



საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის
სახელობის ქართული უნივერსიტეტი

მალხაზ ვახანია

მიმართულება - 05 საბუნებისმეტყველო მეცნიერებები
დარგი/სპეციალობა - 0504 ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელი
მეცნიერებანი

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი ნაშრომი

ალოეს (*Aloe aristata*) ორგანოებიდან ლექტინების
გამოყოფა, მათი ფიზიკურ-ქიმიური დახასიათება და
ფუნქცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები
პროფ. გიორგი ალექსიძე
პროფ. ნუგზარ ალექსიძე

თბილისი 2015

ს ა რ ჩ ე ვ ი

ანოტაცია.....	7
Annotation.....	10
შესავალი.....	12
I. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	16
1.1. ლექტინების ზოგადი დახასიათება.....	16
1.2. ლექტინური ცილების ბიოქიმიური დახასიათება.....	21
1.2.1. ლექტინების სტრუქტურული ორგანიზაცია.....	21
1.2.2. ნახშირწყალ-დამაკავშირებელი საიტი.....	23
1.3. ლექტინების ბიოლოგიური აქტიურობა.....	26
1.3.1. ლექტინების გავრცელება და განაწილება მცენარეებში.....	26
1.3.2. ლექტინების როლი ფიტოიმუნიტეტში.....	28
1.3.3. ლექტინების როლი სიმბიოზში.....	32
1.3.4. ლექტინების ციტოტოქსიკური აქტიურობა.....	33
1.3.5. ლექტინების მიტოგენური აქტიურობა.....	36
1.4. ლექტინის გავლენა იმუნურ სისტემაზე.....	40
1.4.1. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი.....	40
1.4.2. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინით კომპლემენტის სისტემის გააქტივება.....	41
1.5. ადამიანის ორგანიზმში არსებული ზოგიერთი ლექტინის როლი დიაგნოსტიკაში.....	48
II. ექსპერიმენტული ნაწილი.....	48
2.1. კვლევის ობიექტი.....	48
2.2. კვლევის მეთოდები.....	52
2.2.1. ლექტინური აქტიურობის განსაზღვრა ჰემაგლუტინაციის მეთოდით.....	52
2.2.2. ლექტინური მაჩვენებლების გამოთვლა.....	53
2.2.3. ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების მომზადება.....	54
2.2.4. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა.....	55

2.2.5.	ლექტინების ნახშირწყლების მიმართ სპეციფიკურობის განსაზღვრა.....	56
2.2.6.	ლექტინების თერმოსტაბილურობის შესწავლა.....	56
2.2.7.	ლექტინების ჰემაგლუტინაციური აქტივობის H ⁺ იონების კონცენტრაციაზე დამოკიდებულების შესწავლა.....	57
2.2.8.	ლექტინების ექსტრაქცია.....	57
2.2.9.	ცილის ფრაქციონირება გელ-ფილტრაციის მეთოდით.....	58
2.2.10.	აფინური ქრომატოგრაფია.....	59
2.2.10.1.	გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებული ერთროციტების ქრომატოგრაფიული სვეტის მომზადება.....	59
2.2.10.2.	სადიალიზო G10 სვეტი.....	60
2.2.11.	ცილების ანალიზური ელექტროფორეზი.....	60
III.	მიღებული შედეგები და მათი განხილვა.....	61
3.1.	ალოეს Aloe Aristata-ს ორგანოებიდან (ფოთოლი, ფესვი, ბოლქვი) ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია.....	61
3.1.1.	ალოეს ორგანოებიდან მიღებული ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა.....	62
3.1.2.	ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.....	64
3.1.3.	ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	68
3.1.4.	β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	69
3.1.5.	ალოეს ფოთლის ლექტინის სპეციფიკურობა ნახშირწყლების მიმართ.....	70
3.1.6.	ალოეს ფოთლის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან.....	71
3.1.7.	ალოეს ფოთლის ლექტინის გავლენა ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ნატიური ერთროციტებზე.....	73
3.1.8.	ალოეს ფოთლის ლექტინის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერთროციტებზე.....	74
3.1.9.	ალოეს ფოთლიდან გამოყოფილი ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატის დალექვის მეთოდით.....	75

3.1.10.	ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ნალექის ლექტინური აქტიურობა.....	75
3.1.11.	ალოეს ფოთლის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი.....	78
3.1.12.	ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობა იარუსების მიხედვით.....	81
3.1.13.	ალოეს ფოთლის ფიზიოლოგიურად განსხვავებულ ნაწილებში ლექტინების განაწილება.....	84
3.1.14.	ლექტინის განაწილება ალოეს ყვავილის ცალკეულ ნაწილებში და მათი ცილების ქრომატოგრაფია.....	89
3.1.15.	მექანიკური დაზიანების შედეგად დეჰიდრატირებული ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობა.....	97
3.1.16.	ალოეს ფოთლის დაზიანების შემდეგ წარმოქმნილი ქსოვილის ლექტინური აქტიურობა.....	100
3.1.17.	გაცივნის პირობებში მყოფი ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა.....	101
3.1.18.	მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	103
3.1.19.	მზის რადიაციის და მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	107
3.1.20.	ულტრაიისფერი რადიაციის გავლენა ალოეს ფოთლის ცილებზე და ლექტინის აქტიურობაზე.....	112
3.1.21.	ალოეს ფოთლის ლექტინების კონცენტრაციის ცვლილება 8 დღიანი სიბნელის პირობებში.....	115
3.2.	ალოეს ბოლქვიდან ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია.....	117
3.2.1.	ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.....	117
3.2.2.	ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	119
3.2.3.	β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	120
3.2.4.	ალოეს ბოლქვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა.....	121
3.2.5.	ალოეს ბოლქვის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან.....	122
3.2.6.	ალოეს ბოლქვის ლექტინის გავლენა ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე.....	123

3.2.7.	ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერითროციტებზე.....	124
3.2.8.	ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით.....	125
3.2.9.	ალოეს ბოლქვის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი.....	126
3.2.10.	ალოეს ბოლქვში ლექტინის განაწილება.....	129
3.2.11.	გაცივნის პირობებში მყოფი ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა.....	130
3.2.12.	მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	132
3.3.	ალოეს (<i>A.aristata</i>) ფესვიდან ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია.....	133
3.3.1.	ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.....	133
3.3.2.	ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	134
3.3.3.	β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	135
3.3.4.	ალოეს ფესვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა.....	136
3.3.5.	ალოეს ფესვის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან.....	136
3.3.6.	ალოეს ფესვის ლექტინის გავლენა ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე.....	137
3.3.7.	ალოეს ფესვის ექსტრაქტის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერითროციტებზე.....	138
3.3.8.	ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით.....	139
3.3.9.	ალოეს ფესვის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი.....	141
3.3.10.	ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, ფესვის საწყის და ბოლო ნაწილებში.....	143
3.3.11.	გაცივნის პირობებში მყოფი გავლენა ალოეს (<i>Aloe aristata</i>) ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	144
3.3.12.	მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.....	146

4.	ალოეს (Aloe aristata) ორგანოების ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტების გავლენა ბიფიდობაქტერიების გვარის სხვადასხვა სახეობებზე.....	149
5.	ალოედან (Aloe aristata) ნუკლეინის მჟავების გამოყოფა.....	156
6.	დასკვნები.....	160
	ლიტერატურა.....	164

]

ანოტაცია

სადღეისოდ მსოფლიოს წამყვან ქვეყნებში მცენარეული ლექტინები ფართოდ გამოიყენება ბიოლოგიის, სოფლის მეურნეობის და მედიცინის ძირითადი პრობლემების გადასაჭრელად. უჯრედის ზედაპირზე არსებულ გლიკოკონიუგატებთან დაკავშირებისას ლექტინები ხშირად მონაწილეობენ უჯრედშიგა მექანიზმების რეგულაციაში.

კლინიკური ანალიზის დროს ლექტინები უზრუნველყოფენ ძალზე ზუსტ დიაგნოსტიკას ისეთ პათოლოგიებში, რომლის საფუძველი არის ორგანიზმში გლიკობიოლოგიური მექანიზმების დარღვევა. გარდა ამისა ლექტინებს გააჩნიათ იმუნომოდულაციური, ჰორმონების მსგავსი მოქმედება, სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება და სხვა.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, მცენარეული წარმოშობის ახალი ლექტინების გამოყოფა, იდენტიფიკაცია და მათი ბიოლოგიური როლის შესწავლა კვლავ ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემად რჩება.

აღნიშნულიდან გამომდინარე მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა მცენარე ალოეს ერთ-ერთი სახეობის (*Aloe aristata*) ლექტინები.

სადისერტაციო ნაშრომში დასაბუთებულია პრობლემის აქტუალობა, განხილულია კვლევის მიზანი და ამოცანები.

კვლევების შედეგად დადგენილია, მცენარე ალოეს (*Aloe aristata*) ორგანოებიდან გამოყოფილი ლექტინების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები. გამოვლენილია, მათი დამოკიდებულება წყალბადიონთა კონცენტრაციის მიმართ, განსაზღვრულია მათი ნახშირწყალსპეციფიკურობა, აგლუტინაციური დამოკიდებულება ცხოველების და ადამიანის ABO სისხლის ჯგუფების ერითროციტების მიმართ.

შესწავლილია *Aloe aristata*-ს ორგანოებში ლექტინების განაწილება, მათი დამოკიდებულება სხვადასხვა აბიოტური ფაქტორებისადმი.

გამოყენებულია ცილების გასუფთავების სხვადასხვა მეთოდები ქრომატოგრაფია, სადიალიზო სვეტები, მათ შორის გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებული ერითროციტების ქრომატოგრაფიული სვეტი. ცილების ანალიზური

ელექტროფორეზით დადგენილ იქნა ლექტინების მოლეკულური მასა, როგორც ფოთლის ისე ბოლქვის. ელექტროფორეზის შედეგად ფოთლის ლექტინურ ელექტროფორეგრამაზე გამოვლინდა ლექტინური აქტიურობის ცილის სამი ფრაქცია მოლეკულური მასით: 56.2; 12.7 და 12.2 kDa. ბოლქვის ელექტროფორეგრამაზე მკვეთრად გამოიხატა ლექტინების სამი ფრაქცია მოლეკულური მასით: 53.2; 39.6 და 33.7 kDa. ალოეს ფესვის შემთხვევაში ელექტროფორეზით მიღებულ იქნა ფესვის ზოგადად ცილების ფრაქციები, სულ გამოვლინდა 11 ფრაქცია.

ჩატარებული ექსპერიმენტების საფუძველზე, გამოიკვეთა ალოეს ფოთლის ლექტინის საყრდენი ცილის როლი. ლექტინური აქტიურობით ყველაზე მეტად გამოირჩევა მცენარის მაგარი ნაწილები: კუტიკულა, ყვავილის ღერო, ყვავილის ყუნწი, მტვრიანების ფილამენტები, ბუტკო, ხოლო მცენარის ფოთლის რბილი ნაწილი ლექტინს უმნიშვნელო რაოდენობით შეიცავს, სამტვრე პარკში კი ლექტინური აქტიურობა არ ვლინდება.

აქედან გამომდინარე, ლექტინებით ხორციელდება საყრდენი ფუნქცია, რაც ხელს უწყობს მცენარეს ორგანოების სიმტკიცის ფორმირებას და გარემოს მავნე ფაქტორების მიმართ გამძლეობას.

ალოეს ფოთლში ლექტინის აქტიურობა მატულობს უი. სხივების ზემოქმედებიდან 30 წუთის შემდეგ, ალოეს ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტი კი უი. სხივების მოქნელებიდან 60 წუთის განმავლობაში უცვლელად, მაღალ დონეზე ინარჩუნებს ლექტინურ აქტიურობას.

ალოეს ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტები ახდენენ ბიფიდობაქტერიების გვარის სახეობების აგლუტინაციას. ექსპერიმენტები ჩატარებული იქნა ბიფიდობაქტერიების ოთხ სახეობაზე: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. animalis lactis* და *B. breve*. ცდების შედეგად გაირკვა, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტი გამოირჩევა ძლიერი აგლუტინაციური თვისებებით ბიფიდობაქტერიების, განსაკუთრებით *B. animalis lactis*-ის მიმართ. ბოლქვის ექსტრაქტი ასევე ახდენს ბიფიდობაქტერიების აგლუტინაციას, თუმცა უფრო სუსტად, ვიდრე ფოთლის ექსტრაქტი, რაც შეეხება ფესვის ექსტრაქტს, ის გაცილებით სუსტად აკავშირებს ბიფიდობაქტერიებს, ვიდრე ალოეს ფოთლის და ბოლქვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტები.

მცენარე ალოედან გამოყოფილი იქნა ნუკლეინის მჟავები, რომელიც სრულად აკმაყოფილებს სისუფთავის მხრივ დადგენილ ნორმებს.

Annotation

This PhD thesis identifies and studies the lectins of an aloe plant, namely *Aloe Aristata*.

Plant lectins today are extensively used in bioscience, agriculture and medicine in developed countries. After binding to the surface receptors lectins often take part in the intracellular regulatory mechanisms. In clinical diagnostics, for example, lectins are used as the aid in the diagnostics of diseases resulting from deficiencies of glycoprotein and glycolipid regulation. Lectins have been observed to have hormone-like behavior and immunomodulatory, as well as anti-cancer properties. Therefore, the identification and studying plant lectins still remain of interest.

After a long research of *Aloe Aristata* lectins, we defined their physical and chemical properties, their relationship with the pH, their carbohydrate grouping and the ability to bind animal and human blood antigens. We also studied the distribution of lectins in the organs of the *Aloe Aristata* plant and their relationship with different abiotic factors.

In this research we used different methods of protein purification-chromatography and dialysis columns, including fixated red blood cell columns. By means of analytical electrophoresis, we were able to determine the molecular weight of these lectins.

Based on the experiments, aloe's leaf lectin's structural role has been ascertained. It became clear that the toughest parts of the plant are richer in plant lectins: the cuticulum, flower pestel, pollen filaments etc. Accordingly, the softer parts of the plant body contain insignificant amounts of lectins. Lectins, therefore, have a pronounced structural function by which they protect the plant organs and define the plants resistance to negative environmental factors.

Electrophoresis of *A. aristata* leaf proteins has revealed four fractions with lectin activity, with molecular weight 56.2, 12.7 and 12.2kDa.

Electrophoresis of *A. aristata* bulb proteins revealed three fractions with intensive lectin activity. Their molecular weights are 53.19, 39.57 and 33.69 kDa.

In case of *A. aristata* roots 11 fractions of protein were revealed with following molecular weights: 63.8; 50; 45.3; 35.53; 34.48; 32.23; 27.84; 25.25; 24.05; 15.88; 13.7 kDa.

According to experimental results it was concluded that *A. aristata* lectins are localized mainly in leaf cuticule, stem, flower petiole, anther filaments and pestle, while in leaf meat and pollen sacs lectin activity was absent. High lectin activity was detected in the cortex, formed at the place of wounding. Accordingly it may be supposed that leaf lectins of *A. aristata* are supporting proteins, responsible for its hardness and protect flower against unfavorable influence of abiotic factors. As for root and bulb lectins, their resistance to high temperature is responsible for plant survival at high temperature conditions. *A. aristata* possesses different mechanisms against high environmental temperature, and lectin-active proteins are one of them.

Extracts with lectin activity, obtained from *A. aristata* organs, revealed some effect on the representatives of bifidobacteria genus. Strong agglutination ability has revealed leaf extract. It has affected all four representatives of bifidobacteria (*B.bifidum*, *B.longum*, *B.A.lactis*, *B. breve*). Bulb extract showed relatively moderate effect (though enough strong agglutination was mentioned in case of *B.bifidum* and *B.longum*). While extract, obtained from *A. aristata* roots relatively weakly agglutinated bifidobacteria.

Pure nucleic acids – DNA and RNA (28S and 18S) were extracted from *A.aristata*.

შესავალი

თემის აქტუალობა. ნახშირწყალ-დამოკიდებული შეცნობა, წარმოადგენს ერთ-ერთ ცენტრალურ მოვლენას ბიოლოგიური სისტემის ფუნქციონირებაში. უჯრედის დონეზე შეცნობა ჩვეულებრივ ხორციელდება სპეციფიკური ცილა-ნახშირწყლოვანი ურთიერთქმედებით და განაპირობებს ისეთ ბიოლოგიურად მნიშვნელოვან პროცესებს როგორცაა: ნივთიერებათა ტრანსპორტი, ენზიმების მოქმედების მოდულაცია, უჯრედული კომუნიკაციები, უჯრედთა დიფერენცირება, განაყოფიერება, ზრდა-განვითარება, ანთებითი პროცესები, მიკრობთა ადჰეზია, სინაფსური გადაცემა და სხვა.

ლექტინების აღმოჩენის შემდეგ ინტენსიურმა კვლევებმა მიგვიყვანა ფიტოჰემაგლუტინინების სხვადასხვა ასპექტების გაგების დიდ პროგრესთან. მიუხედავად ამისა, ლექტინებთან მიმართებაში მეტად მნიშვნელოვანი კითხვები, რომელიც პასუხს მოითხოვს ჯერ კიდევ დასმული არ არის.

განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ლექტინების ბიოლოგიური როლის შესწავლა, ფიტოლექტინები ცილების ძალზე ჰეტეროგენული ჯგუფია. მცენარეებში ისინი სხვადასხვა კონცენტრაციით არიან წარმოდგენილნი. ლექტინების ბიოლოგიური როლი მოიცავს უნივერსალურ მოლეკულურ მექანიზმს, რომელიც განაპირობებს ყველა ცოცხალი სისტემის, დაწყებული ვირუსებიდან დამთავრებული ადამიანით, ურთიერთქმედებას და განვითარებას. ამასთან არის კავშირში ლექტინების ბიოლოგიური როლი, რომელიც მოიცავს სპეციფიკური პროცესების ინჰიბირებას ან აქტივაციას, უჯრედებს შორის ურთიერთქმედებას და მათ ადჰეზიას ჰისტოგენეზსა და რეგენერაციის პროცესში. თუმცა ისიც უნდა აღინიშნოს, რომ ამ ურთიერთქმედების მექანიზმები, ზოგჯერ ბოლომდე ნათელი არ არის.

არსებობს მონაცემები, სადაც აღწერილია ფიტოჰემაგლუტინინების ისეთ თვისებები, რაც დამახასიათებელია სარეზერვო ცილებისათვის, თუმცა ერთი შეხედვით რთული დასაჯერებელია ნახშირწყლების დამაკავშირებელ ცილებს არ გააჩნდეს

უპირატესობა სარეზერვო ცილებთან მიმართებაში, თუმცა თანდათან ირკვევა, რომ ლექტინები ხასიათდებიან ორმაგი ფუნქციით, როცა ისინი მცენარეში არსებობენ, როგორც სარეზერვო ცილები, ხოლო როცა მცენარე ახდენს მათ გამოყოფას, ლექტინები აქტიურად იცავენ მას პარაზიტებისაგან. ამასთან რთულია იმის დამტკიცება თუ როგორ ხდება ლექტინებით მცენარის დაცვა, მაგალითად სოკოვანი ინფექციისგან, თუმცა ზოგიერთი ფაქტი ამაზე მიუთითებს, ასეთ შემთხვევებში საჭიროა კვლევის გარკვეული მეთოდების შემუშავება.

კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები. ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, მცენარეული წარმოშობის უცნობი ლექტინების გამოყოფა, იდენტიფიკაცია და მათი ბიოლოგიური როლის შესწავლა კვლავ ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემად რჩება. ამიტომაც მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ალოეს ერთ-ერთი სახეობის (*A.aristata*) ლექტინები. ჩვენი ინტერესი ალოეს მიმართ განაპირობა ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე მიღებულმა დასკვნამ, რომელიც მიუთითებს ზოგადად ალოეს გვარის სამკურნალო თვისებებზე. განსაკუთრებით საინტერესო იყო *A. aristata*-ს დღემდე შეუსწავლელი ლექტინების გამოვლენა, მისი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების შესწავლა და ბიოქიმიური მაჩვენებლების შესწავლა.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და ძირითადი შედეგები. გამოვლენილია მცენარე ალოეს (*A.aristata*) ორგანოებიდან გამოყოფილი, აქამდე უცნობი ლექტინების ნახშირწყალსპეციფიკურობა, ადამიანის სისხლის ABO ჯგუფის და ცხოველების ერთროციტებისადმი ლექტინების დამოკიდებულება. შესწავლილია ლექტინების აქტიურობა სხვადასხვა აბიოტური ფაქტორების (მაღალი და დაბალი ტემპერატურა, მზის მაღალი რადიაციის გავლენა, უი. სხივების მოქმედება) მიხედვით. დადგენილია ლექტინების განაწილება ცალკეული ფოთლების და მცენარის იარუსების მიხედვით.

ცდების შედეგად დადგინდა, რომ ალოეს (*A.aristata*) ორგანოები შეიცავს მანოზა- და N-აცეტილ-D-გლუკოზამინ-სპეციფიკურ ლექტინებს. ლექტინები მაღალ ტემპერატურაზე დროის გარკვეულ (20 წუთი) ინტერვალში ინარჩუნებენ აქტიურობას. ლექტინების განაწილება არაერთგვაროვანია მცენარეში, მაქსიმალური ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა ალოეს ზედა იარუსის ფოთლები.

ალოეს ფოთლის ლექტინი არ ახდენს ადამიანის ABO სისხლის ჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაციას, ბოლქვიდან გამოყოფილი ლექტინი ახდენს მეორე და მესამე სისხლის ჯგუფის ერითროციტების სუსტ აგლუტინაციას, ხოლო ფესვიდან გამოყოფილი ლექტინი ახდენს ABO სისტემის ყველა ჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაციას.

კვლევის თეორიული და მეთოდოლოგიური საფუძვლები. ალოეს ცალკეული ორგანოებიდან ლექტინების გამოყოფის მიზნით, ვიყენებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს (0.9% NaCl + 1M KH₂PO₄ pH 7.4 (PBS 0.4 mM), შეფარდებით გრამი ნედლეული/10 მლ).

ცილის კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით ლოურის მეთოდით.

ლექტინების კონცენტრირებას და ნაწილობრივ გასუფთავებას ვახდენდით, 90%-იანი ამონიუმის სულფატით გაჯერებული ხსნარით.

ექსტრაქტში ლექტინურ აქტიურობას ვსაზღვრავდით ჰემაგლუტინაციური ტესტით ბოცვრის ტრიფსინიზირებულ ერითროციტების მიმართ U-ს-მაგვარ იმუნოლოგიურ პლანშეტებზე.

ლექტინების სპეციფიკურობა ნახშირწყლების მიმართ შევისწავლეთ Liener-ის ჰაპტენ-ინჰიბიტორული მეთოდით.

ცილის მოლეკულური მასის დადგენას ვახდენდით გელ-ფილტრაციით Toyopear HW 55-ის სვეტზე (2.0x38 სმ), რომელიც გაწონასწორებული იყო PBS-ით. ელუციის სიჩქარე იყო 1 მლ/წთ, შთანთქმის სპექტრი აღირიცხებოდა 280 ნმ სიგრძის ტალღაზე Knauer-ის ტიპის დეტექტორით. სვეტს ვაკალიბრებდით ცნობილი მოლეკულური მასის მქონე სტანდარტული ცილებით (ციტოქრომი C – 12 400 დალტონი (D), ხარის ალბუმინი- 66 000 D; ალკოჰოლდეჰიდროგენეზა - 15 0000 D, Sigma).

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება. ლექტინების ფუნქციიდან გამომდინარე ისახება მათი გამოყენების დიდი პერსპექტივები მედიცინაში, ბიოლოგიაში, გენურ ინჟინერიაში, სოფლის მეურნეობასა და მეცნიერების სხვა დარგებში. ნახშირწყლებთან სპეციფიკურად დაკავშირების თვისობის საფუძველზე ლექტინებმა ეფექტური გამოყენება ჰპოვეს აგრეთვე ბიოქიმიურ და ჰისტოქიმიურ კვლევებშიც. ლექტინების

საშუალებით შესაძლებელი გახდა გლიკოპროტეინების სუფთა სახით გამოყოფა და ბიომემბრანების ტერმინალური ნახშირწყლების ზონდირება.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა. დისერტაცია მოიცავს: შესავალს, კვლევის მასალებსა და მეთოდებს, საკუთარი კვლევის შედეგებს, შედეგების განხილვას, დასკვნებს, გამოყენებული ლიტერატურის სიას (72 წყარო). იგი ილუსტრირებულია 64 ცხრილით და 25 სურათით. ნაშრომის მოცულობა 120 გვერდია.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ლექტინების ზოგადი დახასიათება

ლექტინებით ნახშირწყალ-დამოკიდებული შეცნობა, ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი პროცესია ბიოლოგიური სისტემების ფუნქციონირებაში. შეცნობა ხორციელდება უჯრედის ტერმინალური შაქრების დონეზე და განაპირობებს ისეთ ბიოლოგიურად მნიშვნელოვან პროცესებს როგორცაა: განაყოფიერება, ემბრიოგენეზი, ნივთიერებათა ტრანსპორტი, ენზიმების მოქმედების მოდულაცია, უჯრედული კომუნიკაციები, უჯრედთა დიფერენცირება, ზრდა-განვითარება, მიკრობთა ადჰეზია, სინაფსური გადაცემა, მონაწილეობა ანთებით პროცესებში და სხვა [1,2]. შეცნობის შესახებ ინფორმაცია ჩადებულია ნახშირწყლების სტრუქტურაში, რომელიც უჯრედის ზედაპირზე გლიკოპროტეინების (ასევე გლიკოლიპიდების და გლიკოპოლისაქარიდების) სახითაა წარმოდგენილი. ამ ინფორმაციას იმახსოვრებს ნახშირწყალ-შემცნობი ცილები, რომელთაც ლექტინები ეწოდება. მიუხედავად იმისა, რომ ლექტინების არსებობა ას წელზე მეტია, რაც ცნობილია, იდეას მათი ინფორმაციული სიგნალების შესახებ, დღემდე არ დაუკარგავთ აქტუალობა და მათ მიმართ ინტერესი მით უფრო იზრდება. ცნობილია, რომ ლექტინები წარმოადგენენ ეფექტურ ინსტრუმენტებს უჯრედის ზედაპირზე არსებული გლიკოკონიუგატების

სტრუქტურის დადგენის და ნახშირწყალ-დამოკიდებული სიგნალის გადაცემის შესწავლაში [3].

პირველად ლექტინი გამოყოფილ იქნა აბუსალათინიდან (*Ricinus communis* Euphorbiaceae), ჰერმან შტილმარკის (1860-1923) მიერ 1888 წელს. შტილმარკმა შეისწავლა აღნიშნული მცენარის (ამავე ოჯახიდან კიდევ ოთხის) ექსტრაქტი. მათ აღმოაჩინდათ სხვადასხვა ცხოველის (ბოცვერი, ცხენი, ძაღლი, კატა) ერითროციტების აგლუტინაციის (შეწებების) უნარი. მოგვიანებით აღმოჩნდა, რომ ლექტინები ასევე ახდენენ ადამიანის ერითროციტების აგლუტინაციასაც.

სადღეისოდ ცნობილია, რომ აბუსალათინიდან გამოყოფილი ლექტინი - რიცინი არის ძლიერი ტოქსიკური ცილა. ადამიანის საშუალო ლეტალური დოზაა (LD 50) 0.3 მგ/კგ. რიცინი წარმოადგენს თეთრ, უსუნო ფხვნილს, რომელიც წყალში კარგად იხსნება. მისი ტოქსიკური მექანიზმი მდგომარეობს რიბოსომებზე ცილის სინთეზის ინჰიბირებაში. შედგება α და β ჯაჭვისგან. β -ჯაჭვის დამაკავშირებელი ნახშირწყალია გალაქტოზა.

XX საუკუნის 40-იან წლებში ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად, უილიამ ბოიდმა [22] (ბოსტონის უნივერსიტეტი) და კარლ რენკონენმა (ჰელსინკის უნივერსიტეტი) ადამიანის სხვადასხვა სისხლის ჯგუფების ერითროციტების მიმართ, აღმოაჩინეს ლექტინების ჰემაგლუტინაციის უნარი. ლიმური ლობიოს (*Phaseolus limensis*) და ცერცვის (*Vicia crassa*) ექსტრაქტები ახდენდა ადამიანის O და B ჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაციას, ხოლო ბარდას ლექტინი იწვევდა მხოლოდ სისხლის O ჯგუფის აგლუტინაციას. *Griffonia simplicifolia*-ს (პარკოსანთა ოჯახიდან) ექსტრაქტი რეაგირებს სისხლის მხოლოდ B ჯგუფის ერითროციტებთან.

1950 წ. ჯ. უოლერმა, ტ. მორგანმა და მ. უინფრედმა ლისტერის ინსტიტუტში (ლონდონი) აღმოაჩინეს, რომ ლიმური ლობიოს N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინ სპეციფიკური ლექტინი და ბარდადან გამოყოფილი α -ფუკოზა სპეციფიკური ლექტინი იწვევდა ადამიანის მხოლოდ სისხლის O-ჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაციას [46].

1960 წლიდან ცნობილი გახდა, რომ მსგავსი ცილები ასევე ახდენდნენ სხვა ტიპის უჯრედების აგლუტინაციას. მიუხედავად იმისა, რომ ცნობილი იყო ლექტინების

ფართო გავრცელება მცენარეებსა და ცხოველებში, 1970 წლისათვის საკმაოდ მცირე რაოდენობის ლექტინები იყო შესწავლილი და ნაკლებ ყურადღებასაც იქცევდა. ასეთი დამოკიდებულება შეიცვალა მას შემდეგ რაც გაირკვა, რომ ლექტინების საშუალებით შესაძლებელია უჯრედის ზედაპირზე არსებული ნახშირწყლების შესწავლა, რომელთა ცვლილება ზოგჯერ უჯრედისათვის, ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარების მიზეზიც ხდება. მომდევნო წლებში მრავალი ლექტინი იყო გამოყოფილი მცენარეებიდან, მიკროორგანიზმებიდან, ცხოველებიდან. დადგინდა ასობით ლექტინის სტრუქტურა და ფუნქცია.

კონკანავალინი A იყო პირველი ლექტინი, რომელიც მიღებული იყო კრისტალური სახით. ის იწვევდა ერითროციტების და საფუვრების აგლუტინაციას. ასევე ურთიერთქმედებდა სახამებელთან, გლიკოგენთან და მუცინთან, იწვევდა საქაროზას ინჰიბირებას. კონკანავალინი A-ს მაგალითზე პირველად იქნა ექსპერიმენტულად დადასტურებული ნახშირწყლებთან ცილის დაკავშირება.

ლექტინის სახელწოდება მომდინარეობს, აგლუტინაციის უნარის მქონე ცილის სპეციფიკური თვისებიდან, შერჩევითად დაუკავშირდეს სხვადასხვა სისხლის ჯგუფის ერითროციტებს. პირველად ტერმინი ლექტინი გამოიყენა ბილდმა და შაპლმა [22]. სიტყვა ლათინური წარმოშობისაა „Legere“ რაც შერჩევას, შეკრებას ნიშნავს. თავდაპირველად ლექტინებს ჰემაგლუტინინები ეწოდებოდა. XX-ის 70-იანი წლებიდან კი ამ ტერმინში გაერთიანდა მცენარეული და ცხოველური წარმოშობის ცილების ჯგუფი, რომლებიც იკავშირებენ ნახშირწყლებს.

მიუხედავად იმისა, რომ ლექტინების შესწავლაში მრავალი წარმატებაა მოპოვებული, ლექტინთა კლასიფიკაცია დღემდე გადაუჭრელი რჩება. 1957 წელს მეკელემ წარმოადგინა ლექტინების ნახშირწყალსპეციფიკურობაზე დაფუძნებული კლასიფიკაცია [44]. მოგვიანებით ავტორთა სხვადასხვა ჯგუფის მიერ წარმოადგენილ იქნა რამდენიმე სახის კლასიფიკაცია [8;16] რომელიც შემდეგ პრინციპებს ემყარებოდა:

ლექტინში ცილის და ნახშირწყლის შეფარდება (ნახშირწყალ არ შემცველი გლიკოპროტეინები - ნახშირწყლების მასური წილით 15%-მდე, პროტეოგლიკანები 50-60% და მეტი).

ვალენტობა და სუბერთეულების რაოდენობა - ზოგიერთი მცენარის და ბაქტერიის ლექტინები: ამბრინი, რიცინი, ქოლერის ტოქსინი და სხვა მონოვალენტურია, უმრავლესობა კი პოლივალენტური. აღნიშნული თვისებების გათვალისწინებით და ლექტინების სტრუქტურული აგებულების მიხედვით ლექტინებს 4 ჯგუფად ჰყოფენ: 1. მეროლექტინები, რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ერთ ნახშირწყალ-დამოკიდებულ ცენტრს. 2. ჰოლოლექტინები, შეიცავენ ორ ან მეტ ნახშირწყალ-დამოკიდებულ ცენტრს. 3. ქიმეროლექტინები, გააჩნიათ როგორც ნახშირწყალ-დამოკიდებული ცენტრი, ისე კატალიზური ცენტრი, ასეთია რიბოსომების ინაქტივატორები (Rip 5) და I კლასის მცენარეული ქიტინაზები. 4. სუპერლექტინები შეიცავენ სტრუქტურულად განსხვავებულ ორ ნახშირწყალდამაკავშირებელ ცენტრებს, ასეთი ლექტინია ტიტას ბოლქვიდან გამოყოფილი ცილა, რომელსაც აქვს მანოზას და N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის დამაკავშირებელი დომენები [65].

სპეციფიკურობა - მჟავე და ნეიტრალურ ნახშირწყლებთან, ნახშირწყლების ტოპოქიმიური რეკოგნაცია და ა.შ. ლექტინ-ნახშირწყლის ურთიერთობაში მნიშვნელოვანია შაქრის პირანოზულ ცენტრში III და IV ნახშირწყალთან ჰიდროქსილის ჯგუფების კონფიგურაცია, სწორედ ამის საფუძველზე იყოფა ლექტინებთან ურთიერთქმედი მონოსაქარიდები ოთხ ჯგუფად [17;38]. 1. მანოზას და გლუკოზას მიმართ სპეციფიკური ლექტინები. 2. N-აცეტილ-D-გლუკოზამინ სპეციფიკური ლექტინები. 3. გალაქტოზას და N-აცეტილ-D-გლუკოზამინ სპეციფიკური ლექტინები. 4. ფუკოზასპეციფიკური ლექტინები.

გარდა ამისა, ცალკე გამოყოფენ სიალ-სპეციფიკურ ლექტინებს, ისინი არ ინჰიბირდება მონოსაქარიდებით, უცნობი სპეციფიკურობის ლექტინები და სხვა.

წარმოშობა - შიდაუჯრედული, უჯრედგარე, უჯრედის მემბრანასთან დაკავშირებული ან დაუკავშირებელი ლექტინები. ქსოვილური თუ ორგანოების უჯრედებიდან გამოყოფილი ლექტინები. მიკროორგანიზმული, მცენარეული, ცხოველური და ვირუსული წარმოშობის ლექტინები.

ფუნქციური აქტიურობა - მარტივი, მიტოგენური, მემბრანული ლექტინი, ლექტინ-ენზიმი, პროფორმა.

ბიოლოგიური აქტიურობა - ჰემაგლუტინინი, ლეიკოაგლუტინინი, მიტოგენი, ბლასტრანსფორმატორი და სხვა. ერთროციტებთან, ლეიკოციტებთან ან სხვა უჯრედებთან ანტიგენური დამოკიდებულება.

გარდა აღნიშნულისა, მცენარეული ლექტინები სტრუქტურული ხასიათის მიხედვით, შეიძლება დაიყოს 4 კლასად: პარკოსანთა ლექტინები, ლექტინები ქიტინსპეციფიკური დომენებით, ლექტინები Rip5-რიბოსომების ინაქტივატორები, ერთლებლიან მცენარეთა მანოზა სპეციფიკური ლექტინები [23;63].

გარდა იმისა, რომ ლექტინები არსებობენ თავისუფალი ციტოპლაზმური ცილების ფორმით (ლოკალიზებულნი ციტოპლაზმის კომპარტმენტებში, ვაკუოლებში); არიან ლექტინები, რომლებიც ციტოპლაზმურ მემბრანასთან ან უჯრედულ პლაზმალემასთან მტკიცედ არიან დაკავშირებულნი (β-ლექტინები). მიუხედავად იმისა, რომ მათ გააჩნიათ ნახშირწყალ-სპეციფიკური დომენები, ვერ ახდენენ ერთროციტების აგლუტინაციას ან ახდენენ ძალიან სუსტად. β-ლექტინებს მიეკუთვნება მაგალითად ექსტენსინი [8;9].

1.2. ლექტინური ცილების ბიოქიმიური დახასიათება

1.2.1. ლექტინების სტრუქტურული ორგანიზაცია

მცენარეული ლექტინებიდან ლექტინოლოგიაში, ფართოდ არის წარმოდგენილი პარკოსანთა ლექტინები. 100-ზე მეტი პარკოსანთა თესლიდან გამოყოფილია და დახასიათებულია ლექტინები, რომლებიც ერთიანდება ერთ ოჯახად. ამ ოჯახის მარტივი წარმომადგენლები ყოველმხრივ შესწავლილია.

ტიპიურ პარკოსანთა ლექტინს, გააჩნია ორი ან ოთხი იდენტური ან ახლო-იდენტური სუბერთეული, თითოეული მათგანის მოლეკულური მასა 20-30 კდ-ია. თითოეული სუბერთეული, ჩვეულებრივ წარმოადგენს ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს,

რომელიც შედგება 250 ამინომჟავური ნაშთისგან და ოლიგოსაქარიდის ერთი ან ორი N კიდურა რგოლისაგან. თითოეულ სუბერთეულს გააჩნია ნახშირწყალ-შეთავსებადი საიტი, რომელიც მტკიცედ უკავშირდება კალციუმის იონს, ხოლო შენაცვლებად იონად ჩვეულებრივ წარმოდგენილია მანგანუმის იონი. ყველა პარკოსანი ლექტინისათვის, ამინომჟავური ნაშთების 20% უცვლელია, ხოლო 20% მსგავსი. ამინომჟავური თანმიმდევრობებიდან რამდენიმე ჩართულია ნახშირწყლებთან ურთიერთობაში, ხოლო დანარჩენს კოორდინაციას უწევს ლითონის იონი.

3D სტრუქტურის მიხედვით შესწავლილ იქნა ათი პარკოსანთა ლექტინი, ამ ლექტინებში თითოეული სუბერთეულის 60% შედგებოდა β -ჰიმისგან საერთო დამაკავშირებელი ყულფით. ყველა ცნობილი პარკოსანთა ლექტინის მესამეული სტრუქტურა, იქმნება ორი ანტიპარალელური β ნაკვეცისაგან, ექვსი „უკანა“ ბრტყელი ჰიმით და 7 „წინა“ მრუდე ჰიმით, მათ შორის კავშირი უზრუნველყოფილია ხუთი β ნაკვეცისაგან შემდგარი ჰიმით. ამ სტრუქტურას უწოდეს „ლექტინური ნაკვეცი“ (fold) [60].

ცილის სპეციფიკურობის დამოუკიდებლად, სხვადასხვა პარკოსანთა ლექტინის სუბერთეულთა სტრუქტურა, შეიძლება იყოს ერთმანეთთან ახლოს. მიუხედავად მონომერულ დონეზე პირველადი, მეორადი და მესამეული სტრუქტურის მსგავსებისა, პარკოსანთა ლექტინები მეოთხეული სტრუქტურის მიხედვით განსხვავებულია. „კანონიკური“ მეოთხეული სტრუქტურის მქონე ლექტინებში როგორცაა მაგ: ConA, ბარდის ლექტინი, *L. ochrus*-ის ლექტინები, მათ დიმერიზაციაში ჩართულია, ორი მონომერის ანტიპარალელური ექვს ჰიმისანი β -ნაკვეცი, რის შედეგადაც იქმნება 12 ჰიმისანი ნაკვეცი და განლაგდება დიმერის ირგვლივ [13;61]. არაქისიდან (*A. hypogaea*) გამოყოფილ ლექტინს (PNA) აქვს უჩვეულო „ღია“ მეოთხეული სტრუქტურა, სადაც არ შეინიშნება ე.წ. „ლექტინური ნაკვეცი“ [30;48]. მსგავსი სტრუქტურა გააჩნია *Griffonia simplicifolia*-დან გამოყოფილ ლექტინს. ღია მეოთხეული ასოციაციის სტაბილიზაცია ხდება ჰიდროფობური, წყალბადური და ბმული წყლით.

მცენარული ლექტინების მეოთხეული სტრუქტურა დამოკიდებულია pH-ზე. ლექტინის ტეტრამერის ფიზიოლოგიური pH-ის ზღვარი, ჯერ კიდევ როცა შესაძლებელია დისოციაციის შექცევადობა არის 5.1 და ზემოთ. არაქისის ლექტინი pH

3.4-ზე მთლიანად დიმერულია [30]. აღსანიშნავია, რომ ნაწილობრივ დახვეული (აწყობილი) არაქისის ლექტინის ნახშირწყალთან დაკავშირების უნარი, ნორმალურ ცილასთან შედარებით 75-85%-ია [36].

შემუშავებულია პარკოსან მცენარეთა ლექტინების კლასიფიკაცია მეოთხეული სტრუქტურის მიხედვით, ამ მხრივ ლექტინები დაყოფილია 9 ჯგუფად, რომელიც ქმნის 7 დიმერულ სახესხვაობას.

I. კანონიკური ტიპი (II ტიპი).

II. EcorL ტიპი (მარჯნის ხიდან (*Erythrina corallodendron*) გამოყოფილი ლექტინი, X3 დიმერი).

III. GS4 ტიპი (*Griffonia simplicifolia*-დან გამოყოფილი ლექტინი).

IV. DB58 (*Dolichos biflorus*-ის ღეროდან გამოყოფილი ლექტინი, X1 დიმერი)

V. DBL (ზარდას (*Dolichos biflorus*) თესლიდან გამოყოფილი ლექტინი, II+X1 ტეტრამერი).

VI. ConA („არაკანონიკური“ ConA-ს სახესხვაობა, II+X2 ტეტრამერი)

VII. PNA (არაქისიდან (*Arachis hypogaea*) გამოყოფილი ლექტინი. ღია მეოთხეული სტრუქტურის ტიპი II+X2 ტეტრამერი)

VIII. GS1 ტიპი (*Griffonia simplicifolia*-დან გამოყოფილი ლექტინი 1. XU + უჩვეულო (unusual) ტეტრამერი).

IX. არსელინ-5 ტიპი (ლექტინის მსგავსი ცილა გამოყოფილი ჩვეულებრივი (ფრანგული) ლობიოდან *Phaseolus vulgaris*).

აქედან გამომდინარე, ზოგიერთი ლექტინი შეიძლება იმყოფებოდეს, როგორც დიმერულ ისე ტეტრამერული სახით (II, X1 და X4), ზოგი კი მხოლოდ დიმერული (X3) ან მხოლოდ ტეტრამერული (X1 და GS1) სახით [24;53].

1.2.2. ნახშირწყალ-დამაკავშირებელი საიტი

ნახშირწყალ-დამაკავშირებელი საიტი, ხშირად ცილის ზედაპირზე დათრგუნულია. მისი გააქტივება ხდება გარკვეული კონფორმაციული ცვლილებების შედეგად [67].

პარკოსანთა ლექტინებს, სპეციფიკურობის მიუხედავად გააჩნია 4 სხვადასხვა ამინომჟავური ნაშთი. ნახშირწყლოვან ლიგანდთან დაკავშირებაში მონაწილეობას იღებს: ასპარაგინის მჟავა, ასპარაგინი, გლიცინი, რომელიმე არომატული ამინომჟავა ან ლეიცინი. PNA ლექტინის შემთხვევაში ეს ჯგუფი ასე გამოიყურება: Asp83, Gly104, Asn127 და Tyr125 [20;34;59]. როცა ხდება მუტაცია, რომელიც იწვევს ასპარაგინის მჟავას და ასპარაგინის ადგილების შენაცვლებას, ლექტინი კარგავს ნახშირწყალთან დაკავშირების უნარს [24]. ამინომჟავური ნაშთები ქმნიან ნახშირწყლებთან დამაკავშირებელ ოთხ მარყუქს: A, B, C და D. ასპარაგინის მჟავის და გლიცინის ნაშთები ქმნიან A და B სახის მარყუქს [19]. ასპარაგინი ჰიდროფობური კავშირებით ქმნის C მარყუქს. ამინომჟავების დამატებითი ურთიერთქმედება კი აყალიბებს D მარყუქს. D მარყუქი ძლიერ ვარიაბელურია სიგრძის, თანმიმდევრობის და კონფორმაციის მიხედვით, თუმცა მისი სიგრძე ყველა მანოზა-სპეციფიკურ ლექტინში ერთი ზომისაა [58;69].

წყალბადური ბმებით ნახშირწყლები უკავშირდება ამინომჟავების ნაშთებს შემდეგ პოზიციებში: Asp83 O δ 1-Gal 03; Asp83 O δ 2-Gal 04; Gly 104 N-Gal03 და Asn127 N δ 2-Gal 03 [47;59]. საკვანძო მნიშვნელობა ენიჭება თიროზინის არომატული რგოლის (Tyr 125) კავშირს, გალაქტოზის ჰიდროფობურ α -მდგომარეობასთან. გარდა ამისა, წყალბადური ბმები გვხვდება Asp80 O δ 2-Gal 06-ში, რომელთანაც ბმულია სერინის Ser 211 O γ ნაშთი [54;55].

წყლის მოლეკულები ზოგიერთ სპეციფიკურ შემთხვევაში, ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ნახშირწყლების შეცნობაში. PNA ლექტინი სხვადასხვა ლიგანდებთან (T-ანტიგენი, მეთილ- β -გალაქტოზა, N-აცეტილლაქტოზამინი და სხვა) კრისტალურ ასოციაციებში შედარებამ, ლექტინის ოთხივე კომპლექსში წყლის მოლეკულების ხიდაკები გამოავლინა. T-ანტიგენთან დაკავშირების შემთხვევაში წყლის ერთი მოლეკულა აცეტამინის O $_2$ ატომს (Ile1010-თან), ხოლო წყლის მეორე მოლეკულა უკავშირდება Asn41 N δ 2 და Leu 212 N-ს [51;52].

ლექტინების დაკავშირება ნახშირწყლებთან კოვალენტური არ არის, კავშირი შექცევადია, თუმცა მაღალსპეციფიკური. კლასიკური ლექტინი შეიცავს ორ ან მეტ

ნახშირწყალ-დამაკავშირებელ საიტს. ლექტინი უკავშირდება ერთორციტის მემბრანაზე არსებული ნახშირწყლების ნაშთებს და იწვევს მის პრეციპიტაციას. ეს ფენომენი ასევე ცნობილია აგლუტინაციის სახელით.

მონოსაქარიდების ლიგანდთან ურთიერთობის მიხედვით, შარონი [20;59], გამოყოფს ლექტინების ხუთ ჯგუფს: მანოზასპეციფიკურს, გალაქტოზა-N-აცეტილ გალაქტოზამინ სპეციფიკურს, N-აცეტილ-D-გლუკოზამინ სპეციფიკურს, ფუკოზა და N-აცეტილნეირამინმჟავა სპეციფიკურ ლექტინებს (კლასიფიკაციაში გათვალისწინებული არ არის ისეთი მნიშვნელოვანი მონოსაქარიდები, როგორცაა მანოზა-6-ფოსფატი და N-აცეტილგალაქტოზა-4-სულფატი). ყველა ჩამოთვლილი ნახშირწყალი იმყოფება D კონფიგურაციაში, გამონაკლისია ფუკოზა.

მიუხედავად იმისა, რომ ცილასა და ნახშირწყალს შორის ურთიერთქმედება, მცირე კონცენტრაციის პირობებში ხდება (მილიმოლებში), სპეციფიკურობა მაინც მაღალია. აღსანიშნავია, რომ პირანოზას ბირთვის C-2 პოზიცია ტოლერანტულია გალაქტოზა სპეციფიკური და მასთან ერთად N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინ სპეციფიკური ლექტინების მიმართაც.

აგლიკონი გავლენას ახდენს ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობაზე, მაგ: არომატული გლიკოზიდი იკავშირებს ConA-ს უფრო ძლიერად, ვიდრე ალიფატურ გლიკოზიდს, ამ შემთხვევაში ჰიდროფობური რეგიონი ახლოს მდებარეობს ნახშირწყალ-დამაკავშირებელ საიტთან [49].

რაც შეეხება კალციუმის და მანგანუმის იონებს (ასევე სხვა ლითონებისაც), ისინი ნახშირწყალ-დამაკავშირებელი საიტის სიახლოვეს 4Å-ის რადიუსით არიან განლაგებული. თუმცა იონები ყოველთვის პირდაპირ არ არის ჩართული ნახშირწყლების შებოჭვაში. კათიონები მონაწილეობენ ამინომჟავური ნაშთების გლიკოზიდებთან ურთიერთობაში. ასპარაგინის მჟავას და ასპარაგინის ნაშთების კოორდინაციაში (Invariant) მონაწილეობს კალციუმის იონები [47].

1.3. ლექტინების ბიოლოგიური აქტიურობა

1.3.1. ლექტინების გავრცელება და განაწილება მცენარეებში

მცენარიდან სეკრეტირებული ლექტინი, როგორც პრეპეპტიდი, სიგნალური თანმიმდევრობით სინთეზირდება მემბრანასთან ასოცირებულ პოლირიბოსომებზე. სანამ მოხდება ხორკლიანი ენდოპლაზმური ბადის ცისტერნიდან პროპეპტიდის გამოყოფა და გადასვლა გოლჯის აპარატში, მიმდინარეობს რამდენიმე საფეხურიანი პროცესინგი, რაც მდგომარეობს სიგნალური პოლიპეპტიდის გახლეჩაში, ხოლო სპეციფიკურ პოზიციაში პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ოლიგოსაქარიდით უკავშირდება ასპარაგინის ნაშთს. ლექტინები ჩამოყალიბების შემდეგ, გროვდებიან მცენარის სხვადასხვა ორგანოს ქსოვილის უჯრედის ვაკუოლებში და მონაწილეობას იღებენ სხვადასხვა პროცესებში, მათ შორის პარაზიტების მავნე ზემოქმედებისაგან მცენარის დაცვაში.

ლექტინები გროვდება მცენარის ფოთლებში, ფესვებში, ბოლქვებში, ტუბერებში, გორგლებში, ყვავილებში და ყველა ორგანოში. მათი გამოყოფა ხდება გარკვეული სტიმულაციის შემდეგ უჯრედგარე არეში. ხორბლის ჩანასახის ლექტინი (WGA) სინთეზირდება, როგორც პოლიპეპტიდი [66;68]. WGA და მისი ჰომოლოგები (ბრინჯის, ქერის ლექტინები), ლოკალიზდება ჩანასახის კოლეოპტილსა და ეპიდერმულ უჯრედებში, როგორც მიწისზედა ისე მიწისქვედა ორგანოებში და იცავენ მცენარეს პათოგენისაგან.

მცენარეთა ორგანოებში ლექტინები თანაბრად არ არის განაწილებული მაგ: PSL, SBL და WGA ლექტინები დიდი რაოდენობითაა თესლებში, მცირე რაოდენობით ფესვებსა და ფოთლებში.

საინტერესოა *Dolichos biflorus*-ში აღმოჩენილი DB58 ცილა, რომლის ამინომჟავური თანმიმდევრობები ემსგავსება *Dolichos biflorus*-ის თესლის ლექტინს, თუმცა ლოკალიზებულია ღეროსა და ფოთოლში, ხოლო თესლებში DB58 ცილა აღმოჩენილი ვერ იქნა [57].

ფსევდოაკაციაში (*Robinia pseudoacacia*) ლექტინი აღმოჩენილია ქერქში, რითაც მცენარე თავს იცავს ცხოველებისგან [45;70]. ქერქში აღმოჩენილ იქნა 5 სახის იზოლექტინი, მისი ტეტრამერული სტრუქტურა შედგება ორი სუბერთეულისგან. ფსევდოაკაციის ქერქის ლექტინი, გარკვეულ მსგავსებას ავლენს აკაციის თესლის ლექტინის მიმართ [64]. ლექტინი ასევე გვხვდება *Sophora japonica*-ში, რომელიც პარკოსნების ლექტინის მსგავსია. ლექტინი აკუმულირებულია ფოთლებში.

ლექტინების ექსპრესიის დონე, დამოკიდებულია მცენარის ორგანოს სტრუქტურაზე. ლექტინის რაოდენობა მცენარეში იცვლება სხვადასხვა სტიმულის მიხედვით. მაგ: *Medicago truncatula*-ს ლექტინის ექსპრესიის დონე იზრდება, როცა ხდება მის ფესვებზე რიზობიუმის ინოკულაცია [21]. ზოგიერთ მცენარეში მაგ: თეთრყვავილას (*Galanthus*), მიწისზედა ორგანოებიდან, ყვავილობის მომენტში ლექტინები მთლიანად ქრება. ყვავილობის პერიოდის დასრულების შემდეგ, ლექტინების დაგროვება იწყება ბოლქვში. ზოგ მცენარეში ლექტინები, სიბერის სტადიაზე საერთოდ ქრება.

ლექტინები აღმოჩენილია მცენარის ყვავილის ნაწილებშიც, მაგ: მტვრიანებში, ბუტკოს ნასკვში, დინგსა და სვეტში, თუმცა გაცილებით ნაკლები რაოდენობით ვიდრე მცენარის სხვა ნაწილებში.

ლექტინები აღმოჩენილია შაქრის ჭარხლის ძირხვნების უჯრედის კედლის ფრაქციებში [4], სიმინდის ჩანასახის სუბუჯრედულ სტადიაში [10]. ისინი არიან მემბრანული და ორგანელების უჯრედშორისი სივრცის კომპონენტები.

ზოგიერთი მცენარის ლექტინი, მაგალითად, ფლოემაში სინთეზირებული ქიტინსპეციფიკური ლექტინი, წარმოქმნის ცილა-ცილოვან და რნმ-ცილოვან კომპლექსებს, რაც დაკავშირებულია მცენარის განვითარებასთან.

ხსნადი და მემბრანული ლექტინები, აღმოჩენილია პერიდერმასა და ფლოემაში. მსგავსი ლექტინები ნანახია ვაზის ღეროს (*Vitis vinifera*) უჯრედის ორგანელების მემბრანებში [15]. გამოთქმულია ვარაუდი, რომ ყველა ქსოვილის უჯრედის ზედაპირზე განლაგებული ლექტინების ადჰეზიური თვისება, მოქმედებს როგორც არასპეციფიკური კოჰეზიის ფაქტორები.

ამრიგად, ლექტინები აღმოჩენილია მცენარის ყველა ორგანოს ქსოვილში. მაღალი კონცენტრაციებით გვხვდება სამარაგო ორგანოებში: თესლებში, ბოლქვებში, ტუბერებში და სხვა. ლექტინების ექსპრესიაზე გავლენას ახდენს აბიოტური და ბიოტური ფაქტორები, რის შედეგადაც ორგანიზმში დაგროვილი ლექტინები, მონაწილეობას იღებენ მთელ რიგ ფიზიოლოგიურ პროცესებში, ამას ემატება პათოგენური ორგანიზმების წინააღმდეგ მოქმედებაც.

1.3.2. ლექტინების როლი ფიტოიმუნიტეტში

ლიტერატურაში არის მონაცემები, ფიტოპათოგენების შეცნობის მექანიზმებში, წყალში ხსნადი ლექტინების როლის შესახებ, რაც მცენარეთა დამცველობით უნარს განაპირობებს. ამ დროს ლექტინთა ნაწილი ლოკალიზებულია უჯრედის ციტოპლაზმურ კომპარტმენტებში, ხოლო ნაწილი განლაგებულია ციტოპლაზმურ მემბრანასა და უჯრედის პლაზმალემაში [1;2].

ვარაუდობენ, რომ ის ფიტოლექტინები, რომლებიც მონაწილეობენ პარკოსნების სიმბიოზურ პროცესებში, პარალელურად მონაწილეობას იღებენ მცენარეთა დაცვითი რეაქციების სიგნალების გადაცემაში. ცნობილია, რომ ოლიგოსაქარიდები მცენარეებში ასრულებენ სასიგნალო ფუნქციას, რაც მათ გარემოსთან ურთიერთობაში ეხმარება [25]. დამცველობითი რეაქციის პირველ ეტაპზე მცენარე გამოყოფს დაბალმოლეკულურ ფლავონოიდებს, რომელსაც ფიტოალექსინი ეწოდება, მათი ფუნქცია ანტიმიკრობულია. უმრავლესობა წარმოადგენს პოლისაქარიდს და წარმოიქმნება მაშინ, როცა ხდება მცენარეული კედლის კომპონენტების რღვევა ან ვითარდება პათოგენური მდგომარეობა. ცხადია, რომ როგორც სიმბიოზურ ურთიერთქმედებაში, ისე ოლიგოსაქარიდების სიგნალების რეცეპტორებად მცენარეული ლექტინები გვევლინება. ფიტოალექსინის (პიზატინის) ინდუქცია სხვადასხვა მცენარეული ლექტინების ზემოქმედებით, მიუთითებს იმაზე, რომ ამ ცილებს აქვთ ელისიტორების ფუნქციაც [62].

ბოლო წლების განმავლობაში, გამოვლენილია მცენარეული ლექტინები, რომლებიც ტოქსიკურია ისეთი პარაზიტი მწერების მიმართ, როგორცაა Lepidoptera (ქერცლფრთიანები), Coleoptera (ხეშეშფრთიანები), Diptera (ორფრთიანები) და Hemiptera (ნახევრადხეშეშფრთიანები). მცენარეთა 15 სხვადასხვა ოჯახიდან გამოყოფილია 25 ლექტინი, რომელიც უარყოფითად მოქმედებს პარაზიტი მწერების ზრდა-განვითარებაზე. აქედან 16 უშუალოდ ლარვულ სტადიაზე [28].

ხორბალში (*Triticum aestivum*) მწერის თავდასხმის საპასუხოდ, სწრაფად ექსპრესირდება ლექტინის მაკოდირებელი რამდენიმე გენი [46]. ხორბალი პარაზიტ *Mayetiola destructor*-ის ლარვის წინააღმდეგ გამოიმუშავებს მანოზა-სპეციფიკურ ლექტინს (HFR1) და ორ ქიმეროლექტინ-მსგავს პროტეინს HFR 2 და HFR 3, რომელიც ამარანთის მსგავს და ქიტინ-სპეციფიკურ ჰევეინის დომენს შეიცავს [28].

სოიოს აღმონაცენი რეზისტენტულია, ფესვის ლბობის აღმძვრელისადმი *Phytophthora megasperma*. სოიოს ლექტინი (SLB) გარემოში გამოიყოფა გაღვივებული თესლიდან და ბოჭავს პარაზიტს, რითაც კავდება მისი ზრდა-განვითარება. თეთრყვავილას (*Galanthus*) ბოლქვიდან გამოყოფილი ლექტინი, (GNA) სპეციფიკურად ბოჭავს მანოზას ტერმინალურ ნაშთებს, რომელიც მაღალი სიხშირით გვხვდება მწერების გლიკოპროტეინში [56]. ლექტინი ტოქსიკურია პარაზიტული მწერების ბევრი ოჯახის წარმომადგენლისათვის. განსაკუთრებით GNA-ს მიმართ მგრძნობიარეა Hemiptera-ს ოჯახის მწერები.

ნიორის (*Allium sativa*) ფოთლის და ბოლქვის ლექტინი, ასევე თამბაქოდან (*Nicotiana tabacum*), ხორბლიდან (*Triticum aestivum*), ბრინჯიდან (*Oryza sativa*) გამოყოფილი ლექტინები, დამლუპველად მოქმედებენ ფლოემის დამაზიანებელ ბუგრებზე.

მრავალი მცენარე შეიცავს N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის და ქიტინის ოლიგომერებისადმი სპეციფიკურ ლექტინს, რაც განაპირობებს მათ ურთიერთქმედებას მწერების გარდა, პათოგენურ სოკოებთან. ქიტინშემცველ პათოგენისგან მცენარეთა დაცვისას, გათვალისწინებული უნდა იყოს ქიტინ-სპეციფიკური ენზიმების, ამინური პეროქსიდაზების და ოქსალატოქსიდაზები კოოპერატიული მოქმედება [11].

დადგენილია, რომ ხორბლის ჩანასახის ლექტინი, კონკანავალინ A, სოიოს და ბარდის ლექტინები აკავებენ სოკო *Fusarium*-ის და ბაქტერია *Erwinia*-ს ზრდას. ხორბლის ჩანასახის ლექტინი აკავებს *Phytophthora infestans*, *Pseudoperonospora cubensis* სპორების ზრდას. საგულისხმოა, რომ ლექტინების ფუნქციდური მოქმედება განისაზღვრება მათი კონცენტრაციით [7].

მცენარეული ლექტინები ეფექტურად იწვევენ ვირუსების სხვადასხვა ჯგუფების ინაქტივაციას, მათ ზედაპირზე არსებული ნახშირწყლოვანი ნაშთების შებოჭვის გზით.

ანტივირუსული მოქმედებით ხასიათდება მრავალი ლექტინი. მაგ: კალანპოეს (*Kalanchoe adans*) ლექტინის ანტივირუსული მოქმედება, მდგომარეობს ვირუსული ნაწილაკების შებოჭვაში [14]. გამოთქმულია მოსაზრება, მცენარის ანტივირუსულ მექანიზმებსა და ფიტოჰემაგლუტინინის აქტიურობას შორის კავშირების შესახებ [12].

2Rip ტიპის ლექტინები (რიბოსომის ცილების მაინაქტივირებელი ცილები) მცენარეს ვირუსისაგან იცავენ. *Phitolacca Americana*-დან და *Dianthus barbatus*-დან გამოყოფილია ცილა, რომელიც მოქმედებს მცენარის α -მოზაიკური ვირუსის წინააღმდეგ [41;42].

ქაფურის ხისგან (*Cinnamomum camphora*) გამოყოფილი 2Rip ტიპის ლექტინები, ტოქსიკურია *Helicoverpa armigera*-ს და სხვა მოსკიტების მიმართ [70]. მწერების საწინააღმდეგო აქტიურობა გამოავლინა ასევე სიმინდში (*Zea mays*) აღმოჩენილმა 2Rip ტიპის ლექტინმა *Lasioderma serricorne*-ს ლარვების მიმართ.

თესლებსა და ფესვებში არსებული ლექტინები, გამოირჩევა ცხოველებისადმი მაღალი ტოქსიკურობით. 2Rip ცილები, რომლებიც იწვევენ რიბოსომების მოქმედების შეკავებას, როგორც გაირკვა მრავალი მათგანი აგლუტინინია, რომელთა შორის უმეტესობა მაღალტოქსიკური ლექტინებია (რიცინი, ამბრინი, მოდეცინი და სხვა), ამით მცენარე თავს იცავს ცხოველისაგან [65].

განსაკუთრებული ინტერესი გამოიწვია იმ ფაქტმა, რომ ლექტინების ფუნქცია არ შემოიფარგლება მხოლოდ უჯრედშორისი ურთიერთქმედებით და ბიოტური სტრესისგან მცენარეთა დაცვით. დადგენილ იქნა, რომ ლექტინური აქტიურობა, იცვლება სხვადასხვა აბიოტური სტრესის პირობებში, რაც საშუალებას იძლევა, რომ დადგენილ იქნას მათი ფიზიოლოგიური როლი.

ლექტინების უნარი დაიცვან მცენარეები პათოგენური ორგანიზმებისაგან, შეიძლება განვიხილოთ, როგორც მცენარის თანდაყოლილი იმუნიტეტი, რომელიც წარმოადგენს მცენარის პათოგენისაგან დაცვის პირველ ხაზს [31].

1.3.3. ლექტინების როლი სიმბიოზში

პარკოსანი მცენარეებით ნიადაგის აზოტით გამდიდრების ფაქტი მე-19 საუკუნიდანაა ცნობილი. გაირკვა, რომ პარკოსან მცენარეთა ნორმალური განვითარება აზოტის გარეშე, შესაძლებელია მხოლოდ იმ შემთხვევაში თუ მის ფესვებზე აღინიშნება კოჟრის ბაქტერიების თანაობა. ასეთი ბაქტერიები აღმოჩნდა *Rizobium*-ის გვარიდან, რომელთა შორის განსაკუთრებით ფართოდ არის გავრცელებული *R. leguminosarum*, *R. melioli*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. lupine*, *R. japonicum* და სხვა. კოჟრის ბაქტერიებით პარკოსნების „დასენიანება“ ძირითადად ახალგაზრდა ფესვების ბუსუსებზე ხდება და ინფექციური ძაფებით ვრცელდება მის ფუძემდე [2;3].

რამდენიმე პარკოსანი მცენარის თესლის ლექტინი, გარკვეულ როლს ასრულებს მცენარის ფესვებზე რიზობიუმის შებოჭვის პროცესში. აღნიშნული ლექტინი უხვად არის წარმოდგენილი მცენარის თესლში და დაბალია მათი შემცველობა სხვა ქსოვილში [50]. პარკოსანი მცენარის თესლის ლექტინი, ბოჭავს ბაქტერიის ზედაპირზე არსებულ ნახშირწყლოვან კომპონენტს, ბაქტერიების აგლუტინაცია ხდება მცენარის ფესვის ეპიდერმულ უჯრედებზე. ამ პროცესის მიმდინარეობისას მნიშვნელოვანია ლექტინის გადასვლა უჯრედის ზედაპირზე. პროცესი იწყება მაშინ თუ მოხდება ლექტინის ასოცირება პლაზმურ მემბრანაზე ანუ მოხდება მისი სეკრეცია და უჯრედის ზედაპირზე განლაგება. გარემოში არსებული ბაქტერია, უკავშირდება ფესვის ძაფებს და შესაბამისად ხდება კოჟრების ჩამოყალიბება.

აღნიშნულ სიმბიოზურ პროცესებში მნიშვნელოვანი როლი, ენიჭება ლექტინ-რეცეპტორული ურთიერთქმედების პრინციპს, აქედან გამომდინარე არსებობს ნახშირწყლებისადმი სხვადასხვა სპეციფიკურობის ლექტინები, რომლებიც

უზრუნველყოფენ პარკოსან მცენარეებსა და რიზობიუმის ბაქტერიებს შორის განსხვავებული წყვილების არსებობას მაგ: *R. japonicum* - სოიო, *R. leguminosarum* - ბარდა, *R. melioli* - იონჯა და სხვა [2;3].

აღწერილია მიკორიზას მუტუალიზმის შემთხვევები. ამ შემთხვევაში შეინიშნება ლექტინების დაბალი დონე. ვარაუდობენ, რომ ამ დროს სეკრეტირებული ლექტინი პირდაპირ მიემართება უჯრედის კედლისკენ და ახორციელებს სოკოს და მცენარეს შორის სიმბიოზის პროცესს [2;3].

აღნიშნული მონაცემები მიუთითებს, ლექტინების წამყვან როლზე მიკროორგანიზმებსა და მცენარეებს შორის სიმბიოზში, რაც მნიშვნელოვანია ეკოლოგიური თვალსაზრისითაც.

1.3.4. ლექტინების ციტოტოქსიკური აქტიურობა

მცენარეული ლექტინებიდან ციტოტოქსიკურია, რიზოსომის მინაქტივირებელი ცილების Rip I და II ტიპი. I ტიპის ლექტინები ტოქსიკურია მხოლოდ არაუჯრედულ სისტემებში, რადგან მათი მოლეკულა შედგება მხოლოდ A ჯაჭვისგან (მაგ: *Gelonium multiflorum*-დან გამოყოფილი ლექტინი ჰელონინი). ტოქსიკური ლექტინებია Rip II ტიპის ცილების სტრუქტურული ჯგუფი. მათი წარმომადგენლებია რიცინი, ამბრინი, დიფტერიის ტოქსინი, ბრინჯის და ფითრის ლექტინი და სხვა. მათ გააჩნიათ ანტიკანცეროგენული აქტიურობაც [26;27].

ლექტინის ციტოტოქსიკური მოქმედება განვიხილოთ რიცინის (გამოყოფილია აბუსალათინიდან - *Ricinus communis*) მაგალითზე. რიცინის მოლეკულა წარმოადგენს, გლიკოზილირებულ გლობულარულ ჰეტეროდიმერს მოლეკულური მასით 60-65 კდა.

A-ჯაჭვის შედგება 267 ამინომჟავური ნაშთისგან. მოლეკულური მასაა 32 კდა. სამი სტრუქტურული დომენი შედგება α -სპირალისგან და β -ნაკვეცისგან, რომლებიც წარმოქმნის ხვრელს, სადაც განლაგებულია აქტიური ცენტრი.

B-ჯაჭვი შედგება 262 ამინომჟავური ნაშთისგან. მოლეკულური მასაა 34 კდა. ბოჭავს უჯრედის ზედაპირზე გალაქტოზის ნაშთებს. წარმოქმნის ორშრიან სტრუქტურას,

რომელსაც არ გააჩნია α -სპირალი და β -ნაკეცი. ყოველი ნაწილი გაყოფილია სამ სუბდომენად. ერთ-ერთი შეიცავს აქტიურ ცენტრს.

A-ჯაჭვის მსგავს ცილებს შეიცავს მრავალი მცენარე მაგ: ქერი, თუმცა B-ჯაჭვის გარეშე ის ტოქსიკური არ არის.

რიცინის ტოქსიკური მოქმედების მექანიზმი, მდგომარეობს რიბოსომების ცილის სინთეზის ინჰიბირებაში. ციტოზოლში რიცინის შეღწევა, დამოკიდებულია წყალბადურ ბმებზე, რომლებიც წარმოიქმნება B-ჯაჭვის ამინომჟავურ ნაშთებსა და უჯრედის ზედაპირის ოლიგოსაქარიდებს შორის, რომელიც თავის მხრივ შეიცავს გალაქტოზის ან N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინის ნაშთებს. გარდა ამისა, რიცინის შემადგენლობაში შემავალი მანოზის ნაშთები, შეიძლება დაუკავშირდნენ უჯრედის ზედაპირზე არსებულ შესაბამის რეცეპტორებს. ნაჩვენებია, რომ ერთი უჯრედის ზედაპირზე შეიძლება 10^6 - 10^8 -მდე მოლეკულა რიცინის დაკავშირება. დაკავშირების შემდეგ მიმდინარეობს მოლეკულის ინტერნალიზაცია, როგორც კლატრინულ ვეზიკულებში, ისე ტრანსპორტულ ვეზიკულებში. ამ გზით რიცინი ხვდება ენდოსომაში და შემდეგ გოლჯის აპარატში, მანამდე გაივლის ლიზოსომებს, თუმცა იქ მათი დეგრადაცია არ ხდება. გოლჯის აპარატიდან რიცინი გადადის ენდოპლაზმურ ბადეში.

A-ჯაჭვი რ-რნმ-ში, გლიკოზიდურ ბმას ხლექს, 28 S სუბერთეულის ადენინის ნაშთების 4.324 პოზიციაში, ეს სარცინ-რიცინული სარჭი - 5-AGUACGAGAGGA-3' - განლაგებულია კონსერვატორულ თანმიმდევრობაში და აუცილებელია ელონგაციის ფაქტორის კავშირისათვის, მისი ბლოკირებით რიბოსომაში ცილის სინთეზი შეუქცევადად ითრგუნება. ამით A-ჯაჭვის მოქმედება წყდება, მის ყოველ მოლეკულას 1 წუთში მწყობრიდან გამოჰყავს 1500 რიბოსომა.

დადგენილ იქნა, რომ რიცინის კონცენტრაციის გაზრდა 0.1 მგ/მლ-მდე, ზრდის მონონუკლეარული ლეიკოციტების ციტოტოქსიკურ აქტიურობას უფრო მეტად, ვიდრე ლეიკოზის K-562-ის მიმართ. კულტურაში უფრო მაღალი დოზებით შეყვანა (0.1-დან 1 მგ/მლ-მდე) ახდენს ლიმფოციტების ციტოტოქსიკური მოქმედების მკვეთრ დათრგუნვას.

ბარდას ლექტინი, 1 მგ/მლ დოზით ციტოტოქსიკური აღმოჩნდა, კოლორექტარული სიმსივნის უჯრედებისთვის [5].

მონონუკლეარული ლეიკოციტების და კოლორექტარული სიმსივნის უჯრედების მიმართ, ციტოტოქსიკური აქტიურობა გამოავლინა ლობიოდან გამოყოფილმა ფიტოჰემაგლუტინინმა [5].

რიცინის მსგავსი ლექტინია ფითრის ლექტინიც (*Viscum album L.*), რომელიც როგორც ავღნიშნეთ, ცილების ერთი ოჯახის წარმომადგენელია. სადღეისოდ მას ევროპაში ფართოდ იყენებენ, როგორც ზოგად იმუნოსტიმულატორს ონკოლოგიური დაავადებებისას. მცირე დოზებში ის ახდენს ინტერლეიკინ 1 და 6-ის, ინტერფერონის და სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის სტიმულირებას, ინდუცირებს T-ლიმფოციტების ციტოტოქსიკურ აქტიურობას, ასევე ააქტივებს ბუნებრივ კილერებს, აძლიერებს ნეიტროფილების და მაკროფაგების ფაგოციტურ აქტიურობას. ფითრის ლექტინის საფუძველზე შეიძლება გაიზარდოს, ციტოტოქსიკური და ვაქცინური პრეპარატების იმუნომოდულაციური ეფექტი [13].

მიღებულია რეკომბინატული B-ჯაჭვი, რომელიც კოდირდება გენების სამი ვარიანტით, მას აქვს სწრაფვა მონოსაქარიდების: გალაქტოზის და N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინის მიმართ, თუმცა უკავშირდებიან ასიალოფეტუინის რთულ ოლიგოსაქარიდებსაც და აქვთ ისეთივე ბიოლოგიური აქტიურობა, როგორც ბუნებრივ B-ჯაჭვს [2].

შესწავლილ იქნა, ლექტინებით აქტივირებული ლიმფოციტების ციტოტოქსიკურობა. გამოკვლეულ იქნა კონკანავალინ A, ფიტოჰემაგლუტინინი და B-ჯაჭვი, იმ მიზნით რომ გამოეწვიათ მაკროფაგების ციტოტოქსიკურობა, სარძევე ჯირკვლის კარცინომის (MM46) სინგენურ უჯრედებთან მიმართებაში. ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ მაკროფაგის ადჰეზია უჯრედ-სამიზნესთან და უჯრედ-სამიზნის ციტოლიზი, მიმდინარეობს მხოლოდ WGA-ს არსებობისას. ციტოლიზი და უჯრედთან ადჰეზია, ინჰიბირდებოდა N-აცეტილ-D-გლუკოზამინით ანუ იმ ნახშირწყლით, რომლის მიმართ სპეციფიკურია WGA. ამ ლექტინის თანაობისას მაკროფაგები ახდენდნენ სინგენური და ალოგენური სიმსივნური უჯრედების ლიზირებას. შარონის აზრით, ლექტინებით აქტივირებული

ციტოტოქსიკური აქტიურობა, წარმოადგენს ახალ ტიპს, სიმსივნის საწინააღმდეგო ზედამხედველობის მექანიზმებში. ეს მექანიზმი კავშირშია ორგანიზმში არსებულ სითხეებში მყოფ ლექტინებთან.

1.3.5. ლექტინების მიტოგენური აქტიურობა

მრავალრიცხოვანი მონაცემების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ მიტოგენური აქტივაციის პირველი ეტაპი არის მოლეკულის მემბრანასთან დაკავშირება რამდენადაც: I. მიტოგენები ბივალენტურია, ხშირად პოლივალენტური; II. პოლივალენტური მიტოგენები კარგავენ თავის მიტოგენურ თვისებას, თუ ისინი გაიხლიჩებიან მონოვალენტურ სუბერთეულებად; III. მიტოზის მასტიმულირებელი ნივთიერება, ინდუცირებს მემბრანული მოლეკულების ურთიერთქმედებას; IV. ანტიგენები, რომლებიც ფორმალურად არ არიან პოლივალენტურები, როგორც ჩანს ხდებიან ფუნქციურად პოლივალენტურები, როცა ურთიერთქმედებენ T-ჰელპერებთან და უჯრედებთან, რომლებიც პრეზენტირებენ ანტიგენს (ჩვეულებრივი მაკროფაგები ან დენდრიტული უჯრედები).

მიუხედავად იმისა, რომ ეს ვარაუდი, როგორც ჩანს მიესადაგება როგორც B ისე T უჯრედების აქტივაციას, მისი ექსპერიმენტული დადასტურება, რეცეპტორთან მიბმა და T უჯრედების აქტივაცია ძალიან რთულია, რაც განპირობებულია ორი მიზეზით: I. დიდხანს დაუდგენელი იყო T უჯრედების მემბრანაზე ანტიგენური რეცეპტორების სტრუქტურა, მხოლოდ ბოლო ხანებში მიღწეულ იქნა გარკვეული წარმატებები; II. T უჯრედების სტიმულაციის შესწავლა ხდებოდა, მხოლოდ მემბრანის მოლეკულის მიბმით ლექტინების დახმარებით, თუმცა ლექტინით ბმული მოლეკულები, რომლებიც სინამდვილეში გადასცემს „აქტივაციის სიგნალს“ დღემდე იდენტიფიცირებული არ არის.

მოსვენებულ მდგომარეობაში მყოფი, მომწიფებული B ლიმფოციტების უმრავლესობის ზედაპირზე განლაგებულია IgM და IgD-ს რეცეპტორები. სავარაუდოდ ზედაპირული იმუნოგლობულინები მოქმედებენ, როგორც უჯრედის შიგნით სიგნალის

გადამცემები. რამდენადაც ცნობილია, ბივალენტური ანტისხეულები (ანტიიმიუნოგლობულინები, მაგრამ არა მონოვალენტური Fab-ფრაგმენტები), ამ ცილებთან ერთად ასტიმულირებენ B უჯრედული აქტივაციის ადრეულ სტადიას. გადამტანი მონოვალენტური დეტერმინანტები, რომლებსაც შეუძლიათ T-ჰელპერებთან (B უჯრედებთან ბმის გარეშე) დაკავშირება ყოველთვის იმიუნოგლობულინებია. გარდა ამისა, კონA-ს მონომერული ფრაგმენტები უუნარონი არიან ასტიმულირონ T-უჯრედები, თუმცა შეუძლიათ მათთან დაკავშირება. ცდები, რომლებიც აჩვენებს მონოვალენტური ფრაგმენტებით შესაძლო აქტივაციას, როგორც წესი არ იძლევა სარწმუნო მონაცემებს. შეიძლება დავასკვნათ, რომ ზედაპირულ რეცეპტორებთან კავშირი არის B უჯრედების აქტივაციის პირველი სტადია.

მიუხედავად იმისა, რომ სიტყვა „ფიტოჰემაგლუტინინი“ (ფჰა) ნიშნავს „სისხლის წითელი უჯრედების მათგან უტირებელ მცენარეულ პროდუქტს“, ამ ტერმინის ქვეშ მოიაზრება განსაზღვრული ლექტინი, გამოყოფილი ჩვეულებრივი წითელი ლობიოსგან (*Phaseolus vulgaris*). მონოსაქარიდი ინჰიბიტორებიდან, ფჰა-ს ლიმფოციტებთან შეკავშირების მხრივ, საუკეთესოა N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინი. ოლიგოსაქარიდები, რომლებიც შეიცავს მანოზის ნაშთებისაგან აგებულ N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინის ცენტრალურ ნაწილს, პრებოლოგებზე გალაქტოზის და ბოლოზე სიალის მჟავას, ფჰა-ს დაკავშირებას კიდევ უფრო ძლიერად ინჰიბირებს. უჯრედის ზედაპირზე ფჰა-ს დაკავშირების რეაქციის წონასწორობა მიიღწევა 30 წუთში 22°C-ზე და მიმდინარეობს დაახლოებით ერთნაირი ეფექტურობით, როგორც B ისე T ლიმფოციტებში. თუმცა მიტოზი იწყება ძირითადად (მაგრამ არა როგორც გამონაკლისი) T ლიმფოციტებში. ეფექტის მისაღებად აუცილებელია, რომ მიტოგენი იყოს კონტაქტში უჯრედთან რამდენიმე საათის განმავლობაში, ხოლო მიტოგენით დაკავებული უჯრედის ზედაპირი, უნდა შეადგენდეს ყველა პოტენციური დამაკავშირებელი უბნის მხოლოდ 3-10%-ს. ექსპერიმენტულად ნაჩვენებია, რომ სეფაროზის გრანულებთან კოვალენტურად ბმული ფჰა-ს მოლეკულას, უნარი აქვს ჩართოს ^3H თიმიდინი ლიმფოციტებში. ეს ფაქტი ხშირად მოჰყავთ იმის დასამტკიცებლად, რომ აქტივაციისათვის აუცილებელია უჯრედის ზედაპირზე მოლეკულის მიბმა და არ არის აუცილებელი მიტოგენის შეღწევა

უჯრედში. თუმცა ძალზე რთულია მთლიანად გამოირიცხოს იმის შესაძლებლობა, რომ სეფაროზიდან მოხლეჩილი აქტიური მიტოგენის გარკვეული რაოდენობა, არ შეაღწევს უჯრედში და არ მოახდენს რეაგირებას უჯრედული აპარატის რომელიმე შიდაუჯრედულ ელემენტთან და შედეგად არ ამოქმედდება აქტივაციის რომელიმე გვიანი პროცესი. ხსნადი ფჰა-ს და კონ A-ს გამოყენებით შეიძლება განისაზღვროს უჯრედის შიგნით მოხვედრილი მიტოგენის რაოდენობა, თუმცა ამ შედეგს აქვს თუ არა აქტივაციისათვის რამე მნიშვნელობა დღემდე უცნობია.

კარბოქსილ მეთილ-სეფადექსიანი ქრომატოგრაფიით, საწყისი ფჰა შეიძლება დაიყოს, მაღალი ჰემაგლუტინაციის და დაბალი მიტოგენური აქტიურობის (R-ფჰა), ასევე დაბალი ჰემაგლუტინაციის და მაღალი ლეიკოციტ-მააგლუტინირებელი და მიტოგენური აქტიურობის (L-ფჰა) ფრაქციებად. L და R-ფჰა ასოცირებულია ერთმანეთთან. α და β სუბერთეულების ამინომჟავური თანმიმდევრობების ანალიზი მოწმობს, რომ L და R ფჰა-ს შემზოქავი უნარების სხვაობა, განისაზღვრება ძალიან შეზღუდულ უბნებში, რამდენადაც α და β სუბერთეულების თანმიმდევრობები მნიშვნელოვანი ხარისხით იდენტურია. ზოგიერთი პარკოსანის ლექტინებს (მაგ: ოსპი, ბარდა, სოიო, არაქისი), გააჩნიათ სუბერთეულების მსგავსი აღნაგობა და ამინომჟავური თანმიმდევრობა, თუმცა განსხვავებიან სპეციფიკური შეკავშირების მიხედვით. წრიული დიქროიზმის მეთოდით ნაჩვენებია იქნა, რომ პარკოსნების ლექტინებისათვის დამახასიათებელია β -სტრუქტურა ე.ი მათი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ყალიბდება წყალბადური ბმების ანტიპარალელური სარჭით, ისე როგორც ეს არის იმუნოგლობულინების დომენებში [6;18].

1.4. ლექტინის გავლენა იმუნურ სისტემაზე

1.4.1. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი

მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი არის, თანდაყოლილი იმუნიტეტის მნიშვნელოვანი ფაქტორი. გამომუშავდება ღვიძლში ინფექციის პასუხად, არის სხვა ფაქტორების

მნიშვნელოვანი ნაწილი და მიჩნეულია როგორც მწვავე ფაზის ცილები. მისი უკმარისობა აისახება ერთ წლამდე ასაკის ახალშობილის სიცოცხლის ხანგრძლივობაზე.

მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი მიეკუთვნება კოლექტინების კლასს, C-ტიპის ლექტინების სუპეროჯახს, რომლის ფუნქცია არის თანდაყოლილი იმუნიტეტის პირველი, სისტემური ხაზის შეცნობა. ლექტინი შეიცნობს მრავალი პათოგენური ბაქტერიის (მათ შორის სალმონელა და სტრეპტოკოკები), სოკოების (მაგ: *Candida albicans*), პარაზიტების (მაგ: ლეიშმანია) უჯრედის ზედაპირზე, და ასევე ვირუსების (მაგ: გრიპის ვირუსი სეროტიპი A და შიდსი) ნახშირწყლოვან კომპონენტებს.

კლინიკურად მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის გენის მუტაცია, ვლინდება ინფექციური აგენტებისადმი მგრძნობელობის მომატებით.

როგორც ყველა კოლექტინები, ასევე მანოზა სპეციფიკური ლექტინი, უკავშირდება აპოპტოზის მდგომარეობაში მყოფ უჯრედებს, რაც აადვილებს მათ ფაგოციტირებას.

მანოზა-სპეციფიკურ ლექტინს გააჩნია ოლიგომერული სტრუქტურა (მოლ: მასა 400-700 კდა), შედგება სუბერთეულებისაგან, თითოეული მათგანი შეიცავს სამ იდენტურ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს. თითოეული ჯაჭვის მოლეკულური მასა 32 კდა-ია. მიუხედავად იმისა, რომ მანოზა სპეციფიკური ლექტინი შეიძლება ჩამოყალიბდეს რამდენიმე ოლიგომერულ ფორმად, არის მონაცემები იმის შესახებ, რომ დიმერები და ტრიმერები არ არიან ბიოლოგიურად აქტიურნი, ისინი ამ თვისებას და ასევე კომპლემენტის აქტივაციას იწვევენ ტეტრამერულ მდგომარეობაში.

1.4.2. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინით კომპლემენტის სისტემის გააქტივება

მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი, ქმნის კომპლექსს სპეციფიკურ სერინულ პროტეაზებთან (MASP-1, MASP-2 და MASP-3), აქედან მხოლოდ MASP-2-ს აქვს სპეციფიკური ფერმენტული აქტიურობა C2 და C4 კომპონენტების მიმართ. კომპლემენტის სისტემის ლექტინური აქტივაცია, მიმდინარეობს მხოლოდ მაშინ, როცა მანოზა-სპეციფიკური ლექტინი ჩამოაყალიბებს კომპლექსს MASP-2-თან (ლექტინ-ფერმენტული კომპლექსი). კავშირი ხდება იმ სტრუქტურასთან, რომელიც შეიცავს

მანოზას ან N-აცეტილ-D-გლუკოზამინს მაგალითად, ბაქტერიის უჯრედის კედელი. ლექტინ-ფერმენტული კომპლექსი, კომპლემენტს ააქტივებს [C1q-(C1s-C1r)₂ კომპლექსის მსგავსად, ეს კომპლექსი კი ააქტივებს კლასიკურ გზას, ხოლო MASP-2 ფერმენტი კომპლექსის შემადგენლობაში, ასრულებს იმავე ფუნქციას რასაც პროტეაზა C1s.

ლექტინური გზა ანტისხეულ-დამოუკიდებელია, რაც მნიშვნელოვანია სწრაფი იმუნური პასუხის ჩამოყალიბებისათვის, მაშინ როცა ორგანიზმს ჯერ კიდევ არ ჩამოუყალიბებია უცხო აგენტის მიმართ ანტისხეულები. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის ნორმალური დონე მერყეობს 100-დან 5000 ნგ/მლ-მდე. ევროპული პოპულაციის 12%-ში ეს დონე დაბალია 100 ნგ/მლ-ზე, რაც იმუნოდეფიციტის ერთ-ერთი სახეა. ასეთმა დაბალმა დონემ შეიძლება გამოიწვიოს სხვადასხვა კლინიკური გამოვლინებები, როგორცაა შებრუნებითი ინფექციური დაავადებები, კრონის დაავადება. მანოზა სპეციფიკური ლექტინის დონის დაქვეითება ასოცირებულია სეფსისის, ფიბროზის, აუტოიმუნური დაავადებების (რევმატოიდული ართრიტი, სისტემური წითელი მგლურა) განვითარების რისკებთან და ორსულობის აუტანლობასთან. აღნიშნული დაავადებების დიაგნოსტიკის დროს მნიშვნელოვანია გათვალისწინებულ იქნას, რომ მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის დონე, ინფექციური პათოლოგიების დროს ბაზისურ დონესთან შედარებით ყოველთვის მომატებულია. მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის დონის ცოდნა მნიშვნელოვანია ორგანოთა ტრანსპლანტაციის პროგნოზისათვის. თუ მისი კონცენტრაცია 100 ნგ/მლ-ზე დაბალია, გადანერგილი გულის და თირკმლის შეხორცება საგრძნობლად უარესდება. თუ ლექტინის დონე მაღალია (>1000 ნგ/მლ) მაშინ არსებობს რისკი გულ-სისხლძარღვთა დაავადების, მიოკარდის ინფარქტის განვითარების განსაკუთრებით, შაქრიანი დიაბეტის ფონზე.

MASP-2 ხლექს C2 და C4-ს და აყალიბებს C3-კონვერტაზა C4b2a-ს. C1 ინჰიბიტორი და α 2 მაკროგლობულინი ფიზიოლოგიურ კონცენტრაციებში, მთლიანად ახდენს ლექტინური კომპლექსის ფერმენტული აქტიურობის ბლოკირებას. ინჰიბიტორების არარსებობისას ეს კომპლექსი ახდენს ბაქტერიების ოპსონიზირებას და მკვეთრად აჩქარებს მათ განადგურებას. MASP-2-ის ნორმალური დონე სისხლის შრატში შეადგენს

170-1200 ნგ/მლ-ზე. MASP-2-ის დაბალი კონცენტრაცია, მეტყველებს ინფექციური დაავადებებისადმი მაღალ მგრძობელობაზე. გარდა ამისა, MASP-2 წარმოადგენს პროგნოზულ მარკერს საყლაპავის ავთვისებიანი და სწორი ნაწლავის სიმსივნის დიაგნოსტიკაში. ამ პროტეაზის მომატებული დონე არასასურველი პროგნოზის ნიშანია ონკოლოგიაში.

ევოლუციურად ძველი MASP-1-ის აქტიურობა თრომბინის მსგავსია, რაც სავარაუდოდ მიუთითებს MASP-1-ის მონაწილეობაზე თანდაყოლილ იმუნიტეტში, რომელიც დაფუძნებული იყო კოაგულაციაზე. MASP-3 ლიტერატურული მონაცემებით არ მონაწილეობს კომპლემენტის აქტივაციაში. მისი ბიოლოგიური როლი გაურკვეველია. ეს ფერმენტი ხლეჩს სინთეზურ სუბსტრატს, ხოლო ბუნებრივთან მიმართებაში მისი დამოკიდებულება უცნობია.

მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის დონე, ჩვეულებრივ კორელირებს C4b-ის დეპონირების უნართან, თუმცა ლექტინის ერთი და იმავე დონის დეპონირების უნარი შეიძლება ვარიირებდეს 3-რიგის ფარგლებში. C4b-ის დეპონირების დონე, კომპლემენტის ლექტინური გზის აქტივაციის საუკეთესო რაოდენობრივი მაჩვენებელია, რამდენადაც თავის მხრივ ეს არის ლექტინური კომპლექსის აქტიურობის შეფასებაც.

იაპონელმა მეცნიერებმა შეისწავლეს მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის შემცველობა სისხლის შრატში, თავზურგტვინის სითხესა და შარდში. გამოკვლეული იყო 1085 ადამიანი 3-დან 100 წლამდე. ანალიზის შედეგებმა ცხადყო, რომ ლექტინის ინდივიდუალური სხვაობა შრატში არის 0.07-დან 6.04-მდე მკგ/მლ. თავ-ზურგტვინის სითხესა და შარდში ლექტინის რაოდენობა შესაბამისად იყო 100-ჯერ და 1000-ჯერ დაბალი, ვიდრე სისხლის შრატში. ასაკის ზრდასთან ერთად 30 წელზე ზემოთ მანოზა-სპეციფიკური ლექტინის შემცველობა შრატში იკლებს და შეინიშნება ამ პარამეტრის განაწილების ბიომოდალური ტრანსფორმაცია ნორმალურთან მიმართებაში, რაც აუცილებლად უნდა იყოს გათვალისწინებული პაციენტთა ასაკობრივ ჯგუფებში.

1.5. ადამიანის ორგანიზმში არსებული ზოგიერთი ლექტინის როლი დიაგნოსტიკაში

სურფანქტანტის სისტემა არის ცილა-ლიპიდური შრე, რომელიც ალვეოლის ზედაპირს ფარავს და უზრუნველყოფს ზედაპირული დაჭიმულობის შემცირებას, რათა შენარჩუნდეს მათი ელასტიკურობა და არ მოხდეს ფილტვების კოლაფსი. ფილტვის სურფანქტანტის ცილოვანი კომპონენტი არის 4 კარგად შესწავლილი ცილა, აქედან SP-A-ს და SP-D-ს აქვს ლექტინური აქტიურობა. სურფანქტანტში ძირითადად წარმოდგენილია SP-A, რომლის საერთო რაოდენობა შეადგენს მთლიანი ცილების 50%-ს. რესპირატორული დისტრესს სინდრომის დროს SP-A მკვეთრად მატულობს. შეფარდება SP-A/ SP-D იზრდება 1.1-დან 5.5-მდე. აღნიშნული დაავადება არის ახალშობილთა სიკვდილის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზი. შესაძლებელია ამ ცილების განსაზღვრა ორსულობის XXVI კვირაზე ამნიონურ სითხეში და მომავალში შესაბამისი ზომების მიღება [14].

სურფანქტანტის ცილების მთავარი ლექტინური აქტიურობა ვლინდება, ალვეოლურ მაკროფაგების გამააქტივებელ ზემოქმედებაში, ჟანგვითი მეტაბოლიზმის შერჩევით სტიმულაციაში, პირდაპირი ზემოქმედება ბაქტერიებსა და გრიპის ვირუსზე. ნათელია, რომ მათ აქვთ ოპსონინის ფუნქცია.

ფილტვის პათოლოგიის შემთხვევაში SP-D განიცდის ძლიერ ცვლილებებს, ვიდრე SP-A. SP-A-ს დონე იდიოპათიური ფილტვის ფიბროზის დროს იზომება 23 ნგ/მლ-დან - 79 ნგ/მლ-მდე, ხოლო ალვეოლური პროტეინოზის დროს 77 ნგ/მლ-მდე. 23 ნგ/მლ ფიქსირდება ჯანმრთელ ადამიანებში. SP-D ჯანმრთელებში შეადგენს 66-69 ნგ/მლ-ზე, ხოლო ფილტვის იდიოპათიური ფიბროზის დროს იზრდება 339 ± 38 ნგ/მლ-მდე. ალვეოლური პროტეინოზების დროს 461 ± 148 ნგ/მლ-მდე, ფილტვის ტუბერკულოზის დროს 119 ± 20 ნგ/მლ-მდე, კოლაგენოზების დროს 472 ± 144 ნგ/მლ-მდე, ხოლო სარკოიდოზის დროს 104 ± 156 ნგ/მლ-მდე.

ინფორმაციული აღმოჩნდა SP-A-ს დონის განსაზღვრა ფილტვის სიმსივნეების დროსაც.

დიაგნოსტიკაში მნიშვნელოვანია სელექტინების როლიც. გამოვლინდა სპეციფიკური იმუნური დაავადება, მათ შორის ლეიკოციტების ადჰეზიის დარღვევის სინდრომი, რომლის მოლეკულური საფუძველია უჯრედის ზედაპირზე P და E სელექტინების რეცეპტორების არარსებობა [14].

L-სელექტინი ხსნად ფორმაში ინარჩუნებს თავის ბიოლოგიურ აქტიურობას, თუმცა რამდენადმე აინჰიბირებს ლეიკოციტების მიმაგრებას ენდოთელური უჯრედების მონოშრეში. ხსნადი სელექტინები, როგორც ჩანს, ასრულებენ მნიშვნელოვან პათოფიზიოლოგიურ როლს, რამდენადაც მათი რაოდენობა სისხლში შეიძლება გაიზარდოს 2-4-ჯერ ისეთი დაავადებების დროს როგორცაა შიდსი, სეფსისი, დიაბეტი, სარძევე ჯირკვლების და კუჭის კიბო, სკლეროდერმია, მალარია, სისტემური წითელი მგლურა, გიგანტურ უჯრედოვანი არტერიიტი, თრომბოციტური პურპურა. სისხლსა და სხვა ბიოლოგიურ სითხეებში არსებული აღნიშნული ლექტინები, სახავს ახალ გზებს კლინიკურ დიაგნოსტიკაში.

ზოგიერთი მონაცემებით გალექტინები მონაწილეობენ ზრდის პროცესებში, უჯრედის ადჰეზიის და მიგრაციის პროცესებში, ჩართულები არიან ანთების საწინააღმდეგო პროცესებში. მაგალითად, გალექტინ 3 იკავშირებს IgE-ს რეცეპტორებს ღრუბლისებრი უჯრედების ზედაპირზე. ამასთან გალექტინ 3-ს აქვს უნარი გამოათავისუფლოს სეროტონინი და ამასთან IgE-ს დამოკიდებულებით მიმდინარე ალერგიულ რეაქციებში ბიოლოგიური რეგულატორი. გალექტინები ახდენენ ნეიტროფილების სტიმულაციას, დეგრანულაციის ინდუცირების გზით და ნეიტროფილებში გენერირებენ სუპეროქსიდაზურ ანიონ-რადიკალს, ეს პროცესი მეტად აქტიურია ციტოქოლაზინ B-ს თანაობისას.

მთელი რიგი პათოლოგიების დროს, სისხლში ადგილი აქვს, ლექტინის მსგავსი ცილების რაოდენობრივ მომატებას. ინფექციური ეტიოლოგიის, ქსოვილთა დაზიანების, ონკოლოგიური დაავადებების მთავარ მარკერად, წარმოდგენილია პენტრაქსინები - C რეაქტიული ცილა CRP (C-reactive protein) და ადამიანის შრატში ამილოიდური ცილა SAP (serum amyloid P component). CRP ურთიერთქმედებს პნევმოკოკის პოლისაქარიდ C-თან, უფრო ზუსტად ზოგიერთ გალექტინთან. ორივე პენტრაქსინი ურთიერთქმედებს

ნეიტროფილებთან და მაკროფაგებთან, მათი პირდაპირი მოქმედება სისხლის უჯრედებზე ნაკლებად არის შესწავლილი, რაც როგორც ჩანს, დაკავშირებულია იმუნოგლობულინების რეცეპტორებით უჯრედების აქტივაციასთან. ცდებმა აჩვენა, რომ ორივე ცილას შეუძლია კომპლემენტის სისტემასთან ურთიერთქმედება და *in vitro* ააქტივებენ ნეიტროფილებს და მაკროფაგებს. თუმცა აღსანიშნავია, რომ CRP-ის და SAP-ის კონკრეტული ფუნქცია ადამიანის ორგანიზმში უცნობია. ადამიანის სისხლის შრატში, საკონტროლო მიზნით CRP-ის დონის განსაზღვრა, რეკომენდირებულია ინფექციური და ანთებით დაავადებების დროს. ნორმაში CRP-ის დონე შეადგენს საშუალოდ 0.8 მკგ/მლ-ს და არ აჭარბებს 3 მკგ/მლ-ზე, მაშინ როცა მწვავე ანთების შემთხვევაში, შრატში მისი რაოდენობა იზრდება 1000-ჯერ. CRP-გან განსხვავებით SAP წარმოდგენილია არა მარტო სისხლში, არამედ სხვადასხვა ტიპის უჯრედების ამილოიდურ დეპოზიტში და გამოიყენება ისეთი სპეციფიკური დაავადების დიაგნოსტიკაში, როგორცაა სისტემური ამილოიდოზი, რევმატული ართრიტი და ალცჰეიმერის დაავადება [14].

აღსანიშნავია, რომ ენდოგენური ლექტინების გვერდით, ორგანიზმში მნიშვნელოვანი რაოდენობით წარმოდგენილია ნახშირწყალშემბოჭავი ანტისხეულები, რომლებსაც შეუძლიათ მონაწილეობა მიიღონ მსგავს გლიკობიოლოგიურ რეაქციებში და დაკავშირების საიტებთან კონკურენცია გაუწიონ ენდოგენურ ლექტინებს. ნახშირწყალშემბოჭავი ანტისხეულები, ორგანიზმში გამომუშავდება სხვადასხვა გლიკოპროტეინებით იმუნიზაციის შემთხვევაში, რომელთა ნახშირწყლოვანი უბანი, როგორც აღმოჩნდა, ფლობს ძლიერ ანტიგენურ თვისებებს. მაგალითად შეიძლება მოყვანილ იქნას, ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის (EGF) და რძეში არსებული გალაქტოზილ-ტრანსფერაზის წინააღმდეგ მონოკლონური ნახშირწყალშემბოჭავი ანტისხეულები. ეს ანტისხეულები ავლენენ მაღალ სწრაფვას, სისხლის ჯგუფების ნახშირწყლოვანი ანტიგენების ტიპის მიმართ, რომლებსაც აქვთ ოლიგოსაქარიდული სტრუქტურა. სისხლში მაღალი შემცველობა ახასიათებს, იმუნოგლობულინების გალაქტოზასპეციფიკურ ფრაქციებს. ისინი მოცირკულირე ანტისხეულების დაახლოებით 1%-ს შეადგენს. სავარაუდოდ ანტი-Gal ანტისხეულები, მონაწილეობენ

იმუნოლოგიური ბარიერის ფორმირებაში, ცხოველიდან ადამიანში ორგანოების ქსენოტრანსპლანტაციის დროს [14].

განხილული მონაცემები მიუთითებს იმაზე, რომ ენდოგენური ლექტინები არიან ახალი ტიპის ბიოლოგიური და იმუნოლოგიური მარკერები, რომლებიც კარგი საშუალებაა, ანთებითი და ონკოლოგიური დაავადებების სადიაგნოსტიკოდ.

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1. კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტად ვიყენებდით ალოეს ერთ-ერთ სახეობას - *Aloe aristata*. მისი სისტემატიკური დახასიათება ასეთია:

სამეფო	Plantae
რიგი	Asparagales
ოჯახი	Xanthorrhoeaceae
ქვეოჯახი	Asphodeloideae
გვარი	Aloe
სახეობა	A. Aristata

მისი სამშობლო სამხრეთ აფრიკაა, გავრცელების საზღვარი მოიცავს, სამხრეთ აფრიკის აღმოსავლეთ და დასავლეთ კაპის პროვინციას, თავისუფალ შტატს, ლესოტოს და კვაზულუ-ნატალის ტერიტორიებს. ჩვენთან დეკორატიული სახით არის გავრცელებული. იზრდება ქვიშიან ველებზე, ციცაბო მთიან-კლდოვან ადგილებში, ზღვის დონიდან 1600 მ-მდე. ადვილად ეჯვარება გასტერიას გვარის წარმომადგენლებს.

A. *arborescens*-თან შედარებით, როგორც დეკორატიული მცენარე, ნაკლებად გავრცელებულია და ნაკლებად შესწავლილი.

ხასიათდება სუკულენტური ფოთლებით, რომელიც შეკრებილია მჭიდროდ, მრგვალ როზეტებად (დიამეტრი 8-10 სმ). ფოთლები 8-10 სმ სიდიდის ფართო ლანცეტისებრი, ფუძესთან 1-1.5 სმ სიგანის, ფერით მუქი მწვანეა, ფოთლის გვერდით კიდეებზე განლაგებულია პატარა გამჭვირვალე ეკლები. ფოთლების ზედაპირზე, განსაკუთრებით ქვედა მხარე, დაფარულია მრავალრიცხოვანი რბილი გამჭვირვალე ეკლებით, რომელიც განლაგებულია გარდი-გარდმო ერთი ან ორი მწკრივით. ფოთლის მწვერვალი მთავრდება თეთრი ქიცვით (ამით განსხვავდება ჰავორციასაგან. გარდა ამისა, მცენარე ჰავორციას ფოთლის ქვედა ნაწილში, შეიმჩნევა რკალის მსგავსი წარმონაქმნი, ალოეს ფოთოლს კი ეს ნაწილი სწორი აქვს და თან ოდნავ მომრგვალებული).

„Aristata“ ნიშნავს ფხიანს. მას ჯუჯა ალოესაც უწოდებენ.

ოთახის პირობებში ყვავილობს გაზაფხულ-ზაფხულში (მაისი-ივნისი და ივლისი-აგვისტო). ყვავილეთი 50 სმ-მდე სიმაღლისაა. ყვავილები სხედან მოკლე ფეხზე, მილისებრია, ნარინჯისფერ-ყვითელი ფერის, სიგრძით 40 სმ.

ნიადაგის მხრივ აუცილებელია ქვიშა და მიწა შეფარდებით 1:1. ნიადაგი არ უნდა შეიცავდეს ტორფს. ქოთანს უნდა იყოს არალრმა, საკმარისად ფართო. ცივ პირობებში (5-10°C) საჭიროებს 2-3 კვირაში ერთხელ მორწყვას, ოთახის ტემპერატურაზე კვირაში ერთხელ. *Aloe aristata* ზამთარშიც კარგად გრძნობს თავს თუ ოთახის ტემპერატურა 5-10°C-ია, საჭიროა ნათელი ადგილი.

მზეზე *Aloe aristata*-ს ფოთლები ხდება ჩალისფერი, მტვრევადი, მაგრამ საკმარისია წყლის დამატება და რამდენიმე დღეში იბრუნებს მწვანე ფერს.

Aloe aristata-ს ფენოტიპური ვარიანტია *Aloe longaristata*, რომელიც უფრო გრძელი ფოთლებით და ღია მწვანე ფერით ხასიათდება.

ზოგადად ალოე, როგორც სამკურნალო მცენარე უძველესი დროიდან გამოიყენება. სამკურნალო პრაქტიკაში გამოიყენება მისი ფოთოლი, წვენი, ექსტრაქტი (საბური). საბურზე წერდნენ ძველი დროის მკურნალები სამედიცინო ტრაქტატებში, მას იყენებდნენ მრავალი დაავადების სამკურნალოდ და ძვირიც ღირდა.

თანამედროვე მედიცინაში ალოეს წვენი ფართოდ გამოიყენება. მისგან იღებენ ბიოგენურ სტიმულატორებს, რომელიც გარემოს არახელსაყრელი პირობების ზემოქმედებით, ცოცხალ ქსოვილში გამომუშავდება (მათ შორის მცენარეებში).

სადღეისოდ ბიოგენურ სტიმულატორებს იღებენ ქარხნული წესით. ამ მიზნით ალოეს მოჭრილ ფოთლებს ათავსებენ სიბნელეში 0°C ტემპერატურასთან ახლოს 3 კვირით. შემდეგ იღებენ წვენს, ამუშავებენ თერმულად და უშვებენ ამპულებში, რომლის გამოყენება ხდება როგორც ინექციით, ისე შიგნით მისაღებად.

ალოეს სამკურნალო თვისებებს იყენებენ პირის ღრუს, ყელის, სასუნთქი ორგანოების, თვალების, კანის დაავადებების (დამწვრობა, ჩირქიანი ჭრილობა, ფურუნკულოზი, დერმატიტი), კუჭ-ნაწლავის დაავადებების, ქალის და მამაკაცის სასქესო ორგანოების დაავადებების და სხვათა დროს.

ალოეს წვენი გამოიყენება ხალხურ მედიცინაშიც. ის ეფექტურია მრავალი სახეობის ბაქტერიის წინააღმდეგ: სტრეპტოკოკის, სტაფილოკოკის, დიფტერიის და დიზენტერიის მიმართ. კოსმეტოლოგიაში პოპულარულია ალოეს ნიღბები სხვადასხვა კომპონენტებით.

ექსტრაქტს, როგორც სამედიცინო პრეპარატს უშვებენ ფხვნილის სახით. ეფექტი მიიღწევა პრეპარატის შიგნით მიღებიდან 8-10 საათის შემდეგ.

ალოეს წვენი გამოდის ფლაკონებში. იყენებენ ლორწოვანი გარსის და კანის ეპითელის რეგენერაციის სტიმულირებისათვის. შიგნით მიღება აუმჯობესებს საკვების მონელებას და მოქმედებს დამამშვიდებლად.

ალოეს თხევადი ექსტრაქტი გამოიყენება თვალების დაავადებების შემთხვევაში. კუჭის და თორმეტგოჯა ნაწლავის წყლულის დროს გამოიყენება, როგორც შიგნით მისაღებად, ისე ინექციის სახით.

ალოეს კრემი გამოიყენება მრავალძარღვას, ნეგოს, გვირილას, ოროვანდთან და სხვა მცენარეებთან ერთად, როგორც ჭრილობის შეხორცების, ანთების, ასევე ანტისეპტიკური საშუალება ნებისმიერი სახის კანისათვის.

რკინით გამდიდრებული ალოეს სიროფი გამოიყენება ანემიის საწინააღმდეგოდ.

ყოველივე ზემოთაღნიშნულმა განაპირობა ჩვენი ინტერესი ალოეს ერთ-ერთი სახეობის *Aloe aristata*-ს მიმართ, ამას ემატებოდა ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე გაკეთებული დასკვნა, რომელიც მიუთითებდა მის შეუსწავლებლობაზე. ასევე ჩვენთვის მეტად საინტერესო იყო, დღემდე უცნობი *Aloe aristata*-ს ლექტინების გამოვლენა, მათი ბიოქიმიური დახასიათება და ბიოლოგიური როლის შესწავლა. კვლევის ობიექტად შერჩეული იქნა ალოეს ფოთლები, ფესვი და ბოლქვი.

2.2. კვლევის მეთოდები

2.2.1. ლექტინური აქტიურობის განსაზღვრა ჰემაგლუტინაციის მეთოდით.

აგლუტინაციას საფუძვლად უდევს ლექტინების უნარი, დაუკავშირდნენ მეზობელი უჯრედების ზედაპირზე განლაგებულ ნახშირწყლებს, წარმოქმნან მათ შორის მრავალრიცხოვანი მოლეკულური ხიდაკები და გამოიწვიონ მათი შეწყება ანუ აგლუტინაცია.

ცილის ჰემაგლუტინაციურ ანუ ლექტინურ აქტიურობას ვსაზღვრავდით Liener-ის მეთოდით [40]. ამისათვის ცილის ხსნარს, რომელიც დამზადებული იყო PBS (კალიუმის დიჰიდროფოსფატი (0.4 mM, KH_2PO_4) და 0.9 NaCl%-იან ხსნარი) ბუფერის საფუძველზე, ვტიტრავდით სამიკროტიტრაციო ფირფიტებზე იმავე ბუფერში, რითაც ვაღწევდით ხსნარის საწყისი რაოდენობის განზავებას 2, 4, 8, 16, 32-ჯერ და ა.შ. ტიტრაციის შემდეგ ყოველ ბუდეში ვუმატებდით 50 მკლ PBS-ს. შემდეგ კი ფირფიტის თითოეულ ფოსოში, თანაბრად შეგვქონდა ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების წინასწარ მომზადებული 2% სუსპენზია, 50 მკლ-ის რაოდენობით. ინკუბაციისათვის ფირფიტას ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 2 სთ. განმავლობაში და შემდეგ ვიზუალურად ვსაზღვრავდით ლექტინურ აქტიურობას. აგლუტინაციის არარსებობისას, ერითროციტები მკაფიოდ გამოკვეთილი წერტილის

სახით ილექება ბუდის ფსკერზე, ხოლო აგლუტინირებული ერითროციტები, თანაბარ შრედ ავსებენ ბუდის ფსკერს (სურათი №1). ლექტინურ აქტიურობად ვთვლიდით ცილის იმ მინიმალურ კონცენტრაციას, რომელიც ჯერ კიდევ იწვევდა ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების აგლუტინაციას.

ჰემაგლუტინაციის ხარისხს ვაფასებდით ცილის ექსტრაქტის სპეციფიკური აქტიურობას მიხედვით (1 მგ ცილის ის მაქსიმალური განზავება, რომელიც ჯერ კიდევ იწვევს აგლუტინაციას) $SA=T/C$ (მლ/მგ) სადაც T (ტიტრი) არის ცილის განზავების მნიშვნელობა პლანშეტის იმ ფოსოში, სადაც ჯერ კიდევ შეინიშნება ჰემაგლუტინაცია, ხოლო C - ცილის კონცენტრაცია, გამოსახული მგ/მლ ერთეულებში.

ლექტინების შემცველობას ვსაზღვრავდით, ცილის კონცენტრაციის შეფარდებით ლექტინურ აქტივობასთან (პირობით აგლუტინაციურ ერთეულებში).

2.2.2. ლექტინური მაჩვენებლების გამოთვლა

1. ლექტინის მინიმალური აქტიურობა.

2. ჰემაგლუტინაციური ტიტრი: $T=2^n$ სადაც

T - ჰემაგლუტინაციის მინიმალური ტიტრი.

2 - განზავების მაჩვენებელი

n - იმუნოლოგიური პლანშეტის ფოსოების რაოდენობა, სადაც სრული აგლუტინაცია შეინიშნება.

3. ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა: SHA (Specific Haemagglutination Activity)

$SHA=T/C$ სადაც T - ჰემაგლუტინაციის მინიმალური ტიტრი.

C - ცილის კონცენტრაცია.

4. ლექტინის მინიმალური ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა

$$MHA = \frac{C}{T} * 1000/200$$

სადაც C - ცილის კონცენტრაცია (50 მკლ ექსტრაქტში)

T - მინიმალური ტიტრი

5. ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა განისაზღვრება - $T * m$

სადაც T - ჰემაგლუტინაციის მინიმალური ტიტრი.

m - მცენარის ქსოვილის მასა, საიდანაც ლექტინი გამოიყო.

6. ლექტინის კონცენტრაცია: $LC = \frac{1}{T * m}$ სადაც

LC - ლექტინის კონცენტრაცია.

T - ჰემაგლუტინაციის მინიმალური ტიტრი.

m - მცენარის ქსოვილის მასა, საიდანაც ლექტინი გამოიყო.

ექსპერიმენტული მონაცემები მიღებულია ცდების სამჯერადი განმეორების შედეგად.

2.2.3. ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების მომზადება

ბოცვრის ყურის ვენიდან აღებული სისხლი სწრაფად გადაგვექონდა Na-ციტრატის შემცველ ფიზიოლოგიურ ხსნარში (3.8% Na-ციტრატი, დამზადებული 0,9%-იან NaCl-ზე) შეფარდებით 1:9. ამის შემდეგ სისხლს ვაცენტრიფუგირებდით 2000გ-ზე (2000 ბრ/წთ) 10 წთ-ის განმავლობაში (ცენტრიფუგა TY 5.3 75-4261-76, როტორი PY 180). ერითროციტების ნალექს სამჯერ ვრეცხავდით 0.9% NaCl-ის ათმაგ მოცულობაში ცენტრიფუგირებით 2000 გ-ზე 10 წთ. შემდეგ ვსაზღვრავდით ჰემატოკრიტს და ვახდენდით ტრიფსინიზაციას: ერითროციტების ნალექის ყოველ 1 მლ-ს ემატება 25 მლ 0,9% NaCl-ზე დამზადებული K^+ -ფოსფატის ბუფერი (pH7.4), რომელიც შეიცავს 1.8 მგ/მლ ტრიფსინს. ერითროციტების სუსპენზიას ვათავსებდით საინკუბაციოდ თერმოსტატში. 1 სთ $+37^{\circ}C$ -ზე (თერმოსტატი 2Y-450 HTC-80). ინკუბაციის შემდეგ ერითროციტებს სამჯერ ვრეცხავდით PBS-ის ათმაგ მოცულობაში, ვაცენტრიფუგირებდით სამედიცინო ცენტრიფუგაზე 2000 გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში და კვლავ ვსაზღვრავდით ჰემატოკრიტს, ფიზიოლოგიური ხსნარის

საფუძველზე ვამზადებდით ერთროციტების 2% სუსპენზიას, რომელსაც ვიყენებდით ჰემაგლუტინაციური აქტიურობის განსაზღვრისათვის.

2.2.4. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა

ცილის რაოდენობას ვსაზღვრავდით ლოურის მეთოდით. ამ მეთოდს საფუძველად უდევს არომატული ამინომჟავების (თიროზინი, ტრიფტოფანი) შეღებილი პროდუქტების წარმოქმნა ფოლინ-ჩიოკალტოს რეაქტივთან. ეს პროცესი მოიცავს ბიურეტის რეაქციას (პეპტიდურ ბმებზე) და ფოლინის რეაქციას (თიროზინზე და ტრიფტოფანზე), რეაქცია შესაძლებლობას იძლევა განისაზღვროს 10-100 მკგ ცილა სინჯში. გამოიყენება შემდეგი რეაქტივები: (A): Na_2CO_3 -ის 2%-იანი ხსნარი დამზადებული 0.1M NaOH-ზე; (B): 0,5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, დამზადებული ნატრიუმის ციტრატის 1%-იან ხსნარზე; (C) მზადდება ცდის წინ: 50 მლ A რეაქტივს ემატება 1 მლ B რეაქტივი (50 : 1); (D): ფოლინ-ჩიოკალტოს რეაქტივი.

საკვლევი ხსნარის 1 მლ-ს ვუმატებდით 2 მლ C რეაქტივს, ვურევდით და ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე 10 წთ, შემდეგ ვამატებდით 0,05 მლ ფოლინ-ჩიოკალტოს რეაქტივს. სინჯარას ვანჯღრევდით და 30 წთ-ის შემდეგ ვზომავდით შთანთქმას 750 ნმ ტალღის სიგრძეზე. BSA-ს საფუძველზე კალიბრირებული მრუდის საშუალებით ვახდენდით ცილის რაოდენობის განსაზღვრას.

ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრისას ასევე ვიყენებდით ბრედფორდის მეთოდს. რეაქცია წარმოიქმნება საღებავ კუმასი G-250-სა და ცილას შორის კავშირით. თავისუფალ საღებავს ახასიათებს ოთხი იონური ფორმა. ყველაზე მეტად ანიონური ფორმა უკავშირდება ცილებს და გააჩნია ოპტიკური სიმკვირვე 590 ნმ ტალღაზე. ცილის კონცენტრაცია ისაზღვრება სპექტროფოტომეტრით 595 ნმ ტალღაზე. საღებავი ცილის მოლეკულაში ძირითად რეაქციაში შედის არგინინთან, ტრიფტოფანთან, ტიროზინთან, ჰისტიდინთან, ფენილალანინთან.

2.2.5. ლექტინების ნახშირწყლების მიმართ სპეციფიკურობის დადგენა

ნახშირწყლების მიმართ ლექტინების სპეციფიკურობას ვსწავლობდით ჰაპტენ-ინჰიბიტორული მეთოდის გამოყენებით. ანალიზისათვის ვიყენებდით მარტივი ნახშირწყლების, PBS ბუფერის საფუძველზე დამზადებულ 0.6 M ხსნარებს. ჩვენს მიერ გამოყენებული იქნა 5 ნახშირწყალი: D-გალაქტოზა, N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინი, D-მანოზა, L-ფუკოზა, D-გლუკოზა, ნახშირწყლების ხსნარს ვტიტრავდით 100 mM-დან კლებადი კონცენტრაციით, სამიკროტიტრაციო იმუნოლოგიურ ფირფიტაზე. ფირფიტის ყველა ფოსოში თანაბარი კონცენტრაციით შეგვქონდა ლექტინის ხსნარი. ლექტინის ხსნარი დამზადებული იყო PBS-ის საფუძველზე და მისი კონცენტრაცია შეესაბამებოდა ცილის იმ მინიმალურ რაოდენობას, რომელიც ჯერ კიდევ იწვევდა ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერთროციტების აგლუტინაციას. ჰაპტენის სპეციფიკურობაზე ვმსჯელობდით ნახშირწყლის იმ მინიმალური კონცენტრაციის მიხედვით, რომელიც იწვევდა ლექტინის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობის დათრგუნვას.

2.2.6. ლექტინების თერმოსტაბილურობის შესწავლა

ლექტინების თერმოსტაბილურობის შესწავლის მიზნით ნაწილობრივ გასუფთავებული ლექტინური ფრაქციების ინკუბაციას ვახდენდით წყლის აბაზანაში 20, 40, 60, 80, და 100°C ტემპერატურაზე, 20 წუთის განმავლობაში. დამუშავებულ სინჯებს ვაცივებდით ყინულოვან აბაზანაში (20წთ), რის შემდეგაც ვაცენტრიფუგირებდით დენატურირებული ცილის ნალექის მოცილების მიზნით (8000g, 10 წთ) და სუპერნატანტებში ვსაზღვრავდით ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობას ოთახის ტემპერატურაზე.

2.2.7. ლექტინების ჰემაგლუტინაციური აქტივობის H^+ იონების კონცენტრაციაზე

დამოკიდებულების შესწავლა

ლექტინების ჰემაგლუტინაციურ აქტივობაზე H^+ იონების კონცენტრაციის გავლენას ვსწავლობდით pH 5.0-დან – pH 9.0-მდე დიაპაზონის PBS ბუფერში, 1.0 ერთეულის შუალედებით.

გასუფთავებული ცილის ხსნარს (PBS, pH 7.4) ვტიტრავდით კლებადი კონცენტრაციის მიხედვით სამიკროტიტრაციურ იმუნოლოგიურ ფირფიტაზე, შესაბამისი pH-ის მქონე PBS-ში. აგლუტინაციისათვის ვიყენებდით ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერთროციტების 2% სუსპენზიას, რომელიც დამზადებული იყო აგრეთვე შესაბამისი pH-ის მქონე ბუფერის საფუძველზე.

2.2.8. ლექტინების ექსტრაქცია

მცენარულ მასალას ვაჰომოგენიზირებდით ფაიფურის როდინში შემდეგ საექსტრაქციო არეში: 0.9% NaCl, 0,04M K^+ -ფოსფატის ბუფერი, pH 7.4 (PBS), 0.1% β -მერკაპტოეთანოლი, შეფარდებით 1/10 (გ/მლ); ექსტრაქციას ვახდენდით მაგნიტურ სარეველაზე 1 საათის განმავლობაში, $+20^{\circ}C$ -ზე. ექსტრაქტს ვფილტრავდით ორმაგ დოლბანდში და ვაცენტრიფუგირებდით 8000გ-ზე 20 წთ; სუპერნატანტს ვფილტრავდით შუშის ფილტრებში. ექსტრაგირებულ ცილებს ვლექავდით ამონიუმის სულფატით 0-100% გაჯერების პირობებში; ფრაქციებს ვაცენტრიფუგირებდით 9000გ-ზე 20 წუთის განმავლობაში, $1-4^{\circ}C$ -ზე („Beckman“ SW-27 როტორი); ნალექს ვხსნიდით მინიმალური

მოცულობის PBS-ში, ვაჰომოგენიზირებით მინის ჰომოგენიზატორში, კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით (8000 ბრ/წთ, 20 წთ) და ვფილტრავდით Whatman CF/C და 0,45 μ ფილტრებში. შემდეგ ეტაპზე ვახდენდით სუპერნატანტის ცილების გამომარილებას (დალექვას) ამონიუმის სულფატით $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0-90% გაჯერების პირობებში. გამომარილებულ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით 9000 ბრ/წთ 10 წთ, +4°C ტემპერატურაზე. ნალექს ვხსნიდით 0.9%NaCl + 40mM K⁺-ფოსფატის ბუფერში (pH 7.4), ვაჰომოგენიზირებდით შუშის ბურთულიან ჰომოგენიზატორში და კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით 9000 ბრ/წთ 10 წთ. სუპერნატანტის დიალიზს ვახდენდით G-25 ან G-10 სეფადექსის გელით დატენილ სვეტზე. ექსტრაქტს ვინახავდით +4°C ტემპერატურაზე.

2.2.9. ცილის ფრაქციონირება გელ-ფილტრაციის მეთოდით

გელ-ფილტრაციის მეთოდით ცილის ფრაქციონირებისათვის ვიყენებდით HW-55 გელის სვეტს (1.5სმX44სმ) სვეტზე დაგვქონდა 0,9% NaCl + 40mM K⁺-ფოსფატის ბუფერით (pH 7.4) ექსტრაგირებული და ამონიუმის სულფატით (0-90% გაჯერების პირობებში) გამომარილებული ცილის ფრაქცია (1 მგ/მლ). ქრომატოგრაფიას ვატარებდით შემდეგ პირობებში: ელუციის სიჩქარე 0.5 მლ/წთ. დეტექტირება - 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე, ქაღალდის სიჩქარე 0.5 მმ/წთ, მგრძნობელობა 1.28, საელუციო ბუფერი 0.9% NaCl + 40mM K⁺-ფოსფატის ბუფერი (pH7.4). სვეტიდან გამოსულ ფრაქციებს ვანალიზებდით ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცილის ფრაქციონირებისათვის ვიყენებდით Toyopearl HW-55 გელის სვეტებს (1.9×65 სმ; 1.2×2.7სმ), რომლებიც გაწონასწორებული იყო 0.02 M K⁺-ფოსფატის ბუფერით. სვეტიდან ელუირებული ცილის შთანთქმა აღირიცხებოდა 280 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში (დეტექტორი KNAUER). ელუციის სიჩქარე _ 1.2 მლ/წთ, ქაღალდის სიჩქარე _ 1 მმ/წთ. ქრომატოგრაფიულად იდენტიფიცირებული პიკების ცალკეულ ფრაქციებში ვსაზღვრავდით ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობას.

2.2.10. აფინური ქრომატოგრაფია

2.2.10.1. გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებული ერთროციტებით ქრომატოგრაფიული სვეტის მომზადება.

ბოცვრის ერთროციტების გლუტარალდეჰიდით ფიქსაციის მიზნით თავდაპირველად ვახდენდით ერთროციტების ტრიფსინიზაციას ზემოთ აღწერილი მეთოდის მიხედვით.

ვამზადებდით ტრიფსინიზირებული ერთროციტების 2%-იან სუსპენზიას გლუტარალდეჰიდის 2.5 ან 5%-იან ხსნარზე. სააგლუტინაციო ბუფერზე (pH 7.4) და ვდგამდით სანჯღრეველაზე 17 სთ-ის განმავლობაში, +4°C-ზე. ნალექს ვრეცხავდით ოთხმაგი მოცულობის სააგლუტინაციო ბუფერში, ცენტრიფუგირებით (700 გ. 10 წთ.), ვადგენდით ჰემატოკრიტს და ვამზადებდით ერთროციტების 2%-იან სუსპენზიას სააგლუტინაციო ბუფერზე მომზადებული 1 M გლიცინის ხსნარზე (pH 7.4). ვაყოვნებდით სანჯღრეველაზე 17 სთ-ის განმავლობაში, +4°C-ზე. ნალექს კვლავ ვრეცხავდით ოთხმაგი მოცულობის სააგლუტინაციო ბუფერში, ცენტრიფუგირებით (700 გ, 10 წთ.); ჰემატოკრიტის განსაზღვრის შემდეგ ნალექს ვურევდით ბიოგელ P-150-ს შეფარდებით 1:10 და ვამზადებდით გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებული ერთროციტების აფინურ სვეტს ზომით 75×20 მმ. სვეტს კარგად ვრეცხავდით ჯერ სააგლუტინაციო ბუფერით, შემდეგ 0.2M გლიცინ/HCl-ის ბუფერით (pH 3.0). გამოყენების წინ სვეტს ვაწონასწორებდით სააგლუტინაციო ბუფერით.

2.2.10.2. სადიალიზო G10 სვეტი

ლექტინური აქტიურობის მქონე ცილოვანი ფრაქციიდან ლექტინის შემდგომ გასუფთავებას ვახდენდით 0.2N HCl-ით დამუშავებული G10 სვეტზე (1.7×2სმ), რომელიც გაწონასწორებული იყო 0.02M K⁺-ფოსფატის ბუფერით. სვეტზე დაგვექონდა ლექტინური აქტიურობის მქონე ექსტრაქტის 10-15 მლ. სვეტს ვრეცხავდით იმავე ბუფერული ხსნარით.

2.2.11. ცილების ანალიზური ელექტროფორეზი

ცილების ელექტროფორეზს ვატარებდით Laemmli-ის სისტემის გამოყენებით 1.2 მმ სისქის, 12% გრადიენტის პოლიაკრილამიდის გელში 0.2% SDS-ის თანაობისას. ელექტროფორეზი მიმდინარეობდა VWR-ის ფირმის (3.5 სთ, 6-15mA დენის ძალა) და ხელსაწყოში. ელექტროფორეზის მარკერებად გამოყენებულ იქნა, შემდეგი სტანდარტული ცილები (kDa): β-გალაქტოზიდაზა (116), ფოსფორილაზა b (97.4), ხარის შრატის ალბუმინი (66.2), ალკოჰოლდეჰიდროგენაზა (37.6), კარბონჰიდრაზა (28.5), მოიგლობინი (18.4), ლიზოციმი (14). გელი იღებებოდა 0,2% Cumassie G-250 საღებავით.

ბიფიდობაქტერიების კულტურების ზრდისათვის გამოყენებულ იქნა MRS-ის თხევადი საკვები არე (WVR Chemicals): მზადდებოდა მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით, ემატებოდა 0.05 % L-cysteine. კულტურების ზრდა მიმდინარეობდა 37 °C -ზე 72 სთ-ის განმავლობაში.

3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1. ალოეს *Aloe Aristata*-ს ორგანოებიდან (ფოთოლი, ფესვი,

ბოლქვი) ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია.

1979 წელს იაპონელი ბიოქიმიკოსების [62] მიერ *Aloe arborescens*-დან გამოყოფილ იქნა ორი ლექტინი: P-2 და S-1. P-1-ის მოლეკულური მასა არის დაახლოებით 18.000 დალტონი, შეიცავს ორ (α და β) სუბერთეულს. მცირე α -სუბერთეულის მოლ.მასა დაახლოებით 7.500 დალტონია, ხოლო დიდი β -სუბერთეულის დაახლოებით 10.500. S-1-ის მოლ. მასა დაახლოებით 24.000 დალტონია, შეიცავს ორ სუბერთეულს, თითოეულის მოლეკულური მასა 12.000 დალტონია.

S-1-ს გააჩნია ძლიერი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა. P-2-ს ჰემაგლუტინაციის გარდა აღმოაჩნდა მიტოგენური აქტიურობის უნარი, გარდა ამისა, ახდენს შრატის ცილების, მათ შორის α -მაკროგლობულინის პრეციპიტაციას, ააქტივებს C3 კომპლემენტს ალტერნატიული მიმართულებით.

გამომდინარე ალოეს წარმომადგენელთა სამკურნალო თვისებებიდან და ახალი ბიოლოგიურად აქტიური ლექტინების გამოვლენის აქტუალობამ, განაპირობა ჩვენი ინტერესი პრაქტიკულად შეუსწავლელი ალოეს ერთ-ერთი სახეობის *Aloe Aristata*-ს ფოთლის, ფესვის და ბოლქვის ლექტინების მიმართ. ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა ალოეს ორგანოებიდან მიგველო სუფთა სახის ლექტინის ფრაქცია და მოგვეხდინა მისი ბიოქიმიური დახასიათება და შეგვესწავლა მისი თვისებები.

3.1.1. ალოეს ორგანოებიდან მიღებული ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა, ბოცვრის ტრიფსინიზირებულ და ნატიური ერთროციტების აგლუტინაციის მიხედვით

ცდების პირველ სერიაში შევისწავლეთ *A. aristata*-ს ორგანოებიდან მომზადებული ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა. მცენარეული ცილების ექსტრაქციას ვახდენდით კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერით (0.4 mM, KH_2PO_4), რომელსაც ვამზადებდით 0.9 NaCl%-იან ფიზიოლოგიურ ხსნარზე (PBS) .

ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა შესწავლილ იქნა, ბოცვრის ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერთროციტებზე (ცხრილი №1).

ალოეს ორგანოების ექსტრაქტების ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა, ბოცვრის ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერთროციტებზე.

ცხრილი № 1

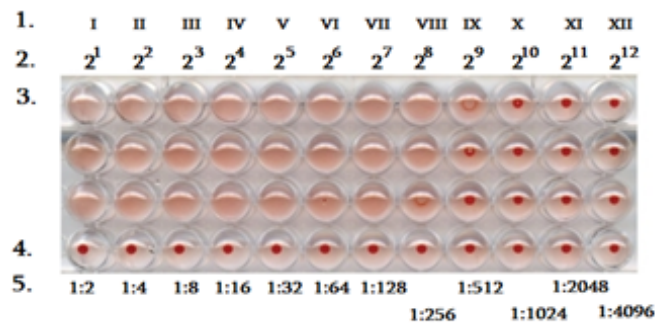
ალოეს ორგანოების ექსტრაქტები		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფოთლის ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.266	2^{10}	3849.62	0.000064941
	ნატიური ერთროციტები		2^5	120.30	0.002078125
ფესვის ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.416	2^5	76.92	0.00325
	ნატიური ერთროციტები		2^3	19.23	0.013
ბოლქვის ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.5	2^6	128	0.001953125
	ნატიური ერთროციტები		2^3	16	0.015625

როგორც №1 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ორგანოებიდან მიღებულ ექსტრაქტებში გამოვლინდა ლექტინური აქტიურობა. ლექტინები ახდენენ, ბოცვრის როგორც

ტრიფსინიზირებული ისე ნატიური ერითროციტების აგლუტინაციას (სურათი №1). ნატიური ერითროციტების აგლუტინაცია გაცილებით სუსტია, ტრიფსინიზირებულ ერითროციტებთან შედარებით. ფოთლის ექსტრაქტში ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა ტრიფსინიზირებული ერითროციტების მიხედვით 50-ჯერ აღემატება ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ სპეციფიკურ აქტიურობას და 30-ჯერ ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას. ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა, ასევე მაღალია ნატიური ერითროციტების მიხედვით, ის 6-ჯერ აღემატება ფესვის, ხოლო 7.5-ჯერ ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობას. ფესვის ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა 1.66-ჯერ დაბალია, ბოლქვის ექსტრაქტთან შედარებით ტრიფსინიზირებული ერითროციტების მიხედვით, ხოლო ნატიური ერითროციტების მიხედვით ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა თითქმის თანაბარია.

ალოეს (*A.aristata*) ლექტინებით ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების აგლუტინაცია

სურათი №1



1. იმუნოლოგიურ ფირფიტაზე ფოსოების რაოდენობა.
2. ტიტრის მაჩვენებელი.
3. ერითროციტების აგლუტინაცია.
4. ერითროციტები აგლუტინაციის გარეშე.
5. ლექტინის განზავების მაჩვენებელი.

3.1.2. ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცდების შედეგომ სერიაში დავადგინეთ pH-ის მნიშვნელობის მიხედვით ის ბუფერული ხსნარი სადაც ლექტინი ავლენდა მაქსიმალურ აქტიურობას. ბუფერული ხსნარები მომზადდა pH-5-დან pH-9-ის ჩათვლით, მასალის ჰომოგენიზაციას ვახდენდით PBS-ში. ვიღებდით ექსტრაქტებს და ვსაზღვრავდით ცილის კონცენტრაციას და ლექტინურ აქტიურობას. თავდაპირველად შევისწავლეთ ალოეს ფოთლის ექსტრაქტი (ცხრილი №2).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცხრილი № 2

pH-ის მნიშვნელობა	(C)	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
pH 5	0.272	2 ⁸	941.18	0.00026562
pH 7.4	0.348	2 ¹⁰	2941.53	0.00008496
pH 8	0.363	2 ⁹	1410.47	0.00017724
pH 9	0.320	2 ⁷	400	0.000625

როგორც

№2 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტი, ბუფერულ ხსნარში მაქსიმალურ ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას ავლენს pH 7.4-ის პირობებში და 68%-ით აღემატება pH 5-ის შემთხვევაში გამოვლენილ ლექტინურ აქტიურობას, 52.05%-ით მეტია pH 8-ის და 86.4%-ით მეტი pH 9-ის შემთხვევაში.

როგორც ცნობილია, ცილის დენატურაციის ერთ-ერთი გამომწვევია ტემპერატურა და pH-ის მკვეთრი ცვლილება. ამიტომ, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტები დავლექეთ ამონიუმის სულფატით და სულფატის მოცილების შემდეგ ცილები გავხსენით PBS-ში, რომლის pH იყო 2. ექსტრაქტი გაიყო სამ ნაწილად და ისინი მოვათავსეთ 24 საათის განმავლობაში +4, +18 და 36.6°C ტემპერატურაზე (ცხრილი № 3).

დაბალი pH-ის და ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცხრილი № 3

pH-ის და ტემპერატურის მაჩვენებლები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(HA) მგ/მლ
ფოთლის ნატიური ექსტრაქტი	0.3	2 ⁸	853.33	0.0002929875
სულფატისგან გათავისუფლებული ცილები	0.72	2 ¹⁵	45511	0.00000549315
+4°C-ზე 24 საათის შემდეგ	0.86	2 ¹²	4762.79	0.0000524902
+18°C-ზე 24 საათის შემდეგ	0.88	2 ¹⁰	1163.63	0.00021484375
+36.6 °C-ზე 24 საათის შემდეგ	0.992	2 ³	8.06	0.031

როგორც №3 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობაზე, გავლენას ახდენს pH-ის მკვეთრი ცვლილება და ტემპერატურისაგან დამოკიდებულება (36.6°C). კერძოდ, აღსანიშნავია, რომ ამონიუმის სულფატიდან გათავისუფლებული და დაბალი pH-ის ბუფერში (pH 2) გახსნილი ცილა, მაღალ აქტიურობას კვლავ ინარჩუნებს რამდენიმე საათის განმავლობაში. ლექტინური აქტიურობა იცვლება 24 საათის განმავლობაში კერძოდ, +4°C-ზე ექსპონირებული ცილის ლექტინური აქტიურობა, ამონიუმის სულფატისაგან გათავისუფლების შემდეგ ლექტინის სპეციფიკურმა აქტიურობამ შეადგინა 4762.79 მლ/მგ ანუ 45511 მლ/მგ-დან შემცირდა 89.53%-ით. +18°C-ზე ექსპონირების შემდეგ ისევ შემცირდა და შეადგინა

SHA=1163.63 (შემცირდა 97.44%-ით), ხოლო +36.6°C-ზე ექსპონირებისას - 8.06 მლ/მგ (შემცირდა 99.83%-ით).

საინტერესო იყო, დაგვედგინა თუ როგორ შეიცვლებოდა ლექტინის აქტიურობა, დაბალი pH-ის მქონე ხსნარის მოცილების შემდეგ. ამ მიზნით სულფატირების შემდეგ ცილა გავხსენით ბუფერში pH 7.4 და დავაყოვნეთ 24 საათი +36.6°C-ზე (ცხრილი №4).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა დაბალი pH 7.4-ზე. pH 2
ბუფერის მოცილების შემდეგ

ცხრილი № 4

ალოეს ფოთლის ცილის მდგომარეობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ცილა pH 7.4 ბუფერში	0.32	2 ¹	6.25	0.04
24 საათის განმავლობაში დაყოვნებული ცილის ექსტრაქტი +36.6°C-ზე	0.328	2 ²	12.19	0.0205

როგორც №4 ცხრილიდან ჩანს, 24 საათის შემდეგ ლექტინურმა აქტიურობა ბუფერში (PBS) pH 7.4 მოიმატა 48.72%-ით. მოხდა ცილის კონცენტრაციის მკვეთრი კლება, დაბალ pH-ის მაჩვენებლებთან შედარებით (ცხრილი 2). თუმცა pH 7.4-ზე გადასვლამ და 36.6°C ტემპერატურაზე დაყოვნებამ ლექტინური აქტიურობა არ გაზარდა.

ცდების შემდგომ სერიაში ცილოვანი ექსტრაქტი 24 საათით დავაყოვნეთ +24°C ტემპერატურაზე, რამდენიმე დღის განმავლობაში (ცხრილი №5).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა დენატურაციის ფაქტორის
(ტემპერატურის) მოცილების შემდეგ

ცხრილი № 5

დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
IV დღე	0.04	2 ³	200	0.00125
V დღე	0.02	2 ²	200	0.00125

№5 ცხრილიდან ჩანს, რომ ცილის კონცენტრაცია მკვერთად შემცირდა, ლექტინური აქტიურობა მნიშვნელოვნად არ გაიზარდა და ტიტრიც იგივე დარჩა, რაც იმაზე მიგვანიშნებს, რომ დენატურაციის ფაქტორების მოცილების შემდეგ, ცილების ლექტინური აქტიურობის რეაქტივაცია უმნიშვნელოა.

ვინაიდან ცნობილია, რომ ზოგიერთი მცენარეული ლექტინი გარკვეული დოზით ტოქსიკურია და ცდაში გამოყენებული pH 2 შეესაბამება ადამიანის კუჭის წვენის წყალბადიონთა კონცენტრაციას, ხოლო ტემპერატურა ადამიანის ნორმალური ტემპერატურის მაჩვენებელს, ვფიქრობთ, რომ ეს შეიძლება საინტერესო აღმოჩნდეს სამედიცინო თვალსაზრისით.

3.1.3. ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, ლექტინთა უმრავლესობისათვის ექსტრაქციის ოპტიმალური ხანგრძლივობა 1-2 საათია. ამის გათვალისწინებით ალოეს ორგანოებიდან ლექტინების პირობების შერჩევის მიზნით, ცდების შემდგომ სერიაში ვცვლიდით ექსტრაქციის დროის ხანგრძლივობას. ექსტრაქციის დროის გავლენა, ლექტინის შემცველობაზე, შესწავლილი იქნა, ბოცვრის როგორც ტრიფსინიზირებული ისე უტრიფსინო ერითროციტებზე. დროის ხანგრძლივობა განისაზღვრა 15, 30 და 60 წთ-ის ინტერვალით (ცხრილი №6).

ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი № 6

ექსტრაქციის ხანგრძლივობა წუთებში		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
15	ტრიფსინიზირებული ერითროციტები	0.113	2 ⁵	283.19	0.0008828812
	ნატიური ერითროციტები		2 ²	35.40	0.0070625
30	ტრიფსინიზირებული ერითროციტები	0.158	2 ⁸	1620.25	0.0001542968
	ნატიური ერითროციტები		2 ³	50.63	0.0049375
60	ტრიფსინიზირებული ერითროციტები	0.205	2 ⁹	2497.56	0.0001000976
	ნატიური ერითროციტები		2 ⁴	78.05	0.0032031256

როგორც №6 ცხრილიდან ჩანს, ჰომოგენატიდან ლექტინების გადასვლა საექსტრაქციო ხსნარში მაქსიმალურად მიმდინარეობს 60 წუთიანი ინკუბაციის პირობებში და მატულობს 88.66%-ით 15 წუთიანი და 35%-ით 30 წუთიანი ინკუბაციის პირობებში ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერთროციტების აგლუტინაციის მიხედვით. 60 წუთიანი ინკუბაციის პირობებში მატება ვლინდება ბოცვრის ნატიური ერთროციტების შემთხვევაში. 15 წუთიანი ინკუბაციის პირობებთან შედარებით ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა მომატებულია 54.64%-ით, ხოლო 30 წუთიანი ინკუბაციისას 35.13%-ით.

3.1.4. β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცნობილია, რომ მცენარეული ქსოვილი მნიშვნელოვნად განსხვავდება ცხოველურისაგან. მცენარეებში მთავარ პრობლემას წარმოადგენს ფენოლური ნაერთები. ენდოგენური ფენოლოქსიდაზების საშუალებით ხდება მათი დაჟანგვა და წარმოიქმნება მუქი პიგმენტები, რომლებიც კოვალენტურად უერთდება ცილებს და იწვევს მათ ინაქტივაციას. საკითხის შესწავლის მიზნით საექსტრაქციო ხსნარებს ვუმატებდით სხვადასხვა თიოლურ ნაერთს, მაგალითად β-მერკაპტოეთანოლს და ვსწავლობდით მის გავლენას ლექტინურ აქტიურობაზე.

ამ მიზნით შევარჩიეთ PBS-ის ბუფერი, რომელიც შეიცავდა 0.1%-იან β-მერკაპტოეთანოლს და მის ბაზაზე დავამზადეთ ალოეს ფოთლის (ფესვის, ბოლქვის) ექსტრაქტები და შევისწავლეთ ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №7).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტები		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებულ ერითროციტები	0.18	2 ⁸	1422.22	0.0001757812
	ნატიური ერითროციტები		2 ⁴	88.89	0.0028125
ექსტრაქტი 0.1% β- მერკაპტოეთან ოლით	ტრიფსინიზირებულ ერითროციტები	0.16	2 ⁹	3200	0.000078125
	ნატიური ერითროციტები		2 ⁶	400	0.000625

დადგინდა რომ, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა მატულობს β-მერკაპტოეთანოლის შემცველ PBS-ის ხსნარში. ბოცვრის ტრიფსინიზირებული ერითროციტების მიხედვით მოიმატა 55.55%-ით, ხოლო ნატიური ერითროციტების შემთხვევაში - 77.77%-ით.

3.1.5. ალოეს ფოთლის ლექტინის სპეციფიკურობა ნახშირწყლების მიმართ

ლექტინის ფუნქციის განსაზღვრა შესაძლებელია მხოლოდ მაშინ, როცა განისაზღვრება მისი შესაბამისი ლიგანდი. ლექტინების ნახშირწყლებისადმი სპეციფიკურობა ვლინდება მას შემდეგ, რაც ლექტინების აქტიურობა, ანუ ჰემაგლუტინაცია ითრგუნება მონოსაქარიდების ოლიგო- ან პოლისაქარიდების თანაობისას.

ალოეს ქსოვილების ნახშირწყალსპეციფიკურობის დადგენა მოვახდინეთ ნახშირწყლების კერძოდ, D-გალაქტოზის, D-მანოზის, N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის, D-ფუკოზის და D-გლუკოზის თანაობისას. ცდების პირველ ეტაპზე განვსაზღვრეთ, ალოეს ფოთლის ლექტინის დამოკიდებულება ნახშირწყლებისადმი (ცხრილი №8).

ალოეს ფოთლის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა

ცხრილი № 8

ნახშირწყლები	ჰემაგლუტინაციის აქტიურობის ინჰიბირება	ნახშირწყლების მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია mM
D-გალაქტოზა	-	-
D-მანოზა	+++	0.075
N-აცეტილD-გლუკოზამინი	+	0.3
D-ფუკოზა	+	0.3
D-გლუკოზა	+	0.3

+ ჰემაგლუტინაციის მცირე ინჰიბირება

+++ ძლიერ ინჰიბირებული ჰემაგლუტინაცია

როგორც №8 ცხრილიდან ჩანს, მანოზის 0.075 mM კონცენტრაციის პირობებში იმუნოლოგიური პლანშეტის ფოსოში ნათლად გამოიხატა ჰემაგლუტინაციის დათრგუნვა ე.ი. ალოეს ფოთლის ლექტინი მანოზასპეციფიკურია.

3.1.6. ალოეს ფოთლის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან.

ცდების მომდევნო ეტაპზე შევისწავლეთ ალოეს ლექტინის ქიტინთან ურთიერთქმედება, ვინაიდან ქიტინი წარმოადგენს ბუნებრივ ნაერთს აზოტშემცველი პოლისაქარიდების ჯგუფიდან. ქიტინის სვეტებს აქვს დიდი გამოყენება შესაბამისი ლექტინების სუფთა სახით მიღებისთვის. მისი ქიმიური დასახელებაა პოლი-N-აცეტილ-D-გლუკოზო-2-ამინი. პოლიმერი შედგება N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის ნაშთებისაგან. ბუნებაში გვხვდება სოკოების, მწერები და სხვა ორგანიზმების შემადგენლობაში და ძირითადად ასრულებს დამცავ ფუნქციას.

ალოეს ფოთლის 500 მკლ-იანი ექსტრაქტი, ინკუბირებულ იქნა ქიტინის 500 მკლ-იან ხსნართან 24 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე (ცხრილი № 9).

ალოეს ფოთლის ლექტინის ინკუბაცია ქიტინთან

ცხრილი № 9

ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფოთლის საკონტროლო ექსტრაქტი	0.69	2 ⁷	185.50	0.00134765625
ფოთლის ექსტრაქტი ინკუბირებული ქიტინთან	0.67	2 ⁶	95.52	0.0026171875

როგორც №9 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, ქიტინთან 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ საკონტროლოსთან შედარებით შეაკავა ლექტინის 51.49%. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინს გააჩნია გარკვეული სწრაფვა, N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის ნაშთებთან. ეს მოვლენა კარგად ასახავს, ლიტერატურაში გავრცელებულ მოსაზრებას რომლის თანახმადაც, ლექტინების აქტიური ცენტრის ურთიერთქმედება ოლიგოსაქარიდებთან, მეტად რთულია და დამოკიდებულია პოლიმერიზაციის ხარისხზე. გარდა ამისა, ეს ურთიერთქმედება შეიძლება დამოკიდებული იყოს: ნახშირწყალშემშოჭავი ცენტრის ახლოს ლოკალიზებულ ჰიდროფობულ კლასტერებზე [28], მოლეკულათშორის აგრეგაციაზე, ხილული ან მის გარეშე პრეციპიტაციის წარმოქმნაზე, ლექტინის ასოციაციის კონსტანტაზე, ნახშირწყლოვანი ლიგანდის სიდიდეზე და ა.შ. შესაძლოა სწორედ ეს განსაზღვრავდეს გლიკოზიდების კლასტერის ეფექტს, რომელიც მულტივალენტური ლიგანდის აქტიურობის ზრდაში გამოიხატება [42].

ამრიგად, მონოსაქარიდებისადმი სპეციფიკურობის განსაზღვრა ბოლომდე არ ასახავს რეალურ ნახშირწყალსპეციფიკურობას [43].

ალოეს ფოთლის ლექტინის ქიტინთან დაკავშირება, მნიშვნელოვნად ჩამოუვარდება, ბოლქვის და ფესვის ლექტინების სწრაფვას ქიტინისადმი (იხ. თავი 3.2.5 და 3.3.5).

3.1.7. ალოეს ფოთლის ლექტინის გავლენა ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე

ცნობილია, რომ ლექტინებს იყენებენ სისხლის ჯგუფების დასადგენად. როგორც შესავალში აღინიშნა, ლექტინის აღმოჩენის ისტორია სწორედ მის ჰემაგლუტინაციურ თვისებას უკავშირდება.

ამ მიზნით მომზადებული იქნა ადამიანის ABO სისტემის ოთხივე ჯგუფის 2%-იანი ერითროციტების სუსპენზია და შესწავლილ იქნა მასზე ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №10).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა, ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე.

ცხრილი № 10

ალოეს ორგანოების ექსტრაქტები	სისხლის ჯგუფები	C მგ/მლ	T	SHA მგ/მლ	MHA მლ/მგ
ფოთლის ექსტრაქტი	I(OO)	0.69	-	-	-
	II(OA;AA)		-	-	-
	III(OB;BB)		-	-	-
	IV(AB)		-	-	-

როგორც ცხრილი №10-დან ჩანს, ალოეს ფოთლის ლექტინი არ ახდენს ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ერითროციტების აგლუტინაციას, რასაც შეიძლება მნიშვნელობა ჰქონდეს სამედიცინო თვალსაზრისით.

3.1.8. ალოეს ფოთლის ლექტინის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერითროციტებზე.

ცდების შემდგომ სერიაში მომზადებული იქნა ვირთაგვას ერითროციტების 2%-იანი სუსპენზია და შესწავლილ იქნა ალოეს ექსტრაქტის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა (ცხრილი №11).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიური ერთროციტების აგლუტინაციის მიხედვით

ცხრილი № 11

ერთროციტების მდგომარეობა	(C)	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ტრიფსინიზირებული	0.179	2 ⁸	1430.17	0.0001748046875
ნატიური		2 ¹	11.17	0.022375

როგორც №11 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ლექტინი ახდენს ძლიერ ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობას ვირთაგვას ერთროციტებზე, თუმცა მისი აქტიურობა ტრიფსინიზირებული ერთროციტების მიხედვით 91.41%-ით ნაკლებია ბოლქვის ლექტინის (იხ. ცხრილი №45), ხოლო 86.91%-ით ნაკლებია ფესვის ლექტინის ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობაზე (იხ. ცხრილი №57).

3.1.9. ალოეს ფოთლიდან გამოყოფილი ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატის დალექვის მეთოდით.

პირველ ეტაპზე ცილების ფრაქციონირებას ვახდენდით ამონიუმის სულფატით 20-დან 100%-იანი გაჯერების პირობებში და ვსწავლობდით თითოეულ ფრაქციაში ამონიუმის სულფატის მოცილების შემდეგ ლექტინურ აქტიურობას. ცილების ამონიუმის სულფატით დალექვა, ახდენს ცილოვანი ნაწილაკების მუხტის ნეიტრალიზაციას, მათ დეჰიდრატაციას, რასაც ცილების დალექვა მოჰყვება. მარილის იონები იზიდავს წყლის პოლარიზებულ მოლეკულებს და ამით ამცირებს წყლის

რაოდენობას, რომელიც ურთიერთობაშია ცილასთან. ცილების მარილებით დალექვა (გამომარილება), ფართოდ გამოიყენება ცილების ფრაქციონირებისათვის და გაწმენდისათვის. ვინაიდან ცილები განსხვავდებიან ჰიდრატული გარსის და ელექტრული მუხტის სიდიდით, ყოველი ცილისათვის არსებობს გამომარილების საკუთარი ზონა ე.ი. მარილის კონცენტრაცია, რომელიც საშუალებას იძლევა მოახდინოს მოცემული ცილის დალექვა.

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტში მაღალი ლექტინების აქტიურობა გამოვლინდა იმ ფრაქციებში, სადაც ამონიუმის სულფატის გაჯერებამ შეადგინა 20-40%. ლექტინის სპეციფიკურმა აქტიურობამ შეადგინა 5688.89 მლ/მგ-ზე, რაც 100%-ით გაჯერების პირობებთან შედარებით, 17-ჯერ გაიზარდა (ცხრილი №12).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით, სხვადასხვა კონცენტრაციის გაჯერების პირობებში

ცხრილი №12

ამონიუმის სულფატის კონცენტრაცია %		(C)მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.21	2 ⁸	1219.05	0.0002050781
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	76.19	0.00328125
0-20	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.004	2 ³	2000	0.000125
	ნატიური ერთროციტები		-	-	-
20-40	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.18	2 ¹⁰	5688.89	0.00004439453
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁶	355.55	0.000703125
40-60	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.156	2 ⁵	205.13	0.00121875
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	25.64	0.00975
60-80	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.026	2 ²	153.85	0.001625
	ნატიური ერთროციტები		-	-	-
80-100	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.012	2 ²	333.33	0.00075
	ნატიური ერთროციტები		-	-	-

3.1.10. ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ნალექის ლექტინური აქტიურობა

ალოეს ექსტრაქტის მომზადებიდან და მისი სტერილურ პირობებში შენახვის შემდეგ, ექსტრაქტი ივითარებს ნალექს. იმ მიზნით ჰქონდა თუ არა ნალექს ლექტინური აქტიურობა, მოხდა მისი დალექვა ცენტრიფუგირებით (8000 გ. 5 წუთი) და გაიხსნა შესაბამისი კონცენტრაციის ბუფერში (ცხრილი №13).

ალოეს ექსტრაქტის ნალექის ცილის კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი № 13

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტი	(C)	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საწყისი ექსტრაქტი	0.482	2 ⁶	132.78	0.00188281
ექსტრაქტი 8 დღის შემდეგ ნალექმოცილებული	0.464	2 ⁷	275.86	0.00090625
ექსტრაქტს მოცილებული ნალექი გახსნილი PBS-ში	0.115	2 ¹	17.39	0.0143375

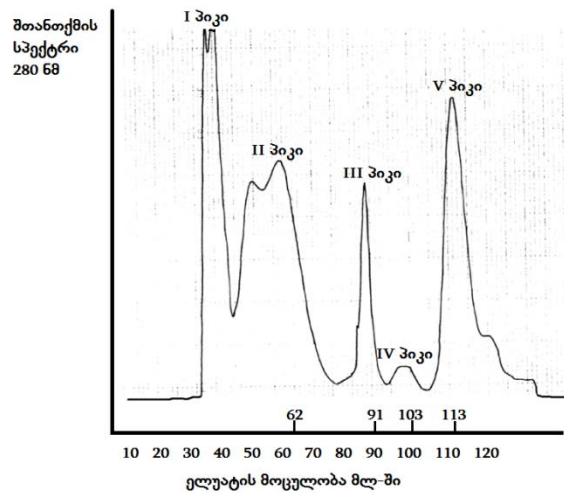
როგორც №13 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ექსტრაქტის ნალექში, აღმოჩნდა უმნიშვნელო ლექტინური აქტიურობა, რაც დაახლოებით 8-16-ჯერ ნაკლებია საწყის ექსტრაქტებთან შედარებით.

3.1.11. ალოეს ფოთლის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი

ალოეს ფოთლის ცილების ქრომატოგრაფიის შედეგად, მაღალი ლექტინური აქტიურობა გამოვლინდა მეორე და მესამე პიკში (სურათი №2).

ალოეს ფოთლის ცილების ქრომატოგრაფია

სურათი №2



ალოეს ფოთლის ცილების ლექტინური აქტიურობა ქრომატოგრამის პიკების მიხედვით ცხრილი № 14

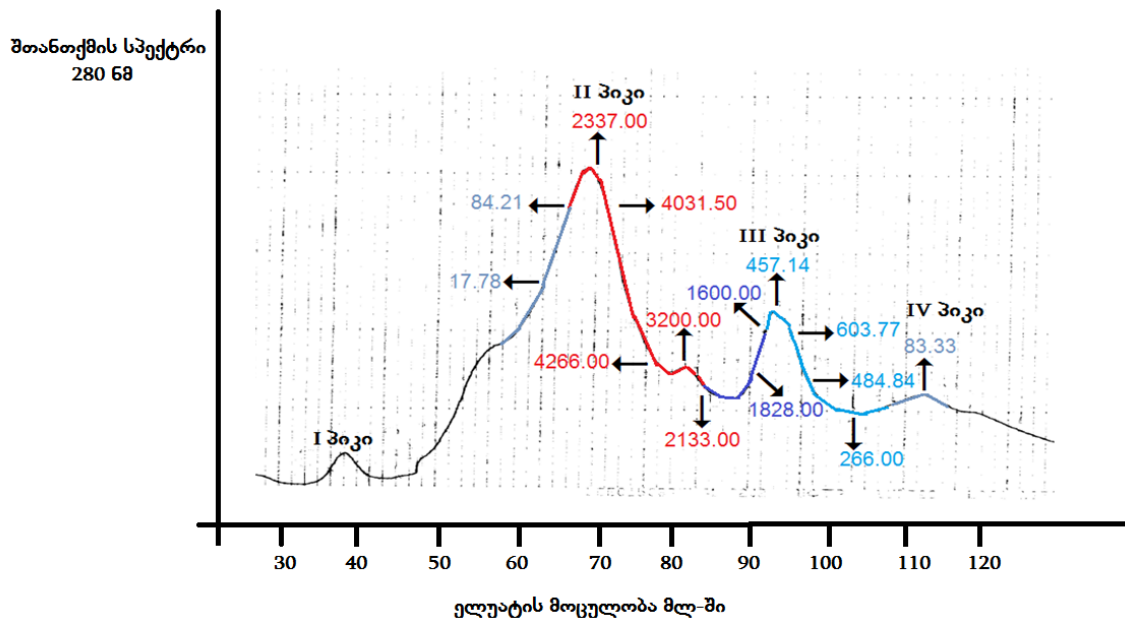
ქრომატოგრამის პიკები	(C)	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
II პიკის თავი	0.07	2 ⁸	457.14	0.000683
III პიკის თავი	0.02	2 ⁵	200	0.0001562
ცილის ექსტრაქტი სვეტზე დატანამდე	1.545	2 ¹¹	1325.57	0.0001885

როგორც №14 ცხრილიდან ჩანს, ლექტინის მაქსიმალური აქტიურობა გამოვლინდა მეორე პიკში და ის 56.24%-ით აღემატება მესამე პიკში არსებულ ლექტინურ აქტიურობას.

ცდების მომდევნო სერიაში, დავადგინეთ თუ როგორ იცვლებოდა ქრომატოგრამის პიკების ცალკეულ უბნებში ლექტინური აქტიურობა. ქრომატოგრაფიის წინ ექსტრაქტი გაიფილტრა სპეციალური ფილტრის გამოყენებით, რის შედეგადაც პირველი პიკის სიგრძე ქრომატოგრამაზე საგრძნობლად შემცირდა, ხოლო მეხუთე პიკი არ გამოვლინდა. ყოველივე ამას ლექტინის სუფთა სახით მიღებაში გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭება (სურათი №3).

ალოეს ფოთლის ქრომატოგრამის ლექტინური აქტიურობა (მლ/მგ-ში).

სურათი №3



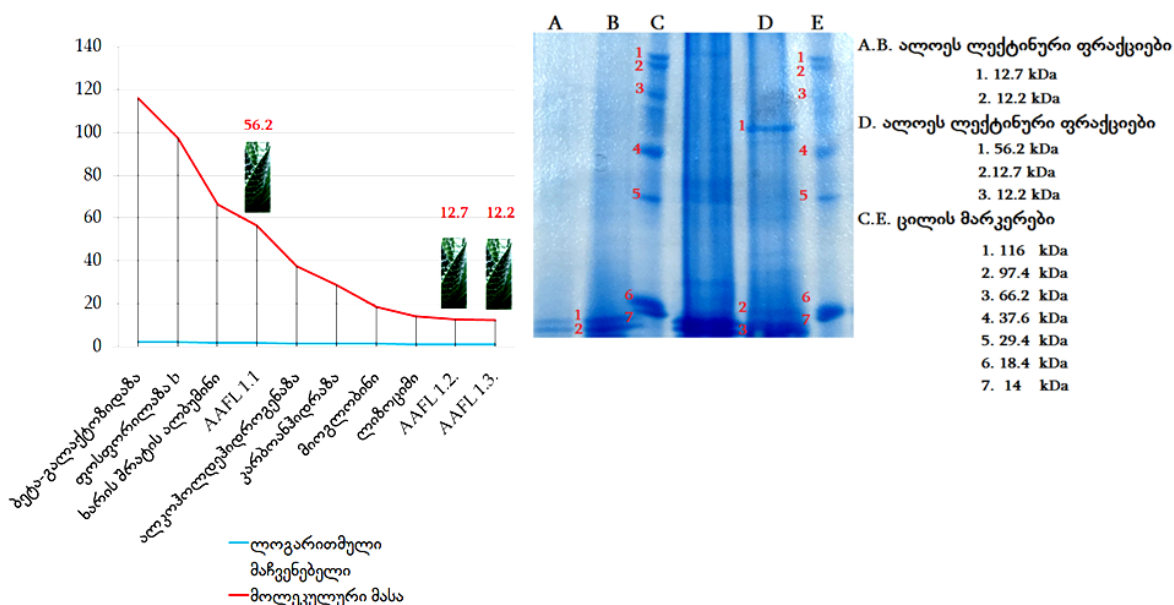
ქრომატოგრამაზე კარგად ჩანს პიკებში ლექტინური აქტიურობის განაწილება (ციფრებით აღნიშნულია ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობის ცვლილება), ამ მხრივ გამოირჩევა მეორე პიკი.

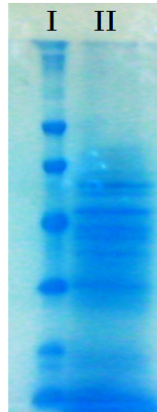
ცდების მომდევნო ეტაპზე, ალოეს ფოთლის ექსტრაქტი ინკუბირებულ იქნა გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებული ერთიტროციტებთან ოთახის ტემპერატურაზე 10-15

საათის განმავლობაში. ერთროციტებთან დაკავშირებული ლექტინების გამოთავისუფლება მიმდინარეობდა გლიცინ HCl-ის ხსნარში pH 2.5. მომდევნო ეტაპი იყო ამ ხსნარის ამონიუმის სულფატით გაჯერება ცილოვანი ფრაქციის დასალექად, რომლის შემდეგ ხდებოდა ცილების დატანა პოლიაკრილამიდის 12%-იან გელში (სურათი №4 და №5).

ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობის ცილების მოლეკულური მასების განსაზღვრა ელექტროფორეზით

სურათი №4





I. ცილა-მარკერები
II. ალოეს ფოთლის
(*A.aristata*) ცილები
(სუმარული ფრაქცია)

როგორც №4 სურათიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ცილების ელექტროფორეგრამა გამოავლინა სამი ლექტინური ფრაქცია: AAFL 1.1 მოლეკულური მასით 56.2 kDa; AAFL 1.2 მოლეკულური მასით 12.7 kDa და AAFL 1.3 მოლეკულური მასით 12.2 kDa.

3.1.12. ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა იარუსების მიხედვით

ექსპერიმენტების მსვლელობისას, შენიშნულ იქნა, რომ ლექტინური აქტიურობა მცენარის ფოთლებში, მსგავსი საექსტრაქციო პირობების დროს იცვლებოდა იარუსების მიხედვით.

მცენარე გამოირჩევა იარუსების რაოდენობის მიხედვით. მათი რიცხვი ასაკის მიხედვით მერყეობს. ჩვენს შემთხვევაში იარუსების რაოდენობა რვა იყო. აღსანიშნავია, რომ ზოგჯერ იარუსების საზღვრები მკვეთრად გამიჯნული არ არის. ცდები ჩატარდა თითო იარუსზე გვერდიგვერდ მყოფი ორი ფოთლის მიხედვით იარუსების ნუმერაცია მიმდინარეობდა ზემოდან ქვემოთ (სურათი №6).

ალოე (A.aristata). ციფრებით აღნიშნულია იარუსები

სურათი №6



დადგენილ იქნა, რომ, იარუსების მიხედვით, ფოთლების ექსტრაქტების ლექტინურ აქტიურობას შორის, მკვეთრი განსხვავებაა ქვედა [VIII (საშუალოდ ორი ფოთლის მიხედვით 34.36 მლ/მგ), VII (126.5 მლ/მგ), VI (814.54 მლ/მგ) ნაწილობრივ V(1700.13 მლ/მგ)] და ზედა იარუსებში. მკვეთრი სხვაობაა თვით ქვედა იარუსებს შორისაც. სტაბილურობით გამოირჩევა II (3464.13 მლ/მგ), III (3224.05 მლ/მგ) და IV (2993.73 მლ/მგ) იარუსების ფოთლების ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №15).

ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა იარუსების მიხედვით

ცხრილი №15

ფოთლის იარუსები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I იარუსი ფოთოლი 1	0.163	2 ¹¹	12564.42	0.0000198974
ფოთოლი 2	0.165	2 ¹¹	12412.12	0.0000201416
II იარუსი ფოთოლი 1	0.138	2 ⁹	3710.14	0.0000673828
ფოთოლი 2	0.159	2 ⁹	3220.12	0.0000776367
III იარუსი ფოთოლი 1	0.138	2 ⁹	3710.14	0.0000673828
ფოთოლი 2	0.187	2 ⁹	2737.97	0.0000913085
IV იარუსი ფოთოლი 1	0.165	2 ⁹	3103.03	0.0000805664
ფოთოლი 2	0.180	2 ⁹	2844.44	0.0000878906
V იარუსი ფოთოლი 1	0.143	2 ⁸	1790.21	0.0001396484
ფოთოლი 2	0.159	2 ⁸	1610.06	0.0001552734
VI იარუსი ფოთოლი 1	0.150	2 ⁷	853.33	0.0002929687
ფოთოლი 2	0.165	2 ⁷	775.76	0.0003222656
VII იარუსი ფოთოლი 1	0.125	2 ⁴	128	0.001953125
ფოთოლი 2	0.128	2 ⁴	125	0.002
VII იარუსი ფოთოლი 1	0.120	2 ²	33.33	0.0075
ფოთოლი 2	0.113	2 ²	34.40	0.0070625

აქედან გამომდინარე, ალოეს პირველი იარუსის ფოთლებში ყველაზე მაღალი ლექტინური აქტიურობაა, ხოლო ყველაზე დაბალი ბოლო, მერვე იარუსის ფოთლებში. ორი ფოთლის ლექტინური აქტიურობის მიხედვით, პირველი იარუსის ფოთლების ლექტინური აქტიურობა, მერვე იარუსის ფოთლების ლექტინურ აქტიურობას 99.72%-ით აღემატება.

3.1.13. ალოეს ფოთლის ფიზიოლოგიურად განსხვავებულ ნაწილებში ლექტინების განაწილება.

ცდების შემდგომ სერიაში, შესწავლილ იქნა, ფოთლის ცალკეულ ნაწილებში ლექტინის განაწილება. ალოეს ფოთლი, ვიზუალურად შეიძლება ორ ნაწილად გაიყოს. ზედა ნაწილი მკვეთრი მწვანე ფერისაა, სადაც წყლის შემცველობა ნაკლებია. ქვედა ნაწილის შეფერილობა ღია მწვანე ფერისაა და წყლითაც უფრო მეტად არის გაჯერებული. მცენარის წვეროში პირველი იარუსის შემდეგ განლაგებულია ნორჩი, მცირე ზომის ფოთლები, რასაც მოსდევს ყლორტები ჩანასახოვან მდგომარეობაში მყოფი ფოთლებით (ცხრილი №16).

ალოეს ფიზიოლოგიურად განსხვავებულ ფოთლების ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი №16

ალოეს ფოთლის ნაწილები		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფოთლის ქვედა ნაწილი	ტრიფსინიზირებული ერითროციტები	0.06	2 ⁴	266.67	0.0009375
	ნატიური ერითროციტები		—	—	—

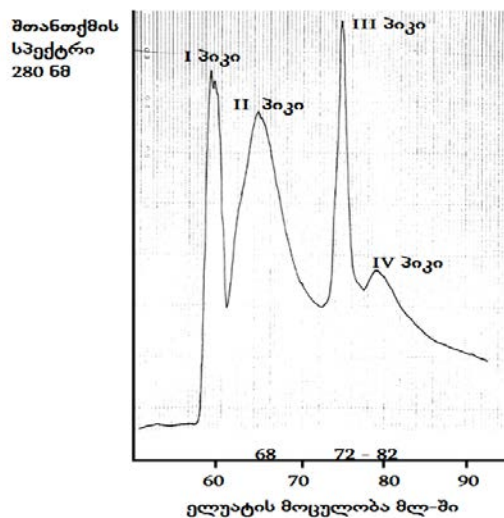
ფოთლის ზედა ნაწილი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.192	2 ⁸	1333.33	0.0001875
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	83.33	0.003
მთლიანი ფოთოლი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.145	2 ⁶	441.38	0.00056640625
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	27.58	0.0090625
ნორჩი ფოთოლი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.2	2 ¹⁰	5120	0.0000488281
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	80	0.003125
ყლორტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.077	2 ⁸	3324.67	0.00007553
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	51.95	0.0048125

როგორც №16 ცხრილიდან ჩანს, ლექტინის მაქსიმალური აქტიურობა ვლინდება ნორჩი ფოთლის და ყლორტის შემთხვევაში. აღსანიშნავია, რომ ფოთლის ქვედა ნაწილის და ყლორტის ექსტრაქტში ცილის კონცენტრაცია თითქმის მსგავსია, მაშინ როცა ყლორტის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა 91.98%-ით მეტია ფოთლის ქვედა ნაწილის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობასთან შედარებით. ამასთან ფოთლის ქვედა ნაწილის ექსტრაქტი ნატიურ ერთროციტებთან ლექტინურ აქტიურობას არ ავლენს.

აღსანიშნავია ნორჩი ფოთლის ექსტრაქტის გამორჩეულად მაღალი ლექტინური აქტიურობა, როგორც ფოთლის ზედა (აღემატება 73.96%-ით) ისე მთლიან ფოთოლთან მიმართებაში (აღემატება 91.38%-ით) ტრიფსინიზირებული ერთროციტების მიხედვით. მატება ნათლად არის გამოხატული ნატიური ერთროციტების შემთხვევაში მთლიან ფოთოლთან შედარებით და შეადგენს 65.52%-ით მეტს, ხოლო ფოთლის ზედა ნაწილთან მიმართებაში ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა თითქმის მსგავსია. №16 ცხრილიდან ჩანს, რომ ალოეს ფოთლი ქვედა ნაწილში ცილების კონცენტრაცია ძალზე მცირეა. ქრომატოგრაფიამ გამოავლინა, რამდენადმე განსხვავებული სურათი, მთლიანი ფოთლის ცილების ქრომატოგრაფიასთან მიმართებაში (სურათი №7).

ალოეს ფოთლის ქვედა ნაწილის ექსტრაქტის ცილების ქრომატოგრაფია.

სურათი № 7.



როგორც №7 სურათიდან ჩანს, აქაც გამოიყო ოთხი პიკი ძალზე მცირე ლექტინური აქტიურობა აღმოჩნდა მხოლოდ მესამე პიკის თავში (ცილის კონცენტრაცია 0.065 მგ/მლ. ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა 30.77 მლ/მგ). ამასთან ალოეს ფოთლის წინა ქრომატოგრაფიისგან (სურათი №2 და №3) განსხვავებით ცვლილებებია ელუატის მოცულობის რაოდენობაში.

ცდების შემდგომ სერიაში თვით ფოთოლი დაიყო რამდენიმე ნაწილად. ფოთლიდან გამოცალკევებული იქნა: ეპიდერმისი, ეპიდერმისი ქლოროფილთან ერთად და ფოთლის შიგთავსი - რბილობი (ცხრილი №17).

ფოთლის ექსტრაქტები		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფოთლის რბილობი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.016	—	—	—
	ნატიური ერთროციტები		—	—	—
ეპიდერმისი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.173	2 ⁷	739.88	0.0003378906
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	23.12	0.0108125
ქლოროფილიანი ეპიდერმისი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.373	2 ⁹	1372.65	0.0001821289
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	42.89	0.005828125
მთლიანი ფოთლი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.203	2 ⁹	2522.00	0.00009912105
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	78.81	0.003171875

როგორც №17 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ცალკეული ნაწილებიდან, ლექტინური აქტიურობა ქლოროფილიან და უქლოროფილო ეპიდერმისშია, რაც შეეხება რბილობს, იქ ლექტინური აქტიურობა არ შეინიშნება, დაბალია ცილების კონცენტრაციაც, მისი განსაზღვრა მოხერხდა 600 მკლ-ში, მაშინ როცა ჩვეულებრივ ისაზღვრებოდა 150 მკლ-ში. შესაძლოა რბილობში ლექტინური აქტიურობა დაფიქსირდეს იმ ფოთლებში, სადაც წყლის შემცველობა ნაკლები იქნება.

აღნიშნულიდან გამომდინარე შეიძლება ითქვას, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინი მონაწილეობს ეპიდერმისის ფორმირებაში, ფოთოლში ძირითადად ლექტინურ აქტიურობას ავლენს ეპიდერმისი, არის გარკვეული სხვაობა ქლოროფილიან ეპიდერმისსა და ქლოროფილ მოცილებულ ეპიდერმისის (კუტიკულა) ლექტინურ აქტიურობას შორის. ქლოროფილიანი ეპიდერმისის ექსტრაქტში, ლექტინური აქტიურობა 46%-ით მეტია, უქლოროფილო ეპიდერმისის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ვინაიდან, ალოეს ფოთოლში, ლექტინი უმეტესად ლოკალიზებულია ეპიდერმისში, დიდი ალბათობით შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინი ფოთოლს ანიჭებს სიმტკიცეს. დიდი ალბათობით ის საყრდენი ცილაა.

3.1.14. ლექტინის განაწილება ალოეს ყვავილის ცალკეულ ნაწილებში და მათი ცილების ქრომატოგრაფია

ალოეს ყვავილში წარმოდგენილია ღერო, ყვავილის ყუნწი, ყვავილის ფოთოლი, ბუტკო და მტვრიანები (სურათი №8).

A.aristata-ს ყვავილი და ყვავილის ღერო

სურათი №8



კვლევის პირველ ეტაპზე, შვეისწავლეთ ალოეს ყვავილის ღეროს (სიგრძე 15 სმ) ლექტინური მახასიათებლები. ექსპერიმენტებში გამოკვლეული იქნა შეფერილობით განსხვავებული ღეროს სხვადასხვა ნაწილი. მუქი წითელი შეფერილობის ქვედა, ღია წითელი შეფერილობის შუა და კიდევ უფრო ღია წითელი ფერის მქონე ყვავილის ღეროს წვერის ნაწილები (ცხრილი №18).

ღეროს ნაწილები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ღეროს ქვედა ნაწილი	1.02	2 ⁶	62.74	0.003984375
ღეროს შუა ნაწილი	0.66	2 ⁶	96.97	0.002578125
ღეროს წვერო	0.71	2 ⁶	90.14	0.0027734375

როგორც №18 ცხრილიდან ჩანს, მიუხედავად იმისა, რომ ალოეს ყვავილის ღეროს ქვედა ნაწილი გამოირჩევა ცილების მაღალი შემცველობით, ლექტინური აქტიურობის მხრივ პრაქტიკულად არ განსხვავდება ღეროს დანარჩენი ნაწილებისგან. ღეროს ქვედა ნაწილის ცილების რაოდენობა 35.29%-ით მეტია ღეროს შუა ნაწილის ცილების რაოდენობაზე და 30.39%-ით აღემატება ღეროს წვეროს ცილების რაოდენობას. მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ყვავილის ღეროს ქვედა და წვეროს ნაწილებში ცილების შემცველობა უფრო მაღალია ვიდრე ღეროს შუა ნაწილში.

საგულისხმოა, რომ ღეროს ექსტრაქტის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობის შესწავლის შემდეგ, მისი დაყოვნებისას აღინიშნება ერითროციტების ლიზისი, რაც იმაზე მიგვანიშნებს, რომ ღეროში წარმოდგენილია ლიზოგენური აქტიურობის მქონე ნივთიერება, რომლის არსებობა არ აღინიშნა ფოთოლში, ყვავილში, ფესვსა და ბოლქვში. სარეაქციო არეში 0.6 mM-ის მანოზას დამატებისას ლიზისი მხოლოდ მოგვიანებით, დაახლოებით 20 საათის შემდეგ განვითარდა, რაც იმაზე მიგვანიშნებს, რომ მანოზას მონაწილეობით ლიზოგენიზაციის პროცესი კავდება. ექსტრაქტის ამონიუმის სულფატის 90%-იანი ნაჯერი ხსნარით დამუშავების შემდეგ ლიზისი შესამჩნევად შემცირდა. დავადგინეთ, რომ ღეროს ლექტინი

მანოზასპეციფიკურია და მისი მაინჰიბირებელი კონცენტრაციაა 0.075 მკლ (ცხრილი №19).

ალოეს ყვავილის ღეროს ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა.

ცხრილი № 19

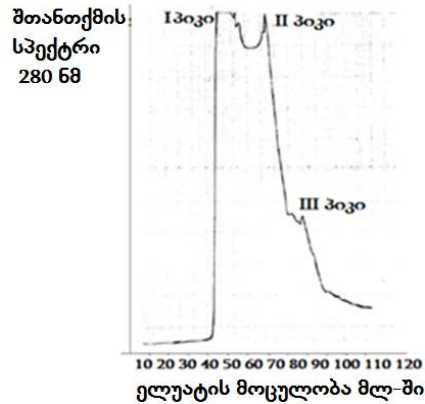
ნახშირწყლები	ჰემაგლუტინაციის აქტიურობის ინჰიბირება	ნახშირწყლების მაინჰიბირებელი მინიმალური კონცენტრაცია mM-ში
D-გალაქტოზა	-	-
D-მანოზა	+++	0.15
N-აცეტილ-D-გლუკოზამინი	+	0.3
D-გლუკოზა	+	0.3

+ ჰემაგლუტინაციის მცირე ინჰიბირება
+++ ძლიერ ინჰიბირებული ჰემაგლუტინაცია

ცდების შემდგომ სერიაში, ჩატარდა გაერთიანებული ღეროს ექსტრაქტის ქრომატოგრაფია. შედეგად გამოვლინდა ცილის სამი პიკი, რომელთაგან II და III პიკში აღინიშნა ცილების მაღალი კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა (სურათი №9).

ალოეს ღეროს ექსტრაქტის ცილების ქრომატოგრაფია

სურათი №9.



თითოეული პიკის ცილოვან ფრაქციას ვუმატებდით 90%-ით გაჯერებული ამონიუმის სულფატის ხსნარს, ნალექს ვხსნიდით მინიმალური მოცულობის PBS-ში და ვსაზღვრავდით ცილის კონცენტრაციასა და ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას (ცხრილი №20).

ალოეს ყვავილის ღეროს ცილების ქრომატოგრაფირების შედეგად გამოვლენილი ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი № 20

პიკები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I	0.185	2 ²	21.62	0.0115625
II	4.05	2 ¹¹	505.68	0.00049438475
III	0.315	2 ⁸	812.70	0.00030761715
ექსტრაქტის მახასიათებლები ქრომატოგრაფიამდე	1.54	2 ¹⁰	664.94	0.00037597655

ცდების შემდგომ სერიაში შევისწავლეთ, ალოეს ყვავილის ცალკეულ ნაწილებში ლექტინების რაოდენობრივი განაწილება (ცხრილი №21).

ყვავილის ნაწილების ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ყვავილის ყუნწი	1.284	2 ⁸	199.38	0.00125390625
გვირგვინის ფურცლები	1.34	2 ⁵	23.88	0.01046875
ბუტკო	2.024	2 ⁴	7.90	0.031625
მტვიანების ღერო (ფილამენტი)	0.324	2 ²	12.35	0.02025
სამტვრე პარკი	1.24	–	–	–

როგორც №21 ცხრილიდან ჩანს, ყველაზე მაღალი ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა ყუნწი, რაც მიუთითებს ლექტინის საყრდენ როლზე, რასაც ასევე დიდი ალბათობით, ადასტურებს მტვიანების ღეროში (ფილამენტი) აღმოჩენილი ლექტინური აქტიურობა.

აღსანიშნავია, რომ სამტვრე პარკში ლექტინური აქტიურობა არ იქნა აღმოჩენილი. ცენტრიფუგირებით ამონიუმის სულფატისაგან გათავისუფლებული ცილა გავხსენით PBS-ის ბუფერის მინიმალური კონცენტრაციის ხსნარში და არც ასეთ ფრაქციაში არ აღმოჩნდა ლექტინური აქტიურობა.

თვითშეუთავსებად სისტემაში, ამოცნობის სპეციფიკური რეაქცია, სავარაუდოდ ხორციელდება, მტვრის მარცვლის ზედაპირის გლიკოპროტეინებსა ან პროტეინებს და დინგის ან სვეტის უჯრედების ზედაპირის კომპლემენტარულ მაკრომოლეკულებს

შორის ურთიერთქმედებით. ამ ურთიერთქმედებას შედეგად მოსდევს შეუთავსებადი მტვრის მილების ზრდის ან ნასკვში შეღწევის შენელება [66]. სავარაუდოდ, ლექტინები და მათი რეცეპტორები შეიძლება განვიხილოთ, როგორც ამოცნობაში მონაწილე მაკრომოლეკულების შესაძლო კანდიდატები [67,68].

ვინაიდან ბუტკოში ლექტინური აქტიურობა ვლინდება, ხოლო სამტვრე პარკში არა, ამიტომ სავარაუდოა, რომ განყოფიერების დაწყებამდე ურთიერთობა ხდება შეთავსებადი მტვრის ნახშირწყლოვან რეცეპტორებსა და ბუტკოს დინგის ქსოვილში არსებულ ლექტინებს (ან ლექტინს) შორის. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ მცენარის სამტვრე პარკი შეიცავს ნახშირწყლებს (34%), მათ შორის ძირითადია გლუკოზა, ფრუქტოზა, მალტოზა, საქაროზა, სახამებელი და სხვა ნახშირწყალ წარმოებული ნაერთები [69]. სავარაუდოა, რომ ალოეს ფოთოლში, ყვავილის ღეროში, გვირგვინის ფურცლებსა და მტვრიანას ძაფის (ფილამენტის) შემადგენლობაში, ლექტინებით ხორციელდება საყრდენი ფუნქცია, რაც ხელს უწყობს მცენარეს ორგანოებს სიმტკიცის ფორმირებას და გარემოს ძაფზე ფაქტორების მიმართ გამძლეობას.

ყვავილის ცალკეული ნაწილების გაერთიანების შემდეგ დადგინდა ლექტინის მანოზასპეციფიკურობა, მანოზას მაინჰიბირებელი მინიმალური კონცენტრაციაა 0.15 mM (ცხრილი №22).

ალოეს ყვავილის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა (პლიუსებით ნაჩვენებია ნახშირწყლებისადმი ლექტინების სპეციფიკურობა)

ცხრილი №22

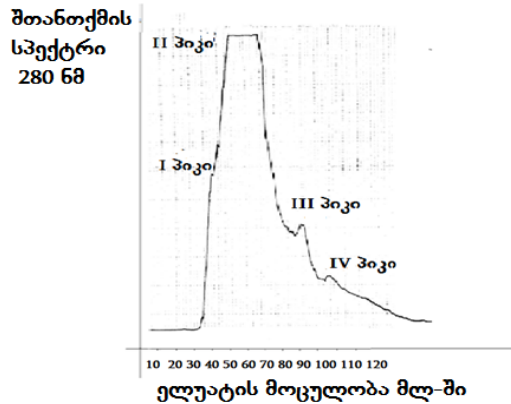
ნახშირწყლები	ჰემაგლუტინაციის აქტიურობის ინჰიბირება	ნახშირწყლების მაინჰიბირებელი მინიმალური კონცენტრაცია
D-გალაქტოზა	-	-
D-მანოზა	+++	0.15 მკლ
N-აცეტილ-D-გლუკოზამინი	+	0.3 მკლ
D-გლუკოზა	+	0.3 მკლ

- + ჰემაგლუტინაციის მცირე ინჰიბირება
- +++ ძლიერ ინჰიბირებული ჰემაგლუტინაცია

ყვავილის გაერთიანებული ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიის შედეგად გამოვლინდა ცილის ოთხი პიკი, რომელთაგან მაღალი ლექტინური აქტიურობით მეორე და მესამე პიკი გამოირჩეოდა (სურათი №10).

ალოეს ყვავილის ექსტრაქტის ცილების ქრომატოგრამა

სურათი №10.



პიკების ამონიუმის სულფატით დამუშავების შემდეგ, ცილას ვხსნიდით მინიმალური მოცულობის ბუფერში (PBS) და ვსაზღვრავდით ცილის კონცენტრაციასა და ლექტინურ აქტიურობას (ცხრილი №23).

ალოეს ყვავილის ქრომატოგრაფირების შედეგად მიღებული ცილის პიკების ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი №23

პიკები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I	0.032	2 ¹	62.5	0.004
II	0.4	2 ¹²	10240.00	0.00002441405
III	0.175	2 ⁶	365.71	0.00068359375
IV	0.015	2 ²	266.67	0.0009375

ექსტრაქტის მახასიათებლები ქრომატოგრაფიამდე	0.428	2 ¹⁰	2392.52	0.00010449215
--	-------	-----------------	---------	---------------

№23 ცხრილიდან ჩანს, რომ ალოეს ყვავილის ქრომატოგრაფირების შედეგად ვლინდება ცილის ოთხი პიკი, ამ შემთხვევაშიც მაღალი ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა, მეორე და მესამე პიკები.

3.1.15. მექანიკური დაზიანების შედეგად დეჰიდრატირებული, ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობა.

მცენარეების სამკურნალოდ გამოყენების პრაქტიკაში, ფართოდ გავრცელებული მეთოდია მათი ნაწილების გამოშრობა. ალოეს ფოთლიდან ლექტინების და ცილების მიღება შესაძლებელია მექანიკური დაზიანების და მისგან გამოწვეული ფოთლის გახმობის შემდეგ. მოჭრილი დაუზიანებელი ფოთოლი დღე-ღამეში წონაში 0.5-100 მგ-ით კლებულობს, ხოლო დაზიანებული 600-700 მგ-ით.

ექსტრაქტის მომზადების წინ დაზიანებული ფოთლის წონა 0.2 გრამი იყო. გახმობის შემდეგ, ცილების კონცენტრაცია და მინიმალური ტიტრი ნორმასთან შედარებით გაცილებით მეტი აღმოჩნდა (ცხრილი №24).

მექანიკური დაზიანებით გამოწვეული ალოეს ფოთლის ცილების კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი №24

ფოთლის ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.305	2 ⁸	839.34	0.00029785155

დეჰიდრატირებული ფოთლის ექსტრაქტი	1.32	2 ¹⁰	775.75	0.0003222656
----------------------------------	------	-----------------	--------	--------------

როგორც №24 ცხრილიდან ჩანს, მიუხედავად იმისა, რომ საკონტროლოსთან შედარებით, მინიმალურ ტიტრი და ცილების კონცენტრაცია გამზმარი ფოთლის ექსტრაქტში, გაცილებით მაღალია, ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა დაბალია. ამ შემთხვევაში უფრო რეალურ სურათს იძლევა ლექტინის კონცენტრაციის განსაზღვრა (ცხრილი №25).

ალოეს დეჰიდრატირებული ფოთლის ექსტრაქტში ლექტინის შემცველობა

ცხრილი №25

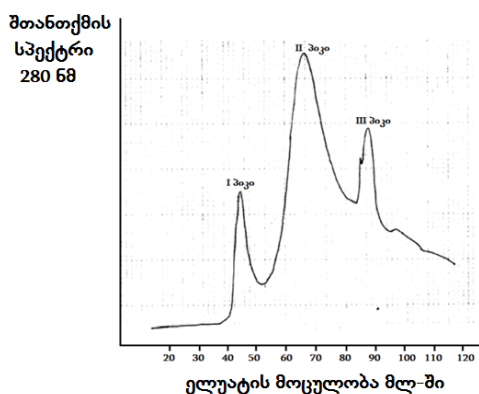
ფოთლის ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(LC)
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.305	2 ⁸	0.00105574324
დეჰიდრატირებული ფოთლის ექსტრაქტი	1.32	2 ¹⁰	0.0048828125

დადგინდა რომ, ალოეს მექანიკური დაზიანების შედეგად დეჰიდრატირებული ფოთლის ექსტრაქტში ლექტინის კონცენტრაცია, საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით 78.38%-ით მეტია, ხოლო ცილების კონცენტრაცია 76.89%-ით. აქედან გამომდინარე შესაძლებელია ბიოქიმიურ კვლევებში ექსტრაქტები ალოეს ფოთლის დაზიანების შემდეგ მომზადდეს, რადგან უფრო ეკონომიურია რეაქტივების დანახარჯის მხრივ.

ცდის შემდგომ ეტაპზე, დაზიანებით დეჰიდრატირებული ალოეს ფოთლის ექსტრაქტი დატანილ იქნა სვეტზე.

ალოეს დეჰიდრატირებული ფოთლის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფია.

სურათი №11.



როგორც №11 სურათიდან ჩანს გამოიკვეთა სამი პიკი. პიკების სულფატიდან გამოთავისუფლების შემდეგ განისაზღვრა ცილის კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №26).

მექანიკური დაზიანებით დეჰიდრატირებული ალოეს ფოთლის ქრომატოგრამის პიკების ლექტინური აქტიურობა

ცხრილი №26

პიკები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I	0.15	2 ⁴	106.67	0.00234375
II	0.69	2 ¹¹	2968.12	0.0000842285
III	0.04	2 ⁵	800	0.0003125

№26 ცხრილიდან ჩანს, რომ მეორე პიკის ლექტინური აქტიურობა 3.71-ჯერ აღემატება მესამე პიკის ლექტინურ აქტიურობას, ხოლო ცილის კონცენტრაცია 17.25-ჯერ.

აქედან გამომდინარე, ალოეს ფოთოლი სრული გამოშრობის შემდეგაც კი ინარჩუნებს ლექტინურ აქტიურობას.

3.1.16. ალოეს ფოთლის დაზიანების შემდეგ წარმოქმნილი ქსოვილის ლექტინური აქტიურობა.

ალოეს ფოთლის შუაზე გადაჭრის შემდეგ, რამდენიმე დღეში, ჭრილობის ადგილზე, ვითარდება ქსოვილის თხელი ფენა, რომელიც რამდენიმე კვირაში მაგრდება. აღნიშნულიდან გამომდინარე მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ამ ქსოვილის ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №27).

ალოეს ფოთოლში დაზიანების შედეგად წარმოქმნილი ქსოვილის (ქერქის) ლექტინური აქტიურობა.

ცხრილი №27

ალოეს ქერქის ექსტრაქტი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
	0.533	2 ⁸	480.30	0.0005205078

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარე მივედით იმ დასკვნამდე, რომ ლექტინი მონაწილეობას იღებს ჭრილობის ლოკალიზაციის პროცესში და იცავს მცენარეს ჭრილობიდან ინფექციის შეღწევისაგან და წყლის დაკარგვისაგან.

3.1.17. გაყინვის პირობებში მყოფი ალოეს ორგანოების ექსტრაქტების ლექტინური აქტიურობა

ძალზე მნიშვნელოვანი საკითხია ექსტრაქტების შენახვის ტემპერატურული რეჟიმი. ამ მხრივ საინტერესო იყო რამდენიმე დღის განმავლობაში, ექსტრაქტების გაყინულ მდგომარეობაში შენახვა, მოახდენდა თუ არა ლექტინურ აქტიურობაზე გავლენას. ამ მიზნით ექსტრაქტები 10 დღის განმავლობაში ინახებოდა გაყინულ მდგომარეობაში და ათი დღის მანძილზე ისაზღვრებოდა ცილის კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა, რაც შესწავლილ იქნა ბოცვრის როგორც ტრიფსინიზირებულ, ისე ნატიური ერთროციტების მიხედვით (ცხრილი №28). ათი დღის მანძილზე ისაზღვრებოდა ცილის კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა, რაც შესწავლილ იქნა ბოცვრის როგორც ტრიფსინიზირებულ, ისე ნატიური ერთროციტების მიხედვით (ცხრილი №28).

ცდების შედეგებიდან ირკვევა, რომ ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ცილების კონცენტრაცია განიცდის გარკვეულ კლებას, განსაკუთრებით მე-8 დღიდან. ლექტინური აქტიურობა შენარჩუნებულია მაღალ დონეზე, ბოცვრის როგორც ტრიფსინიზირებული, ისე ნატიური ერთროციტების მიმართ, თუმცა საწყის (საკონტროლო) ექსტრაქტთან შედარებით, თითქმის 2-ჯერ მცირდება.

გაყინვის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობა.

ცხრილი №28

დროითი ინტერვალი		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.20	2 ¹⁰	5120	0.000048828
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁴	80	0.003125
I დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.24	2 ⁹	2133.33	0.000117187
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	33.33	0.075
II დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.185	2 ⁸	1383.78	0.000180664
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	43.24	0.00578125
III დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	2.13	2 ⁹	2403.75	0.000104003
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	37.56	0.00665625
IV დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.15	2 ⁸	1706.67	0.000146484
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	53.33	0.0046875
VII დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.138	2 ⁸	1855.07	0.000134765
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁴	115.94	0.00215625
VIII დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.13	2 ⁸	1969.23	0.000126953
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	61.54	0.0040625
IX დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.187	2 ⁹	2737.97	0.000091308
	ნატიური		2 ⁴	85.56	0.002921875

	ერიტროციტები				
X დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.187	2 ⁸	1368.98	0.000182617
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	42.78	0.005843753

3.1.18. მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ლექტინების უმრავლესობა ხასიათდება თერმოსტაბილურობით. ამ თვისებას ხშირად იყენებენ მათი გასუფთავების მიზნით, რადგან ლექტინების მდგრადობა აადვილებს მათ გამოყოფას შედარებით თერმოლაბილური ცილებიდან.

საწყის ეტაპზე შესწავლილ იქნა ალოეს ფოთლის ლექტინის ტემპერატურისადმი დამოკიდებულება (ცხრილი № 29).

მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცხრილი №29

ტემპერატურული მაჩვენებელი °C	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
18-20	0.41	2 ⁹	1248.78	0.0002001953
40	0.46	2 ⁹	1113.04	0.0002246093
60	0.28	2 ⁶	228.57	0.00109375
80	0.27	—	—	—
100	0.23	—	—	—

როგორც №29 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლის ლექტინი ხასიათდება თერმოსტაბილურობით და აქტიურობას ინარჩუნებს 60°C-ზე, 20 წთ-ის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ.

ცდების შემდგომ ეტაპზე, მოხდა 100°C-ზე 20 წთ-ის განმავლობაში ინკუბირებული ექსტრაქტის ამონიუმის სულფატით დალექვა. მისგან გათავისუფლების და მინიმალური კონცენტრაციის ბუფერში გახსნის შემდეგ აღმოჩნდა, რომ ლექტინის აქტიურობა სუსტად არის შენარჩუნებული.

აქედან გამომდინარე გაგრძელდა ამ მიმართულებით კვლევა. 100°C-ზე გაცხელების შემდეგ არც ერთ ექსტრაქტში ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა არც ვიზუალურად და არც მიკროსკოპული ანალიზით არ გამოვლინდა. იმუნოლოგიური პლანშეტის პირველ ფოსოში (50 მკლ ექსტრაქტი და 50 მკლ ერითროციტები) შეინიშნებოდა ერითროციტების სპეციფიკური განაწილება. კერძოდ, ერითროციტების გარკვეული ნაწილი, განლაგებული იყო მცირე გროვების სახით. საკონტროლო ფოსოში (150 მკლ PBS და 50 მკლ ერითროციტები) ერითროციტების გროვები არ შეინიშნებოდა და გარკვეული მანძილით იყო ერთმანეთისგან დაშორებული.

24 საათის შემდეგ, მიკროსკოპული ანალიზით, პირველ ფოსოში შეიმჩნევა 5-10 ერითროციტისგან წარმოქმნილი გროვები, რაც შვიდი დღის მანძილზე დაახლოებით 20-მდე ან მეტად მატულობდა, ამავე დროს ცილის კონცენტრაცია მერყეობდა 0.445-0.462 მგ/მლ-ის ფარგლებში +18°C-ის შენახვის პირობებში და 0.429-0.410 მგ/მლ-ის ფარგლებში +4°C-ზე შენახვის პირობებში. პირველ შემთხვევაში ხდებოდა ცილების კონცენტრაციის მატება, მეორე შემთხვევაში კი კლება. საკონტროლო ნატიურ ექსტრაქტში ცილის კონცენტრაცია იყო 0.483 მგ/მლ ლექტინური აქტიურობა არც ერთ შემთხვევაში არ გამოვლინდა, გარდა ზემოაღნიშნული სუსტი ჰემაგლუტინაციისა პირველ ფოსოში.

100°C ტემპერატურაზე ინკუბაციის შემდეგ, ცილის და ლექტინური აქტიურობის განსაზღვრის დასრულებისთანავე, მოხდა ამ ექსტრაქტების (A ვარიანტები, +18°C და +4°C -ზე შენახული ექსტრაქტები) ამონიუმის სულფატის 90%-იანი გაჯერებით დალექვა და შენახვა ერთი კვირის მანძილზე.

ერთკვირიანი დაკვირვების შემდეგ, 100°C ტემპერატურაზე ინკუბირებული ექსტრაქტის (B ვარიანტები, +18°C-ზე ისე +4°C-ზე შენახული ექსტრაქტები) ხსნარიდან ცილები დავლექეთ ამონიუმის სულფატის 90%-იანი გაჯერებით. ცენტრიფუგირების შემდეგ ცილის ნალექი გავხსენით 500 მკლ. PBS-ში pH 7.4.

ამონიუმის სულფატის 90%-იანი გაჯერებით დავლექეთ ცილები ექსტრაქტის B ვარიანტებიც, ცენტრიფუგირებით სულფატისგან გათავისუფლების შემდეგ, ვსაზღვრავდით ცილის კონცენტრაციას და ლექტინურ აქტიურობას (ცხრილი №30).

100°C ტემპერატურაზე ინკუბირებული ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ცილის კონცენტრაცია და ლექტინური აქტიურობა, ინკუბაციამდე, ინკუბაციის დღეს და ინკუბაციიდან მეშვიდე დღეს.

ცხრილი №30

ექსტრაქტის მდგომარეობა	(T)	(C) მგ/მლ	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
100°C-ზე ინკუბირების შემდეგ შენახული +18°C ტემპერატურაზე				
ექსტრაქტი გაცხელებამდე	2 ⁶	0.483 (100 მკლ-ში)	132.50	0.00188671875
გაცხელების შემდეგ (A ვარიანტი)	—	0.445 (100 მკლ-ში)	—	—
იგივე ექსტრაქტი ამონიუმის სულფატისაგან გათავისუფლების შემდეგ (A ვარიანტი)	2 ¹	1.92 (25მკლ-ში)	1.04	0.24
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე. სულფატირებამდე (B ვარიანტი)	—	0.462	—	—
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე. სულფატირების შემდეგ (B ვარიანტი)	2 ³	1.74 (25მკლ-ში)	4.60	0.054375
ნატიური ექსტრაქტი	2 ⁷	0.422 (100 მკლ-ში)	289.59	0.00082421875
100°C-ზე ინკუბირების შემდეგ შენახული +4°C ტემპერატურაზე				
ექსტრაქტი გაცხელებამდე	2 ⁶	0.483 (100 მკლ-ში)	132.50	0.00188671875
გაცხელების შემდეგ (A ვარიანტი)	—	0.432 (100 მკლ-ში)	—	—
იგივე ექსტრაქტი ამონიუმის სულფატისაგან გათავისუფლების შემდეგ (A ვარიანტი)	2 ¹	2.2 (25 მკლ-ში)	0.90	0.275
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე. სულფატირებამდე (B ვარიანტი)	—	0.410 (100 მკლ-ში)	—	—
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე. სულფატირების შემდეგ (B ვარიანტი)	2 ³	1.692 (25 მკლ-ში)	4.73	0.0528
ნატიური ექსტრაქტი	2 ⁶	0.392 (100 მკლ-ში)	163.26	0.00153125

როგორც ცხრილი №30-დან ჩანს შვიდი დღის განმავლობაში, როგორც +18°C-ზე ისე +4°C-ზე შენახულ ექსტრაქტებში ლექტინური აქტიურობა არ ვლინდება.

ვინაიდან, ალოეს ფოთლის ლექტინი 100°C ტემპერატურაზე ინკუბაციის შემდეგ მინიმალურ ფარგლებში, მაინც ინარჩუნებს ლექტინურ აქტიურობას (1 ფოსო), იმაზე მიგვანიშნებს, რომ 100°C -ზე არ ხდება ლექტინის სრული ინაქტივაცია.

მიკროსკოპული ანალიზის მიხედვით იმუნოლოგიური პლანშეტის პირველ ფოსოში, როგორც $+18^{\circ}\text{C}$ ისე $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე შენახულ ექსტრაქტებში (B ვარიანტები) არის 10-50-60-მდე ერთობლივი გროვები, მეორე ფოსოში 10-30-მდე. მინიმალური ტიტრი შეფასდა როგორც 2^1 .

შვიდი დღის შემდეგ, იმუნოლოგიური პლანშეტის პირველ ფოსოში, როგორც $+18^{\circ}\text{C}$ ისე $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე შენახულ ექსტრაქტებში გამოვლინდა ძლიერი აგლუტინაცია, მეორე ფოსოში საშუალო სიძლიერის, ხოლო მესამეში ერთობლივების გროვები 10-50-მდე. მეოთხეში - 5-15. ტიტრი შეფასდა როგორც 2^3 (ცხრილი № 30).

ამრიგად, როგორც ცდებიდან გამომდინარეობს ალოეს ფოთლის ლექტინი განიცდის 100°C -ზე ინკუბაციის შემდეგ რეაქტივაცია მცირე საზღვრებში თანაბრად, როგორც $+18^{\circ}\text{C}$ ისე $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე შენახვის პირობებში. სავარაუდოა, რომ $+18^{\circ}\text{C}$ -სა და $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე ცილის ლექტინური აქტიურობის რეაქტივაცია განპირობებულია ცილის მოლეკულების რესტრუქტურით.

3.1.19. მზის რადიაციის და მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ სერიაში მცენარე რამდენიმე დღით მოთავსებულ იქნა მზის რადიაციის და მაღალი ტემპერატურის პირობებში. პირველადი ცვლილებები აისახა ფოთლების წონაში, რაც დაკავშირებულია, წყლის აორთქლებასთან (იხ. ცხრილი №31). ექსტრაქტები მომზადდა იმ ფოთლებისგან, რომლებიც განლაგებულები იყვნენ ერთ იარუსზე და ჰქონდათ ერთნაირი სიგრძე და დაახლოებით ერთნაირი წონა. მზეზე დაყოვნებიდან ყოველ დღე ისაზღვრებოდა ფოთლის წონა და მზადდებოდა ექსტრაქტი, მონაცემების შედარება ხდებოდა ნორმალურ პირობებში მყოფ ფოთლის ექსტრაქტის შედეგებთან. წინა ცდებიდან გამომდინარე (იხ. თავი 3.1.15.), ასეთ ცვლილებებს უნდა

გამოეწვია ლექტინური აქტიურობის მატება, თუმცა დროის ზემოხსენებულ ინტერვალში საპირისპირო შედეგი დაფიქსირდა (ცხრილი №32).

ალოეს ფოთლის წონაში დაკლება, მზის მაღალი ტემპერატურის და რადიაციის გავლენით

ცხრილი №31

დროითი ინტერვალი	წონის ცვლილება გრამებში	წონის ცვლილება %-ში
ნორმალურ პირობებში მყოფი ფოთოლი	3.3	
პირველი დღე	2.9	12.12
მეორე დღე	2.6	21.21
მეხუთე დღე	1.55	53.03
მეექვსე დღე	1.9	42.42

მზის რადიაციის და ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე პირველ და მეორე დღეს.

ცხრილი №32

დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
24 საათის შემდეგ	0.04	2 ⁶	1600	0.000156625
48 საათის შემდეგ	0.12	2 ⁶	533.33	0.00046875
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.3	2 ⁸	853.33	0.0002929687

როგორც №32 ცხრილიდან ჩანს, პირველ დღეს ალოეს ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა გაცილებით მაღალია, თუმცა ცილის კონცენტრაცია საკონტროლოსთან შედარებით 86.67%-ით, ხოლო მეორე დღესთან შედარებით 60%-ით არის შემცირებული, რაც აისახა ლექტინური აქტიურობის მატებაში, თუმცა ტიტრი დაბალია. ცილების კლება მიგვანიშნებს, სტრეს ფაქტორის გავლენაზე, როგორც ცნობილია სტრესის შედეგად, ჯერ ცილების კლება, ხოლო შემდეგ მატების კულმინაცია 24-48 საათის შუალედებში აღწევს. მეორე დღის ექსტრაქტში ცილები სამჯერ მატულობს, რაც სტრეს

ცილების მატებით შეიძლება აიხსნას. მიუხედავად იმისა, რომ პირველი დღის ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა ძალზე მაღალია, მინიმალური ტიტრი საპირისპიროს მიუთითებს. აქედან გამომდინარე, როგორც ჩანს, ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობის განსაზღვრა არ იძლევა ნათელ სურათს.

იმისათვის, რომ ნათლად წარმოვაჩინოთ მზის რადიაციის და ტემპერატურის შედეგად ლექტინური აქტიურობის კლება, ამისთვის საჭიროა განვსაზღვროთ ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა (ცხრილი №33).

ალოეს ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა

ცხრილი №33

დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	T	ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა
24 საათის შემდეგ	0.04	2 ⁶	185.6
48 საათის შემდეგ	0.12	2 ⁶	166.4
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.3	2 ⁸	844.8

ალოეს მზეზე დაყოვნება გაგრძელდა მომდევნო დღეებშიც. ამ პერიოდში მცენარის ფოთლებმა წონის თითქმის ნახევარი დაკარგა.

მზის რადიაციის და ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე მეხუთე და მეექვსე დღეს.

ცხრილი №34

დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა
------------------	-----------	-----	-------------	--

მეხუთე დღე	0.26	2 ⁸	984.62	486.4
მეექვსე დღე	0.272	2 ⁸	941.18	396.8
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.3	2 ⁸	853.33	844.8

ვინაიდან, ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა, ამ შემთხვევაში, სრულად არ ასახავს არსებულ ვითარებას, №32-ე და №33-ე ცხრილების მაჩვენებლები განვიხილეთ ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობის მიხედვით. უპ. ყოვლისა აღსანიშნავია, რომ 24 და 48 საათის შემდეგ საგრძნობლად დაეცა ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა და შესაბამისად შეადგინა 185.6 და 166.4 საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით (844.8). ამ ორი ექსტრაქტის საშუალო მაჩვენებელია $(185.6 + 166.4/2) = 176$, რაც 79.16%-ით ნაკლებია საკონტროლო ექსტრაქტის ლექტინის ხვედრითი ჰემაგლუტინაციური აქტიურობასთან მიმართებაში, რაც მიუთითებს სტრესიდან პირველ დღეებში ლექტინის რაოდენობის დაქვეითებას.

სტრესიდან, მეხუთე და მეექვსე დღეს, პირველ და მეორე დღესთან შედარებით, ცილების კონცენტრაციამ, საშუალო მაჩვენებლის მიხედვით 39.85%-ით მოიმატა, საკონტროლო ექსტრაქტის ცილების რაოდენობასთან. მომატებული აღმოჩნდა პირველ და მეორე დღესთან შედარებით ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა, მინიმალური ტიტრი და გაუთანაბრდა საკონტროლო ექსტრაქტის მაჩვენებლებს (ცხრილი №34).

რაც შეეხება, ლექტინის ხვედრით ჰემაგლუტინაციური აქტიურობას, საშუალო მაჩვენებლის მიხედვით $(396.8 + 486.4 / 2)$ შეადგინა 441.6 რაც პირველ და მეორე დღის საშუალო მაჩვენებელს 60%-ით გადააჭარბა, თუმცა 47%-ით ნაკლებია საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით.

აქედან გამომდინარე გაკეთდა დასკვნა, რომ ლექტინის ჰემაგლუტინაციური ხვედრითი აქტიურობის მიხედვით, მზის მაღალი ტემპერატურის და რადიაციის პირობებში პირველ-მეორე დღეს ლექტინური აქტიურობა და ცილების კონცენტრაცია კლებულობს. მეორე დღიდან იწყება ცილების კონცენტრაციის მომატება, ხოლო

მეხუთე-მეექვსე დღეს ფიქსირდება საგრძნობი მატება. რაც შეეხება ლექტინურ აქტიურობას, პირველ-მეორე დღეებში აქტიურობა საგრძნობლად ქვეითდება, მატულობს მეხუთე-მეექვსე დღეს, თუმცა ნორმის ფარგლებს არ უბრუნდება.

ამრიგად, ალოეს ფოთლები მაღალ ტემპერატურას და რადიაციას, 24 საათის შემდეგ პასუხობს ცილების და ლექტინების მომატებით, რაც კავშირშია მცენარის დაცვით რეაქციებთან.

მზეზე ექვს დღიანმა დაყოვნებამ, მცენარეში განსაკუთრებით დააზიანა ალოეს ცენტრალური, ნორჩი ფოთლები, რომელიც პრაქტიკულად გახმა. მისი ექსტრაქტის ანალიზმა ასევე გამოავლინა ლექტინური აქტიურობა (ცხრილი №35).

მზის რადიაციის და ტემპერატურის გავლენა ალოეს ნორჩი ფოთლის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცხრილი №35

დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ნორჩი ფოთლი VII დღე	0.224	2 ¹⁰	4571.43	0.0000546875

როგორც №35 ცხრილიდან ჩანს, ლექტინური აქტიურობა შენარჩუნებულია ამჯერად მზის რადიაციის და ტემპერატურისაგან დეჰიდრატირებულ ალოეს ნორჩ ფოთოლშიც.

3.1.20. ულტრაიისფერი რადიაციის გავლენა ალოეს ფოთლის ცილებზე და ლექტინის აქტიურობაზე

ბიოსფეროში მიმდინარე პროცესებზე გავლენას ახდენს ულტრაიისფერი სხივების ინტენსიურობის ზრდა, რაც აისახება მცენარეულ სამყაროზეც. იქმნება აუცილებლობა შეფასდეს მცენარეულ უჯრედებში მიმდინარე ციტოფიზიოლოგიურ პროცესებზე ულტრაიისფერი რადიაციით გამოწვეული ცვლილებები. ულტრაიისფერი რადიაციის მცენარეზე ზემოქმედება 280-320 ნმ-ის დიაპაზონით მოიცავს ბიოდეგრადაციის ყველა დონეს, მათ შორის რეგულატორულ და ენერგეტიკულ ფუნქციებზე გავლენას.

უმაღლესი მცენარეების მგრძობელობა მზის უ.ი. გამოსხივების მიმართ, არსებითად დამოკიდებულია მის გენოტიპზე, ეკოტიპზე, ონტოგენეზის ეტაპებზე [65].

მოჭრილ ალოეს ფოთლებზე უ.ი სხივების ზემოქმედებას ვახდენით 10, 20, 30, 40, 60 წუთის განმავლობაში. უ.ი სხივების გამოსხივების დიაპაზონი იყო 280 ნმ. ფოთლები დაცილებული იყო ოპტიმალური - 50 სმ მანძილით, დასხივების შემდეგ ფოთლისგან მზადდებოდა ექსტრაქტი.

საკონტროლოდ აღებული იქნა შესაბამისი იარუსის მოჭრილი ფოთოლი, რომელიც 60 წუთით იმყოფებოდა ჩვეულებრივი განათების პირობებში.

ანალოგიური პრინციპით მომზადებულ იქნა, ალოეს დაუსხივებელი ფოთლიდან ექსტრაქტი და შემდეგ მოხდა მისი დასხივება ულტრაიისფერი სხივებით 10, 20, 30, 40, 50, 60 წუთის განმავლობაში (ცხრილი №36).

დასხივების შემდეგ მოვახდინეთ ექსტრაქტის ცენტრიფუგირება 8000გ-ზე 5 წუთის განმავლობაში.

უ.ი. სხივების გავლენა ალოეს ფოთლის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი №36

დასხივებულ ი ფოთლის დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
კონტროლი	0.42	2 ⁸	609.52	0.0004101562
10 წუთი	0.424	2 ⁸	603.77	0.0004101562
20 წუთი	0.566	2 ⁸	452.30	0.0005527343
30 წუთი	0.686	2 ⁹	746.36	0.000334960
40 წუთი	0.544	2 ⁹	941.18	0.000265625
60 წუთი	0.590	2 ⁹	867.80	0.000288085

ფოთლების დასხივებიდან 10 წუთის შემდეგ, საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით ცვლილებები ცილების კონცენტრაციასა და ლექტინის აქტიურობაზე არ გამოვლენილა. ცვლილებები დაიწყო ცილის კონცენტრაციის მხრივ, 20 წუთით დასხივების შემდეგ (მატება 34.76%-ით) და 30 წუთის შემდეგ ცვლილებები გამოვლინდა ლექტინური აქტიურობის მხრივ (მატება 18.33%-ით) (ცხრილი №36).

როგორც №35 ცხრილიდან ჩანს, 30 წუთიანი უ.ი. სხივების ზემოქმედების შემდეგ, ლექტინის სპეციფიკურმა აქტიურობამ საკონტროლოსთან შედარებით 18.33%-ით მოიმატა, ხოლო 40 წუთიანი დასხივების შემდეგ - 35.24 %-ით, 60 წუთიანი დასხივების შემდეგ - 29.26%-ით, რაც კორელაციაშია ცილის კონცენტრაციის მატებასთან. კერძოდ, უ.ი. სხივებით 30 წუთიანი ექსპოზიციისას ცილის კონცენტრაციამ 38.77%-ით მოიმატა, 40 წუთიანი დასხივებისას 22.79%-ით, ხოლო 60 წუთის შემდეგ - 28.81%-ით.

ამ მიმართულებით ცდები გაგრძელდა, ამჯერად დასხივებული იქნა დაუსხივებელი ფოთლისგან მომზადებული ექსტრაქტი (ცხრილი №37).

დაუსხივებელი ალოეს ფოთლის ცილის და ლექტინის აქტიურობა ექსტრაქტის უ.ი
დასხივების შემდეგ

ცხრილი №37

დასხივებულ ი ექსტრაქტის დროითი ინტერვალი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
კონტროლი	0.406	2 ⁸	630.54	0.00039648435
10 წუთი	0.37	2 ⁸	691.89	0.000361328
20 წუთი	0.374	2 ⁸	684.49	0.00036523435
30 წუთი	0.366	2 ⁸	699.45	0.00035742185
40 წუთი	0.384	2 ⁸	666.67	0.000375
50 წუთი	0.38	2 ⁸	673.68	0.00037109375
60 წუთი	0.40	2 ⁸	640	0.000390625

როგორც №37 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთლისაგან მომზადებული ექსტრაქტის ცილების კონცენტრაცია და ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას შორის შესამჩნევი ცვლილებები არ გამოვლინდა, რაც მიუთითებს ალოეს ცილების და მათ შორის ლექტინის მდგრადობას 60 წუთის განმავლობაში უ.ი დასხივების მიმართ.

ჩატარებული ცდებიდან გამომდინარეობს, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინი საკმაოდ მდგრადია მთელი რიგი ფაქტორების მიმართ, რაც როგორც აღინიშნა, უპირველეს ყოვლისა ემსახურება ფოთლის სიმტკიცის უზრუნველყოფას და აქედან გამომდინარე წყლის მინიმალურ აორთქლებას. ცნობილია, რომ კუტიკულა (ეპიდერმისი) ეწინააღმდეგება წყლის აორთქლებას განსაკუთრებით ალოეს მსგავს მცენარეებში. სიბნელეში ლექტინის აქტიურობის შენარჩუნება, შეიძლება მიგვანიშნებდეს ლექტინის რაღაც დოზით მონაწილეობაზე ბაგეების დახურვა-გაღების პროცესში (თუმცა ამ მხრივ გადამწყვეტია კალიუმის იონები), ვინაიდან ცნობილია, რომ მცენარეები სიბნელეშიც ახდენენ ბაგეების დახურვა-გაღებას, რაც კავშირშია ცირკადულ რიტმებთან.

3.1.21. ალოეს ფოთლის ლექტინების კონცენტრაციის ცვლილება 8 დღიანი სიბნელის პირობებში

ცირკადული რიტმები არის ყველა სახის ორგანიზმში მიმდინარე ინტენსიური პროცესების ცვლილება, რომელიც კავშირშია დღე-ღამის მონაცვლეობასთან. ასეთი რიტმები ახასიათებს ყველა ცოცხალ ორგანიზმს პლანეტაზე. ადაპტური ფიზიოლოგიური რიტმების გამომუშავება მიმდინარეობს ევოლუციის მანძილზე, როგორც ორგანიზმების შეგუების ფორმა ციკლურად ცვალებად გარემოში. დღის განმავლობაში ცირკადული რიტმების დარღვევისას მცენარეებში დაფიქსირებულ იქნა ჰორმონების, კერძოდ ჟასმონის მჟავის ცვლილებები [72], რომელიც ასევე რეაგირებს მცენარის დაზიანებაზე (და სხვა ფაქტორებზეც) და ხელს უწყობს სწრაფი აღდგენითი პროცესების განვითარებას.

ამ მხრივ საინტერესო იყო თუ რა გავლენას მოახდენს ცირკადული რიტმის დარღვევა ალოეს ფოთლის ლექტინების კონცენტრაციაზე. ამ მიზნით მცენარე მოთავსებულ იქნა სიბნელეში 8 დღის განმავლობაში და ყოველ დღე ისაზღვრებოდა მის ექსტრაქტში ლექტინის კონცენტრაცია (ცხრილი №38).

სიბნელის პირობებში მყოფი ალოეს ფოთლის ლექტინის კონცენტრაციის ცვლილება
ცხრილი №38

პერიოდები	(C) მგ/მლ	(T)	(LC)
I	0.24	2 ⁹	0.0019
II	0.214	2 ⁸	0.0039
III	0.25	2 ⁸	0.0039
IV	0.16	2 ⁸	0.0039
VII	0.19	2 ⁹	0.0019
VIII	0.175	2 ⁹	0.0019

როგორც №38 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფოთოლში სიბნელეში მოთავსების მეორე დღიდან იწყება ლექტინის კონცენტრაციის კლება 50%-ით, რაც შენარჩუნებულია

მეექვსე დღემდე. მეექვსე დღიდან ლექტინის კონცენტრაცია ნორმის ფარგლებს უბრუნდება.

3.2. ალოეს ბოლქვიდან ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია

3.2.1. ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცდების შემდგომ სერიაში შესწავლილ იქნა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში (ცხრილი № 39).

ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცხრილი №39

pH-ის მნიშვნელობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
pH 5	0.2	2 ⁴	80	0.003125
pH 7.4	0.239	2 ⁶	267.80	0.00093359
pH 8	0.375	2 ⁸	542.37	0.00036621
pH 9	0.4	2 ⁸	640	0.0003906

როგორც №39 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტი მაქსიმალურ ლექტინურ აქტიურობას ავლენს pH 8-9-ის პირობებში. pH 9-ის პირობებში ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა 58.15%-ით აღემატება pH 7.4-ზე მომზადებული ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობას და 87.5%-ით pH 5-ის პირობებში მომზადებული ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას.

გასათვალისწინებელია ის, რომ ფესვის და ბოლქვის შემთხვევაში, მნიშვნელოვანია მათი ფიზიოლოგიური მდგომარეობა. მაგალითად ახალგაზრდა, ჯერ კიდევ თეთრი შეფერილობის ფესვი pH 5-ზე ლექტინურ აქტიურობას საერთოდ არ ავლენს. ბოლქვში ლექტინური აქტიურობა იცვლება სიგრძის მიხედვით (რაც შეეხება ფოთლებს, აღმოჩნდა, რომ მკვეთრი სხვაობაა ლექტინური აქტიურობის მხრივ იარუსების მიხედვით თავი 3.1.12). ყოველივე ეს განხილული იქნება მომდევნო თავებში.

3.2.2. ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ალოეს ფოთლის და ფესვის ექსტრაქტების მსგავსად, ბოლქვის ცილების ექსტრაქტისათვისაც შეირჩა ექსტრაქციის ოპტიმალური დრო (ცხრილი №40).

ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცხრილი №40

ექსტრაქციის ხანგრძლივობა წუთებში		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
15	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.4	2 ⁶	160	0.0015625
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	20	0.0125
30	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.28	2 ⁶	228	0.00109375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	14.29	0.0175
60	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.4	2 ⁸	640	0.000390625
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	20	0.0125

როგორც №40 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის მაღალი ლექტინური აქტიურობა ვლინდება 60 წუთიანი ექსტრაქციის პირობებში და 64.37%-ით მეტია 30 წუთიანი ექსტრაქციის პირობებში მომზადებული ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობასთან, ხოლო 75%-ით აღემატება 15 წუთით ექსტრაქციის პირობებში მომზადებული ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობას.

3.2.3. β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ სერიაში შესწავლილ იქნა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა 0.1 % β-მერკაპტოეთანოლიან ხსნარში (ცხრილი №41).

β-მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი №41

ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ

საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.548	2 ⁷	233.58	0.0010703125
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	7.30	0.03425
ექსტრაქტი 0.1% β- მერკაპტოეთანოლით	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.51	2 ⁸	501.96	0.00049804685
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	15.00	0.0159375

დადგინდა, რომ ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა მატულობს β-მერკაპტოეთანოლიან ხსნარში და 53.47%-ით აჭარბებს საკონტროლო ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობას ტრიფსინიზირებული ერიტროციტების მიხედვით, ხოლო ნატიური ერიტროციტების მიხედვით, ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა 51.33%-ით მეტია.

3.2.4. ალოეს ბოლქვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა

ცდების შემდგომ სერიაში დადგინდა ალოეს ბოლქვის ნახშირწყლებისადმი დამოკიდებულება. გამოყენებულ იქნა სამი ნახშირწყალი (ცხრილი №42).

ალოეს ბოლქვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა

ცხრილი №42

ნახშირწყლები	ჰემაგლუტინაციის აქტიურობის ინჰიბირება	ნახშირწყლების მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია mM
D-გალაქტოზა	-	-
D-მანოზა	+	0.3
N-აცეტილ-D-გლუკოზამინი	+++	0.15

- + ჰემაგლუტინაციის მცირე ინჰიბირება
- +++ ძლიერ ინჰიბირებული ჰემაგლუტინაცია

ცდების შედეგად გამოვლინდა, რომ N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის 0.15 mM კონცენტრაციის პირობებში, იმუნოლოგიური პლანშეტის ფოსოში, ნათლად გამოიხატა ჰემაგლუტინაციის დათრგუნვა. შესაბამისად ალოეს ბოლქვის ლექტინი N-აცეტილ-D-გლუკოზამინისპეციფიკურია.

3.2.5. ალოეს ბოლქვის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან

ნახშირწყალსპეციფიკურობის დადგენის შემდეგ, ცდების მომდევნო სერიაში დადგენილ იქნა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება პოლისაქარიდ ქიტინთან. 500 მკლ. ბოლქვის ექსტრაქტი 24 საათის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე ინკუბირებულ იქნა 500 მკლ. ქიტინის ხსნართან (ცხრილი №43).

ალოეს ბოლქვის ლექტინის ინკუბაცია ქიტინთან

ცხრილი №43

ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	T	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ბოლქვის საკონტროლო ექსტრაქტი	1.66	2 ⁹	308.43	0.000810546
ბოლქვის ექსტრაქტი ინკუბირებული ქიტინთან	1.10	2 ⁵	29.09	0.00859375

ქიტინმა მოცემულ შემთხვევაში, დაიკავშირა ალოეს ბოლქვის ლექტინების 90.57%. რაც კიდევ ერთხელ ადასტურებს ალოეს ბოლქვის ლექტინის სპეციფიკურობას N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის ნაშთებისადმი.

3.2.6. ალოეს ბოლქვის ლექტინის გავლენა ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე

ალოეს ფოთლის და ფესვის ექსტრაქტების მსგავსად, ცდების მომდევნო სერიაში, შესწავლილი იქნა ბოლქვის ექსტრაქტის გავლენა, ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე (ცხრილი №44).

ალოეს ბოლქვის ლექტინის გავლენა ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ჯგუფის ნატიურ ერითროციტებზე

ცხრილი №44

სისხლის ჯგუფები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I(OO)	1.66	—	—	—
II(OA;AA)		2 ¹	1.2	0.2075
III(OB;BB)		—	—	—
IV(AB)		2 ¹	1.2	0.2075

როგორც №44 ცხრილიდან ჩანს, ბოლქვის ლექტინი ავლენს, ძალზე სუსტ ჰემაგლუტინაციას ABO სისტემის მეორე და მეოთხე ჯგუფის ერითროციტების მიმართ ანუ ავლენს სწრაფვას მხოლოდ A ანტიგენის მიმართ.

3.2.7. ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერთროციტებზე.

ცდების მომდევნო სერიაში შესწავლილი იქნა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიური სისხლის 2%-იან ერთროციტების სუსპენზიაზე ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის აგლუტინაციური გავლენა (ცხრილი №45).

ალოეს ბოლქვის ლექტინის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერთროციტებზე.

ცხრილი №45.

ერთროციტების მდგომარეობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.375	2 ¹²	10922.67	0.0000228815
ნატიური ერთროციტები		2 ¹	5.33	0.046875

დადგინდა, რომ ალოეს ბოლქვის ლექტინი ძლიერ ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობას ახდენს, ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ ერთროციტებზე, ფოთლის ლექტინის აქტიურობასთან (აჭარბებს 86.91%-ით ტრიფსინიზირებული ერთროციტების მიხედვით (იხ.ცხრილი №11) შედარებით, თუმცა 34.40%-ით ნაკლებია ფესვის ლექტინურ აქტიურობაზე (იხ. ცხრილი №56).

3.2.8. ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით.

ცდების შემდგომ სერიაში შვეისწავლეთ ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით (ცხრილი №46).

ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ამონიუმის სულფატით ფრაქციონირება
ცხრილი №46

ამონიუმის სულფატის კონცენტრაცია %		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.839	2 ⁵	38.14	0.0065546
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	4.77	0.0524375
0-20	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.433	2 ⁴	36.95	0.0067656
	ნატიური ერთროციტები		2 ¹	4.62	0.054125
20-40	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.92	2 ⁹	556.52	0.0004492
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁴	17.39	0.014375
40-60 (25 მკლ)	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	4.148	2 ¹⁰	987.44	0.0010126953
	ნატიური ერთროციტები		2 ⁵	30.84	0.0324062
60-80	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.522	2 ³	15.32	0.016312
	ნატიური ერთროციტები		2 ¹	3.83	0.06525
80-100	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.04	—	—	—
	ნატიური ერთროციტები		—	—	—

როგორც №46 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ცილების ყველაზე მაღალი კონცენტრაცია (79.77%-ით მეტი) და ლექტინური აქტიურობა გამოვლინდა

ამონიუმის სულფატით 40-60%-მდე გაჯერების პირობებში და შეადგინა 96.14%-ით მეტი საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით.

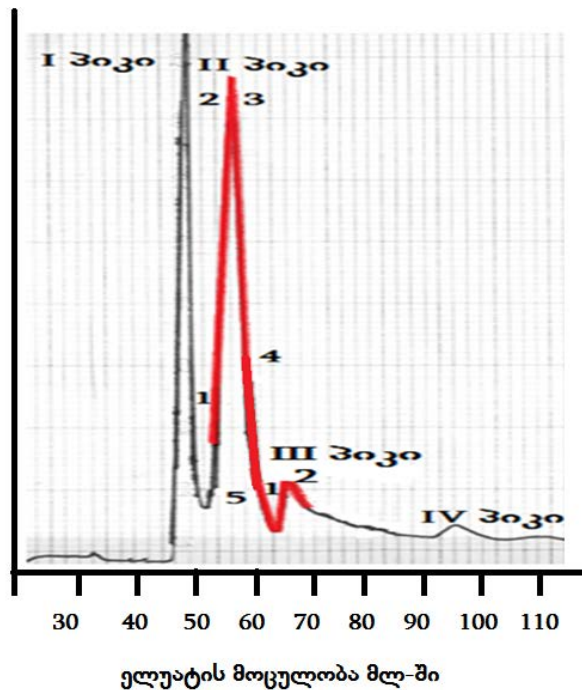
3.2.9. ალოეს ბოლქვის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი

მომდევნო ცდების სერიაში ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტიდან ლექტინური პიკების დადგენის მიზნით ჩატარდა ქრომატოგრაფია (სურათი №12).

ალოეს ბოლქვის ცილების ქრომატოგრამა

სურათი №12

შთანთქმის
სპექტრი 280 ნმ



ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიის შედეგად გამოვლინდა ოთხი პიკი. სურათზე მოცემულია ლექტინური აქტიურობის განაწილება პიკების მიხედვით. როგორც სურათი №12-დან ჩანს, რომ ლექტინური აქტიურობით მეორე და მესამე პიკებია გამორჩეული. სრული ლექტინური მაჩვენებლები მოცემულია ცხრილ №47-ში.

ალოეს ბოლქვის ლექტინური აქტიურობა ქრომატოგრამის პიკების მიხედვით

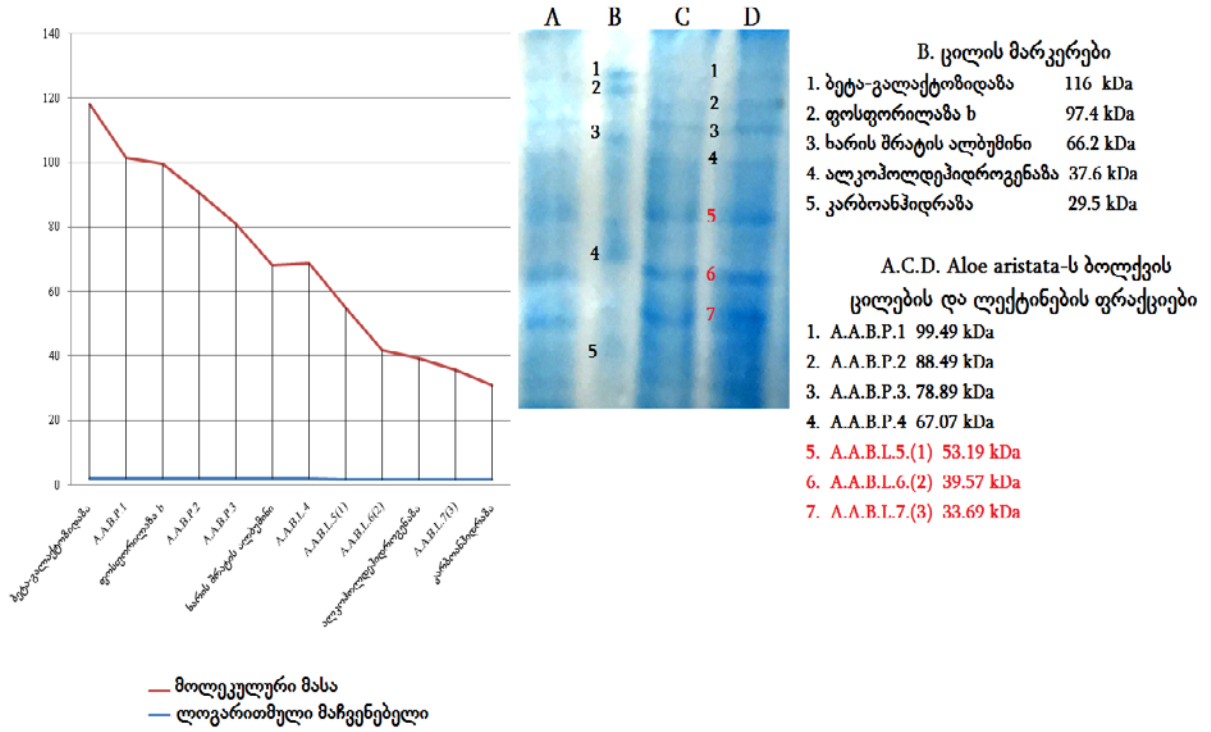
II პიკი				
პიკები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
II.1.	0.091	2 ³	87.91	0.00284375
II.2.	0.51	2 ⁵	62.74	0.003984375
II.3.	0.58	2 ⁶	110.35	0.002265625
II.4.	0.36	2 ⁵	88.89	0.0028125
II.5.	0.12	2 ⁴	133.33	0.001875
III პიკი				
III.1.	0.025	2 ⁴	640	0.000390625
III.2.	0.005	2 ¹	400	0.000625

პიკების ანალიზის შედეგად ჩანს, რომ ალოეს ბოლქვის მეორე პიკში, მაღალი ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა მეორე, მესამე და მეოთხე პიკთან არსებულ მონაკვეთები, ხოლო მესამე პიკი თითქმის მთლიანად ავლენს მაღალ ლექტინურ აქტიურობას. პირველ და მეოთხე პიკებში ლექტინური აქტიურობა არ ვლინდება.

ქრომატოგრაფიის შემდეგ ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ცილები, რომელიც წინასწარ იქნა გატარებული გლუტარალდეჰიდით ფიქსირებულ ერთროციტების სვეტზე, დატანილ იქნა 12%-იან პოლაკრილამიდის გელში. ელექტროფორეზის შედეგად მკვეთრად გამოიკვეთა სამი ცილოვანი ფრაქცია (სურათი №13).

ალოეს ბოლქვის ცილების და ლექტინების ელექტროფორეგრამა

სურათი №13



3.2.10. ალოეს ბოლქვში ლექტინის განაწილება

ალოეს ბოლქვზე ცდების მსვლელობისას გამოვლინდა, რომ ალოეს ბოლქვი, რომელიც ერთიან, რამდენიმე სანტიმეტრის სიგრძის ორგანოს წარმოადგენს, განსხვავებულია ლექტინური აქტიურობის მიხედვით (ცხრილი №48).

ალოეს ბოლქვში ლექტინის განაწილება

ცხრილი №48

ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ბოლქვის საწყისი ნაწილი	1.956	2 ⁹	535.56	0.0009550781
ბოლქვის შუა ნაწილი	0.428	2 ⁷	299.06	0.0008359375
ბოლქვის ქვედა ნაწილი	0.839	2 ⁵	38.4	0.0065546875
ბოლქვის ამონაყარი	0.44	2 ⁷	290.91	0.000859375

როგორც №48 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ბოლქვის საწყის, ზედა ნაწილში (ფოთლებთან ახლოს) ლექტინური აქტიურობა მაღალია, ის 44.16%-ით მეტია (ცილები 78.11%-ით მეტი) ბოლქვის შუა ნაწილის ლექტინურ აქტიურობასთან შედარებით და 92.84%-ით (ცილები 56.99%-ით მეტი) მეტი ბოლქვის ქვედა ნაწილის ლექტინურ აქტიურობასთან შედარებით. ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა ბოლქვის ნორჩი, თეთრი შეფერილობის ამონაყარიც.

3.2.11. გაყინვის პირობებში ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა

ცდების შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის დამოკიდებულება გაყინვისადმი (ცხრილი №49).

№49 ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ ათი დღის მანძილზე გაყინვის პირობებში ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა მკვეთრად მატულობს, რაც აიხსნება ცილის საერთო კონცენტრაციის კლებით, მატულობს ლექტინის მინიმალური ტიტრი, რაც სავარაუდოდ მიანიშნებს ლექტინის გამძლეობას გაყინვისადმი, ხოლო ცილის ზოგიერთი ფრაქცია განიცდის დენატურაციას.

გაყინვის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი №49

დროითი ინტერვალი		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.839	2 ⁵	38.14	0.00655468
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	4.77	0.0524375
I დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.942	2 ⁷	135.88	0.00183984
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	8.49	0.0294375
II დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.805	2 ⁸	318.01	0.00078613
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	4.97	0.0503125
III დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.88	2 ⁷	145.45	0.00171875
	ნატიური		2 ²	4.54	0.055

	ერთროციტები				
IV დღე	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.715	2 ⁶	89.51	0.0027929
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	5.59	0.0446875
VII დღე	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.784	2 ⁷	163.26	0.00153125
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	5.10	0.049
VIII დღე	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.612	2 ⁷	209.15	0.00119531
	ნატიური ერთროციტები		2 ²	6.53	0.03825
IX დღე	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.729	2 ⁷	175.58	0.00142382
	ნატიური ერთროციტები		2 ³	10.97	0.0227125
X დღე	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.803	2 ⁷	159.40	0.00156835
	ნატიური ერთროციტები		2 ³	9.96	0.02509375

3.2.12. მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის
ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ სერიაში შევისწავლეთ ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე ტემპერატურის გავლენა (ცხრილი №50).

ტემპერატურის გავლენა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცხრილი №50

ტემპერატურული მაჩვენებელი °C	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA)	(MHA)
18-20	0.956	2 ⁹	535.56	0.000466
40	1	2 ⁹	512	0.000488
60	0.952	2 ⁸	268.91	0.00092968
80	1	2 ³	16	0.00390625
100	1.12	2 ¹	3.57	0.14

როგორც №50 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტში, ფესვის ექსტრაქტის მსგავსად ლექტინური აქტიურობა 100°C-ის პირობებშიც კი სრულად არ ითრგუნება. ის 80°C-ის შემდეგ საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით 2.99%-ით ინარჩუნებს ლექტინურ აქტიურობას, ხოლო 100°C-ზე 0.67%-ით.

3.3. ალოეს (A.aristata) ფესვიდან ხსნადი ლექტინების ექსტრაქცია

3.3.1. ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცდების შემდგომ სერიაში, ფოთლის ექსტრაქტების მსგავსად, მომზადდა ალოეს ფესვის ექსტრაქტები pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში (ცხრილი №51).

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, pH-ის სხვადასხვა მნიშვნელობის ბუფერულ ხსნარებში.

ცხრილი №51.

pH-ის მნიშვნელობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
pH 5	0.44	2 ⁴	36.36	0.006875
pH 7.4	0.78	2 ⁵	41.03	0.00609375
pH 8	0.56	2 ⁵	57.14	0.004375
pH 9	0.63	2 ⁷	203.17	0.00123046875

დადგინდა რომ, ალოეს ფესვის ექსტრაქტი მაქსიმალურ ლექტინურ აქტიურობას ავლენს pH 9-ის პირობებში და აღემატება 71.87%-ით pH 8-ის; 79.8%-ით pH 7.4-ის და 82.1%-ით pH 5-ის პირობებში მომზადებული ექსტრაქტების ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას.

3.3.2. ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ სერიაში განისაზღვრა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ექსტრაქციის ხანგრძლივობის ოპტიმალური დრო (ცხრილი № 52).

ექსტრაქციის დროის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.
ცხრილი №52.

ექსტრაქციის ხანგრძლივობა წუთებში		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
15	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.6	2 ⁴	26.67	0.009375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ³	13.33	0.01875
30	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.56	2 ⁷	228.57	0.00109375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁵	57.14	0.004375
60	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.63	2 ⁷	203.17	0.00123046875
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁴	25.40	0.00984375

დადგინდა, რომ ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა თითქმის თანაბარია 30 და 60 წუთიანი ექსტრაქციის შემდეგ და 87.65%-ით აღემატება ალოეს 15 წუთიანი ექსტრაქციის პირობებში მომზადებული ექსტრაქტის ლექტინის სპეციფიკურ აქტიურობას.

3.3.3. β -მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცდების მომდევნო სერიაში შევისწავლეთ ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე β -მერკაპტოეთანოლის გავლენა (ცხრილი № 53).

β -მერკაპტოეთანოლის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი №53.

ალოეს ფესვის ექსტრაქტი	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	0.75	2 ⁸	341.33	0.00073242185
ექსტრაქტი 0.1% β - მერკაპტოეთანოლით	0.81	2 ⁸	316.05	0.00079101156

ცდების შედეგად გამოირკვა, რომ ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობის, მატებაზე 0.1% β -მერკაპტოეთანოლმა გავლენა ვერ მოახდინა. საკონტროლოსთან შედარებით ცილის კონცენტრაციამ და ლექტინის სპეციფიკურმა აქტიურობამ უმინიმუმნელო ცვლილებები განიცადა.

3.3.4. ალოეს ფესვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა

ცდების შემდგომ სერიაში დადგინდა ალოეს ფესვის ლექტინის დამოკიდებულება ნახშირწყალსპეციფიკურობა. გამოყენებულ იქნა სამი ნახშირწყალი (ცხრილი №54).

ალოეს ფესვის ლექტინის ნახშირწყალსპეციფიკურობა

ცხრილი №54.

ნახშირწყლები	ჰემაგლუტინაციის აქტიურობის ინჰიბირება	ნახშირწყლების მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია mM
D-გალაქტოზა	-	-
D-მანოზა	+	0.3
N-აცეტილD-გლუკოზამინი	+++	0.15

+ ჰემაგლუტინაციის მცირე ინჰიბირება

+++ ძლიერ ინჰიბირებული ჰემაგლუტინაცია

როგორც №54 ცხრილიდან ჩანს, N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის 0.15 mM კონცენტრაციის პირობებში იმუნოლოგიური პლანშეტის ფოსოში ნათლად გამოიხატა ჰემაგლუტინაციის დათრგუნვა. შესაბამისად ალოეს ფესვის ლექტინი N-აცეტილ-D-გლუკოზამინისპეციფიკურია.

3.3.5. ალოეს ფესვის ლექტინის ურთიერთქმედება ქიტინთან

ცდების მომდევნო სერიაში განისაზღვრა ალოეს ფესვის ლექტინის დამოკიდებულება ქიტინის მიმართ. 500 მკლ. ალოეს ფესვის ექსტრაქტი 24 საათის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე ინკუბირებული იქნა 500 მკლ. ქიტინის ხსნართან (ცხრილი №55).

ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	T	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფესვის საკონტროლო ექსტრაქტი	1.90	2 ¹⁰	538.95	0.00046386715
ფესვის ექსტრაქტი ინკუბირებული ქიტინთან	1.46	2 ⁶	43.83	0.005703125

ჩატარებული ცდიდან გამოვლინდა, რომ საკონტროლოსთან შედარებით, ქიტინმა დაიკავშირა ლექტინების 91.86%. რაც ნათლად ადასტურებს ალოეს ფესვის N-აცეტილ-D-გლუკოზამინის ნაშთებისადმი სპეციფიკურობას.

3.3.6. ალოეს ფესვის ლექტინის გავლენა ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე

ფოთლის და ბოლქვის ექსტრაქტების მსგავსად, ჩატარდა ცდები ალოეს ფესვის ლექტინის აგლუტინაციის გასარკვევად ადამიანის ABO სისხლის სისტემის ერითროციტებთან მიმართებაში (ცხრილი №56).

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა, ადამიანის სისხლის ABO სისტემის ნატიურ ერითროციტებზე

ცხრილი №56

სისხლის ჯგუფები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
I(OO)	1.86	2 ³	4.30	0.058125
II(OA;AA)		2 ³	4.30	0.058125
III(OB;BB)		2 ³	4.30	0.058125
IV(AB)		2 ³	4.30	0.058125

მონაცემების დამუშავების შედეგად დადგინდა, რომ ალოეს ფესვის ლექტინი ავლენს ადამიანის ABO სისხლის სისტემის, ყველა ჯგუფის ნატიური ერითროციტების მიმართ სუსტ აგლუტინაციურ აქტიურობას.

3.3.7. ალოეს ფესვის ექსტრაქტის გავლენა ვირთაგვას ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერითროციტებზე

ცდების შემდგომ სერიაში, მომზადებულ იქნა ვირთაგვას 2%-იანი ერითროციტების ტრიფსინიზირებული და უტრიფსინო ერითროციტების სუსპენზია. №57 ცხრილში მოცემულია აგლუტინაციის შედეგები.

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ჰემაგლუტინაციური აქტიურობა, ვირთაგვას სისხლის ტრიფსინიზირებულ და ნატიურ ერითროციტებზე

ცხრილი №57

ერითროციტების მდგომარეობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ტრიფსინიზირებული				

ერთროციტები		2 ¹⁴	16650.41	0.0000150146484375
ნატიური ერთროციტები	0.984	2 ⁴	16.26	0.015375

როგორც №57 ცხრილიდან ჩანს ალოეს ფესვის ლექტინი გაცილებით ძლიერ ჰემაგლუტინაციურ აქტიურობას ავლენს, ვირთაგვის როგორც ტრიფსინიზირებულ ისე ნატიურ ერთროციტებზე, ვიდრე ალოეს ფოთლის (აქარბებს 91.41%-ით ტრიფსინიზირებული ერთროციტების მიხედვით იხ. ცხრილი №11) და ბოლქვის ლექტინები (აქარბებს 34.40%-ით ტრიფსინიზირებული ერთროციტების მიხედვით იხ. ცხრილი №45).

3.3.8. ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ცილების ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით.

ცდების შემდგომ სერიაში, შვეისწავლეთ ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ფრაქციონირება ამონიუმის სულფატით (ცხრილი №58).

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ამონიუმის სულფატით ფრაქციონირება

ცხრილი №58

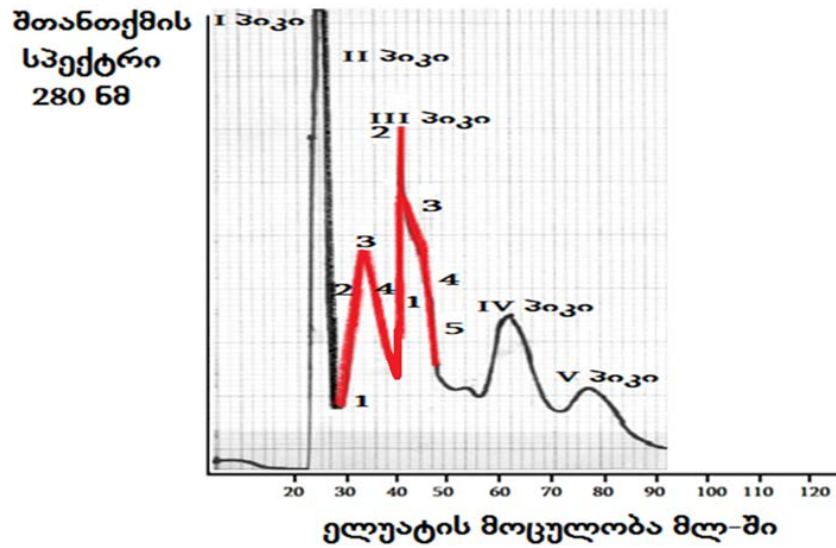
ამონიუმის სულფატის კონცენტრაცია %		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	1.21	2 ⁹	423.14	0.0005908203
0-20	ტრიფსინიზირებული ერთროციტები	0.65	2 ⁹	787	0.0003173828
	ნატიური				

	ერიტროციტები		2 ⁶	98.46	0.0025390625
20-40	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.18	2 ⁹	1280	0.0000878905
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁴	40	0.0028125
40-60	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.156	2 ⁹	1765.52	0.00007617185
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁵	110.34	0.00121875
60-80	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.026	2 ⁷	581.82	0.00005078125
	ნატიური ერიტროციტები		2 ⁴	72.73	0.00040625
80-100	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.012	2 ⁵	457.14	0.00009375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	57.14	0.00075

დადგინდა, რომ ალოეს ფესვის ექსტრაქტი ყველაზე მაღალ ლექტინურ აქტიურობას ავლენს, ამონიუმის სულფატით 40-60%-მდე გაჯერების პირობებში და საკონტროლო ექსტრაქტთან შედარებით შეადგენს 76.03%-ით მეტს.

3.3.9. ალოეს ფესვის ცილების ქრომატოგრაფია და ელექტროფორეზი

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიის შედეგად გამოვლინდა ხუთი პიკი. სურათზე მოცემულია ლექტინური აქტიურობის უბნები. როგორც სურათი №14-დან ჩანს ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა მეორე და მესამე პიკები.



ალოეს ფესვის ლექტინური აქტიურობა ქრომატოგრამის პიკების მიხედვით

ცხრილი №59.

II პიკი				
პიკების უბნები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
II.1.	0.1	2 ⁵	320	0.00078125
II.2.	0.215	2 ⁶	297.67	0.00083984
II.3.	0.123	2 ⁷	1040.65	0.000240234
II.4.	0.043	2 ⁶	1488.37	0.000167968
III პიკი				
III.1.	0.065	2 ⁴	246.15	0.001015625
III.2.	0.091	2 ⁷	1406.59	0.000177734

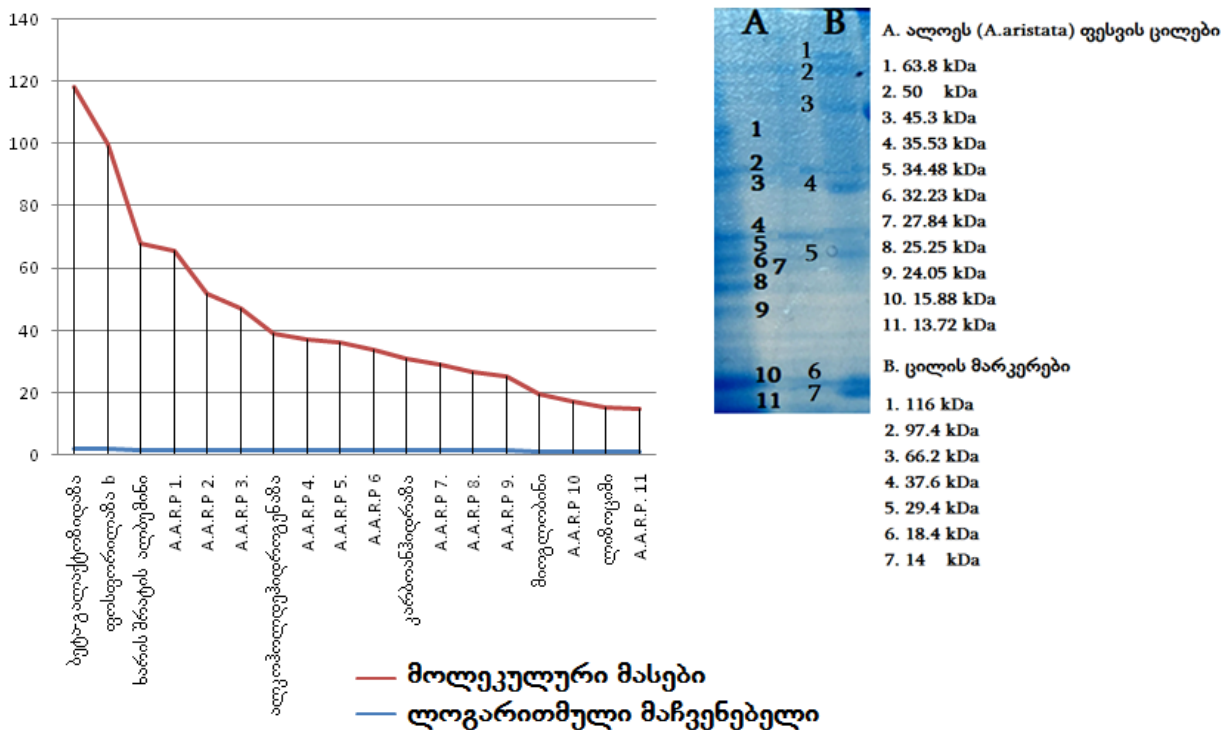
III.3.	0.04	2 ⁷	3200	0.00078125
III.4.	0.04	2 ⁵	800	0.0003125
III.5.	0.04	2 ³	20	0.00125

ცდებიდან გამომდინარე დადგინდა, რომ მეორე პიკში ყველზე მაღალი ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა მესამე და მეოთხე უბნები, ხოლო მესამე პიკში - მეორე და მესამე უბნები, რაც ორივე შემთხვევაში შეესაბამება პიკის თავს. პირველ, მეოთხე და მეხუთე პიკებში ლექტინური აქტიურობა არ არის.

ქრომატოგრაფიის შემდეგ ალოეს ფესვის ექსტრაქტიდან გამოყოფილი ცილები დატანილ იქნა 12%-იან პოლიაკრიამიდის გელზე. ელექტროფორეზი მიმდინარეობდა 3.5 საათის განმავლობაში SDS-ის თანაობისას. შედეგად გამოვლენილ იქნა ალოეს ფესვის ცილების 11 ფრაქცია (სურათი №15).

ალოეს (*A.aristata*) ფესვის ცილების ელექტროფორეგრამა

სურათი №15



3.3.10. ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა, ფესვის საწყის და ბოლო ნაწილებში.

ალოეს ფესვი მაქსიმალურ ლექტინურ აქტიურობას ავლენს, ფესვის საწყის უფრო გამსხვილებული ნაწილში. მასთან შედარებით ლექტინური აქტიურობა მცირეა ბოლქვიდან დამორებულ და ნიადაგში უფრო ღრმად წასულ ფესვში (ცხრილი №60).

ალოეს ფესვის ლექტინური აქტიურობა მცენარის ასაკის მიხედვით
ცხრილი №60

ექსტრაქტები	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ფესვის საწყისი ნაწილი	0.63	2 ⁷	203.17	0.0012304687
ფესვის ბოლო ნაწილი	0.365	2 ³	21.92	0.01140625

დადგინდა, რომ ალოეს ფესვის ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა განსხვავებულია ფესვის საწყის და ბოლო ნაწილებში, საწყის ნაწილში ლექტინის სპეციფიკური აქტიურობა 89.21%-ით მეტია, ხოლო ცილების კონცენტრაცია 42.06%-ით მეტია ფესვის საბოლოო ნაწილთან შედარებით, რაც გასათვალისწინებელია კვლევების დროს.

3.3.11. გაყინვის პირობების გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის დამოკიდებულება გაყინვისადმი, ამ მიზნით ალოეს ფესვის ექსტრაქტი მოთავსებული იქნა -18°C ტემპერატურაზე ათი დღის მანძილზე (ცხრილი №61).

გაყინვის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე

ცხრილი №61

დროითი ინტერვალი		(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
საკონტროლო ექსტრაქტი	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.365	2 ³	21.92	0.01140625
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	5.48	0.045658
I დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.427	2 ⁴	37.47	0.006671875
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	4.68	0.053375
II დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.372	2 ⁴	43.01	0.0058125
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	5.38	0.0465
III დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.412	2 ³	19.42	0.012875
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	4.85	0.0515
IV დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.31	2 ⁴	51.61	0.00484375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	6.45	0.03875
VII დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.372	2 ³	21.5	0.011625
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	10.75	0.02325
VIII დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.269	2 ³	29.74	0.0084062
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	7.43	0.033625
IX დღე	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.35	2 ³	22.86	0.0109375
	ნატიური ერიტროციტები		2 ¹	5.71	0.04375
X დღე 25 მკლ-ში	ტრიფსინიზირებული ერიტროციტები	0.248	2 ³	32.26	0.00775
	ნატიური ერიტროციტები		2 ²	16.13	0.0155

ექსპერიმენტის შედეგად გაირკვა, რომ ათი დღის მანძილზე გაყინვის პირობებში ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაში შეინიშნება გარკვეული ცვლილებები მატების მიმართულებით. თუმცა მნიშვნელოვანია იმ ფაქტის აღმოჩენა, რომ ალოეს ფესვის ლექტინი მდგრადია ათ დღიანი გაყინვის პირობებისადმი.

3.3.12. მაღალი ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე.

ცდების შემდგომ სერიაში შესწავლილი იქნა, ალოეს ფესვის ექსტრაქტის დამოკიდებულება სხვადასხვა სიდიდის ტემპერატურისადმი (ცხრილი №62).

ტემპერატურის გავლენა ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინურ აქტიურობაზე
ცხრილი №62

ტემპერატურული მაჩვენებელი °C	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
18-20	1.15	2 ⁹	445.22	0.0005615234
40	0.96	2 ⁹	533.33	0.00046875
60	1.12	2 ⁶	457.14	0.004375
80	0.85	2 ¹	2.35	0.10625
100	1.15	2 ¹	1.74	0.143758

როგორც №62 ცხრილიდან ჩანს, ალოეს ფესვის ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა არ იკარგება 100°C-ზე 20 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგაც კი. 80°C-ის პირობებში

ლექტინური აქტიურობა შენარჩუნებულია 0.53%-ით, ხოლო 100°C-ზე ინკუბაციის შემდეგ 0.4%-ით, რაც მცენარის ტემპერატურისადმი მაღალ ადაპტაციაზე მიუთითებს.

ცდების შემდგომ სერიაში, შვევისწავლეთ ფესვი ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა 100°C-ზე ინკუბაციის შემდეგ 7 დღით დაყოვნებულ ექსტრაქტში.

პირველ ეტაპზე ექსტრაქტების გაცხელების შემდეგ, პირველი ექსტრაქტი ცილის კონცენტრაციის და ლექტინური აქტიურობის განსაზღვრის შემდეგ, დაილექა ამონიუმის სულფატით და 24 საათით შენახულ იქნა +4°C-ზე (ცხრილი №63).

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა 100°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში ინკუბაციის და ამონიუმის სულფატიდან გამოთავისუფლების შემდეგ

ცხრილი №63

ექსტრაქტების მდგომარეობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ექსტრაქტი გაცხელებამდე	0.74	2 ⁶	86.49	0.002890625
გაცხელების შემდეგ	0.568	2 ¹	3.52	0.071
იგივე ექსტრაქტი ამონიუმის სულფატისაგან გათავისუფლების შემდეგ	0.7	2 ¹	2.86	0.0875

პარალელურად მეორე ექსტრაქტი, რომელიც 100°C-ზე ინკუბაციის შემდეგ ინახებოდა +4°C-ზე 7 დღის მანძილზე, ცილის კონცენტრაციის და ლექტინური აქტიურობის განსაზღვრის შემდეგ დაილექა ამონიუმის სულფატით (ცხრილი №64).

ალოეს ფესვის ექსტრაქტის ლექტინური აქტიურობა 100°C-ზე ინკუბაციიდან 7 დღის შემდეგ

ცხრილი №64

ექსტრაქტის მდგომარეობა	(C) მგ/მლ	(T)	(SHA) მლ/მგ	(MHA) მგ/მლ
ექსტრაქტი გაცხელებამდე	0.74	2 ⁶	86.49	0.002890625
გაცხელების შემდეგ	0.588	2 ¹	3.40	0.0735
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე-სულფატირებამდე	0.62	2 ²	6.45	0.03875
ინკუბაციიდან მეშვიდე დღე-სულფატირების შემდეგ	0.644	2 ³	12.2	0.020125

თუ შევადარებთ №63 და №64 ცხრილების მონაცემებს, აშკარად ჩანს ლექტინური აქტიურობის მატება (47.13%-ით), 100°C-ზე ინკუბაციიდან 7 დღის შემდეგ. აღსანიშნავია, რომ ფესვის შემთხვევაში ლექტინური აქტიურობის მატება გამოვლინდა სულფატირებამდე ანუ ექსტრაქტის უფრო დიდ მოცულობაში.

თავი 4. ალოეს (*Aloe aristata*) ორგანოების ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტების გავლენა ბიფიდობაქტერიების გვარის სხვადასხვა სახეობებზე

როგორც ლიტერატურის მიმოხილვაში აღინიშნა, ლექტინებს გარდა ერთროციტების აგლუტინაციისა, გააჩნიათ სხვადასხვა უჯრედების, მათ შორის ბაქტერიების შეკავშირების უნარი. ამ მხრივ საინტერესო იყო თუ როგორ გავლენას მოახდენდა ალოეს ექსტრაქტებში არსებული ლექტინები, ადამიანის ნორმალური მიკროფლორის ანაერობული ტიპის ბაქტერიებთან. ამ მიზნით გამოყენებული იყო გვარი ბიფიდობაქტერიების 4 სახეობა: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis lactis* და *Bifidobacterium breve*.

ექსპერიმენტში გამოყენებულ იქნა კომპანია DSMZ-ში (Leibnis-Institute DSMZ-German collection of microorganisms and cell cultures. www.dsmz.de) მიღებული ბიფიდობაქტერიების სუფთა კულტურები.

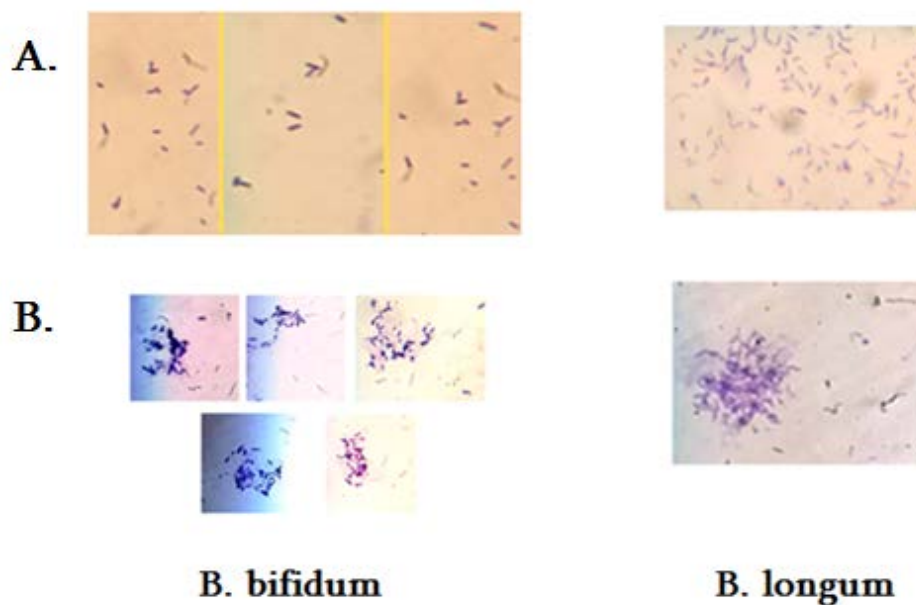
ბიფიდობაქტერიები გრამდადებითი მიკროორგანიზმებია, ისინი ცხოველმყოფელობის პროცესში წარმოქმნიან ორგანულ მჟავებს, რაც ნაწლავის ნორმალური არის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს, ხელს უშლის პათოგენური, ჩირქოვანი და აირწარმოქმნელი მიკროფლორის ნაწლავში გამრავლებას. ბიფიდობაქტერიებს გააჩნიათ მკვეთრად გამოხატული მიკრობული ანტაგონიზმი, არეგულირებენ გარკვეული ხარისხით და რაოდენობით ნაწლავის ნორმალურ ბაქტერიულ ფლორას, აფერხებენ პათოგენური და პირობით-პათოგენური მიკრობების ზრდასა და გამრავლებას, რაც ორგანიზმის დაცვის მნიშვნელოვანი ფაქტორია, განსაკუთრებით ადრეულ ასაკში. ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის სხვა წამომადგენლებთან ერთად ბიფიდობაქტერიები აქტიურ მონაწილეობას იღებენ საკვების მონელებასა და შეწოვაში.

ცდების პირველ სერიაში, შესწავლილი იქნა ალოეს ფოთლის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება ბიფიდობაქტერიებთან. ამ მიზნით ალოეს ექსტრაქტი ინკუბირებულ იქნა ბაქტერიულ კულტურებთან 2.5 საათის მანძილზე +37°C-ზე. ბაქტერიული

კულტურები მაქსიმალურად იყო განზავებული, პარალელურად მიმდინარეობდა საკონტროლო ცდა ალოეს ექსტრაქტის გარეშე +37°C-ზე. ექსტრაქტში ცილის კონცენტრაცია შეადგენდა 0.016 მგ/მლ-ზე (ბრედფორდის მიხედვით) (სურათი №16-17).

ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება სახეობა *B. bifidum*-თან და *B. longum*-თან

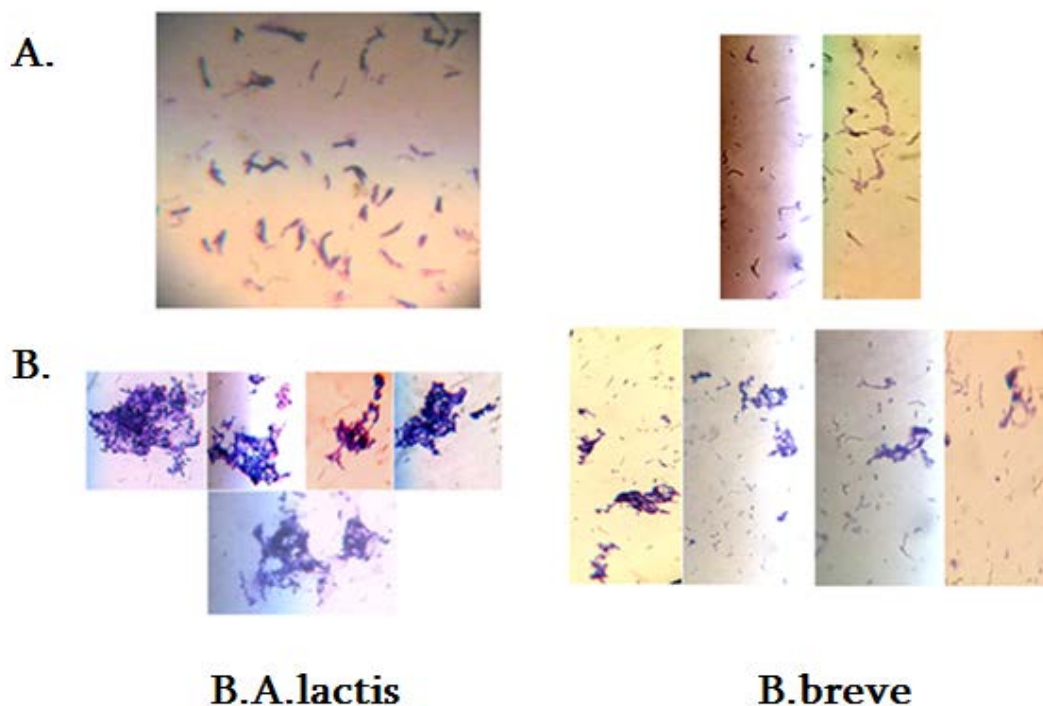
სურათი №16



- A. კონტროლი - ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტის გარეშე
- B. ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტთან ერთად. ცილის კონცენტრაცია ექსტრაქტში 0.016 მგ/მლ (ბრედფორდის მიხედვით).

ალოეს ფოთლის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება
სახეობა *B. animalis lactis*-თან და *B.breve*-თან

სურათი №17.



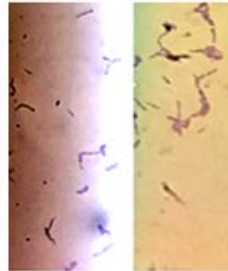
- A. კონტროლი - ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტის გარეშე
- B. ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტთან ერთად. ცილის კონცენტრაცია ექსტრაქტში 0.016 მგ/მლ (ბრედფორდის მიხედვით).

ცდების მომდევნო სერიაში შევისწავლეთ ალოეს ბოლქვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის გავლენა ბიფიდობაქტერიების წარმომადგენლებზე (სურათი №18-19).

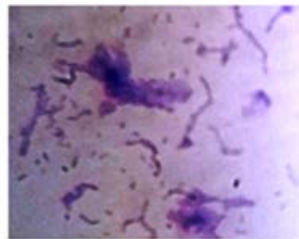
ალოეს ბოლქვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება
სახეობა *B. breve*-თან

სურათი №19

A.



B.



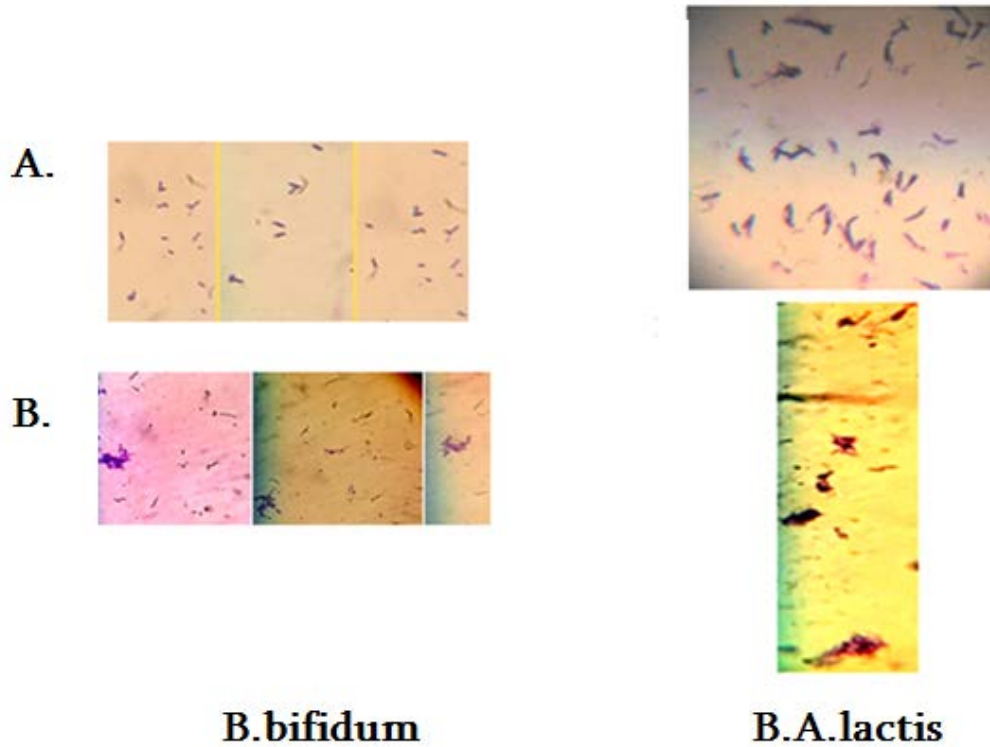
A. კონტროლი - ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტის გარეშე

B. ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტთან ერთად. ცილის კონცენტრაცია ექსტრაქტში 0.23 მგ/მლ (ბრედფორდის მიხედვით).

ცდების მომდევნო სერიაში, შესწავლი იქნა ალოეს ფესვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება ბიფიდობაქტერიებზე (სურათი №20-21)

ალოეს ფესვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება
სახეობა *B. bifidum*-თან და *B. animalis lactis*-თან

სურათი №20

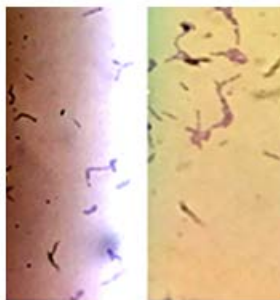


- A. კონტროლი - ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტის გარეშე
- B. ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტთან ერთად. ცილის კონცენტრაცია ექსტრაქტში 0.023 მგ/მლ (ზრედფორდის მიხედვით).

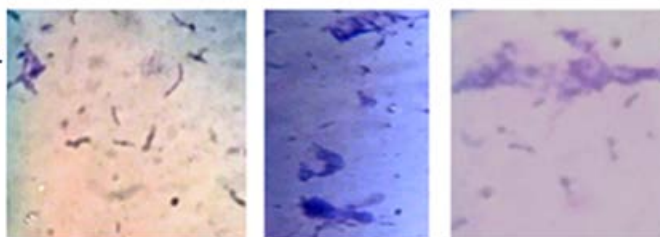
ალოეს ფესვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ურთიერთქმედება
სახეობა *B. breve*-თან

სურათი №21

A.



B.



- A. კონტროლი - ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტის გარეშე
B. ბაქტერიული კულტურა ექსტრაქტთან ერთად. ცილის კონცენტრაცია ექსტრაქტში 0.023 მგ/მლ (ბრედფორდის მიხედვით).

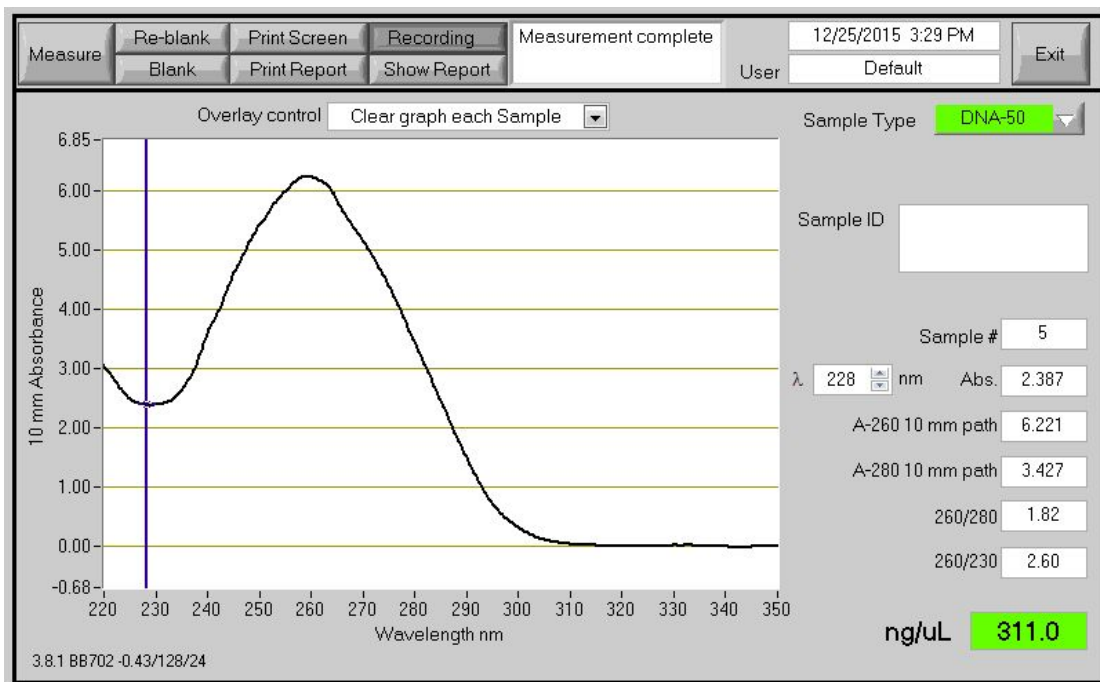
როგორც სურათებიდან ჩანს, ალოეს ორგანოებიდან მიღებული ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტები, გარკვეული სიძლიერით რეაგირებენ ბიფიდობაქტერიების გვარის წარმომადგენლებზე. ძლიერი აგლუტინაციური უნარით ხასიათდება ფოთლის ექსტრაქტი, რომელიც თითქმის ბიფიდობაქტერიების ოთხივე წარმომადგენლებზე ახდენს ძლიერ აგლუტინაციურ გავლენას. ამ ფონზე საშუალო მოქმედებით გამოირჩევა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტი, ხოლო ფესვის ექსტრაქტი, ფოთლის და ბოლქვის ექსტრაქტებთან შედარებით, გაცილებით სუსტ აგლუტინაციას ახდენს ბიფიდობაქტერიებთან ურთიერთობისას.

თავი 5. ალოედან (*A. aristata*) ნუკლეინის მჟავების გამოყოფა

მოლეკულურ ბიოლოგიაში მნიშვნელოვანია სხვადასხვა ორგანიზმიდან ნუკლეინის მჟავების სუფთა სახით მიღება. პირველ ეტაპზე მიზნად დავისახეთ ალოედან გამოგვეყო დნმ. 100 მგ. ალოეს დანაყილი ფოთოლი 1 საათით დაყოვნებული იყო ლიზის ბუფერში 65°C-ზე. მიღებული მასა 30 წუთით ოთახის ტემპერატურაზე ინკუბირებულ იქნა რნმ-აზასთან. შემდეგ გუანიდინის ციანატის 5 M-იანი ხსნარით და ფილტრიანი სინჯარების საშუალებით მიღებულ იქნა დნმ, რომლის სისუფთავის მაჩვენებლები და კონცენტრაცია მოცემულია სურათზე №22.

ალოედან (*A.aristata*) სუფთა სახით მიღებული დნმ

სურათი №22



როგორც №22 სურათიდან ჩანს, დნმ-ის კონცენტრაცია არის 311 ნგ/მკლ-ზე. მაჩვენებლები 260/280 მიუთითებს, რომ დნმ თავისუფალია ცილებისგან. ის უნდა აღემატებოდეს 1.8-ს ჩვენს შემთხვევაში ის 1.82, რაც შეესაბამება დაწესებულ ნორმას.

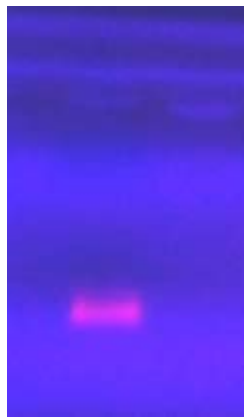
მაჩვენებელი 260/230 ასახავს პოლისაქარიდებისგან დნმ-ის სისუფთავეს. ის უნდა აღემატებოდეს 2-ს ჩვენს შემთხვევაში ის 2.60-ია.

ასეთი სახით დნმ შეიძლება გამოყენებული იყოს შემდგომი ცდებისათვის მაგალითად, პოლიმერაზას ჯაჭვური რეაქციაში (PCR).

დნმ-ის სუფთა სახით მიღების შემდეგ, მისი ვიზუალიზაციის მიზნით, დატანილი იქნა ეთიდიუმის ბრომიდის შემცველ აგაროზას 2%-იან გელზე (სურათი №23).

ალოედან (*A. aristata*) გამოყოფილი დნმ-ის ელექტროფორეზი აგაროზას გელზე

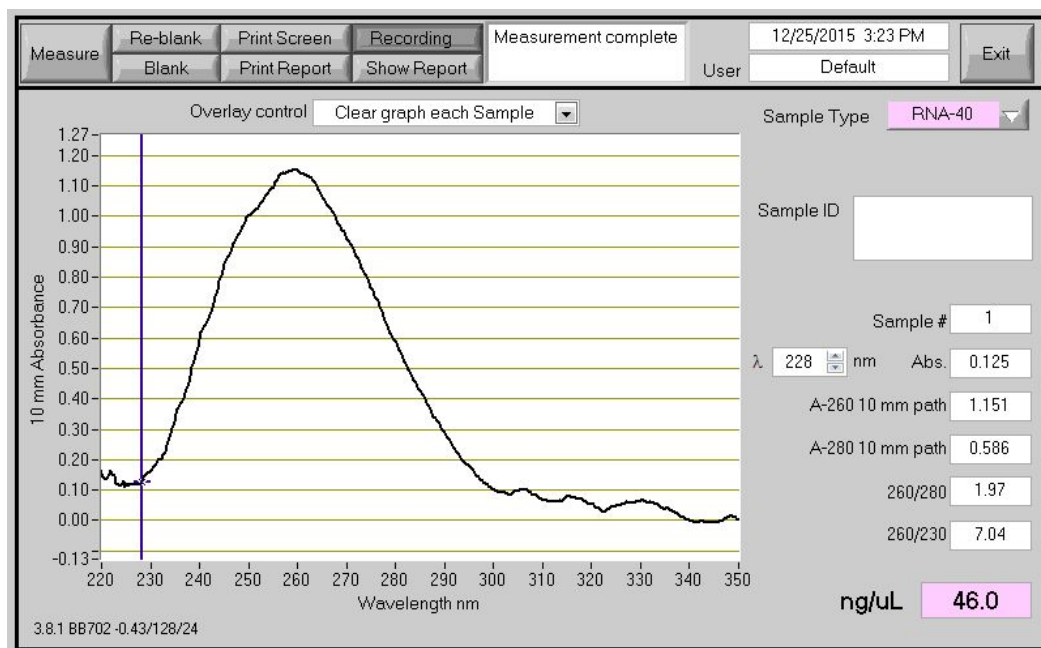
სურათი №23



დნმ-ის შემდეგ ალოედან (*A.aristata*) გამოყოფილ იქნა რიბონუკლეინის მჟავა. ამ მიზნით ალოეს დანაყილი ფოთოლი ინკუბირებულ იქნა გუანიდინის ქლორიდის 6 M-იან ხსნარში 30 წთ-ით. შემდეგ აცეტონის და ფილტრიანი სინჯარების თანაობით მიღებულ იქნა 28S და 18S რნმ (სურათი №24).

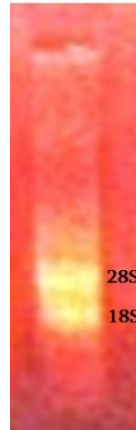
ალოედან (*A.aristata*) სუფთა სახით მიღებული რნმ

სურათი №24



როგორც №24 სურათიდან ჩანს ალოედან გამოყოფილი რნმ-ის კონცენტრაცია არის 46 ნგ/მკლ-ზე. მაჩვენებელი 260/280 დაწესებული ნორმის მიხედვით უნდა იყოს 2 და მეტი, ხოლო 260/230 – 2 ან 2-ზე მეტი. მიღებული რნმ სავსებით შეესაბამება დაწესებული ნორმის ფარგლებს.

მიღებული რნმ დატანილ იქნა ეთიდიუმის ბრომიდის შემცველ აგაროზას 2%-იან გელზე (სურათი №25).



როგორც სურათი №26-დან ჩანს, ელექტროფორეზის შედეგად გამოვლინდა 28S და 18S რნმ. ასეთ სახით გამოყოფილი რნმ შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას შემდგომი ცდებისათვის.

დასკვნები

1. დადგენილ იქნა ალოეს *A.aristata*-ს ფოთლის, ბოლქვის და ფესვის ლექტინური აქტიურობის ცილების დამოკიდებულება წყალბადიონთა კონცენტრაციის მიმართ. ალოეს ფოთლის ლექტინი მაქსიმალურ აქტიურობას ავლენს pH 7.4-ის

პირობებში, ბოლქვის და ფესვის ლექტინები pH 9-ის პირობებში. ამასთან ალოეს ფოთლის ლექტინის აქტიურობაზე გავლენას ახდენს ტემპერატურის და pH-ის ცვლილება.

2. დადგენილ იქნა *A.aristata*-ს ორგანოებიდან გამოყოფილი ლექტინების მაქსიმალური ექსტრაქციის დრო, რაც შეადგენს 60 წუთს.
3. დადგენილ იქნა β -მერკაპტოეთანოლის ზემოქმედება *A.aristata*-ს ფოთლის და ბოლქვის ლექტინურ აქტიურობაზე. ფესვის ლექტინის მიმართ მისი მოქმედება არ ვლინდება.
4. დადგენილ იქნა *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინის მანოზასპეციფიკურობა, ხოლო ბოლქვის და ფესვის ლექტინი N-აცეტილ-D-გლუკოზამინსპეციფიკურია.
5. *A.aristata*-ს ორგანოებიდან გამოყოფილი ლექტინები ახდენენ ბოცვრის, ვირთაგვას, როგორც ტრიფსინიზირებული, ისე ნატიური ერითროციტების აგლუტინაციას. ადამიანის ABO სისხლის ჯგუფების ნატიური ერითროციტებთან *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინი არ რეაგირებს, ბოლქვის ლექტინი სუსტად რეაგირებს მხოლოდ მეორე და მეოთხე ჯგუფის ერითროციტებზე, ხოლო ფესვის ლექტინი ახდენს ყველა ჯგუფის ერითროციტების აგლუტინაციას.
6. *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინის მაქსიმალური აქტიურობა ვლინდება ამონიუმის სულფატის 20-40%-ით გაჯერების პირობებში, ხოლო ბოლქვის და ფესვის მაქსიმალური აქტიურობა ვლინდება ამონიუმის სულფატის 40-60%-ით გაჯერების პირობებში.
7. *A.aristata*-ს ფოთლებში ლექტინური განაწილება იცვლება მცენარის იარუსების მიხედვით. მინიმალურ ლექტინურ აქტიურობას ავლენს ქვედა იარუსის ფოთლები, მაქსიმალურს კი ზედა იარუსის ფოთლები. მაღალი ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა მცენარის ცენტრში არსებული ნორჩი ფოთლები. მიუხედავად ანატომიური ერთიანობისა *A.aristata*-ს ბოლქვში ლექტინი არაერთგვაროვნად არის განაწილებული: მაქსიმალურია ბოლქვის ზედა ნაწილში ფოთლებთან ახლოს და მინიმალურია ბოლქვის ძირში. ფესვი კი რაც უფრო დაშორებულია ბოლქვს, მისი ლექტინური აქტიურობა მცირდება.

8. დადგინდა, რომ *A.aristata*-ს ერთეული ფოთლები, ლექტინური აქტიურობის მხრივ ერთგვაროვანი არ არის. ლექტინური აქტიურობა გაცილებით მაღალია ფოთლის წვერში, რომელიც ასევე უფრო მწვანედ გამოიყურება, ფოთლის რბილობი ლექტინებს პრაქტიკულად არ შეიცავს. მაღალია ლექტინური აქტიურობა ფოთლის კუტიკულაში.
9. ლექტინურ აქტიურობას ავლენს დეჰიდრატირებული ალოეს ფოთოლი და დაზიანების ადგილზე განვითარებული ქერქი.
10. ლექტინური აქტიურობის ცილებს შეიცავს *A.aristata*-ს ყვავილის შემადგენელი ნაწილები: ღერო, რომელშიც აღმოჩენილ იქნა ერთროციტების ლიზის ფაქტორი, მისი ინჰიბირება ნაწილობრივ ხდება ნახშირწყალ მანოზით. უშუალოდ ყვავილის ნაწილებიდან ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა ყვავილი ყუნწი, გვირგვინის ფურცლები, ბუტკო, შემდეგ მტვრიანას ფილამენტი, ხოლო სამტვრე პარკის ექსტრაქტში ლექტინური აქტიურობა არ ვლინდება.
11. *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიით ვლინდება ოთხი პიკი, აქედან მეორე და მესამე პიკები გამოირჩევიან ლექტინური აქტიურობით. ფოთლის ქვედა ნაწილის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიით ვლინდება ასევე ოთხი პიკი, თუმცა ლექტინური აქტიურობით მხოლოდ მესამე პიკი გამოირჩევა.
12. *A.aristata*-ს ყვავილის ღეროს ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიით ვლინდება სამი პიკი, ლექტინური აქტიურობით მეორე და მესამე პიკები გამოირჩევა. გაერთიანებული ყვავილის ექსტრაქტი კი ავლენს ოთხ პიკს, საიდანაც ლექტინური აქტიურობით მეორე და მესამე პიკები გამოირჩევა.
13. *A.aristata*-ს ბოლქვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიით მიიღება ოთხი პიკი, აქედან მეორე და მესამე პიკები ავლენს ლექტინურ აქტიურობას.
14. *A.aristata*-ს ფესვის ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტების ქრომატოგრაფიით ვლინდება ხუთი პიკი, ლექტინური აქტიურობით გამოირჩევა მეორე და მესამე პიკები.

15. *A.aristata*-ს ფოთლის ცილების ელექტროფორეზით, ვლინდება ლექტინური აქტიურობის სამი ფრაქცია მოლეკულური მასით: 56.2; 12.7 და 12.2 kDa.
16. *A.aristata*-ს ბოლქვის ცილების ელექტროფორეზმა გამოავლინა მკვეთრად გამოხატული სამი ლექტინური ფრაქცია მოლეკულური მასით: 53.19; 39.57 და 33.69 kDa.
17. *A.aristata*-ს ფესვის შემთხვევაში, ელექტროფორეზით გამოვლენილ იქნა ცილების 11 ფრაქცია მოლეკური მასით: 63.8; 50; 45.3; 35.53; 34.48; 32.23; 27.84; 25.25; 24.05; 15.88; 13.72 kDa.
18. დადგინდა, რომ *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინი აქტიურობას ინარჩუნებს 60°C-ზე გაცხელების პირობებში 20 წუთის განმავლობაში, ხოლო ბოლქვის და ფესვის ლექტინი 100°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში ინარჩუნებს სუსტ ლექტინურ აქტიურობას.
19. *A.aristata*-ს ფოთლის და ფესვის ლექტინები შესაბამის ტემპერატურაზე ინაქტივაციის შემდეგ, შენიშნულია 7 დღის შემდეგ ლექტინური აქტიურობის სუსტი რეაქტივაცია.
20. *A.aristata*-ს ორგანოებიდან გამოყოფილი ლექტინები 10 დღის მანძილზე -18°C-ზე შენახვის პირობებში ინარჩუნებენ ლექტინურ აქტიურობას.
21. *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინი მზის მაღალი რადიაციის პირობებშიც კი ინარჩუნებს ლექტინურ აქტიურობას.
22. *A.aristata*-ს ფოთლის ექსტრაქტში უი. სხივების მოქმედებიდან 30 წუთის შემდეგ ლექტინური აქტიურობა იზრდება, ხოლო დაუსხივებელი ფოთლის დასხივებულ ექსტრაქტში უი. სხივების 60 წუთის განმავლობაში ზემოქმედება არ მოქმედებს მის ლექტინურ აქტიურობაზე.
23. ალოეს ფოთოლში სიბნელეში მოთავსების მეორე დღიდან იწყება ლექტინის კონცენტრაციის კლება 50%-ით, რაც შენარჩუნებულია მეექვსე დღემდე. მეშვიდე დღიდან ლექტინის კონცენტრაცია ნორმის ფარგლებს უბრუნდება.
24. ჩატარებული კვლევების საფუძველზე დგინდება, რომ *A.aristata*-ს ფოთლის ლექტინი ძირითადად ლოკალიზებულია მცენარის კუტიკულაში, ღეროში,

ყვავილის ყუნწში, მტვრიანების ფილამენტებში, ბუტკოში, ხოლო რბილობსა და სამტვრე პარკში ლექტინური აქტიურობა ფაქტიურად არ შეინიშნება. ლექტინური აქტიურობა მაღალია მცენარის ჭრილობის ადგილზე განვითარებულ ქერქში. აქედან გამოდინარე, შეიძლება ითქვას, რომ ალოეს ფოთლის ლექტინი საყრდენი ცილაა, ის უზრუნველყოფს ფოთლის სიმტკიცეს, იცავს მცენარის ყვავილს აბიოტური ფაქტორების ზემოქმედებისაგან. უი. სხივების შედეგად ლექტინური აქტიურობის მატება მიანიშნებს მცენარის მზის მაღალი რადიაციისადმი თავდაცვის მექანიზმების გამომუშავებაზე. რაც შეეხება ფესვის და ბოლქვის ლექტინს, მათი მაღალი ტემპერატურისადმი მდგრადობა უზრუნველყოფს მცენარის არსებობას, მაღალი ტემპერატურის პირობებში. *A.aristata*-ს გარემოს მაღალი ტემპერატურის მიმართ გამომუშავებული აქვს სხვადასხვა ადაპტაციური მექანიზმები, რომლის ერთ-ერთი რგოლი ლექტინური აქტიურობის ცილებია.

25. ალოეს ორგანოებიდან მიღებული ლექტინური აქტიურობის ექსტრაქტები, გარკვეული სიძლიერით რეაგირებენ ბიფიდობაქტერიების გვარის წარმომადგენლებზე. ძლიერი აგლუტინაციური უნარით ხასიათდება ფოთლის ექსტრაქტი, რომელიც თითქმის ბიფიდობაქტერიების ოთხივე წარმომადგენლებზე (*B.bifidum*, *B.longum*, *B.A.lactis*, *B. breve*) ახდენს ძლიერ აგლუტინაციურ გავლენას. ამ ფონზე საშუალო მოქმედებით გამოირჩევა ალოეს ბოლქვის ექსტრაქტი (თუმცა საკმაოდ ძლიერი აგლუტინაცია ფიქსირდება *B.bifidum*-ის და *B.longum*-ის შემთხვევაში), ხოლო ფესვის ექსტრაქტი, ფოთლის და ბოლქვის ექსტრაქტებთან შედარებით, გაცილებით სუსტ აგლუტინაციას ავლენს ბიფიდობაქტერიებთან ურთიერთობისას.

26. *A.aristata*-დან სუფთა სახით გამოყოფილია ნუკლეინის მჟავები.

ლიტერატურა

1. ნ.ალექსიძე. ნორმალური და პათოლოგიური ბიოქიმია მედიკოსებისათვის „უნივერსალი“, თბილისი. 2008. ტ. 2. გვ. 527-1004.
2. ნ. ალექსიძე. ეკოლოგიური ბიოქიმიის საფუძვლები. თბილისი 1999. გვ. 284.
3. ნ.ალექსიძე, გ. ალექსიძე. ეკოლოგიური ბიოქიმიის საფუძვლები. „უნივერსალი“, თბილისი. 2010. გვ. 444.
4. Алексидзе Г.Я., Выскребенцева Э.И., Королев Н.П. Очистка и некоторые свойства лектина из фракций клеточных стенок корнеплода сахарной свеклы // 1984. 31, №6. с. 1021-1027.
5. Aleksidze N., Rapava E., Dvalishvili E., Jokhadze T., Lezhava T. Lectin isolated from the Georgian variety of bean causing blasttransformation of lymphocytes. Methodical recommendations, Tbilisi State University, 1988. (in Russian).
6. Ахматова Н.К., Лебединская О.В., Киселевский М.В., Шехмаметьев Р.М., Лебединская Е.А., Мелехин С.В. Сравнительный анализ влияния растительных лектинов на митотическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека // -2006. -№3- стр. 32-33.
7. Евтушенко А.И. Антивирусные свойства лектинов каланхое: Изучение и применение лектинов // Уч. зап. Тартус. Ун-та. 1989. Вып. 870. – с. 189-192.
8. Королев Н.П. Функций лектинов в клетках // Итоги науки и техники. Общие проблемы физико-химической биологии.- М., 1984. Т. 1.-351с.
9. Королев Н.П., Выскребенцева Э.И. Функций эндогенных лектинов // Изучение и применение лектинов // Уч. зап. Тартус. Ун-та. 1989. -1. Вып. 869. – с. 19-30.
10. Лепехин Е.А., Палладина Т.А., Педченко В.К., Рыбак В.И. Распределение и активность лектинов в субклеточных фракциях корней проростков кукурузы // Физиология растений. 1987. -34, №1. –с. 160-164.
11. Максимов И.В., Черепанова Е.А., Яруллина Л.Г., Ахметова И.Э. Выделение „хитинспецифичных“ оксидоредуктаз пшеницы // прикл. биохимия и микробиология. 2005.-41, №6. с. 616-620.

12. Рожнова Н.А., Гаращенко Г.А., Бабоша А.В. Индукция фитогемагглютинирующей активности в растениях картофеля *in vitro* арахидоновой кислотой // Физиология растений. 2002. -49, №4. с. 603-607.
13. Сударкина О.Ю. Токсические лектины омелы (*Viscum album L.*), клонирование и характеристика: диссертация... кандидата биол. наук Москва, 2007 90 с. 6107-3/1375.
14. Тимошенко А.В. Применение эндогенных лектинов в клинической диагностике. Медицинские новости. – 1997. -№4. – С. 16-20 Белорусский государственный университет, Минск.
15. Титов Е.В., Соколова О.С., Володарский А.Д. Распределение лектина по тканям стебля винограда // Физиология растений. 1992. -39. №1. с. 40-47.
16. Ямалеева А.А. Лектины растений и их биологическая роль – Уфа: Изд-во Башк. ун-та. с. 2001. с. 200-204.
17. Adar R and Sharon N. Mutational studies of amino acid residues in the combining site of *Erythrina corallidendron* lectin. *Eur. J. Biochem.*, 139. 1996. pp. 668-675.
18. Alexidze G.Y. Purification and some properties of sugar beet membrane lectins. „Plant physiology“.. 1. 1984. 31 pp.
19. Adhikari, P., Bacchawat-Sikder, K., Thomas, C.J., Ravishankar, R., Jeyaprakash, A.A., Sharma, V., Vijayan, M. & Surolia, A. Mutational analysis at N41 in peanut agglutinin (PNA): A residue critical for binding of the tumor-associated Thomsen-Friedenreich antigen. *J. Biol. Chem.* 276. 2001. pp. 40734-40739.
20. Banerjee R, Das K, Ravishankar R, Suguna K and Surolia A. Conformation, protein-carbohydrate interactions and a novel subunit association in the refined structure of Peanut lectinlactose complex; *J. Mol. Biol.* 259. 1996. pp. 281–296.
21. Benedito VA., Torres-Jeres I., Murray JD., Andriankaja A., Alles S., Kakar K., Wandrey M and et al A gene expression atlas of the model legume *medicago truncatula*. *Plant J.* 55. 2008. pp. 504-513.
22. Boyd W.C. and Shapleigh E. Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, 119. 1954. pp. 419-425.

23. Day RB, McAlvin CB, Loh JT, Denny RL, Wood TC, Young ND, Stacey G. Diverential expression of two soybean apyrases, one of which is an early nodulin. *Mol. Plant Microbe Interact* 13. 2000. pp. 1053–1070.
24. Decastel M., De Boeck., Goussault Y., De Bruyne C.K., Loontiens F. G and Frenoy J.P. *Arch. Biochem. Biophys.* Effect of pH on oligomeric equilibrium and saccharide-binding properties of peanut agglutinin 240. 1985. pp. 811-815.
25. Elzler M.E. From structure to activity: new insights into the functions of legume lectins // *Trends. Glycosci/ Glycotechnol.* 53. 1998. pp. 247-255.
26. Franz H. *Viscaceae lectins.* In: *Advances of Lectin Research* (H Franz ed). Springer, Heidelberg. 2. 1989. pp. 28-59.
27. Franz H, Ziska P and Kindt A. Isolation and properties of three lectins from mistletoe. *Biochem J.* 195. 1981. pp. 481-484.
28. Giovanini M.P., Saltzman K.D., Puthoff D.P., Gonzalo M., Ohm H.W., Williams L.E. A novel wheat gene encoding a putative chitin-binding lectin is associated with resistance against Hessian fly. *Mol. Plant pathol.* 8. 2007. pp. 69-82.
29. Golynskaya, E.L., Bashrikova, N.V. and Tomchuk, N.N (1976) Phytohemagglutinins of the pistil of *Primula* as possible proteins of generative incompatibility. *Sov. Plant Physiol.* 23: 169-176.
30. Hardman, K. D. & Ainsworth, C. F. Structure of concanavalin A at 2.4 Å resolution. *Biochemistry.* 11. 1972. pp. 4910-4919.
31. Hawes M.C., Brigham L.A., Wen F., Woo H.H., Znu Y. Function of root border celss in plant health: pioneers in the rhizosphere. *Annu Rev. Phytopathol.* 36. 1998. pp. 310-327.
32. Heslop-Harrison J. 1978. Recognition and response in the pollen-stigma interaction. In: Curtis ASG, ed. *SEB Symposium 32: Cell-Cell Recognition.* Cambridge: Cambridge University Press, 121-136.
33. Heslop-Harrison Y. 1977. The pollen-stigma interaction: pollen-tube penetration in *Crocus*. *Annals of Botany* 41: 913-922.
34. Imberty A., Casset F., Gegg C.V., Etlzer M.E., Peres S. *Glycoconjugate J.*, 11. 1994. pp. 400.
35. Jordan B.R., The effect of ultraviolet B radiation on plants: a molecular perspective // *Adv.*

- Bot. Res.-1996. – 122. – P. 97–162.
36. Jones, S., Thornton, J.M., Protein–protein interactions: a review of protein dimer structures. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 63. 1995. pp. 31–65.
 37. Knox, R.B., Clarke, A., Harrison, S., Smith, P., and Marchalonis, J.J. (1976). Cell recognition in plants: Determinants of the Stigma surface and their pollen interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72:2788-2792.
 38. Komath S.S., Kavitha M., Swamy M.J., 2006. Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research // *Org. Biomol. Chem.* V. 4. P. 973-988.
 39. Laemmli; U.K . Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970 Aug 15;227 (5259):680–685.
 40. Liener I.E. (1976), *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27:271-310.
 41. Lis H., Sharon N. Protein glycosylation. Structural and functional aspects. *Eur. J. Biochem.*, 216. 1993. pp. 1-27.
 42. Lis, H. and Sharon, N. Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev.* 98. 1998. pp. 637-674.
 43. Lundquist J.J., Toone E.J., 2002. The cluster glycoside effect // *Chem. Rev.* V. 102. №2. P. 555-578.
 44. Mekeld O. Studies in hemagglutinins of legume seeds „*Ann. Med. Exp. Biol. Fenniae Suppl* 35. 1957. pp.11-53.
 45. Mishkind M.L., Raikhel N.V., Palevitz B.A., Keegstra K. Immunocytochemical localization of wheat germ agglutinin in wheat. *J. Cell Biol* 92. 1982. pp.753-764.
 46. Morgan W.T., Watkins W.M. Unraveling the biochemical basis of blood group ABO and Lewis antigenic specificity. *Glycoconj.J.* 17. 2000. pp. 501-530.
 47. Poretz, R. D., Goldstein, I. J. (1971/10). "Protein-carbohydrate interaction: On the mode of binding of aromatic moieties to concanavalin A, the phytohemagglutinin of the jack bean." *Biochemical Pharmacology* 20(10): 2727-2739.
 48. Prabu, M. M., Suguna, K. & Vijayan, M. Variability in quaternary association of proteins with the same tertiary fold: a case-study and rationalization involving legume lectins. *Proteins: Struct. Funct. Genet.* 13. 1999. pp. 1-12.
 49. Pratap, J.V., Bradbrook, G.M., Reddy, G.B., Surolia, A., Raffery, J., Helliwell, J.R. & Vijayan, M. The combination of molecular dynamics with crystallography for elucidating

- protein-ligand interactions. A case study involving peanut lectin complexes with T-antigen and lactose. *Acta Cryst.* 57. 2001. pp. 1584-1594.
50. Pusztai, A., F. Greer and G. Grant, Specific uptake of dietary lectins into the systemic circulation of rats. *Biochem. Soc. Trans.*, 17. 1989. pp.481-482.
 51. Ravishankar, R., Ravindran, M., Suguna, K., Surolia, A. & Vijayan, M.. Crystal structure of the peanut lectin-T-antigen complex. Carbohydrate specificity generated by water bridges. *Curr. Sci.* 72. 1997. pp. 855-861.
 52. Ravishankar, R., Suguna, K., Surolia, A. & Vijayan, M. The crystal structures of the complexes of peanut lectin with methyl- β -Galactose and N-acetyllactosamine and a comparative study of carbohydrate binding in Gal/GalNac specific legume lectins. *Acta Cryst.* 55. 1999. pp. 1375-1382.
 53. Reddy G. B, Srinivas V. R, Ahmed N and Surolia A. Molten globule-like state of Peanut lectin monomer retains its carbohydrate specificity; *J. Biol. Chem.* 274. 1999. pp. 4500–4503.
 54. Salunke, D.M., Islam Khan, M., Surolia, A. & Vijayan, M. Crystallization and preliminary X-ray studies of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *J. Mol. Biol.* 154. 1982. pp. 177-178.
 55. Salunke, D.M., Islam Khan, M., Surolia, A. & Vijayan, M. Preparation and preliminary X-ray studies of three acidic pH crystal forms of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *FEBS Letts.* 156. 1983. pp. 127-129.
 56. Schachter H., paucimannose N-glycans in *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. *Carbohydr. Res.* 344. 2009. pp. 1391-1396.
 57. Schnell D.J., Elzler M.E cDNA cloning, primary structure and in vitro biosynthesis of the DB 58 lectin from *Dolichos biflorus*. *J. Biol. Chem.* 263. 1998. pp. 14648-14653.
 58. Sharma V and surolia A. Analyses of carbohydrate recognition by legume lectins: size of the combining site loops and their primary specificity. *J. Mol. Biol.* 267. 1997. pp. 433-439.
 59. Sharon N. Lectin-carbohydrate complexes of plants and animals: an atomic view // *Trends Biochem.* 18. 1993. pp. 221-226.
 60. Srinivasan N., Rufino S.D., Pepys M.B., Wood S and Blundell T.L. Chemtracts: *Biochem. mol. Biol.* 6. 1996. pp. 149-154.
 61. Srinivas, V.R.; Reddy, G.B.; Ahmad, N.; Swaminathan, C.P.; Mitra, N.; Surolia, A. Legume lectin family, the „natural mutants of the quaternary state“, provide insights into the

- relationship between protein stability and oligomerization. *Biochim. Biophys. Acta* 1527. 2001. pp. 102-111.
62. Suzuki I., Saito H., Inoue S., Migita S., Takahashi T. Purification and characterization of two lectins from *Aloe arborescens* Mill. *J. Biolchem* 85, 163-171 (1979).
 63. Toyoda K., Mikik., Ichinose Y. et al. Plant lectins induce the productions of a phytoalexin in *Pisum sativum* // *Plant cell Physiol.* 36. 1995. pp. 799-807.
 64. Van Damme, E.J.M., Lannoo, N., Peumans, W.J., Plant lectins. *Adv. Bot. Res.* 48. 2008. pp. 107–209.
 65. Van Damme J.M., Barre A., Smets K., Torekens S., Van Leuven F., Rouge P., Peumans W.J. The bark of *Robinia pseudoacacia* contains a complex mixture of lectins *Plant Physiol.* 107. 1995. pp.833-843.
 66. Van Damme J.M., Peumans W.J., Pustai A., Bardocz S. *Handbook of plant lectins: properties and biomedical applications.* Chichester ect: john Willey and sons. 1998. 466 pp.
 67. Vitale A., Bollini R Legume storage proteins. In: Kigel J., Galili G (eds). *Seeds development and germination.* Dekker M Inc, New York, 22. 1995. pp 73-102.
 68. Weis W.I and Drickamer. Structural basis of lectin-carbohydrate recognition. *Annu. Rev. Biochem.*, 65. 1996. pp. 441-473.
 69. Wen F., Vanetten H.D., Tsaprailis G., Hawes M.C. Extracellular proteins in *Pisum sativum* L. root tip and border cell exudates. *Plant Physiol* 143. 2007. pp.773-783.
 70. Young N.M., Oomen R.P. Analysis of sequence variation among legume lectins: a ring of hypervariable residues forms the perimeter of the carbohydrate-binding site // *J. Mol. Biol.* 228. 1992. pp. 924-934.
 71. Zhou X., Li X.D., Yuan J.Z., Tang Z.H., Liu W.I. Toxicity of cinnamomin – a new type // ribosom-inactivating protein to boll worm and mosquito. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30. 1999. pp. 259-264.
 72. Mizuno T, Yamashino T: Comparative transcriptome of diurnally oscillating genes and hormone-responsive genes in *Arabidopsis thaliana*: insight into circadian clock-controlled daily responses to common ambient stresses in plants. *Plant Cell Physiol* 2008, 49:481-487.

