüceyrələrin transformasiyasını, ya da heyvanlarda xərçəng əmələ gəlməsini

induksiya edən gendir. Ümumiyyətlə, hüceyrələrin böyüməsinin və ya bölünməsinin nəzarətində iştirak edən zülalın normal geninin (**proto-onkogen**) mutant formasıdır. (Şəkil 24-11)

onkogen asılılığı Bəzi xərçəng növlərinin, çoxsaylı genetik anormallıqlara baxmayaraq, bədxassəli fenotiplərini qorumaq üçün yalnız bir neçə genetik dəyişikliyə bağlı olduqları müşahidələrini təsvir edir. Bu xərçənglərin müəyyən onkogen mutasiyalardan "asılı" olduqları deyilir.

onkozüal Anormal hüceyrə proliferasiyasına səbəb olan, **onkogenlərlə** kodlaşdırılmış zülal; normal zülalın mutant tənzimlənməyən forması və ya orqanizmdə həddindən artıq və ya yanlış zamanda və ya yanlış yerdə istehsal olunan normal zülal ola bilər.

oosit Metazoan yumurta hüceyrəsi, ana valideyndən olan bir dəst xromosomlara malik olur.

operator Repressor zülalı birləşən və bitişik genin transkripsiyasını idarə edən bakterial və ya bakteriofag genomundakı qısa DNT ardıcılığı. (Şəkil 7-3)

operon Bakterial DNT-də, çoxsaylı zülalların kodlaşdırıcı ardıcılığına malik olan mRNT-ni əmələ gətirən bir **promotordan** köçürülmüş bitişik genlər qrupu. (Şəkil 5-13a)

optogenetika Kanal-rodopsinlərin elektriklə həyəcanlanan hüceyrələrdə ekspressiya edildiyi və onların membran potensialının işıqla idarə olunmasına imkan verən metod.

organoid Eukaryotik hüceyrələrdə olan hər hansı bir membranla məhdudlaşmış subhüceyrə quruluşu. (Şəkil 1-12, 1-17, 1-19 və 1-20)

osmozis Suyun daha az həll olunan qatılıqdan birinə qədər yarımkeçirici membrandan (suya keçirici olan amma, məhlullara olunmayan) keçən xalis hərəkəti. (Şəkil 11-6)

özünü-yeniləmə Sütun hüceyrənin hüceyrə bölünməsi zamanı differensiasiya etmədən özünü çoxaltma (artırma) qabiliyyəti.

P cismi Translyasiyanın repressiyasında və assosiasiyada olan mRNA-lərin parçalanmasında fəaliyyət göstərən ribosomalar və ya translyasiya faktorları olmayan sıx sitoplazmik domen; həmçinin *sitoplazmik RNT prosessinq orqan* adlanır.

p53 zülalı Zədələnmiş DNT-si olan hüceyrələrin tutulmasında (arrest olunmasında) kritik rol oynayan **şiş-supressor** genin məhsulu. *p53* genindəki təsirsizləşdirən mutasiyalar bir çox insanın xərçəngində aşkar olunmuşdur. (Şəkil 24-26)

paç (yamaq) sıxac üsulu Bütöv hüceyrə membranının kiçik bir hissəsinə (yamağına) tətbiq olunan mikropipet ucluğunu (tip) istifadə edərək tək bir ion kanalını və ya bütün hüceyrənin membranı boyunca ion axınını təyin etmək üçün metod. (Şəkil 11-22)

parakrin Hədəf hüceyrəsinin yaxınlıqdakı hüceyrə(lər) tərəfindən istehsal olunan və diffuziya yolu ilə hədəfə çatan siqnal molekuluna (məsələn, boy (böyümə) faktoru, neyrotransmitter) reaksiya verdiyi siqnal mexanizminə aid edilir.

pentoza Beş karbonlu **monosaxarid**. Pentozalar – riboza və dezoksiriboza müvafiq olaraq RNT və DNT-də mövcuddur. (Şəkil 2-16)

peptid Peptid əlaqələri ilə birləşdirilmiş amin turşularından ibarət kiçik xətti polimer. *Peptid* və *oligopeptid* terminləri tez-tez bir-birinin əvəz etməklə istifadə olunur. Həmçinin baxın **polipeptid**.

peptid rabitəsi Bir amin turşusunun amino qrupu ilə digərinin karboksil qrupu arasında su molekulunun xalis sərbəst buraxılması ilə (dehidrasiya) əmələ gələn amin turşuları arasındakı kovalent amid əlaqəsi. (Şəkil 2-13)

peptidoqlikan Bakterial hüceyrədə hüceyrə divarına sərtliyi təmin edən və hüceyrənin formasını təyin etməyə kömək edən, hüceyrə divarındakı peptid çarpaz körpüləri ilə bir-birinə bağlanan polisaxarid zənciri.

periferial membran zülalı Membranın sitozol və ya eqzoplazmatik üzü ilə birləşən, lakin fosfolipid ikiqatlısının hidrofob mərkəzinə daxil olmayan istənilən zülal. **İntegral membran zülalına** da baxın. (Şəkil 7-1)

perisentriolar material Amorf material heyvan hüceyrələrinin sentriollarını əhatə edən nazik kəsiklərdə elektron mikroskopu ilə görünür. Perisentriolar material, mikroborucaq yığılmasının nukleasiyasını təşviq edən qamma-tubulin halqa kompleksi (qamma-TuRC) daxil olmaqla bir sıra komponentdən ibarətdir. (Şəkil 18-6)

perlekan Bir çox ECM komponentinə, hüceyrə səthindəki molekulalara və boy (böyümə) faktorlarına bağlanan, hüceyrə xaricindəki matrisanın (ECM) böyük, çox domenli **proteqlikan** komponenti; **bazal laminanın** əsas tərkib hissəsidir.

peroksisom Yağ turşularını və amin turşularını katalaza vasitəsi ilə suya və oksigenə çevrilən hidrogen peroksidi əmələ gətirən reaksiyalarla parçalayan fermentlərə malik olan kiçik orqanoid.

pH Hidrogen ionunun bir litrdə mollarla qatılığının mənfi loqarifma ilə təyin olunan məhlulunda turşuluğun və ya qələviliyin ölçüsü: $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. Neytrallıq pH 7-yə bərabərdir; bundan aşağı qiymətlər turşuluğu yuxarı qiymətlər isə qələviyi göstərir.

pI Baxın **izoelektrik nöqtə**.

pirimidinlər Bir heterosiklik halqası olan azotlu birləşmələrin sinfi. Sitozin (C) və timin (T) olan iki pirimidin, DNT-də olan nükleotidlərin əsas hissəsidir; RNT-də urasil (U) timini əvəz edir. **Əsas cütlərinə** də baxın. (Şəkil 2-17)

plakinlər Digər quruluşlarla **aralıq filamentləri** yapışdırmağa kömək edən zülal ailəsi.

plaq (lövhə) analizi Nümunədəki yoluxucu viral hissəciklərin sayını durulaşdırılmış nümunəni həssas hüceyrələrin nazik təbəqəsində kulturaya keçirməklə və sonra inkişaf etmiş hüceyrələrin parçalanmış (lövhələrin) açıq sahələrini saymaqla təyin etmək metodu. (Şəkil 5-44)

plazma membranı Hüceyrəni xarici mühitdən ayıran, onu əhatə edən membran; **fosfolipid ikiqatlısından** və onunla əlaqəli olan membran lipidlərindən və zülallarından ibarətdir. (Şəkil 1-12a, 7-1 və 7-5)

plazmid Hüceyrədə avtonom çoxalma qabiliyyətinə malik olan kiçik, dairəvi ekstraxromosomal DNT molekulu; bir qayda olaraq DNA klonlaşdırılmasında vektor kimi istifadə olunur.

plazmodesmata (cəm. **plazmodesma**) Bitişik bitki hüceyrələrinin sitoplazmalarını bir-birinə bağlayan və heyvan hüceyrələrindəki boşluq qovşaqlarına oxşar olan boruya bənzər hüceyrə qovşaqları. (Şəkil 20-41)

poli-doymamış Karbon-karbon əlaqələrinin iki və ya daha çoxunun ikiqat və ya üçqat rabitə ilə olduğu birləşməyə (məsələn, yağ turşusu) aid edilir.

polimer Kovalent rabitələrlə əlaqəli çoxsaylı eyni və ya oxşar vahidlərdən (monomerlərdən) ibarət olan hər hansı bir böyük molekul. (Şəkil 2-13)

polimeraza zəncirvari reaksiya Baxın **PCR**.

polipeptid Adətən 20 və ya daha çox qalığa malik olan peptid rabitələri ilə əlaqələnən amin turşularının xətti polimeri. Həmçinin **zülal** baxın.

polisaxarid Qlikozid əlaqələri ilə birləşmiş və adətən 15-dən çox qalıqdan ibarət olan monosaxaridlərin xətti və ya şaxələnmiş polimeri. Çox hallarda 15-dən az qalıqdan ibarət olanlara *oligosaxaridlər* deyilir.

politen xromosom, xromosom ayrılması olmadan DNT replikasiyasının çoxsaylı tsiklləri nəticəsində ilə əmələ gələn, özünün bir çox paralel nüsxələrindən ibarət olan həddən artıq böyümüş xromosom; *Drosophila*-nın və digər ikiqanadlı həşəratların tüpürcək vəzlərində və bəzi başqa toxumalarında tapılmışdır. (Şəkil 8-40)

poliübikvitinləşmə Hədəf zülalındakı sayta kovalent əlaqəli ubikvitin molekulaları zəncirinin kovalent rabitə ilə əlavə edilməsi.

polo kinazlar Sentrosomun təkrarlanması və xromosomlardan kohesinin çıxarılması kimi mitozun bir çox aspektləri üçün kritik olan proteinkinaz ailəsi.

polyar Xalis elektrik yükünə və ya müsbət və mənfi yüklərin asimmetrik paylanmasına malik olan molekula və ya quruluşa işarə edir. Polyar molekulalar adətən suda həll olurlar.

polyarlaşmış Hüceyrə biologiyasında, funksional və quruluş asimmetriyası ilə işarələnmiş hər hansı bir hüceyrə və ya subhüceyrə quruluşundan bəhs olunur.

polyarlıq Hüceyrə biologiyasında hüceyrənin və ya hüceyrə komponentinin fərqli bölgələrində funksional və / və ya quruluş fərqlərinin olması. **Hüceyrə polarlığına** da baxın.

polyribosome Hamısı tək bir məlumat RNT-sini translyasiya edən bir neçə **ribosomdan** ibarət olan kompleks; buna *polisom* da deyilir. (Şəkil 5-27)

porinlər Suda həll olan kiçik molekulaların membranı kəsb keçə biləcəyi trimer transmembran zülallar sinfi; xarici

mitoxondrial və xloroplast membranlarında və qram mənfi bakteriyaların xarici membranında mövcuddur. (Şəkil 7-18)

potensial enerji Saxlanan enerji. Bioloji sistemlərdə potensial enerjinin ilkin formaları kimyəvi rabitələr, qatılıq qradientləri və hüceyrə membranları tərəflərindəki elektrik potensialıdır.

praymeaza DNT sintezi üçün praymer kimi istifadə olunan qısa RNT uzanmalarını sintez edən xüsusi bir RNT polimerazi. (Şəkil 5-30).

praymer Komplementar templeyt zənciri ilə əsas cütləri yaradan və templeyt zəncirinin sürətini çıxarmaq üçün nükleotidlərin əlavə edilməsi üçün başlanğıc nöqtəsi kimi fəaliyyət göstərən sərbəst 3'-hidroksil qrupuna malik olan qısa nuklein turşusu ardıcılığı.

pre-mRNT Sələf məlumat RNT-si; RNT prosesinqindəki **əsas transkript** və aralıq intermedialar. (Şəkil 5-15 və 10-2)

pre-rRNT Eukaryotik hüceyrələrin nüvəsində sintez olunan və ribosomlarda mövcud olan dörd RNT-dən üçününün alınması üçün prosesinq olunan böyük sələf ribosomal RNT. (Şəkil 10-40 və 10-41)

prob (zond) Radioaktiv, fluoressent və ya kimyəvi olaraq nişanlanmış, hibridləşdirmə yolu ilə spesifik nuklein turşusu ardıcılığını aşkar etmək üçün istifadə olunan müəyyən edilmiş RNT və ya DNA parçası.

profaza Mitozun xromosomların kondensasiya olunduğu ən erkən mərhələsi, ikilənmiş sentrosomlar şpindel qütblərini əmələ gətirmək üçün ayrılır və mitoz şpindel formalaşmağa başlayır. (Şəkil 18-37)

profil (forma) verən genlər Əsas bədən oxları və seqmentləri daxil olmaqla heyvanın ümumi təşkil olunmasını təyin edən metazoan inkişafında iştirak edən genlər.

prokariotlar Həqiqi membranla məhdudlaşmış nüvəyə və digər orqanoidlərə malik olmayan **bakteriyalar (eubakteriyalar)** və **arxealar** daxil olmaqla orqanizmlər sinfi. **Eukaryotlara** da baxın. (Şəkil 1-1)

proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü Baxın **apoptoz**.

prolaktin Məməlilərin hamiləlik dövründə süd zülallarını istehsal etmək və ifraz etmək üçün süd vəzlərinin inkişafına səbəb olan buraxılacaq sitokin.

prometafaza Mitozun ikinci mərhələsi, nüvə qabığı və nüvə lamininin parçalanması və şpindel qütblərindən yığılmış mikroborucuqların xromosom cütlərini **kinetoxorlar** adlanan ixtisaslaşmış quruluşlarda "tutması". (Şəkil 18-37)

promoter-proksimal element Eukariotik DNT-də transkripsiyanın start saytıdan ~200 əsas cütü daxilində olan hər hansı bir tənzimləmə ardıcılığı. Çox genlərin transkripsiyası çoxsaylı promotor-proksimal elementlər tərəfindən idarə olunur. (Şəkil 9-23)

promotor RNT polimeraza üçün **transkripsiyanın inisiasiya** saytını təyin edən DNT ardıcılığı. (Şəkil 5-11)

proteasom Sitozoldakı çoxsaylı **ubikvitin** molekulalarının birləşməsi ilə məhv edilmək üçün nişanlanan hüceyrədaxili

zülalları parçalayan böyük çoxfunksiyalı proteazalar kompleksi. (Şəkil 3-31)

proteaza Hədəf zülallarında bir və ya daha çox peptid rabitələrini qıran hər hansı bir ferment.

proteinkinaz B (PKB) Sıqnalla-induksiya olunan **fosfoinozitol** tərəfindən plazma membranına cəlb olunan və sonradan fəallaşan sitozol fermenti; həmçinin **Akt** adlandırılır. (Şəkil 16-29)

proteinkinaz C (PKC) Sitozol Ca^{2+} səviyyəsinin sıqnalla-induksiya olunan artmasına cavab olaraq plazma membranına səfərbər olunan və membrana bağlı diasilqliserolla (DAG) fəallaşan sitozol fermenti. (Şəkil 15-34a)

proteinkinaza (zülalkinaza) A (PKA) Tsiklik **AMP (cAMP)** tərəfindən fəallaşdırılan və çoxsaylı hüceyrə zülallarını fosforlaşdırmaqla və beləliklə onların fəaliyyətini tənzimləməklə işləyən sitozol fermenti; *cAMP-dən asılı olan proteinkinaz* adlanır. (Şəkil 15-29)

proteinkinaza G (PKG) Tsiklik GMP ilə fəallaşan sitozol proteinkinaza.

proteoqlikanlar Bir və ya daha çox qlikozaminoglikan (GAG) zəncirinin qoşulduğu əsas zülala malik olan bir qrup qlikozülallar (məsələn, perlecən və agreca). Bunlar, demək olar ki, bütün heyvan hüceyrələrində hüceyrəarici matrisalarda tapılır və bəziləri bütöv membran zülallarıdır. (Şəkil 20-32)

proteome Hüceyrə kompartimentindəki, intakt hüceyrədəki, orqan və ya orqanizmdəki bütün zülallar.

proteomics Bütün orqanizm, toxuma, hüceyrə və subhüceyrə səviyyələrində zülalların hamısının və ya subqruplarının miqdarının, modifikasiyasının, qarşılıqlı təsirinin, lokalizasiyasının və funksiyalarının sistematik şəkildə öyrənilməsi.

proton-hərəkətli qüvvə Proton (H^+) qatılığı qradientinin və membran üzərindəki elektrik potensial qradientinin enerji ekvivalenti; ATP sintaza ilə ATP sintezini, molekulların onların qatılığı qradientinə qarşı nəqlini və bakterial flagella hərəkətini idarə etmək üçün istifadə olunur. (Şəkil 12-2)

proto-onkogen Ümumiyyətlə hüceyrələrin böyüməsinin və ya differensiasiyasının tənzimlənməsində iştirak edən və zülal kodlaşdıran seqmenti dəyişdirərək və ya onun ekspressiyasını dəyişdirərək xərçəngin inkişafına səbəb olan **onkogenə** mutasiya oluna bilən zülalı kodlaşdıran normal hüceyrə genidir. (Şəkil 24-15)

protostomlar Ağzı blastopora yaxın inkişaf edən və ventral (ön) sinir sapına malik olan ikitərəfli simmetrik heyvanlar qrupu. Bu qrupa qurdlar, bəcəklər və molyusklar daxildir.

provirus Sahib hüceyrə genomuna inteqrasiya olunmuş heyvan virusunun DNT-si; hüceyrənin replikasiyası zamanı provirus DNT-si replikasiya olunur və hər iki qız hüceyrəsində meydana çıxır. Provirus DNT-nin fəallaşması yeni nəsil virionlarının istehsalına və sərbəst buraxılmasına gətirib çıxarır.

pseudogen DNT ardıcılığı funksional genin ardıcılığına bənzər olan, amma funksional gen məhsulu kodlaşdırmayan

DNT ardıcılığıdır; ehtimal ki, ikilənmiş (duplikasiya olunmuş) genlərin ardıcılığının sürüşməsi nəticəsində yaranıb.

pseudosubstrat domeni Ardıcılığı və ya quruluşu fermentin substratına bənzəyən, ona görə də fermentin fəal mərkəzinə birləşən, lakin ferment tərəfindən modifikasiya oluna (yəni, fosforlaşa) bilməyən və fermentin inibirləşməsi ilə nəticələnən zülal domeni.

puls-izləmə Radioaktiv kiçik molekulun hüceyrəyə qısa müddətli (nəbz) əlavə edildiyi və daha sonra eyni kiçik molekulun nişanlanmamış formasının (izləmə) çoxluğu ilə əvəz olduğu təcrübə növü. Molekulun hüceyrədə yerinin dəyişilməsində və ya zamanla metabolik müqəddaratının təyin edilməsində istifadə olunur. (Şəkil 3-42)

purinlər İki qovuşmuş heterotsiklik halqası olan azotlu birləşmələrin bir sinfi. Adenin (A) və guanin (G) olan iki purin, DNT və RNT-də olan nükleotidlərin əsas komponentləridir. **Əsas cütlərinə** də baxın. (Şəkil 2-17)

PZR (polimeraz zəncirvari reaksiya) Kompleks qatışıqda spesifik DNT seqmentini DNT sintezinin çoxsaylı dövrəsi (tsikli) ilə qısa oligonükleotid praymerlərdən və ardınca da komplementar zəncirləri ayırmaq üçün qısa qızdırmaqdan istifadə edərək artıran metod. (Şəkil 6-18)

R qrupu Molekulun bir hissəsi və ya çox böyük molekul daxilindəki kimyəvi qrupun molekulun əsas özəyinə əlavə kimi kovalent şəkildə birləşmiş bir hissəsi. Amin turşusunda R qrupu, alfa karbon atomuna birləşmiş və ona amin fərqli xüsusiyyətlərini verən yan zəncirdir.

radioizotop Dəqiqə radiasiya yayan atomun qeyri-stabil forması. Bioloji molekullarda bir sıra radioizotoplar eksperimental olaraq geniş istifadə olunur. (Cədvəl 3-1)

Ras zülalı Lipid lövbərlə plazma membranına bağlanan və hüceyrədaxili siqnal yollarında fəaliyyət göstərən keçid zülallarından ibarət olan GTPaza superailəsinin monomer üzvü; reseptor tirozin kinazlara və bəzi digər hüceyrə səthindəki reseptorlara ligand birləşməsi ilə fəallaşdırılır. (Şəkil 16-21 və 16-23)

Rb zülal E2F transkripsiyası faktoru ailəsinin inhibitorudur, bununla da hüceyrə tsiklinə girişin əsas tənzimləyicisidir.

reduksiya Molekula hidrogen atomu əlavə edildikdə və ya oksigen çıxarıldıqda meydana gəldiyi kimi atom və ya molekulun elektronu qazanması. **Oksidləşmənin** əksi olan proses.

reduksiya potensialı (E) Atom və ya molekulun elektronu qazandığı zaman gərginlik dəyişməsi; molekulun elektronu qazanma meylinin ölçüsü. Verilmiş reduksiya reaksiyası üçün *E*, əks (oksidləşmə) reaksiyası üçün **oksidləşmə potensialı** ilə eyni, amma əks işarəli qiymətə malikdir.

reduksiya reaksiyası Bir və ya daha çox elektronun bir reagentdən digərinə keçdiyi oksidləşmə-reduksiya reaksiyası.

rekombinant DNT Müxtəlif mənbələrdən olan DNA fraqmentlərini birləşdirərək in vitro əmələ gələn hər hansı bir DNT molekuludur.

rekombinasiya Xromosomların və ya DNT molekullarının kəsildiyi və fraqmentlərin yenidən birləşərək yeni kombinasiyalar verdiyi hər hansı bir proses. Homoloji rekombinasiya meyoza zamanı baş verir və homoloji xromosomların krossinqoverinə (birindən digərinə keçməsinə) səbəb olur. Homoloji rekombinasiya və qeyri homoloji rekombinasiya (yəni, müxtəlif morfoloji tipli xromosomlar arasında) da bir neçə DNT bərpa (reparasiya) mexanizmi zamanı meydana gəlir və təmizlənmiş DNT və fermentlərlə in vitro şəkildə həyata keçirilə bilər. (Şəkil 6-10)

rentgen kristalloqrafiya (x-ray crystallography) Rentgen şüalarını təmizlənmiş makromolekulların kristalından keçirməklə və nəticədə əmələ gələn diskret ləkələrin diffraksiya profilini analiz etməklə makromolekulların (xüsusilə də zülalların və nuklein turşularının) üç-ölçülü quruluşunu öyrənmək üçün çox istifadə olunan metoddur. (Şəkil 3-45)

replikasiya çəngəli DNT sintezi zamanı cüt zəncirli DNT-də iki zəncirin ayrıldığı və replikasiya etdiyi Y şəklində rayon; buna böyüyən çəngəl də deyilir. (Şəkil 5-29)

replikasiya mənşəi Orqanizmin genomunda mövcud olan, DNT replikasiyasının başladığı unikal DNT seqmenti. Eukaryotik xromosomlarda çox mənşə olur, bakterial xromosomlar və plazmidlər isə adətən yalnız birinə malik olur.

reportyor gen Asanlıqla analiz edilə bilən zülalı kodlaşdıran gen (məs., β -galaktozidaza, lusiferaza). Reportyor genlər, adətən müxtəlif növ təcrübələrdə reportyor geninin əlaqələndirildiyi promotorun fəallaşmasını göstərmək üçün istifadə olunur.

repressiya domeni Transkripsiyanın repressiyası faktorunun DNT-birləşdirən domenlə birləşərək transkripsiyanı ingibirləşdirən rayon.

repressor Transkripsiyayı ingibirləşdirən **spesifik transkripsiya faktoru**.

reseptor Hüceyrə-hüceyrə siqnal ötürülməsinə, adgeziyasına, endositozuna və ya digər hüceyrə proseslərinə vasitəçilik etmək üçün başqa bir molekula xüsusi olaraq birləşən hər hansı bir zülal. Ümumiyyətlə plazma membranında, sitosolda və ya nüvədə yerləşən, müəyyən bir hüceyrə xaricindəki molekula (**liganda**) birləşən bir zülalı təmsil edir, bu da çox hallarda reseptorda konformasiya dəyişikliyinə səbəb olur, bununla da hüceyrə reaksiyasını inisiyasiya edir. Həmçinin baxın **adgeziya reseptoru** və **nüvə reseptoru**. (Şəkil 15-1 və 16-1)

reseptor tirozin kinaza (RTK) İnsülin və bir çox bəzi (böyümə) faktorları daxil olmaqla, ümumiyyətlə tək bir transmembran domeninə sahib olan böyük bir hüceyrə səthi reseptorlarının nümayəndəsi. Ligandın birləşməsi reseptorun sitozol domenindəki spesifik tirozin proteinkinaza fəallığını fəallaşdırır, bununla da hüceyrədaxili siqnal yollarını inisiyasiya edir. (Şəkil 16-14 və 16-15)

reseptor-vasitəsilə endositoz Spesifik hüceyrə səthi reseptorlarına birləşmiş hüceyrə xaricindəki materialların plazma membranının invaziyası və membranla örtülü qovucuğun (erkən endosom) əmələ gəlməsi yolu ilə götürülməsi. (Şəkil 14-29)

resessiv Genetikada, **dominant allel mövcud** olduqda **fenotipdə** ekspressiya olunmayan genin allelinə aid edilir; eyni zamanda iki resessiv alleli daşıyan fərdin fenotipinə (homoziqot) aid edilir. Resessiv alleli əmələ gətirən mutasiyalar, ümumiyyətlə genin funksiyasının itirilməsinə səbəb olur. (Şəkil 6-2)

restriksiya fermenti İki-zəncirli DNA molekullarında müəyyən bir qısa ardıcılığı, restriksiya saytını tanıyan və kəsən hər hansı bir ferment; in vitro rekombinant DNT istehsal etmək üçün geniş istifadə edilir; həmçinin *restriksiya endonukleazası* adlanır. (Şəkil 6-11; cədvəl 6-1)

restriksiya nöqtəsi Məməlilərin hüceyrə tsiklindeki nöqtə, bundan sonra hüceyrələr proliferasiya yayılma siqnallarına cavab vermir.

retrotranspozon Genomda hərəkəti RNT intermediatla vasitələnen və geriye-transkripsiya mərhələsini əhatə edən eukaryotik **transpozon DNT elementi** növü. **Transpozona** da baxın. (Şəkil 8-8b)

retrovirus Əvvəlcə RNT-nin DNT sürətini çıxarıb hüceyrələrdə replikasiya edin, RNT genomu olan eukaryotik virus növü. Bu virus DNT-si hüceyrənin xromosomal DNT-nə daxil edilir və **provirusu** əmələ gətirir, sonra və daha çox genom RNT-nin və virus zülallarının sintezi üçün mRNT-nin yaranmasına səbəb olur. (Şəkil 5-48)

rezolyusiya Optik aparatla fərqləndirilə bilən iki cisim arasındakı minimum məsafə; eyni zamanda həlletmə gücü adlandırılır.

RISC Bax **RNT ilə induksiya olunan susdurma kompleksi**.

ribonuklein turşusu (RNT) Baxın **RNT**.

ribonukleozülal (ribonucleoprotein RNP) kompleksi Zülallardan və RNT-dən ibarət olan hər hansı bir kompleksin ümumi adlandırılması. Əksər RNT molekulları hüceyrədə RNP şəklində mövcud olur.

ribosom Bir neçə fərqli rRNT molekulundan və 83-ə qədər çox sayda zülaldan ibarət olan, böyük və kiçik subvahidlərə ayrılan böyük bir kompleks; **translyasiya** (zülal sintezi) mühərrikdir. (Şəkil 5-22 və 5-23)

ribosomal RNT Baxın **rRNA**.

ribozim Katalitik fəallığa malik olan RNT molekulu. **Ribozimlər** RNT splayinqində və zülal sintezində fəaliyyət göstərir.

ribuloza 1,5-difosfat karboksilaza Xloroplastlarda yerləşən, Calvin tsiklinde ilk reaksiyanı kataliz edən ferment, iki karbonlu 3-fosfoqliseratı əmələ gətirmək üçün beş karbonlu şəkərə (ribuloza 1,5- difosfata) CO₂ əlavə edir; həmçinin *rubisco* adlanır. (Şəkil 12-47)

riliiz (sərbəst buraxma) faktoru (RF) mRNT-də stop kodonlarını tanıyan və tamamlanmış polipeptid zəncirinin sərbəst buraxılmasını təmin edən və bununla da **translyasiyanı** (zülalın sintezini) dayandıran qeyri ribosomal zülalların iki növündən biri. (Şəkil 5-26)

RNT (ribonuklein turşusu) Riboza nukleotidlərindən ibarət olan xətti, tək zəncirli polimer. mRNT, rRNT və tRNT zülal sintezində fərqli rol oynayırlar; müxtəlif kiçik RNT-lər mRNT-lərin sabitliyini və translyasiyasını və xromatin quruluşunu və transkripsiyasını idarə etməkdə rol oynayırlar. (Şəkil 5-17)

RNT müdaxiləsi (RNTi) Xüsusi bir genin, ya translyasiyanı ingibirləşdirən, ya da fərqli ardıcılıqlara malik olan mRNT-nin deyil gen tərəfindən kodlaşdırılmış komplementar tək zəncirli mRNT-nin dağılmasına səbəb olan müvafiq iki-zəncirli RNT ilə funksional fəalsızlaşması. (Şəkil 6-42)

RNT polimeraza Substrat kimi ribonukleotid trifosfatlardan istifadə edərək komplementar RNT zəncirini əmələ gətirmək üçün DNT-nin bir zəncirinin (*templeyt* zəncir) sürətini çıxaran ferment. (Şəkil 5-11)

RNT redaktəsi Pre-mRNT ardıcılığının dəyişdirildiyi qeyri-adi RNT prosessinqi tipi.

RNT splayinqi Pre-mRNT-lərdən intronların çıxarılması və ekzonların birləşməsi ilə nəticələnən prosesdir. **Splaysesoma** da bain. (Şəkil 10-8 və 10-9)

RNT-ilə induksiya olunan susdurma kompleksi (RISC) Komplementar və ya komplementara yaxın mRNT-nin parçalanmasına və ya translyasiyasının repressiyasına vasitəçilik edən qısa bir zəncirli RNT (**siRNT** və ya **miRNT**) ilə əlaqəli olan böyük çox zülallı kompleks.

rRNT (ribosomal RNT) Ribosomların quruluş və funksional komponentləri olan bir neçə böyük RNT molekulundan hər hansı biri. Çox zaman sedimentasiya (çökmə) əmsalına uyğun olaraq təyin olunur: ali eukariotlarda 28S, 18S, 5.8S və 5S rRNT. (Şəkil 5-22)

rubisco Baxın **ribuloza 1,5-difosfat karboksilazaya**.

S (sintez) fazası Baxın **hüceyrə tsikli**.

S faza CDK-ləri DNT-nin replikasiyasının başlanmasını təşviq edən tsiklin-CDK kompleksləri.

sabit vəziyyət Hüceyrənin metabolik yollarında maddənin əmələ gəlmə sürəti və onun sərf olunma sürətinin bərabər olduğu elə şərtidir ki, maddənin qatılığı sabit qalır. (Şəkil 2-23)

S-adenozilmetionin (S-Ado-Met) ATP və metionindən alınan metil donoru, çoxsaylı metabolik intermediatların (aralıq maddələrin) sintezində istifadə olunur. mRNT-lərdə 5' papağın sintezi və daxili m6A, rRNT-lərin və tRNT-lərin çoxsaylı saytlarında metilləşmə və DNT-dəki sitozinlərin metilləşməsi də daxil olmaqla DNT və RNT-nin metilləşməsi üçün metil donorudur.

sadə diffuziya Molekulun öz qatılıq qradientinin azalan istiqamətində membranın keçiriciliyi və qradientə mütənasib olan sürətlə membrandan keçən xalis hərəkəti. Buna *passiv diffuziya* da deyilir.

sadə-ardıcılıqla DNT Sentromerlər və telomerlərdə, həmçinin digər xromosomal yerlərdə rast gəlinən və transkripsiya olunmayan qısa, tandemi təkrarlanan ardıcılıqlar; *satellit DNT* də deyilir.

sakitlikdə olan K⁺ kanalları Heyvan hüceyrələrində **Na⁺/K⁺ ATPaza** tərəfindən istehsal olunan sitozoldakı yüksək K⁺ qatılığı ilə birlikdə, daxili mənfi sakitlikdə olan membran potensialının yaradılmasını təmin edən plazma membrandakı qapanmayan K⁺ ion kanalları.

sarkomer Mütəşəkkil, üst-üstə düşən nazik (**aktin**) filamentlərdən və qalın (**miyozin**) filamentlərdən ibarət olan və Z diskindən yaxındakı bitişik olan diske qədər uzanan eninəzolaqlı (skelet) əzələlərin təkrarlanan quruluş vahidi; dartılma zamanı qısalır. (Şəkil 17-30 və 17-31)

sarkoplazmatik şəbəkə (retikulum) Əzələ hüceyrəsinin sitoplazmasındakı Ca²⁺ ionlarını ayıran membranlar şəbəkəsi; əzələnin stimullaşdırılması nəticəsində əmələ gələn ayrılmış Ca²⁺-nın buraxılması əzələ dartılmasını işə salır. (Şəkil 17-33)

satellit DNT Baxın **sadə ardıcılıqlı DNT**.

Sauzerin blotting Elektroforezle ayrılmış spesifik DNT ardıcılıqlarının nişanlanmış nuklein turşusu **probları** ilə hibridləşdirməklə aşkar edilməsi. (Şəkil 6-24)

SCF (Skp1, Cullin, F-boks zülalları) S fazalı CDK-lərin ingibitorlarını və bir çox digər zülalları ubiquitinləşdirən, proteasomların parçalanması üçün işarə edən Ubikvitin-proteinligaza.

SC-β hüceyrələri Diabetli xəstələri müalicə etmək potensialına sahib olan, laboratoriyada insanın iPS və ES hüceyrələrindən alınan insulin ifraz edən β-adacıq hüceyrələri.

sekurin Kohezini parçalayan proteaza olan separazanı ingibirləşdirərək xromosom seqreqasiyasının başlanmasının qarşısını alan zülal.

seqreqasiya Mitoz və meyoza zamanı xromosom komplementarlarını qız hüceyrələrə paylayan proses.

selektinlər Bitişik hüceyrələrin səthindəki qlikozülallarda və qlikolipidlərdə olan və ya hüceyrəxarici qlikozülallarda olan spesifik oliqosaxarid hissələri ilə Ca²⁺-dan asılı olan qarşılıqlı təsirlərə vasitəçilik edən **hüceyrə adgeziya (yapışma) molekulaları** ailəsi. (Şəkil 20-2 və 20-40)

selüloza β (1 S 4) qlikozid rabitələri ilə bir-birinə bağlanan qlükoza vahidlərindən hazırlanmış quruluş polisaxaridi. Bitkilərdə hüceyrə divarının əsas tərkib hissəsi olan uzun mikrofibrilləri əmələ gətirir.

sensor Hüceyrədaxili və ya hüceyrəxarici xüsusiyyəti ölçür və signala çevrilir.

sentriol Heyvan hüceyrələrinin sentrosomu daxilində olan və doqquz dəst üçqat mikro-borulardan ibarət olan iki silindrik quruluşdan istənilən biri; quruluşuna grə bazal cismə bənzəyir. (Şəkil 18-6)

sentromer mitoz və mayoz zamanı xromosomların düzgün şəkildə ayrılması üçün tələb olunan DNT ardıcılığı; kinetoxorun əmələ gəldiyi və daralmış görünən mitotik xromosomların rayonu. (Şəkil 6-39)

sentrosom (hüceyrə mərkəzi) Heyvan hüceyrələrinin nüvəsinin yaxınlığında yerləşən, əsas mikroborucuq təşkil edən mərkəzdən (**microtubule-organizing center** - MTOC) ibarət

olan quruluş; zülal matrisaya daxil olmuş bir cüt sentrioldan təşkil olunub və mitozdan əvvəl ikiləşir, hər bir sentrosom spindel qütbünə çevrilir. (Şəkill 18-6 və 18-35)

sentrosom ayrılması (centrosome disjunction) Profaza zamanı sentrosomun ayrılması (secreasiyası) prosesini təsvir edir.

separaza Kohezini parçalayan və bununla da xromosom sequeqasiyasını inisiyasiya edən proteaza.

səpələnmiş təkrarlar (interspersed repeats) Çox hüceyrəli heyvan və bitkilərin genomları boyunca çoxsaylı yerlərdə meydana çıxan transpozonlardan gələn ardıcılıqlar. (Şəkil 8-8; Cədvəl 8-1)

sərbəst enerji (G) Sistemin **entalpiya (H)** və **entropiyanın (S)** funksiyası olan potensial enerjisinin ölçüsü.

sfinqolipid Ssfingozindən trənan, iki uzun karbohidrogen zənciri və ya fosforlaşmış baş qrupu (sfingomyelin) və ya karbohidrat baş qrupu (serebrozidlər, gangliozidlər) olan əsas membran lipid qrupu. (Şəkil 7-8b)

sıx qovşaq Bitişik epiteli hüceyrələrinin plazma membranları arasındakı hüceyrələr arasındakı boşluqlarda makromolekulların və bir çox kiçik molekulların və ionların diffuziyasına və plazma membranının apikal və bazolateral rayonları arasında membran komponentlərinin diffuziyasına maneə törədən hüceyrə-hüceyrə qovşağı tipi. (Şəkil 20-17)

siqnal ardıcılığı Bax **hədəf ardıcılığı**.

siqnal molekulu Hüceyrənin xarici mühitə və ya digər hüceyrələrə cavabında vasitəçilik edən hər hansı bir hüceyrəxarici və ya hüceyrədaxili molekul üçün ümumi adlandırma.

siqnal ötürülmə yolu (signal transduction pathway) Hüceyrə səthindəki reseptordan hüceyrənin daxilindəki hədəf molekul(ları)na kimyəvi məlumatın ötürülməsində iştirak edən zülallar və ya kiçik molekullar toplusu.

siqnal ötürülməsi (signal transduction) Siqnalın bir fiziki və ya kimyəvi formadan digərinə çevrilməsi. Hüceyrə biologiyasında ümumiyyətlə hüceyrəxarici siqnalın reseptora birləşməsi ilə inisiyasiya olunan və bir və ya daha çox spesifik hüceyrə reaksiyası ilə sona çatan ardıcıl proses nəzərdə tutulur.

siqnal peptidi Bax **hədəf sırası**.

siqnal tanıma zərrəciyi (SRP) Yeni sintez olunan ifrazat zülalında **ER siqnal ardıcılığına** birləşən və yeni sintez olunan zəncir/ribosom kompleksini, zülalın sintezinin tamamlandığı və ER-ə köçürülməsinin baş verdiyi ER membranına çatdıran sitozol ribonukleoprotein zərrəciyi. (Şəkil 13-5)

siqnal yolu kaskadı Hüceyrədaxili və ya hüceyrəxarici hadisə ilə fəallaşdırıla bilən və sonra siqnalı effektora ötürən siqnal yolu.

simmetrik hüceyrə bölünməsi Bax **hüceyrə bölünməsi**.

simport Membran zülalının (*simporter*) hüceyrə membranından iki fərqli molekulu və ya ionu eyni istiqamətdə ötürdüyü **birgə nəqliyyat (cotransport)** növüdür. **Antiporta** da baxın. (Şəkil 11-2, [3B])

sinaps Neyronun akson terminalı ilə digər bitişik neyron və ya impulsların ötürüldüyü digər həyəcənlanıla bilən hüceyrə (məs., əzələ hüceyrəsi) arasındakı ixtisaslaşmış rayon. *Kimyəvi sinapsda* impuls **neurotransmitter** tərəfindən aparılır; *elektrik sinapsda* impuls ötürülməsi pre- və postsinaptik hüceyrələri birləşdirən **boşluq qovşaqları** vasitəsilə baş verir. (Şəkil 22-3)

sinaptik qovucuqlar Akson sonluğunda içərisində nörotransmitterə malik olan və təsir potensialının gəlməsindən sonra ekzositoza rəuz qalan kiçik qovucuqlar.

sinaptik plastiklik Sinaptik əlaqələrin, yaddaşın formalaşması və saxlanması üçün bioloji təzahürü olan neyronal təcrübəyə əsaslanan modifikasiyası.

sinaptonemal kompleks (SC) Meyoz I-in profazası zamanı homoloji xromosomlar arasındakı əlaqəyə (sinapsis) vasitəçilik edən zülal tərkibli quruluş.

sindekanlar Hüceyrə-matrisa adgeziyasında (yapışmasında) fəaliyyət göstərən, sitoskelet ilə qarşılıqlı əlaqədə olan və xarici siqnallara birləşərək hüceyrə-hüceyrə siqnal ötürülməsində iştirak edən hüceyrə-səthi **proteolikanlar** sinfi.

sink barmaq Sink ionları ətrafında bükülən ikinci quruluşlardan təşkil olunmuş bir sıra yaxın DNT-birləşdirən **quruluş motifləridir**, bir sıra eukariot transkripsiya faktorlarında mövcud olurlar. (Şəkil 3-10c, 9-30a və b)

sintetik bağlanma Bacı xromatid cütünün kinetoxorlarının eyni qütbədən çıxan mikroburucuqlara birləşdiyini göstərir.

sinteni İki və ya daha çox fərqli növün xromosomunda genlərin eyni sıra ilə meydana gəlməsi.

siRNT Hər ucunda iki tək zəncirli nükleotidi olan 21-23 nükleotid uzunluqda kiçik, iki-zəncirli RNT. siRNT-nın tək zənciri, bir neçə zülal ilə birləşərək, siRNT-nın mükəmməl əsas cütləşdiyi əmələ gətirdiyi hədəf RNT-ləri kəsən **RNT ilə induksiya olunan susdurma kompleksini (RISC)** əmələ gətirir; *qısa* və ya *kiçik müdaxilə edən RNT* və *kiçik inhibitor RNT* də adlanır. siRNT-lər eksperimental olaraq spesifik genlərin ekspresiyasına maneə törətmək üçün dizayn edilə bilər. Həmçinin baxın **miRNT**. (Şəkil 10-28b)

siRNT nokdaunu siRNT-dən istifadə edərək spesifik bir mRNT-nin translyasiyasına eksperimental olaraq maneə törətmək üçün metod; zülalın fəallığını azaltmaq üçün, xüsusən də, klassik genetik metodlara uyğun olmayan orqanizmlərdə funksiyasının itirilməsi mutantlarını ayırmaq üçün faydalıdır.

sisterna (pl. sisternalar) Qolgi kompleksində və endoplazmik şəbəkədə olduğu kimi yastılaşmış membranla əlaqəli bölmə.

sitoxromlar Bəzi hissəsi hüceyrə tənəffüsü və fotosintez zamanı elektron daşıyıcısı kimi fəaliyyət göstərən, tərkibində heme olan rəngli zülallar qrupu. (Şəkil 12-20a)

sitokin Qan və immun sistemi hüceyrələrindəki hüceyrə-səth reseptorlarına birləşərək differensiasiyani və ya proliferasiyani (çoxalmasını) işə salmaq üçün çox sayda kiçik, ifraz olunan zülaldan (məsələn, eritropoietin, G-CSF, interferonlar, interleykinlər) hər hansı biri.

sitokin reseptoru Eritropoetin, boy hormonu, interleykinlər və interferonlar üçün hüceyrə-səth siqnal reseptorlarının əsas sinifinin nümayəndəsi. Ligandın birləşməsi reseptorla əlaqəli olan sitozol JAK kinazların fəallaşmasına səbəb olur, bununla da hüceyrədaxili siqnal yollarına inisiyasiya edir. (Şəkil 16-6 və 16-13)

sitokinez Hər birinin nüvəsi və sitoplazmatik orqanoidləri olan iki qızı hüceyrəsini yaratmaq üçün sitoplazmanın mitozdan sonra bölünməsi. (Şəkil 17-35)

sitoplazma Hüceyrənin plazma membranından daxildə olan, amma eukaryotik hüceyrələrdə nüvədən xaricdə olan viskoz tərkib.

sitoskelet Eukaryotik hüceyrələrin sitoplazmasında lifli elementlərin mikrotuborucluqlardan, mikrofilamentlərdən və aralıq filamentlərdən ibarət olan sitoskelet şəbəkəsi. Sitoskelet hüceyrənin təşkilinin və quruluşunun dəstəyini təmin edir və orqanoidlərin, xromosomların və hüceyrənin özünün istiqamətləndirilmiş hərəkətinə imkan verir. (Şəkil 17-1, 17-2 və 18-1)

sitoskelet zülalları Bax sitoskelet.

sitoskelet zülalları Mikroborucuqlar, mikrofilamentlər və aralıq filamentlər daxil olmaqla hüceyrənin gücünü və möhkəmliyini təmin edən zülallar.

sitosol üzü Hüceyrə membranının sitozola yönəlmiş üzü. (Şəkil 7-5)

sitozol Organoidlər, membranlar və həll olunmayan sitoskelet komponentləri istisna olmaqla sitoplazmanın quruluş yaradan sulu fazası.

SM zülalları Sintaksinə birləşən və sinaptik qovucuqların SNARE vasitəçiliyi ilə hüceyrə membranına birləşməsi üçün lazım olan Sec1/Munc18-ə bənzər zülallar.

Smad-lər Siqnal molekullarının **transformasiya edən boy (böyümə) faktoru β (TGF β)** ailəsi üzvlərinin hüceyrə səthindəki reseptorlarına birləşməsindən sonra fosforlaşma ilə fəallaşdırılan transkripsiya faktorları sinfi. (Şəkil 16-3)

SMC zülalları Xromosom zülallarının quruluşunun saxlanılması; xromosomların morfoloji quruluşunu qorumaq və mitoz zamanı düzgün şəkildə seqreqasiya etməsi üçün vacib olan kiçik qeyri-histon xromatin zülalları ailəsi. Bu ailənin üzvlərinə mitoz zamanı xromosomların sıxlaşmasına kömək edən *kondensinlər* və anafazda ayrılana qədər bacı xromatidləri bir-birinə bağlayan *kohezinlər* daxildir. Bakterial SMC zülalları, bakteriya xromosomlarının qız hüceyrələrə düzgün şəkildə seqreqasiyasında (ayrılmasında) fəaliyyət göstərirlər. (Şəkil 8-32 və 19-25)

SNARE-lər Qovucuqların hədəf membranlarla birləşməsini təşviq edən sitozol və integral membran zülalları. Qovucuq üzərindəki **v-SNARE**-lərin hədəf membrandakı yaxın (qohum) olan **t-SNARE**-lərlə qarşılıqlı əlaqəsi çox stabil komplekslər əmələ gətirərək, qovucuq və hədəf membranları bir-birinə yaxın vəziyyətə gətirir. (Şəkil 14-10)

snoRNT (kiçik nüvə RNT-si) rRNT prosesində və nüvədə əsas modifikasiyasında fəaliyyət göstərən kiçik, sabit RNT tipi.

snRNT (kiçik nüvə RNT-si) Nüvədə lokallaşmış bir neçə kiçik, sabit RNT-dən biri. Beş snRNT **splaysesomun** tərkib hissələridir və pre-mRNT-nin splayinqində işləyir. (Şəkil 10-9 və 10-11)

somatik hüceyrə Cinsiyət hüceyrəsindən başqa hər hansı istənilən bitki və ya heyvan hüceyrəsi.

somatik hüceyrəyə nüvə köçürülməsi Yetkin somatik hüceyrənin nüvəsinin, klonlaşdırılmış heyvan istehsalında atılan addım kimi enukleasiya olunmuş yumurtaya köçürüldüyü prosedur.

sperma Kişi cinsiyət hüceyrəsi - yumurta hüceyrəsinə birləşərək ona qovuşa bilən, ziqot əmələ gətirən hərəkətli haploid hüceyrə.

spesifiklik İmmun hüceyrələrinin və ya onların məhsullarının quruluşuna görə bir-biri ilə çox yaxın olan molekulları ayırmaq qabiliyyəti.

spiral-dönmə-spiral (helix-turn-helix) İki alfa spiralın birləşdirmə qalıqlarının qısa uzanması ilə birləşdiyi, bəzən də "ilgək" adlandırılan quruluş motivi. Spiral-dönmə-spiral / spiral-ilgək-spiral quruluş motifləri bir sıra funksiyaları, o cümlədən kalsiumun birləşdirilməsi və DNT birləşdirilməsi kimi funksiyaları yerinə yetirə bilər.

spiral-ilgək-spiral əsas (helix-loop-helix, basic - bHLH) Bir çox dimer eukaryotik transkripsiya faktorlarında rast gəlinən, qısa bir dönmə ilə birləşmiş iki α spiraldan ibarət olan konservativ DNT-birləşdirən **quruluş motivi**. (Şəkil 9-30d)

spirallaşmış-spiral zülalların sabit çubuq şəkilli quruluşlar yaratmaq üçün öz-özünə birləşə bilən, amfipatik α spiral rayonları ilə qeyd olunan quruluş motivi; ümumiyyətlə fibrilyar zülallarda və müəyyən transkripsiya faktorlarında rast gəlinir. (Şəkil 3-10a)

splaysesom pre-mRNT-də toplanan və RNT splayinqini həyata keçirən böyük ribonukleoprotein kompleksi. (Şəkil 10-11)

SRE-birləşdirən zülallar (SREBP-lər) ER membranında lokalizasiya olunmuş xolesterindən asılı olan transkripsiya faktorları, xolesterinin hüceyrədə aşağı səviyyəsinə cavab olaraq fəallaşdırılır və daha sonra xolesterin sintezi və importunda iştirak edən zülalları kodlaşdıran genlərin ekspressiyasını və digər lipidlərin sintezini stimullaşdırır. (Şəkil 16-38)

START Hüceyrə tsiklində, hüceyrələrin geriye dönməz şəkildə hüceyrə bölünməsinə daxil olduqları və artıq G1 vəziyyətinə qayıda bilmədikləri nöqtə.

stereoizomerlər Atomları eyni sırada olan, amma fərqli fəza düzülüşlərində olan, molekulyar formulası identik (eyni) olan iki birləşmə. D və L kimi təyin olunmuş *optik izomerlərdə asimmetrik karbon atomuna* birləşmiş atomlar bir-birinin güzgüdəki əksi kimi düzülür. *Həndəsi (geometrik) izomerlərə* ikiqat rabitəsi olan molekulların *cis* və *trans* formaları daxildir.

steroidlər Xolesterin və əlaqədar birləşmələr daxil olmaqla dörd halqalı karbohidrogen qrupu. Bir çox vacib hormonlar (məsələn, estrogen və progesteron) steroidlərdir. *Sterollar* bir və ya daha çox hidroksil qrupu olan steroidlərdir. (Şəkil 10-8c)

substrat Ferment tərəfindən kataliz edilən reaksiyada yükə məruz qalan molekül.

substrat səviyyəsində fosforlaşma Proton hərəkətverici qüvvədən və ya molekulyar oksigendən asılı olmayan, sitozol fermentlər tərəfindən kataliz edilən reaksiyalarda ADP və Pi-dən ATP-nin əmələ gəlməsi.

sulfhidril qrup (-SH) Sistein amin turşusunda və sulfat atomuna kovalent bağlı olan hidrogen atomun dan ibarət olan digər molekularda mövcud olan əvəzedici qrup; həmçinin *tiol qrupu* da adlanır.

susdurucu (silencer) Eukaryotik DNT-də lokalizasiya olunmuş bir rayonda kondensasiya olunmuş xromatin quruluşların əmələ gəlməsini təşviq edən və bununla da susdurucunun bir neçə yüzəsas cütü daxilində genlərin transkripsiyası üçün lazım olan zülalların girişini blok edən ardıcılıq; buna *susdurucu ardıcılıq* da deyilir.

sürət sabiti Reaksiya girən reagentlərin qatılığını kimyəvi reaksiyanın sürəti ilə əlaqələndirən bir sabitdir.

sütun hüceyrə İnkişaf potensialı ana sütun hüceyrəsi ilə identik olan iki qız hüceyrəni əmələ gətirmək üçün *simmetrik* bölünə bilən və ya *asimmetrik* bölünərək fərqli inkişaf potensialına malik olan qız hüceyrələrini əmələ gətirə bilən özünü-yeniləyən hüceyrə. (Şəkil 21-10 və 21-11)

sütun hüceyrə nişəsi Sütun hüceyrəni əhatə edən və onun sütun hüceyrə xüsusiyyətlərini qoruyan bir sıra hüceyrələr, hüceyrəxarici matrisalar və hormonlar.

SWI/SNF xromatin remodeling kompleksi DNT boyunca nükleosomların sürüşməsinə mümkün edən və kondensasiya olunmuş xromatin quruluşlarının dekonensasiyasını asanlaşdıran DNT helikazlara ən azı bir subvahidi homoloji olan çox zülallı xromatin remodeling ko-aktivator kompleksi.

satlı vektoru İki fərqli sahib hüceyrədə yayılma qabiliyyətinə malik olan plazmid vektor. (Şəkil 6-15)

şiş Hüceyrə artmasının normal tənzimlənməsinin itirilməsi nəticəsində meydana gələn, əsasən tək bir hüceyrədən törəmiş hüceyrələr kütləsi; xoşxassəli və bədxassəli ola bilər.

şiş-supressor geni kodlaşdırdığı zülalın birbaşa və ya dolayı yolla hüceyrə tsiklinin inkişafını ingibirləşdirən və funksiyasının itirilməsi mutasiyası onkogen olan istənilən gen. Çox şiş-supressor genlərinin mutant allellərinin (məsələn, *RB*, *APC* və *BRCA1*) irsən ötürülməsi kolorektal və başqa tip xərçənglərin yaranma riskini güclü şəkildə artırır. (Şəkil 24-12 və 24-15)

şpindel mövqeyi yoxlama nöqtəsi Mitoz şpindelinin hüceyrə daxilində səhv mövqeyini hiss edən və anafazda hüceyrə tsiklinin arrest olunmasına səbəb olan yol.

şpindel orta zonası Mitoz şpindelinin bəzi orqanizmlərdə kəsilmə qırışının yerləşməsində mühüm rol oynayan orta hissəsi.

şpindel toplanmasının yoxlama nöqtəsi Xromosomların mitoz şpindelində səhv bağlanması hiss edən və metafazda hüceyrə tsiklinin dayandırılmasına səbəb olan yol.

şpindel qütb cismləri Mayada sentrosomların funksional analogi quruluşu.

T hüceyrə reseptoru Dəyişgən və sabit bölgələrə malik olan və siqnal ötürən multimer CD3 kompleks ilə əlaqəli olan heterodimer antigen birləşdirən transmembran zülal. (Şəkil 23-27)

T hüceyrəsi Timusda yetişən və **MHC molekulalarında** kompleksləşdirilmiş antigen peptidlərini bağlayan antigenə məxsus reseptorları ekspressiya edən limfosit. İki əsas sinifi vardır: *sitotoksik* T hüceyrələr (CD8 səth markeri, I sinif MHC məhdudlaşdırılır, virusa yoluxmuş və şiş hüceyrələrini öldürür) və köməkçi (helper) T hüceyrələri (CD4 marker, II sinif MHC ilə məhduddur, sitokinləri istehsal edir, B hüceyrələrinin fəallaşması üçün tələb olunur). (Şəkil 23-34 və 23-37)

tarazlıq sabiti (K_{eq}) Reaksiyanın sürətinin irəliyə və geriye sabitlərinin nisbəti. Birləşdirici reaksiya üçün $A + B \rightleftharpoons AB$, assosiasiya sabiti (K_a) K -yə bərabərdir, dissosiasiya sabiti (K_d) isə $1/K$ -yə bərabərdir.

Tat Polisistron HIV mRNT-ni sintez edərək Pol II-nin sona çatmasının qarşısını alan, bununla da tam proviral DNT genomunun transkripsiyasına imkan verən HIV-in kodlaşdırdığı zülal.

TATA boksu Transkripsiyaya inisiasiya kompleksinin toplandığı bir çox eukaryotik zülal kodlaşdırın genin **promotorunda** qorunub saxlanılan ardıcılıq. (Şəkil 9-16)

telofaza Ayrılmış iki xromosom dəsti ətrafında nüvə qabığının yenidən formalaşdığı, xromosomların dekonensasiya olunduğu və sitoplazmanın bölündüyü (sitokinesis) son mitoz mərhələsi. (Şəkil 18-37)

telomer Qısa telomer (TEL) ardıcılığın çoxsaylı tandem təkrarını malik olan eukaryotik xromosomun hər bir ucundakı rayon. Telomerlər düzgün xromosom seqreasiyası üçün tələb olunur və DNT replikasiyası zamanı xromosomların qısaldılmasının qarşısını alan xüsusi bir proses ilə təkrarlanır. (Şəkil 8-44)

temperatura həssas (ts) mutasiya Bir temperaturda təbii formalı fenotipi (yolverilən temperaturda), başqa bir temperaturda mutant fenotipi (yolverilməyən temperaturda) əmələ gətirən mutasiya. Bu cürə mutasiya, həyat üçün vacib olan genlərin müəyyən edilməsində xüsusilə faydalıdır. (Şəkil 6-6)

terminasiya, transkripsiya RNT zəncirinin sintezinin dayandırılması. (Şəkil 5-11)

təbii forma (wild type) Genin, zülalın, hüceyrənin və ya orqanizmin normal, qeyri mutant forması.

təbii qatil (natural killer - NK) hüceyrələri Virusla yoluxmuş hüceyrələri və şiş hüceyrələrini qeyri-spesifik aşkarlayan və öldürən anadangəlmə immun sisteminin komponentləri. (Şəkil 23-6)

tənəffüs Qida maddələrindəki enerjinin zülalla kataliz olunan, membranla-əlaqəli oksidləşmə və reduksiya reaksiyalarının daxil olduğu, sonda ATP-ni əmələ gətirmək üçün Pi-nin ADP-yə əlavə edilməsi (oksidləşdirici fosforiləşmə) və elektronların oksigen və ya digər qeyri-üzvi elektron qəbulədicilərinə ötürülməsi ilə nəticələnən elektron nəqliyyat zənciri adlandırılan reaksiyalar dəsti vasitəsilə ATP-yə çevrilməsi.

tənəffüs nəzarəti NADH və FADH₂-nin mitoxondrial oksidləşməsinin ATP sintezi üçün ADP və Pi təminatından asılılığı.

tənəffüs zənciri Baxın **elektron nəqliyyat zənciri**.

təsir potensialı Gərginliklə nizamlanan Na⁺ və K⁺ kanallarının açılıb qapanması nəticəsində həyacanlanana bilən hüceyrələrin (məsələn, neyronların və əzələ hüceyrələrinin) plazma membranında yayılan cəld, keçici, "hamısı-və ya-heç biri" elektrik fəallığı. (Şəkil 22-2 və 22-9)

tilakoidlər Xloroplastlarda yığılarda düzülən, fotosintetik piqmentlərə və fotosistemlərə malik olan yastılaşmış membran kisələri. (Şəkil 12-37)

inisiator Ardıcılıq daxilində transkripsiyanın başlanmasını təyin edən bir DNT ardıcılığı.

tolerantlıq Xüsusi bir antigenə və ya antigenlər dəstinə qarşı immun cavabının (immunitetin) olmaması.

Toll-bənzər reseptor (Toll-like receptor - TLR) Müxtəlif mikrob məhsullarını tanıyan hüceyrə səthi və hüceyrədaxili reseptorlar sinfinin nümayəndəsi. Ligandın birləşməsi hüceyrə tipindən asılı olaraq müxtəlif cavab reaksiyalarına səbəb olan siqnal yolunu inisiyasiya edir. (Şəkil 23-35)

topogen ardıcılıqlar Ardıcılığı, sayı və düzülüşü müxtəlif transmembran zülallarının endoplazmik şəbəkə membranında yerləşdirilməsini və istiqamətlənməsini yönəldənə zülal içərisindəki seqmentlər. (Şəkil 13-14)

transfeksiya Yad (xarici) DNT-nin kulturadakı hüceyrələrə eksperimental keçirilməsi, adətən keçirilmiş DNT-nin ekspresiyası ilə davam edir. (Şəkil 6-29)

transformasiya (1) Xarici DNT-nin sahibi hüceyrə genomuna götürülməsi və daxil edilməsi nəticəsində meydana gələn, hüceyrədəki davamlı, irsi dəyişiklik; buna *stabil transfeksiya* da deyilir. (2) "Normal" məməli hüceyrəsinin, adətən virusla və ya xərçəng-əmələ gətirən digər maddə ilə təsir edilməsi nəticəsində yaranan, xərçəngə-bənzər xüsusiyyətləri olan hüceyrəyə çevrilməsi.

transformasiya edən boy faktoru (transforming growth factor beta – TGFβ) Əksər toxumaların inkişafı zamanı istifadə olunan ifraz olunan siqnal zülalları ailəsi. TGFβ ailəsinin nümayəndələri böyüməni stimullaşdırmaqdan daha çox ingibirləşdirirlər. TGFβ siqnal ötürmə komponentlərindəki mutasiyalar süd vəzi xərçəngi daxil olmaqla insan xərçənginin yaranmasında iştirak edir. (Şəkil 16-3)

transgen Bitki və ya heyvan orqanizminə intraduksiya olunan və stabil inkorporasiya edən, yeni nəsilə ötürülə bilən klonlaşdırılmış gendir.

transkripsiya DNT molekulunun bir zəncirinin RNT polimeraza tərəfindən templeyt istifadə edilərək komplementar olan RNT-nin sintez edildiyi proses. (Şəkil 5-10 və 5-11)

transkripsiya faktoru (TF) Eukaryot hüceyrələrdə transkripsiyanın başlanması və ya tənzimlənməsi üçün RNT polimerazadan başqa lazım olan hər hansı bir zülalın ümumi adlandırılması. Bütün genlərin transkripsiyası üçün lazım olan *ümumi əsas* faktorlar transkripsiyanın start saytı yaxınlığında transkripsiyaya hazırlıq kompleksinin meydana gəlməsində iştirak edir. Spesifik faktorlar müəyyən genlərin tənzimləmə ardıcılığına birləşərək transkripsiyasını stimullaşdırır (aktivatorlar) və ya ingibirləşdirir (repressorlar).

transkripsiya vahidi DNT-də inisiyasiya (start) saytı və terminasiya saytı ilə məhdudlaşan, tək bir **əsas transkriptə** transkripsiya olunan rayon.

transkripsiyaya-nəzarət rayonu Xüsusi bir genin transkripsiyasını tənzimləyən bütün DNT tənzimləmə ardıcılığı üçün ümumi bir termin.

trans-Qolci şəbəkə (trans—Golgi network – TGN) İfrazat yolunda əsas şəxələnmə nöqtəsi kimi xidmət edən membran və qovucuqların kompleks şəbəkəsi. Qovucuqlar ən uzaq Qolci kompartmentindən tumurcuqlayaraq membranları və həll olan zülalları hüceyrə səthinə və ya lizosomlara daşıyırlar. (Şəkil 14-1 və 14-7)

translokon Qırıq endoplazmatik şəbəkənin membranında çoxzülallı kompleks, bunun vasitəsilə yeni sintez olunan ifrazat zülalı sintez olunmağa başlayan kimi ER lümeninə daxil olur. (Şəkil 13-7)

translyasiya amin turşusu ardıcılığı mRNT-dəki nukleotid ardıcılığı ilə müəyyən olunan polipeptidlərin ribosomlar vasitəsilə toplanması. (Şəkil 5-17)

transporterlər Geniş müxtəliflikdə ionları və kiçik molekulları kanallara nisbətən daha aşağı sürətlə hüceyrə membranından keçirərkən konformasiya dəyişikliyinə uğrayan membran zülalları. Şəkil 11-3-də bax *uniporter*, *simporter* və *antiporter*.

transpozisiya Genom daxilində **mobil DNT elementlərinin** hərəkəti (yerini dəyişməsi), elementin tipindən asılı olaraq kəs-və-ələvə et mexanizmi ilə və ya nüsxəsini-ələvə et mexanizmi ilə baş verir. (Şəkil 8-8)

transpozon DNT Prokariotlarda və eukariotlarda mövcud olan və genom daqxilində DNT sintezi və transpozisiyası yolu ilə yerini dəyişən **mobil DNT elementi**. Həmçinin bax **retrotranspozon**. (Şəkil 8-9 və 8-10)

transsitoz Reseptor vasitəsi ilə endositozun və ekzositozun kombinasiyasından istifadə edərək bəzi maddələrin epiteli təbəqəsi üzərindən daşınması mexanizmi. (Şəkil 14-25 və 23-11)

triasilqliserol Bax **triqliserid**.

triqliserid Heyvan hüceyrələrində yağ turşularının ehtiyat saxlanıldığı və daşındığı əsas forma. Qliserin molekulu ilə mürəkkəb efiri əmələ gətirmiş üç yağ asil zəncirindən ibarətdir.

trimer (böyük) G zülallar Membranla assosiasiyada olan katalitik α subvahidindən və β və γ subvahidlərindən ibarət olan tənzimləyici GTPaza. α subvahid GTP ilə birləşəndə β və γ subvahidlər heterodimer kimi dissosiasiya edir. Sonra sərbəst α subvahid və sərbəst $\beta\gamma$ subvahid başqa zülallarla qarşılıqlı əlaqəyə girər və siqnalı membrandan daxilə ötürə bilir. α subvahid GTP-ni GDP-yə və fosfata hidroliz edəndə α -GDP yenidən β - γ heterodimerlə assosiasiya edir və siqnalın verilməsini sona çatdırır. (Şəkil 15-14)

tRNT (nəqliyyat RNT-si) Zülal sintezi zamanı amin turşusu donoru kimi fəaliyyət göstərən kiçik RNT molekullarının qrupu. Hər bir tRNT molekulu xüsusi bir amin turşusuna kovalent bağlanır və aminoasil-tRNT əmələ gətirir. (Şəkil 5-19 və 5-20)

trofektoderem (TE) məməlilərin embrional inkişafın erkən dövründə embrionun plasenta da daxil olmaqla embrion-xarici toxumaları əmələ gətirən bir hissəsi, ancaq embrion üçün lazımi deyil.

trofik faktor Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə sağ qalmaq üçün tələb olunan çoxsaylı siqnal zülallarının istənilən biri, belə siqnallar mövcud olmayanda hüceyrələr çox zaman apoptoz yolu ilə “özünü məhvə” məruz qalır.

trombopoietin Qan laxtalanmasında iştirak edən trombositləri əmələ gətirən megakaryosit hüceyrələrin inkişafını stimullaşdıran sitokin.

tsiklik AMP (cAMP) Proteinkinaza A-nı fəallaşdıran müəyyən G zülalı ilə cütləşən reseptorların hormonal stimullaşdırılmasına cavab olaraq istehsal olunan ikinci mesencer (Şəkil 15-6; Cədvəl 15-2)

tsiklik GMP (cGMP) Çubuq (rod) hüceyrələrdə kation kanallarını açan, vazikulyar sayə əzələlərdə və digər hüceyrələrdə proteinkinaza G-ni fəallaşdıran ikinci mesencer. (Şəkil 15-6, 15-23 və 15-38)

tsiklin Eukaryotik hüceyrə tsiklinin gedişi ərzində qatılığı artan və düşən bir neçə yaxın zülaldan hər hansı biri. Tsiklinlər tsiklindən-asılı-kinazalarla komplekslər yaradır, bununla da bu fermentlərin substrata spesifikliyini fəallaşdırır və təyin edir.

tsiklindən asılı kinaza (CDK) Yalnız tsiklinə bağlandıqda katalitik fəal olan proteinkinaza. Müxtəlif tsiklin-CDK kompleksləri, spesifik hədəf zülallarını fosforlaşdıraraq eukaryotik hüceyrə tsiklinin müxtəlif mərhələlərində irəliləməni həyata keçirir. (Cədvəl 19-1)

t-SNARE-lər Bax SNARE-lər.

tubulin Polimerləşərək mikrorucuqların silindirik divarlarını əmələ gətirən qlobulyar sitoskelet zülallar ailəsi. (Şəkil 18-3)

TUG GLUT4 ehtiyat saxlama qovucuqlarını Qolci matrisasına sarıyan zülal.

tunel əmələ gətirən nanoborucuqlar Plazma membranında heyvan hüceyrələrinin sitozolunu bir-biri ilə əlaqələndirən, kimyəvi və elektrik siqnallarını ötürə bilən, bitkilərdəki plazmodesmataya analogi olan davam edən uzun borucuqşəkilli uzanmalardır (çixıntılar).

turşu (acid) Protonu (H^+) verə bilən istənilən birləşmə. Karboksil və fosfat qrupları bioloji makromolekullarda əsas turşu qruplarıdır.

ubikvitin Digər hüceyrədaxili zülallarla kovalent birləşə bilən və beləliklə onları **proteosomlarda** parçalanmaq üçün, lizosomlarda çeşidləmək üçün və ya bu hədəf zülalların funksiyasının dəyişməsi üçün nişanlayan kiçik zülal. (Şəkil 3-31)

uniporter Bir tip molekulun onun qatılıq qradientini azalan istiqamətində aşağıya doğru daşıyan transmembran zülal.

uzun kodlaşdırmayan RNT (long noncoding RNA - lncRNT) Çox kə-larla uzunluğa malik olan, açıq oxunan çərçivələri kodlaşdırmayan RNT molekulları. Bəzi lncRNT-lər, gen transkripsiyasının repressiyasında, bir neçə zülalın birləşdiyi skafoldu yaradaraq xromatin quruluşuna təsir edən RNT-zülal kompleksini əmələ gətirməklə fəaliyyət göstərir.

uzun səpələnmiş elementlər (long interspersed elements – LINE-lər) Məməlilərdə uzun terminal təkrarları olmayan retrotranspozonlar tərəfindən əmələ gələn zəngin mobil elementlər. (Şəkil 8-17)

uzun terminal təkrarlar (long terminal repeats - LTR) İntegrasiya olunmuş retrovirus DNT-sinin və virus retrotranspozonlarının kodlaşdıran rayonuna cinah olanı 600 əsas cütünə qədər malik olan birbaşa təkrar ardıcılıqları.

üçüncü quruluş Zülallarda, yan zəncirlər arasındakı çoxsaylı qeyri-kovalent qarşılıqlı təsirlərlə sabitləşən polipeptid zəncirinin ümumilikdə üç ölçülü forması. (Şəkil 3-11a)

vaksin Patogendən yaranan və eyni patogenin virulent forması ilə gələcək problemə qarşı immuniteti təmin etmək üçün bir immun reaksiyası yaratmaq üçün hazırlanmış zərərsiz preparat.

vakuol Daxilində suyu, ionları və kiçik molekul qida maddələrini ehtiyat saxlayan və heyvan hüceyrələrindəki lizosomlarda olduğu kimi parçalama funksiyasına malik ola bilən, membranla məhdudlaşmış bitki orqanoidi

van de Vaals qarşılıqlı təsir Atomlar ətrafında kiçik keçici asimmetrik elektron paylaşması (dipollar) nəticəsində yaranan zəif qeyri kovalent qarşılıqlı əlaqədir. (Şəkil 2-10)

Varburq effekti (Warburg effect) Onu kəşf edən Otto Varburqun adı ilə adlandırılmışdır, xərçəng hüceyrələrinin əksəriyyətinin əsasən qlikoliz yolu ilə enerji istehsal etməsini və ardınca piruvatın süd turşusuna fermentasiya edildiyi müşahidəni izah edir. Normal hüceyrələr bu formada enerji istehsalını məhdud oksigen (anaerob) şəraitində istifadə etdikləri halda xərçəng hüceyrələr hətta kifayət qədər təmin olunmuş oksigen şəraitində də qlükozanı bu üslubda parçalayırlar. Beləliklə bu proses həmçinin *aerob qlikoliz* adlanır.

vektor Hüceyrə biologiyasında kDNT-nin və ya genom DNT-si fraqmentinin gen klonlaşdırılması məqsədi ilə sahib hüceyrə daxilində daşınmasında istifadə olunan avtonom replikasiya etdən genetik elementdir. Çox istifadə olunan vektorlar bakterial plazmidlər və modifikasiya olunmuş bakteriofaq

genomlarıdır. Həmçinin bax **ekspressiya vektorları və satı vektorları**. (Şəkil 6-13)

virion Fərdi virus zərrəciyi

virus Zülal qabıqla əhatə olunmuş nuklein turşusundan (RNT və ya DNT) ibarət olan və yalnız yoluxmuş sahib hüceyrədə replikasiya edən kiçik hüceyrədaxili parazitdir, hüceyrə biologiyası tədqiqatlarında geniş istifadə edilir. (Şəkil 5-43)

virus qabığı (viral envelope) Bəzi virusların (məsələn, qrip və quduzluq virusları) xarici örtük qatını əmələ gətirən fosfolipid iqiqatlı; sahib hüceyrədən tumurcuqlayarkən onun membranından törəyir və virusla kodlaşdırılan qlikozülallara malik olur. (Şəkil 5-46)

Wee1 Zülal-tirozin kinaza (protein-tyrosine kinase), CDK-ləri treonin 14 və tirozin 15 qalıqlarında fosforlaşdıraraq CDK fəallığını ingibirləşdirir.

Wnt Əksər heyvan orqanizmlərində toxumaların çoxunun inkişafında istifadə olunan ifraz olunan siqnal zülalları ailəsi. Wnt siqnal ötürülməsi yolunun komponentlərində mutasiyalar insan xərçənglərində, xüsusilə də yoğun bağırsağın xərçəngində iştirak edir. Reseptorları yeddi transmembran seqmentlərdən ibarət olan “Frizzled-class” zülallardır. (Şəkil 16-30).

yaddaş Antigenə-məruz qalmış immun sisteminin yenidən eyni antigen stimuluna məruz qalmasına daha sürətli cavab vermə qabiliyyəti.

yağ turşusu Bir ucunda karboksil qrupu olan istənilən uzun karbohidrogen zənciri; maddələr mübadiləsi zamanı əsas enerji mənbəyi və fosfolipidlərin, trigliseridlərin və xolesteril efrirlərinin sintezi üçün sələfdir. (Şəkil 2-21; Cədvəl 2-4)

yan zəncir Amin turşularında, alfa (α) karbon atomuna bağlı olan, güclü şəkildə hər bir amin turşusunun xüsusiyyətlərini təyin edən dəyişən əvəzedici qrup; bunlara *R qrupu* da deyilir. (Şəkil 2-14)

yetkinləşməni təşviq edən faktor (maturation-promoting facto - MPF) G_2 -də sakitlikdə olan oositlərə inyeksiya edildikdə meyoza girməyə vadar etmək qabiliyyətində olan Tsiklin-CDK kompleksi.

yığılıb-açılan (kontraktil) bağlar Hüceyrənin yapışmasında (məsələn, *stres liflərində*) və ya hüceyrənin hərəkətində

(bölünən hüceyrələrdə *yığılıb-açılan halqa*) fəaliyyət göstərən qeyri əzələ hüceyrələrindəki aktin və miyozin bağları.

yığılıb-açılan (kontraktil) halqa Aktin və miyozindən ibarətdir, plazma membranının altında yerləşir. Sitokinez zamanı onun büzülməsi membranı içəri çəkir və nəticədə iki qızı hüceyrə arasındakı boşluğu qapayır.

yığılıb-açılan (kontraktil) vakuol Sitozoldakı suyu züna çəkən və vaxtaşırı plazma membranı ilə birləşərək içindəki maddələri boşaldan bir çox protozoanda tapılan qovucuq.

yuxarıya istiqamətdə (upstream) (1) Gen üçün transkripsiya zamanı RNT polimerazanın hərəkət istiqamətinin əksi. Nukleotidlər +1 mövqeyindən (ilk transkripsiya olunan nukleotid) yuxarıya istiqamətdə -1, -2 və sair işarələnir. (2) Pİllələr kaskadında (məsələn siqnal yolunda) əvvəlki pillələrdə baş verən hadisələr. Həmçinin bax **aşağıya istiqamətdə**.

yüksək enerji rabitə Adi hüceyrədaxili şəraitdə hidroliz edildikdə böyük miqdarda enerji buraxan kovalent rabitə. Buna misal olaraq ATP-dəki fosfoanhidrid rabitələrini, asetil CoA-dakı tioefir əlaqələrini və müxtəlif fosfat efir əlaqələrini göstərmək olar.

zəncir müdaxiləsi (basqını) Bakterialarda RecA tərəfindən, DNT-nin bir-zəncirli rayonunun sərbəst 3' ucunun ikinci, cüt-zəncirli DNT molekulundakı komplementar zəncirə hibridləşdiyi eukaryotlarda RadA tərəfindən kataliz edilən DNT rekombinasiyasının ilk pilləsi. Bu hədəf cüt-zəncirli DNT-nin komplementar zənciri, hibridləşmə rayonu üzərindəki tək zəncirli DNT ilgəyi kimi müdaxilə edən zəncirə köçürülür. (Şəkil 5-40 və 5-41)

zülal Bir və ya daha çox xətti **polipeptid** zəncirindən ibarət olan, özünün nativ və bioloji cəhətdən fəal vəziyyətində üç ölçülü xarakterik formada (**konformasiya**) bükülmüş makromolekul.

zülal ailəsi Eyni **gen ailəsi** tərəfindən kodlaşdırılan homoloji zülallar dəsti.

zülal domeni Zülalın üç ölçülü quruluşunun fərqli rayonları. *Funksional* domen zülalın müəyyən bir xarakterik fəaliyyətini nümayiş etdirir; *quruluş* domeni, fərqli ikinci və ya üçüncü quruluşda düzülmüş ~40 və ya daha çox amin turşusu uzunluqda ardıcılıq; *topoloji* domen, zülalın qalan hissəsi ilə fərqli **məkan əlaqəsinə** malik olan rayondur.

Mündəricat detalları ilə

13 Zülalların Membranlara və Orqanoidlərə Keçirilməsi 620

13.1 Zülalların ER Membranına və Membrandan Keçərək Hədəf Olunması 622

Təmizlənmiş ER Membranları ilə Puls-İzləmə Eksperimentləri İfraz Olunan Zülalların ER Membranını Kəsib Keçdiyini Nümayiş Etdirdi **622**

Hidrofob N-terminal Sıqnal Ardıcılığı Yeni Sintez Olunan İfrazat Zülallarını ER-ə Hədəf Edir **623**

Kotranslyasiya Translokasiyası İki GTP-Hidroliz Edən Zülalla İnisiasiya Olunur **625**

Uzunayan Polipeptidin Translokondan Keçməsi Translyasiya ilə Aparılır **626**

ATP Hidrolizi Mayada Bəzi İfrazat Zülallarının Post-translyasiya Translokasiyasını Gücləndirir **628**

13.2 Membran Zülallarının ER-ə Daxil Olması 630

İnteqral Membran Zülallarının Birneçə Topoloji Sinifi ER membranda Sintez Olunur **630**

Daxili Stop-Ötürmə Lövbəri və Sıqnal-Lövbər Ardıcılığı Birdəfə-Keçən Zülallarda Topologiyayı Təyin Edir **630**

Çoxkəsibkeçən Zülallar Çoxsaylı Daxili Topogenik Ardıcılığa Malikdirlər **633**

Fosfolipid Lövbər Bəzi Hüceyrə-Səthi Zülallarını Membrana Bağlayır **635**

Membran Zülallarının Topologiyası Çox Hallarda Onların Ardıcılığından Təyin Edilə Bilər **635**

13.3 ER-də Zülalların Modifikasiyası, Bükülməsi və Keyfiyyətinə Nəzarət 637

Yaranmış N-Əlaqəli Oliqosaxaridlər Qırıqlı ER-də Çox Zülallara Əlavə Olunurlar **637**

Oliqosaxarid Yan Zəncir QlukoZülalların Bükülməsini və Stabilliyini Gücləndirir **638**

Disulfid Əlaqələri Zülallar Vasitəsilə ER Lümenində Əmələ Gəlir və Yenidən Düzülür **639**

Zülalların Bükülməsini və Yığılmasını Çaperonlar və Başqa ER Zülallar Asanlaşdırırlar **641**

ER-də Səhv Bükülmüş Zülallar Zülal-Bükən Katalizatorların Ekspressiyasını İnduksiya Edir **642**

ER-də Toplanmamış və ya Dügün Bükülməmiş Zülallar Çox Zaman Parçalanmaq üçün Sitozola Daşınırlar **643**

13.4 Zülalların Mitoxondrilərə və Xloroplastlara Hədəf Olunması 644

Amfipatik N-Sonluq Hədəf Ardıcılıqları Zülalları Mitoxondri Matrisasına Yöndədir **645**

Mitoxondrial Zülalın İmportu Xarici-Membran Reseptorlarını və Hər İki Membranda Translokonları Tələb Edir 646

Ximer Zülallarla Aparılan Tədqiqatlar Mitoxondrial İmportun Əhəmiyyətli Xüsusiyyətlərini Nümayiş Etdirir **648**

Zülalların Mitoxondriyə İmportu üçün Üç Enerji Girişi Lazımdır **649**

Çoxsaylı Sıqnallar və Yollar Zülalları Submitoxondri Kompartmentlərinə Hədəf Edirlər **649**

Xloroplast Stroma Zülallarının İmportu Mitoxondri Matrisa Zülallarının İmportuna Oxsardır **653**

Zülallar Bakteriyal Zülal Translokasiyasına Oxsar Olan Mexanizmlərlə Tilakoidə Hədəf Olunurlar **653**

13.5 Peroxisom Zülallarının Hədəf Olunması 655

Sitozol Reseptorları Zülalları C-Sonluqdakı SKL Ardıcılıqla Peroxisomal Matrisaya Hədəf Edir **655**

Peroxisomal Membran və Matrisa Zülalları Müxtəlif Yollarla İnkorporasiya Olunurlar **656**

13.6 Nüvə Daxilinə və Xaricinə Daşınma 658

Böyük və Kiçik Molekullar Nüvə Məsaməsi Komplekslərindən Keçərək Nüvəyə Daxil və Xaric Ola Bilir **658**

Nüvə Nəqliyyat Reseptorları Nüvə-Lokalizasiya Sıqnalına Malik Olan Zülalları Nüvə Daxilinə Aparır **659**

Nüvə Nəqliyyat Reseptorlarının İkinci Tipi Nüvə Eksport Sıqnalları Olan Zülalları Nüvədən Bayıra Aparır **662**

mRNT-lərin Əksəriyyəti Nüvədən Ran-dan-Asılı Olmayan Mexanizmlə Eksport Olunur **663**

14 Qovucuqlarla Daşınma, İfrazat və Endositoz 667

14.1 İfrazat Yolunu Öyrənmək Üçün Metodlar 669

İfrazat Yolu ilə Zülalların Daşınması Canlı Hüceyrələrdə Yoxlanıla Bilər **670**

Maya Mutantları Qovucuqlarla Daşınmanın Əsas Mərhələlərini və Çox Komponentlərini Təyin Edir **672**

Hüceyrəsiz Nəqliyyat Sınaqları Qovucuqlarla Daşınmada Fərdi Mərhələləri Ayırmağa İmkan Verir **673**

14.2 Qovucuqların Tumurcuqlaması və Qovuşmasının Molekulyar Mexanizmləri 674

Zülal Qabığının Toplanması Qovucuq Formalaşmasını və Yük Molekullarının Seçilməsini İdarə Edir **674**

GTP-aza Keçirici Zülalların Konservativ Dəsti Müxtəlif Qovucuq Qabıqlarının Toplanmasına Nəzarət Edir **676**

Yük Zülallarındakı Hədəfləmə Ardıcılığı Qabıq Zülallarla Spesifik Kontakt Əmələ Gətirirlər **677**

Rab GTP-aza Qovucuqların Hədəf Membrana Birləşməsinə Nəzarət Edir **678**

SNARE Zülalların Cütləşmiş Dəsti Qovucuqların Hədəf Membranlarla Qovuşmasını Həyata Keçirir **678**

Membran Qovuşması ATP Hidrolizi ilə Aparıldıqdan Sonra SNARE Komplekslərin Dissosasiya Olunması **680**

14.3 İfrazat Yolunun İlk Mərhələləri 680

COPII Qovucuqlar ER-dən Qolciyə Daşınmanı Həyata Keçirirlər **681**

COPI Qovucuqlar Qolci Daxilində və Qolcidən ER-ə Retrograd Nəqliyyatı Həyata Keçirirlər **682**

Qolci Vasitəsi ilə Anteroqrad Daşınma Sisterna Yetişməsi ilə Baş verir **683**

14.4 İfrazat Yolunun Sonrakı Mərhələləri 685

Klatrin və Adaptor Zülallarla Örtülmüş Qovucuqlar trans-Qolcidən Nəqliyyatı Həyata Kleçirirlər **686**

Dinamin Klatrinlə-Örtülü Qovucuqların Qopub Ayrılması Üçün Tələb Olunur **687**

Mannoza 6-Fosfat Qalıqları Həllolan Zülalları Lizosomlara Hədəf Edir **687**

Lysosomal Saxlanma Xəstəliklərinin Öyrənilməsi Lysosomal Çeşidləmə Yolunun Əsas Komponentlərini Aşkar Etdi **690**

trans-Qolcidə Zülal Aqreqasiyası Zülalların Tənzimlənen İfrazat Qovucuqlarına Çeşidlənməsində Fəaliyyət Göstərə Bilər **690**

Bəzi Zülallar *trans*-Qolcidən Çıxdıqdan Sonra Proteolitik Prosesinqə Məruz Qalırlar **691**

Bir Sıra Yollar Membran Zülallarını Polyarlaşmış Hüceyrələrin Apikal və ya Bazolateral Rayonunda Çeşidləyir **692**

14.5 Reseptorlar-Vasitəsi ilə Endositoz 694

Hüceyrələr Lipidləri Qandan Böyük və Yaxşı-Təyin Edilmiş Lipozülal Komplekslər Formasında Götürürlər **695**

Makromolekulyar Liqandların Reseptorları Onları Endositoza Hədəf Edən Çeşidləmə Siqnalına Malikdirlər **696**

Gecikən Endosomların Turş pH-ı Əksər Reseptor-Liqand Kompleksinin Dissosiasiyasına Səbəb Olur **698**

Endositoz Yolu Endosomlarda Transferin-Transferin Reseptor Kompleksi Dissosasiya Etmədən Dəmiri Hüceyrələrə Çatdırır **699**

14.6 Membran Zülallarının və Sitozol Materiallarının Lizosomlara Yöndəlməsi 700

Çoxqovucuqlu Endosomlar Lizosomal Membranlar üçün Təyin Edilmiş Membran Zülallarını Lizosomal Parçalanma Üçün Təyin Edilmiş Zülallardan Ayrırır **701**

Retroviruslar Çoxqovucuqlu Endosomların Formalaşmasına Oxşar Proseslə Plazma Membrandan Tumurcuqlayır **702**

Autofaq Yolu Sitozol Zülallarını və ya Tam Orqanoidi Lizosomlara Çatdırır **703**

15 Siqnal Ötürülməsi və G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar 708

15.1 Siqnal Ötürülməsi: Hüceyrəxarici Siqnalın Hüceyrə Cavabına 710

Siqnal Molekulları Lokal və Məsafədən Təsir Göstəririlər **710**

Reseptorlar Yalnız Bit Tip Hormona və ya Çox Yaxın Olan Hormonlar Qrupuna Birləşir **711**

Proteinkinaza və Fosfatazalar Çox Siqnal Yollarında İstifadə Olunurlar **712**

GTP Birləşdirən Zülallar Həmişə Siqnal Ötürülməsində İşəsalan/Dayandıran Keçirici Kimi İstifadə Olunurlar **713**

Hüceyrədaxili “İkinci Mesencerlər” Çoxsaylı Reseptorlardan Siqnalları Ötürür **714**

Siqnal Ötürülməsi Yolu Hüceyrəxarici Siqnalların Təsirini Amplifikasiya Edir **714**

15.2 Hüceyrə-Səth Reseptorlarının və Siqnal Ötürən Zülalların Öyrənilməsi 716

Dissosasiya Sabiti (Konstantı) Reseptorun Öz Liqandına Affinlik Ölçüsüdür **716**

Birləşmə Sınaqları Reseptorları Aşakr Etmək Üçün və Onların Liqandlara Afinliyini və Spesifikliyini Təyin Etmək Üçün İstifadə Edilir **716**

Siqnal Molekullarına Maksimala-Yaxın Hüceyrə Cavabı Adətən Bütün Reseptorların Fəallaşmasını Tələb Etmir **717**

Xarici Siqnallara Qarşı Hüceyrənin Həssaslığı Səth Reseptorlarının Sayı və Onların Liqanda Afinliyi ilə Təyin Edilir **718**

Hormon Analoxları Dərman Kimi Geniş İstifadə Olunur **718**

Reseptorlar Afin Xromotoqrafiya Metodu ilə Tənzimləne Bilər **719**

İmmunçökdürmə və Affinlik Metodları Siqnal Ötürən Zülalların Fəallığını Öyrənmək Üçün İstifadə Oluna Bilər **719**

15.3 G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar: Quruluşu və Mexanizmi 721

Bütün G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Eyni Əsas Quruluşla Malikdirlər **722**

Liqandla-Fəallaşmış G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Trimer G Zülalların α Subvahidində GTPnin GTPyə Dəyişməsinə Kataliz Edirlər **725**

Müxtəlif G zülallar Müxtəlif GPCRlarla Fəallaşirlar və Sonra Müxtəlif Effektor Zülalları Tənzimləyirlər **727**

15.4 İon Kanallarını Tənzimləyən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar 728

Asetilxolin Reseptorlar Ürək Əzələlərində K^+ Kanallarını Açan G Zülalı Fəallaşdırır **729**

İşıq Gözün Çöp (Rod) Hüceyrələrində G zülalla-cütləşən Rodopsini Fəallaşdırır **729**

Rodopsinin Işıqla Fəallaşması cGMP ilə Nizamlanan Kation Kanalının Bağlanması Səbəb Olur **730**

Siqnalın Amplifikasiyası Rodopsinlə Ötürülən Siqnal Yolunu Kəskin Şəkildə Həssaslaşdırır **732**

Rodopsin Siqnal Ötürülməsi Yolunun Tez Dayandırılması İti Görmə Üçün Əhəmiyyətlidir **732**

Çöp Hüceyrələr Ətraf Işığın Müxtəlif Səviyyələrinə Arrestin və Transdüsünün Heceyrədaxili Daşınması ilə Uyğunlaşirlar **733**

15.5 Adenilil Tsiklazanı Fəallaşdıran və ya İngibirləşdirən G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar 734

Adenilil Tsiklaza Müxtəlif Liqand-Reseptor Kompleksləri ilə Stimullaşır və İngibirləşir **736**

Quruluş Tədqiqatları $G_{\alpha s}$ -GTPnin Adenilil Tsiklazaya Necə Birləşdiyini və Fəallaşdırdığını Müəyyən Etdi **736**

cAMP İngibitor Subvahidlərini Buraxmaqla Proteinkinaza A-nı Fəallaşdırır **737**

Qlikogen Metabolizmi Proteinkinaza A-nın Hormonla-İnduksiya Olunan Fəallaşması ilə Tənzimlənilir **738**

PKA-nın cAMP Vasitəsilə Tənzimlənməsi Müxtəlif Hüceyrə Tiplərində Geniş Cavab Reaksiyalarını Yaradır **738**

cAMP-Proteinkinaza A yolunda Siqnalın Amplifikasiyası Baş Verir **740**

CREB cAMP və PKA-nı Gen Transkripsiyasının Fəallaşması ilə Əlaqələndirir **740**

Lövbər Edən Zülallar cAMPnin Təsirini Hüceyrənin Spesifik Rayonlarına Lokalizasiya Edir **740**

Çoxsaylı Mexanizmlər GPCR/cAMP/PKA Yolundan Gələn Siqnalı Dayandırır **742**

15.6 Sitozolda və Mitoxondridə Ca^{2+} Səviyyəsini Qaldıran G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar 744

Mitoxondri Matrisasında, ER-də, və Sitozolda Kalsiumun Qatılığı Hədəf Olunan Fluoresen Zülalla Ölçülə Bilər **745**

Fəallaşmış Fosfolipaza C Membran Lipidi Fosfatidinozitol 4,5-Difosfatdan Törənən İki İkinci Mesenceri Yaradır **745**

Ca^{2+} -Kalmodulin Kompleksi Xarici Siqnallara Çoxsaylı Hüceyrə Cavablarını Həyata Keçirir **749**

DAG Proteinkinaza C-ni Fəallaşdırır **750**

Ca^{2+} və cAMP İkinci Mesencerlərin Qarşılıqlı Əlaqəsi Qlikogenolizi Tənzimləyir **750**

Vazikulyar Səya Əzələlərdə Siqnalla-İnduksiya Olunan Boşalma Ca^{2+} -Azot Oksidi-cGMP-ilə Fəallaşan Proteinkinaza G Yolu ilə Vasitələnilir **751**

16 Gen Ekspressiyasına Nəzarət Edən Siqnal Yolları 755

16.1 Smad-ları Fəallaşdıran Serin Kinaza Reseptoru 758

TGF- β Zülallar Hüceyrəxarici Matrisada Qeyri Fəal Formada Saxlanılır **759**

Üç Ayrı TGF- β Reseptor Zülalları TGF- β Birləşməsində və Siqnal Ötürülməsinin Fəallaşdırılmasında İştirak Edirlər **759**

Fəallaşmış TGF- β Reseptorlar Smad transkripsiya Faktorlarını Fosforlaşdırır **759**

Smad3/Smad4 Kompleks Müxtəlif Hüceyrə Tiplərində Müxtəlif Genlərin Ekspresiyasını Fəallaşdırır **761**

Mənfi Geriyəəlaqə İlgəyi TGF- β /Smad Siqnal Verilməsini Tənzimləyir **762**

16.2 Sitokin reseptorlar və JAK/STAT siqnal yolu 763

Sitokinlər Çox Hüceyrə Tiplərinin İnkişafına Təsir Edirlər **764**

Sitokini Öz Reseptora Birləşməklə Bir və ya daha Artıq Six Birləşmiş JAK Zülal Tirozin Kinazanı Fəallaşdırır **765**

Fosfotirozin Qalıqları Konservativ Domenli Çoxsaylı Zülallar üçün Birləşmə Səthləridirlər **767**

SH2 Domenlərin Fəaliyyəti: JAK Kinazalar STAT Transkripsiya Faktorlarını Fəallaşdırır **768**

Çoxsaylı Mexanizmlər Sitokin Reseptorlardan Siqnalları Azalan- İstiqamətdə Tənzimləyir **769**

16.3 Reseptor Tirozin Kinazalar 770

Liqandın Birləşməsi RTK-nın Dimerləşməsini Gücləndirir və Onun Daxili Kinaza Xassəsinin Fəallaşmasına Səbəb Olur **770**

Epidermal Boy Faktoru Reseptorunun Homo- və Hetero-oligomerləri Epidermal Boy Faktoru Superailəsinin Nümayəndələrinə Birləşir **773**

EGF Reseptorunun Fəallaşması Asimmetrik Fəal Kinaza Dimerinin Yaranmasına Səbəb Olur **774**

Çoxsaylı Mexanizmlər Sitokin Reseptorlardan Siqnalları Azalan-Tənzimləyir **774**

16.4 Ras/MAP Kinaza Yolu 775

Ras GTP-ə Keçirici Zülal Əksər RTK və Sitokin Reseptorların Ardınca Fəaliyyət Göstərir **776**

Drosophila-da Aparılan Genetik Tədqiqatlar Ras/MAP Kinaza Yolunda Əsas Sıqnal Ötürən Zülalları İdentifikasiya Etdi **776**

Tirazinkinaza Reseptorları Adapter Zülallar Vasitəsilə Ras-la Əlaqələnlər **778**

Sos-un Qeyrifəal Ras-a Birləşməsi GTP-nin GDP ilə Əvəz olunmasına Səbə Olan Konformasiya Dəyişikliyi Əmələ Gətirir **779**

Sıqnal Fəallaşmış Ras-dan Proteinkinazalar Kaskadına Keçir, MAP Kinaza ilə Sona Çatır **779**

MAP Kinazanın Fosforlaşması Onun Katalitik Fəallığını Artıran və Kinazanın Dimerləşməsini Gücləndirən Konformasiya Dəyişikliyinə Səbəb Olur **781**

MAP Kinaza Erkən Cavab Genlərini Nizamlayan Çoxsaylı Transkripsiya Faktorlarının Fəallığını Tənzimləyir **782**

G Zülallarla-Cütləşən Reseptorlar Mayanın Cütləşmə Yolunda Sıqnalları MAP Kinazaya Ötürürlər **783**

Eukariotik Hüceyrələrdə Skafold Zülallar Çoxsaylı MAP Kinaza Yollarını Ayırır **783**

16.5 Fosfoinozotid Sıqnal Ötürülməsi Yolu 785

Fosfolipaza C_γ Bəzi RTK-lar və Sitokin Reseptorlarla Fəallaşır **786**

PI-3 Kinazanın Fəallaşmış Reseptora Səfərbər Olunması Üç Fosforlaşmış Fosfatidilinozitolun Sintezinə Səbəb Olur **786**

PI-3 Fosfatların Plazma Membranda Toplanması Bir Neçə Kinazanın Fəallaşmasına Səbəb Olur **787**

Fəallaşmış Proteinkinaza B Çoxsaylı Hüceyrə Cavablarını İnduksiya Edir **787**

PI-3 kinaza Yolu PTEN Fosfataza ilə Mənfi Tənzimlənilir **788**

16.6 Ubikvitinləşmə və zülal parçalanması ilə Nəzarət Olunan Sıqnal Yolu: Wnt, Hedgehog və NF-κB 788

Wnt Sıqnalizasiya Transkripsiya Faktorunun Sitozol Zülal Kompleksindən Azad Olunmasına Səbəb Olur **789**

Wnt Zülalların Qatılıq Qradienti İnkişafın Çox Mərhələləri üçün Vacibdir **790**

Hedgehog Sıqnalın Verilməsi Hədəf Genin Repressiyasını Buraxır **791**

Onurğalılarda Hedgehoq Sıqnalı İlkin Kirpicikləri Tələb Edir **794**

İngibitor Zülalın Parçalanması NF-κB Transkripsiya Faktorunu Fəallaşdırır **795**

Poliubikvitin Zənciri Reseptorları NF-κB Yolunda Sonra Gələn Zülallarla Əlaqələndirən Skafold kimi Fəaliyyət Göstərir **797**

16.7 Zülal Doğranması ilə Nəzarət Olunan Sıqnal Yolu: Notch/Delta, SREBP və Alzheimer Xəstəliyi 798

Deltanın Birləşməsi ilə Notch Reseptor Doğranaraq Transkripsiya Faktoru Komponentini Azad Edir 798

Matrisa Metalloproteazalar Çox Sıqnal Zülallarının Hüceyrə Səthindən Kəsilməsini Kataliz Edir **800**

Amiloid Sələf Zülalın Münasib Olmayan Doğranması Alzheimer Xəstəliyinə Səbəb Olur **800**

SREBP-lərin Tənzimlənmə Membranda xili Proteolizi Fosfolipid və Xolesterinin Səviyyəsinin Saxlanması Təsir edən Transkripsiya Faktorunu Buraxır **800**

16.8 Hüceyrə Cavablarının Müxtəlif Sıqnal Yollarına İntegrasiyası: İnsulinin təsiri 803

Qanda Şəkərin Miqdarını Stabil Saxlamaq Üçün İnsulin və Qlükoqon Birgə İşləyir **803**

Qanda Qlükozanın Artması İnsulinin β Adacıq Hüceyrələrdən İfrasını İşə Salır **804**

Piy və Əzələ Hüceyrələrində İnsulin GLUT4 Qlükozanın Daşıyıcısı Olan Hüceyrə daxili Qovucuqları Plazma Membranına Qovuşdurur **804**

İnsulin Qlükoza Sintezini İngibirləşdirir və Qlükozanın Qlikogen kimi Saxlanılmasını Gücləndirir **805**

Çoxsaylı Sıqnal Ötrən Yollar Adiposit Differensiasiyasını Tənzimləmək Üçün Əsas Transkripsiya Tənzimləyicisi PPAR_γ vasitəsi ilə Əlaqədə Olurlar **807**

İltihab Hormonları Şişmanlıqda Adipoz Hücre Funksiyasını Pozur **809**

17 Hüceyrənin Təşkili və Hərəkəti I: Mikrofilamentlər 812

17.1 Mikrofilaments və Aktin Quruluşlar 815

Aktin Qədimdir, Boldur və Yüksək Dərəcədə Konservativdir **815**

G-Aktin Monomerləri Uzun Spiral F-Aktin Polimerlərində Yığılırlar **816**

F-Aktin Quruluşuna və Funksiyasına görə Polyarlığa Malikdir **817**

17.2 Aktin Filamentlərin Dinamikası 818

Aktin Polimerləşməsi In vitro Üç Mərhələdə Gedir **818**

Aktin Filamentlər (-) Sonluqlara Nisbətən (+) Sonluqlarda Sürətlə Artır **819**

Aktin Filament **Treadmilling**-i Profilin və Cofilinlə Sürətlənir **821**

Timosin- β_4 Polimerləşmə üçün Aktin Ehtiyatını Təmin Edir **822**

Papaq Zülalları Atin Filamenti Uclarının Yığılmasını və Dağılmasını Blok Edir 822

17.3 Aktin Filamenti Yığılmasının Mexanizmləri 823

Forminlər Şaxələnməmiş Filamentləri Toplayırlar **823**

Arp2/3 kompleks Şaxələnməmiş Filament Aqreqatını Nukleasiya Edir **825**

Hüceyrədaxili Hərəkətlər Aktinin Polimerləşməsi ilə Gücləndirilir **826**

Mikrofilamentlər Endositozda Fəaliyyət Göstəririlər **828**

Aktin Monomerləri Toplusunu Həyacanlandıran Toksinlər Aktin Dinamikasını Öyrənmək Üçün Faldalıdır **829**

17.4 Aktin-Əsaslı Hüceyrə Quruluşlarının Təşkili 830

Kəsişən-Əlaqəli Zülallar Aktin Filamentlərini Bağlamaqla və ya Şəbəkədə Düzülməsini Təşkil Edirlər **830**

Adaptor Zülallar Aktin Filamentləri Membranlara Bağlayır **831**

17.5 Miozinlər: Aktin-Əsaslı Motor Zülalları 833

Miozinlər Fərqli Funksiyaları Olan Baş, Boyun və Quyuq Domenlərinə Malikdirlər **834**

Miozinlər Mexanokimyəvi Motor Zülalların Böyük Ailəsini Təşkil Edir **836**

Miozinin Başında Konformasiya Dəyişməsi ATP Hidrolizini Hərəkətlə Birləşdirir **837**

Miozinin Baş Aktin Filamentlər Boyunca Diskret Addımlar Edir **839**

17.6 Miozinlə-Gücləndirilən Hərəkət 840

Qalın Miozin Filamentlər və Nazik Aktin Filamentlər Skelet Əzələlərində Yığılma Zamanı Bir-Birinin Yanından Sürüşərək Keçirlər **840**

Skelet Əzələsi Stabilləşdirici və Eşafolt Zülallarla Qurulmuşdur **842**

Skelet Əzələlərinin Yığılıb-Açılması Ca^{2+} və Aktin-Birləşdirən Zülallarla Tənzimlənir **842**

Aktin və Miozin II Yığılıb-Açılan Qeyri-əzələ Hüceyrələrində Bağları Əmələ Gətirir **844**

Miozindən-Asılı Mexanizmlər Səya Əzələ və Qeyri-əzələ Hüceyrələrində Yığılmanı Tənzimləyir **844**

Miozin V-Birləşmiş Qovucuqlar Aktin Filamentləri Boyunca Daşınır **845**

17.7 Hüceyrə Miqrasiyası: Mexanizmlər, Sıqnal Verilməsi və Kemotaksis 848

Hüceyrənin Miqrasiyası Güc Əmələ Gəlməsini Hüceyrə Adgeziyası Və Membranın Yenidən istifadəsi ilə Koordinasiya Edir **848**

Kiçik GTP-Birləşdirən Zülal Cdc42, Rac, və Rho Aktinin Təşkil olunmasına Nəzarət Edir **850**

Hüceyrə Miqrasiyasına Cdc42, Rac və Rho Tənzimlənməsinin Əlaqələndirilməsi Daxildir **852**

Miqrasiya Edən Hüceyrələr Kemotaktik Molekullarla İdarə Olunurlar **853**

18 Hüceyrənin Təşkili və Hərəkəti II: Mikroborucuqlar və Aralıq Filamentlər 859

18.1 Mikroborucuqların Quruluşu və Təşkili 860

Mikroborucuq Divarları $\alpha\beta$ -Tubulin Dimerlərdən İbarət Qütbləşmiş Quruluşdur **861**

Mikroborucuqlar Müxtəlif Konfigurasiyaları Yaratmaq Üçün MTOC-dan Toplanırlar **862**

18.2 Mikroborucuqların Dinamikası 865

Fərdi Mikroborucuqlar Dinamik Qeyri Stabillik Numayiş Etdirirlər **865**

Yerli Toplanma və "Axtar və Tut" Mikroborucuqların Təşkilinə Kömək Edir **868**

Tubulin Polimerləşməsinə Təsir Edən Dərmanlar Eksperimentlərdə və Xəsrəliklərin Müalicəsində Faydalıdır **868**

18.3 Mikroborucuqların Quruluşu və Dinamikasının Tənzimlənməsi 869

Mikroborucuqlar Yandan-Birləşən Zülallarla Stabilləşirlər **870**

+TIP-lər Mikroborucuq (+) Sonluğun Fəaliyyətlərini və Xəssələrini Tənzimləyir **871**

Digər Sonluğa-Birləşən Zülallar Mikroborucuq Dağılmasını Tənzimləyir **871**

18.4 Kinezinlər və Dineinlər: Mikroborucuq-Əsaslı Motor Zülallar 872

Aksonlarda Orqanoidlər Mikroborucuqlar Boyu Hər-iki İstiqamətdə Daşınırlar **872**

Kinezin-1 Qovucuqların Akson Boyu Mikroborucuqların (+) Sonluğuna Doğru Anteroqrad Nəqliyyatını Gücləndirir **874**

Kinezinlər Müxtəlif Funksiyaları Olan Böyük Zülal Superailəsini Təşkil Edirlər **874**

Kinezin-1 Yüksək Prosesiv Motordur **875**

Dinein Motorlar Orqanoidləri Mikroborucuqların (-) Sonluğuna Doğru Daşıyır **877**

Kinezinlər Və Dineinlər Hüceyrədə Orqanoidlərin Daşınmasında Kooperativdirlər **880**

Tubulinin Modifikasiyası Müxtəlif Sınıf Mikroböyüdücüləri və Onların Motorlarla Əlçatanlığını Fərqləndirir **881**

18.5 Kirpiciklər və Qamçılar: Mikroböyüdücü-Əsaslı Səth Quruluşlar 883

Eukariotik Kirpicik və Qamçılar Dynein Motors Tərəfindən Köpürülmüş Uzun Duplet Mikroböyüdücülərə Malikdirlər **883**

Kirpiciklərin və Qamçıların Döyünməsi Xarici Duplet Mikroböyüdücülərin Nəzarət Olunan Sürüşməsi ilə Əmələ Gəlir **883**

Qamçıdaxili Daşınma Materiyalı Kirpiciklərdə və Qamçılarda Aşağıya və Yuxarıya Hərəkət Etdirir **885**

Əsas Kirpiciklər Interfaza Hüceyrələrində Sensor Orqanoidlərdir **886**

Əsas Kirpiciklərdəki Qüsurlar Çox Xəstəliklərə Səbəb Olur **888**

18.6 Mitoz 888

Sentrosomlar Hüceyrə Tsiklinin Əvvəliində Mitoza Hazırlıq Zamanı İkiləşir **888**

Mitoz Altı Mərhələyə Bölünə Bilər **890**

Mitoz Şpindel Üç Sınıf Mikroböyüdücüyə malikdir **891**

Mikroböyüdücülərin Dinamikası Mitoz Zamanı Dramatik Şəkildə Artır **892**

Mitoz Asterləri Kinesin-5 Tərəfindən İtələnir və Dynein Tərəfindən yönləndirilir **893**

Prometafaza Zamanı Xromosomlar Tutulur və Yönləndirilir **893**

İkiləşmiş Xromosomlar Motorlar və Mikroböyüdücü Dinamikası Vasitəsilə Düzəldirlər **895**

Xromosom Sərnişin Kompleksi (**Passenger Complex**) Kinetoxorlarda Mikroböyüdücü Qoşulmasını Tənzimləyir **895**

Anafaza A Mikroböyüdücülərin Qısalması ilə Xromosomları Qütblərə Aparır **896**

Anafaza A Mikroböyüdücülərin Qısalması ilə Xromosomları Qütblərə Aparır **896**

Şpindel Formalaşmasına Başqa Mexanizmlər də Kömək Edir **896**

Sitokinez İkiləşmiş Hüceyrəni İkiyə Ayırır **899**

Mitoz Zamanı Bitki Hüceyrələri Öz Mikroböyüdücülərini Tanıyır və Hüceyrə Divarını Qururlar **899**

18.7 Aralıq Filamentlər 901

Aralıq Filamentlər Dinamikdirlər **901**

Sitoplazmatik Aralıq Filament Zülalları Toxuma-Spesifik Üsulda Ekspressiya Olunur **903**

Aralıq Filamentlər Subvahid Dimerlərdən Toplanırlar **903**

Laminlər Nüvənin Təşkilini və Sərtliyini Təmin Etmək üçün Daxili Nüvə Qabığını Nizamlayır **905**

Mitoz Zamanı Laminlər Fosforlaşmaqla Reversiv (Geriə dönəbilən) Dağılırlar **906**

18.8 Sitoskelet Elementlər Arasında Koordinasiya və Kooperasiya 907

Aralıq Filament-Assosiasiyalı Zülalları Hüceyrənin Təşkilində Təhfəsi **907**

Mikrofilamentlər və Mikroböyüdücülər Melanosomların Daşınmasını Birgə Edirlər **907**

Hüceyrə Miqrasiyası Zamanı Cdc42 Mikroböyüdücüləri və Mikrofilamentləri Əlaqələndirir **908**

Sinir Böyümə Konuslarının İnkişafı Mikrofilamentlər və Mikroböyüdücülər Tərəfindən Koordinasiya Edilir **908**

19 Eukaryotik Hüceyrə Tsikli 912

19.1 Hüceyrə Tsiklinə Ümumi Baxış və Ona Nəzarət 914

Hüceyrə Tsikli Hüceyrə İkiləşməsinə (Replikasiyasına) Aparan Hadisələrin Ardıcıl Sırasıdır **914**

Tsiklindən Asılı Olan Kinazalar Eukariot Hüceyrə Tsiklinə Nəzarət Edirlər **915**

Bir Neçə Əsas Prinsip Hüceyrə Tsiklini İdarə Edir **915**

19.2 Model Orqanizmlər və Hüceyrə Tsiklinin Öyrənilməsi Metodları 916

Tumurcuqlayan və Bölünən Mayalar Hüceyrə Tsiklinin Genetik Analizi Üçün Güclü Sistemlərdir **917**

Qurbağa Oositləri və Erkən Rüşüymələr Hüceyrə Tsikli Maşınının Biokimyəvi Xarakterizə Edilməsinin Asanlaşdırır **918**

Meyvə Milçəyi İnkişafı Hüceyrə Tsikli Arasında Əlaqəni Aşkar Edir **919**

Toxuma Kulturası Hüceyrələrinin Öyrənilməsi Məməlilərdə Hüceyrə Tsiklinin Tənzimlənməsini Aşkar Edir **920**

Tədqiqatçılar Hüceyrə Tsiklini Öyrənmək üçün Çoxsaylı Vasitələrdən İstifadə Edirlər **921**

19.3 CDK Fəallığının Tənzimlənməsi 922

Tsiklindən-Asılı Olan Kinazalar Kiçik Proteinkinazalardır və Fəaliyyətləri üçün Tənzimləyici Tsiklin Subvahidini Tələb Edirlər **923**

Tsiklinlər CDK-lərin Fəaliyyətini Müəyyən Edirlər **923**

Tsiklinin səviyyəsi Əsasən Zülal Parçalanması ilə Tənzimlənir **925**

CDK-lər Fəallaşdırıcı və İngibirləşdirici Fosforlaşma ilə Tənzimlənirlər **926**

CDK İngibitorları Tsiklin-CDK Fəaliyyətinə Nəzarət Edirlər **926**

Gen Mühəndisliyi ilə Yaradılmış CDK-lər CDK Funksiyalarının Aşkar Olunmasına Səbəb Oldu **927**

19.4 Hüceyrə Tsiklinə Bağlılıq və DNT Replikasiyası 927

Hüceyrələr START və ya Restriksiya Nöqtəsi Adlanan Hüceyrə Tsikli Nöqtəsində Geridönməyən Şəkildə Bölünməy Gedirlər 928

E2F Transkripsiya Faktoru və Onun Tənzimləyicisi Rb Metazoanlarda G1-S Faza Keçidini Nəzarət Edir 929

Hüceyrəxarici Sıqnallar Hüceyrə Tsiklinə Girişi İdarə Edir 929

S faza CDK İngibitorun Parçalanması DNT Replikasiyasını İşə Salır 930

Hər Bir Mənşədən Replikasiya Bir dəfə və Hüceyrə Tsikli Dövründə Yalnız Bir dəfə İnisiasiya Olunur 932

İkiləşmiş DNT Zəncirləri Replikasiya Zamanı Bağlı Olurlar 934

19.5 Mitoza Giriş 936

Mitoz CDK-lərin Sürətlə Fəallaşması Mitozu İnisiasiya Edir 936

Mitoz CDK-ləri Nüvə Qabığının Dağılmasını Təşviq Edir 937

Mitoz CDK-lər Mitoz Şpindel Formalaşmasını Təşviq Edir 938

Xromosom Kondensasiyası Xromosom Seqreqasiyasını Asanlaşdırır 940

19.6 Mitozun Tamamlanması: Xromosomların Seqreqasiyası və Mitozdan Çıxış 941

Kohezirlərin Separaza Vasitəsilə Kəsilməsi Xromosom Seqreqasiyasını İnisiasiya Edir 941

APC/C Sekurin Ubikvitinilləşməsi ilə Separazanı Fəallaşdırır 942

Mitoz CDK İnaktivasiyası Mitozdan Şıxmanı İşə Salır 942

Sitokinezs İki Qız Hüceyrəni Yaradır 944

19.7 Hüceyrə Tsiklinin Tənzimlənməsində Nəzarət Müşahidə Mexanizmi 945

Yoxlama Nəzarət Yolları Asılıqları Yaradır və Hücre Tsiklinə Səhvlərin Qarşısını Alır 945

Böyümənin Nəzarət Yoxlama Yolu Hüceyrələrin Hüceyrə Tsiklinə Daxil Olmasını Kifayət Qədər Makromolekul Biosentezdən Sonra Təmin Edir 945

DNT Zədələnməsinə Cavab Sistemi DNT-nin Zədələndiyi Zaman Hüceyrə Tsiklinin Gedişini Dayandırır 946

Şpindel Yığılmasının Nəzarət Yoxlama Yolları Xromosomlar Mitoz Şpindelində Dəqiq Birləşənə Qədər Xromosom Seqreqasiyasına Mane Olur 949

Spindle Mövqeyinin Yoxlama Nəzarət Yolu Nüvənin İki Qız Hüceyrə Arasında Düzgün Bölündüyünü Əmin Edir 950

19.8 Hüceyrə Bölünməsinin Xüsusi Tipi: Meyoz 952

Hüceyrəxarici və Hüceyrədaxili Sıqnallar Rüşeyim Hüceyrə Formalaşmasını Tənzimləyir 953

Bir Neçə Əsas Xüsusiyyət Meyozu Mitozdan Fərqləndirir 954

Rekombinasiya və Meyoz-Spesifik Kohezirlərin Subvahidi Meyoz I-də Xüsusi Xromosom Seqreqasiyası üçün Lazımdır 956

Bacı Xromatidlərin Ko-orientasiyası Meyoz I Xromosomların Seqreqasiyası üçün Kritik Əhəmiyyətli 958

DNT Replikasiyası İki Meyoz Bölünmə Arasında İnisiasiya Olunur 958

IV Hissə Hüceyrənin Böyüməsi və Differensiasiyası

20 Hüceyrələrin Toxumalara İnteqrasiyası 963

20.1 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziyası: Ümumi Baxış 965

Hüceyrə-Adgeziya Molekulları Bir-Biri ilə və Hüceyrədaxili Zülallarla Birləşir 965

Hüceyrəxarici Matrisa Adgeziya, Sıqnal Ötürülməs və Başqa Funksiyalarda İştirak Edir 967

Çoxfunksiyalı Adgeziya Molekullarının Təkamülü Müxtəlif Heyvan Toxumalarının Takamülünü Mümkün Etmişdir 971

Hüceyrə-Adgeziya Molekulları Mexanotransduksiyanı Həyata Keçirirlər 971

20.2 Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-Hüceyrəxarici Matrisa Qovşaqları və Onların Adgeziya Molekulları 973

Epiteli Hüceyrələrinin Fərqli Apikal, Lateral və Bazal Səthləri Vardır 973

Üç Tip Qovşaq Çox Hüceyrə-Hüceyrə və Hüceyrə-ECM Qarşılıqlı Əlaqələrini Həyata Keçirir 974

Kadherinlər Adheren Qovşaqlarda və Desmosomlarda Hüceyrə-Hüceyrə Adgeziyasını Həyata Keçirirlər 975

İnteqrinlər Epitelial-Hüceyrə Desmosomları da Daxil Olmaqla Hüceyrə-ECM Adgeziyanı Həyata Keçirirlər 979

Sıx Qovşaqlar Orqanizmin Boşluqlarını Bağlayır və Membran Komponentlərinin Diffuziyasını Məhdudlaşdırır 981

Connexinlərdən İbarət Olan Boş Qovşaqlar Kiçik Molekulların Bitişik Hüceyrələrin Sitozolu Arasında Birbaşa Keçməsinə İmkan Verir 984

20.3 Hüceyrəxarici Matrisa I: Bazal Lamina 987

Bazal Lamina Hüceyrələrin Toxumada Toplanması üçün Əsası Təmin Edir 987

Çox-Yapışqanlı Matrisa Zülalı Laminin Bazal Laminanın Komponentlərinin Əlaqələnməsinə Kömək Edir 990

Təbəqə-Əmələgətirən IV Tip Kollagen Bazal Laminanın Əsas quruluş Komponentidir **990**

Proteoqlikan Perlekan Bazal Laminanın Komponentlərini və Hüceyrə-Səth Reseptorlarını Çarpaz-Əlaqələndirir **992**

20.4 Hüceyrəxarici Matrisa II: Birləşdirici Toxuma 993

Fibrilyar Kollagenlər Birləşdirici Toxumanın ECM-dəki Əsas Lifli Zülallarıdır **993**

Fibrilyar Kollagenlər Hüceyrə Xaricində Fibrillərə İfraz Olunur və Toplanırlar **993**

I və II Tip Kollagenlər Müxtəlif Quruluşları Yaratmaq üçün Qeyrifibril Kollagenlərlə Assosiasiya Edirlər **994**

Proteoqlikanlar və Onları Təşkil Edən GAG-lar ECM-də Müxtəlif Rol Oynayırlar **996**

Hialuronan Sıxılmaya Müqavimət Göstərir, Hüceyrə Miqrasiyasına Kömək Edir və Qığırdağa Gelə-Oxşar Xassə Verir **998**

Fibronektinlər Hüceyrələri və ECM-i Birləşdirir, Hüceyrənin Formasına, Differensiasiyasına və Hərəkətinə Təsir Edir **998**

Elastik Fibrillər Çox Toxumalarda Təkrarlanan Uzanmaya və Yenidənspirallaşmaya İmkan Verir **1001**

Metalloproteazalar Hüceyrəxarici Matrisanı Yenidən Formalaşdırır və Parçalayırlar **1002**

20.5 Hərəkətli və Hərəkətsiz Hüceyrələrdə Yapışqan Əlaqələr 1003

İnteqrinlər Adgeziyaya Vasitəçilik Edir və Hüceyrələrlə Onların Üç-Ölçülü Əhatəsi Arasında Siqnalları Ötürür **1003**

İnteqrinlə-Vasitələnen Adgeziyanın Tənzimlənməsi və Hüceyrənin Hərəkətinə Nəzarət Edən Siqnal **1004**

ECM-lə Sitoskelet Arasındakı Əlaqə Əzələ Distrofiyasında Qüsurlu Olur **1006**

IgCAM-lar Sinir və Başqa Toxumalarda Hüceyrə-Hüceyrə Adgeziyasını Həyata Keçirirlər **1007**

Leykositlərin Toxuma Daxilinə Hərəkəti Yapışqan Qarşılıqlı Əlaqələrin Dəqiq Nizamlanmış Ardıcılığı ilə Təyin Edilir **1008**

20.6 Bitki Toxumaları 1010

Bitki Hüceyrə Divarı Qlikozülullar Matrisasında Selluloza Liflərinin Laminatıdır **1010**

Hüceyrə Divarının İtirilməsi Bitki Hüceyrəsinin Böyüməsinə İmkan Verir **1011**

Plazmodesmata Bitişik Hüceyrələrin Sotozolunu Birbaşa Birləşdirir **1012**

Tunel Əmələgətirən Nanoboruçular Plazmodesmataya Oxşayır Molekulları və Orqanoidləri Heyvan Hüceyrələri Arasında Ötürür **1012**

Bitkilərdə Yalnız Çox Az Adgeziya Molekulları Aşkar Edilmişdir **1013**

21 Sütun Hüceyrələr, Hüceyrə Assimetriyası, Hüceyrə Ölümü 1017

21.1 Məməlilərin İnkişafının Erkən Dövrü 1019

Mayalanma Genomu birləşdirir **1019**

Məməlilərin Embriyonunun Doğranması İlk Differensiasiyaya Səbəb Olur **1021**

21.2 Embrion Sütun Hüceyrələr və İnduksiya Olunmuş Pluripotent Sütun Hüceyrələr 1022

Daxili Hüceyrə Kütləsi ES Hüceyrələrin Mənbəyidir **1022**

Çoxsaylı Faktorlar ES Hüceyrələrin Pluripotentliyini Nizamlayır **1024**

Heyvanların Klonlaşdırılması Göstərir ki, Differensiasiya Dönə Bilər **1025**

Somatik Hüceyrələr iPS Hüceyrələri Yarada Bilirlər **1025**

ES və iPS Hüceyrələr Differensiasiya Etmiş Funksional İnsan Hüceyrələrini Yarada Bilər **1028**

21.3 Çoxhüceyrəli orqanizmlərdə Sütun Hüceyrələr və Nişə 1030

Yetkin Planari Pluripotent Sütun Hüceyrəyə Malikdir **1030**

Multipotent Somatik Sütun Hüceyrələr Həm Sütun Hüceyrələrə Həm də Differensiasiya Edən Hüceyrələrə Başlanğıc Verir **1030**

Müxtəlif Toxumaların Sütun Hüceyrələri Davamlı Şəkildə Nişələri Tuturlar **1032**

Rüşeyim-xətli Sütun Hüceyrələr Sperma və Yumurtanı Yaradır **1032**

Bağırsağ Sütun Hüceyrələri Fasiləsiz Şəkildə Bağırsağ Epitelisinin Bütün Hüceyrələrini Yaradırlar **1033**

Hematopoitik Sütun Hüceyrələr Qan Hüceyrələrini Yaradır **1037**

Nadir Hüceyrə Tipləri Hematopoitik Sütun Hüceyrələrin Nişəsini Yaradırlar **1038**

Meristemlər Bitki Sütun Hüceyrələrin Nişəsidir **1040**

Mənfi Geriyə Əlaqə Gövdənin Apikal Sütun-Hüceyrə Populyasiyasını Saxlayır **1041**

Kökün mereistemi Quruluşuna və Funksiyasına Görə Gövdə Meristemine Oxşayır **1042**

21.4 Hüceyrə Polyarlığının Mexanizmləri və Assimetrik Hüceyrə Bölünməsi 1043

Daxili Polyarlıq Proqramı Cdc42-nin Daxil Olduğu Müsbət Geriyə Əlaqədən Asılıdır **1043**

Hüceyrə Bölünməsindən Öncə Hüceyrə Polyarlaşması Ümumi İerarxiya Mərhələləri ilə Davam Edir **1046**

Polyarlanmış Membran Daşınması Cütləşmə Zamanı Mayanın Assimetrik Böyüməsinə İmkan Verir **1046**

Nematod Embrionunda Par Zülallar Hüceyrə Asimmetriyasını Yönlədir **1047**

Par Zülallar və Digər Polyarlıq Kompleksləri Epiteli-Hüceyrə Polyarlığında İştirak Edirlər **1049**

Planar Hüceyrə Polyarlığı Yolu Hüceyrələri Epiteli Daxilində Yönlədir **1051**

Par Zülallar Sütun Hüceyrələrin Asimmetrik Bölünməsində İştirak Edirlər **1053**

21.5 Hüceyrənin Ölümü və Onun Tənzimlənməsi 1054

Proqramlaşdırılmış Hüceyrə Ölümünün Çoxu Apoptoz Vasitəsilə Baş Verir **1055**

Təkamülə Konservativ Zülallar Apoptoz Yolunda İştirak Edirlər **1057**

Kaspazalar İlkin Apoptoz Sinyalını Amplifikasiya Edirlər və Əsas Hüceyrə Zülallarını Dağıdırlar **1059**

Neytrofinlər Neyronların Sağ Qalmasına İmkan Yaradır **1059**

Mitoxondri Onurğalılarda Hüceyrələrində Apoptozun Tənzimlənməsində Mərkəzi Rol Oynayır **1061**

Bax və Bak Pro-apoptotik Zülallar Xarici Mitoxondri Membranında Məsələləri və Deşiyi Əmələ Gətirirlər **1061**

Mitoxondridən Sitoxrom *c* və SMAC/DIABLO Zülallarının Buraxılması Apoptosomun Yaranmasına və Kaspazanın Fəallaşmasına Səbəb Olur **1062**

Trofik Faktorlar Pro-apoptotik Yalnız-BH3 Zülal Bad-in Fəalsızlaşmasını İnduksiya Edir **1062**

Apoptoz Onurğalılarda Ətraf Mühit Stressi ilə Fəallaşan Yalnız-BH3 Pro-apoptotik Zülallarla Tənzimlənir **1064**

Hüceyrə Qətlinin İki Tipi Şiş Nekrozis Faktoru, Fas Liqandı və Əlaqəli Ölüm Sinyalları Tərəfindən İşə Düşür **1064**

22 Sinir Sistemi Hüceyrələri 1069

22.1 Neyronlar və Qlia: Sinir Sisyeminin Quruluş Blokları 1070

Məlumat Dentritlərdən Aksonlara Neyronlar Vasitəsilə Axır **1070**

Məlumat Aksonlar Boyu İon Axımının Təsir potensialı Adlanan Pulslar Kimi Hərəkət Edir **1071**

Məlumatlar Neyronlar Arasında Sinapsislərlə Axır **1072**

Sinir sistemi Çox Neyronlardan İbarət Olan Sinyal Sxemlərini İstifadə Edir **1072**

Qlial Hüceyrələr Myelin Təbəqələri Əmələ Gətirir və Neyronları Dəstəkləyir **1073**

Sinir Sütun Hüceyrələri Mərkəzi Sinir Sistemində Sinir və Qlial Hüceyrələri Yaradır **1076**

22.2 Gərginliklə-Açılan İon Kanalları və Təsir Potensialının Yayılması 1078

Təsir potensialının Böyüklüyü E_{Na} -a Yaxındır və Na^+ -ın Açıq Na^+ Kanalları Vasitəsilə Daxilə Axmasıyla Baş Verir **1079**

Gərginliklə-Nizamlanan Na^+ və K^+ Kanallarının Ardıcıl Açılması və Bağlanması Təsir potensialını Yaradır **1079**

Təsir potensialı Azalmadan Biristiqamətli Yayılır **1083**

Sinir Hüceyrələri ATP Olmadan Çox Təsir potensialını Keçirirlər **1083**

Bütün Gərginliklə-Nizamlanan İon Kanalları Ümumi Quruluşa Malikdir **1083**

Gərginlik-Hissədən S4 α Spirallar Membran Depolyarlaşmasına Cavab Olaraq Hərəkət Edirlər **1084**

Kanal-Fəalsızlaşdırıcı Segmentin Açıq Məsələyə daxil Olması İon Axımını Bağlayır **1086**

Myelinləşmə İmpuls Keçiriciliyinin Sürətini Artırır **1087**

Fəaliyyət Potensialı Myelinləşmiş Aksonlarda Düyüdüən Düyünə "Atılır" **1088**

İki Tip Qlia Myelin Təbəqələrini Əmələ Gətirir **1089**

İşıqla Fəallaşan İon Kanalları və Optogenetika **1090**

22.3 Sinapslarda əlaqələr 1092

Sinapsların Əmələ Gəlməsi Presinaptik və Postsinaptik Quruluşların Toplanması Tələb Edir **1093**

Neyrotransmitterlər H^+ -əlaqəli Adaptor Zülallar Vasitəsilə Sinaptik Qovucuqlara Daşınırlar **1096**

Presinaptik Sonluqda Neyrotransmitterlə Yüklənmiş Sinaptik Qovucuqların Üç Ehtiyatı Mövcuddur **1097**

Ca^{2+} Daxilə Axması Neyrotransmitterlərin Buraxılmasına Səbəb Olur **1097**

Kalsium-Birləşdirən Zülal Sinaptik Qovucuqların Plazma Membranı ilə Qovuşmasını Tənzimləyir **1099**

Dinamini Olmayan Milçək Mutantları Sinaptik Qovucuqları Təkrar İstifadə Edəbilmirlər **1101**

Neyrotransmitterlərin Parçalanması və ya Geriyə Çəkilməsi ilə Sinapslarda Sinyal Ötürülməsi Dayandırılır **1101**

Asetilxolinlə-Nizamlanan Kation Kanallarının Açılması Əzələ Dartılmasına Səbəb Olur **1101**

Nikotin Asetilxolin Reseptorun Bütün Beş Subvahidi İon Kanallarına Kömək Edir **1103**

Sinir Hüceyrələri Təsir potensialını Yaratmaq Üçün Hamis-və ya Heçbiri Qərarı Üçün Çox Girişləri İntegrasiya Edir **1103**

Boşluq Qovşağı Neyronlar Arasında və Qlia Arasında Birbaşa Əlaqəyə İmkan Verir **1104**

22.4 Ətraf Mühitin Hiss Olunması: Toxunmaq, Ağrı, Dad və Qoxu 1105

Mexanoreseptorlar Nizamlanan Kation Kanallarındırlar **1105**

Ağrı Reseptorları da Tənzimlənən Kation Kanallarındır **1106**

Dad Məməciklərinin Hüceyrələr Yarımqrupunda Beş Əsas Dad Duyulur **1108**

Çoxsaylı Reseptorlar Qoxunu Aşkar Edir **1110**

Hər Bir Qoxu Reseptor Neyronu Bir Tip Odorant Reseptorunu Ekspresiya Edir **1112**

22.5 Yaddaşın Formalaşması və Saxlanması 1114

Yaddaş Neyronlar Arasında Sinapsların Sayının və Gücünün Dəyişməsi ilə Formalaşır **1115**

Hipokampus Yaddaşın Formalaşması Üçün Tələb Olunur **1116**

Çoxsaylı Molekulyar Mexanizmlər Sinaptik Plastikliyə Kömək Edirlər **1117**

Uzun-Müddətli Yaddaşın Əmələ gəlməsi Gen Ekspresiyasını Tələb Edir **1119**

23 İmmunologiya 1122

23.1 Sahibin Müdafiəsinə Ümumi Baxış 1124

Patogenlər Orqanizmə Müxtəlif Yollarla Daxil Olur və Fərqli Saytlarda Replikasiya Edirlər **1124**

Leykositlər Bədən Boyu Dövrə Vurur və Toxumalarda Və Limfa Düyünlərində Məskunlaşırlar **1125**

Mexaniki və Kimyəvi Hüdudlar Patogenlərə Qarşı Müdafiənin Birinci Təbəqəsini Yaradır **1126**

Anadangəlmə İmmunitet İkinci Müdafiə Xəttini Yaradır **1127**

İltihab Yaralanmaya Qarşı Qazanılmış və Anadangəlmə İmmunitetin Əhatə Etdiyi Kompleks Cavabdır **1129**

Müdafiənin Üçüncü Xətti Qazanılmış İmmunitet Spesifiklik Nümayiş Etdirir **1131**

23.2 İmmun oqlobulinlər: Quruluşu və Funksiyası 1133

İmmunoqlobulinlərin Ağır və Yüngül Zəncirdən Təşkil Olunmuş Konserbativ Quruluşu Vardır **1133**

Müxtəlif İmmunoqlobulin İzotiplərin Hər Biri Fərqli Funksiyalarla Mövcud Olur **1133**

Hər Bir Naiv B Hüceyrə Unikal İmmunoqlobulin İstehsal Edir **1135**

İmmunoqlobulin Domenlərin Disulfid Əlaqələrlə Stabilləşən İki β Vərəqdən Təşkil Olunmuş Xarakterik Bükməsi Vardır **1136**

İmmunoqlobulinlərin Sabit Rayonu Onların Funksional Xassələrini Təyin Edir **1137**

23.3 Anticizm Müxtəlifliyinin Yaradılması və B-Hüceyrələrin İnkişafı 1138

Funksional Yüngül Zəncir Geni V və J Gen Seqmentlərinin Toplanması Tələb Edir **1139**

Ağır-Zəncir Lokusun Yenidəntəşkilinə V, D və J Gen Seqmentləri Daxildirlər **1142**

Somatik Hipermutasiya Anticizmlərin Yüksək Affinliklə Yaradılmasına Seçilməsinə İmkan Verir **1143**

B Hüceyrənin İnkişafı Sələf B-hüceyrə Reseptorundan Giriş Tələb Edir **1143**

Qazanılmış İmmun Cavabı Zamanı B Hüceyrələr Membarana-Birləşmiş Ig Hazırlayan Formadan İfraz Olunan Ig Hazırlayan Formaya Keçirlər **1145**

B Hüceyrələr Yaratdıqları İmmunoglobulinin İzotipini Dəyişə Bilərlər **1146**

23.4 MHC və Antigenin Təqdimatı 1147

MHC Eyni Növlərin Əlaqəsi Olmayan İki Fərdinin Transplantı Qəbul Etmə və ya Rədd Etmə Qabiliyyətini Təyin Edir **1147**

Sitotoksik T hüceyrələrin Öldürücü Fəaliyyəti Antigen Spesifikdir və MHC ilə Məhduddur **1148**

Müxtəlif Funksional Xassəli T Hüceyrələr MHC Molekulların İki Fərqli Sinifi ilə İdarə Olunur **1150**

MHC Molekullar Peptid Antigenlərə Birləşir və T-Hüceyrə Reseptoru ilə Əlaqəyə Girir **1151**

Antigen Təqdimolunma Zülal Fraqmentlərinin MHC Məhsulları ilə Kompleks Əmələ Gətirdiyi və Hüceyrə Səthinə Yerləşdirdiyi Prosesdir **1152**

I Sinif MHC Yol Sitozol Antigenləri Təqdim Edir **1153**

I Sinif MHC Yolu Endositoz Yoluna Çatdırılan Antigenləri Təqdim Edir **1156**

23.5 T-Hüceyrələr, T-Hüceyrə Reseptorları və T-Hüceyrə İnkişafı 1158

T-Hüceyrə Reseptorunun Quruluşu İmmunoqlobulinə F(ab) Zülalınə Bənzəyir **1159**

TCR Genlər İmmunoqlobulin Genləri ilə Eyni Qaydada Yenidən Təşkil Olunurlar **1160**

TCR-lərin Dəyişkən Qalıqlarının Çoxu V, D və J Gen Seqmentlərinin Qovşaqlarında Kodlaşdırılır **1161**

Antigen-Spesifik Reseptorlar Vasitəsilə Sıqnal Verilməsi T və B Hüceyrələrin Proliferasiyasını və Differensiasiyasını İşə Salır **1161**

MHC Molekullarını Tanıya Bilən T Hüceyrələr Müsbət və Mənfi Seçmə Prosesi ilə İnkişaf Edirlər **1163**

T hüceyrələr Timusda CD4 və ya CD8 Xəttinə Qoşulur **1164**

T Hüceyrələr Tam Fəallaşmaq Üçün İki Tip Sıqnalı Tələb Edir **1165**

Sitotoksik T hüceyrələr CD8 Ko-reseptoru Daşıyır və Öldürmək üçün İxtisaslaşmışlar **1166**

T Hüceyrələr Başqa İmmun-Sistemi Hüceyrələrinə Sıqnalı Təmin Edən Sitokinlər Sırasını İstehsal Edirlər **1167**

Köməkçi T Hüceyrələr Onların Sitokin İstehsalına və Səth Markerlərin İstehsalına Görə Fərqli Yarımölmələrə Ayrırlar **1167**

Leykositlər Kemokinlər Tərəfindən Təmin Olunan Kimyəvi Maddələrə Cavab Olaraq Hərəkət Edirlər **1167**

23.6 Qazanılmış İmmun Cavabında İmmun Sistemi Hüceyrələrinin Əməkdaşlığı 1168

Toll-Bənzər Reseptorlar Müxtəlif Patogen Mənşəli Makromolekulyar Nümunələri Qəbul Edirlər **1169**

Toll-Bənzər Reseptorlar Antigen-Təqdim Edən Hüceyrələrin Fəallaşmasına Səbəb Olur **1170**

Yüksək-Affinlikli Anticismlərin İstehsalı B və T Hüceyrələr Arasında Əməkdaşlığı Tələb Edir **1171**

Peyvəndlər Müxtəlif Patogenlərə Qarşı Qoruyucu İmmuniteti Yaradır **1173**

İmmun sistemi xərcəngə qarşı mühafizə edir **1174**

24 Xərcəng 1177

24.1 Şiş Hüceyrələri Normal Hüceyrələrdən Necə Fərqlənir 1178

Əksər Xərcəng Hüceyrələrinin Genetik Tərkibi Dramatik Şəkildə Dəyişilir **1179**

Hüceyrənin Evdarlıq Funksiyalarını Xərcəngdə Fundamental Şəkildə Dəyişir **1179**

Nəzarət Olunmayan Proliferasiya Xərcəngin Universal Əlamətidir **1181**

Xərcəng Hüceyrələri Toxuma Məhdudluğundan Xilas Olurlar **1182**

Şişlər Onların Ətraf Mühitləri Tərəfindən Yaradılmış Heterogen Orqanlardır **1182**

Şişin Böyüməsi Yeni Qan Damarlarının Yaranmasını Tələb Edir **1183**

Zəbt eləmə və Metastaz Şiş Əmələgəlmənin (Tumorogenezin) Sonrakı Mərhələsidir **1183**

24.2 Xərcəngin İnkişafının Mənşəi 1185

Karsinogenez DNT-ni Zədələməklə Xərcəngi İnduksiya Edir **1185**

Bəzi Karsinogenlər Spesifik Xərcənglə Əlaqədirlər **1186**

Multi-Hit Model Xərcəngin İnkişafını İzah Edə Bilir **1187**

Ardıcıl Onkogen Mutasiyalar Yoğun Bağırsağ Xərcənglərində İzlənilə Bilir **1188**

Xərcəngin İnkişafı Kultura Olunmuş Hüceyrələrdə və Heyvan Modellərində Öyrənilə Bilir **1190**

24.3 Xərcəngin Genetik Əsasları 1192

Funksiyanın-Qazanılması Mutasiyaları Proto-Onkogenləri Onkogenlərə Çevirir **1192**

Xərcəng-Əmələgətirən Viruslar Onkogenlərə Malikdirlər və ya Hüceyrənin Proto-onkogenlərini Fəallaşdırırlar **1194**

Şiş-Supressor Genlərində Funksiyanın-İtirilməsi Mutasiyaları Onkogen Mutasiyalardır **1195**

Şiş-Supressor Genlərində İrsən Keçmiş Mutasiyalar Xərcəng Riskini Artırır **1195**

Epigenetik dəyişilmələr Tyumorogenezə kömək Edə Bilir **1197**

Mikro RNTlər Tumorogenezə İngibirləşdirir və Təşviq Edə Bilir **1198**

Tədqiqatçılar Tumorogenezin Aparıcılarını İdentifikasiya Edirlər **1199**

Molekulyar Hüceyrə Biologiyası Xərcəngin Necə Diaqnoz Olunmasını və Müalicəsini Dəyişir **1200**

24.4 Xərcəngdə Hüceyrə Artmasının və Ölümünün Düzgün Tənzimlənməməsi 1201

Onkogen Reseptorlar Xarici Boy Faktorları Olmadan Proliferasiyanı Təşviq Edə Bilir **1202**

Çox Onkogenlər Konstitutiv Fəal Sıqnal-Ötürən Zülalları Kodlaşdırır **1202**

Nüvə Transkripsiyası Faktorlarının Uyğun olmayan İstehsalı Transformasiyaya Səbəb Olur **1203**

İnkişafa Nəzarət Edən Sıqnal Yollarındakı Aberrasiyalar Çox Xərcənglərlə Bağlıdır **1204**

Apoptozu Tənzimləyən Genlər Proto-onkogenlər və ya Şiş-Supressor Genləri Kimi Fəaliyyət Göstərirlər **1206**

24.5 Xərcəngdə Hüceyrə Tsikli və Genomun Qorunub Saxlanması Yollarının Tənzimlənməsi 1206

G1-dən S Fazaya Tənzimlənməyən Keçidi Təşviq Edən Mutasiyalar Onkogendirlər **1207**

p53-ün İtirilməsi DNT Zədələnməsinin Yoxlama-Məntəqəsini Ləğv Edir **1208**

DNT-Reparasiya Sisteminin İtirilməsi Xərcəngə Səbəb Ola Bilir **1210**

GLOSSARY – LÜĞƏT 1215