

ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

მესხი თეა ამირანის ასული

ბიორეგულატორი პეპტიდების ზემოქმედება
ქრომატინისა (*in situ*) და დნმ-ის თერმოდინამიკურ
სტაბილურობაზე (*in vitro*)

გენეტიკა

03. 00. 15

ავტორეფერატი

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის

სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

თბილისი – 2006

სამუშაო შესრულებულია ე.ანდრონიკაშვილის ფიზიკის
ინსტიტუტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ფიზ.-მათ. მეცნიერებათა

დოქტორი

ჯამლეტ რევაზის ძე მონასელიძე

ოფიციალური ოპონენტები: ბიოლ. მეც. დოქტორი,
პროფესორი
ჯემალ რატიანი

ფიზ.-მათ. მეც.
კანდიდატი
ვიქტორ სოსხაძე

დისერტაციის დაცვა შედგება 2006 წლის 20 ნოემბერს 2
საათზე, ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტის სადისერტაციო საბჭოს
სხდომაზე გენეტიკის განხრით **B. 03. 15. №7**

დისერტაციის გაცნობა შესაძლებელია ივ.
ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში (0147, თბილისი,
უნივერსიტეტის ქ. №2

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2006 წლის 20 ოქტომბერს

სადისერტაციო საბჭოს

სწავლული მდივანი, ბიოლოგიის

მეცნიერებათა დოქტორი

თ.ჯოსხაძე

ნაშრომის საერთო დახასიათება

თემის აქტუალობა. ნეირობიოლოგიასა და მედიცინაში ამჟამად დიდი ყურადღება ექცევა ციტომედიებს - ბიორეგულატორ პეპტიდებს, რომლებიც ინარჩუნებენ უჯრედული პოპულაციის სტრუქტურულ და ფუნქციონალურ ჰომეოსტაზს.

ციტომედიების საშუალებით შექმნილია პრეპარატების ახალი კლასი, რომლებიც შეიცავენ პოლიპეპტიდური ფრაქციის კომპლექსს. ასეთი პრეპარატების რიგში არის ისეთი კომპლექსური პეპტიდები, რომლებიც გამოყოფილია მსხვილფეხა პირუტყვის ქსოვილებიდან: თიმალინი მიღებულია მკერდუკანა ჯირკვლიდან, კორტექსინი და ეპიტალონი – თავის ტვინის ქერქიდან და ეპიფიზიდან, პროსტატილენი გამოყოფილია პროსტატის ჯირკვლიდან, კარდიალინი – გულიდან, რეტიმილაინი - თვალის ბადურიდან. სინთეზირებულია მოკლე პეპტიდები: ვილონი, თიმოგენი, კორტაგენი, ეპიტალონი, პროსტომაქსი. ზოგიერთი პეპტიდური პრეპარატები გამოიყენება კლინიკაში მწვავე და ქრონიკული დაავადებების სამკურნალოდ, აგრეთვე იმუნური სისტემის დარღვევისას გერიატრიულ პრაქტიკაში. გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ

ორგანოსპეციფიური ქსოვილის კულტურაში პეპტიდების მოქმედება არის დამოკიდებული ქსოვილის ტიპზე. კომპლექსური და სინთეზური პეპტიდების რეგულატორული ზემოქმედება სტრუქტურულ და ფუნქციონალურ ჰომეოსტაზზე სხვადასხვა უჯრედების კულტურაში, რომელიც მიღებული იყო ახალგაზრდა, საშუალო და ხანშიშესული ცხოველებიდან გამოვლინდა იმაში, რომ ისინი ასტაბილებენ ქსოვილების მორფოლოგიურ შენახვას და ამავე დროს აძლიერებენ უჯრედშიგა რეგენერაციას.

ექსპერიმენტული შედეგები მიუთითებს იმ პერსპექტივაზე, რომ ასეთი სინთეზური და კომპლექსური პეპტიდების გამოყენება ასაკთან დაკავშირებული ორგანოების და ქსოვილების პათოლოგიის მკურნალობის საშუალებას იძლევა.

ლიტერატურაში ცნობილი არ არის თუ როგორ მოქმედებენ სინთეზური ბიორეგულატორები გენეტიკური მასალის – ქრომატინისა და დნმ-ის თერმოდინამიკურ სტაბილურობაზე *in vivo* და *in vitro*. აღნიშნული საკითხების შესწავლას გააჩნია როგორც თეორიული ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა.

სამუშაოს მიზანი. შრომის მიზანს წარმოადგენდა ბიორეგულატორი პეპტიდების (პროსტომაქსისა და ვილონის) ზემოქმედების შესწავლა ეუქრომატინისა და

ჰეტეროქრომატინის თერმოდინამიკურ სტაბილურობაზე კლინიკურად ჯანმრთელი მოხუცი დონორების პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების უჯრედულ კულტურებში და თიმუსის დნმ-ის დნობის თერმოდინამიკურ პარამეტრებზე ფიზიოლოგიურ პირობებში, დიფერენციალური სკანირებადი კალორიმეტრით. ბიორეგულატორი პეპტიდების ზემოქმედების შესასწავლად გენეტიკურ მასალაზე *in situ* და *in vitro* აუცილებელი იყო შეგვესწავლა შემდეგი საკითხები:

1. უჯრედების კულტივირება სტანდარტული მეთოდით (Moorhead et al. 1960).
2. დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრის მეთოდით პეპტიდების ზემოქმედების შესწავლა მეტაბოლურ და დენატურაციის სიბოზზე, მემბრანების, ციტოპლაზმატური ცილებისა ბირთვული მატრიქსების სტრუქტურულ ორგანიზაციაზე - *in situ*.
3. ამავე მეთოდით პეპტიდების ზემოქმედების შესწავლა ჰეტეროქრომატინის დენატურაციის პარამეტრებზე - *in situ*.
4. სინთეზური პოლიმერის poly[d(A-T)d(A-T)]-ს, პოლიმერ-პეპტიდ კომპლექსისა და თიმუსის დნმ-ის

თერმოდინამიკური პარამეტრების განსაზღვრა დ.ს.მ. მეთოდით განხავეზულ სსნარებში.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და თეორიულ-პრაქტიკული მნიშვნელობა.

შეწავლილი იქნა poly[d(A-T)d(A-T)] სინთეზურ პოლიმერზე, ხბოს თიმუსის დნმ-სა და 70-80 წლის კლინიკურად ჯანმრთელი ინდივიდების პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების უჯრედულ კულტურებზე სინთეზური პეპტიდების ვილონისა და პროსტომაქსის გავლენა დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრის მეთოდის გამოყენებით. ამ მეთოდის საშუალებით პირველად იქნა აღწერილი პეპტიდების გავლენა სინთეზური პოლიმერისა და თიმუსის დნმ-ის თერმოსტაბილობაზე. პირველად იქნა აგრეთვე აღწერილი მათი მოქმედება ქრომატინის სტრუქტურულ ცვალებადობაზე *in situ*. ნახვენებია, რომ ხანდაზმულ ადამიანებში პეპტიდების მცირე კონცენტრაციები იწვევენ ჰეტეროქრომატინული ფრაქციის გადასვლას აქტიურ ქრომატინში. გამოთქმული იქნა მოსაზრება, რომ ეს გადასვლა დაკავშირებულია ქრომოსომების ჰეტეროქრომატინული რაიონების გაშლასთან (დეკონდენსაციასთან), რაც განაპირობებს ქრომატინის გააქტიურების შესაძლებლობას. მიღებულ მონაცემებზე დაყრდნობით

დასაშვებია ქრომატინის მოდიფიკაციისა და რეპარაციული სისტემების გააქტიურების დადგენის შესაძლებლობა და ამ პროცესების მართვის გარკვეული პერსპექტივები. აღნიშნულს გააჩნია როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა.

პუბლიკაცია. დისერტაციის მასალები გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო სტატიისა და 1 თეზისის სახით.

აპრობაცია. ნაშრომის შედეგები მოხსენებული და განხილული იქნა:

2006 წლის 6 ივნისს ე.ანდრონიკაშვილის ფიზიკის ინსტიტუტში ბიოლოგიური სისტემების ფიზიკის განყოფილების სხდომაზე

2006 წლის 2 ოქტომბერს ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე გენეტიკის განხრით **(B. 03. 15. №7)**

დისერტაციის სტრუქტურა სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს შესავალს, ლიტერატურულ მიმოხილვას, მასალისა და მეთოდების აღწერას, კვლევის შედეგებსა და მათ განხილვას, დასკვნებს, ციტირებული ლიტერატურის სიას, რომელიც შეიცავს 124 დასახელებას. დისერტაცია დაბეჭდილია 92 გვერდზე, შეიცავს 12 სურათს და 1 ცხრილს.

სამუშაოს მოკლე აღწერა

შესავალი: მოყვანილია ნაშრომის ზოგადი დახასიათება, დასაბუთებულია თემის აქტუალობა, ჩამოყალიბებულია კვლევის მიზანი, და დასმულია კონკრეტული ამოცანა. აგრეთვე აღნიშნულია კვლევის სამეცნიერო სიახლე და მისი პრაქტიკული მნიშვნელობა.

ლიტერატურულ მიმოხილვაში აღწერილია ბიორეგულატორი პეპტიდების ბიოლოგიური აქტივობა, მათი მოქმედების ექსპერიმენტული და კლინიკური შესწავლა.

მასალა და მეთოდებში დახასიათებულია საკვლევი აგენტები და აღწერილია მეთოდები.

ექსპერიმენტულ ნაწილში თავმოყრილია მიღებული შედეგები. ახალი მიკროკალორიმეტრული დანადგარის მოდიფიცირება საშუალებას იძლევა განისაზღვროს გენეტიკური მასალის თერმოდინამიკური პარამეტრები მისი საკმაოდ დაბალი სიჩქარით (იზოთერმულთან ახლოს მყოფ რეჟიმში) გახურებისას.

სურ.1 ნაჩვენებია ადამანის სისხლის ლიმფოციტების გახურების თერმული ეფექტების მიკროკალორიმეტრული ჩანაწერი. მოცემულია ინტენსიური ასიმეტრიული ეგზოთერმული პიკი 8-40°C ტემპერატურულ ინტერვალში მაქსიმუმით 37°C –ზე.

გამოყოფილი სითბო(- Q) დათვლილია ბაზისურ ხაზსა და მრუდის ქვეშ არსებული ფართობის მიხედვით და ტოლია $13,4 \pm 2,0$ ჯ/გ მშრალი ბიომასისა. სითბოს გამოყოფა ხდება იმის გამო, რომ 40°C -მდე უჯრედი ცოცხალია და მასში მიმდინარე ბიოქიმიური პროცესები მაქსიმუმს აღწევენ დაახლოებით 37°C -ზე. 40°C -დან იწყება უჯრედში შემავალი სტრუქტურების დენატურაცია. ოთხი პიკი და სამი მხარი იქნა ჩაწერილი $40\text{-}120^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში. ინტეგრალური სითბო დათვლილია ენდოთერმების შიგნით არსებული ფართობიდან და ტოლია $26,5 \pm 3,0$ ჯ/გ მშრალი ბიომასისა. სისტემატური მიკროკალორიმეტრული გაზომვები გვიჩვენებს, რომ ციტოპლაზმატური სტრუქტურები და ბირთვული მატრიქსები დენატურიდებიან $40\text{-}85^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში, ხოლო გენეტიკური მასალა – ქრომატინი კი უფრო მაღალ ტემპერატურაზე $80\text{-}120^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში (Andronikashvili E., et. Al. 1983., Monaselidze J.R., et. Al. 1981 Lepock J.R., et. Al. 1995). იმისათვის, რომ გაგვერკვია დენატურაციის რომელი სტადია შეესაბამება ქრომატინის დენატურაციას მოცემული ენდოთერმები დავეყავით გაუსის მრუდებად და მივიღეთ 8 თერმული გადასვლა(პიკი) (სურ.2). Q_d (დენატურაციის სითბო)

გამოთვლილია მე-7 და მე-8 ენდოთერმების მიხედვით და შეადგენს $90,5 \pm 9,0$ ჯ/გ-გრამ დნმ-ზე. ეს მნიშვნელობა შეესაბამება ქრომატინის ხსნარის Q_d -ს ($75,5 \pm 7,5$ ჯ/გრამ დნმ-ზე) ექსპერიმენტალური ცდომილების ფარგლებში (Andronikashvili E., et. Al. 1983., Balbi C. M. L., et. Al. 1988., Monaselidze at.al. 2006).

სითბოშთანთქმის მრუდების შედარება გვიჩვენებს, რომ პეპტიდის შეყვანა უჯრედის კულტურაში იწვევს მრუდის პროფილის შეცვლას მხოლოდ $80\text{-}120^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში. კერძოდ, პროსტომაქსის ზემოქმედებისას ხდება მე-7 და მე-8 პიკების წანაცვლება დაბალი ტემპერატურებისაკენ $2,9$ და 1°C -ით დაუმუშავებელ უჯრედებთან შედარებით.

დამზიერება სითბოს გადანაწილება მე-7 და მე-8 ენდოთერმებს შორის. სითბო, რომელიც მოდის მე-7 ენდოთერმაზე იზრდება, ხოლო მე-8 ენდოთერმაზე მოსული სითბო მცირდება, სრული გადასვლის სითბო ($Q_d^{V11} + Q_d^{V111}$) კი უცვლელი რჩება. ამ გადასვლის დენატურაციის პარამეტრებია:

$$T_d^{V11} = 94,4^{\circ}\text{C} \pm 0,05 \qquad T_d^{V111} = 105,1^{\circ}\text{C} \pm 0,05$$

$$Q_d^{V11} = 50,8 \pm 5,0 \text{ ჯ/გ დნმ} \qquad Q_d^{V111} = 44,9 \pm 4,9 \text{ ჯ/გ დნმ}$$

სურ.3 ნაჩვენებია სითბოშთანთქმის მრუდები ინტაქტური და ვილონით დამუშავებული კულტურული უჯრედების. (----) შეესაბამება მოხუცი დონორის

ინტაქტურ უჯრედებს, (—) შეესაბამება ვილონით დამუშავებულ მოხუცი დონორის უჯრედულ კულტურას, ხოლო (.....) ახალგაზრდა დონორის სითბოშთანთქმის მრუდს. დენატურაციის პარამეტრებია:

$$\begin{aligned} T_d(I) &= 82,3^{\circ}\text{C} & Q_d(I) &= 33,8 \pm 3,8 \text{ჯ/გ} \\ T_d(II) &= 95^{\circ}\text{C} & Q_d(II) &= 30,2 \pm 3,2 \text{ჯ/გ} \\ T_d(III) &= 106^{\circ}\text{C} & Q_d(III) &= 28,0 \pm 2,8 \text{ჯ/გ} \end{aligned}$$

$Q_d(I,II,III)=92,0 \pm 9,2 \text{ჯ/გ}$, რაც შეესაბამება ადრე მიღებულ შედეგებს (Monaselidze at. al. 1981., Cavazza at. al. 1991)

დაბალტემპერატურული მრუდები, რომელთა გადასვლის ტემპერატურა არის $46 \pm 1,0$; $55 \pm 1,0$; $63 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, ლიტერატურული მონაცემების თანახმად შეესაბამება მემბრანების, ბირთვული მატრიქსების და ციტოპლაზმატური სტრუქტურების დანატურაციას (Cavazza at. al. 1991., Cardellini at. al. 2000., Touchette NA., Cole D. 1985). შეგვიძლია ვთქვათ, რომ როგორც პროსტომაქსის, ისე ვილონის დამატებით მრუდის პროფილი არ იცვლება მნიშვნელოვნად $40-80^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში ე.ი. არ მოქმედებენ პროტეინ-მემბრანა-კომპლექსების სტაბილურობაზე. მაგრამ მათ აქვთ სპეციფიური გავლენა ქრომატინზე *in situ* და იწვევენ მხოლოდ ჰეტეროქრომატინის სტრუქტურის ნაწილობრივ დეკონდენსაციას, რაც

გამოიხატება სითბოს გადანაწილებით მე-2 და მე-3 ენდოთერმებს შორის (სურ.3).

ლიტერატურული მონაცემების შესაბამისად, (სურ. 2. 3.) მე-2 და მე-7 ენდოთერმა შეესაბამება ნუკლეოსომის შუაგულში მოთავსებული 10 ნმ-იანი ფიბრილის გახსნას(დენატურაცია 95°C) ხოლო მე-3 და მე-8 ენდოთერმა 306მ-იან ფიბრილაზე მიმაგრებული ბირთვული მატრიქსის მარყუჟის გახსნას (დენატურაცია 105°C) (Balbi C. M. L., et. al. 1988., Monaselidze J., et. al. 2002., Cavazza B., et. al. 1991. Touchette NA., Cole D. 1985), რაც დაკავშირებულია ნაწილობრივ მის დეჰეტეროქრომატინიზაცია-დეკონდენსაციასთან. ვუშვებთ, რომ დამზერილი რელაქსაცია ნაწილობრივ დაკავშირებულია ჰეტეროქრომატინის ცილებში ქრომოდომენების მოცილებასთან.

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად (Bannister A., et. al. 2001), მეთილტრანსფერაზები იწვევენ H3 ჰისტონში მე-9 პოზიციაში მყოფი ლიზინის მეთილირებას, რომელიც არის ნუკლეოსომის გულის შემადგენლობაში. ამის შედეგად ჰეტეროქრომატინში შემავალი პროტეინ 1-ის ქრომატინული დომენი HP1 უკავშირდება მეთილირებულ უბანს, კეტავს მას და იწვევს გენების გაჩუმებას. ვფიქრობთ, რომ პეპტიდები იწვევს მეტილტრანსფერაზებში მეთილის ჯგუფის

მოშორებას. ამის შედეგად ჰეტეროქრომატინ პროტეინ-1-ის ქრომოდომენი HP1 ვერ ცნობს ქრომატინზე მიბმულ ბოლოებს და ქრომატინის ეს ნაწილი რჩება დაუცველი. აქედან გამომდინარე ხდება ქრომატინის შესაბამისი უბნის გააქტიურება. ეს პროცესი კალორიმეტრულ მრუდზე დაიშორება ჰეტეროქრომატინის დენატურაციის ტემპერატურის და ენტალპიის შემცირებით.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, პეპტიდების მოქმედებით *in situ* მცირდება ჰეტეროქრომატინის თერმოდინამიკული სტაბილობა და გადადის დეკონდენსირებულ მდგომარეობაში, მაგრამ არაფერია ცნობილი პეპტიდებისა და დნმ-ის A-T და G-C წყვილების ურთიერთქმედების ხასიათზე. ამისათვის გამოვიყენეთ დ.ს.მ. მეთოდი სინთეზური poly[d(A-T)d(A-T)] სპირალიდან გორგალზე გადასვლის შესასწავლად.

კვლევის მთავარი მიზანი იყო პეპტიტ პროსტომაქსის ენერგეტიკული წვლილის დადგენა poly[d(A-T)d(A-T)-ს ღლობის ენტალპიაში და მოლეკულათშორის კავშირებზე. კერძოდ, ეს აგენტი იწვევს სტაბილიზაციას თუ დესტაბილიზაციას A-T წყვილებისას, ებმევა დნმ-ს კოვალენტურად თუ უფრო სუსტად ჰისტონების და პროტამინების მსგავსად.

სურ.4. გვიჩვენებს poly[d(A-T)d(A-T)-ს განზავებული ხსნარის სითბოშთანქმის მრუდს პროსტომაქსის

სხვადასხვა კონცენტრაციის თანაობისას. ჩანს, რომ მისი გადასვლა სპირალური ფორმიდან გორგლოვან ფორმაში ხდება ერთ საფეხურად. დნობის სითბო გაანგარიშებულია ბაზისურ ხაზსა და მრუდის ქვეშ არსებული ფართობის მიხედვით და ტოლია $6,4 \pm 0,4$; $6,9 \pm 0,4$; $6,7 \pm 0,4$ კ/გ, რომელიც დადასტურდა poly[d(A-T)d(A-T)-ს დნობის წინათ მიღებული შედეგებიდან (Andronikashvili E., et. al. 1974). პროსტომაქსის კონცენტრაციის გაზრდამ გამოიწვია დნობის მრუდის გადახრა უფრო მაღალ ტემპერატურაზე. ΔT_m გაიზარდა $2,4^\circ\text{C}$ -დან $5,6^\circ\text{C}$ -დე დნობის მრუდის უმნიშვნელო ცვლილებით. აქედან გამომდინარე poly[d(A-T)d(A-T)-ს დნობის ინტერვალის გაფართოება 100%-ით ზრდის T_m -ს 6°C -ით, ΔH_m -ის მნიშვნელოვანი ცვლილების გარეშე. მიღებული შედეგები დაიშორება R-ის მნიშვნელობის შუალედში $2,4 \times 10^{-3}$ დან $7,2 \times 10^{-3}$ მოლ პეპტიდამდე ერთ მოლ A-T ფუძეთა წყვილზე გაანგარიშებით. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ პროსტომაქსი უკავშირდება poly[d(A-T)d(A-T)-ს მოლეკულას ბოლოებში და წარმოქმნის წრიულ მოლეკულას, რომელიც დნება უფრო მაღალ ტემპერატურაზე და ფართო ტემპერატურულ ინტერვალში, ვიდრე თავისუფალი

poly[d(A-T)d(A-T). ეს მოსაზრება ეთანხმება ოპტიკური მეთოდებით მიღებულ შედეგებს წრიულ დნმ-ზე მისი ღლობისას ფიზიოლოგიურ პირობებში.

სურ.5 ასახავს თუ როგორ იზრდება მრუდის გადასვლის ტემპერატურა და ფართოვდება დნობის ინტერვალი პროსტომაქსის კონცენტრაციის გაზრდისას უმნიშვნელოდ.

სურ.6 ნაჩვენებია ინტაქტური და ვილონით დამუშავებული თიმუსის დნმ-ის სითბოშთანქმის მრუდი.

სურ.7-ის მიხედვით შეგვიძლია ვიმსჯელოთ კავშირი პეპტიდსა და პოლიმერს შორის არის კოვალენტური თუ უფრო სუსტი. უწყვეტი მრუდი შეესაბამება მრუდს, როცა პოლიმერის კონცენტრაცია ხსნარში არის 2×10^{-3} , ხოლო მოლარული თანაფარდობა პეპტიდ-პოლიმერისა $-7,2 \times 10^{-3}$. შემდეგ იმავე ხსნარში დამატებული იქნა პოლიმერის იგივე რაოდენობა, რამაც გამოიწვია დნობის მრუდის წანაცვლება დაბალი ტემპერატურისაკენ და მოლარული თანაფარდობა ხსნარში პეპტიდ-პოლიმერისა გახდა $2,4 \times 10^{-3}$. ეს ნიშნავს, რომ მათ შორის კავშირი არ იყო კოვალენტური და პოლიმერის კონცენტრაციის გაზრდამ გამოიწვია მათ შორის კავშირის გაწყვეტა და

პეპტიდის მოლეკულები გადანაწილდა პოლიმერის მოლეკულებზე.

ჩვენ ვფიქრობთ, რომ პროსტომაქსი ებმის poly[d(A-T)d(A-T)-ს არა კოვალენტური ბმით, წარმოქმნის წრიულ ჩაკეტილ სტრუქტურას, ზრდის თერმოსტაბილურობას და აფართოებს დნობის ინტერვალს.

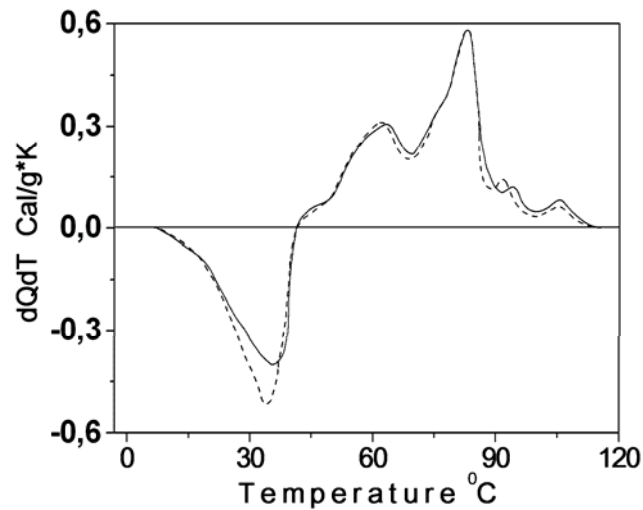
დასკვნები

1. კალორიმეტრული მეთოდის გამოყენებით განსაზღვრული იქნა ხანში შესული ადამიანის სისხლის ლიმფოციტების მეტაბოლური სითბო, რომელიც ტოლია $13,4 \pm 2,0$ ჯ/გ. ნაჩვენებია, რომ პეპტიდები დაბალი კონცენტრაციებისას იწვევენ ლიმფოციტების კულტურის სიცოცხლისუნარიანობის დონის გაზრდას 15-20%-ით
2. განსაზღვრულია ხანში შესული ადამიანის სისხლის ლიმფოციტების დენატურაციის სითბო, რომელიც შეესაბამება $26,5 \pm 3,0$ ჯ/გ მნიშვნელობას. ნაჩვენებია, რომ უჯრედული მემბრანები, ციტოპლაზმატური სტრუქტურები და ბირთვული მატრიქსები დენატურირდებიან $40-85^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურულ ინტერვალში, ხოლო გენეტიკური მასალა-ქრომატინი

80-120°C ტემპერატურულ ინტერვალში. კერძოდ, 105°C და 95°C-ზე.

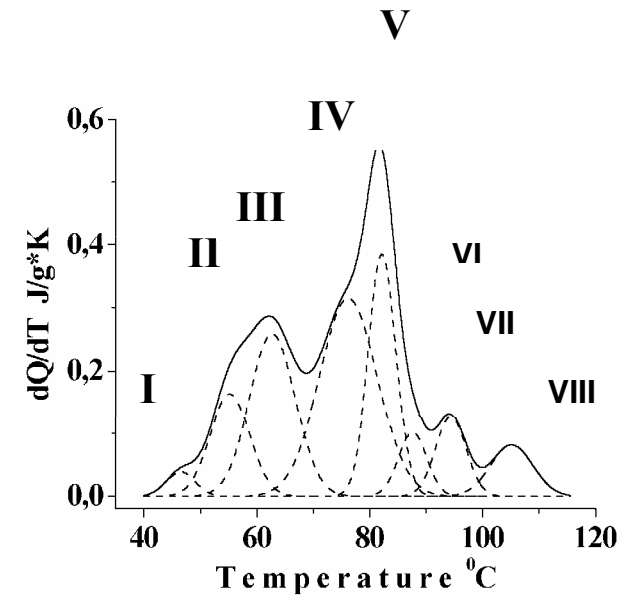
- ნაჩვენებია, რომ პეპტიდების მოქმედებისას ადამიანის სისხლის ლიმფოციტების უჯრედის კულტურაზე არ შეიმჩნევა მასში შემავალი მემბრანების, ციტოპლაზმატური ცილებისა და ბირთვული მატრიქსების სტრუქტურული ორგანიზაციის რაიმე მნიშვნელოვანი ცვლილება, დაიმზირება მხოლოდ სითბოს გადანაწილება ჰეტერო და აქტიური ქრომატინის პიკებს შორის. ეს ცვლილება დაკავშირებულია ქრომატინის ჰეტეროქრომატინიზებული უბნების დეჰეტეროქრომატინიზაციასთან, რის შედეგადაც ხდება 30მმ-იანი ფიბრილის დეკონდენსაცია და მისი გადასვლა 11მმ-იან ფიბრილაში.
- შემოთავაზებულია პეპტიდების მოქმედების სქემა. კერძოდ, პეპტიდები იწვევენ მეთილის ჯგუფის მოშორებას და ქრომატინის შესაბამისი უბნების გაქტიურებას, რომელიც დეკონდენსირდება და შემდგომში განიცდის დენატურაციას 95°C-ზე
- poly[d(A-T)d(A-T)]- პროსტომაქსის და დნმ-ვილონის თერმოდინამიკული პარამეტრების ანალიზის საფუძველზე დადგინდა, რომ პეპტიდები ებმებიან დნმ-ის მოლეკულებს და მის სინთეზურ ანალოგს

ბოლოებში არაკოვალენტური ბმით და ქმნიან ჩაკეტილ წრიულ სტრუქტურას.



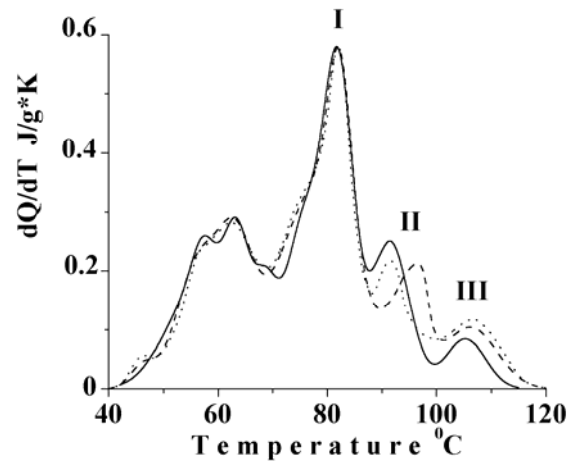
სურ.1 ხანდაზმული ადამიანის სისხლის ლიმფოციტების მიკროკალორიმეტრული ჩანაწერი პროსტომაქსის ზემოქმედების პირობებში. pH=7,1. გახურების სიჩქარე 0,1 °C/წთ-ში. უწყვეტი ხაზი – ლიმფოციტები დაუმუშავებელი პროსტომაქსით, უჯრედების რაოდენობა – 2×10^{-7} (მშრალი ბიომასა 4,8 მკ. დნმ – 0,095 მკ), წყვეტილი ხაზი - ლიმფოციტები დაუმუშავებული პროსტომაქსით, 0,05 მმლ/მლ უჯრედების რაოდენობა – $1,5 \times 10^{-7}$ (მშრალი ბიომასა 4,4 მკ. დნმ 0,092მკ)

რის. 1 Микροкалориметрическая запись теплоплавления лимфоцитов из обработанной простомаксом крови здоровых доноров преклонного возраста. pH=7,1. Скорость прогрева 0,1 °C/мин. Непрерывная линия – лимфоциты без добавления простомакса, количесиво клеток - 2×10^{-7} (сухая биомасса 4,8 мг. ДНК – 0, 095 мг), пунктир – лимфоциты с добавлением 0,05 мг простомакса, количесиво клеток - $1,5 \times 10^{-7}$ (сухая биомасса 4,4 мг. ДНК – 0, 092 мг)



სურ.2 სურათი (1) დაყოფილია გაუსის მრუდებად 40-120°C ტემპერატურულ ინტერვალში.

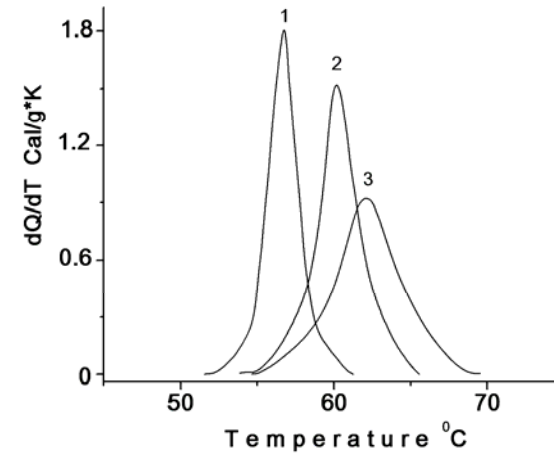
რის.2. Пики плавления в температурном интервале 40-120°C приведенные на Рис.1. разложены на Гауссовы составные.



სურ.3. ადამიანის სისხლის ლიმფოციტების მიკროკალორიმეტრული მრუდი გადათვლილი მშრალ წონაზე. მეორე და მესამე ენდოთერმები შეესაბამება ჰეტერო და აქტიური ქრომატინის სტრუქტურების გადანაწილებას ვილონის თანაობისას
 (- - -) --- ხანდაზმული ადამიანის სისხლის ლიმფოციტები;
 (—) — ხანდაზმული ადამიანის სისხლის ლიმფოციტები დამუშავებული ვილონით;
 (. . .) — ახალგაზრდა დონორის სისხლის ლიმფოციტები;

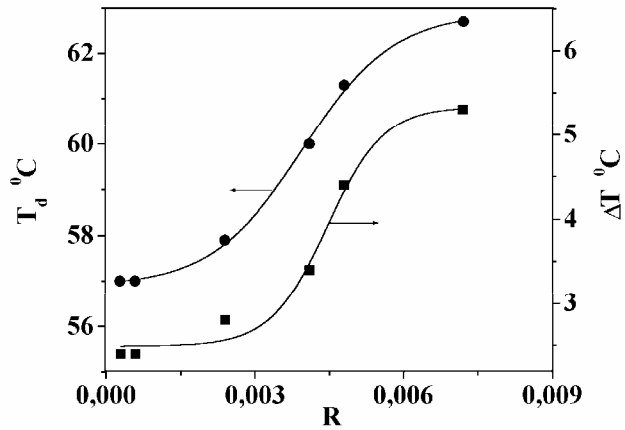
Рис.3 Кривые теплопоглощения культур лимфоцитов интактной и обработанной вилоном человеческой крови, пересчитанные на грам сухого веса. Вторая и третья эндотерма соответствуют перераспределению тепла гетеро- и активного хроматина.

(-----) соответствует интактным лимфоцитам пожилого донора,
 (—) соответствует кривой теплопоглощения лимфоцитов полученных из обработанной вилоном крови пожилого донора,
 (.....) соответствует кривой теплопоглощения лимфоцитов полученных из интактной крови молодого донора.



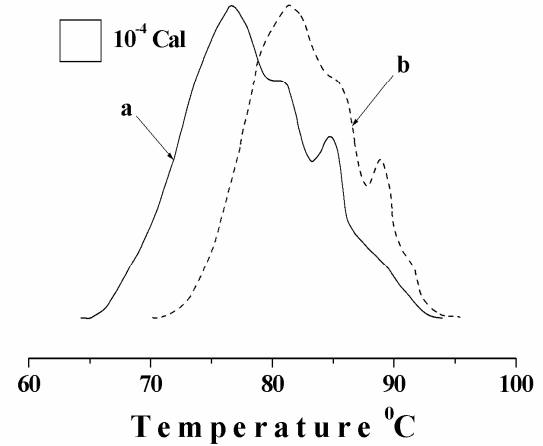
სურ.4 poly[d(A-T)d(A-T)]-ს განზავებული ხსნარის დნობის მიკროკალორიმეტრული მრუდები, გადათვლილი გრამ მშრალ წონაზე (20 μ m ფოსფატური ბუფერი, pH7.2, C=0.064 %), სხვადასხვა R-ის დროს. სადაც R არის პროსტომაქსის მოლური თანაფარდობა poly[d(A-T)d(A-T)]-ს ფუძეთა წყვილზე.
 (1) R=0; (2) R=2,4x10⁻³ (3) R=7,2x10⁻³

Рис. 4. кривые теплопоглощения разбавленного раствора poly[d(A-T)d(A-T)] с добавлением различных концентраций простомакса, пересчитанные на грам сухого веса (20 μ M фосфатного буфера, pH7.2, C=0.064 %), при различных R. R – молярное соотношение простомакса пересчитанное на количество пар оснований poly[d(A-T)d(A-T)].



სურ.5. T_{m} და ΔT_{m} -ის დამოკიდებულება $\text{poly}[d(A-T)d(A-T)]$ -ის ღლობისას, პროსტომაქსის სხვადასხვა R-ის დროს.

Рис.5. Зависимость величин $T_{пл}$ и $\Delta T_{пл}$ теплоплавления $\text{poly}[d(A-T)d(A-T)]$ - на R простомакса.



სურ.6 თიმუსის დნმ-ის დნობის კალორიმეტრული ჩანაწერი. 0.1 მოლი ფოსფატის ბუფერი, pH 7.0, $C_{DNA}=0.12\%$; გამზომი ამპულის მოცულობა 0.3ml, სკანირების სიჩქარე $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{წთ-ში}$.

a – დაუმუშავებელი ვილონით

b – დამუშავებული ვილონით

Рис.6. Кривые теплоплавления ДНК тимуса. 0.1 М фосфатный буфер, pH 7.0, $C_{ДНК}=0.12\%$; объем измерительной ампулы 0.3 мл, скорость сканирования $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$.

a – необработанная вилоном, b – обработанная вилоном

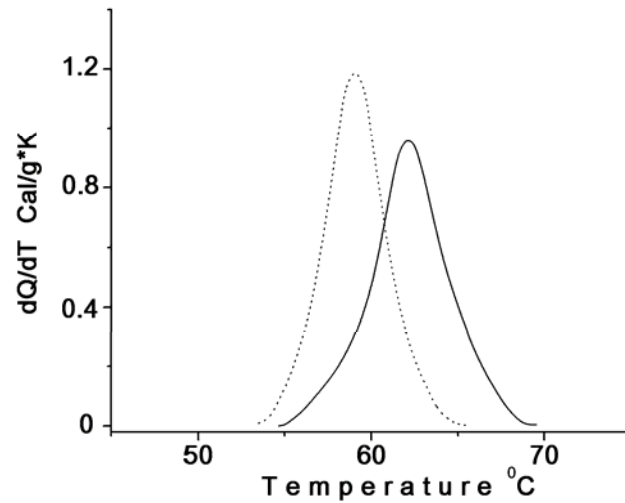
Влияние пептидного биорегулятора на
термостабильность хроматина (*in situ*) и ДНК (*in vitro*)

03.00.15 -Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертация на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Тбилиси - 2006



სურ.7. poly[d(A-T)d(A-T)]-ს დნობის მიკროკალორიმეტრული მრუდები პროსტომაქსის სხვადასხვა კონცენტრაციისას. 20 mM ფოსფატის ბუფერი, pH=7.2; უწყვეტი მრუდი - $R=7,2 \times 10^{-3}$ წყვეტილი მრუდი - $R=2,4 \times 10^{-3}$.

რის.7. Кривые плавления poly[d(A-T)d(A-T)] с добавлением простомакса при различных R . (20 μ M фосфатного буфера, pH7.2). Непрерывная линия - $R=7,2 \times 10^{-3}$, Пунктир - $R=2,4 \times 10^{-3}$.

Работа выполнена в Институте Физики Э. Андроникашвили

Научный руководитель:

Доктор физико-математических наук

Монаселидзе Джамлет Ревазович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор **Дж. Ратиани**

кандидат физ-мат наук

В. Сохадзе.

Защита диссертации состоится “_____” _____ 2006 г. на заседании Диссертационного Совета Тбилисского Университета. по направлению генетики
В. 03. 15. №7

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (0147, Тбилиси, ул. университета 2)

Автореферат разослан “_____” 2006 года

Ученый секретарь

Диссертационного Совета,

доктор биологических наук

Т. Джохадзе

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В нейробиологии и медицине большое внимание уделяется в настоящее время цитомедиам-биорегуляторным пептидам, поддерживающим структурный и функциональный гомеостаз клеточных популяций.

На основе цитомединов создан новый класс препаратов, содержащих комплекс полипептидных фракций. К таким препаратам относятся извлеченные из тканей крупного рогатого скота комплексные пептиды: тималин, полученный из вилочковой железы, кортексин и эпителиамин, полученные соответственно из коры и эпифиза головного мозга, кардиалин – из сердца, простатилен – из предстательной железы, ретиналамин – из сетчатки. Синтезированы подобные им по действию короткие пептиды: вилон, тимоген, кортаген, эпителион, простомакс. Некоторые из пептидных препаратов используются в клинике для лечения ряда острых и хронических заболеваний, при нарушениях иммунного статуса, в гериатрической практике.

Проведенные исследования впервые показали тканеспецифическое действие пептидов в органотипической культуре тканей. Регуляторное действие комплексных и синтетических пептидов на структурный и функциональный гомеостаз клеточных популяций в органотипических

культурах различных тканей крыс молодого, зрелого и старого возраста проявляется в их стабилизирующем действии на морфологическую сохранность тканей и усилении процессов клеточной и внутриклеточной форм регенерации.

Эти экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности целенаправленного применения как комплексных, так и синтетических пептидов для профилактики и лечения возрастной патологии органов и тканей, что создает основу для применения их в гериатрической практике.

Данных о механизме воздействия синтетических биорегуляторов, вилона и простомакса, на термодинамическую стабильность генетического материала - хроматина и ДНК *in vitro* и *in situ*, в литературе не имеется, поэтому изучение этих вопросов имеет как теоретическое, так и практическое значение.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ. Целью данной работы являлось изучение влияния биорегуляторных пептидов (простомакса и вилона) на термодинамические параметры эухроматина и гетерохроматина лимфоцитов перифериальной крови клинически здоровых пожилых доноров, а также на параметры тепловой денатурации тимуса ДНК в физиологических условиях при помощи дифференциального сканирующего микрокалориметра. Для изучения влияния биорегуляторных

пептидов на генетический материал *in situ* и *in vitro* необходимо было изучить следующие вопросы:

1. Культивирование клеток стандартным методом (Moorhead et al. 1960).
2. С помощью дифференциального сканирующего микрокалориметра (ДСК) изучить влияние пептидов на метаболическую и денатурационную теплоты, мембран, цитоплазматических белков и структурной организации ядерного матрикса *in situ*.
3. Изучить влияние пептидов на параметры денатурации гетерохроматина *in situ* методом ДСК.
4. Определить термодинамические параметры синтетического полимера poly[d(A-T)d(A-T)], комплекса полимер-пептид и ДНК тимуса в разбавленных растворах методом ДСК.

Научная новизна и практическая значимость работы.

Методом ДСК было изучено влияние синтетических пептидов (вилона и простомакса) на термодинамические параметры синтетического полимера poly[d(A-T)d(A-T)], ДНК тимуса и культуры лимфоцитов, выделенных из перифериальной крови здоровых доноров в возрасте 70-80 лет. С помощью этого метода впервые было показано как влияют пептиды на параметры плавления полимера poly[d(A-T)d(A-T)] и ДНК тимуса. Также впервые было показано их влияние на

структурные изменения хроматина *in situ*. Было отмечено, что у пациентов преклонного возраста малые концентрации пептидов, вызывают переход гетерохроматиновых фракций в активный хроматин. Было высказано предположение, что этот переход связан с разворачиванию (деконденсацией) гетерохроматиновых участков хромосом, что обеспечивает возможность активации хроматина. На основе полученных данных стало возможным определение модификации хроматина и возможность активации репаративных систем, что в перспективе поможет в управлении этими процессами. Вышесказанное имеет как теоретическое, так и практическое значение.

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в трех научных статьях и в одном тезисе.

Апробация. Результаты работы докладывались и рассматривались:

- В Институте физики им. Э. Андроникашвили на семинаре в лаборатории Физики Биологических Систем (6 июня, 2006г.)
- В Тбилисском Государственном Университете имени И. Джавахишвили на заседание диссертационного комитета, генетика (В.03.15. №7) (2 октября, 2006)

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из: введения, литературного обзора, описания материалов и

методов, полученных данных и их рассмотрения, выводов, списка цитируемой литературы содержащая 128 наименований, диссертация напечатана на 95 страницах и содержит 11 рисунков.

Краткое описание работы

Введение. Приводится общая характеристика работы, обоснована актуальность темы, сформулирована цель исследования и поставлены конкретные задачи. Также указана новизна и практическая значимость данных исследований. В литературном обзоре описывается биологическая активность биорегуляторных пептидов, экспериментальное и клиническое изучение их влияния.

Материалы и методы: Приводится описание изучаемых объектов, а также методика исследования.

Экспериментальная часть содержит полученные результаты. Модификация (ДСК) дает возможность определения термодинамических параметров генетического материала при низких скоростях прогрева .

На рис. 1 показана микрокалориметрическая запись эффектов прогрева лимфоцитов человеческой крови. В температурном интервале 8-40 °С дается интенсивный ассиметричный экзотермический пик с максимумом при 37 °С. Выделенное тепло (-Q) вычислено по площади ограниченной контуром кривой и базисной линией и

соответствует $13,4 \pm 2,0$ Дж/гр сухой биомассы. Выделение тепла происходит вследствие того, что до 40°C клетка является живой и в ней происходят биохимические процессы, которые достигают максимума примерно при 37°C . После 40°C происходит процесс денатурация клетки. Были зарегистрированы четыре пика и три плечи в температурном интервале $40-120^\circ\text{C}$. Интегральное тепло вычислено по площади, ограниченной эндотермой равно $26,5 \pm 3,0$ Дж/гр сухой биомассы. Систематические биокалориметрические измерения показывают, что цитоплазматические структуры и ядерные матриксы денатурируют в температурном интервале $40-85^\circ\text{C}$, а хроматин в интервале $80-120^\circ\text{C}$ (Andronikashvili E., et. Al. 1983., Monaselidze J.R., et. Al. 1981 Lepock J.R., et. Al. 1995). Для определения того, какая из стадий денатурации соответствует хроматину, полученные эндотермы были разложены на Гауссовы кривые и мы получили 8 температурных переходов (пика) рис.2. Тепло денатурации Q_d вычислено по 7-ой и 8-ой эндотермам составляет $90,5 \pm 9,0$ Дж/гр грамма ДНК. Это значение соответствует Q_d раствора хроматина $75,5 \pm 7,5$ Дж/гр грамма ДНК в пределах экспериментальной погрешности (Andronikashvili E., et. Al. 1983., Balbi C. M. L., et. Al. 1988., Monaselidze at.al. 2006). Сравнение кривых теплопоглощения показывает, что введение пептида в культуру клетки вызывает изменение профиля

кривой лишь в температурном интервале $80-120^\circ\text{C}$. В частности, при воздействии простомаксом происходит смещение 7-ого и 8-ого пиков к более низким температурам на $2,9$ и 1°C по сравнению с необработанной клеткой. На рис. 2 наблюдается перераспределение тепла между 7-ой и 8-ой эндотермами. Тепло, поглощенное на 7-ой эндотерме растет, в то время, как тепло, соответствующее 8 эндотерме убывает. Полное тепло перехода ($Q_d^{\text{VII}} + Q_d^{\text{VIII}}$) остается постоянным. Параметрами денатурации для этого перехода являются:
 $T_d^{\text{VII}} = 94,4 \pm 0,05^\circ\text{C}$ $T_d^{\text{VIII}} = 105,1 \pm 0,05^\circ\text{C}$
 $Q_d^{\text{VII}} = 50,8 \pm 5,0$ Дж/гр ДНК $Q_d^{\text{VIII}} = 44,9 \pm 4,9$ Дж/гр ДНК

На рис.3 показаны кривые теплопоглощения клеточных культур, интактных и обработанных вилоном, (-----) соответствует интактным клеткам пожилого донора, (___) соответствует клеточной культуре пожилого донора обработанной вилоном, а (.....) кривой теплопоглощения молодого донора. Параметрами денатурации являются:
 $T_d(\text{I}) = 82^\circ\text{C}$ $Q_d(\text{I}) = 33,8 \pm 3,8$ Дж/гр
 $T_d(\text{II}) = 95^\circ\text{C}$ $Q_d(\text{II}) = 30,2 \pm 3,2$ Дж/гр
 $T_d(\text{III}) = 106^\circ\text{C}$ $Q_d(\text{III}) = 28,0 \pm 2,8$ Дж/гр
 $Q_d(\text{I, II, III}) = 92,0 \pm 9,2$ Дж/гр, что соответствует ранее полученным данным (Monaselidze at. al. 1981., Cavazza at. al. 1991).

Низкотемпературные кривые, температуры перехода которых $46 \pm 1,0$; $55 \pm 1,0$; $63 \pm 1,0$ °C; по-видимому соответствуют денатурации мембран, ядерного матрикса и цитоплазматических структур (Monaselidze et al. 1981., Cavazza et al. 1991).

Можно утверждать, что при добавлении как простомакса, так и вилона, профиль кривых в температурном интервале 40-80 °C ,значительно не меняется. т.е. они не влияют на стабильность комплекса протеин-мембрана, но в этом интервале на 10% убывает (Q). Они оказывают специфическое влияние на хроматин *in situ* и вызывают лишь частичную денатурацию структуры гетерохроматина. Практически происходит перераспределение тепла между 2-ой и 3-ой эндотермами рис3. Согласно литературным данным 2-ая и 7-ая эндотермы соответствуют раскрытию 10 нм-ой фибриллы (денатурация 95 °C), размещенной внутри нуклеосомы, а 3-я и 8-ая эндотермы соответствуют раскрытию петли ядерного матрикса (денатурация 105 °C) (Balbi S. M. L., et al. 1988., Monaselidze J., et al. 2002., Cavazza B., et al. 1991. Touchette NA., Cole D. 1985), закрепленного на 30 нм-ой фибрилле, что частично связано с его дегетерохроматизацией – деконденсацией. Допускается, что наблюдаемая релаксация частично связана с удалением хромодоменов в гетерохроматиновых белках.

Согласно литературным данным (Bannister A., et al. 2001), метилтрансферазы в НЗ гистоне вызывают метилирование лизина, находящегося в 9-ой позиции и входящего в состав ядер нуклеосомы. В результате, 1-ый хроматиновый домен НР1 гетеропротеина связывается с метилированным участком, закрывает его и вызывает «умолкание» генов. Мы считаем, что пептиды в метилтрансферазах вызывает удаление метиловой группы. В результате этого хромодомен НР1 гетерохроматин протеина 1 не узнает привязанных к хроматину концов и эта часть хроматина остается незащищенной. Вследствие этого наблюдается увеличение активности соответствующего участка хроматина и происходит его денатурация при 95 ° C, что подтверждается экспериментально.

Как уже было отмечено, посредством пептидов меняется структура хроматина, переходящая в деконденсированное состояние. Однако, ничего неизвестно относительно характера взаимодействия А-Т и G-С пар ДНК.

Мы применили метод ДСМ для изучения перехода синтетического poly[d(A-T)d(A-T)] со спирали в клубок. Основными задачами были во-первых исследование энергетического вклада пептид простомакса в суммарную энтальпию плавления poly[d(A-T)d(A-T)] и внутримолекулярную связь. И во-вторых вызывает ли этот

агент стабилизацию или дестабилизацию А-Т пар, связывается ДНК ковалентно или более слабой связью, подобно гистонам и протаминам.

На рис. 4. показана кривая теплопоглощения разбавленного раствора poly[d(A-T)d(A-T)] при различных концентрациях простомакса. Видно, что его переход из спиральной формы в клубкообразную, происходит одноступенчато. Теплота плавления, вычисленная по площади, заключенной между базисной линией и контуром кривой, равна $6,4 \pm 0,4$; $6,9 \pm 0,4$; $6,7 \pm 0,4$ кал/гр. Это подтверждается результатами, полученными ранее для теплоты плавления poly[d(A-T)d(A-T)] (Andronikashvili E., et al. 1974). Увеличение концентрации простомакса вызвало смещение кривой плавления к более высокой температуре. ΔT_m возросло с $2,4$ °С до $5,6$ °С при незначительном изменении кривой плавления. Исходя из этого, увеличение интервала плавления poly[d(A-T)d(A-T)] на 100 °С увеличивает T_m на 6 °С, без значительного изменения ΔH_m . Полученные результаты наблюдаются в интервале значений R от $2,4 \times 10^{-3}$ до $7,2 \times 10^{-3}$ моль пептидов, вычисленные на 1 моль А-Т пар оснований. Было высказано предположение, что простомакс связывается с молекулой poly[d(A-T)d(A-T)] на концах и образует кольцевую молекулу, которая плавится при более высокой температуре и

в более широком температурном интервале, чем свободная молекула poly[d(A-T)d(A-T)].

Рис.5 отражает рост температуры перехода кривой и расширение интервала плавления с незначительным ростом концентрации простомакса.

На рис.6 показаны кривые теплопоглощения интактной и обработанной вилоном ДНК тимуса.

По приведенному рисунку можно судить, является ли связь между пептидом и полимером ковалентной или более слабой. Сплошная линия соответствует кривой, когда концентрация полимера в растворе составляет 2×10^{-3} , а молярное соотношение пептид-полимер - $7,2 \times 10^{-3}$. В дальнейшем, в тот же раствор было добавлено прежнее количество полимера, что вызвало смещение кривой плавления к более низким температурам и молярное соотношение пептид-полимер стало равным $2,4 \times 10^{-3}$. Это означает, что между ними не было ковалентной связи, а рост концентрации полимера вызвал разрыв связи между ними и молекулы пептида перераспределились на молекулах полимера.

Мы считаем, что простомакс связывается с poly[d(A-T)d(A-T)] не ковалентной связью, образует замкнутую кольцевую структуру, увеличивает термостабильность и расширяет интервал плавления.

ВЫВОДЫ

1. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии у пожилых людей было исследовано метаболическое тепло лимфоцитов крови, которое равно $13,4 \pm 2,0$ Дж/г. Показано, что при низкой концентрации простомакса происходит рост жизненного уровня культуры лимфоцитов на 15-20%.
2. Определено тепло денатурации лимфоцитов выделенных из крови пожилых людей, которое соответствует $26,5 \pm 3,0$ Дж/г. Показано, что клеточные мембраны, цитоплазматические структуры и ядерные матриксы денатурируются в температурном интервале $40-85$ °С, а генетический материал – хроматин в температурном интервале $80-120$ °С, а именно при 105 °С и 95 °С.
3. Показано, что при воздействии пептидов на культуру лимфоцитов человеческой крови не наблюдается никакого влияния на структурную организацию мембран, цитоплазматических белков и ядерного матрикса. Только отличается распределение тепла между пиками гетеро и активного хроматина. Это изменение связано с дегетерохроматинизацией гетерохроматинизированных участков хроматина, результатом чего является раскрытие 30нм-ых фибрилл и переход в 11нм-ые фибриллы.

4. Представлена схема действия пептидов. В частности, пептиды вызывают изъятие метила из метилтрансферазы и повышение активности в соответствующих участках хроматина, который деконденсируется и впоследствии денатурирует при 95 °С.
5. На основе анализа термодинамических параметров $\text{poly}[(\text{A-T})\text{d}(\text{A-T})]$ - простомакса и ДНК-вилона было показано, что пептиды связывают молекулы ДНК и ее синтетический аналог на концах нековалентными связями и образуют замкнутую кольцевую структуру.

დისერტაციაში შესული პუბლიკაციები: Публикации

1. **Meskhi T.**, Barbakadze Sh., Gorgoshidze M., Kiladze M., Chkhaidze M., Bablishvili N., INFLUENCE OF BIOREGULATOR VILON ON VITAL FUNCTIONS OF BIOPOLIMERS AND CHROMATINS *IN SITU*. Proc. of the Geo. Acad. of Scie., Biol Ser. B, V.4, N.3, p.p 30-33 (2006)
2. G.Majagaladze, D.Khachidze, Sh.Barakadze, B.Birkaia, **T.Meskhi**, M.Chkhaidze, J.Monaselidze. Microcalorimetric Study of poly[d(A-T) d(A-T)] at Very Low Concentrations of Peptide Bioregulator Prostomax. Bull. Georg. Acad. Sci. V. 172, N. 3, p.p. 546-549, (2005).
3. **T.Meskhi**, D.Khachidze, Sh.Barakadze, G.Majagaladze, M.Gorgoshidze, J. Monaselidze, T.Lezhava, N.Tadumadze. "Effect Prostomax on Human Lymphocyte Heterochromayin *in situ*". Biofizika, v. 49(6), 978 of the Peptide Bioregulator– 980, (2004).
4. J. Monaselidze, T. Jokhadze, N. Bablishvili, **T. Meskhi**. "Definition of NiCl₂ and MnCl₂-induced Chromatin Condensation Changes by the Method of Differential ScanningCalorimetry". Conference on "Actual Issues of Genetics", Genetics Department, Tbilisi State University, May, (1999).

შპს “იოტა”
თამარაშვილის ქ. № 6
ტირაუი 50