შალიშა ა. სტენლი

უჯრედული ბიოლოგია ბიოტექნოლოგებისთვის

(ადაპტირებული თარგმანი)

ალფა საიენს ინტერნეშნლ ლიმიტედ
ოქსფორდი, გაერთიანებული სამეფო

თბილისი
2013

წიგნი წარმოადგენს დამხმარე სახელმძღვანელოს ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა ფაკულტეტების ბაკალავრიატის და მაგისტრატურის სტუდენტებისათვის, ასევე სამეცნიერო კვლევის თეორიული და პრაქტიკული საკითხებით დაინტერესებულ პირთათვის.

სამაგისტრო პროგრამა "გამოყენებითი ბიომეცნიერებები"

ტემპუსის პროექტი JEP-159340
www.biosciences-tempus.org

ავტორი:

შალიშა ა. სტენლი

თარგმანი და რედაქტირება: ელენე ჩერქეზია

სტილისტ-კორექტორი: ლია კაჭარავა

პროექტი განხორციელდა ევროკომისიის ფინანსური მხარდაჭერით. პუბლიკაციის შინაარსზე პასუხს აგებენ მისი ავტორები და ის არ გამოხატავს ევროკომისიის მოსაზრებას

©2013. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ISBN 978-9941-0-5809-7

სარჩევი

თავი I **შესავალი უჯრედულ ბიოლოგიაში**.....5
1.1 უჯრედის ევოლუცია. დისციპლინის ისტორია.....5
1.2 უჯრედების კლასიფიკაცია.....7
1.3 უჯრედის სტრუქტურა.....8
1.4 უჯრედების ფორმა და ზომა.....9
1.5 უჯრედებზე დაკვირვება - მიკროსკოპია.....10
თავი II **უჯრედის სტრუქტურა და ორგანელების ფუნქციები**.....21
2.1 პროკარიოტული უჯრედები.....21
2.2 ეუკარიოტული უჯრედები.....24
2.3 ვირუსები და მათი უნიკალურობა.....34
2.4 უჯრედის ფუნქციები.....39
თავი III **უჯრედის მოლეკულური ბიოლოგიის ზოგიერთი ასპექტი**.....53
3.1 მემბრანული ცილები.....53
3.2 ციტოჩონჩხის ცილები.....58
3.3 უჯრედშორისი მატრიქსი.....63
3.4 უჯრედების გაყოფა (მიტოზი და მეიოზი).....64
3.5 უჯრედული ციკლი და უჯრედული ციკლის მაკონტროლებელი მოლეკულური მექანიზმები.....71
თავი IV **უჯრედის შიდა მოლეკულური ორგანიზაცია**.....75
4.1 მემბრანული ორგანიზაციის პრინციპები.....75
4.2 ტრანსპორტი უჯრედულ მემბრანაში.....78
4.3 პერმეაზები.....91
4.4 სატრანსპორტო სისტემების ტუმბოები.....92
თავი V **რეცეპტორები და უჯრედის გარე სიგნალიზაციის მოდელები**....97
5.1 რეცეპტორები.....97
თავი VI **სიგნალის გადაცემა**.....107
6.1 სიგნალის ამპლიფიკაცია.....107
6.2 სიგნალიზაცია G-ცილასთან შეუღლებული ზედაპირული რეცეპტორების მონაწილეობით.....108
6.3 ინოზიტოლტრიფოსფატის სინთეზი და მისი როგორც მესენჯერების როლი.....110
6.4 სიგნალიზაცია ფერმენტ-დამოკიდებული ზედაპირული მოლეკულების მონაწილეობით.....114
6.5 G-ცილის როლი სიგნალის გადაცემაში.....117
6.6 კალციუმის იონების მიმოცვლა და მათი როლი უჯრედულ სიგნალიზაციაში.....119
6.7 პროტეინკინაზას ფოსფორილირება.....122

თავი VII **უჯრედული კულტურა**.....124
7.1 შესავალი.....124
7.2 პროკარიოტული და ეუკარიოტული უჯრედების კულტივირების მეთოდები.....125
7.3 მცენარეული უჯრედების კულტივირება.....126
7.4 ცხოველური უჯრედული კულტურები.....130
7.5 ტრანსფორმირებული უჯრედები.....158
7.6 უჯრედების სინქრონიზაცია.....164
7.7 უჯრედის დაბერება და აპოპტოზი.....167
7.8 უჯრედული კულტურების შენარჩუნება.....180
7.9 უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა და ციტოტოქსიურობა.....188
ნახატები.....192

თავი I

შესავალი უჯრედულ ბიოლოგიაში

1.1 უჯრედის ევოლუცია და ისტორია

ბიოლოგიურ მეცნიერებას, რომელიც უჯრედების სტრუქტურას, ფუნქციას, მოლეკულურ ორგანიზაციას, ზრდას, რეპროდუქციასა და გენეტიკურ მახასიათებლებს შეისწავლის, **ციტოლოგია** (ბერძნ. *kytos* ღრუ ჭურჭელი, უჯრედი, logos მოძღვრება) ან, უფრო თანამედროვე ტერმინოლოგიით, **უჯრედის ბიოლოგია** ეწოდება. უჯრედის ბიოლოგია და ციტოლოგია ტიპური და სპეციალიზირებული უჯრედების სტრუქტურისა და ფუნქციების გამოკვლევას ეძღვნება. ასეთი გამოკვლევები გამოიყენება როგორც ყველა ტიპის უჯრედებისთვის მართებული, ზოგადი, გენერალიზებული დებულებების ჩამოსაყალიბებლად, ასევე იმის ასახსნელად, თუ როგორ ახორციელებენ გარკვეული ტიპის უჯრედები თავის სპეციფიკურ ფუნქციებს.

უჯრედი ყველა ცოცხალი ორგანიზმის სტრუქტურულ და ფუნქციურ ერთეულს წარმოადგენს.

ტერმინოლოგია

უჯრედული თეორია

1665 წელს რობერტ ჰუკმა პრიმიტიული მიკროსკოპის ქვეშ დათვალიერებისას პირველმა აღწერა კორპის ნაწილის უჯრედები, როგორც ცელულოზის კედლებით შემოსაზღვრული სიღრუები. 1674 წელს ამ სტრუქტურების არსებობა ლევენჰუკმაც დაადასტურა. ეს სტრუქტურები დღეისათვის სიცოცხლის ერთეულებადაა მიჩნეული და კონცეპცია, რომლის თანახმად უჯრედი ცოცხალი ორგანიზმების სტრუქტურულ და ფუნქციურ ერთეულს წარმოადგენს, უჯრედული თეორიის ერთ-ერთი დებულების სახით არის ცნობილი. 1838-1839 წლებში ორმა გერმანელმა მკვლევარმა - მათიას შლეიდენმა და თეოდორ შვანმა უჯრედული თეორია ჩამოაყალიბეს. მოგვიანებით კი, 1855 წელს რუდოლფ ვირხოვმა დაასკვნა, რომ ნებისმიერი უჯრედი წინამორბედი უჯრედისაგან მიიღება (სავარაუდოდ ეს იდეა სინამდვილეში არა ვირხოვს, არამედ რობერტ რემაკს ეკუთვნის) და უჯრედულმა თეორიამ სამი ძირითადი დებულების სახე მიიღო:

ა. ყველა ცოცხალი ორგანიზმი უჯრედებისაგან შედგება;
ბ. უჯრედი ცოცხალი ორგანიზმის უმცირესი ერთეულია;
გ. ყველა არსებული უჯრედი წინამორბედი უჯრედისაგან მიიღება.

გამონაკლისი უჯრედული თეორიიდან

ნახატზე (იხ. ნახ.1) მოყვანილია ორგანიზმები, რომლებიც თავისი ფიზიკური, ქიმიური და ბიოლოგიური მახასიათებლებით არ ექვემდებარება უჯრედულ თეორიას.

1. ვირუსები

- აქვთ მარტივი სტრუქტურა;
- აქვთ მარტივი შიდა ორგანიზაცია;
- აქვთ ორგანიზმის დაინფიცირების უნარი;
- სუბმიკროსკოპული წარმონაქმნებია;
- მრავლდებიან მასპინძელი უჯრედის შიგნით (ე.წ. ობლიგატური პარაზიტებია).

2. მიკოპლაზმა, ვიროიდები

3. ზოგიერთი ორგანიზმი უმარტივესების ჯგუფიდან (Protozoa), როგორიცაა პარამეციუმი (ქალამანა), სოკო რიზოპუსი, წყალმცენარე Vaucheria. თუმცა ყველა ამ ორგანიზმს გარეთა უჯრედული კედლის არსებობა ახასიათებს, მათ არ გააჩნიათ უჯრედებისთვის დამახასიათებელი მთელი რიგი უჯრედშიდა ორგანელები.

უჯრედის ზომა

- ცხოველური და მცენარეული უჯრედების დიამეტრი ძლიერ ვარირებს;
- ყველაზე მცირე ზომის უჯრედები ნაპოვნია ბაქტერიულ უჯრედებს შორის (0.2-0.5 μ დიამეტრში).
- ყველაზე დიდი ზომის უჯრედია სირაქლემას კვერცხი, რომლის სიგრძე 18 სმ აღწევს.
- მაშასადამე, ყველაზე დიდი უჯრედის ზომა 75 000-ჯერ აღემატება ყველაზე მცირე ბაქტერიული უჯრედის ზომას.
- ბაქტერიოფაგები და ვირუსები კიდევ უფრო მცირე ზომის არიან, მაგრამ ისინი უჯრედულ სტრუქტურებად არ განიხილება.
- უჯრედის ზომები მთელ რიგ პარამეტრებზეა დამოკიდებული, მათ შორის მნიშვნელოვანია უჯრედში ქრომოსომების რაოდენობა (პლოიდურობა).
- უჯრედების ზომა განსაზღვრავს ნივთიერებათა ცვლის სიჩქარეს, კერძოდ მეტაბოლიზმის სიჩქარე მცირე ზომის უჯრედებში უფრო მაღალია, ვიდრე დიდი ზომის უჯრედებში.
- **მუდმივი მოცულობის კანონის თანახმად** (ჰ.ა.დრიში), ორგანოს მასას განსაზღვრავს მასში შემავალი უჯრედების რაოდენობა, ხოლო ორგანოს უჯრედების მოცულობა მუდმივია და არ არის დამოკიდებული ორგანოს ზომაზე.
- უჯრედის ზომების გაზრდის დროს, უჯრედების მოცულობა გაცილებით უფრო მნიშვნელოვნად იზრდება, ვიდრე უჯრედის ზედაპირის ფართი; ასე, მოცულობის ზრდა რადიუსის მესამე ხარისხის, ხოლო უჯრედის ზედაპირის ფართი რადიუსის კვადრატის შესაბამისად იცვლება.
- უჯრედის მოცულობისა და მისი ზედაპირის არაპროპორციული ზრდის შედეგად უჯრედში ნივთიერებათა ცვლისთვის საჭირო ზედაპირის მნიშვნელობა მოთხოვნებს ვეღარ დააკმაყოფილებს; ამ მიზეზით მეტაბოლურად აქტიური უჯრედები უმეტესად მცირე ზომის არიან.

უჯრედთა რიცხვი

- ვარირებს (მაგ. ერთი უჯრედიდან (ერთუჯრედიანებში) 60 000 მილიარდ უჯრედამდე (80 კგ საშუალო წონის ადამიანში));
- ზოგიერთ ორგანიზმში, მაგალითად ვოლვოქსისებრთა გვარის მწვანე წყალმცენარეებში უჯრედების რაოდენობა მუდმივი რიცხვია (8, 16, 32 ან 64 უჯრედი).

1.2 უჯრედების კლასიფიკაცია

უჯრედები ორ ძირითად ტიპად - პროკარიოტულ და ეუკარიოტულ უჯრედებად - იყოფიან. პროკარიოტულ უჯრედებში არ არის ბირთვი, მაშინ როდესაც ეუკარიოტული უჯრედები მაღალორგანიზებულ ბირთვს შეიცავენ.

პროკარიოტები: მაგალითები - ბაქტერიები და ლურჯმწვანე წყალმცენარეები;

ეუკარიოტები: მაგალითები - უმაღლესი მცენარეები და ცხოველები.

უჯრედების ამ ორ ძირითად ტიპს შორის იკვეთება ასევე ორგანიზმთა ჯგუფი, რომლებიც 1977 წელს იქნა აღმოჩენილი - ე.წ. არქებაქტერიები (Archae, Arcahebacteria). ამ ახალი ორგანიზმების აღმოჩენის შემდეგ ყველა ცოცხალ ორგანიზმს სამ ჯგუფად (სამეფოდ, დომენად) ყოფენ, სახელდობრ:

ა. პროკარიოტები (Prokarya)
ბ. არქეა ანუ არქებაქტერიები (Archaea)
გ. ეუკარიოტები (Eukarya)

არქებაქტერიები

1982 წელს წყნარ ოკეანეში წყალქვეშა ექსპედიციის დროს 3 კილომეტრის სიღრმეზე ცხელ წყაროში აღმოჩენილ იქნა მეთანის მაპროდუცირებელი ორგანიზმები, რომლებიც მათი აღმომჩენელის, ჰოლგერ იანაშის საპატივცემულოდ Methancaldococcus jannaschii დაარქვეს. ამ ორგანიზმების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა სრულად არის სექვენირებული და შედარებული ბაქტერიების და ეუკარიოტების გენომებთან. გენების 50% მეცნიერებისათვის უცნობი აღმოჩნდა. ახლადაღმოჩენილი ბაქტერიები 48-94^{0}C ტემპერატურის პირობებში ბინადრობენ და 200-ზე მეტი ატმოსფეროს წნევას იტანენ.

მეთანკალდოკოკუსის ზოგიერთი სახეობა იზრდება მარილხსნარში, რომლის კონცენტრაცია 10-ჯერ აღემატება მარილის კონცენტრაციას ზღვის წყალში. ჟანგბადი მათთვის საზიანოა, ეს აუტოტროფული ორგანიზმებია, რომლებიც ნახშირორჟანგის, აზოტის და წყალბადის უტილიზაციას ახდენენ. არქებაქტერიები უნიკალურ პროცესებში არიან ჩართულნი, როგორიცაა მეთანოგენეზი - ფოტოსინთეზის განსაკუთრებული ნაირსახეობა ბაქტერიოროდოფსინის მონაწილეობით. არქებაქტერიები ეუბაქტერიებისაგან ცილის სინთეზის აპარატითაც განსხვავდებიან.

1.3 უჯრედის სტრუქტურა

უჯრედულ სტრუქტურაში არჩევენ სამ ძირითად კომპონენტს: პლაზმური მემბრანა, ციტოპლაზმა და ბირთვი.

პლაზმური მემბრანა არის უჯრედის თხელი გარეთა მოსაზღვრე გარსი. ის მექანიკურ სიმტკიცეს და უჯრედის გარეთა ფორმის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს და აკონტროლებს სხვადასხვა ნივთიერებების ტრანსპორტს უჯრედში და უჯრედის გარეთ (განვლადობა). პლაზმური მემბრანა უზრუნველყოფს ოსმოსურ წონასწორობას უჯრედის ციტოპლაზმასა და გარემოს შორის. პლაზმური მემბრანის მეშვეობით ასევე ხდება მსხვილი ნაწილაკების უჯრედში შეღწევა (**ენდოციტოზი**) და ნივთიერებების უჯრედიდან გამოყოფა (**ეგზოციტოზი**).

პროტოპლაზმის მასას, რომელიც ბირთვის გარეთ ძევს, ციტოპლაზმა ეწოდება. ეს უფერო, ჰომოგენური, გამჭვირვალე, კოლოიდური სითხეა. ციტოპლაზმა შეიცავს სხვადასხვა არაორგანულ (წყალი, ნატრიუმის, კალიუმის და სხვა ლითონების მარილები) და ასევე ორგანულ (ნახშირწყლები, ლიპიდები, ცილები, ნუკლეოპროტეინები) ნაერთებს.

ციტოპლაზმის პერიფერიული ნაწილი აგრანულარული და ნათელია, მას **ექტოპლაზმა** ეწოდება. ციტოპლაზმის შიგნითა ნაწილი კი გრანულარულია და ნაკლებად ბლანტი, მას **ენდოპლაზმას** უწოდებენ.

ციტოპლაზმის ჰომოგენურ ნაწილს **ჰიალოპლაზმა** ეწოდება. ჰიალოპლაზმაში შეწონილია სხვადასხვა ნაწილაკები და სტრუქტურები, რომლებსაც ციტოპლაზმის ჩანართები და უჯრედული ორგანელები ეწოდება. უჯრედული ორგანელები ორგანიზებული სტრუქტურებია, რომლებსაც ზრდის და რიგ შემთხვევაში გამრავლების უნარი გააჩნია. ისინი უჯრედში სპეციფიკურ ფუნქციებს ასრულებენ. უჯრედულ ორგანელებს მიეკუთვნება ენდოპლაზმური ბადე, რიბოსომები, მიტოქონდრიები, გოლჯის კომპლექსი, ლიზოსომები, ცენტრიოლები, პლასტიდები და სხვა.

ბირთვი (ნახ.2) უჯრედის მაკონტროლებელ ცენტრს წარმოადგენს, ის პირველად 1831 წელს რობერტ ბრაუნის მიერ იყო აღწერილი. ბირთვი თითქმის ყველა ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედს ახასიათებს, გამონაკლისია ძუძუმწოვრების ზრდასრული ერითროციტები.

ბირთვს უჯრედის საერთო მოცულობის საშუალოდ 10-15% უკავია. ბირთვის პროტოპლაზმას **კარიოპლაზმა** ანუ **ნუკლეოპლაზმა** ეწოდება. ის გარედან ორშრიანი ბირთვული მემბრანითაა დაფარული. გარკვეული ინტერვალებით ნუკლეოპლაზმაში განთავსებულია უმცირესი ფორები, რომლებიც ციტოპლაზმასა და ნუკლეოპლაზმას შორის ნივთიერებათა ცვლას ემსახურებიან. ბირთვი შეიცავს ქრომატინს, რომელიც უჯრედის გაყოფის დროს კონდენსირდება და ქრომოსომებს წარმოქმნის. ქრომატინი დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას (დნმ-ს) შეიცავს. ის ორი გამოკვეთილი ნაწილისაგან შედგება, ესენია **ეუქრომატინი** და **ჰეტეროქრომატინი.** ინტერფაზისა და მიტოზის დროს ფოელგენის მეთოდით შეღებვისას ჰეტეროქრომატინი ეუქრომატინთან შედარებით უფრო მუქად იღებება. ქრომოსომების ნაწილების განსხვავებული ინტენსიურობით შეღებვას, რომელიც მთლიანი ქრომოსომების ან მათი სეგმენტების სპირალიზაციის დროს განსხვავებული გამკვრივებითაა განპირობებული, **ჰეტეროპიკნოზი** ანუ არათანაბარი შეღებვა ეწოდება.

ნუკლეოპლაზმაში შეიმჩნევა ერთი ან რამოდენიმე მცირე ზომის სხეულაკი, რომელსაც ბირთვაკი ეწოდება. ბირთვაკი 1871 წელს ფონტანამ აღმოაჩინა. ბირთვაკებს მემბრანა არ გააჩნიათ, ისინი რნმ-ით მდიდარი სტრუქტურებია.

ბირთვი უჯრედის დინამიკური ცენტრია, რომელიც აკონტროლებს და არეგულირებს უჯრედის სხვადასხვა მეტაბოლურ აქტიურობას. ბირთვის გარეშე უჯრედი ხანგრძლივად და სრულყოფილად ვერ იარსებებს. უჯრედის გაყოფისას ბირთვი მონაწილეობს მემკვიდრული მასალის (ქრომოსომების) გადაცემაში.

1.4 უჯრედების ფორმა და ზომა

უჯრედების ფორმა განსხვავებულია სხვადასხვა ორგანიზმებში (ნახ.3), გარდა ამისა ისეთი უჯრედები, როგორიცაა, მაგალითად, ლეიკოციტები და ერთუჯრედიანი ორგანიზმი ამება თავის ფორმას მუდმივად იცვლიან. ბაქტერიული უჯრედების ტიპური ფორმებია: ჩხირისებრი, სპირალისებრი, მრგვალი. ზოგიერთი ერთუჯრედიანი ორგანიზმი საკმაოდ რთული ფორმისაა. ასე მაგალითად, ერთუჯრედიან წყალმცენარე აცეტაბულარიას, რომელიც სიგრძეში 10 სმ აღწევს, აქვს ღერო და ქუდი.

უჯრედის ფორმა დამოკიდებულია მის ფუნქციაზე. ამის მაგალითია ფოთლის ძარღვების უჯრედები, ფორების დამცავი უჯრედები, ფესვის ტრიქობლასტები. უჯრედული ფორმის სტაბილურობას უზრუნველყოფს ციტოჩონჩხი, რომელიც უჯრედის პლაზმური მემბრანის შიდა ზედაპირთანაა დაკავშირებული. ამ სტრუქტურას **მემბრანულ ჩონჩხს** უწოდებენ.

პროკარიოტულ უჯრედებთან შედარებით ეუკარიოტული უჯრედების ზომა უფრო დიდია და 10 μm-დან 100 μm-მდე მერყეობს. ამავე დროს, ერთუჯრედიანი ორგანიზმების ზომა, როგორც წესი, აღემატება მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების უჯრედების ზომას. მაგალითად, ამება (Amoeba proteus) ყველაზე დიდი ზომისაა ერთუჯრედიან ორგანიზმებს შორის, მისი სიგრძე 1000 μm აღწევს. ყველაზე დიდი ცხოველური უჯრედი სირაქლემას კვერცხია, რომლის სიგრძე საშუალოდ 18 სმ აღწევს. კიდევ ერთი მაგალითია ადამიანის ნეირონები, რომელთა მორჩის - აქსონის სიგძე 150 მკმ-დან 1.2 მეტრამდე ვარირებს.

თუმცა ტიპიურად ეუკარიოტული უჯრედები სფერული ფორმისაა, საბოლოოდ მათი ფორმა ფუნქციით არის განსაზღვრული.

ამრიგად, უჯრედების ფორმები შეიძლება იყოს მუდმივი ან ცვალებადი (მაგ. ამება; სისხლის თეთრი უჯრედები - ლეიკოციტები). მუდმივი ფორმა აქვთ უმარტივესებს, მაგალითად პარამეციუმს, ევგლენას, მცენარეული და ცხოველური უჯრედების უმრავლესობას. ერთუჯრედიან ორგანიზმებში უჯრედის ფორმა ნარჩუნდება ხისტი პლაზმური მემბრანის და გარეთა ჩონჩხის მეშვეობით. მრავალუჯრედიან ორგანიზმებში უჯრედის ფორმა დამოკიდებულია ძირითადად ფუნქციური წარმონაქმნების არსებობაზე და ნაწილობრივ ზედაპირულ დაჭიმულობაზე, პროტოპლაზმის სიბლანტეზე, ციტოჩონჩხის მიკრომილაკებზე, მიკროფილამენტებზე და შუალედურ ფილამენტებზე, ასევე მეზობელი უჯრედების მექანიკურ ზეწოლასა და პლაზმური მემბრანის სიმტკიცეზე.

უჯრედების ფორმა განსხვავებულია სხვადასხვა ორგანოში, აგრეთვე სხვადასხვა სახეობაში. ერთი და იგივე ორგანოს შემადგენლობაში სხვადასხვა ფორმის უჯრედები გვხვდება. მაგალითად, გარქოვანებული ეპითელიუმის უჯრედები შეიძლება იყოს მრავალწახნაგოვანი, ბრტყელი, კუბური, პრიზმული; გლუვი კუნთოვანი უჯრედები თითისტარისებური ფორმისაა; ნერვული უჯრედები ანუ ნეირონები წაგრძელებული, ხოლო კანის პიგმენტური უჯრედები (ქრომატოფორები) ვარსკვლავისებრი ფორმისაა. მცენარეებში უჯრედის ფორმა ასევე მის სპეციფიკურ ფუნქციასთანაა დაკავშირებული. ამის მაგალითია ფოთლის ძარღვების უჯრედები, ფესვის ტრიქობლასტები.

1.5 უჯრედებზე დაკვირვება - მიკროსკოპია

მიკროსკოპი უჯრედული ბიოლოგიის ლაბორატორიის მთავარი აღჭურვილობაა. მიკროსკოპის ქვეშ გამოსახულების გადიდების შედეგად შესაძლებელია ქსოვილების, უჯრედების, მიკროორგანიზმების და მათი სტრუქტურების დათვალიერება, რაც შეუძლებელია შეუიარაღებელი თვალით. მიკროსკოპის გადიდება მერყეობს x100დან x400 000მდე. არსებობს მიკროსკოპების სხვადასხვა ტიპი, ასევე შემუშავებულია მიკროსკოპული პრეპარატების დამზადების მეთოდიკა და ტექნოლოგიები.

მიკროსკოპის ყოველ სპეციფიკურ ტიპს და პრეპარატების დამზადების ყოველ მეთოდს გარკვეული უპირატესობა ენიჭება სპეციფიკური მორფოლოგიური ნიშანთვისებების დემონსტრირებისას. ამ პარაგრაფში არწერილია განსხვავებული კატეგორიის მიკროსკოპები, კერძოდ კი ნათელი და მუქი ველის მიკროსკოპები, ფლუორესცენტული მიკროსკოპი, ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპი, ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპი, მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპი; განხილულია ელექტრონული მიკროსკოპიის შეზღუდვები; მოკლედ მოყვანილია განსხვავებული ტიპის მიკროსკოპების და სხვადასხვა სახის მიკროსკოპირებისათვის პრეპარატების დამზადების ტექნოლოგიების შედარება.

მიკროსკოპები და მიკროსკოპია

უჯრედებს მცირე ზომა და ამავე დროს რთული ორგანიზაცია ახასიათებთ. ზომებიდან გამომდინარე რთულია მათი სტრუქტურის დათვალიერება, მითუმეტეს რთულია მათი მოლეკულური შემადგენლობის შესწავლა და უჯრედების სხვადასხვა კომპონენტების ფუნქციის დადგენა. უჯრედების სტრუქტურისა და შემადგენლობის დადგენის საშუალებების ძიებაში უჯრედის შემსწავლელ მეცნიერებს იმთავითვე ორი შეზღუდვის გადალახვა უწევთ, ესენია უჯრედების ზომები და მათი გამჭვირვალე ბუნება.

ნებისმიერ დამკვირვებელ საშუალებას, იქნება ეს ადამიანის თვალი, თუ მიკროსკოპი, გააჩნია გარკვეული უნარი გაარჩიოს სტრუქტურის დეტალები, რასაც ***გარჩევითობა (რეზოლუცია)*** ეწოდება. ადამიანის თვალს შეზღუდული გარჩევითობა ახასიათებს. ოპტიმალურ პირობებში მწვანე განათების დროს, როდესაც ადამიანის თვალი ყველაზე მგრძნობიარე ხდება, მას არ შეუძლია ერთმანეთისგან გაარჩიოს წერტილები, რომელთა შორის მანძილი 0.2 მმ ანუ 200 μმ - ზე მცირეა. ამაზე მცირე ობიექტებს, როგორიცაა, მაგალითად, უჯრედები, ის ვერ გაარჩევს გარკვეული გამადიდებელი, უფრო მაღალი რეზოლუციის მქონე საშუალებების გარეშე.

გადიდება - ოპტიკური გამოსახულების ზომის გაზრდა ობიექტების რეალურ ზომებთან შედარებით - პრობლემას ვერ წყვეტს, თუ დამკვირვებელ ხელსაწყოს არ შეუძლია სტრუქტურის განსხვავებული ნაწილების ერთმანეთისგან გარჩევა. გადიდების გაზრდა რეზოლუციის გაუმჯობესების გარეშე მხოლოდ გადიდებულ ბუნდოვან სურათს იძლევა. ადამიანის თვალს გადიდების უნარი არ გააჩნია. გამადიდებელი სათვალის გამოყენებით შესაძლებელია გამოსახულების მხოლოდ 10-ჯერ, ხოლო სინათლის მიკროსკოპის საშუალებით კი 1500-2000ჯერ გადიდება.

გადიდების პრინციპის მიხედვით არსებობს სამი ძირითადი კატეგორიის მიკროსკოპი - **სინათლის** (ანუ **ოპტიკური**), **ელექტრონული და მასკანირებელი ზონდური** მიკროსკოპი.

სინათლის (ოპტიკური) მიკროსკოპი, რომელშიც გამოსახულების გადიდება ხდება სინათლის ტალღების ოპტიკური ლინზების სისტემაში გავლის მეშვეობით, შეიძლება იყოს:

- **ნათელი ველის**
- **მუქი ველის**
- **ლუმინესცენტური (ფლუორესცენტული)**
- **ფაზო-კონტრასტული**
- **კონფოკალური**

ელექტრონული მიკროსკოპი, როგორც ეს სახელწოდებიდან გამომდინარეობს, გამოსახულების მისაღებად სინათლის ტალღების ნაცვლად ელექტრონების კონებს იყენებს. არსებობს **ტრანსმისიული** და **მასკანირებელი** ელექტრონული მიკროსკოპი.

ყველაზე ხშირად გამოიყენება ნათელი ველის სინათლის მიკროსკოპი, ხოლო მიკროსკოპის სხვა ტიპები გამოკვლევებში სპეციალური ამოცანების გადასაწყვეტად გამოიყენება.

ნათელი ველის მიკროსკოპია

ასეთი ტიპის მიკროსკოპში მიკროსკოპის ველი (გამოსახულება) კარგად არის განათებული, ასე რომ პრეპარატი სინათლის შთანთქმის გამო მუქად ჩანს. ჩვეულებრივად, უჯრედები ბევრ სინათლეს არ შთანთქავენ, მაგრამ მათი შეღებვა სპეციალური საღებავებით მკვეთრად ზრდის სინათლის შთანთქმის უნარს, რასაც მოჰყვება კონტრასტირებისა და ფერების გარჩევითობის გაზრდა. ჩვეულებრივად, ასეთი ტიპის მიკროსკოპების გადიდება X1000-დან X2000-მდე აღწევს. 2000-ჯერ მეტი გადიდების დროს გამოსახულება ბუნდოვანი ხდება ქვემოთ მოყვანილი მიზეზების გამო.

გარჩევითობა. ნათელი ველის სინათლის მიკროსკოპის ძირითადი შეზღუდვა არის არა გამოსახულების გადიდება, არამედ მიკროსკოპის გარჩევითუნარიანობა, რაც ორი მეზობელი წერტილის ერთმანეთისგან გარჩევაში მდგომარეობს. მხოლოდ გამოსახულების გაზრდა (დიდი გადიდება), ცალკეული სტრუქტურების გარჩევის შესაძლებლობის გარეშე (მაღალი გარჩევითობა) საკმარისი არ არის. სხვაგვარად რომ ვთქვათ, მიკროსკოპის მეშვეობით გამოსახულების მხოლოდ გადიდება არ არის პროდუქტიული, ვინაიდან ის ბუნდოვანი და არამკვეთრი ხდება. რაც უფრო მეტი ხაზი ან წერტილი შეიძლება გავარჩიოთ ფართის ერთეულში, მით უფრო მეტია მიკროსკოპის გარჩევითუნარიანობა. გარჩევითობა სინათლის ტალღის სიგრძისა და ლინზების სისტემის **რიცხვითი აპერტურის (numerical aperture, NA)** ფუნქციაა.

რიცხვითი აპერტურა (NA). ობიექტივის აპერტურა იზომება კუთხით (θ) ოპტიკური ღერძისა და ობიექტივში გასულ ყველაზე დაშორებულ სხივებს შორის. ამ კუთხის მნიშვნელობა სინუსური ფუნქციით გამოიხატება. აპერტურის ნახევარ-კუთხის სინუსური ფუნქციის მნიშვნელობა გამრავლებული ობიექტივის ლინზებსა და საფარ მინას

შორის არსებული არის რეფრაქციის ინდექსზე (n) რიცხვით აპერტურას (NA) გვაძლევს: NA = nsinθ. მშრალი ობიექტივის შემთხვევაში n ერთის ტოლია, ვინაიდან 1 ჰაერის რეფრაქციის ინდექსია. თუ არედ გამოყენებულია იმერსიული ზეთი, n იქნება 1.56 ტოლი, სუფთა წყლის შემთხვევაში n 1.33 უდრის.

თუ n=1.56, ხოლო θ = 580, მაშინ:

NA=n sinθ= 1.56 x sin 580o =1.56 x 0.85 = 1.33

NA მნიშვნელობის გაზრდის მიზნით მიკროსკოპის ობიექტივების შეცვლა შეზღუდულია. მაქსიმალური NA მშრალი ობიექტივებისთვის 1.0-ზე ნაკლებია (კარგი ობიექტივის NA საშუალოდ 0.95 ტოლია), იმერსიული ობიექტივების ლინზებს 1.0-ზე ოდნავ მაღალი NA აქვთ (1.2-1.4). სინათლის ტალღის სიგრძე ოპტიკურ მიკროსკოპში ასევე შეზღუდულია. ხილვადი სინათლის ტალღების სიგრძე 400 ნმ-დან (ლურჯი ნათება) 700 ნმ-მდე (წითელი ნათება), ანუ 0.4 μm-დან 0.7 μm-მდე მერყეობს. მაშასადამე, ცხადია, რომ ოპტიკური მიკროსკოპის გარჩევითობა NA მაჩვენებლით და ხილვადი სინათლის ტალღის სიგრძითაა შეზღუდული.

გარჩევითობის საზღვრები. გარჩევითობის საზღვარი ეს არის უმცირესი მანძილი ორ წერტილს შორის, რომელზედაც ეს წერტილები განირჩევა ერთმანეთისაგან და აღიქმება, როგორც ცალ-ცალკე ობიექტი. სინათლის მიკროსკოპის ყველაზე მაღალი გარჩევითობა მიიღწევა ხილვადი სინათლის უმოკლეს ტალღაზე მაქსიმალური NA მქონე ობიექტივის გამოყენებით. NA-ს და გარჩევითობას შორის კავშირი შეიძლება შემდეგ ნაირად გამოიხატოს:

d=λ/2 NA

სადაც d - გარჩევითობაა, ხოლო λ - ტალღის სიგრძე. თუ NA – 1.3-ია, ხოლო λ უდრის 0.55 μm (მწვანე ნათების ტალღის სიგრძე), მაშინ გარჩევითობა უდრის:

d = 0.55 / 2 x 1.30 = 0.21 μm.

ამ გამოთვლებიდან გამომდინარეობს, რომ ყველაზე მცირე წერტილები, რომელთა გარჩევაც შესაძლებელია სინათლის მიკროსკოპში დაახლოებით 0.2 μm დიამეტრის უნდა იყოს.

გადიდება. გარჩევითობის გაზრდის გარეშე მხოლოდ გამოსახულების გადიდება სასურველ შედეგს არ იძლევა, ვინაიდან გადიდებული სურათი ნაკლებად მკაფიო და ბუნდოვანი ხდება. ეს იგივე ეფექტია, რაც შეიძლება კინოეკრანზე ვიხილოთ: თუ ჩვენ ვუახლოვდებით ეკრანს, გამოსახულება ხდება უფრო დიდი და ამავე დროს ნაკლებად მკვეთრი, ვიდრე ის უფრო დიდი მანძილიდან ჩანდა. ლაბორატორიული მიკროსკოპების უმრავლესობა აღჭურვილია სამი ობიექტივით, რომლებსაც სხვადასხვა გადიდების სიმძლავრე ახასიათებს. ამ ობიექტივებს **იმერსიული**, მშრალი **დიდი გადიდების** და **მცირე გადიდების** ობიექტივები ეწოდება. ობიექტივების გადიდების ხარისხი მათ კორპუსზეა დატანილი. სისტემის გადიდების სრული ხარისხის

გაანგარიშება ***ობიექტივის გადიდების ოკულარის გადიდებაზე გამრავლებით*** ხდება. ჩვეულებრივად, ოკულარის გადიდების ხარისხი 10-ის ტოლია, თუმცა არსებობს უფრო დაბალი და მაღალი გადიდების სიმძლავრის მქონე ოკულარებიც. ობიექტივის გადიდება ჩვეულებრივად 10, 45 ან 100-ია. აქედან გამომდინარე, ჩვეულებრივი საკლვევი სინათლის მიკროსკოპის გადიდება 100-1000 აღწევს.

მუქი ველის მიკროსკოპი

მუქი ველის მიკროსკოპიის ეფექტი მდგომარეობს მუქ ფონზე კაშკაშა, მკვეთრად განათებული ობიექტების გამოჩენაში. ეს ეფექტი (ტინდალის ეფექტი, Tyndall effect) მიიღწევა მიკროსკოპის სპეციალური კონდენსორით აღჭურვით, რომელიც შუქის სხივების კონას განათების წყაროდან გადასცემს. კონდენსორში გავლილი სინათლის სხივების უმეტესობა ობიექტივამდე ვერ აღწევს და ფონი მუქი ხდება. ამავე დროს, ზოგიერთი სხივი გაიფანტება (დიფრაქცია) გამჭვირვალე არეში, თუ ის ისეთ ობიექტებს შეიცავს, როგორიცაა, მაგალითად, ბაქტერიული უჯრედები. ეს დიფრაქციული სხივები შედის ობიექტივში, აღწევს დამთვალიერებლის თვალს ისე, რომ ობიექტი, ამ შემთხვევაში ბაქტერიული უჯრედები, გამოჩნდება როგორც ძლიერ განათებული სტრუქტურები მუქ ფონზე. მუქი ველის მიკროსკოპია განსაკუთრებით ფართოდ გამოიყენება სითხეში სუსპენზირებული შეუღებავი მიკროორგანიზმების დასათვალიერებლად, დაკიდულ და გაჭყლეტილ წვეთში პრეპარატების დამზადების დროს.

ლუმინესცენტური (ფლუორესცენტული) მიკროსკოპი

მრავალი ქიმიური ნივთიერებისათვის დამახასიათებელია შუქის აბსორბცია. გარკვეული ტალღის სიგრძისა და ენერგიის შუქის შთანთქმის შემდეგ ზოგიერთი ნივთიერება გამოისხივებს უფრო მაღალი ტალღის სიგრძის და დაბალი ენერგიის სინათლეს. ასეთ ნივთიერებებს ფლუორესცენტული ნივთიერებები ეწოდება, ხოლო მოვლენას კი ფლუორესცენცია. ფლუორესცენციის მოვლენა ფლუორესცენტულ მიკროსკოპიაში გამოიყენება. პრაქტიკაში მიკროორგანიზმებს ან სხვა ობიექტებს ღებავენ ფლუორესცენტული საღებავებით და შემდეგ ასხივებენ ლურჯი სინათლით ან თვალისთვის უხილავი ულტრაიისფერი სხივებით, რომლებსაც შთანთქავს საღებავი და საპასუხოდ მწვანე ან ნარინჯისფერ ნათებას გამოსცემს. პრეპარატების განათების თვალსაზრისით ფლუორესცენტული მიკროსკოპის სპეციფიკური ნიშანთვისება ის არის, რომ ის იყენებს სპეციალურ ორ ფილტრს, საიდანაც ერთი ფილტრი კონდენსორის წინ თავსდება და მხოლოდ იმ სხივებს ატარებს, რომლებიც ობიექტის საკუთარ ან საღებავის ლუმინესცენციას იწვევს, ხოლო მეორე თავსდება ობიექტივის შემდეგ და ლუმინესცენციის სხივებს დამთვალიერებლის თვალამდე ატარებს. ფილტრებს გამოსაყენებელი საღებავის მიხედვით ირჩევენ.

ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპია

ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპია განსაკუთრებით გამოსადეგია ცოცხალი შეუღებავი უჯრედების შესწავლისათვის, მასხშირად მიმართავენ როგორც გამოყენებით, ასევე თეორიულ გამოკვლევებში. ფაზო-კონტრასტულ მიკროსკოპიაში გამოიყენება ჩვეულებრივი სინათლის მიკროსკოპი, რომელიც აღჭურვილია ფაზო-კონტრასტული ობიექტივით და ფაზო-კონტრასტული კონდენსორით. ასეთი სპეციფიკური აღჭურვილობა იძლევა საშუალებას დავაკვირდეთ შეუღებავ ობიექტებს, რომლებიც უმნიშვნელოდ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან სინათლის გარდატეხის მაჩვენებლებით ან თავისი სისქით.

ძირითადად ეს ტექნოლოგია ეფუძნება იმ გარემოებას, რომ სინათლე, რომელიც გაივლის სხვადასხვა სინათლის გარდატეხის ხარისხის და/ან სისქის მასალაში, ფაზის ცვლილებას განიცდის. ფაზთა სხვაობა, ან ტალღის ფრონტის უსწორობა, გამოისახება სტრუქტურების განსხვავებულ სიკაშკაშეში და, მაშასადამე, სხვადასხვანაირად აღიქმება თვალით. ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპის მეშვეობით შესაძლებელია უჯრედებსა და უჯრედულ სტრუქტურებში ისეთი სხვაობების შესწავლა, რომელთა გამოვლინება ვერ ხერხდება სხვა ტიპის მიკროსკოპების გამოყენებით.

კონფოკალური მიკროსკოპია

კონფოკალურ მიკროსკოპში გამოიყენება სპეციფიკური აპერტურა, რომელიც გამოსახულების სიბრტყეშია მოთავსებული და რომელიც ზღუდავს ფონის გაფანტული სინათლის ნაკადს. შედეგად ობიექტი ვიწრო წერტილოვანი მასკანირებელი სხივით ნათდება. ამის გამო, კონფოკალური მიკროსკოპის გარჩევითუნარიანობა მნიშვნელოვნად აღემატება ჩვეულებრივი ოპტიკური მიკროსკოპის გარჩევითობას. კონფოკალური მიკროსკოპი გამოიყენება 3D (სივრცითი) სტრუქტურების შესასწავლად.

ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპი

ელექტრონული მიკროსკოპია მრავალ ასპექტში საგრძნობლად განსხვავდება სინათლის მიკროსკოპიისაგან. ელექტრონული მიკრისკოპი უზრუნველყოფს გამოსახულების მნიშვნელოვან გადიდებას, რაც გაცილებით უფრო მაღალი გარჩევითუნარიანობით არის განპირობებული. ეს უკანასკნელი, თავის მხრივ, მიიღწევა ელექტრონების კონის ტალღის ძალზედ მცირე სიგრძის გამო. თუ სინათლის მიკროსკოპში გამოსახულების გასადიდებლად გამოიყენება სინათლის ტალღები და შუშის ლინზები, ელექტრონული მიკროსკოპია იყენებს ელექტრონების კონებს და მაგნიტურ ველებს.

ელექტრონულ მიკროსკოპში დასათვალიერებლად პრეპარატები მზადდება უთხელესი ფირფიტების სახით და თავსდება მაგნიტურ კონდენსორსა და მაგნიტურ ობიექტივს შორის იმავე პრინციპით, რაც სინათლის მიკროსკოპში. გადიდებული გამოსახულების დათვალიერება

შესაძლებელია ლუმინესცენტურ ეკრანზე, ფოტო-ფირფიტაზე ან CCD კამერაზე. ელექტრონული მიკროსკოპია მრავალი სხვადასხვა ტექნოლოგიის გამოყენებას ითვალისწინებს, რაც მნიშვნელოვნად ზრდის მისი გამოყენების არეალს უჯრედული სტრუქტურების შესწავლაში. ზოგიერთი ასეთი ტექნოლოგია ქვემოთ არის აღწერილი.

ჩრდილის სხმა (shadow casting). ამ ტექნოლოგიის გამოყენების დროს ორგანიზმზე ირიბი კუთხით ათავსებენ ლითონის უთხელეს ფირფიტას, ასე რომ ორგანიზმი წარმოქმნის ჩრდილს არადაფარულ ზედაპირზე. ჩრდილის სხმის ტექნიკა საშუალებას იძლევა შევისწავლოთ ნიმუშის ზედაპირული სტრუქტურების ტოპოგრაფია.

უარყოფითი შეღებვა (negative staining). ობიექტების შესაღებად შესაძლებელია ელექტრონულად მკვრივი მასალის, მაგალითად, ფოსფოვოლფრამის მჟავის გამოყენება. ასეთი ელექტრონულად მკვრივი მასალა არ შეაღწევს სტრუქტურის შიგნით, მაგრამ მის ზედაპირზე სქელ ფენას წარმოქმნის. ამ მეთოდის საშუალებით შესაძლებელია, მაგალითად, ვირუსების, ბაქტერიების შოლტის და სხვა ნატიფი სტრუქტურების დათვალიერება.

ულტრათხელი ანათლების მიღების მეთოდიკა. შიდაუჯრედული სტრუქტურების დათვალიერებისათვის საკვლევი მასალა ძალზედ თხელი უნდა იყოს. მაგალითად, ინტაქტური მიკრობული უჯრედი მეტად სქელია მისი შიდა ნატიფი სტრუქტურების ელექტრონულ მიკროსკოპში დასათვალიერებლად. შესაბამისად შემუშავდა ბაქტერიული უჯრედის უთხელესი ანათლების დამზადების მეთოდები და საშუალებები. ასე, მაგალითად, უჯრედი შეიძლება ჩაყალიბებულ იქნას პლასტიკურ მასალაში, შემდეგ მიღებული „ბლოკი“ იჭრება ულტრათხელ ანათლებად, რომელთა სისქე 30-60 ნმ-ია. ეს ანათლები შემდგომში სპეციალურად მუშავდება მიკროსკოპული დათვალიერებისათვის. როგორც მოსალოდნელია, ანათლებზე სხვადასხვა დონის და სხვადასხვა კუთხით დაჭრილი უჯრედები ჩანს. კონტრასტირების გაძლიერება შესაძლებელია სპეციფიკური საღებავების (ურანის, ლანტანის მარილების) გამოყენებით.

გაყინვა (კრიო-ელექტრონული მიკროსკოპია). ეს მეთოდი გამოიყენება, როდესაც არტეფაქტების გამორიცხვის მიზნით სასურველია თავი ავარიდოთ ნიმუშების ქიმიურ დამუშავებას ფიქსაციის დროს. ნიმუში დაჭრამდე ყალიბდება გაყინულ „ბლოკებში“. ამის შემდეგ უჯრედის შიდა სტრუქტურების დასათვალიერებლად მზადდება ზედაპირების ნახშირის რეპლიკები.

ავტორადიოგრაფია. ავტორადიოგრაფია ციტოქიმიური მეთოდია, რომლის მეშვეობით გარკვეული ქიმიური ნივთიერების უჯრედში ლოკალიზაცია განისაზღვრება რადიოაქტიური ნივთიერებების განაწილების მიხედვით. უჯრედები თავდაპირველად მუშავდება რადიოაქტიური ნივთიერებით, შემდგომ პრეპარატები იფარება ფოტოემულსიით და გასამჟღავნებლად გარკვეული პერიოდით სიბნელეში ინახება. მაიონიზირებელი რადიაცია, რომელიც

გამოისხივება რადიოაქტიური ნივთიერების დაშლის დროს, წარმოქმნის გამოსახულებას ემულსიაში. ფოტოდამუშავების შედეგად წარმოქმნილი გამოსახულება გამოლექილი ვერცხლის მარცვლების სახით ჩანს.

მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპია

მასკანირებელ ელექტრონულ მიკროსკოპში ობიექტი „მუშავდება“ წვრილი ელექტრონული სხივით, რომელიც ობიექტის ზედაპირზე მოძრაობს და მას ასკანირებს. ეს იწვევს მეორადი ელექტრონების კონების და სხვა ტიპის რადიაციის გამოსხივებას ობიექტის ზედაპირიდან. ასეთი მეორადი ელექტრონების ინტენსიურობა დამოკიდებულია პრეპარატის სისქეზე და ქიმიურ შემადგენლობაზე. მეორადი ელექტრონების შემკრები სპეციალური დეტექტორი ელექტრონულ სიგნალს წარმოქმნის. შემდგომ ეტაპზე ხდება ამ სიგნალების სკანირება იმავე პრინციპით, რაც გამოიყენება სატელევიზიო სისტემებში კათოდური სხივების მილში გამოსახულების მისაღებად. მასკანირებელ ელექტრონულ მიკროსკოპს ტრანსმისიულ მიკროსკოპთან შედარებით დაბალი გარჩევითუნარიანობა ახასიათებს, მაგრამ მისი საშუალებით შესაძლებელია მოცულობითი სამგანზომილებიანი სურათის მიღება. ნიმუშის ზედაპირული ტოპოგრაფია ისეთი სიზუსტით შეიაწავლება, რომელიც მიუღწეველია სხვა ტიპის მიკროსკოპის გამოყენებით.

ელექტრონული მიკროსკოპიის შეზღუდვები

იმისდა მიუხედავად, რომ ელექტრონული მიკროსკოპი კვლევის ფართო შესაძლებლობებს იძლევა თავისი მაღალი გარჩევითუნარიანობისა და გადიდების ხარისხის გამო, მას გარკვეული შეზღუდვებიც გააჩნია. ასე მაგალითად, გამოსაკვლევი ნიმუში თავსდება კამერაში ვაკუუმის პირობებში. შესაბამისად, ელექტრონული მიკროსკოპია არ იძლევა ცოცხალ უჯრედებზე დაკვირვების საშუალებას. გარდა ამისა, გამოშრობის პროცედურამ შეიძლება შეცვალოს გარკვეული მორფოლოგიური მახასიათებლები. კიდევ ერთი შეზღუდვა მდგომარეობს იმაში, რომ ელექტრონულ სხივს დაბალი შეღწევადობა ახასიათებს, რის გამოც უჯრედის შიდა სტრუქტურების დასათვალიერებლად საჭიროა ულტრათხელი პრეპარატების დამზადება.

ძირითადი პრობლემა, რომელიც დგება უჯრედის ნატიფი სტრუქტურების შემსწავლელი მკვლევარის წინაშე, უჯრედშიდა მასალის იდენტიფიცირებაა. ხშირად საჭირო ხდება სხვადასხვა მიკროსკოპული ტექნიკით (მაგალითად, ფაზო-კონტრასტული, ნათელი ველის სინათლის (შეღებილი პრეპრატები) და ელექტრონული მიკროსკოპიით) მიღებული მონაცემების ერთმანეთთან შეჯერება. ყოველი მეთოდი განსხვავებული ხასიათის ინფორმაციას იძლევა. სხვადასხვა მეთოდით მიღებული მონაცემების შედარება, შესაძლებელს ხდის უჯრედული სტრუქტურების უკეთ შესწავლას. თუმცა შედეგების სწორი ინტერპრეტაციისათვის საჭიროა მნიშვნელოვანი გამოცდილების შეძენა მიკროსკოპული ტექნიკის გამოყენების თვალსაზრისით.

ცხრილი1. სხვადასხვა ტიპის მიკროსკოპის შედარება

No	მიკროსკოპის ტიპი	მაქსიმალური გადიდება	ნიმუში	გამოყენების მაგალითები
1	ნათელი ველის	1,000-2,000	შეღებილი ან შეუღებავი	მცენარეული და ცხოველური ქსოვილების, ბაქტერიების, ობის სოკოს, წყალმცენარეების და უმარტივესების ძირითადი მორფოლოგიური მახასიათებლების შესწავლა
2	მუქი ველის	1,000-2,000	შეუღებავი მუქ ფონზე	მიკროორგანიზმების მორფოლოგიური მახასიათებლების შესწავლა ცოცხალ მდგომარეობაში და თხევად სუსპენზიაში
3	ფლუო-რესცენტული	1,000-2,000	ნათელი ან ფლუო-რესცენტული საღებავით შეღებილი	სადიაგნოსტიკო მეთოდიკა, რომლის დროსაც ორგანიზმების იდენტიფიცირება ფლუორესცენტული საღებავებით შეღებვის მიხედვით ხდება
4	ფაზო-კონტრასტული	1,000-2,000	სხვადასხვა ხარისხის მუქი შეფერილობა	დიდი ზომის ცოცხალი მიკროორგანიზმების სტრუქტურული მახასიათებლების შესწავლა. მაგალითები: საფუარი, წყალმცენარეები, ზოგიერთი ბაქტერია, უმარტივესები.
5	ელექტრო-ნული	200,000-400,000	ჩანს ფოსფო-რესცენტულ ეკრანზე	უჯრედების ნატიფი აგებულების, ვირუსების და მიკროორგანიზმების ულტრასტრუქტურის შესწავლა

სინათლის მიკროსკოპიისათვის ნიმუშების დამზადების ტექნიკა

სინათლის მიკროსკოპის ქვეშ დასათვალიერებლად გამოიყენება პრეპარატების დამზადების ორი ძირითადი მეთოდიკა. ერთ-ერთი მათგანი არის ორგანიზმების სითხეში სუსპენზირება (დაკიდული და გაჭყლეტილი წვეთის ტექნოლოგია), ხოლო მეორე კი მშრალი, ფიქსირებული, შეღებილი ანათლების ან ნაცხების დამზადებაა.

გაჭყლეტილი და დაკიდული წვეთის ტექნიკა

სუსპენზირებული პრეპრატების დამზადება იძლევა ცოცხალ ორგანიზმებსა თუ უჯრედებზე დაკვირვების საშუალებას. გაჭყლეტილი წვეთის ტექნოლოგიის გამოყენებისას ორგანიზმების შემცველი სითხის წვეთი სასაგნე მინაზე თავსდება და საფარი მინით იფარება. აორთქლების და ჰაერის მოძრაობის ეფექტების გამოსარიცხავად, წვეთის ირგვლივ სასაგნე მინაზე ათავსებენ ვაზელინს ან სხვა მსგავსი თვისებების მქონე მასალას, რათა დახუფონ სივრცე სასაგნე და საფარ მინებს შორის. ზოგჯერ სველი პრეპარატების დამზადების დროს, გამოიყენება ცირკულარული შეზნექილობის მქონე სპეციალური მინა. მიკრობული უჯრედების სუსპენზიას ათავსებენ საფარ მინაზე, შემდეგ ატრიალებენ წვეთით დაბლა და ათავსებენ სასაგნე მინის შეზნექილობაში „დაკიდული წვეთის“ მისაღებად.

ფიქსირებული შეღებილი ნაცხები

ბაქტერიების მორფოლოგიური მახასიათებლების შესასწავლად ძირითადად ფიქსირებული შეღებილი პრეპარატები გამოიყენება. ამ პროცედურის უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ ა) შეღებვის შემდეგ უჯრედები უფრო მკაფიოდ ჩანს და ბ) შესაბამისი საღებავების (შერჩევითი ანუ დიფერენციალური შეღებვა) გამოყენების შედეგად შესაძლებელია სხვადსხვა ან ერთსა და იგივე სახეობის მიკროორგანიზმებს შორის სხვაობის ვიზუალიზაცია. ფიქსირებული შეღებილი ნაცხების დამზადების ძირითადი ეტაპებია: ა) ნაცხის მიღება; ბ) ფიქსაცია და გ) შეღებვა ერთი ან რამდენიმე საღებავით.

საღებავები

მოლეკულური აგებულების მიხედვით საღებავები იყოფა ჯგუფებად, რომელთა მაგალითებია ტრიფენილმეთანის საღებავები, ოქსაზინის საღებავები, თიაზინის საღებავები და სხვა. ქიმიური ბუნების მიხედვით შეიძლება იყოს მჟავა, ფუძე და ნეიტრალური საღებავები.

პრეპარატების დამზადება ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპიისათვის

ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპიისათვის პრეპარატების დამზადების რუტინული პროცედურები ფიქსაციას, დეჰიდრატაციას, შეღებვას და დაჭრას ითვალისწინებს, რაც სინათლის მიკროსკოპიის პროცედურების მსგავსია. თუმცა, მნიშვნელოვანი სხვაობა ულტრათხელი ანათლების დამზადების აუცილებლობაში მდგომარეობს. ელექტრონული მიკროსკოპიისათვის პრეპარატების დამზადების ეტაპებია:

ფიქსაცია: ოსმიუმის ტეტრაოქსიდი, კალიუმის პერმანგანატი, ფორმალინი, გლუტარალდეჰიდი.

დეჰიდრატაცია: ეთანოლის (ან აცეტონის) მზარდი კონცენტრაციის სერია და შემდგომ პროპილენ-ოქსიდი.

ჩაყალიბება: არალდიტი - ვესტოპალი, ეპონ 812, მარაგლასი - დურკოპანი.

დაჭრა: ჩვეულებრივად 10-100 ნმ სისქის ანათლების დამზადება ულტრატომზე მინის ან ალმასის დანით.

ბადეზე დატანა: პერფორირებული ლითონის დისკო (ბადე), რომელიც ჩვეულებრივად ფორმვარით ან პარალოდიანით არის დაფარული.

შეღებვა: მძიმე ლითონების საღებავებით (ტყვიის აცეტატი, ტყვიის ციტრატი, ტყვიის ჰიდროქსიდი, ურანილ-აცეტატი და ფოსფო-ვოლფრამის მჟავა).

დათვალიერება: ბადე თავსდება ვაკუუმში კონდენსორის და ობიექტივის ლინზებს შორის. გამოსახულებას ათვალიერებენ ფოსფორისცენტულ ეკრანზე.

თავი II

უჯრედის სტრუქტურა და უჯრედული ორგანელების ფუნქციები

თანამედროვე კლასიფიკაციით უჯრედები ორ ჯგუფად იყოფიან: პროკარიოტული და ეუკარიოტული უჯრედები.

მიუხედავად თავისი შედარებით მარტივი სტრუქტურისა, პროკარიოტული უჯრედები ბიოქიმიურად მეტად რთული და მრავალფეროვანია. ასე მაგალითად, ბაქტერიებში აღწერილია ყველა ძირითადი მეტაბოლური გზა ენერგიის წარმომქნელი სამი მთავარი პროცესის ჩათვლით (გლიკოლიზი, სუნთქვა, ფოტოსინთეზი).

პროკარიოტულ უჯრედებთან შედარებით ეუკარიოტული უჯრედები უფრო დიდი ზომის და უფრო რთული აგებულებისაა. ეუკარიოტულ უჯრედებში დნმ მოქცეულია მემბრანით შემოსაზღვრულ ბირთვში, ხოლო უჯრედის ციტოპლაზმა მრავალ მემბრანულ ორგანელას შეიცავს, მათ შორის მიტოქონდრიებს (სადაც ხორციელდება ჟანგვითი რეაქციები) და მცენარეული უჯრედებისთვის დამახასიათებელ ქლოროპლასტებს (სადაც ფოტოსინთეზი მიმდინარეობს). მიტოქონდრიები და ქლოროპლასტები დიდი ალბათობით ისეთი პროკარიოტული უჯრედების შთამომავლებს წარმოადგენენ, რომლებიც შიდა სიმბიონტების სახით უფრო დიდი ზომის ანაერობულ უჯრედებში შესახლდნენ. ეუკარიოტული უჯრედების უნიკალურობა ასევე იმაში მდგომარეობს, რომ ისინი ცილოვანი ბუნების ფილამენტებისაგან წარმოქმნილ ციტოჩონჩხს შეიცავენ. ციტოჩონჩხი ციტოპლაზმის ორგანიზებაში მონაწილეობს და მოძრაობის აპარატს წარმოქმნის.

2.1 პროკარიოტული უჯრედები

პროკარიოტული უჯრედები (ბერძნ. pro - წინამორბედი; kary-on - ბირთვი) მცირე ზომის, მარტივი აგებულების პრიმიტიული უჯრედებია. როგორც ვარაუდობენ, ეს პირველი ორგანიზმებია, რომლებიც 3.5 მილიარდი წლის წინ წარმოიშვნენ (დასავლეთ ავსტრალიის სტრომატოლიტები (გადაშენებული ციანობაქტერიების ანუ ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეების გიგანტური კოლონიები) სულ ცოტა 3.5 მილიარდი წლისაა0. ეუკარიოტული (ბერძნ. *eu* - კარგი, კარგად გამოხატული; *karyon* - ბირთვი) უჯრედები პროკარიოტებისგან წარმოიშვნენ. პირველი ბირთვიანი უჯრედები სავარაუდოდ 1.4 მილიარდი წლის წინ გაჩნდნენ.

მორფოლოგიის თვალსაზრისით პროკარიოტული უჯრედები მეტად პრიმიტიული აგებულების არიან. პროკარიოტებს მიეკუთვნებიან ბაქტერიები (მათ შორის მიკოპლაზმა) და ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეები (ციანობაქტერიები). პროკარიოტულ უჯრედებს აქვთ ერთშრიანი კედელი, ცენტრალური ბირთვული კომპონენტი (დნმ,

რნმ და ბირთვული არაჰისტონური ცილები), შიდა ორგანელებით ღარიბი ციტოპლაზმა. არც ბირთვული აპარატი და არც სუნთქვითი ფერმენტული სისტემები არ არის მოქცეული მემბრანებში, თუმცა პლაზმური მემბრანის შიგნითა ზედაპირი შესაძლებელია ფერმენტების დაკავშირებას ემსახურებოდეს. პროკარიოტულ უჯრედებში არ არის მკაფიოდ გამოკვეთილი ციტოპლაზმური ორგანელები, როგორიცაა ენდოპლაზმური ბადე, გოლჯის აპარატი, მიტოქონდრიები, ცენტრიოლები და ა.შ. მათ ფუნქციას პლაზმური მემბრანის ნაკეცები - **მეზოსომები** ასრულებენ. ზოგადად შეიძლება ითქვას, რომ განსხვავება ეუკარიოტულ და პროკარიოტულ უჯრედებს შორის ამ უკანასკნელებში შიდა ციტოპლაზმური სტრუქტურების არარსებობაში ან ნაკლებობაში მდგომარეობს. პროკარიოტებს არ გააჩნიათ ბირთვის გარსი და სხვა ციტოპლაზმური მემბრანები. მათ ასევე არ აქვთ ბირთვაკი, ციტოჩონჩხი (მიკროფილამენტები და მიკრომილაკები) და ბაზალური სხეულაკები.

ბაქტერიები

ბაქტერიები პრიმიტიული, მიკროსკოპული, ერთუჯრედიანი, პროკარიოტული ორგანიზმებია. ბაქტერიებს მსგავსი სტრუქტურა აქვს, თუმცა მათი ბიოქიმიური აქტიურობა და ეკოლოგიური ნიშები მკვეთრად განსხვავებულია (ნახ.4). ბაქტერიები პრაქტიკულად ყველგან გვხდება: ჰაერში, წყალსა თუ ნიადაგში. ბაქტერიები ნაპოვნია მტკნარ წყალში, ტბორებსა და ჭაობებში, მდინარეებში, ტბებში, ზღვის წყალში, საკვებში, ნავთობში, ნაკელში, ცოცხალი ორგანიზმების სხეულის ზედაპირზე, სხეულის ღრუებში და ადამიანისა და ცხოველების შიდა ტრაქტებში. ბაქტერიები კარგად იზრდებიან სითბოს პირობებში, თუმცა ძალიან დაბალ ტემპერატურასაც უძლებენ. ნიადაგის ჩაის კოვზში რამდენიმე ასი მილიონი როგორც ავტოტროფული, ასევე ჰეტეროტროფული ბაქტერიაა. დიდია საპროფიტული ბაქტერიების ეკონომიკური მნიშვნელობა. ზოგიერთი ბაქტერია პათოგენურია ადამიანისთვის, ცხოველებსა თუ მცენარეებისათვის.

მცირე ზომებიდან გამომდინარე ბაქტერიებში უჯრედული ზედაპირის მოცულობასთან შეფარდება მაღალია, საიდანაც გამომდინარეობს მეტაბოლური რეაქციების მაღალი სიჩქარე. მაღალი მეტაბოლური აქტიურობის და სწრაფი გამრავლების გამო ბაქტერიები ხანმოკლე დროის პერიოდში საგრძნობლად ცვლიან გარემოს.

ყველაზე მცირე ზომის ცოცხალ ორგანიზმებს შორის აღსანიშნავია ბაქტერიების ნაირსახეობა - მიკოპლაზმები. მიკოპლაზმები ცხოველებსა და ადამიანში ინფექციურ დაავადებებს იწვევენ. მიკოპლაზმები ერთუჯრედიანი პროკარიოტებია, რომლებსაც გააჩნიათ პლაზმური მემბრანა, დნმ, რნმ, ზრდისა და გამრავლების მეტაბოლური აპარატი. მიკოპლაზმები იფილტრება ბაქტერიულ ფილტრებში, მათ არა აქვთ უჯრედული კედელი და მეზოსომები. მიკოპლაზმები, ისევე როგორც ვირუსები და ცხოველური უჯრედები, ანტიბიოტიკების, მაგალითად პენიცილინის მიმართ რეზისტენტულობას იჩენენ. მიკოპლაზმა 1898 წელს ფრანგმა მეცნიერებმა ე.ნოკარმა და ე.რ.რუმ აღმოაჩინეს პლევროპნევმონიით დაავადებული პირუტყვის პლევრალური სითხის შესწავლის დროს. მსგავსი მიკოპლაზმები გამოყოფილ იქნა აგრეთვე სხვა ცხოველებიდან, როგორიცაა მაგალითად, ცხვარი, თხა, ვირთაგვა, თაგვი, ასევე ადამიანის ორგანიზმიდანაც. მიკოპლაზმების მოძველებული სახელწოდებაა პლევრო-პნევმონიის-გამომწვევი ორგანიზმები (Pleuro pneumonia-like organisms, PPLO) (ნახ.5).

Escherichia coli ანუ E.coli პროკარიოტული უჯრედის ტიპური მაგალითია (ნახ.6). E.coli გრამ-ნეგატიური, მონოტრიქული, სიმბიოტური ბაცილაა, რომელიც ხერხემლიანთა და მათ შორის ადამიანის ნაწლავებში ბინადრობს. ეს ჰეტეროტროფული ორგანიზმია, რომლის სიგრძე საშუალოდ 2 μm, ხოლო სისქე 1 μm აღწევს. ის არაპათოგენურია და ასინთეზირებს ადამიანისთვის საჭირო ვიტამინ K-ს. E.coli-ს ზოგიერთი ხაზი ამოიცნობს და სპეციფიკურად უკავშირდება ძუძუმწოვრების საჭმლის მომნელებელი ტრაქტის ამომფენი სამიზნე უჯრედების ზედაპირის პოლისაქარიდებს. მოლეკულურ ბიოლოგიაში და გენურ ინჟინერიაში E.coli ერთ-ერთი ყველაზე კარგად შესწავლილი მიკროორგანიზმია. ის სწრაფად იზრდება ხელოვნურ არეში, ოპტიმალურ პირობებში (37O C ტემპერატურაზე) ყოველ 20 წუთში ერთხელ იყოფა, ასე რომ 20 საათში ერთი უჯრედიდან 109 ბაქტერია წარმოიქმნება. E.coli-ს გააჩნია პლაზმური მემბრანა, რომელსაც ტიპური ბილიპიდური სტრუქტურა აქვს, ხოლო მემბრანის გარეთ არის რთული ორგანიზაციის ხისტი დამცავი უჯრედული კედელი. უჯრედული კედლის სიმტკიცე მასში მურეინის შემცველობითაა განპირობებული. მურეინი ამინომჟავების მოკლე ჯაჭვებით დაკავშირებული, პარალელურად განლაგებული პოლისაქარიდული ჯაჭვებისაგან შედგება. მემბრანაში მრავალი **პორინის** არხია გაფანტული. ამ არხების მეშვეობით ხსნადი ნივთიერებების დიფუზია ხორციელდება. თითოეული პორინის არხი ნახშირწყლების სამი ჯაჭვისგან შემდგარ 6-8 სუბერთეულს მოიცავს. პორინი ტრანსმემბრანული პოლიპეპტიდია, რომელიც მთლიანად განჭოლავს გარეთა მემბრანის სისქეს. უჯრედის პლაზმური და გარეთა მემბრანები ერთმანეთისგან პერიპლაზმური სივრცითაა გაყოფილი. ეს სივრცე შეიცავს პეპტიდოგლიკანების ბადეს (რეტიკულუმს), ასე რომ პორინის რამდენიმე სუბერთეული პეპტიდოგლიკანების რეტიკულუმთანაა დაკავშირებული.

E.coli-ს კოლოიდური მატრიქსი 5000-ზე მეტ განსხვავებულ კომპონენტს შეიცავს. ზოგიერთი ამ კომპონენტთაგანია წყალი, ფერმენტები, დნმ, სხვადასხვა ტიპის რნმ, გლიკოგენი, ამინომჟავები, მონოსაქარიდები და სხვა. დნმ-ის ირგვლივ განირჩევა მატრიქსის მუქი მკვრივი უბანი, რომელიც 20 000-დან 30 000-მდე ორი სუბერთეულისგან

შემდგარ 70S ტიპის რიბოსომას შეიცავს. რიბოსომები ცილის სინთეზის მთავარი აპარატია. რამდენიმე რიბოსომა, რომელიც ერთდოულად ერთი და იგივე მრნმ-ის ტრანსლაციაში მონაწილეობს, პოლისომას ანუ პოლირიბოსომას წარმოქმნის.

2.2 ეუკარიოტული უჯრედები

ეუკარიოტული უჯრედები ორმაგი მემბრანით შემოსაზღვრული სისტემებია, რომლებიც ზომით ბევრად აღემატებიან პროკარიოტებს. ეუკარიოტულ უჯრედებში ბირთვი და ორგანელების უმეტესობა მოქცეულია უჯრედშიდა მემბრანებში. ეუკარიოტული უჯრედები ცხოველურ (ნახ.7) და მცენარეულ (ნახ.8) ორგანიზმებში გვხვდება. ეუკარიოტული უჯრედები თავისი ფორმით, ზომითა და ფიზიოლოგიით განსხვავდებიან. ტიპიურად მათ აგებულებაში განირჩევა ბირთვი, პლაზმური მემბრანა და ციტოპლაზმა ორგანელებით, როგორიცაა მიტოქონდრიები, ენდოპლაზმური ბადე, რიბოსომები, გოლჯის აპარატი და სხვა. ბირთვული კომპონენტები (დნმ, რნმ, ბირთვული ცილები) ციტოპლაზმისგან თხელი პერფორირებული მემბრანითაა გამოყოფილი.

დამახასიათებელი ნიშანთვისებები

- კარგად გამოხატული ბირთვი;
- ორმაგი მემბრანების სისტემა;
- პროკარიოტებზე უფრო დიდი ზომა;
- გვხდება როგორც მცენარეულ, ასევე ცხოველურ ორგანიზმებში;
- ზომის, ფორმისა და რაოდენობის მრავალფეროვნების მიუხედავად ყველა ეუკარიოტულ უჯრედს აქვს ტიპური აგებულება - მათ სტრუქტურაში არჩევენ ბირთვს, პლაზმურ მემბრანას, ციტოპლაზმას და ციტოპლაზმურ ორგანელებს, როგორიცაა მიტოქონდრიები, ქლოროპლასტები, გოლჯის აპარატი, ენდოპლაზმური რეტიკულუმი, რიბოსომები და ა.შ.;
- ბირთვულ კომპონენტებს მიეკუთვნება: ქრომატინის ფიბრილები, ნუკლეოპლაზმა, ბირთვაკი. ბირთვული შიგთავსი ციტოპლაზმისაგან თხელი პერფორირებული მემბრანითაა გამოყოფილი.

ფორმები

- აქვთ განსხვავებული ფორმა და ზომა;
- ცხოველური უჯრედების უმრავლესობა სფერულია;
- სხვა უჯრედული ფორმები: კუბური, პირამიდული, წაგრძელებული, პოლიგონალური, ელიპსოიდური, ცილინდრული და ა.შ.;
- უჯრედების ფორმა განსხვავებულია სხვადასხვა სახეობაში, ასევე სხვადასხვა ორგანოში;

- უჯრედების ფორმა მათ მიერ შესასრულებელ ფუნქციაზეა დამოკიდებული. მაგალითად, ზედაპირული ეპითელური უჯრედის უმეტესობა ბრტყელია, კუნთოვანი უჯრედები - წაგრძელებულია და ა.შ.

უჯრედების ფორმაზე ზეგავლენას აგრეთვე გარე და შიდა გარემო ახდენს, რაც განსაზღვრავს უჯრედების ზედაპირულ დაჭიმულობაშს წნევას, მექანიკურ დატვირთვას და ა.შ.

ზომები

- ბაქტერიულ უჯრედებზე დიდი;
- მერყეობს 1 μm-დან 175 000 μm-მდე;
- ყველაზე დიდი ზომის უჯრედია სირაქლემას კვერცხი;
- ყველაზე გრძელი უჯრედი ნეირონია (აქსონის სიგრძე 1მ-ზე მეტი შეიძლება იყოს).

რაოდენობა

- იშვიათად ერთუჯრედიანები;
- ძირითადად წარმოქმნიან მრავალუჯრედიან ორგანიზმებს;
- მცირე ზომის ორგანიზმებში უჯრედების რაოდენობა შედარებით მცირეა;
- დიდი ზომის ორგანიზმებში უჯრედების რაოდენობა შედარებით დიდია.

ეუკარიოტული უჯრედის ტიპური სტრუქტურა

უჯრედის ძირითადი კომპონენტებია:

I. უჯრედის კედელი/პლაზმური მემბრანა;
II. ციტოპლაზმა;
III. ბირთვი.

I. უჯრედული კედელი

- დამახასიათებელია მხოლოდ მცენარეული უჯრედებისათვის;
- ნახევრად ხისტია;
- უჯრედის გარეთა გარსია;
- წარმოადგენს უჯრედის ცხოველმყოფელობის პროდუქტს;
- შეიცავს რთულ პოლისაქარიდს - ცელულოზას;
- უზრუნველყოპს ქვეშმდებარე პლაზმური მემბრანის დაცვას, წარმოადგენს გარეთა საყრდენს;
- უჯრედის კედელში არის არხების მსგავსი აპერტურები ანუ პლაზმოდესმები, რომელთა მეშვეობით უჯრედი მეზობელ უჯრედებთან კონტაქტებს ამყარებს.

პლაზმური მემბრანა

- გააჩნია ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედებს;
- ცნობილია როგორც პლაზმალემა ანუ უჯრედული მემბრანა;
- დინამიკური ბუნებისაა, თხელი, ელასტიური, ფოროვანი, ნახევრად-განვლადია;
- შეიცავს ლიპიდების შიგნითა და გარეთა შრეს;
- შეიცავს ფორებს, რომელთა მეშვეობით ხორციელდება ნივთიერებათა ტრანსპორტი;
- FN (ფიბრონექტინი) წარმოქმნის მექანიკურ საყრდენს, უზრუნველყოფს ციტოპლაზმისა და ბირთვის ფორმის შენარჩუნებას და აკონტროლებს ნივთიერებათა ტრანსპორტს უჯრედში და უჯრედის გარეთ.

II. ციტოპლაზმა

ციტოპლაზმაში ორ ნაწილს არჩევენ:

A. ციტოპლაზმური მატრიქსს და

B. ციტოპლაზმურ სტრუქტურებს ანუ ორგანელებს

A. ციტოპლაზმური მატრიქსი (ციტოზოლი, ჰიალოპლაზმა)

- უკავია სივრცე პლაზმურ მემბრანასა და ბირთვს შორის;
- ამორფული გამჭვირვალე კოლოიდია;
- შეიცავს არაორგანულ მოლეკულებს, როგორიცაა წყალი, ნატრიუმის, კალიუმის და სხვა ლითონების მარილები;
- შეიცავს ორგანულ ნაერთებს, როგორიცაა ნახშირწყლები, ცილები, ნუკლეოპროტეინები;
- ციტოპლაზმური მატრიქსის პერიფერიული ნაწილი გრანულებს თითქმის არ შეიცავს, ის შედარებით ბლანტი, ნათელი და მკვრივია. მას პლაზმის კორტექსი ანუ **ექტოპლაზმა** ეწოდება;
- ციტოპლაზმური მატრიქსის შიდა ნაწილი გრანულარულია და ნაკლებად ბლანტი. მას **ენდოპლაზმას** უწოდებენ.

B. ციტოპლაზმური სტრუქტურები, უჯრედული ორგანელები.

ციტოპლაზმური სტრუქტურები სხვადასხვა ფუნქციას ასრულებენ, მათ შორის სუნთქვით, ბიოსინთეზურ, სატრანსპორტო, საყრდენ, შემნახველ, რეპროდუქციულ და სხვა ფუნქციებს.

ციტოპლაზმურ სტრუქტურებს მიეკუთვნება:

- ციტოჩონჩხის ელემენტები: მიკრომილაკები და ციტოპლაზმური ფილამენტები;
- ცენტროსომები;
- ბაზალური გრანულები ანუ კინეტოსომები;
- ენდოპლაზმური რეტიკულუმი;
- გოლჯის კომპლექსი;
- ლიზოსომები;
- ციტოპლაზმური ვაკუოლები;
- მიკროსხეულაკები;
- რიბოსომები;
- მიტოქონდრიები;
- პლასტიდები;
- ქლოროპლასტები;
- ენდოსომები:
- წამწამები და შოლტი.

მიკრომილაკები და ციტოპლაზმური ფილამენტები

მიკრომილაკები მრავალრიცხოვანი ულტრათხელი მილაკებია, რომლებიც ცილა ტუბულინისგან შედგება. გვხდება როგორც მცენარეულ, ასევე ცხოველურ უჯრედებში.

თითო მიკრომილაკი შედგება 13 პროტოფილამენტისაგან, რომლებიც ღრუ ცილინდრს წარმოქმნიან (ნახ.9).

ფუნქცია

- ციტოპლაზმური ნაკადის აღმოცენება; ვეზიკულების და მიტოქონდრიების ტრანსპორტი (მოტორული ცილების მეშვეობით);
- მიტოზური ან მეიოზური თითისტარის ძაფების ფორმირება უჯრედის გაყოფის დროს;
- ცენტრიოლების, ბაზალური გრანულების, წამწამებისა და შოლტის ცენტრალური სტრუქტურების ფორმირება.

ციტოპლაზმური ფილამენტები სხვადასხვა ზომის ულტრათხელი ცილოვანი მკვრივი ძაფის მაგვარი სტრუქტურებია.

ზომების მიხედვით არჩევენ:

1. მიკროფილამენტებს - წვრილი ფილამენტები, რომელთა დიამეტრი 4-6 ნმ-ია; ლოკალიზებულია პლაზმურ მემბრანასთან სიახლოვეში, ძირითადად ცილა აქტინს შეიცავენ;
2. შუალედური ფილამენტები - დიამეტრი 9-11 ნმ, სხვადასხვა ცილითაა წარმოდგენილი.

ფუნქცია

მონაწილეობენ როგორც თვით უჯრედების, ასევე უჯრედშიდა კომპონენტების გადაადგილებაში.

ცენტროსომა (უჯრედული ცენტრი):

- მდებარეობეს ბირთვთან სიახლოვეში; შედგება ორი ცილინდრული ფორმის ცენტრიოლისგან, რომლებიც ცენტროსფერითაა გარშემორტყმული; ერთად განლაგებულ ცენტრიოლებს დიპლოსომა ეწოდება;
- უჯრედის გაყოფისას ცენტრიოლები თითისტარის პოლუსებზე ლაგდება;
- შეიცავს პარალელურად განლაგებული მიკრომილაკების ცხრა ტრიპლეტს.

ფუნქცია

უჯრედული გაყოფის დროს ცენტრიოლები მონაწილეობენ თითისტარას მიკრომილაკების ფორმირებაში, რომლებიც ქრომოსომთა განცალკევებასა და მოძრაობას უზრუნველყოფენ.

ბაზალური სხეულაკები ანუ კინეტოსომები

- გვხვდება ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედებში, რომლებსაც მოძრაობის ორგანოები (შოლტი, წამწამები) გააჩნიათ. მოძრაობის ორგანოების ფუძეში ლოკალიზებულ სფერულ სტრუქტურებს - ბაზალურ სხეულაკებს ანუ კინეტოსომებს უწოდებენ;
- ბაზალური სხეულაკები ანუ კინეტოსომები ჩაძირულია ექტოპლაზმაში; ისინი ცხრა ფიბრილისაგან შედგება.
- ყოველი ფიბრილა შედგება სამი მიკრომილაკისაგან, რომელთაგან ორი შოლტის ან წამწამის სტრუქტურაში გადადის.

წამწამები და შოლტები

- მრავალი ერთუჯრედიანი ორგანიზმისათვის, ასევე მრავალუჯრედიანების უჯრედებისათვის (წამწავოვანი ეპითელიოციტები, სპერმატოზოიდები) დამახასიათებელია ზედაპირული გამონაზარდების არსებობა. ასეთი გამონაზარდები შეიძლება წამწამების ან შოლტების სახით იყოს წარმოდგენილი.
- ზოგადად წამწამები სიგრძეში 2-10 μm, ხოლო დიამეტრში 0.5 μm აღწევს. ერთი უჯრედი მრავალი წამწამის მატარებელია.
- შოლტი წამწამებზე უფრო გრძელია (100-200 μm), თუმცა იგივე სტრუქტურა და დიამეტრი გააჩნია. ჩვეულებრივად უჯრედი ერთი ან ორი შოლტის მატარებელია.
- ორივე სახის სტრუქტურა პლაზმური მემბრანის გამონაზარდში მოქცეული მიკრომილაკებისაგან შედგება.
- ორივე ბაზალური სხეულაკიდან წარმოქმნება. ქიმიურად ცილა ტუბულინისა და დინეინისაგან შედგება, შეიცავს ატფ-ს.

ფუნქციები

- ორივე სტრუქტურა მოძრაობის ორგანოს წარმოადგენს.
- მოძრაობა მიიღწევა მიკრომილაკების სრიალის შედეგად.
- წამწამოვანი უჯრედები სასუნთქი გზებისა და მდედრობითი სქესის ორგანიზმების სასქესო ტრაქტის ორგანოებს ამოფენენ.
- წამწამების ტალღისებური მოძრაობის შედეგად სასუნთქი გზებიდან მცირე ზომის ნაწილაკების გამოდევნა ხდება; სასქესო გზებში წამწამოვანი ეპითელიუმი კვერცხუჯრედის გადაადგილებაში მონაწილეობს.
- შოლტი თვით უჯრედის გადაადგილებას ემსახურება (მაგ. სპერმატოზოიდი).

ენდოპლაზმური რეტიკულუმი (ენდოპლაზმური ბადე)

- ციტოპლაზმური მატრიქსი შედგება დახურული და ღია ღრუების ვრცელი სისტემისაგან. ღრუები მემბრანული მილების, ვეზიკულებისა და ბრტყელი ცისტერნების ბადეს წარმოქმნიან, რომელსაც ენდოპლაზმური რეტიკულუმი (ერ) ეწოდება.
- შიდა მემბრანები, როგორც ვარაუდობენ, პლაზმური მემბრანის ჩაზნექილობის შედეგად წარმოიშვნენ.
- ერ მემბრანები ერთი მხრიდან ბირთვის მემბრანას, ხოლო მეორე მხარეს კი პლაზმურ მემბრანას უკავშირდებიან. მემბრანებს შორის სივრცეს ერ სანათური ანუ სხვაგვარად ერ ცისტერნების სივრცე ეწოდება.
- გარეთა ზედაპირზე ერ მემბრანას გრანულარული სტრუქტურები - რიბოსომები უკავშირდება. რიბოსომებთან დაკავშირებულ ერ-ს გრანულარული ანუ ხორკლიანი ენდოპლაზმური რეტიკულუმი ეწოდება.
- გარკვეულ უბნებში ერ მემბრანები რიბოსომებისგან თავისუფალია, ასეთ ერ-ს გლუვი ენდოპლაზმური ბადე ეწოდება.

ხორკლიანი ერ (გრანულარული ერ)

კარგად არის გამოხატული უჯრედებში, რომლებისთვისაც აქტიური ცილის სინთეზია დამახასიათებელი.

ფუნქცია

ცილების სინთეზი, მათი მოდიფიცირება და ცისტერნების გავლით უჯრედის სხვადასხვა ნაწილებში გადატანა; მემბრანების წარმოქმნა.

გლუვი ერ (აგრანულარული ერ)

გლუვი ენდოპლაზმური ბადის ფერმენტები მონაწილეობენ ლიპიდების, ფოსფოლიპიდების, ცხიმოვანი მჟავების და სტეროიდების სინთეზში. ამასთან დაკავშირებით გლუვი ერ ჭარბობს კუჭქვეშა ჯირკვლის და ღვიძლის უჯრედებში.

ფუნქცია

მონაწილეობს ნახშირწყლების მეტაბოლიზმში, ლიპიდების სინთეზში, სატრანსპორტო ვეზიკულების ფორმირებაში, რომელთა მეშვეობით ცილები და ლიპიდები გოლჯის კომპლექსში გადაიტანება.

გოლჯის კომპლექსი (გკ)

- გოლჯის კომპლექსი ანუ გოლჯის აპარატი ციტოპლაზმურ მატრიქსში ლოკალიზებული, მემბრანით შემოსაზღვრული, პარალელურად განლაგებული, გაბრტყელებული და ერ-თან ასოცირებული ფირფიტების და მათთან დაკავშირებული ბუშტუკების სისტემას წარმოადგენს.
- გოლჯის კომპლექსი ლამელების, მილების, ვეზიკულებისა და ვაკუოლებისაგან შედგება.

- მცენარეულ უჯრედებში გკ-ს დიქტიოსომა ეწოდება. უჯრედული გაყოფის დროს დიქტიოსომებში უჯრედული კედლის კომპონენტების სინთეზი მიმდინარეობს.

ფუნქცია

რიბოსომებში სინთეზირებული და ერ-ის მეშვეობით ტრანსპორტირებული ცილების შენახვა და მოდიფიცირება; ცილების სეგრეგაცია სამ სატრანსპორტო ნაკადად (ლიზოსომური ნაკადი, კონსტიტუციური ეგზოციტოზი, ინდუცირებული სეკრეცია); გლიკოკალიქსის კომპონენტების სინთეზი; გლიკოზამინოგლიკანების სინთეზი.

ლიზოსომები

ცხოველური უჯრედების ციტოპლაზმაში გვხდება მცირე ზომის სფერული ან არასწორი ფორმის მემბრანული ვეზიკულები, რომლებსაც ლიზოსომები ეწოდება. ისინი მომნელებელ ფერმენტებს შეიცავენ და, მაშასადამე ლიზისში მონაწილეობენ, საიდანაც მათი სახელწოდება - ლიზოსომები ანუ ლიზისური სხეულაკები გამომდინარეობს. ლიზოსომებისთვის შიდა არის მჟავური რეაქციაა დამახასიათებელი.

ფუნქციის მიხედვით არჩევენ ხუთი ტიპის ლიზოსომებს. ესენია: პირველადი ლიზოსომები, მეორადი ლიზოსომები, ნარჩენი სხეულაკები, აუტოფაგოსომები და მულტივეზიკულური სხეულაკები (ნახ.10).

პირველადი ლიზოსომები გოლჯის აპარატში წარმოიქმნებიან. ეს მცირე ზომის ლიზოსომებია, რომლებიც შეიცავენ ერ რიბოსომებზე სინთეზირებულ ფერმენტებს.

მეორადი ლიზოსომები ჰეტეროფაგოსომებს ანუ მომნელებელ ვაკუოლებს წარმოადგენენ, რომლებიც უცხო სხეულაკების ენდოციტოზის ან პინოციტოზის შედეგად მიიღება. შთანთქმული მასალა აქტიური ჰიდროლიზური ფერმენტების მეშვეობით მოინელება.

ნარჩენი სხეულაკები წარმოიქმნება არასრული მონელების დროს. ისინი უმარტივესების უმრავლესობაში გვხდება. სხვა შემთხვევებში მათი დაგროვება გარკვეულ როლს თამაშობს დაბერების პროცესში. ნარჩენი სხეულაკების წარმოქმნა ზოგიერთი ფერმენტის ნაკლებობით და ფოსფოლიპიდების აკუმულაციითაა გამოწვეული, რაც მწვავე პათოლოგიური პროცესების მიზეზიც კი შეიძლება გახდეს.

აუტოფაგოსომა ეს არის ლიზოსომა, რომელიც საკუთრივ უჯრედის ნაწილს მოინელებს.

მულტივეზიკულური სხეულაკები ერთმაგი მემბრანით შემოსაზღვრული სტრუქტურებია, რომლების შიგნით უფრო მცირე ზომის ვეზიკულებია. წარმოიქმნებიან მიკროაუტოფაგიის მსგავსი პროცესის შედეგად, თუმცა გარედან შემოსულ მასალას შეიცავენ (მაგ. გარეთა მემბრანის დეგრადირებულ რეცეპტორებს).

ფუნქციები

ა. ენდოციტოზი და მაკრომოლეკულების მონელება

ჰიდროლიზის დაწყებისას ენდოსომებში pH-ის მნიშვნელობა 6-ს აღწევს, ხოლო ჰიდროლიზის დასრულებისას 5-მდე მცირდება, რაც ყველა უჯრედისთვისაა დამახასიათებელი.

ბ. ფაგოციტოზი ანუ უცხო ნაწილაკების მონელება

დიდი ზომის ნაწილაკები და მიკროორგანიზმები უჯრედში ფაგოციტოზის შედეგად ხვდება. უჯრედის მიერ ნაწილაკების შთანთქმის დროს ხდება ინვაგინაცია, ჩაზნექილი უბანი გადაიზონრება, მოსწყდება გარეთა პლაზმურ მემბრანას და უჯრედშიდა ტომსიკას წარმოქმნის, რომელიც ფაგოსომის სახელწოდებითაა ცნობილი.

გ. აუტოფაგია ანუ უჯრედშიდა სტრუქტურების მონელება

ლიზოსომის მიერ საკუთარი უჯრედის სტრუქტურების მონელება. მაგალითი - თავკომბალას კუდის დეგენერაცია (ლიზოსომები ფერმენტ კატეპსინს შეიცავენ).

დ. უჯრედული მონელება

როდესაც უჯრედი კვდება, ლიზოსომური მემბრანა ირღვევა, რის შედეგადაც ლიზოსომური ფერმენტები გარეთ გამოდიან. გათავისუფლებული ფერმენტები მკვდარ უჯრედს ინელებენ.

ე. გარეუჯრედული მონელება

მაგალითი - სპერმატოზოიდი, რომელიც არღვევს კვერცხუჯრედის დამცავ გარსებს.

ციტოპლაზმური ვაკუოლები

- სხავდასხვა ზომის სითხით ამოვსებული, ღრუ სტრუქტურები;
- განსაკუთრებით კარგად მცენარეულ უჯრედებშია გამოხატული;
- მცენარეების და სოკოების ვაკუოლები უჯრედის მოცულობის 30-90% იკავებენ;
- მცენარეული უჯრედის ვაკუოლი შემოსაზღვრულია ერთშრიანი ნახევრად-გამტარი მემბრანით - ტონოპლასტით;
- ცხოველური უჯრედების ვაკუოლები ლიპოპროტეინული ბუნების მემბრანებშია მოქცეული.

ფუნქცია

შაქრების, ცილების და სხვა პროდუქტების შენახვა; უჯრედის ზომების გაზრდა; ტურგორის კონტროლი.

მიკროსხეულაკები (პეროქსისომები)

საფუარების, უმდაბლესების და ზოგიერთი სხვა უჯრედის ციტოპლაზმური მატრიქსი შეიცავს სფერულ მემბრანულ ნაწილაკებს, რომელთა დიამეტრი 0.3μm – 0.5 μm აღწევს.

ფუნქცია

წყალბადის პეროქსიდის მეტაბოლიზმი.

რიბოსომები

- რიბოსომები მცირე ზომის სფერული სტრუქტურებია, რომლებიც უმეტესად გრანულარული ანუ ხორკლიანი ენდოპლაზმური ბადის მემბრანებთან არიან დაკავშირებულნი.
- რიბოსომების წარმოქმნა ბირთვაკში ხდება; ისინი რრნმ-ისა და რიბოსომული ცილებისაგან შედგებიან.
- ყოველი რიბოსომა შედგება ორი სუბერთეულისაგან, რომლებსაც მცირე (40S) და დიდი (60S) სუბერთეული ეწოდება.
- რიბოსომები ერ-ს დიდი 60S სუბერთეულის მეშვეობით უკავშირდებიან;
- მცირე (40S) სუბერთეული „ქუდის“ მსგავსად მოთავსებულია დიდ სუბერთეულზე.
- რიბოსომები სამი ტიპის რნმ-ს შეიცავენ. ესენია: 5S, 18S და 28S რიბოსომული რნმ (რრნმ).
- 28S და 5S რრნმ დიდი, ხოლო 18S რრნმ მცირე სუბერთეულის შემადგენლობაში შედის.

ფუნქცია

ცილის სინტეზი

მიტოქონდრიები

- უჯრედების უმეტესობაში მიტოქონდრიები ციტოპლაზმაში ლოკალიზებული, დიდი ზომის მრგვალი ან ჩხირის ფორმის სტრუქტურებია.
- მიტოქონდრია ორმაგი ლიპოპროტეინული მემბრანითაა შემოსაზღვრული;
- გარეთა მემბრანა შიგნითა მემბრანის ირგვლივ ჩანთის მაგვარ სტრუქტურას წარმოქმნის.
- შიგნითა მემბრანა მიტოქონდრიას ღრუში მრავალ ნაკეცს წარმოქმნის; ამ ნაკეცებს კრისტები ეწოდება.
- გარეთა და შიგნითა მემბრანებს შორის სივრცე ბლანტი მიტოქონდრიული მატრიქსით არის ამოვსებული.
- გარეთა და შიგნითა მემბრანა, ასევე მატრიქსი დიდი რაოდენობით ოქსიდატურ ფერმენტებს და კოფერმენტებს შეიცავს (ნახ.11).

ფუნქციები:

- რესპირაცია;
- ჟანგვითი რეაქციების განხორციელება;
- ენერგიის გამომუშავება;
- ვინაიდან მიტოქონდრიები შეიცავენ დნმ-ის წრიულ მოლეკულას და რიბოსომებს, მათში ზოგიერთი ცილის სინთეზი მიმდინარეობს.

პლასტიდები

- ჩვეულებრივად გვხდება მცენარეულ უჯრედებში;
- უფერული ან შეფერილია;

- უფერულ პლასტიდებს ლეიკოპლასტიდები ანუ ლეიკოპლასტები ეწოდება;
- შეფერილ პლასტიდებს ქრომოპლასტიდები ანუ ქრომოპლასტები ეწოდება.

ფუნქცია

სახამებლის და ლიპიდების აკუმულირება.

ქლოროპლასტები

- ქრომოპლასტებს, რომლებიც პიგმენტ ქლოროფილს შეიცავენ, ქლოროპლასტები ეწოდება (ნახ.12);
- ქლოროპლასტები დნმ-ს და ცილის სინთეზის აპარატის ყველა კომპონენტს შეიცავენ.

ფუნქცია

ნახშირწყლების ბიოსინთეზი ფოტოსინთეზის პროცესში.

ენდოსომები

- ენდოსომები ჰეტეროგენული ბუნების ორგანელებია, რომლებიც მემბრანით დაფარულ მილებსა და ვეზიკულებს წარმოადგენენ;
- წარმოიქმნებიან ენდოციტოზის დროს;
- ახასიათებთ შიგთავსის მჟავე რეაქცია (pH 5.0-დან 5.5-მდე მერყეობს).

ფუნქცია

- მონაწილეობენ უჯრედშიდა ტრანსპორტში;
- მონაწილეობენ ლიგანდებისა და რეცეპტორების დახარისხებაში.

III. ბირთვი

- უმეტესად უჯრედის ცენტრშია ლოკალიზებული, თუმცა შესაძლებელია ბირთვის ექსცენტრული ლოკალიზაციაც;
- უმეტესად სფერული ან ოვალური ფორმისაა;
- შეიცავს მემკვიდრულ მასალას დნმ-ის სახით;
- შედგება სამი ნაწილისაგან, ესენია:
  i. ბირთვული მემბრანა;
  ii. ნუკლეოპლაზმა და ქრომატინი;
  iii. ბირთვაკი.

(i) ბირთვული მემბრანა

- ბირთვი შემოსაზღვრულია ორმაგი ლიპოპროტეინული ბუნების მემბრანით, რომელსაც ბირთვული მემბრანა (ნუკლეოლემა) ეწოდება;
- ბირთვულ მემბრანაში მრავალი ფორაა, რომელთა მეშვეობით ხორციელდება ნივთიერებათა ტრანსპორტი ბირთვსა და ციტოპლაზმას შორის.

ფუნქციები

- მექანიკური საყრდენი;
- სტაბილური ფორმის შენარჩუნება;
- ნივთიერებათა ტრანსპორტი.

(ii) ნუკლეოპლაზმა და ქრომატინი

- ბირთვული მემბრანის შიგნით ბირთვი შეიცავს გელისებრ კოლოიდს - ნუკლეოპლაზმას ანუ კარიოპლაზმას;
- ნუკლეოპლაზმა შეიცავს ფოსფორს, რიბოზებს, ცილებს, ნუკლეოტიდებს;
- ნუკლეოპლაზმაში განთავსებულია ქრომატინი;
- ქრომატინი დნმ-ისა და ცილების კომპლექსს წარმოადგენს; ინტერფაზაში ქრომატინი ეუქრომატინის (დესპირალიზებულია) დაჰეტეროქრომატინის(სპირალიზებული)სახითაწარმოდგენილი;
- უჯრედის გაყოფის წინ ქრომატინი განიცდის კონდენსაციას და ქრომოსომებს წარმოქმნის;
- ქრომოსომები კონდენსირებული სპირალიზებური ძაფები ან ჩხირისებრი სხეულაკებია, რომელთა რაოდენობა კონკრეტული სახეობის უჯრედებში მუდმივ რიცხვს წარმოადგენს.

(iii) ბირთვაკი

- ნუცლეოპლაზმა შეიცავს კარგად გამოხატულ, მუქად შეღებილ სფერულ სტრუქტურას, რომელსაც ბირთვაკი ეწოდება;
- ქიმიურად ბირთვაკი დიდი რაოდენობით რიბოსომულ ცილებს და რიბოსომულ რნმ-ს შეიცავს;
- ბირთვში შეიძლება ერთი ან რამდენიმე ბირთვაკი იყოს.

ფუნქციები

- რრნმ-ის ტრანსკრიპცია;
- რიბოსომების ბიოგენეზი.

2.3 ვირუსები და მათი უნიკალურობა

ვირუსები ინფექციური ნაწილაკებია, რომლებიც ცილოვან კაპსიდში შეფუთულ დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულას (ვირუსულ გენომს) შეიცავენ. ზოგიერთ შემთხვევაში კაპსიდი დაფარულია ბილიპიდური მემბრანით. როგორც ვირუსული გენომის სტრუქტურა, ასევე ვირუსების გამრავლების გზები დიდი მრავალფეროვნებით ხასიათდება. ვირუსი მრავლდება მხოლოდ მასპინძელი უჯრედის შიგნით, რომლის სარეპლიკაციო სისტემა ვირუსის რეპლიკაციაზე გადაირთვება. ვირუსული ინფექციის ჩვეული შედეგი ინფიცირებული უჯრედების ლიზისი და ვირუსული ნაწილაკების გათავისუფლებაა. ვარაუდობენ, რომ ზოგიერთი ვირუსი წარმოიშვა პლაზმიდებისგან, რომლებსაც დნმ-ის ან რნმ-ის მოლეკულების თვითრეპლიკაცია ახასიათებდა, თუმცა არ ჰქონდათ მათი ცილებში შეფუთვის უნარი.

ვირუსები პარაზიტული ორგანიზმებია, რომლებიც ცოცხალსა და არაცოცხალს შორის ადგილს იკავებენ. როდესაც ვირუსები უჯრედის შიგნით ბინადრობენ, ისინი აქტიურები ხდებიან - მათ სუნთქვის, რეპროდუქციის, ზრდის და მოძრაობის უნარი აქვთ. როდესაც ვირუსები უჯრედის გარეთ არიან, ისინი არააქტიურ მდგომარეობას ინარჩუნებენ, არ იკვებებიან, არ სუნთქავენ, არ მრავლდებიან, არ იზრდებიან და არც მოძრაობენ.

მაშასადამე, უჯრედის შიგნით ვირუსები ცოცხალ ორგანიზმებს მოგვაგონებენ, ხოლო უჯრედის გარეთ ისინი არაცოცხალი ბუნებისაა.

ცხრილი 2. პროკარიოტული და ეუკარიოტული ორგანიზმების შედარება

	პროკარიოტები	ეუკარიოტები
ორგანიზმები	ბაქტერიები და ციანობაქტერიები	უმარტივესები, სოკოები, მცენარეები და ცხოველები
უჯრედის ზომა	საშუალოდ 1-10 მკმ სიგრძეში	საშუალოდ 5-100 მკმ სიგრძეში
მეტაბოლიზმი	ანაერობული ან აერობული	აერობული
ორგანელები	ცოტა ან საერთოდ არ არის	ბირთვი, მიტოქონდრიები, ქლოროპლასტები, ენდოპლაზმური რეტიკულუმი და ა.შ.
დნმ	ციტოპლაზმაში მოთავსებული რგოლური დნმ-ის მოლეკულა	ძალიან გრძელი გაშლილი დნმ მოლეკულები, რომლებიც ბევრ არაკოდირებად უბანს შეიცავენ და ბირთვული გარსითაა შემოსაზღვრული
რნმ და ცილები	რნმ-ისა და ცილების სინთეზი ერთსა და იგივე კომპარტმენტში მიმდინარეობს	რნმ-ის სინთეზი და პროცესინგი მიმდინარეობს ბირთვში, მაშინ როდესაც ცილების სინთეზი ციტოპლაზმაში ხდება
ციტოპლაზმა	ციტოჩონჩხი წარმოდგენილი არ არის, ასევე არ შეინიშნება ციტოპლაზმური ნაკადი, ენდოციტოზი და ეგზოციტოზი	ციტოჩონჩხი ცილოვანი ფილამენტებითაა წარმოდგენილი. დამახასიათებელია ციტოპლაზმის ნაკადი, ენდოციტოზი და ეგზოციტოზი
უჯრედის გაყოფა	ქრომოსომების დაშორება ხდება მათი პლაზმურ მემბრანასთან დაკავშირების შედეგად	ქრომოსომების დაშორება ხდება ციტოჩონჩხის თითისტარას აპარატის მეშვეობით
უჯრედის ორგანიზაცია	ძირითადად ერთუჯრედიანი ორგანიზმებია	ძირითადად მრავალუჯრედიანი ორგანიზმებია, დამახასიათებელია უჯრედების მრავალი სხვადასხვა ტიპი.

ვირუსები როგორც მობილური გენეტიკური ელემენტები

თავდაპირველად ითვლებოდა, რომ ვირუსები პათოლოგის გამომწვევი აგენტებია, რომლებიც მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში მრავლდებიან. მოგვიანებით აღმოჩნდა, რომ ვირუსს ერთი უჯრედიდან მეორე უჯრედში გადაადგილება შეუძლია. მოსაზრება, რომ ვირუსები და გენები ერთი და იგივე ბუნების მატარებლები არიან, ბაქტერიოფაგებზე (ბაქტერიების ვირუსი) ცდებით დამტკიცდა. ცდებში ნაჩვენები იქნა, რომ ბაქტერიულ მასპინძელ უჯრედში შეაღწევს T4 ფაგის არა ცილა, არამედ დნმ, რომელიც რეპლიკაციის პროცესს რთავს, რასაც მოჰყვება ინფიცირებულ უჯრედში ვირუსის ასეულობით ახალი კოპიის წარმოქმნა. ამ დაკვირვებების საფუძველზე გამოიკვეთა იდეა, რომ ვირუსები გენეტიკური ელემენტებია. აღმოჩნდა აგრეთვე, რომ ვირუსის ნუკლეინის მჟავა, მისი შეფუთვის სტრუქტურა, მასპინძელ უჯრედში შეღწევის გზები და უჯრედშიდა რეპლიკაციის მექანიზმები მრავალფეროვანია და სხვადასხვა ვირუსებში განსხვავებულია.

ვირუსის სტრუქტურა

ვირუსს აქვს ცენტრალური კორი - **ნუკლეინის მჟავა**, რომელიც **კაპსიდით** არის დაფარული. ნუკლეინის მჟავა შეიძლება როგორც **დნმ**-ით, ასევე **რნმ**-ით იყოს წარმოდგენილი. როდესაც ვირუსის ნუკლეინის მჟავას დნმ წარმოადგენს, ვირუსს **დნმ-ვირუსი** ეწოდება; შესაბამისად, თუ ნუკლეინის მჟავა რნმ-ია, მაშინ ვირუსს **რნმ-ვირუსი** ეწოდება. ვირუსული ნიკლეინის მჟავა შეიძლება ან **ერთ**-, ან **ორჯაჭვიანი** იყოს. დნმ-ის ორმაგი სპირალის უპირატესობაა უფრო მაღალი სტაბილურობა და ადვილი რეპარაცია. თუ რომელიმე ერთი ნუკლეოტიდური ჯაჭვი შემთხვევით დაზიანდება, კომპლემენტარული ჯაჭვი ამ დაზიანების კორექციის საშუალებას იძლევა. ვირუსული გენომი შეიძლება იყოს ერთჯაჭვიანი რნმ, რნმ-ს ორჯაჭვიანი სპირალი, რგოლური ან ხაზოვანი ერთჯაჭვიანი დნმ-ის მოლეკულა.

ვირუსის გარეთა საფარველს ცილოვანი კაპსიდი ან მემბრანული გარსი წარმოადგენს.

კაპსიდი ცილოვანი ბუნებისაა. ის შედგება მრავალი ცილოვანი სუბერთეულისაგან, რომლებსაც კაპსომერები ეწოდება. სხვადასხვა ვირუსებში კაპსომერების ფორმა განსხვავებულია (ნახ.13). კაპსიდის ფუნქციაა დაიცვას უჯრედის გარეთ მყოფი ვირუსი. მცენარეულ ვირუსებს კაპსიდი არ გააჩნია.

ვირუსული გენომი აკოდირებს ფერმენტებს, რომლებიც ნუკლეინის მჟავის რეპლიკაციაში მონაწილეობენ.

ვირუსული გენომის რეპლიკაცია საჭიროებს ფერმენტების უნიკალურ ნაკრებს, ამიტომ ის არა მხოლოდ კაპსიდის ცილებს, არამედ ვირუსული ნუკლეინის მჟავის რეპლიკაციისათვის საჭირო ფერმენტების კოდირებასაც ახდენს.

დნმ და რნმ-ვირუსების რეპლიკაცია ხორციელდება კომპლემენტარული ჯაჭვის წარმოქმნის გზით.

კომპლემენტარული ჯაჭვის სინთეზს სპეციფიკური რნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზები აკატალიზებენ.

კლასიფიკაცია

ზოგადად ვირუსები სამ ჯგუფად იყოფა:

ა. მცენარეული ვირუსები
ბ. ცხოველური ვირუსები
გ. ბაქტერიოფაგები

ა. მცენარეული ვირუსები

მცენარეული ვირუსების გენეტიკური მასალა რნმ-ით არის წარმოდგენილი. მაგალითი - თამბაქოს მოზაიკის ვირუსი (თმვ, Tobacco Mosaic Virus (TMV)).

ბ. ცხოველური ვირუსები

ცხოველური ვირუსების გენეტიკური მასალა დნმ-ით არის წარმოდგენილი. მაგალითი - ყვავილის გამომწვევი ვირუსი, გრიპის გამომწვევი ვირუსი, წითურას ვირუსი.

გ. ბაქტერიოფაგები

ბაქტერიოფაგები ბაქტერიებში ბინადრობენ, მათ ასევე ბაქტერიულ ვირუსებს უწოდებენ. მაგალითი - T_4 ბაქტერიოფაგი.

ვირუსის უჯრედში შეღწევა სემილიკის ტყის ვირუსის მაგალითზე

ყველა ვირუსს თავის გენომში ნუკლეინის მჟავის შეზღუდული რაოდენობა გააჩნია, ასე რომ ვირუსები პარაზიტობენ მასპინძელ უჯრედებზე და თავის სასარგებლოდ იყენებენ უჯრედის სასიგნალო სისტემებს რეპროდუქციის თითქმის ყველა ეტაპზე. იქიდან გამომდინარე, რომ ინფიცირების დროს დიდი რაოდენობით სინთეზირებული ვირუსული პროდუქტები სასიცოცხლო ციკლის მანძილზე თანმიმდევრულად გადაინაცვლებს მასპინძელი უჯრედის კომპარტმენტებს შორის, ვირუსით ინფიცირებული უჯრედი ხელსაყრელი მოდელია უჯრედშიდა ტრანსპორტის შესასწავლად. ვირუსით ინფიცირებული უჯრედის გამოყენებით ასევე შესაძლებელია იმის დადგენა, თუ როგორ ხდება ძირითადი ბიოსინთეზური რეაქციების განხორციელება უჯრედის სხვადასხვა კომპარტმენტში.

გარსის მქონე ცხოველური ვირუსები, რომელთა გენომი შემოსაზღვრულია ორმაგი ლიპიდური მემბრანით, განსაკუთრებით დახვეწილად იყენებენ უჯრედულ კომპარტმენტალიზაციას. ასეთი ვირუსის სასიცოცხლო ციკლის შესასწავლად განვიხილოთ სემილიკის ტყის ვირუსი (ნახ.14).

სემილიკის ტყის ვირუსის გენომი წარმოდგენილია ერთჯაჭვიანი რნმ-ით, რომელიც C-ცილის მრავალი კოპიისგან შემდგარ იკოსაედრულ (20-წახნაგოვან) კაპსიდშია მოთავსებული. ნულეოკაპსიდი (გენომი + კაპსიდი) შემოსაზღვრულია ბილიპიდური შრით, რომელიც სამი ტიპის პოლიპეპტიდს შეიცავს (ყოველი მათგანი ვირუსული რნმ-ით არის კოდირებული). გარსის ცილები წარმოქმნიან ჰეტეროტრიმერებს, რომლებიც განჭოლავენ ლიპიდურ ბიშრეს და ურთიერთქმედებენ ნუკლეოკაპსიდის C-ცილასთან. გარსის ცილების გლიკოზილირებული ნაწილები ყოველთვის ორმაგი ლიპიდური შრის გარეთ მდებარეობს. ყოველი ტრიმერი ვირუსის გარეთა ზედაპირზე წვეტიან გამონაზარდს წარმოქმნის, რომლის დანახვა ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებითაა შესაძლებელი. ინფიცირება იწყება, როდესაც ვირუსის გარსის ცილა მასპინძელი უჯრედის პლაზმური მემბრანის რეცეპტორს უკავშირდება. ამის შემდეგ ვირუსი გამოიყენებს რა უჯრედის ნორმალურ ენდოციტოზურ სასიგნალო გზას, შეაღწევს მასში რეცეპტორ-დამოკიდებული ენდოციტოზის გზით პირველადი ენდოსომების შემადგენლობაში. შემდგომ ეტაპზე იმის ნაცვლად, რომ მოხდეს ვირუსის გადატანა ენდოსომებიდან ლიზოსომებში, ვირუსი გამოდის ენდოსომიდან თავისი გარსის ერთ-ერთი ცილის სპეციფიკური თვისებების გამო. ენდოსომის მჟავურ გარემოში ეს ცილა იწვევს ვირუსის გარსის ენდოსომის მემბრანასთან შერწყმას, რასაც შიშველი ნუკლეოკაპსიდის ციტოზოლში გამოყოფა მოჰყვება. ციტოზოლში ნუკლეოკაპსიდი „შიშვლდება“ და გამოყოფს ვირუსულ რნმ-ს, რომელიც ტრანსლირდება მასპინძელი უჯრედის რიბოსომებზე ვირუსული რნმ-პოლიმერაზის წარმოქმნით. ეს, თავის მხრივ, იწვევს ვირუსული რნმ-ის მრავალი ასლის წარმოქმნას. ახლადსინთეზირებული რნმ გამოიყენება ვირუსის სტრუქტურული ცილების - კაპსიდის C-ცილის და გარსის სხვა ცილების სინთეზისათვის.

ახლად სინთეზირებული კაპსიდი და გარსის ცილები ციტოპლაზმაში სხვადასხვა გზით გადაადგილდებიან. გარსის ცილები, როგორც პლაზმური მემბრანის ცილები, ენდოპლაზმური ბადის რიბოსომებზე სინთეზირდებიან. ამის საწინააღმდეგოდ, კაპსიდის ცილები, ისევე, როგორც უჯრედის ციტოზოლის ცილები, თავისუფალ რიბოსომებზე სინთეზირდებიან. კაპსიდის ახლად სინთეზირებული ცილები უკავშირდებიან ასევე ახლად რეპლიცირებულ ვირუსულ რნმ-ს და ახალ ნუკლოკაპსიდებს წარმოქმნიან. გარსის ცილები კი ჯერ ჩაშენდებიან ენდოპლაზმური რეტიკულუმის მემბრანაში, სადაც მათი გლიკოზილირება ხდება, და შემდგომ გოლჯის აპარატში გადაინაცვლებენ. გოლჯის აპარატიდან ისინი საბოლოოდ პლაზმური მემბრანისაკენ გადაიტანება.

ვირუსული ნიკლეოკაპსიდის და გარსის ცილების საბოლოო გაერთიანება პლაზმურ მემბრანაზე ხდება. გარსის ცილების

კლასტერებთან სპეციფიკური ურთიერთქმედების შედეგად ნუკლეოკაპსიდი წარმომქნის „კვირტს“, რომლის გარსი შეიცავს მასპინძელი უჯრედის ლიპიდებში ჩაძირულ გარსის ცილებს. საბოლოოდ, კვირტი გამოეყოფა მემბრანას და მოხდება თავისუფალი ვირუსის უჯრედიდან გამოყოფა. გარსის ცილების ნუკლეოკაპსიდის ირგვლივ კლასტერებში ორგანიზება „კვირტის“ წარმოქმნის დროს გამორიცხავს მასპინძელი უჯრედის პლაზმური მემბრანის ცილების ვირუსულ ნაწილაკში ჩართვას.

2.4 უჯრედის ფუნქციები

პლაზმური მემბრანის ფუნქციები შემდეგნაირად შეიძლება დავაჯგუფოთ:

- ენდოციტოზი და ეგზოციტოზი;
- ქემოტაქსისი;
- უჯრედული მოძრაობა;
- უჯრედული ადჰეზია.

ენდოციტოზი და ეგზოციტოზი

ენდოციტოზი

მასალის გადატანა გარე გარემოდან უჯრედის შიგნით ხორციელდება ვეზიკულების ფორმირების, მათი უჯრედის შიგნით ჩაზნექვის, გადაზონრვის და ლიზოსომისკენ ტრანსპორტირების შედეგად. ამ პროცესს ენდოციტოზი ეწოდება. ენდოციტოზის პროცესში წარმოქმნილ ვეზიკულებს, რომელთა შიგნით მყარი ან თხევადი მასალაა მოთავსებული, ენდოსომები ეწოდება. თუ შთანთქმული მასალა დიდი ზომისაა (250 ნმ-ზე დიდი დიამეტრის მქონე), მაშინ ასეთ ვეზიკულებს ფაგოსომები ეწოდება.

ენდოციტოზის ორი ნაირსახეობა არსებობს. ესენია:

ა) ფაგოციტოზი;

ბ) პინოციტოზი.

ა) ფაგოციტოზი. ფაგოციტოზი ენდოციტოზის სპეციფიკური ფორმაა, რომლის დროსაც მსხვილი ნაწილაკების მონელება ფაგოსომების წარმოქმნის გზით სპეციალიზირებულ ფაგოციტურ უჯრედებში მიმდინარეობს.

მაგალითი

ამება. მონელების დროს საკვების ირგვლივ წარმოიქმნება კლატრინით ამოფენილი ჯიბის მაგვარი ფოსო, რომელიც შემდგომ იხურება და წარმოიქმნება ვეზიკულა, რომელიც მოსწყდება გარეთა მემბრანას და განაგრძობს მოძრაობას ლიზოსომოს მიმართულებით ან ბრუნდება უკან პლაზმური მემბრანისაკენ.

ბ) პინოციტოზი. პინოციტოზი ენდოციტოზის სპეციფიკური ფორმაა, რომლის დროსაც ხდება ისეთი თხევადი მასალის შთანთქმა, რომელიც ვერ გაივლის პლაზმურ მემბრანაში.

მაგალითი

ამება. პლაზმური მემბრანა შიგნით იკეცება და წარმოქმნის ერთგვარ ჯიბეს, რომელშიც თხევადი წვეთი თავსდება. ჯიბე ღრმავდება და საბოლოოდ გადაიზონრება **პინოციტოზური ვაკუოლის** ანუ **პინოსომის** წარმოქმნით. პინოსომა უჯრედის შიგნით გადაადგილდება, სადაც ის ლიზოსომას ერწყმის, მისი შიგთავსი მოინელება უჯრედის მიერ და მონელებული მასალა დიფუზიის გზით ციტოპლაზმაში გადადის. პინოციტოზის გზით უჯრედი ისეთ ხსნად მასალას შთანთქავს, როგორიცაა იონები, შაქრები, ცხიმოვანი მჟავები, ამინომჟავები და სხვა.

ეგზოციტოზი

ეგზოციტოზი ენდოციტოზის საწინააღმდეგო პროცესია, რომლის დროსაც უჯრედი თავის პროდუქტებს გარეთ გამოყოფს; ამ პროცესს ასევე „**უკუენდოციტოზი**“ ეწოდება.

მაგალითი

პანკრეასის უჯრედები და საოფლე ჯირკვლების უჯრედები. სეკრეტორული გრანულები გადაინაცვლებს უჯრედის შიგნითა ნაწილებიდან მემბრანის ზედაპირისაკენ, სადაც მოხდება მათი პლაზმურ მემბრანასთან შერწყმა და შიგთავსის უჯრედის გარეთ გამოყოფა. უმდაბლეს ცხოველებში, მაგალითად ამებაში და ქალამანაში, ეგზოციტოზის გზით მოუნელებელი საკვები ნივთიერებების გამოყოფა ხდება.

ქემოტაქსისი

ქემოტაქსისი განისაზღვრება როგორც უჯრედის მოძრაობა დიფუნდირებადი ქიმიური ნივთიერების გრადიენტის მიმართულებით. ქემოტაქსისის ერთ-ერთი მაგალითია სისხლის თეთრი უჯრედების (ნეიტროფილების) მოძრაობა ბაქტერიული ინფექციის კერისაკენ. ნეიტროფილების ზედაპირზე არსებობს რეცეპტორული ცილები, რომლებიც უჯრედებს საშუალებას აძლევს გამოავლინონ ბაქტერიული ცილების N-ფორმილ პეპტიდების დაბალი კონცენტრაცია.

ქემოტაქსისის კიდევ ერთ კარგად შესწავლილ მაგალითს წარმოადგენს სოკოს Dictyostelium discoideum მოძრაობა. ეს ეუკარიოტული ორგანიზმი ბინადრობს ტყეებში დამოუკიდებელი მოძრავი „ამების“ სახით, რომელიც ბაქტერიებით და საფუარებით იკვებება და ოპტიმალურ პირობებში რამდენიმე საათში ერთხელ იყოფა. საკვების ნაკლებობის პირობებში ამებები წყვეტენ გამრავლებას, ერთად იყრიან თავს და წარმოქმნიან თხელ, მრავალუჯრედიან ჭიის მაგვარ სხეულს, რომელიც ნელა მიცოცავს და გადაადგილებისას უკან ლორწოს ნაკვალევს ტოვებს. ამ ლორწოვანი მასის გადაადგილებისას იწყება უჯრედების აგრეგაცია. მისი დაწყებიდან 30 საათის შემდეგ წარმოიქმნება პატარა მცენარის მსგავსი სტრუქტურა, რომელიც ღეროსა და ნაყოფისგან შედგება. ეს უკანასკნელი მრავალ სპორას შეიცავს, რომლებსაც უკიდურეს

პირობებშიც კი ხანგრძლივი პერიოდით არსებობა შეუძლიათ. მხოლოდ ხელსაყრელ პირობებში სპორები თავისუფალ ამებებად გარდაიქმნებიან, რომლებიც სასიცოცხლო ციკლს თავიდან იწყებენ. დიქტიოსტელიუმის ამებების აგრეგაცია ქემოტაქსისის მექანიზმით ხორციელდება - ისინი „მოშიმშილე“ ამებების მიერ გამოყოფილი ციკლური ამფ-ს კონცენტრაციის მიმართულებით მიგრირებენ. ისევე როგორც ნეიტროფილები, ამებები იწყებენ მოძრაობას ატრაქტანტის მაღალი კონცენტრაციისაკენ. მიკროპიპეტის საშუალებით არეში ციკლური ამფ-ს ადგილობრივი შეტანის დროს ამებები გამოყოფენ აქტინის შემცველ გამონაზარდებს ზუსტად მიკროპიპეტის მიმართულებით.

უჯრედული მოძრაობა

ყველა ცოცხალი ორგანიზმი ახორციელებს სასიცოცხლო ფუნქციას - მოძრაობას, და ყველა უჯრედსა თუ უჯრედულ ორგანელაში ნივთიერებათა ტრანსპორტი მიმდინარეობს.

ცხრილი 3. სხვადასხვა ტიპის მოლეკულები და მათი შესაძლო ტრანსპორტი პლაზმურ მემბრანაში

N	მოლეკულის ტიპი	მაგალითები	სატრანსპორტო მექანიზმი
1	ჰიდროფობული მოლეკულები (არაპოლარული)	O_2, CO_2, N_2	სწრაფი დიფუზია
2	დაუმუხტავი მცირე ზომის პოლარული მოლეკულები	H_2O, შარდოვანა, გლიცეროლი	სწრაფი დიფუზია
3	დაუმუხტავი მსხვილი პოლარული მოლეკულები	გლუკოზა, საქაროზა	დიფუზია პრაქტიკულად არ ხდება. გადაადგილდებიან ფორებში გადამტანი ცილების მეშვეობით.
4	დამუხტული მოლეკულები (პოლარული)	H^+, Na^+, K^+, Ca^{2+} , Mg^{2+}, Cl^-	დიფუზია არ ხდება. გადაადგოლდებიან იონური არხების ან აქტიური ტრანსპორტის მეშვეობით.

დაუმუხტავი მსხვილი მოლეკულები და დამუხტული პოლარული მოლეკულები დიფუზიას არ განიცდიან. ისინი გადაადგილდებიან პლაზმურ მემბრანაში რეგულირებადი ფორების/იონური არხების ან საკუთრივ მემბრანის სატრანსპორტო ცილების ან ტუმბოების მეშვეობით. მსხვილი მაკრომოლეკულების გადადგილება ეგზოციტოზის ან ენდოცირტოზის გზით ხდება, რაც ვეზიკულების წარმოქმნის საშუალებით ხორციელდება და სხვანაირად „ვეზიკულური ტრანსპორტის" სახელწოდებითაა ცნობილი.

მემბრანული სატრანსპორტო ცილები ორი სახისაა:

(1) გადამტანი ცილები;

(2) არხების ცილები.

არსებობს მემბრანული ტრანსპორტის ორი ტიპი, ესენია:

(1) პასიური ტრანსპორტი (პასიური დიფუზია, გაიოლებული დიფუზია);

(2) აქტიური ტრანსპორტი.

მემბრანული აგზნებადობა შემდეგნაირად განისაზღვრება:

მემბრანული აგზნებადომა ეს არის უჯრედების პასუხი გარეთა და შიგნითა სტიმულზე, რომელიც მოიცავს კუნთების მოძრაობას და სწრაფ უჯრედშორის კომუნიკაციას. ასეთი კომუნიკაცია ხორციელდება აგზნებადი უჯრედების მემბრანებზე არსებული რეცეპტორული ცილების მეშვეობით. მაგალითი - ნერვული უჯრედები ანუ ნეირონები (გამოყოფენ ნეიროტრანსმიტერებს).

უჯრედული ადჰეზია

უჯრედები თავის სივრცით პოზიციას უჯრედშორის მატრიქსში ინარჩუნებენ უჯრედშორისი ადჰეზიის ხარჯზე, რომლის საფუძველი **უჯრედშორისი კონტაქტების** წარმოქმნაა. უჯრედშორისი ადჰეზია საფუძვლად უდევს ისეთ მოვლენას, როგორიცაა უჯრედების დახარისხება, რომლის დროსაც უჯრედების განსხვავებული ტიპები განიცდიან სეგრეგაციას და სპეციფიკურ უბნებს წარმოქმნიან (მაგალითი - განვითარებადი ემბრიონი).

უჯრედული დახარისხება პირველად **ტაუნსისა და ჰოლფრეტერის** მიერ იქნა აღწერილი 1955 წელს. მათ მოახდინეს იმის დემონსტრირება, რომ „ხერხემლიანების ჩანასახოვანი ორგანოების დისოცირებული უჯრედები განიცდიან რეასოციაციას და დახარისხებას, რის შედეგად წარმოიქმნება საწყისი სტრუქტურების მსგავსი წარმონაქმნები". ასე, ამფიბიის გასტრულა ტუტე არეში მოთავსებისას ცალკეულ უჯრედებად იშლება. სუსპენზირებული უჯრედები შემდგომში რეასოციაციას განიცდიან და ჩანასახოვან ფურცლებს - ექტოდერმას, ენტოდერმას და მეზოდერმას წარმოქმნიან. ერთმანეთში შერეული განსხვავებული ტიპის უჯრედების მასაში მსგავსი ტიპის უჯრედები ერთმანეთს უჯრედული ადჰეზიის შედეგად უკავშირდებიან, რასაც **შერჩევითი აფინურობით** ხსნიან.

უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები (უამ, cell adhesion molecules,CAMs)

უჯრედები ორგანიზმის მორფოგენეზის და დიფერენცირების დროს როგორც ერთმანეთთან, ასევე გარე გარემოსთან ურთიერთობენ. ასეთი ურთიერთობა უჯრედების ამოცნობისა და უჯრედების ადჰეზიის შედეგად ხორციელდება. შესაბამისად პროცესში ჩართულია:

1. უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები;
2. უჯრედების სუბსტრატთან დაკავშირების მოლეკულები;
3. უჯრედული კონტაქტების მოლეკულები.

უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები 3 ძირითადი კლასის რეცეპტორებს მოიცავენ:

i. **კადჰერინები** - მათი ადჰეზიის უნარი Ca^{++} იონებზეა დამოკიდებული;

ii. **იმუნოგლობულინების (Ig) სუპეროჯახი** - Ca^{++}-დამოუკიდებელი ადჰეზია; მოიცავს ასევე ნეირალურ (NCAM) და უჯრედშიდა ადჰეზიის მოლეკულებს (ICAM)

iii. **სელექტინები**

უჯრედების სუბსტრატთან დაკავშირების მოლეკულებს მიეკუთვნება რეცეპტორების კლასი - **ინტეგრინები.**

კადჰერინები. კალციუმ-დამოკიდებული გლიკოპროტეინებია, რომლებიც აუცილებელია უჯრედების სივრცითი ორგანიზაციისთვის. ძუძუმწოვრების ჩანასახებში სამი ტიპის კადჰერინებია წარმოდგენილი:

- E-კადჰერინები - ეპითელური კადჰერინები (უვომორულინი ან L-CAM);
- P-კადჰერინები - პლაცენტარული კადჰერინები;
- N-კადჰერინები - ნეირალური კადჰერინები.

სპეციფიკური უჯრედები, რომლებიც იგივე კადჰერინების მატარებელ უჯრედებს ამოიცნობენ, მათთან **ჰომოფილურ კავშირს** ამყარებენ. ასევე შესაძლებელია **ჰეტეროფილური დაკავშირება** გარეთა უჯრედული ლინკერული მილეკულების მეშვეობით.

კადჰერინების სტრუქტურაში 3 ძირითად უბანს არჩევენ, ესენია:

ა. 113 ამინომჟავის შემცველი უჯრედის გარეთა დომენი - NH2 ბოლო, რომელიც კალციუმს უკავშირდება, უჯრედების ამოცნობაში და დახარისხებაში მონაწილეობს;

ბ. ტრანსმემბრანული დომენი;

გ. ციტოპლაზმური დომენი, რომელიც სულ ცოტა 3 ციტოზოლურ ცილასთან - ალფა, ბეტა და გამა **კატენინებთან** ურთიერთქმედებს.

კალციუმის იონების თანდასწრებით კადჰერინების ციტოპლაზმური დომენი კატენინების მეშვეობით აქტინის ფილამენტებს უკავშირდება. კადჰერინების, კატენინებისა და აქტინის კლასტერიზაციის შედეგად სარტყელის მსგავსი შეწებების ზონა წარმოიქმნება, რომლის

ფუნქციაა უჯრედული ადჰეზია. კავშირის სრულყოფა თიროზინ-კინაზის აქტიურობით რეგულირდება. უჯრედშორისი ადჰეზია ასევე დესმოსობების მეშვეობით ხორციელდება, რაშიც 3 კალციუმ-დამოკიდებული ტრანსმემბრანული ცილა მონაწილეობს. ესენია: **დესმოგლეინ I, დესმოკოლინ I და დესმოკოლინ II.**

ციტოპლაზმური დომენების შემთხვევაში რეგულაცია ხორციელდება ციტოპლაზმური სტრუქტურებით, რომლებსაც დესმოსომური დისკო ეწოდება.

კადჰერინები მეტად მნიშვნელოვანია უჯრედშორისი კონტაქტების დამყარებისა და შენარჩუნებისათვის. კადჰერინების ნაკლებობა შესაძლოა უჯრედული პათოლოგიების მიზეზი გახდეს. ასე მაგალითად, შესაძლებელია სიცოცხლისთვის საშიში დაავადების - Pemphigus vulgaris განვითარება, რომლის დროსაც ეპიდერმისის უჯრედები კარგავენ ადჰეზიის უნარს, რასაც წყლულის ფორმირება და კანის ჩამოფცქვნა მოჰყვება.

იმუნოგლობულინების სუპეროჯახი (Ig). Ca^{++}-დამოუკიდებელი, ფუნქციურად განსხვავებული, უჯრედის ზედაპირზე ლოკალიზებული ადჰეზიის მოლეკულების ოჯახია. Ig ოჯახის CAM პირველად ერთუჯრედიან ორგანიზმში - დიქტიოსტელიუმში (ლორწოვანი ობი) იქნა აღმოჩენილი. შიმშილის პირობებში ლორწოვანი ობი CAM-ების საშუალებით აგრეგაციას განიცდის და მრავალუჯრედიან ორგანიზმს წარმოქმნის.

ანტისხეულებიდან ანტიგენ-დაკავშირების საიტების იზოლირების დროს ვეგეტატურად გამრავლებად უჯრედებში ექსპრესიას იწყებს 80kD გლიკოპროტეინის მაკოდირებელი გენი. შედეგად უჯრედები, რომლებიც ვეგეტატურ ფაზაში ჩვეულებრივად ერთმანეთს არ უკავშირდებიან, შეწეპებას იწყებენ. სწორედ ამ ცდების შედეგად დადგენილ იქნა, რომ 80kD გლიკოპროტეინი განაპირობებს უჯრედშორის ადჰეზიას ლორწოვანი ობის აგრეგაციის დროს.

ანტიგენ-დამაკავშირებელი საიტების იზოლირების იგივე მეთოდის გამოყენებით ქათმის ემბრიონიდან გამოყოფილ იქნა 140kD NCAM (ნეირალური უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულა). 140kD NCAM მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ნეირონების აგრეგაციის პროცესში.

NCAM ყველაზე კარგად არის შესწავლილი იმუნოგლობულინების სუპეროჯახის CAM-ებს შორის. დადგინდა, რომ:

- ის მრავალი სხვადასხვა ტიპის უჯრედებშია წარმოდგენილი, მათ შორის ნერვულ უჯრედებში, რომლებიც მეზობელ უჯრედებს ჰომოფილური ბმების მეშვეობით უკავშირდებიან;
- სხვა იმუნოგლობულინების მსგავსი CAM-ები, რომლებიც ჰეტეროფილურ დაკავშირებაში მონაწილეობენ, ე.წ. ICAM - უჯრედშორისი ადჰეზიის მოლეკულები, ენდოთელურ უჯრედებშია ნანახი. ICAM უკავშირდებიან ინტეგრინებს (რომლებიც სისხლის თეთრი უჯრედების ზედაპირზეა ლოკალიზებული) და ხელს უწყობენ სისხლის თეთრი უჯრედების დაკავებას ანთების პროცესის დროს.
- ცნობილია NCAM-ების სულ მცირე 20 სხვადასხვა ფორმა.
- თითო NCAM მოლეკულა შედგება:

1. უჯრედის გარე დომენისაგან, რომელიც 5 იმუნოგლობულინის მსგავს დომენად არის შეხვეული;
2. ტრანსმემბრანული დომენისაგან, რომელიც პლაზმურ მემბრანას განჭოლავს;
3. უჯრედშიდა ანუ ციტოპლაზმური დომენისაგან.

ზოგიერთ NCAM-ს მხოლოდ ექსტრაუჯრედული დომენი გააჩნია, ზოგი კი პლაზმურ მემბრანას გლიკოზილფოსფატიდილ-ინოზიტოლის (GPI) მეშვეობით უკავშირდება. სხვა ფორმებს აქვს სამივე დომენი, რომლებიც ზომებითა და გლიკოზილირების ხარისხით განსხვავდება.

იმუნოგლობულინების მსგავსი Ca^{++}-დამოუკიდებელი უჯრედშორისი ადჰეზიის ფაქტორები შესწავლილია დროზოფილაშიც. ასეთი ფაქტორების მაგალითს ფასციკლინ II წარმოადგენს.

ფასციკლინ II NCAM-ების მონათესავე ცილაა, ის ნერვული უჯრედების დაბოლოებებში და გლიურ უჯრედებშია წარმოდგენილი.

NCAM-ები განსხვავდებიან მათთან დაკავშირებული სიალის მჟავის რაოდენობით. NCAM-ები და N-კადჰერინები ერთსა და იგივე უჯრედებშია ნანახი, თუმცა ისინი სხვადასხვა უბანშია ლოკალიზებული. NCAM მატარებელი უჯრედების ადჰეზიურობა დაკავშირებულია სიალის მჟავას რაოდენობასთან. უჯრედები, რომლებიც NCAM მოლეკულებში სიალის მჟავის მცირე შემცველობით ხასიათდებიან, ოთხჯერ უფრო სწრაფად წარმოქმნიან აგრეგატებს, ვიდრე უჯრედები, სადაც სიალის მჟავის მაღალი შემცველობა აღინიშნება. ემბრიონის განვითარებასთან ერთად NCAM ცილები ნაკლებ სიალის მჟავას იკავშირებენ, რაც ზრდასრული ქსოვილების სტაბილიზაციას იწვევს. თუ მოსაზღვრე უჯრედებში სიალის მჟავის შემცველობა დაბალია, მაშინ ამ უჯრედებს შორის მჭიდრო კონტაქტი დამყარდება, და პირიქით, თუ უჯრედებში სიალის მჟავის შემცველობა დიდია, უჯრედული ადჰეზია სუსტი ან სრულად ინჰიბირებულია.

ასევე, სხვადასხვა ტიპის უჯრედების სეგრეგაცია მათ ზედაპირზე განსხვავებული CAM მოლეკულების არსებობითაა განპირობებული.

მაგალითად:

- ნოტოქორდის უჯრედები არ იჭრებიან ნერვულ მილში;
- დერმის უჯრედები არ უკავშირდებიან ეპიდერმულ შრეს;

სხვა მაგალითებია: ბუმბულის განვითარება ქათმის ჩანასახში; აქსონებს შორისი კონტაქტების დამყარება - ფასციკულაცია.

სელექტინები

- სელექტინებში გაერთიანებულია უჯრედის სამი ზედაპირული გლიკოპროტეინი, რომლებიც ლექტინის დომენებს შეიცავენ. ამ დომენების საშუალებით ისინი სხვა უჯრედულ-სპეციფიკური გლიკოპროტეინებს ამოიცნობენ ადგილობრივი ანთების პროცესის დროს;
- სელექტინები უზრუნველყოფენ უჯრედშორის ადჰეზიას, რომლის დროსაც ერთი უჯრედის სელექტინის დომენი (CRD) მეორე უჯრედის ზედაპირულ ნახშირწყალს ამოიცნობს.
- სხვა CAM-ებისგან განსხვავებით სელექტინები ადჰეზიას აადვილებენ და უჯრედების სეგრეგაციას უწყობენ ხელს.
- სელექტინების ჯგუფში შედის:
  i. L-სელექტინი ანუ ლეიკოციტური სელექტინი;
  ii. E-სელექტინი ანუ ენდოთელური სელექტინი;
  iii. P-სელექტინი ანუ თრომბოციტების სელექტინი.
- ზემოაღნიშნული სელექტინების დეტალურმა ანალიზმა აჩვენა მათი დომენების სტრუქტურული შესაბამისობა. სელექტინების დომენებია:

(ა) ლექტინის დომენი (L) ანუ ნახშირწყლის ამოცნობის დომენი (CDR);
(ბ) ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის (EGF) მსგავსი მოტივი (E);
(გ) C გლიკოპროტეინის განმეორებადი დომენები სხვადასხვა რაოდენობით;

- ზოგადად, L და E დომენი საერთოა ყველა სელექტინისთვის;
- ნაკლები მსგავსება შეინიშნება C დომენებში.

ცხრილი 4. სელექტინების მახასიათებლები

N	ტიპი	ლოკალიზაცია	ექსპრესია	ფუნქცია
1.	L-სელექტინი	ლეიკოციტები	მცირდება უჯრედების აქტივაციის დროს	ლიმფოციტების რეცირკულაცია პერიფერიულ ლიმფურ კვანძებში (PLN); ანთება
2.	E-სელექტინი	ენდოთელიუმი	იზრდება ანთების დროს	ლეიკოციტური ანთება
3.	P-სელექტინი	თრომბოციტები	იზრდება თრომბინის ზემოქმედებისას	ლეიკოციტური ანთება

ინტეგრინები

ტერმინი პირველად ჰორვიცმა (Horwitz et al., 1986) და ტამკუნმა (Tamkun et al., 1986) შემოიტანეს. ინტეგრინები ადჰეზიაში მონაწილე ტრანსმემბრანული რეცეპტორული ცილებია.

ფუნქცია

- მონაწილეობენ უჯრედშიდა და უჯრედშორისი არის ინტეგრაციაში;
- მონაწილეობენ უჯრედის სუბსტრატთან ადჰეზიაში, რომელიც **ფიბრონექტინის, ვიტრონექტინის** (უჯრედის გარეთა) და **აქტინის ფილამენტების** კონების (შიდა უჯრედული) მეშვეობით ხორციელდება.

პლაზმურ მემბრანაში ინტეგრინები ლოკალიზებულია წერტილოვნად სუბსტრატთან ახლოს მდებარე ადჰეზიის უბნებში.

სტრუქტურა და მახასიათებლები

- ინტეგრინები არაკოვალენური ბმებით დაკავშირებული ალფა (120-180 კდა 14 სუბერთეული) და ბეტა (90-110 კდა 8 სუბერთეული) მონომერებისგან შემდგარ ჰეტეროდიმერებს (20 სუბერთეული) წარმოადგენენ.
- ჰეტეროდიმერები უჯრედშორისი და უჯრედისა და სუბსტრატის ურთიერთქმედებას უზრუნველყოფენ.
- ბეტა ჯაჭვის სტრუქტურის მიხედვით ინტეგრინები რამდენიმე ქვეოჯახშია გაერთიანებული.
- ყველაზე დიდი ქვეოჯახია β1 ანუ VLA (very late activation antigen; დაყოვნებული აქტივაციის ანტიგენი) ინტეგრინები.
- არსებობს 7 განსხვავებული ალფა ჯაჭვი, რომლებიც საერთო ბეტა ჯაჭვს უკავშირდება.
- β1 ინტეგრინების ოთხი წარმომადგენელი უკავშირდება ლამინინს, მათ შორის უჯრედშორისი მატრიქსის ლამინინს და კოლაგენს.
- β2 ინტეგრინები ლეიკოციტების რეცეპტორებია, რომლებიც ჩართულია ლეიკოციტ-ლეიკოციტის, ლეიკოციტი-ენდოთელიუ-მის ან მონოციტი-ენდოტელიუმის ურთიერთქმედებებში.
- β 3 ქვეოჯახი თრომბოციტების გლიკოპროტეინს, ფიბრინოგენის რეცეპტორს და ვიტრონექტინის რეცეპტორს მოიცავს.
- ვიტრონექტინი ცირკულირებადი სითხეების, ამნიოტური სითხისა და შარდის მრავალფუნქციური გლიკოპროტეინია; ის ხელს უწყობს უჯრედების ადჰეზიას, ასევე ინვაზიასა და დამცველობითი ფუნქციის შესრულებას.
- თუმცა ორივე ალფა და ბეტა ინტეგრინი მონაწილეობს ფოკალური კონტაქტების დამყარებაში, მხოლოდ ბეტა სუბერთეული შიდა ჩონჩხთან დაკავშირებას განაპირობებს.

- სხვა ადჰეზიაში ჩართულ ციტოპლაზმური დომენების ცილებს მიეკუთვნება: ტალინი, ალფა-აქტინინი, ვინკულინი, პაქსილინი, ზიქსინი, აქტინი, რედიქსინი, ეზრინი, მოეზინი, ტენუინი და VASP (ვაზოდილატაციის მასტიმულირებელი ფოსფოპროტეინი).
- უჯრედულ და ქსოვილურ ადჰეზიაში მონაწილეობის გამო ინტეგრინები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ განვითარების პროცესში.
- ასე, ორი ინტეგრინი, სახელდობრ PS1 და PS2 მონაწილეობს ფრთების ფორმირებაში Drosophila melanogaster განვითარების დროს.
- როგორც წესი, ქსოვილები ერთმანეთს და მემბრანას უკავშირდებიან, ხოლო ცირკულირებადი უჯრედები საყრდენის გარეშე რჩებიან. ასეთი საყრდენის არსებობა, უჯრედების დაკავშირება და კავშირების გაწყვეტა ჩვეულებრივი პროცესია ზრდის, განვითარების და უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნების დროს.
- წერტილოვანი ადჰეზია მცირდება, თუ იზრდება უჯრედების სუბსტრატზე გადაადგილების სიჩქარე (უკუპროპორციული კავშირი).
- მიმაგრების პროცესის გაკონტროლების მიზნით ინტეგრინები შედიან რეაქციაში ფოკალური ადჰეზიის კინაზებთან. ამრიგად, ინტეგრინები მრავალ სასიგნალო მოლეკულას ააქტიურებენ.
- მიმაგრება ასევე უჯრედის ფორმაზეა დამოკიდებული - ბრტყელი უჯრედებისთვის ეს პროცესი უფრო მარტივია, ვიდრე მრგვალი უჯრედებისათვის.
- უჯრედები, რომლებიც ზედაპირის გასწვრივ იჭიმებიან, უკეთესად მრავლდებიან და უფრო დიდ ხანს ცოცხლობენ.
- უჯრედშორისი მატრიქსი აკონტროლებს უჯრედის ფორმას, ხოლო უჯრედული ფორმა, თავის მხრივ, უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობას და ზრდას განაპირობებს.
- ამ პროცესებში მონაწილეობს სპეციფიკური სასიგნალო გზები - ინტეგრინები ზრდიან ბრტყელი უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას და ამავე დროს მრგვალ უჯრედებში აპოპტოზის მექანიზმს ააქტიურებენ.
- დაზიანებულ ქსოვილში მცირერიცხოვანი უჯრედები ფართო ზედაპირზე ვრცელდებიან, რასაც უჯრედული დეფიციტის შესავსებად უჯრედული პროლიფერაციის სტიმულაცია მოჰყვება.

გლიკოზილტრანსფერაზა

- გლიკოზილტრანსფერაზა ნანახია ენდოპლაზმური რეტიკულუმის და გოლჯის აპარატის ვეზიკულებში.
- გლიკოზილტრანსფერაზას ფუნქციაა შაქრების ცილებთან დაკავშირება და გლიკოპროტეინების ფორმირება (მაგალითი - ლამინინი);
- გლიკოზილტრანსფერაზა ასევე განაყოფიერების პროცესში მონაწილეობს. სპერმატოზოიდების მემბრანის გლიკოზილტრანსფერაზები ურთიერთქმედებაში შედიან კვერცხუჯრედის მიერ სეკრეტირებული უჯრედშორისი მატრიქსის ნახშირწყლოვან კომპონენტთან.
- გლიკოზილტრანსფერაზა უჯრედების მიგრაციაშიც მონაწილეობენ.

უჯრედული კონტაქტები

უჯრედული კონტაქტები ყალიბდება უჯრედებს, ანდა უჯრედსა და სუბსტრატს შორის. მცენარეებში უჯრედშორის კონტაქტებს პლაზმოდესმები ეწოდება.

უჯრედული კონტაქტები განსაკუთრებით მრავალრიცხოვანია ეპითელურ ქსოვილში. არსებობს უჯრედული კონტაქტების სამი ფუნქციური ტიპი:

1. ჩამკეტი კონტაქტები (მჭიდრო კონტაქტები) - ეპითელურ შრეში უზრუნველყოფენ უჯრედების ერთმანეთთან შეწებებას, რაც აფერხებს მოლეკულების გადასვლას ეპითელური შრის ერთი მხრიდან მეორე მხარეს.
2. ღუზისებრი (ანკერული) კონტაქტები - უზრუნველყოფენ უჯრედების ერთმანეთთან ან უჯრედშორის მატრიქსთან მიმაგრებას.
3. კომუნიკაციური კონტაქტები - უზრუნველყოფენ ქიმიური ან ელექტრული ბუნების სიგნალების გადაცემას ერთი უჯრედიდან მეორე უჯრედში.

ჩამკეტი კონტაქტები

ჩამკეტი კონტაქტები გარეთა და შიდა ზედაპირებს შორის შერჩევითი განვლადობის მქონე ბარიერს წარმოადგენენ. მაგალითად, ძუძუმწოვრებში წვრილი ნაწლავის ეპითელური საფარველი არ აძლევს საშუალებას ნაწლავის შიგთავსს გამოვიდეს სანათურიდან, ამავე დროს ის უზრუნველყოფს საკვები ნივთიერებების აბსორბციას. შეწოვის შემდეგ საკვები ნივთიერებები სისხლში ხვდება. ასეთი სახის ტრანსპორტს ორი გადამტანი ცილა უზრუნველყოფს, სახელდობრ:

1. აპიკალურ ზედაპირთან დაკავშირებული გადამტანი ცილა -უზრუნველყოფს ტრანსპორტს სანათურიდან უჯრედებში (ნატრიუმ-დამოკიდებული გლუკოზის გადამტანი ცილა);
2. ბაზოლატერალურ ზედაპირთან დაკავშირებული ცილა - უზრუნველყოფს მოლეკულების ტრანსპორტს უჯრედებიდან უჯრედშორის სივრცეში გაადვილებული დიფუზიის გზით (გლუკოზის გადამტანი ცილა).

დიფუნდირებული მოლეკულები უჯრედშიდა არიდან უკან ვეღარ გადადიან. ეპითელიუმის განვლადობა მოლეკულების მიმართ განსხვავებულია. წვრილი ნაწლავის ეპითელიუმი 10 000-ჯერ უფრო კარგად ატარებს არაორგანულ იონებს, ვიდრე შარდის ბუშტის ამომფენი ეპითელიუმი.

მჭიდრო კონტაქტები ურთიერთდაკავშირებული ჭიმებისა და ტრანსმემბრანული ცილების ქსელებისგან შედგება.

ღუზისებრი (ანკერული) კონტაქტები

- მონაწილეობენ უჯრედების ციტოჩონჩხის ელემენტებთან მიმაგრებაში უჯრედშორისი ან უჯრედების ECM-თან კონტაქტების წარმოქმნის დროს;
- ხშირია ორგანოებში (გულის კუნთი, კანის ეპითელიუმი), რომლებიც მექანიკურ დატვირთვას განიცდიან;
- ანკერულ კონტაქტებს მიეკუთვნება:
  - **ა. შეწებების კონტაქტები** - აქტინის ფილამენტების დაკავშირების უბნები.
  - **ბ. დესმოსომები და ნახევარდესმოსომები** - შუალედური ფილამენტების დაკავშირების უბნები; შედგებიან უჯრედშიდა დაკავშირების ცილებისა და ტრანსმემბრანული ლინკერული ცილებისაგან (მაგ. კადჰერინები, ინტეგრინები).
  - **გ. სეპტირებული კონტაქტები** - დამახასიათებელია უხერხემლო ცხოველებისათვის; აქტინის ფილამენტების დაკავშირების საიტებს წარმოადგენენ.

კომუნიკაციური კონტაქტები

კომუნიკაციური კონტაქტები უზრუნველყოფენ ქიმიური ან ელექტრული ბუნების სიგნალების (მაგ. იონების) გადაცემას. მათ მიეკუთვნება ნაპრალისებრი კონტაქტები, სინაფსები და პლაზმოდესმები. ნაპრალისებური კონტაქტები და ქიმიური სინაფსები ცხოველური უჯრედებისთვისაა დამახასიათებელი, მაშინ როდესაც პლაზმოდესმები მხოლოდ მცენარეულ უჯრედებში გვხვდება.

ნაპრალისებური კონტაქტები ცხოველებში. უჯრედების ერთმანეთთან დაკავშირებას და კომუნიკაციას უზრუნველყოფენ ცილები, რომლების ე.წ. ნაპრალისებურ კონტაქტებს წარმოქმნიან. ასეთი კონტაქტების დროს უჯრედებს შორის 2-4ნმ სისქის ნაპრალი რჩება. საპირისპიროდ ამისა, მჭიდრო კონტაქტების შემთხვევაში ორ მეზობელ უჯრედს შორის არანაირი ნაპრალი არ არის და მათი პლაზმური მემბრანები უშუალო შეხებაშია ერთმანეთთან. ნაპრალისებური კონტაქტები ფართოდ გავრცელებულია სხვადასხვა ცხოველურ ქსოვილებში. მათი დათვალიერება მხოლოდ ელექტრონული მიკროსკოპის ქვეშ არის შესაძლებელი, სადაც ისინი ჩანს, როგორც ლაქები ნაპრალით დაშორებულ უჯრედებს შორის.

ნაპრალისებური კონტაქტების ფორმირებაში მონაწილეობენ სტრუქტურები, რომლებსაც კონექსონები ეწოდება. კონექსონებს ტრანსმემბრანული ცილები - კონექსინები წარმოქმნიან. ექვსი იდენტური კონექსინი უკავშირდება ერთმანეთს და წარმოქმნის ცენტრალური ფორის მქონე ტრანსმემბრანულ არხს. ასეთი კონექსონი უკავშირდება მეზობელი უჯრედის ანალოგიურ არხს, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ნაპრალისებური კონტაქტი, რომელიც უზრუნველყოფს კავშირს მეზობელი უჯრედების ციტოპლაზმას შორის.

ნაპრალისებური კონტაქტების უბანში არის 1.5ნმ დიამეტრის ფორა, რომლის საშუალებით ერთი უჯრედის ციტოპლაზმიდან მეორე უჯრედის ციტოპლაზმაში მცირე ზომის წყალში ხსნადი მოლეკულები (არა უმეტეს 100 kDa მასისა) გადაიტანება. ნაპრალისებური კონტაქტებით დაკავშირებულ უჯრედებს „ელექტრულად შეუღლებული“ ან „მეტაბოლურად შეუღლებული“ უჯრედები ეწოდება.

უჯრედული კონტაქტები მცენარეებში - პლაზმოდესმები. პლაზმოდესმები წარმოადგენს თხელ ციტოპლაზმურ არხს უჯრედებს შორის, რომლის მეშვეობით მეზობელი უჯრედების ციტოპლაზმის გაერთიანება ხდება. ასეთი არხის ცენტრში ვიწრო ცილინდრული სტრუქტურა, ე.წ. დესმოტუბულა გადის, რომელიც მეზობელი უჯრედების ენდოპლაზმურ რეტიკულუმს უკავშირდება.

პლაზმოდესმები რამოდენიმე თავისი მახასიათებლით ნაპრალისებურ კონტაქტს წააგავს, თუმცა განსხვავდება ამ უკანასკნელისაგან სქელი უჯრედული კედლის განჭოლავი წაგრძელებული სტრუქტურით.

ყველა პლაზმოდესმებში არჩევენ;

1. გარეთა გარსს, რომელიც პლაზმური მემბრანის გაგრძელებას წარმოადგენს;
2. ენდოპლაზმური ბადის ცენტრალურ კორს;
3. ყელის ან საყელოს უბანს.

ფუნქცია

- უზრუნველყოფს მცირე ზომის მეტაბოლიტების პასიურ დიფუზიას მცენარეულ უჯრედებს შორის.
- პლაზმოდესმების საშუალებით შესაძლებელია მცენარეული ვირუსების გადატანა.
- სწრაფად იცვლიან სტრუქტურას დიდი ზომის მოლეკულების ტრანსპორტის უზრუნველსაყოფად.
- ახორციელებენ ენდოგენური მცენარეული ცილების ტრანსპორტს.
- პლაზმოდესმებში ნაჩვენებია მცენარეული ვირუსების მობილური ცილების არსებობა. თუ ცალკეულ უჯრედებში მემბრანული ცილების ინიექცია მოხდა, პლაზმოდესმის განვლადობა მიკროინიექციიდან რამოდენიმე წუთში მკვეთრად მატულობს. ამრიგად, ვირუსული ცილები მკვეთრ ზეგავლენას ახდენენ პლაზმოდესმის სატრანსპორტო სისტემაზე.
- დამტკიცებულია, რომ სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში პლაზმოდესმები განსხვავებულია და შესაბამისად სხვადასხვანაირად პასუხობენ მემბრანული ცილების შეყვანაზე.
- მემბრანული ცილა ეს არის სატრანსპორტო სიგნალი, რომელიც უზრუნველყოფს სხვადასხვა ზომის მოლეკულების ტრანსპორტს.
- მოლეკულის ტრანსპორტისათვის შემდეგი ოთხი კრიტერიუმია მნიშვნელოვანი: ზომა, ფორმა, სიგნალის თანმიმდევრობა და კონტაქტის ტიპი.

თავი III

უჯრედის მოლეკულური ბიოლოგიის ზოგიერთი ასპექტი

3.1. მემბრანული ცილები.

მემბრანული ეწოდება ცილებს, რომლებიც თავისი ლოკალიზაციით და ფუნქციით პლაზმურ მემბრანასთანაა დაკავშირებული. პლაზმური მემბრანის ქიმიური შემადგენლობის 70% ცილებზე მოდის და მისი ძირითადი ფუნქციები სწორედ ცილებითაა განპირობებული.

არსებობს მემბრანული ცილების ორი ძირითადი ტიპი. პირველი ტიპის ცილები, რომლებსაც **პერიფერიული ცილები** ეწოდება, მემბრანასთან ძირითადად იონური ურთიერთქმედებებითაა დაკავშირებული. მეორე ტიპის ცილებს **ინტეგრალური** ეწოდება. ეს ცილები ან ჩაძირულია ლიპიდური ბიშრის სისქეში, ანდა მთლიანად განჭოლავს პლაზმურ მემბრანას (ტრანსმემბრანული ცილები).

მემბრანული ცილების ფორმებია:

1. ინტეგრალური ცილები (მათ შორის ტრანსმემბრანული ცილები)
2. მემბრანასთან კოვალენტურად დაკავშირებული ციტოზოლის ინტეგრალური ცილები
3. მემბრანასთან კოვალენტურად დაკავშირებული არაციტოზოლური ინტეგრალური ცილები
4. მემბრანასთან არაკოვალენტურად დაკავშირებული პერიფერიული ცილები

მემბრანული ცილების კარგად შესწავლილი მაგალითებია:

სპექტრინი
გლიკოფორინი
მე-3 ზოლის ცილა
ბაქტერიოროდოფსინი
პორინი
მემბრნული ცილოვანი კომპლექსები
მემბრანული დომენების სპეციფიკური ცილები:
გლიკოკალიქსის ცილები
უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები (CAM):

- *კადჰერინები*
- *ინტეგრინები*
- *სელექტინები*

ტრანსმემბრანული ცილები

- გადასერავენ ლიპიდურ შრეს ან ცალკეული სპირალის (მაგ. გლიკოფორინი), ან მრავალი სპირალის ან ნაკეცებიანი სტრუქტურის სახით (მაგ. მე-3 ზოლის ცილა).

- თუ პოლიპეპტიდი მხოლოდ ერთხელ კვეთავს მემბრანას, მას **მონოტოპური** ტრანსმემბრანული პოლიპეპტიდი ეწოდება, თუკი პოლიპეპტიდი რამდენჯერმე კვეთავს პლაზმურ მემბრანას, მას **პოლიტოპური** ეწოდება.
- ტრანსმემბრანული ცილების ერთი ან ორივე მემბრანული ზედაპირის გარეთ გამოყოფილი ბოლოები ჰიდროფილური ბუნებისაა.

კოვალენტურად დაკავშირებული ციტოზოლური ინტეგრალური ცილები

- ლოკალიზებულია ციტოზოლში;
- მიმაგრებულია მემბრანაზე კოვალენტურად დაკავშირებული ცხიმოვანი მჟავების ჯაჭვის ან ფენოლის ჯგუფების მეშვეობით
- ამიდური ბმები ტერმინალურ ამინოჯგუფსა (როგორც წესი, გლიცინი) და ცხიმოვანი მჟავის (უმეტესად მერისტინის ან პალმიტინის) კარბოქსილურ ჯგუფს შორის ყალიბდება;
- მემბრანული ცილების ჰიდროფობულობა იზრდება ამიდური ბმების წარმოქმნის შედეგად;
- სხვა ლიპიდებთან დაკავშირებული ცილები წარმოქმნიან თიოეთერულ ბმას ცისტეინსა და სპეციფიკური ტიპის იზოპრენულ სტრუქტურას შორის.

კოვალენტურად დაკავშირებული არაციტოზოლური ინტეგრალური ცილები

კოვალენტურად დაკავშირებული არაციტოზოლური ინტეგრალური ცილები ლოკალიზებულია პლაზმური მემბრანის გარეთა ზედაპირზე, რომელთანაც ისინი ოლიგოსაქარიდების მეშვეობით უკავშირდებიან ფოსფოდიეთერული ბმების წარმოქმნის გზით.

პლაზმური მემბრანის ციტოზოლური და არაციტოზოლური ტრანსმემბრანული ცილების შესწავლა შემდეგი მეთოდებითაა შესაძლებელი:

ა. მემბრანის გარეთა სეგმენტების მონიშვნით წყალში ხსნადი რადიოაქტიური ან ფლუორესცენტული ნივთიერებებით. ეს ნივთიერებები ვერ აღწევენ უჯრედის შიგნით, ამიტომ კოვალენტურად უკავშირდებიან მხოლოდ ზედაპირზე არსებულ მოლეკულებს. მემბრანის ხსნად მდგომარეობაში გადაყვანის შემდეგ ცილებს ყოფენ SDS-ის (ნატრიუმის დოდეცილ-სულფატის) თანდასწრებით PAGE (პოლიაკრილამიდის გელ-ელექტროფორეზის) მეშვეობით, რის შემდეგ მონიშნული ცილების იდენტიფიცირებას ახდენენ. ასეთი მიმართული მონიშვნის შედეგად შესაძლებელია ცილის მემბრანაში ორიენტაციის დადგენა: თუ ის ერთდროულად გარეთა და შიგნითა ზედაპირზეა მონიშნული, მაშინ ეს ტრანსმემბრანული ცილაა.

ბ. მემბრანის შიგნითა ან გარეთა ზედაპირი მუშავდება პროტეაზებით, რის შემდეგ ახდენენ იზოლირებული ცილების იდენტიფიცირებას. თუ ცილის ნაწილობრივი დაშლა ორივე ზედაპირზე მოხდა, ეს ტრანსმემბრანული ცილის მაჩვენებელია.

გ. ცილების სპეციფიკური უბნების ლოკალიზაციის დასადგენად სპეციფიკურ ანტისხეულებს იყენებენ.

არაკოვალენტურად დაკავშირებული პერიფერიული ცილები

- ეს ცილები მემბრანის როგორც გარეთა, ასევე შიგნითა ზედაპირზეა წარმოდგენილი (მაგ. სპექტრინი ლოკალიზებულია შიგნითა ზედაპირზე; ფიბრონექტინი - ლოკალიზებულია მემბრანის გარეთა ზედაპირზე);
- ისინი სხვა ცილებს ან პლაზმურ მემბრანას არაკოვალენტური ბმების საშუალებით (იონური ურთიერთქმედება) უკავშირდება;
- მათი გამოყოფა მარტივადაა შესაძლებელი პლაზმური მემბრანიდან მათი რბილი ექსტრაქციის მეთოდებით.

კარგად შესწავლილი მემბრანული ცილების მაგალითები:
სპექტრინი

- ერიტროციტის ციტოჩონჩხის ელემენტია.
- ერითროციტების მემბრანული ცილების უმეტესობა მემბრანის ციტოზოლურ ზედაპირთან დაკავშირებულ ცილებს წარმოადგენს;
- სპექტრინზე ერითროციტების მემბრანული ცილების 25% მოდის (ერთ უჯრედში სპექტრინის 2.5X105 ასლია წარმოდგენილი);
- სპექტრინი თხელი, გრძელი, მოქნილი ძაფის მაგვარი ჰეტერო-დიმერული ცილაა, რომლის სიგრძე დაახლოებით 100 ნმ შეადგენს.
- ჰეტეროდიმერი ორი ანტიპარალელური, ერთმანეთზე შემოხლართული α და β ჯაჭვისაგან შედგება, რომლებიც რამოდენიმე წერტილში, მათ შორის დაბოლოებებში, არაკოვალენტურად უკავშირდებიან ერთმანეთს (ნახ.15).
- ორივე α და β ჯაჭვს განმეორებადი 106 ამინომჟავის სიგრძის დომენი აქვთ.
- ფოსფორილირებული თავის უბნებში ჰეტეროდიმერები ერთმანეთს „თავი თავთან“ პრინციპით უკავშირდება და ტეტრამერებს ქმნის. ასეთი ოთხი ან ხუთი ტეტრამერი სხვა ცილების დახმარებით აქტინის მოკლე ფილამენტებს უკავშირდება, რის შედეგად ე.წ. „კონტაქტური კომპლექსი“ წარმოიქმნება. ეს კომპლექსი, რომლის შემადგენლობაში სპექტრინისა და აქტინის გარდა შედის 3 ზოლის ცილა, 4.1 ზოლის ცილა, ანკირინი, ტროპომიოზინი და ადდუცინი, ემსახურება მთელი სტრუქტურის სიხისტისა და ერითროციტის ორმხრივად ჩაზნექილი ფორმის შენარჩუნებას.

- სპექტრინის ნაკლებობა ან მისი მუტაცია ანემიას იწვევს, რასაც მოჰყვება ანომალური ფორმის ერითროციტების ფორმირება - ჩაზნექილის ნაცვლად ისინი სფერულ ფორმას იღებენ.

გლიკოფორინი

- ტრანსმემბრანული გლიკოპროტეინია, რომელიც ერთხელ განჭოლავს პლაზმურ მემბრანას (მონოტოპური ცილა);
- წარმოქმნის α-ჯაჭვს, რომლის ჰიდროფილური C-ტერმინალური კუდი ციტოზოლისკენ არის მიმართული.
- გლიკოფორინის არაციტოზოლური გარეთა ნაწილი დაახლოებით 100 შაქრის ნაშთს შეიცავს.
- გლიკოფორინი ერითროციტის ნახშირწყლების 60% იკავშირებს.
- ერთ ერითროციტში საშუალოდ 1 მილიონი გლიკოფორინის მოლეკულაა.
- ბირთვიანი უჯრედების მრავალი რეცეპტორი ასევე გლიკოფორინის კატეგორიას მიეკუთვნება.

3 ზოლის ცილა

- ტრანსმემბრანული ცილა, რომელიც მრავალჯერ განჭოლავს პლაზმურ მემბრანას (პოლიტოპური ცილა); მონაწილეობს ანიონების ტრანსპორტში (Cl^-, $HCO3^-$); ხელს უწყობს ერითროციტის მიერ Cl^- იონების სანაცვლოდ $HCO3^-$ იონების სახით CO_2 გადატანას ქსოვილებიდან ფილტვებში.
- სახელწოდება ასახავს ამ ცილის პოზიციას სხვა ცილებთან მიმართებაში პოლიაკრილამიდის გელ-ელექტროფორეზის სურათზე.
- წარმოადგენს გრძელ (930 ამინომჟავა) პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს, რომელიც დიმერებს წარმოქმნის. ეს დიმერები პლაზმურ მემბრანას 14-ჯერ გადასერავენ.
- ერთ ერითროციტზე ცილის 106 მოლეკულა მოდის.

ბაქტერიოროდოფსინი

- ბაქტერიოროდოფსინი სინათლე-დამოკიდებული ცილაა, რომელიც ნანახია მარილიან წყალში მობინადრე ბაქტერიებში Halobacterium halobium.
- ბაქტერიოროდოპსინი ტრანსმემბრანული ცილაა, რომელსაც 7 მჭიდროდ განლაგებული ტრანსმემბრანული α-სპირალი აქვს.
- ყოველი სპირალი 25 ამინომჟავისგან შედგება.
- ბაქტერიოროდოფსინი სინათლე-დამოკიდებული პროტონული ტუმბოა.
- ბაქტერიოროდოფსინი შეიცავს სინათლის შთანთქმის უნარის მქონე ჯგუფს - რეტინალს, რომელიც ცილას მუქ წითელ ფერში ღებავს.

- რეტინალი ვიტამინ A-ს მსგავსია და ხერხემლიანების თვალის როდოფსინის ქრომატოფორის იდენტურია.
- სინათლის ფოტონით აქტივაციისას რეტინალი იცვლის თავის ფორმას და იწვევს ბაქტერიოროდოფსინის სტრუქტურულ ცვლილებათა სერიას, რასაც მოჰყვება წყალბადის იონების უჯრედის გარეთ გადატანა.
- კარგი განათების პირობებში ბაქტერიოროდოფსინის მოლეკულის მეშვეობით ყოველ წამს უჯრედიდან რამდენიმე ასეული პროტონი გადის.
- ამას მოჰყვება მემბრანის მხარეებს შორის პროტონული გრადიენტის დამყარება, რაც აადვილებს ატფ-ის სინთეზს და, მაშასადამე, ბაქტერიული უჯრედისათვის ენერგიის მიწოდებას.

პორინი

- პორინის სტრუქტურა შესწავლილია როდობაქტერის კაპსულების მაგალითზე. ამ ცილას 16 ანტიპარალელური β-სპირალიანი სტრუქტურა ახასიათებს.
- ზოგადად, ტრანსმემბრანული ცილებისთვის დამახასიათებელია არა β, არამედ α-სპირალების არსებობა.
- მიტოქონდრიების და ქლოროპლასტების გარეთა მემბრანის ცილები ემსგავსება ერთმანეთს α-სპირალების ნაცვლად β-ნაკეცებიანი სტრუქტურების არსებობით.
- პორინი ტრიმერია (სამი მონომერისგან შედგება).

მემბრანის ცილოვანი კომპლექსი

- ზოგჯერ მემბრანული ცილები ერთმანეთს უკავშირდება და წარმოქმნის სხვადასხვა ფუნქციების მატარებელ ცილოვან კომპლექსს.
- ერთ-ერთი ასეთი კომპლექსია ე.წ. „ფოტოსინთეზური რეაქციის ცენტრი“.
- ეს კომპლექსი დეტალურადაა შესწავლილი ბაქტერია Rhodopseudomonas viridis მაგალითზე.
- მისი სტრუქტურა ოთხი სუბერთეულისაგან - L, M, H სუბერთეულისა და a ციტოქრომისაგან შედგება.
- L და M სუბერთეულს აქვთ ხუთი α-სპირალი, რომლებიც რეაქციის ცენტრის კორს წარმოქმნიან.
- კომპლექსი შეიცავს ასევე ელექტრონების მატარებელ კოფერმენტებს.
- ამ ტიპის ცილოვანი კომპლექსები ისეთი სხვადასხვა ცილებისგან ფორმირდება, რომლებიც ენერგიის გამოყოფასა ან სიგნალის გარეთა სივრციდან უჯრედის შიგნით გადაცემაში მონაწილეობენ.

მემბრანული დომენების სპეციფიკური ცილები

- ზოგიერთი სპეციფიკური ფუნქციის მატარებელი ცილა მემბრანის სპეციფიკურ დომენებთანაა დაკავშირებული.
- ასეთი მემბრანული ცილები ნაჩვენებია ნაწლავის ამომფენ, ასევე თირკმლის მილაკის უჯრედებში.
- ეს სპეციფიკური ცილები აპიკალურ და ბაზოლატერალურ დომენებთანაა დაკავშირებული.
- უჯრედში არსებობს აგრეთვე ცილების სპეციფიკურ დომენებში გადატანის მექანიზმები.

გლიკოკალიქსი

- ორმაგი შრის ლიპიდების უმრავლესობა, ასევე პლაზმური მემბრანის პერიფერიული და ინტეგრირებული ცილების არაციტოზოლური გარეთა სეგმენტები გლიკოზილირებულია და, შესაბამისად, გლიკოლიპიდებად და გლიკოპროტეინებად იწოდება.
- ნახშირწყლოვანი მოლეკულები პლაზმური მემბრანის ზედაპირზე ნახშირწყლებით გამდიდრებულ ზონას - გლიკოკალიქსს ქმნის.
- გლიკოკალიქსი როგორც ცხოველური, ასევე მცენარეული უჯრედებისთვისაა დამახასიათებელი.

ფუნქცია

- დამცველობითი, უჯრედების ამოცნობა, უჯრედშორისი ადჰეზია, ანთებითი პასუხი.

3.2 ციტოჩონჩხის ცილები

ეუკარიოტულ უჯრედებს აქვთ თავისი ფორმის შეცვლის და სივრცეში გადაადგილების უნარი. უჯრედების შიგნით ხდება ორგანელების გადანაცვლება და სხვადასხვა ნივთიერებების ტრანსპორტი, მიტოზის დროს ხდება ქრომოსომების შვილეულ უჯრედებს შორის გადანაწილება. ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი პროცესი ხორციელდება სპეციფიკური ცილების მონაწილეობით, რომლებიც ციტოჩონჩხის შემადგენლობაში შედის. ციტოჩონჩხი უჯრედის ციტოარქიტექტონიკას განსაზღვრავს. ის სამი ძირითადი ტიპის ელემენტებითაა წარმოქმნილი, ესენია მიკრომილაკები, აქტინის ფილამენტები და შუალედური ფილამენტები. მიკრომილაკები ხისტი სტრუქტურებია, რომელთა ერთი ბოლო, როგორც წესი, ცენტროსომას უკავშირდება, ხოლო მეორე თავისუფლად ძევს ციტოპლაზმაში. მრავალ უჯრედში მიკრომილაკები მეტად დინამიკური სტრუქტურებია, რომლებიც ტუბულინის სუბერთეულების მიერთების ან მოშორების შედეგად შესაბამისად ან იზრდება, ან მოკლდება. მოტორული ცილები, რომლებიც ორგანელების ან ვეზიკულების შიდაუჯრედულ ტრანსპორტს უზრუნველყოფენ, სწორედ მიკრომილაკების გასწვრივ მოძრაობენ, რომლებიც, ამ შემთხვევაში, ერთგვარი „ლიანდაგების“ როლს ასრულებენ. აქტინის ფილამენტები ასევე დინამიკური სტრუქტურებია, რომლებიც ჩვეულებრივად ან კონების, ან ქსელის სახითაა წარმოდგენილი. პლაზმური მემბრანის ქვეშ მდებარე ე.წ. კორტიკალური შრე (კორტექსი) სწორედ აქტინის ფილამენტებით და მრავალი აქტინთან დაკავშირებული ცილითაა წარმოდგენილი. ცხოველური უჯრედების უმეტესობაში აქტინით მდიდარი კორტექსი როგორც უჯრედის ფორმის შენარჩუნებას, ასევე ზედაპირულ გადაადგილებას უზრუნველყოფს. შუალედური ფილამენტები შედარებით მტკიცე, თოკის მსგავსი სტრუქტურებია, რომლებიც უჯრედებისა და ქსოვილების მექანიკურ სტაბილურობას უზრუნველყოფენ. ფილამენტების სამივე ტიპი ერთმანეთთან კავშირშია, ხოლო მათი ფუნქციები მკაცრადაა კოორდინირებული.

ციტოცონჩხის ძირითადი ფუნქციებია უჯრედის ფორმის შენარჩუნება და უჯრედშიდა და გარეთა მოძრაობის კონტროლი.

მიკრომილაკები

- მიკრომილაკები გრძელი ცილოვანი სტრუქტურებია, რომლებიც მთელ ციტოპლაზმაშია გაჭიმული და რომლებიც წარმოქმნიან ქსელებს ზოგიერთი უჯრედული ორგანელის (მაგ. ენდოპლაზმური ბადის) სტრუქტურული ორგანიზაციის და ლოკალიზაციის შესანარჩუნებლად.
- გვხვდება თითქმის ყველა ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედში, გამონაკლისს ამება და ძუძუმწოვრების ზრდასრული ერითროციტები წარმოადგენენ.
- გვხვდება სხვადასხვა უჯრედულ სტრუქტურებში წამწამების, შოლტის, ცენტრიოლების და ბაზალური სხეულაკების, ნეირონების მორჩების, მიტოზური აპარატის და მერისტემული უჯრედების კორტექსის ჩათვლით.
- მონაწილეობენ უჯრედის გაყოფაში; უჯრედშიდა ტრანსპორტში; გოლჯის აპარატიდან ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში ნივთიერებების რეცირკულაციაში; უჯრედის გადაადგილებაში.

სტრუქტურა

- მიკრომილაკები ცილინდრული ფორმის სტრუქტურებია, რომელთა სიგრძე რამდენიმე მიკრონს, დიამეტრი კი 20-30 ნმ შეადგენს.
- განივ ჭრილზე მიკრომილაკები წარმოქმნიან წრიულ სტრუქტურას, რომელიც 13 პროტოფილამენტისაგან (სუბერთეულისგან) შედგება.
- სიგრძივად ისინი პროტოფილამენტების 13 რიგისგან შედგება.

ქიმიური შემადგენლობა

- ყოველი სუბერთეულის სედიმენტაციის კოეფიციენტია 6S, ის ორი გლობულარული ცილისგან, სახელდობრ კი α და β **ტუბულინისგან** შედგება. ტუბულინის მოლეკულური მასაა 60 kDa.
- α და β ტუბულინის გაერთიანების შედეგად **დიმერული ცილა ტუბულინი** წარმოიქმნება (ნახ.9).

ტუბულინთან ან მიკრომილაკებთან დაკავშირებული ცილები

- აქსონალური დინეინი: იწვევს შოლტის მიკროტუბულების ერთმანეთის მიმართ სრიალს.
- ციტოპლაზმური დინეინი: მონაწილეობს შიდაუჯრედულ ტრანსპორტში
- ნექსინი: წარმოქმნის ბმებს.
- MAP-1, MAP-2: მაღალი მოლეკულური წონის ცილები - მონაწილეობენ მიკრომილაკების სტრუქტურის სტაბილიზაციაში (ნახ.16).
- ტაუ: განაპირობებს ტუბულინის მოლეკულების რგოლურ სტრუქტურაში და მიკრომილაკებში გაერთიანებას.
- კინაზა: აკატალიზებს ტუბულინის სუბერთეულების ფოსფორილირებას.
- კინეზინი, კინექტინი: მემბრანული ტრაფიკის მოტორული ცილებია.
- დინამინი: აკონტროლებს მიკრომილაკების ერთმანეთის მიმართ სრიალს, მონაწილეობს ენდოციტოზში.

მიკროფილამენტები ანუ აქტინის ფილამენტები

მიკროფილამენტები ანუ აქტინის ფილამენტები გრძელი ფიბრილებია, რომელთა სიგრძე ვარირებს, ხოლო დიამეტრი 5-7ნმ აღწევს. ისინი ცილა აქტინისგან შედგება.

გავრცელება

აქტინის ფილამენტები უჯრედული კორტექსის ექტოპლაზმაში თოქის მაგვარი სტრუქტურების ქსელს წარმოქმნიან. უჯრედების უბანი, სადაც აქტინის ფილამენტებია განთავსებული, ხშირად არ შეიცავს ისეთ ორგანელებს, როგორიცაა პლასტიდები, მიტოქონდრიები, ენდოპლაზმური რეტიკულუმი, გოლჯის კომპლექსი, რიბოსომები და სხვა. პირველად აქტინის ფილამენტები კუნთოვან უჯრედებში იქნა შესწავლილი, თუმცა შემდგომში აღმოჩნდა, რომ ისინი ყველა ტიპის უჯრედებში გვხვდება.

ფუნქციები

- მოძრაობა: გაყოფის ღარის წარმოქმნა გაყოფის პროცესის დასასრულს.
- ციტოპლაზმური ნაკადის წარმოქმნა.
- უჯრედული მიგრაცია ჩანასახის ადრეული განვითარების პერიოდში.

ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი პროცესი ითრგუნება ციტოხალაზინ-B ანტიბიოტიკით აქტინის დესტრუქციის დროს.

აქტინის ფილამენტები განივზოლიან კუნთებში

- განივზოლიანი კუნთი მრავალი კუნთოვანი ბოჭკოსაგან შედგება.
- კუნთოვანი ბოჭკო ეს არის მრავალბირთვიანი სტრუქტურა, რომელიც 2 მკმ-ის დიამეტრის მქონე გრძელ ძაფებს შეიცავს. ამ ძაფებს მიოფიბრილები ეწოდება.
- ყოველი მიოფიბრილა ე.წ. სარკომერების ჯაჭვისაგან შედგება.
- სარკომერებში არჩევენ მუქ და ნათელ ზოლებს, რის გამოც მთელი კუნთი განივზოლიანობას იძენს. სარკომერი ნათელი, ოპტიკურად იზოტროპული (I) დისკოს 2 ნახევრიდან და ერთი მუქი, ანიზოტროპული (H) დისკოსაგან შედგება. ანიზოტროპულ დისკოში მიოზინის ძაფების სქელი კონებია წარმოდგენილი (მსხვილი ფილამენტები), ხოლო იზოტროპული დისკოები კი აქტინის ფილამენტებს (წვრილი ფილამენტები) შეიცავენ. მეზობელი სარკომერები ერთმანეთისგან Z ზოლით (ტელოფრაგმით) გამოეყოფა.
- აქტინი შეიძლება წარმოდგენილი იყოს გლობულარული ფორმით - 5ნმ დიამეტრის G-აქტინით, რომელიც პოლიმერიზაციის შედეგად ფიბრილარულ ანუ F-აქტინს წარმოქმნის.
- მიოზინის მოლეკულას აქვს გრძელი კუდი და გლობულარული თავი.
- მიოზინის მოლეკულების კუდები მსხვილი ფილამენტების შუა ნაწილში ერთიანდებიან, ისინი მსხვილ და წვრილ ფილამენტებს შორის ხიდაკებს წარმოქმნიან.
- მოსვენებულ მდგომარეობაში მიოზინის თავი ფოსფორილირებულია, თუმცა მის აქტინთან ურთიერთქმედებას ტროპონინ-ტროპომიოზინის კომპლექსი უშლის ხელს. აგზნების დროს ხდება კალციუმის ტროპონინთან დაკავშირება, ტროპონინი კი მოქმედებს ტროპომიოზინზე, სახელდობრ კი ისეთნაირად გაწევს მას, რომ შესაძლებელი გახდეს მიოზინის თავის დაკავშირება აქტინთან. ასეთი აქტინ-მიოზინის ურთიერთქმედების დროს, მიოზინის თავი უკავშირდება აქტინს და იწვევს მის შეცურებას მიოზინის ფილამენტის შიგნით, რა დროსაც იხარჯება ენერგია და ფოსფორილმიოზინი იშლება მიოზინად, ადფ და ფოსფატად.
- სხეულის გახევება სიკვდილის შემდეგ იმის გამო ვითარდება, რომ მიოზინის თავები ვერ სცილდებიან აქტინს ატფ-ის მიუწვდომლობის გამო. ასეთ მდგომარეობას rigor mortis ეწოდება.

შუალედური ფილამენტები

- შუალედური ფილამენტების სახელწოდება იქიდან გამომდინარეობს, რომ მათი ზომა მიკრომილაკებისა (20-30ნმ) და აქტინის ფილამენტების (5-7ნმ) ზომებს შორის შუალედურ მნიშვნელობებს იღებს. შუალედური ფილამენტები აღმოჩენილ იქნა თმაში, სადაც ისინი ცილა კერატინისაგან შედგება.

გავრცელება

- უჯრედების ცილების 1% შეადგენენ;
- სხვადასხვა უჯრედში აღმოჩენილია შუალედური ფილამენტების 50-მდე განსხვავებული გენი.

სტრუქტურა

შუალედური ფილამენტების სტრუქტურული ერთეული ორი α-სპირალისგან შემდგარი დიმერია. ორი პარალელურად ორიენტირებული α-სპირალის ჯაჭვი ეხვევა ერთმანეთს თოკის მაგვარი სტრუქტურის წარმოქმნით. საბოლოოდ 2 დიმერიდან ტეტრამერი მიიღება. ვინაიდან შუალედური ფილამენტების N და C ბოლოები განსხვავებულია, ხოლო დიმერები და ტეტრამერები ანტიპარალელურადაა დახვეული, თვით ფილამენტებს პოლარობა არ ახასიათებთ.

სპეციფიკური თვისებები

- თმის და ეპიდერმული უჯრედების შუალედური ფილამენტები არახსნადია, ბირთვის მემბრანის შიდა ზედაპირის ამომფენი ლამინის შუალედური ფილამენტები კი ხსნადია.
- სტრუქტურაში არჩევენ ცენტრალურ ღერძს, N-ტერმინალურ თავის დომენს და C-ტერმინალურ კუდს.

შუალედური ფილამენტების ტიპები

მორფოლოგიის და უჯრედში ლოკალიზაციის მიხედვით ანასხვავებენ შუალედური ფილამენტების ოთხ ტიპს:

1. **კერატინის ფილამენტები**
   - ასევე ციტოკერატინების სახელწოდებითაა ცნობილი;
   - ეპითელურ უჯრედებში 20 სხვადასხვა ტიპის ციტოკერატინია ნანახი; ამის გარდა აღწერილია სულ ცოტა 8 ტიპის ე.წ. მძიმე კერატინები, რომლებიც თმებსა და ფრჩხილებისთვისაა დამახასიათებელი
   - ძუძუმწოვრების ციტოკერატინები 47-58 kDa მასის პოლიპეპტიდებისაგან შედგება.
   - ციტოკერატინები α-ფიბრილარული ცილებია, რომლებიც კანის ეპიდერმისის რქოვანა ქერცლების შემადგენლობაში შედის.
2. **ნეიროფილამენტები**
   - მიკრომილაკებთან ერთად ნეიროფილამენტები წარმოქმნიან აქსონის, დენდრიტებისა და ნეირონის პერიკარიონის ციტოჩონჩხის შემადგენელ ნაწილს;

   - აქვთ 3 პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, რომელთა მოლეკულური მასა 20-68 kDa ფარგლებში მერყეობს.
3. გლიური ფილამენტები
   - ნაჩვენებია ასტროციტების ციტოპლაზმაში;
   - შედგება 51 kDa მოლეკულური მასის მქონე მეტად მჟავური ცილისაგან.
4. ჰეტეროგენული ფილამენტები
   - სხვადასხვა ცილისგან (დესმინი, ვიმენტინი, სიმენინი) შედგება;
   - დესმინი ნანახია განივზოლიან, გლუვ და გულის კუნთებში;
   - ვიმენტინი სხვადასხვა მეზენქიმურ უჯრედშია ნაპოვნი;
   - სინემინი დამახასიათებელია ჩონჩხის კუნთებისათვის.

3.3 უჯრედშორისი მატრიქსი

ქსოვილებს არა მხოლოდ უჯრედები ქმნიან. ქსოვილების მოცულობის დიდი ნაწილი უჯრედშორის სივრცეს უკავია. ეს უკანასკნელი შეიცავს მაკრომოლეკულებს, რომლებიც **უჯრედშორის მატრიქსს** წარმოქმნიან.

უჯრედშორისი მატრიქსი წარმოდგენილია მრავალფეროვანი ცილებითა და პოლისაქარიდებით, რომლებიც გამოიყოფა ადგილობრივი სეკრეციის შედეგად და მათი წარმომქმნელი უჯრედის ზედაპირთან სიახლოვეში ორგანიზებულ ქსელის მაგვარ სტრუქტურას წარმოქმნიან. უჯრედშორისი მატრიქსი უხვადაა წარმოდგენილი შემაერთებელ ქსოვილში, სადაც მისი მოცულობა უჯრედების მოცულობას აღემატება, რაც ქსოვილის ფიზიკურ თვისებებს განაპირობებს. უჯრედშორისი მატრიქსი მრავალ ორგანოშია წარმოდგენილი, დაწყებული კანითა და ძვლებით, დამთავრებული თავისა და ზურგის ტვინით.

უჯრედშორისი მატრიქსი შემდეგი თვისებებით ხასიათდება:

- უჯრედშორის მატრიქსს უჯრედები წარმოქმნიან.
- უჯრედშორისი სივრცის დიდი მოცულობა გლიკოზამინოგლიკანებით არის დაკავებული, რომლებიც ჰიდრატირებულ გელს ქმნიან. გლიკოზამინოგლიკანები დაუტოტავი პოლისაქარიდული ჯაჭვებია, რომლებიც დისაქარიდების განმეორებადი ერთეულებისაგან შედგება. მათი სახელწოდება გამომდინარეობს იქიდან, რომ განმეორებად დისაქარიდებში ერთ-ერთი შაქრის ნაშთი ყოველთვის ამინოშაქრით (N-აცეტილგლიკოზამინი, N-აცეტილგალაქტოზამინი) არის წარმოდგენილი. ეს ამინოშაქარი ხშირად სულფატირებულია. მეორე შაქარი, როგორც წესი, ურონის (გლუკურონის ან იდურონის) მჟავაა. რადგან შაქრების ნაშთების უმეტესობას სულფატის ან კარბოქსილის ჯგუფები გააჩნია, გლიკოზამინოგლიკანები ძლიერ დამუხტულია. დღეისათვის დადგენილია გლიკოზამინოგლიკანების ოთხი

ძირითადი ჯგუფი, ესენია: (1) ჰიალურონანი, (2) ქონდროიტინ-სულფატი ან დერმატან-სულფატი, (3) ჰეპარან-სულფატი და (4) კერატან-სულფატი.

- ვარაუდობენ, რომ ჰიალურონანი აადვილებს უჯრედების მიგრაციას მორფოგენეზის და ქსოვილების რეპარაციის დროს. ჰიალურონანს ასევე ჰიალურონის მჟავას ან ჰიალურონატს უწოდებენ. ეს ერთ-ერთი ყველაზე მარტივი აგებულების გლიკოზამინოგლიკანია. ის 25000 განმეორებადი არასულფატირებული დისაქარიდის თანმიმდევრობისაგან შედგება. ჰიალურონანი სხვადასხვა ქსოვილსა თუ ქსოვილურ სითხეშია ნანახი. ჰიალურონის მჟავით განსაკუთრებით მდიდარია ჩანასახოვანი ქსოვილები ადრეული ემბრიოგენეზის პერიოდში. ჰიალურონის მჟავა მთავარ როლს ასრულებს ქსოვილებისა და სახსრების მექანიკური ზეწოლისაგან დაცვაში.
- პროტეოგლიკანები ეს არის კორ-ცილასთან კოვალენტურად დაკავშირებული გლიკოზამინოგლიკანების კომპლექსი. ჰიალურონანის გარდა, ყველა სხვა გლიკოზამინოგლიკანი პროტეოგლიკანების შემადგენლობაშია ნანახი.
- პროტეოგლიკანები ცხოველური უჯრედების მნიშვნელოვან ნაწილს წარმოადგენენ. ისინი არეგულირებენ გამოყოფილი სასიგნალო მოლეკულების აქტიურობას. ასეთი გლიკოზამინოგლიკანები მეტად ორგანიზებულადაა წარმოდგენილი უჯრედშორის მატრიქსში. უჯრედის ზედაპირის პროტეოგლიკანები ასევე კორეცეპტორების როლს ასრულებენ.
- უჯრედშორისი მატრიქსის ძირითადი ცილაა კოლაგენი.

3.4 უჯრედული გაყოფა (მიტოზი და მეიოზი)

უჯრედის გაყოფა დედისეული უჯრედიდან ორი შვილეული უჯრედის წარმოქმნის პროცესია. ერთუჯრედიანებში უჯრედის გაყოფისას ახალი ორგანიზმის წარმოქმნა ხდება. მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების ონტოგენეზში უჯრედების გაყოფას განსაკუთრებული მნიშვნელობა ემბრიონული განვითარების დროს ენიჭება, როდესაც უჯრედების პროლიფერაცია ჩანასახის ზრდისა და განვითარების ერთ-ერთი ძირითადი კომპონენტია. ზრდასრულებში მიტოზი ასევე ზრდისა და რეგენერაციის პროცესებს უზრუნველყოფს.

უჯრედების ცხოვრებაში ორი ძირითადი პერიოდი არსებობს: M-ფაზა (მიტოზი) და ინტერფაზა. ეს ორი ფაზა უჯრედული ციკლის ნაწილია. სხვადასხვა უჯრედის უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობა მეტად განსხვავებულია.

არსებობს უჯრედების გაყოფის ორი ძირითადი ტიპი, სახელდობრ, **მიტოზი** და **მეიოზი.**

მიტოზი

მიტოზი ეს არის უჯრედული გაყოფა, რომლის დროსაც ხდება ქრომოსომთა რიცხვის შენარჩუნება. მიტოზის შედეგად მიღებული ორი შვილეული უჯრედი თავისი ხარისხობრივი და რაოდენობრივი მაჩვენებლებით ერთმანეთს და ასევე დედისეულ უჯრედს ემსგავსებიან.

მიტოზი შემდეგი ფაზებისგან შედგება (ნახ.17):

1. პროფაზა
2. მეტაფაზა
3. ანაფაზა
4. ტელოფაზა

1. პროფაზა

- უჯრედი გაყოფისათვის ემზადება.
- პროფაზის დასაწყისში ქრომოსომები ჯერ კიდევ თხელი და ნაკლებად სპირალიზებულია.
- შუა პროფაზის ქრომოსომები სპირალიზაციის შედეგად უფრო მსხვილი და დამოკლებულია.
- გვიან პროფაზაში კარგად ჩანს, რომ ქრომოსომა ორი ქრომატიდისაგან შედგება.
- ამ ეტაპზე ქრომატიდები ერთმანეთს მხოლოდ ცენტრომერების უბანში უკავშირდებიან.
- ქრომატიდები მიტოზური თითისტარის მიკრომილაკებს კინეტოქორის საშუალებით უკავშირდებიან.
- ხდება ბირთვული მემბრანის დისოციაცია.
- ქრება ბირთვაკი.

2. მეტაფაზა

- გვიანი პროფაზის და ადრეული მეტაფაზის დროს ჩნდება თითისტარის ძაფები.
- კინეტოქორის საშუალებით თითისტარას მიკრომილაკები ქრომოსომებს ცენტრომერების უბანში უკავშირდებიან.
- ქრომოსომები ეკვატორულ ფირფიტაზე ლაგდება.
- თითისტარის აპარატი, რომელიც ქრომოსომების ეკვატორულ ფირფიტაზე განთავსებას ემსახურება, ცენტროსომების დახმარებით ფორმირდება.
- ცენტროსომა შედგება ორი ცენტრიოლისაგან, რომლებიც თითისტარის წარმოქმნის დროს განიცდის განცალკევებას და ბირთვის ორ საწინააღმდეგო პოლუსზე ლაგდება.
- ცენტრიოლების დაშორების შემდეგ ყოველი ცენტრიოლიდან ვარსკვლავისებური სხივები გამოიჭიმება.
- ეს სხივები ერთიანდება და მიტოზურ თითისტარას წარმოქმნის.
- მეტაფაზის სტადიაზე ადვილად ხდება ქრომოსომების რიცხვის დათვლა.

3. ანაფაზა

- თითისტარის ფორმირების და ქრომოსომების მეტაფაზურ ფირფიტაზე დაწყობის შემდეგ ქრომატიდებს შორის კავშირი ირღვევა, რასაც მოჰყვება შვილეული ქრომოსომების გამოცალკევება.
- შვილეული ქრომოსომები იწყებენ მოძრაობას თითისტარის საპირისპირო პოლუსებისკენ.
- ქრომოსომების მოძრაობა ხორციელდება თითისტარის ძაფების შეკუმშვის მეშვეობით.

4. ტელოფაზა

- ქრომოსომების ყოველი ჯგუფის ირგვლივ იწყება ბირთვული მემბრანის წარმოქმნა და, შესაბამისად, თითო პოლუსზე ახალი ბირთვის ჩამოყალიბება.
- ჩნდება ბირთვაკები, ამ პროცესს ნუკლეოლოგენეზი ეწოდება.

ციტოკინეზი

- ბირთვის ორ ნაწილად გაყოფას კარიოკინეზი ეწოდება. კარიოკინეზს მოჰყვება ციტოკინეზი ანუ ციტოპლაზმის გაყოფა ორ შვილეურ უჯრედს შორის.
- ციტოპლაზმის გაყოფა ორი გზით მიმდინარეობს:
- უჯრედული ღარი - მაგ. ცხოველური უჯრედები. ცხოველების შემთხვევაში უჯრედის გარეთა შრეები უფრო დრეკადია უჯრედული კედლის არარსებობის გამო. ამ შემთხვევაში უჯრედის ეკვატორულ უბანში ჩნდება რგოლური შევიწროება, რომელიც ღრმავდება მანამდე, სანამ არ მოხდება ორი უჯრედის ერთმანეთისგან განცალკევება.
- უჯრედული ფირფიტა - მაგ. მცენარეული უჯრედები. მცენარეული უჯრედების ცენტრში წარმოიქმნება ხისტი უჯრედული ფირფიტა, რომელიც პერიფერიისკენ ვრცელდება.

მიტოზის პროცესი 10 წუთიდან რამდენიმე საათამდე გრძელდება. ქრომოსომების რაოდენობა (დიპლოიდური ნაკრები) ზოგიერთ მნიშვნელოვან ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედში შემდეგია:

ადამიანი - 46; ვირთაგვა - 42; ბოცვერი - 44; Drosophila melanogaster – 8; ბრინჯი - 24; ხორბალი - 42; ბარდა - 14.

მიტოზის მნიშვნელობა

- წარმოადგენს ორგანოებისა და ქსოვილების ზრდის და რეგენერაციის საშუალებას;
- მიტოზის შედეგად ხდება ძველი და მკვდარი უჯრედების ახალი უჯრედებით ჩანაცვლება;
- უზრუნველყოფს გენეტიკური მასალის გადაცემას თაობიდან თაობაში;

- პრიმორდიალური სასქესო უჯრედები მიტოზურად იყოფიან თავისი რიცხვის მკვეთრი გაზრდის მიზნით.

მეიოზი

მეიოზური გაყოფა ორი თანმიმდევრული გაყოფისაგან შედგება, მათ შესაბამისად პირველი და მეორე მეიოზური გაყოფა ეწოდება.

პირველ მეიოზურ გაყოფას ასევე ჰეტეროტიპური გაყოფა ეწოდება. ამ დროს ხდება ქრომოსომების რაოდენობის შემცირება და, მაშასადამე, ორი ჰაპლოიდური უჯრედის წარმოქმნა.

მეორე მეიოზური გაყოფის დროს, რომელსაც აგრეთვე ჰომოტიპური გაყოფა ეწოდება, ორი ჰაპლოიდური უჯრედი გაყოფის შედეგად ოთხ ჰაპლოიდურ უჯრედს იძლევა.

I მეიოზური (რედუქციული) გაყოფა (ნახ.18)

I მეიოზური გაყოფა შემდეგი ფაზებისაგან შედგება:

(ა) პროფაზა I
(ბ) მეტაფაზა I
(გ) ანაფაზა I
(დ) ტელოფაზა I

(ა) პროფაზა I

- ეს რთული და მეტად ხანგრძლივი და მნიშვნელოვანი ფაზაა, რომლის დროსაც თავს იჩენენ ისეთი ციტოგენეტიკური პროცესები, როგორიცაა სინაფსისი (ჰომოლოგიური ქრომოსომების დროებითი წყვილ-წყვილად დაახლოება), კროსინგოვერი და ა.შ.
- ეს ყველაზე ხანგრძლივი მეიოზური ფაზაა, რომელიც მრავალმხრივ განსხვავდება მიტოზური პროფაზისაგან. ის ხუთ ფაზას მოიცავს:
  i. ლეპტოტენა (ან ლეპტონემა)
  ii. ზიგოტენა (ზიგონემა)
  iii. პაქიტენა (პაქინემა)
  iv. დიპლოტენა (დიპლონემა)
  v. დიაკინეზი

i. ლეპტოტენა

- ინტერფაზის შემდგომ პირველი მეიოზური ფაზაა;
- ამ სტადიაზე ქრომოსომები გამოიყურება როგორც გრძელი ძაფისმაგვარი სუსტად დაკლაკნილი სტრუქტურები;
- ძაფისებურ ქრომოსომაზე მკაფიოდ ჩანს მძივის მაგვარი სტრუქტურები - ქრომომერები;
- ცენტრიოლები ორმაგდება და მიგრირებს პოლუსებისაკენ.

ii. ზიგოტენა.

- მიმდინარეობს ჰომოლოგიური ქრომოსომების შეწყვილება, რასაც სხვაგვარად სინაფსისი ეწოდება.
- სინაფსისი ჰომოლოგიური ქრომოსომების გასწვრივ ერთ ან რამოდენიმე წერტილში იწყება. არჩევენ სინაფსისის სამ ტიპს, სახელდობრ: 1. პროტერმინალური სინაფსისი; 2. პროცენტრული სინაფსისი; 3. შემთხვევითი სინაფსისი.
- ჰომოლოგიური ქრომოსომები ერთმანეთს სქელი, ცილოვანი ქსელის - სინაფტონემალური კომპლექსის მეშვეობით უკავშირდება.

iii. პაქიტენა

- ჰომოლოგიური ქრომოსომები სპირალურად ეხვევა ერთმანეთს, ასე რომ ამ ეტაპზე შეუძლებელი ხდება მათი ერთმანეთისგან გარჩევა.
- პაქიტენის ფაზის შუაში ყოველი ჰომოლოგიური ქრომოსომა ორ ქრომატიდად იყოფა.
- პაქიტენის დროს ადგილი აქვს მეტად მნიშვნელოვან გენეტიკურ მოვლენას, რომელსაც „კროსინგოვერი“ ეწოდება და რომლის დროსაც ხდება ორი მშობლისგან მიღებული ჰომოლოგიური ქრომოსომების მემკვიდრული მასალის გადანაწილება და ურთიერთგაცვლა.
- ორი ქრომატიდა ცენტრომერის უბანში ერთმანეთთან კავშირში რჩება. ამ სინაფტონემალურ კომპლექსს ბივალენტურს უწოდებენ, ვინაიდან ის ორი ქრომოსომისაგან ან ოთხი ქრომატიდისგან შედგება.
- ქრომატიდების გაყოფის შემდეგ ქრომატიდული ფრაგმენტების გაცვლა ჰომოლოგიური ქრომოსომების არაშვილეულ ქრომატიდებს შორის ხდება.
- ქრომატიდების ფრაგმენტების ერთმანეთთან დაკავშირება ფერმენტ ლოგაზას მეშვეობით ხდება.
- ჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდებს შორის მემკვიდრული მასალის ურთიერთგაცვლას კროსინგოვერი ეწოდება.

iv. დიპლოტენა

- მკაფიოდ ჩანს ტეტრადას ქრომატიდები.
- სინაფტონემალური კომპლექსი იშლება გადაჯვარედინებული ჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდების გათავისუფლებით. ეს უკანასკნელები ერთმანეთს უკავშირდება ერთ ან რამდენიმე წერტილში, რომლებსაც ქიაზმები ეწოდება.
- ამ წერტილებში კროსინგოვერი მიმდინარეობს.

- ადგილი აქვს ქრომოსომების ადგილობრივ დეკონდენსაციას, რაც აადვილებს რნმ-ის სინთეზს და უჯრედების ზრდას (ლამპრის ჯაგრისისებური ქრომოსომები).

v. დიაკინეზი.

- ბივალენტური ქრომოსომები კიდევ უფრო კონდენსირდებიან და ბირთვში თანაბრად ნაწილდებიან.
- ბირთვაკი ქრება.
- ბირთვული მემბრანა იშლება.
- ქიაზმები ცენტრომერებიდან ქრომოსომების ბოლოებისაკენ გადაინაცვლებს, შუალედური ქიაზმები ქრება.
- ქიაზმების მოძრაობას ტერმინალიზაცია ეწოდება.

(ბ) მეტაფაზა I

- მეტაფაზა შედგება პრომეტაფაზისაგან, რომლის დროსაც ბირთვული მემბრანა იშლება და მიკრომილაკები უჯრედის საპირისპირო პოლუსზე დალაგებულ ცენტრიოლს შორის თითისტარას წარმოქმნიან.
- თითისტარას ძაფები უკავშირდებიან ქრომოსომებს, ხოლო ქრომოსომები ეკვატორზე ლაგდებიან.
- თითისტარას მიკრომილაკები უკავშირდება ტეტრადების ჰომოლოგიური ქრომოსომების ცენტრომერებს.
- ყოველი ტეტრადას ცენტრომერა საწინააღმდეგო პოლუსისკენაა მიმართული.
- ურთიერთსაპირისპირო ძალები ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს შორის ძლიერდება და ქრომოსომები მზადაა გაყოფისათვის.

(გ) ანაფაზა I

- ამ ფაზის დროს ხდება ქრომოსომთა რიცხვის რედუქცია.
- ჰომოლოგიური ქრომოსომები მიემართებიან ურთიერთსაწინააღმდეგო პოლუსებისაკენ, ასე რომ ხდება დედის და მამის ქრომოსომების გაყოფა.
- მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ქრომოსომების კონიუგაციის გამო პოლუსებისაკენ მთლიანი, ორი ქრომატიდისგან შემდგარი ქრომოსომა მიემართება (ამით I მეიოზი მიტოზისგან განსხვავდება)

(დ) ტელოფაზა I

- ტელოფაზა I ბოლოვდება პოლუსებთან ქრომოსომების ჰაპლოიდური ნაკრების გადანაცვლებით.
- ჩნდება ბირთვი და ბირთვაკი.

კარიოკინეზს თანსდევს ციტოკინეზი, რომლის დროსაც წარმოიქმნება ორი ჰაპლოიდური ქრომოსომთა ნაკრების მქონე უჯრედი.

ორივე შვილეული უჯრედი მცირე ხნის განმავლობაში მოსვენებულ მდგომარეობაში იმყოფება, რის მერე მეორე მეიოზური გაყოფა იწყება. ამ დროს დნმ-ის რეპლიკაცია არ ხდება.

II მეიოზური (ეკვაციური) გაყოფა.

მეორე მეიოზური გაყოფა, რომელსაც ასევე ჰომოტიპური გაყოფა ეწოდება, სრულდება ყოველი ჰაპლოიდური უჯრედიდან ორი ჰაპლოიდური უჯრედის წარმოქმნით. მეორე მეიოზური გაყოფა შემდეგ ფაზებს მოიცავს (ნახ.19):

(ა) პროფაზა II
(ბ) მეტაფაზა II
(გ) ანაფაზა II
(დ) ტელოფაზა II

(ა) პროფაზა II

- ყოველი ცენტრიოლი ორად იყოფა და, მაშასადამე, ცენტრიოლების ორი წყვილი ფორმირდება.
- ცენტრიოლების წყვილები საწინააღმდეგო პოლუსებისკენ მიგრირებენ.
- პირველი მეიოზური თითისტარის პერპენდიკულარულად მიკრომილაკები ახალ თითისტარას წარმოქმნიან.
- ქრება ბირთვული მემბრანა და ბირთვაკი.
- ორი ქრომატიდისგან შემდგარი ქრომოსომები მოკლე და მსხვილია.

(ბ) მეტაფაზა II

- ქრომოსომები თითისტარას ეკვატორზე ლაგდებიან მეტაფაზური ფირფიტის წარმოქმნით.
- თითისტარას მიკრომილაკები ქრომოსომების ცენტრომერებს უკავშირდებიან.

(გ) ანაფაზა II

- შვილეული ქრომოსომები ქრომოსომული მიკრომილაკების დამოკლების შედეგად საწინააღმდეგო პოლუსებისკენ მოძრაობს.
- ადგილი აქვს თითისტარას ინტერზონული მიკრომილაკების გაჭიმვას.

(დ) ტელოფაზა II

- ქრომატიდები, რომლებიც უკვე ქრომოსომებად იწოდებიან, საწინააღმდეგო პოლუსებისკენ მოძრაობენ.
- ქრომოსომების ირგვლივ ბირთვის მემბრანა ფორმირდება.

- რიბოსომული რნმ-ის სინტეზის და რიბოსომული ცილების დაგროვების შედეგად ჩნდება ბირთვაკი.
- კარიოკინეზის შემდეგ ყოველ ჰაპლოიდურ მეიოზურ უჯრედში იწყება ციტოკინეზი, რომლის შედეგია ოთხი ჰაპლოიდური უჯრედის წარმოქმნა.
- I პროფაზაში მომხდარი კროსინგოვერის გამო ამ უჯრედებში ქრომოსომთა განსხვავებული ტიპებია.

მეიოზის მნიშვნელობა

- მეიოზი უზრუნველყოფს ორგანიზმებში ქრომოსომთა გარკვეული და უცვლადი რაოდენობის შენარჩუნებას.
- ქროსინგოვერის გზით მეიოზი უჯრედებს შორის გენთა ურთიერთგაცვლას და, შესაბამისად, ორგანიზმებს შორის გენეტიკურ ვარიაბელურობას უზრუნველყოფს.
- გენეტიკური ვარიაბელურობა ევოლუციის პროცესის საწინდარია.

3.5 უჯრედული ციკლი და უჯრედული ციკლის მაკონტროლებელი მოლეკულური მექანიზმები.

სრული უჯრედული ციკლი ოთხი ფაზისგან შედგება (ნახ.20), ესენია:

- G_1 (Gap 1)
- S
- G_2 (Gap 2)
- M

ერთად აღებული პირველი სამი ფაზა **ინტერფაზად** იწოდება. ინტერფაზა არის მოსვენების პერიოდი უჯრედის ორ გაყოფას შორის. M ფაზა არის უჯრედის გაყოფის პროცესი შვილეულ უჯრედებში ახალი ბირთვების წარმოქმნამდე, შესაბამისად ეს ფაზა მიტოზს შეესაბამება და სწორედ ამიტომ მას M ფაზას უწოდებენ.

- ინტერფაზას აქტიური მეტაბოლიზმი ახასიათებს, ამ დროს ადგილი აქვს დნმ, რნმ და ცილების სინთეზს.

ცხრილი 5. მიტოზის და მეიოზის შედარება

მიტოზი	*მეიოზი*
1. მიტოზი მიმდინარეობს სომატურ უჯრედებში	მეიოზი მიმდინარეობს სასქესო უჯრედებში (სათესლეებსა და საკვერცხეებში)
2. მთელი პროცესი გაყოფის ერთ აქტს მოიცავს	მთელი პროცესი ორ თანმიმდევრულ გაყოფას მოიცავს

პროფაზა	
3. პროფაზა ხანმოკლეა და არ იყოფა ქვეფაზებად.	პროფაზა ხანგრძლივია და მოიცავს ხუთ თანმიმდევრულ სტადიას, სახელდობს ლეპტოტენას, ზიგოტენას, პაქიტენას, დიპლოტენას და დიაკინეზს.
4. ჰომოლოგიური ქრომოსომები ქრომატიდებად ორმაგდება. ქრომატიდები ერთმანეთს გამოეყოფიან და ახალ ქრომოსომებს წარმოქმნიან. ყოველი შვილეული უჯრედი მიიღებს ჰომოლოგიური ქრომოსომების თითო ქრომატიდას და, შესაბამისად, შეინარჩუნებს ქრომოსომთა იგივე რაოდენობას, რაც მშობლიურ უჯრედს ჰქონდა.	შვილეულ უჯრედში ჰომოლოგიური ქრომოსომებიდან მხოლოდ ერთი, მამის ან დედის, ქრომოსომა გადადის. შვილეული უჯრედი, მაშასადამე, ღებულობს ჰომოლოგიური ქრომოსომების წყვილიდან მხოლოდ ერთ, მამის ან დედის, ქრომოსომას და შესაბამისად ქრომოსომების რაოდენობა შვილეულ უჯრედებში მშობლიური უჯრედის ქრომოსომთა ნაკრების ნახევრის ტოლი იქნება.
5. ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს შორის გადაჯვარედინება და სინაფსისი არ ხდება.	ჰომოლოგიურ ქრომოსომები განიცდიან გადაჯვარედინებას და სინაფსისს.
6. ადრეულ პროფაზაში ხდება ქრომოსომების გაორმაგება.	გვიან პროფაზაში (პაქინემის სტადიაზე) ქრომოსომთა გაორმაგება ან გახლეჩა მიმდინარეობს.
7. ქიაზმების წარმოქმნა ან ქროსინგოვერი არ ხდება	მიმდინარეობს ქიაზმების წარმოქმნა და ქროსინგოვერი
8. ჰომოლოგიურ ქრომოსომთა შორის გენეტიკური მასალის ურთიერთგაცვლა არ ხდება.	მიმდინარეობს ჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდებს შორის გენეტიკური მასალის ურთიერთგაცვლა.

მეტაფაზა	
9. ქრომატიდები დიადებს წარმოქმნიან 10. ქრომოსომების ცენტრომერები ეკვატორისკენ, ხოლო ქრომოსომების მხრები კი პოლუსებისკენაა მიმართული.	ჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდები ტეტრადებს წარმოქმნიან. ქრომოსომების ცენტრომერები ორიენტირებულია პოლუსებისკენ, ხოლო ქრომოსომთა მხრები კი ეკვატორისაკენ.
ანაფაზა	
11. ქრომოსომები მონადების სახითაა წარმოდგენილი (ერთ ქრომატიდას შეიცავენ) 12. ქრომოსომები გრძელია და თხელი	ქრომოსომები წარმოქმნიან ბიადებს (აქვთ ორი ქრომატიდა და ერთი ცენტრომერა) ქრომოსომები მოკლეა და მსხვილი
ტელოფაზა	
13. ამ ფაზის ამოვარდნა არასოდეს არ ხდება	პირველი ტელოფაზა ზოგჯერ ამოვარდნილია.
მნიშვნელობა	
14. შვილეული უჯრედები ღებულობენ ქრომოსომთა ისეთივე ნაკრებს, რაც მშობლიურ უჯრედს ჰქონდა. 15. მიტოზური გაყოფის შედეგად ერთი დიპლოიდური უჯრედი ორ დიპლოიდურ უჯრედს წარმოქმნის.	შვილეულ უჯრედებში მშობლიურ უჯრედთან შედარებით ქრომოსომთა ნაკრები განახევრებულია. მეიოზური გაყოფის შედეგად ერთი დიპლოიდური უჯრედი ოთხ ჰაპლოიდურ უჯრედს წარმოქმნის.

- სხვადასხვა ეუკარიოტული უჯრედის უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობა სხვადასხვაა.
- უჯრედები ასევე განსხვავდებიან უჯრედული ციკლის ოთხი ფაზის შედარებითი წილით.
- მაშასადამე, გაყოფად უჯრედებში უჯრედი თანმიმდევრულად გადის უჯრედული ციკლის შემდეგ ფაზებს:

1. ინტერფაზა (G_1, S, G_2)
2. მიტოზი (კარიოკინეზი, რომელსაც ციტოკინეზი მოჰყვება)

ინტერფაზა

- ინტერფაზის დროს არ ხდება არც ქრომოსომების და არც ციტოპლაზმის გაყოფა, ბირთვი და ციტოპლაზმა მეტაბოლურად აქტიურია, იზრდება ბირთვული და ასევე ციტოპლაზმური კომპონენტების მოცულობა.
- ინტერფაზა უჯრედული ციკლის ყველაზე ხანგრძლივი ფაზაა, ის ორ-სამ დღეს გრძელდება და სამ ქვეფაზას მოიცავს.
- G_1: მიმდინარეობს დნმ გაორმაგებისთვის აუცილებელი ფერმენტების სინთეზი და სუბსტრატის ორგანიზაცია. ადგილი აქვს რრნმ, ტრნმ, მრნმ ტრანსკრიპციას და ცილის სინთეზს.
- S ფაზა : მიმდინარეობს დნმ რეპლიკაცია.
- G_2: პოსტ-დნმ-სინთეზური ფაზა - ხდება ციტოპლაზმის და ორგანელების ზრდა და მაკრომოლეკულების სინთეზი.
- ბირთვი ინტაქტურია, ხდება ქრომოსომების დეკონდენსაცია, ისინი ჩანს როგორც გრძელი, დაკლაკნილი და რთულად გასარჩევი ქრომატინის ფიბრილები.

ცხრილი 6. სხვადასხვა ეუკარიოტული უჯრედი განსხვავდება უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობით (წუთები).

უჯრედი	პროფაზა	მეტაფაზა	ანაფაზა	ტელოფაზა
ხახვის ფესვი თაგვის ელენთა ბარდას ენდოსპერმი	71 20-35 18	65 6-15 17-38	2.4 8-14 14-26	3.8 9-26 28

თავი IV
უჯრედის შიდა მოლეკულური ორგანიზაცია

4.1 მემბრანის ორგანიზაციის პრინციპები.

ბიოლოგიური მემბრანები შედგება ლიპიდების ორმაგი შრისაგან, რომელშიც მემბრანული ცილებია ჩაძირული. ბილიპიდური შრე თხევადია, ლიპიდებს მოლეკულებს ორმაგი შრის ფარგლებში სწრაფი გადაადგილება შეუძლიათ. ლიპიდური მოლეკულების უმეტესობას შეუძლიათ ერთი შრიდან მეორე შრეში სპონტანური „გადახტომა“, თუმცა ეს იშვიათი მოვლენაა. მემბრანული ლიპიდები ამფიპათური მოლეკულებია, ზოგიერთი მათგანი (მაგ. ფოსფოლიპიდები) წყალში მოთავსებისას სპონტანურად აეწყობიან ორმაგი შრის წარმოქმნით. ასევე დახურული კომპარტმენტების ლიპიდური შრე გაწყვეტისას სპონტანურად ხელახლა იხურება. არსებობს მემბრანული ლიპიდების სამი ძირითადი კლასი, ესენია: ფოსფოლიპიდები, ქოლესტეროლი და გლიკოლიპიდები. მემბრანის შიგნითა და გარეთა მონოშრეების აგებულება განსხვავებულია, რაც მემბრანის ორი ზედაპირის განსხვავებულ ფუნქციას გამოხატავს. სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში მემბრანის ლიპიდების შემადგენლობა განსხვავებულია, ასევე განსხვავებული სტრუქტურა აქვთ ერთი და იგივე ეუკარიოტული უჯრედის სხვადასხვა მემბრანას. ზოგიერთი მემბრანული ცილა თავისი ფუნქციონირებისათვის მოითხოვს სპეციფიკურ ლიპიდთა ჯგუფს, რომელიც სხვადასხვა მოლეკულისგან შედგება.

როგორც პროკარიოტული, ასევე ეუკარიოტული უჯრედი შემოსაზღვრულია პლაზმური მემბრანით, რომელიც ფიზიკურად გამიჯნავს ციტოპლაზმას გარე გარემოსაგან. პლაზმური მემბრანა არის ულტრათხელი, ელასტიური, დინამიკური სტრუქტურა, რომელიც შერჩევითი გამტარებლობით ხასიათდება და სატრანსპორტო და ბარიერულ ფუნქციას ასრულებს. ის ლიპიდების მოლეკულების (ფოსფოლიპიდები და ქოლესტეროლი), ცილებისა და ნახშირწყლებისგან შემდგარი თხევად-მოზაიკური წარმონაქმნია. პლაზმური მემბრანა აკონტროლებს საკვები მასალისა და მეტაბოლიზმის საბოლოო პროდუქტების ტრანსპორტს და ემსახურება იონთა კონცენტრაციის სხვაობის შენარჩუნებას უჯრედის შიდა და გარე გარემოს შორის (ნახ.21). პლაზმური მემბრანა აღიქვამს გარე სიგნალებს, როგორიცაა, მაგალითად, ჰორმონები. ყველა ბიოლოგიური მემბრანა, რომელიც შემოსაზღვრავს ეუკარიოტული უჯრედის ორგანელებს, როგორიცაა მიტოქონდრიები, ქლოროპლასტი, ბირთვი, გოლჯის აპარატი, ლიზოსომები, პეროქსისომები და სხვა, პლაზმური მემბრანის მსგავსი სტრუქტურისაა, თუმცა განსხვავებული გამტარებლობით და, შესაბამისად, ფუნქციებით ხასიათდებიან.

ტერმინი „პლაზმური მემბრანა“ 1855 წელს იყო შემოთავაზებული კ.ნაგელისა და კ.კრამერის მიერ. პლაზმურ მემბრანას ასევე ციტოპლაზმური მემბრანა, უჯრედული მემბრანა ან პლაზმალემა ეწოდება. ტერმინი „პლაზმალემა“1931 წელს ჯ.კ.პლოუმ შემოიტანა.

პლაზმური მემბრანის შესწავლა

სხვადასხვა უჯრედის პლაზმური მემბრანის სტრუქტურა შესწავლილი იყო მემბრანების ცოცხალი სისტემებიდან გამოყოფის და ასევე შესაბამისი მოლეკულებიდან მემბრანების ხელოვნური სინთეზის გზით. გამოყოფილი და გასუფთავებული მემბრანები შემდგომში შეისწავლება ბიოქიმიისა და ბიოფიზიკის მეთოდების გამოყენებით. პლაზმური მემბრანის სტრუქტურისა და შემადგენლობის შესწავლა ელექტრონული მიკროსკოპიის, ფერმენტული ანალიზის და ზედაპირული ანტიგენების ტოპოლოგიის დადგენის მეთოდებით ხდება. პლაზმური მემბრანის სინჯები ძუძუმწოვრების ერითროციტებიდან და ნერვული ბოჭკოს მიელინური გარსიდან არის აღებული. ექსპერიმენტებში ერითროციტების გამოყენება იმით არის განპირობებული, რომ ა) ადვილია მათი მოპოება, ბ) ისინი არ შეიცავენ უჯრედშიდა ორგანელებს ან მემბრანებს და გ) ერითროციტების მემბრანა საკმაოდ მკვრივია და, მაშასადამე, რთულად დასაშლელია.

ერითროციტების პლაზმური მემბრანის გამოყოფა ე.წ. ჰემოლიზის მეთოდით ხორციელდება. ჰემოლიზი ეს არის პროცესი, რომლის დროსაც უჯრედებს ამუშავებენ ჰიპოტონური ხსნარებით, რომლებიც უჯრედების გასკდომას და მათ მიერ ჰემოგლობინის დაკარგვას იწვევენ. მიღებულ მემბრანას წითელი უჯრედების „ჩრდილს“ უწოდებენ. თუ ჰემოლიზი რბილ პირობებშია ჩატარებული, გარკვეული დამუშავების შედეგად შესაძლებელია მემბრანის განვლადობის აღდგენა. ასეთი სახით დამუშავებულ მემბრანას აღდგენილი ჩრდილი ეწოდება. თუ ჰემოლიზი უფრო ძლიერია, მემბრანის აღდგენის შესაძლებლობა არ არსებობს და მიღებულ მემბრანას თეთრ ჩრდილს უწოდებენ. აღდგენილი ჩრდილები გამოიყენება მემბრანის ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლების შესასწავლად, მაშინ როდესაც თეთრი ჩრდილები მემბრანის მხოლოდ ბიოქიმიური თვისებების შესწავლის საშუალებას იძლევა.

ცხრილი 7. პლაზმური მემბრანის ქიმიური შემადგენლობა

მემბრანა	ცილები %	ლიპიდები %	ნახშირწყლები %
1.მიელინი (ნერვული უჯრედი)	18	79	3
2.თაგვის ღვიძლი	44	52	4
3.ამება	54	42	4
4.ადამიანის ერითროციტი	52	40	8
5.მიტოქონდრიების შიდა მემბრანა	76	24	0

ლიპიდები

პლაზმურ მემბრანაში და ასევე სხვა მემბრანებში ლიპიდების ოთხი ძირითადი კლასი გვხვდება. ესენია ფოსფოლიპიდები, სფინგოლიპიდები, გლიკოლიპიდები და სტეროლები. ოთხივე კლასის ლიპიდები ამფიპათურია - ისინი სხვადასხვა პროპორციით როგორც ჰიდროფილურ, ასევე ჰიდროფობულ დომენებს შეიცავენ. ფოსფოლიპიდები შეიძლება იყოს მჟავური, როგორც სფინგომიელინი, ან ნეიტრალური, როგორც ფოსფატიდილ-ქოლინი, ფოსფატიდილ-სერინი და სხვა. მემბრანის სხვა მნიშვნელოვან კომპონენტს ქოლესტეროლი წარმოადგენს. ის უხვადაა წარმოდგენილი ძუძუმწოვრების უჯრედებში და საერთოდ არ არის პროკარიოტებში.

ცილები

მემბრანაში წრამოდგენილია ორი ძირითადი ტიპის ცილები, ესენია ინტეგრალური და პერიფერიული ცილები. მათ შორის განირჩევა ექტოპროტეინები, რომლებიც პლაზმური მემბრანის უჯრედის გარე ზედაპირზეა მოთავსებული. ინტეგრალური ცილები მემბრანასთან მჭიდროდაა დაკავშირებული, მაშინ როდესაც პერიფერიული ცილების მემბრანის ლიპიდებთან კავშირი უფრო სუსტია და ელექტრო-სტატიკური ზემოქმედების შედეგად ხორციელდება. ფუნქციის მიხედვით არჩევენ ცილების სამ ტიპს: სტრუქტურული ცილები, ფერმენტები და სატრანსპორტო ცილები (პერმეაზები ან გადამტანი ცილები).

ნახშირწყლები

ნახშირწყლები მხოლოდ პლაზმურ მემბრანაშია წარმოდგენილი. ეს მოკლე, დაუტოტავი ან დატოტვილი შაქრების (ოლიგოსაქარიდების) ჯაჭვებია, რომლებიც ან გარეთა ექტოპროტეინებს (გლიკოპროტეინები) ან პლაზმური მემბრანის გარეთა ზედაპირის ფოსფოლიპიდების პოლარულ ბოლოებს (გლიკოლიპიდები) უკავშირდებიან. ნახშირწყლები არ მოიპოვება არც ციტოპლაზმურ მემბრანებში და არც პლაზმური მემბრანის შიგნითა ზედაპირზე. პლაზმური მემბრანის ოლიგოსაქარიდების ყველა ტიპი ექვსი ძირითადი შაქრის სხვადასხვა კომბინაციებით იქმნება. ეს შაქრებია: D-გალაქტოზა, D-მანოზა, L-ფრუქტოზა, N-აცეტილნეირამინის მჟავა, N-აცეტილ-D-გლუკოზამინი და N-აცეტილ-D-გალაქტოზამინი.

ფერმენტები

პლაზმური მემბრანის მნიშვნელოვან ფერმენტებს მიეკუთვნება: აცეტილ-ფოსფატაზა, აცეტილ-ქოლინესთერაზა, მჟავე ფოსფატაზა, ადენოზინ-ტრიფოსფატაზა, რნმაზა, ალკალინ-ფოსფატაზები, ამინოპეპტიდაზები, ლაქტაზა, მალტაზა, სიალიდაზა და პროტეინკინაზა.

4.2 ტრანსპორტი უჯრედული მემბრანის გავლით. პასიური ტრანსპორტი (პასიური დიფუზია)

მცირე ზომის დაუმუხტავი მოლეკულების ტრანსპორტი.

- პასიური ტრანსპორტი არის ხსნადი ნივთიერების მოლეკულების გადატანა მაღლიდან დაბალი კონცენტრაციის გარემოში, ვიდრე კონცენტრაცია არ გათანაბრდება;
- პროცესი პრაქტიკულად არ მოითხოვს გადამტანი ცილების გამოყენებას;
- მაგალითი - ძუძუმწოვრებში გლუკოზის პასიური ტრანსპორტერები.

თავისუფალი ენერგია ანუ ქიმიური პოტენციალის სხვაობა (ΔG) და ნაკადის სიჩქარე (Jc) (დაუმუხტავი მოლეკულისთვის) შემდეგი ფორმულებით გამოითვლება:

$\Delta G_2 - G_1 = RT[n[C_2]/[C1]$ და $Jc = -P\{[C_2] - [C_1]\}$

$[C_1]$ და $[C_2]$ = კონცენტრაცია მემბრანის ორივე ზედაპირზე
$[C_2] - [C_1]$ = კონცენტრაციის სხვაობა
G_1 და G_2 = პოტენციალები მემბრანის ორივე ზედაპირზე
R = აირის კონსტანტა (2 კალ$^{-1}$/მოლ$^{-1}$)
T = აბსოლუტური ტემპერატურა
P = განვლადობის კოეფიციენტი (სმ/წამ)
P = კონსტანტა (დამოკიდებულია წყლის მოლეკულების წყალ-ხსნარიდან გამოსვლის და ჰიდროფობულ მემბრანაში გავლის მზაობაზე)
P დამოკიდებულია სამ ფაქტორზე, სახელდობრ k, D და X-ზე.
ეს დამოკიდებულება შემდეგნაირად გამოისახება:

$P = kD/X$,

სადაც

P = გაყოფის კოეფიციენტი,
k = წყლის ხსნადობა ჰიდროფობულ ხსნარში/ წყლის მოლეკულების ხსნადობა,
D = დიფუზიის კოეფიციენტი,
X = მემბრანის სისქე.

დამუხტული მოლეკულების ტრანსპორტი

დამუხტული მოლეკულების ტრანსპორტი დამოკიდებულია ელექტროქიმიურ პოტენციალზე, რაც შემდეგი განტოლებით გამოისახება:

ელექტროქიმიური პოტენციალი $\Delta G = G_2 - G_1 = RT[n[C_2]/[C_1] + zFV$

$V = V_2 - V_1$
z = სატრანსპორტო მოლეკულის მუხტი
F = ფარადეის კონსტანტა
V = ელექტრულ პოტენციალთა სხვაობა (ძაბვის სხვაობა) მემბრანის ორივე ზედაპირზე
zFV = მუხტის გადატანა პოტენციალთა სხვაობის მოხედვით, რომელიც დამოკიდებულია „z“ და „V“-ზე, თუ „F“ კონსტანტაა.

თუ II ზედაპირის (V_2) პოტენციალი უფრო მაღალია, ვიდრე I ზედაპირის პოტენციალი (V_1), მაშინ V = პოზიტიურია (იონები გადაადგილდება II ზედაპირიდან 1 ზედაპირისაკენ)

თუ I ზედაპირის (V_1) პოტენციალი უფრო მაღალია, ვიდრე II ზედაპირის პოტენციალი (V_2), V = უარყოფითია (იონები გადაადგილდებიან 1 ზედაპირიდან 2 ზედაპირისაკენ).

პასიური ტრანსპორტი - იონური არხები

- იონების ტრანსპორტი უჯრედულ მემბრანებში მრავალი ბიოლოგიური პროცესის აღმოცენებას განაპირობებს;
- მოიცავს პასიურ პროცესებს, როგორიცაა **სიმპორტი** ან **ანტიპორტი** (ნახ.22) **გაიოლებული დიფუზიის** დროს;
- გაიოლებული დიფუზია ხორციელდება ინტეგრალური მემბრანული ცილების - იონური არხების მეშვეობით;
- იონური არხი წარმოდგენილია არხის ცალკეული ცილით. ამ ცილებს სპეციფიკური ფუნქციების შესასრულებლად სპეციფიკური თვისებები გააჩნიათ.
- იონურ არხებს აქვთ განსხვავებული აგებულების ფორები (მარტივი ან რთული):
  ა. იონ-შერჩევითი (ion selectivity) (მხოლოდ ერთი სახის სპეციფიკური იონების გადატანა);
  ბ. აქტივირებადი (activation gating) (რეგულირდება არხების გახსნა);
  გ. ინაქტივირებადი (inactivation gating) (რეგულირდება არხების დახურვა).

- არხის ცილები ასევე ნაპრალისებური კონტაქტების ჩამოყალიბებაში იღებენ მონაწილეობას.
- დათვლილია, რომ 1 წამში ერთი არხი 1 მილიონამდე იონს ატარებს.
- ეს 1000-ჯერ უფრო სწრაფი პროცესია, ვიდრე ნებისმიერი გადამტანი ცილის მეშვეობით განხორციელებული ტრანსპორტი.
- იონური არხები მხოლოდ პასიურ ტრანსპორტშია ჩართული (გრადიენტის მიმართულებით).

- ნერვულ უჯრედებში იონური არხების მეშვეობით „მოქმედებათა პოტენციალის“ სიგნალის აღქმა, მიღება და გადატანა ხდება (მოქმედების პოტენციალი ნიშნავს იმას, რომ ნახევრადგამტარი მემბრანის ორივე მხარეს იონების განსხვავებული კონცენტრაციაა და, შესაბამისად, წარმოიქმნება ტრანსმემბრანული ელექტრული გრადიენტი, ე.წ. „მოქმედების პოტენციალი“, რომელიც ვოლტებში ან მილივოლტებში იზომება).

იონური არხების ტიპები

i. პოტენციალ-დამოკიდებული (voltage gated) არხები
ii. მექანოსენსიტიური (mechanical gated) არხები
iii. ლიგანდ-დამოკიდებული (ligand gated) არხები

ცხრილი 8. იონური არხების ოჯახები და ქვეოჯახები

N	*ოჯახი*	*ქვეოჯახები*	*ამგზნები/ მაინჰიბირებელი*
1	პოტენციალ-დამოკიდებული კათიონური არხები	Na^+, K^+	ამგზნები
2	მექანოსენსიტიური	-	-
3	ლიგანდ-დამოკიდებული არხები **ა.ნეიროტრანსმიტერ-დამოკიდებული არხებ**ი (ა) კათიონური	 აცეტილქოლინის Na^+ არხები სეროტონინ-დამოკიდებული Na^+ არხები გლუტამატ-დამოკიდებული Na^+არხები	ამგზნები მაინჰიბირებელი
	(ბ) ანიონური	GABA (გამა-ამინოერბოს მჟავა) -დამოკიდებული Cl^- არხები გლიცინ-დამოკიდებული Cl^-არხები	
	ბ.იონ-დამოკიდებული არხები	-	-
	გ.ნუკლეოტიდ-დამოკიდებული არხები	-	-

მოქმედების პოტენციალი

როდესაც გამტარი მემბრანა ერთმანეთისგან განსხვავებული მუხტის იონებს გამოყოფს, წარმოიქმნება ელექტრული გრადიენტი, რომელსაც მოქმედების პოტენციალი ეწოდება. ის ვოლტებში ან მილივოლტებში იზომება.

მდგომარეობას, როდესაც პლაზმური მემბრანის გასწვრივ იონთა მიმოცვლა არ მიმდინარეობს, **მოსვენების მემბრანული პოტენციალი** ეწოდება.

ტრანსპორტერები

მემბრანულ ცილებს, რომლებიც აჩქარებენ მემბრანულ ტრანსპორტს, ტრანსპორტერები ეწოდება.

ცხრილი 9. აქტიურ და პასიურ ტრანსპორტში ჩართული გადამტანი ცილები

N	*ტრანსპორტერების ოჯახი*	*მაგალითები*	*სატრანსპორტო სისტემა*
1	შაქრების ტრანსპორტი	გლუკოზის ტრანსპორტერი	გაიოლებული დიფუზია
2	კათიონების ტრანსპორტის ატფაზები	Na^+, K^+-ატფაზა Ca^{++}-ატფაზა H^+,K^+-ატფაზა	აქტიური ტრანსპორტი
3	ABC ტრანსპორტერები	(i) წამალ-რეზისტენტული (MDR) - ძუძუმწოვრების უჯრედები; (ii) პერიფერიულ სუბსტრატთან დაკავშირების ცილა(PsBP) -ბაქტერიები (iii) ქლოროკინ-რეზისტენტული ატფაზა-Plasmodium falciparum (iv) კისტოზური ფიბროზის ტრანსმემბრანული რეგულატორი(CTRF)	აქტიური ტრანსპორტი
4	სიმპორტერები	(i) Na^+-გლუკოზის სიმპორტერი (ნაწლავები) (ii) Na^+-პროლინის სიმპორტერი (ბაქტერიები) (iii) Na^+-HCO_3^-- სიმპორტერი (გლიის უჯრედები)	აქტიური ტრანსპორტი
5	ანტიპორტერები -კათიონ-ანტიპორტერები -ანიონ-ანტიპორტერები -კათიონ/ანიონ-ანტიპორტერები	-Na^+-H^+ ექსჩენჯერი -Cl^--HCO_3^- ექსჩენჯერი -Na^+ დამოკიდებული Cl^- ექსჩენჯერი	გაიოლებული დიფუზია

პასიური ტრანსპორტი - გაიოლებული ტრანსპორტი

გაიოლებული ტრანსპორტი ეს არის იონების გადატანა ჰიდროფობულ მემბრანაში მაღალი კონცენტრაციიდან დაბალი კონცენტრაციისაკენ გადამტანი ცილების მონაწილეობით. გადამტანი ცილები გაიოლებული დიფუზიის ფუნქციას ასრულებენ. ყველა ამ ცილას ორი საერთო ნიშან-თვისება ახასიათებს:

1. ისინი აადვილებენ ხსნადი ნივთიერებების გადატანას თერმოდინამიკულად უპირატესი მიმართულებით;
2. ამჟღავნებენ აფინურობას და სპეციფიკურობას იმ ნივთიერებების მიმართ, რომელთა გადატანას ემსახურებიან.

შედეგად, გაიოლებული დიფუზია გაჯერების წერტილს (Vmax) აღწევს და ნივთიერების კონცენტრაცია იზრდება. ნაკადის სისწრაფე დამოკიდებულია ნივთიერების კონცენტრაციაზე; ამ ორი პარამეტრის დამოკიდებულების გრაფიკი ტოლმხრივი ჰიპერბოლას ფორმას იღებს.

კოტრანსპორტი, სიმპორტი და ანტიპორტი

კოტრანსპორტი ეს არის ორი ნივთიერების ერთდროული გადატანა მემბრანაში (***მაგალითი*** - Na^+, K^+ -ატფაზური ტუმბო; H^+,K^+ ატფაზური ტუმბო).

კოტრანსპორტის ცნება არ მოიცავს ინფორმაციას ნივთიერებების ტრანსპორტის მიმართულების შესახებ. ამ ბოლო პარამეტრის მიხედვით კოტრანსპორტი **სიმპორტად** და **ანტიპორტად** იყოფა:

სიმპორტი - ორი ნივთიერების ერთდროული გადატანა ერთი მიმართულებით;

ანტიპორტი - ორი ნივთიერების ერთდროული გადატანა სხვადასხვა მიმართულებით.

გადამტანი ცილების ტიპები

1. უნიპორტერები (სპეციფიკური ნივთიერების გადატანა მემბრანის ერთი ზედაპირიდან მეორე ზედაპირზე);
2. სიმპორტერები (ორი ნივთიერების ერთი მიმართულებით ერთდროული გადატანა);
3. ანტიპორტერები (ორი ნივთიერების ერთდროული გადატანა საწინააღმდეგო მიმართულებით).

აქტიური ტრანსპორტი

აქტიური ტრანსპორტი სხვა არაფერია, თუ ნივთიერებების **გადატანა დაბლიდან მაღალი კონცენტრაციის არეში**. ვინაიდან დაბლიდან მაღალზე გადასვლა გართულებულია, პროცესი ენერგიას მოითხოვს. ენერგია უმეტესად ატფ-დან მიიღება, უფრო იშვიათად კი მის წყაროს **სინათლე წარმოადგენს**. ასე მაგალითად, სინათლე-დამოკიდებულია ცილა **ბაქტერიოროდოფსინი**, რომელიც არქებაქტერიებში Halobacterium halobium გვხვდება.

აქტიური ტრანსპორტი ყოველთვის ან გადამტანი ცილების ან ტუმბოების მეშვეობით ხორციელდება. გადამტანი ცილები იშვიათად გამოიყენება პასიური ტრანსპორტის დროსაც. იონური არხები არასოდეს არ მონაწილეობს აქტიურ ტრანსპორტში, **ისინი მხოლოდ პასიურ ტრანსპორტს ემსახურება.**

ატფ-დამოკიდებული აქტიური ტრანსპორტი

ატფ ჰიდროლიზი უზრუნველყოფს:

1. Na^+, K^+ ტრანსპორტს;
2. Ca^{++}ტრანსპორტს;
3. H^+,K^+ტრანსპორტს;
4. ABC ტრანსპორტერების ოჯახის ცილების ფუნქციონირებას;
5. ოსტეოკლასტების პროტონული არხების მოქმედებას.

1. Na^+, K^+ -ატფაზური სისტემა (ნატრიუმის ტუმბო) (ნახ.23). ცხოველურ უჯრედებში Na+ იონების უჯრედიდან გატანის და K+ იონების უჯრედში შეტუმბვის კოორდინაციას ცილა Na^+,K^+-ატფაზა ანუ ნატრიუმის ტუმბო ახორციელებს. ეს ტუმბო ასევე შაქრების (Na^+-შაქარი) და ამინომჟავების (Na^+-ამინომჟავას სიმპორტერი) ტრანსპორტს ემსახურება.

უჯრედის შიგნით Na^+ კონცენტრაცია 5-15 მმოლს, ხოლო K^+ კონცენტრაცია კი 100-140 მმოლს შეადგენს. უჯრედის გარეთ საწინააღმდეგო სურათია.

ზოგადად, Na^+,K^+, Cl^- და სხვა იონთა გრადიენტი ხელს უწყობს ნეირონთაშორის კომუნიკაციას; იონური გრადიენტები უჯრედის მოცულობასა და ფორმის რეგულირებაში მონაწილეობს; აადვილებს შაქრების, ამინომჟავების, ნუკლეოტიდების და სხვა ნივთიერებების ტრანსპორტს.

მეტაბოლური ენერგიის 20-40% იონთა გრადიენტის შენარჩუნებას ხმარდება. ეს მაჩვენებელი ნერვულ ქსოვილში 70% შეადგენს.

ყოველი 1 ატფ მოლეკულის ჰიდროლიზის შედეგად 3 Na^+ იონის უჯრედიდან გასვლა და 2 K^+ იონის უჯრედში შესვლა მოჰყვება. ატფ ჰიდროლიზი ატფაზას მეშვეობით მემბრანის ციტოპლაზმურ ზედაპირზე ხორციელდება. ვინაიდან უჯრედიდან ერთით მეტი დადებითი მუხტი გადის, ნატრიუმის ტუმბოს ელექტროგენურ ტუმბოდ განიხილავენ.

ატფაზა ორი ფორმით არსებობს: E1-ფორმა Na^+ იონების მიმართ აფინურობით, რომელიც ხელს უწყობს უჯრედიდან 3 Na^+ იონის გასვლას, და E2-ფორმა, რომელიც ნაკლებ აფინურობას იჩენს Na^+ იონების მიმართ და უფრო მეტს - K^+ იონების მიმართ.

გულის გლიკოზიდები, მცენარეული შხამები აინჰიბირებენ ნატრიუმის ტუმბოს და Na^+, K^+-ატფაზას, რასაც თანსდევს Na+ და Ca^{++} იონების კარდიომიოციტებში დაგროვება და შედეგად არითმიის განვითარება.

2.Ca^{++} ატფაზა. მეტად მნიშვნელოვანია სიგნალის გადაცემაში, აკონტროლებს მრავალ ფუნქციას კუნთების შეკუმშვის ჩათვლით.

თავისუფალი Ca^{++}იონების კონცენტრაცია ციტოზოლში უფრო დაბალია (10^{-7} M), ვიდრე ციტოზოლის გარეთ ან ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში (10^{-3} M).

კუნთოვანი ბოჭკოების ციტოპლაზმაში Ca^{++} სარკოპლაზმურ რეტიკულუმში აკუმულირდება. Ca^{++} იონების ჭარბი რაოდენობა განპირობებულია Na^{+} ელექტროქიმიური გრადიენტით. თითო ატფ მოლეკულის ჰიდროლიზის დროს სარკოპლაზმურ რეტიკულუმში 2 Ca^{++} იონი გადადის.

3. H^{+},K^{+} ატფაზა. კუჭის მეტად მჟავე გარემო აუცილებელია მონელების პროცესისთვის. მაღალი მჟავიანობა H^{+} იონების გამო ნარჩუნდება. ფერმენტ ატფაზას მოქმედებით ლორწოდან კუჭში K^{+} იონების სანაცვლოდ H^{+} იონები გადადის, ასე რომ სატრანსპორტო სისტემა ელექტრულად ნეიტრალურია. კუჭში ასევე Cl^{-} იონები გადადის და წარმოიქმნება HCl.

4. ABC ტრანსპორტერების სუპეროჯახი. ემსახურება პეპტიდების და წამლების ტრანსპორტს. ეს ატფაზური აქტიობის მატარებელი ცილებია, რომლებიც ატფ-თან დაკავშირების საიტებს შეიცავენ. აქვთ კლინიკური მნიშვნელობა, განსაკუთრებით კისტოზური ფიბროზის განვითერებაში. ზოგიერთი ეუკარიოტული ABC ტრანსპორტერის მაგალითია:

ა. წამალ-რეზისტენტული (multi-drug resistance, MDR) ცილა - ჭარბი ექსპრესიის დროს აქვს უნარი უჯრედიდან ამოტუმბოს ჰიდროფობული წამლები და, მაშასადამე, ხელი შეუწყოს კიბოს ქიმიოთერაპიის დროს რეზისტენტულობის განვითარებას.

ბ. მალარია-რეზისტენტულობა (Palsmodium falciparum) ქლოროქინის მიმართ - ვითარდება ამ წამლის ამოტუმბვაზე პასუხისმგებელი ტრანსპორტერის მაკოდირებელი გენის ამპლიფიკაციის შედეგად.

გ. ადამიანების ეპითელურ უჯრედებში Cl^{-} იონური არხის ABC ტრანსპორტერის გენის მუტაცია კისტოზური ფიბროზის განვითარებას იწვევს.

5. ოსტეოკლასტების H^{+} ტუმბო და სხვა H^{+} ატფაზები. ოსტეოკლასტები მრავალბირთვიანი უჯრედებია, რომლებიც შლიან ძვალს მისი გარდაქმნის პროცესში. ასეთი ატფაზები უზრუნველყოფენ Ca^{++}-ს რბილი ქსოვილების, ნერვებსა და კუნთებისათვის მიწოდებას. Ca^{++} თავისუფლდება ძვლების უჯრედშორის სივრცეში H^{+} გადატანის დროს. პროტონები (H^{+}) წარმოქმნიან მჟავებს, რომლებიც ძვალს შლიან და Ca^{++}-ს ათავისუფლებენ.

სინათლე-დამოკიდებული აქტიური ტრანსპორტი

1. ბაქტერიოროდოფსინი (bR (H^{+}ტუმბო))
2. ჰალოროდოფსინი (hR (Cl^{-}ტუმბო))

ორივე ეს ცილა აღმოჩენილია არქებაქტერიაში Halobacterium halobium, რომელიც მარილის მაღალი შემცველობის არეებში ბინადრობს. ჟანგბადის არსებობის პირობებში ბაქტერიები ჩვეულებრივად სუნთქავენ, ხოლო ჟანგბადის ნაკლებობის დროს bR და hR H^{+}ტრანსპორტისათვის სინათლის ენერგიას იყენებენ.

იონების გრადიენტზე დამოკიდებული ტრანსპორტი. ანიონებისა და კათიონების კონცენტრაციის გრადიენტი ამინომჟავების და შაქრების **მეორად აქტიურ ტრანსპორტს** იწვევს (მაგალითი - ერითროციტების ანიონური ტრანსპორტერი). ლაქტოზის პერმეაზის მეშვეობით ყოველ H^{+} იონის გადატანას ლაქტოზის ტრანსპორტი მოჰყვება.

მემბრანის აგზნება (ნეიროტრანსმისია და იონური არხები). ნერვული იმპულსის გადაცემის სიჩქარე 100მ/წამში შეადგენს. ნერვული სისტემის აგზნებადი უჯრედები **რეცეპტორულ ცილებს** შეიცავენ. ყოველი სტიმული ნერვული სისტემის ერთი ნაწილიდან მეორე ნაწილს გადაეცემა და ეს გადაცემა შექცევადია. ცვლილებები ხორციელდება ნერვული უჯრედების (ნეირონების) მეშვეობით იონებისა და ნეიროტრანსმიტერების გადაცემის შედეგად.

ნეირონები და ნეიროგლია. ნეირონი შედგება: 1. უჯრედის სხეულისაგან (ბირთვი, ენდოპლაზმური რეტიკულუმი და მიტოქონდრიები); 2. აქსონისაგან (აქვს უჯრედული და მიელინური გარსები; ბოლოვდება სინაფსური დაბოლოებით, ბელტით ან ღილით; ღარს სინაფსურ დაბოლოებასა და დენდრიტს შორის სინაფსური ნაპრალი ეწოდება); 3. დენდრიტისაგან.

არჩევენ ნეირნების 3 ტიპს:

1. სენსორული (მგრძნობიარე) ნეირონები - სენსორული სიგნალებისათვის;
2. ინტერნეირონები (ასოციაციური) - ნეირონთაშორისი კავშირების უზრუნველყოფა;
3. მოტორული (მამოძრავებელი) ნეირონები - ნერვული იმპულსის სამუშაო ორგანოსაკენ გადაცემა.

ნერვული იმპულსის ან მოქმედებათა პოტენციალის გადაცემის იონური გრადიენტები. ნერვული იმპულსი **მოქმედებათა პოტენციალს** წარმოადგენს. მათი გადაცემა ნეირონიდან ნეირონზე მემბრანების ელექტრული პოტენციალის დროებითი ცვლილების საშუალებით ხდება.

მოსვენების მდგომარეობაში ნეირონში უჯრედშორის სითხესთან შედარებით უფრო მაღალია K^+-ის და უფრო დაბალია Na^+-ის და Cl^- -ის იონების კონცენტრაცია. ეს მდგომარეობა Na^+,K^+-ატფაზის მოქმედების შედეგად ნარჩუნდება. მას მოსვენების პოტენციალი (დაახლოებით -60 mV) ეწოდება.

მოქმედების პოტენციალი დეპოლარიზაციის გზით მიიღება (20 mV საშუალოდ -40 mV-მდე იცვლება). Na^+ იონები უჯრედში შედიან მანამდე, სანამ პოტენციალი საბოლოოდ 30 – 50 mV არ მიაღწევს. ამ სტადიაზე Na^+ იონების წონასწორობა მიიღწევა. Na^+ იონები ავტომატურად ინაქტივირებულ მდგომარეობაში გადადიან, რასაც K^+ იონების არხების გახსნა მოჰყვება. ამის შემდეგ იწყება K^+ იონების უჯრედიდან გამოსვლა. მემბრანული პოტენციალის ცვლილება სწრაფად ვრცელდება აქსონის მემბრანის გასწვრივ.

ნეირონები სიგნალებს სინაფსების საშუალებით გადასცემენ, ზოგიერთ ნეირონს რამოდენიმე სინაფსი აქვს (1-დან 10000-მდე).

აცეტილქოლინი როგორც ნეიროტრანსმიტერი. აცეტილქოლინის მოლეკულები (დაახლოებით 1000 მოლეკულა ერთ ვეზიკულაზე) სინაფსის უბანში ჩანს. მოქმედების პოტენციალის აღმოცენების დროს Ca^{++} იონები შედის სინაფსში და აცეტილქოლინის მემბრანასთან დაკავშირებას იწვევს. მემბრანაზე აცეტილქოლინი შესაბამის აცეტილქოლინის რეცეპტორს უკავშირდება, რაც იწვევს Na^+ და K^+ იონების არხების გახსნას და ახალი მოქმედებათა პოტენციალის აღმოცენებას.

პოსტსინაფსურ მემბრანებში ნანახია მუსკარინის (სტიმულირდება მუსკარინის მიერ) და ნიკოტინური (სტიმულირდება ნიკოტინით) აცეტილქოლინის რეცეპტორები. ორივე გლიკოპროტეინს წარმოადგენს. ტრანსმისიის შემდეგ აცეტილქოლინი დეგრადირდება აცეტილქოლინ-ესთერაზას მოქმედებით.

აქ ასევე G-ცილას რეცეპტორები და ფერმენტ-დამოკიდებული რეცეპტორები გვხდება, რომლებიც აქსონის დაბოლოებებში სინთეზირდება (მაგალითი - ნეიროპეპტიდები).

ზოგიერთი წამალი გარკვეული არხების მიმართ სპეციფიკურობას იჩენს. ასე, ფსიქოტროპული წამლები ნეიროტრანსმიტერულ არხებს ბლოკავენ. ასე, კურარე კუნთების აცეტილქოლინის რეცეპტორებს ბლოკავს, დამაწყნარებელი საშუალებები ვალიუმი და ლიბრიუმი GABA რეცეპტორებზე მოქმედებენ.

კუნთის შეკუმშვა 5 განსხვავებული იონური არხის ჩართვით ხდება:

1. მოქმედების პოტენციალის შედეგად უჯრედში Ca^{++} იონების შესვლა სინაფსური ვეზიკულებიდან აცეტილქოლინის გათავისუფლებას იწვევს.
2. აცეტილქოლინი უკავშირდება კუნთის აცეტილქოლინის რეცეპტორს, ამის შედეგად Na^+ იონები ციტოზოლში გადადიან, რაც დეპოლარიზაციას იწვევს.
3. დეპოლარიზაციის შედეგად Na^+ იონების უჯრედში შესვლა უფრო ძლიერდება.
4. თავის მხრივ, ეს იწვევს ციტოზოლური Ca^{++}-ის არხების აქტივაციას, სარკოპლაზმური რეტიკულუმიდან მასში შენახული Ca^{++} იონების გათავისუფლებას და, როგორც შედეგი, კუნთოვანი მიოფიბრილების შეკუმშვას.
5. კუნთის მოდუნების დროს საპირისპირო მოვლენები იჩენს თავს.

ცხრილი 10. ნეიროტრანსმიტერების ჩამონათვალი.

N	*ნეიროტრანსმიტერების კლასი*	*ნეიროტრანსმიტერები*
1	ქოლინერგული აგენტები	აცეტილქოლინი
2	კატეხოლამინები	ნორეპინეფრინი (ნორადრენალინი) ეპინეფრინი (ადრენალინი) L-დოფამინი ოქტაპამინი
3	ამინომჟავები და მათი წარმოებულები	GABA- გამა-ამინოერბოს მჟავა ალანინი ასპარტატი გლიცინი, ტაურინი
4	პეპტიდები	სეროტონონი თიროზინი ქოლეცისტოკინინი ენდორფინები გასტრინი, გონადოტროპინი ოქსიტოცინი სეკრეტინი სუბსტანცია P სომატოსტატინი TRF- თიროტროპინ-განმათავისუფლებელი ფაქტორი ვაზოპრესინი
5	აირები	ნახშირბადის მონოქსიდი (CO) აზოტის ოქსიდი (NO)

ვეზიკულური ტრანსპორტი და მემბრანების შერწყმა.

მემბრანული სისტემა ეუკარიოტულ უჯრედს აძლევს საშუალებას:

- შთანთქოს მაკრომოლეკულები უჯრედული ზედაპირიდან **ენდოციტოზის** გზით **დაფარული ფოსოს** ან **კავეოლების** საშუალებით;
- გამოყოს **ვეზიკულებში** შეფუთული ნივთიერებები **ეგზოციტოზის** გზით.

ენდოსომები - გადააქვთ მაკრომოლეკულები ლიზოსომებში, სადაც მათი მონელება ხდება, ან მიაქვთ ისინი უჯრედის ზედაპირზე მათი ხელახალი გამოყენების მიზნით. ამ პროცესს **ენდოციტური გზა** ეწოდება.

ენდოციტური გზის გარდა, ეუკარიოტულ უჯრედებს ახლად სინთეზირებული ცილები და ნახშირწყლები გარედან ან ერთი უჯრედული კომპარტმენტიდან მეორეში **ბიოსინთეზური სეკრეტორული გზის** საშუალებით გადააქვთ. ამ გზაში ჩართულია ეგზოციტოზი, ტრანსპორტი ენდოპლაზმურ რეტიკულუმსა და გოლჯის აპარატს შორის და ტრანსპორტი ლიზოსომებში.

ენდოციტური და ბიოსინთეზური სატრანსპორტო გზებით მაკრომოლეკულები მრავალი სატრანსპორტო ვეზიკულების შემადგენლობაში გადაიტანება. ვეზიკულები ერთმანეთს ერწყმიან და ამ გზით ახორციელებენ ტრანსპორტს ტრანსმემბრანული ციტოზოლიდან სხვადასხვა ორგანელებში ან ციტოზოლიდან ბირთვში.

ცილების დახარისხება და ვეზიკულების გადატანა ენდოპლაზმური ბადიდან გოლჯის აპარატში.

ბოლო დრომდე ვარაუდობდნენ, რომ ცილების დახარისხება (სორტინგი) წინასწარ არსებული გზებით მიმდინარეობს და სატრანსპორტო სიგნალებს არ მოითხოვს.

დღეისათვის დადგენილია, რომ ცილები გადააქვთ ვეზიკულებს, რომლებსაც პრე-გოლჯის შუამავლები ეწოდება (pre-Golgi intermediates, PGI). ისინი მიკრომილაკების გასწვრივ გოლჯის აპარატის ცის-ზედაპირამდე გადაადგილდებიან. გოლჯის აპარატის ცისტერნებში მოხვედრისას ცილები განიცდიან მოდიფიცირებას გოლჯის აპარატის პროცესინგის ფერმენტების მოქმედებით და ტრანს-ზედაპირამდე აღწევენ. დახარისხება სხვადასხვა მიმართულებით მიმდინარეობს.

ზემოთ აღწერილი პროცესი ცნობილია როგორც პირდაპირი **მომწიფება** ანუ **ცისტერნული პროგრესია.**

დიდი მაკრომოლეკულების (მაგალითად, პროკოლაგენის წინამორბედის) ტრანსპორტი ვეზიკულების მონაწილეობის გარეშე სიგნალების ჩართვით ხორციელდება. ასე რომ ცილის ვეზიკულაში შეფუთვა აუცილებელი არ არის და ამის თაობაზე გადაწყვეტილების მიღება დახარისხების სიგნალების შესაბამისად ხდება.

ცილა მრავალ სიგნალს ღებულობს, რაც მის „ბედ-იღბალს“ განსაზღვრავს. არსებობს ცილის პასუხის შემდეგი შესაძლო ვარიანტები:

i. ცილა, რომელიც ტრანსპორტირების სიგნალს იღებს, გადაადგილდება ენდოპლაზმური მემბრანის ციტოპლაზმურ (პირდაპირი დაკავშირება) ან სანათურის (რეცეპტორთან დაკავშირება) მხარეს. მაგალითი: დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინის (low density lipoprotein, LDL) რეცეპტორი;
ii. ცილა შეკავების სიგნალს ღებულობს, და შესაბამისად მისი გადაადგილება იზღუდება. ასეთი ცილა შესაძლებელია გადაიტანებოდეს გოლჯის აპარატში, მაგრამ ამის შემდგომ ის ისევ უკან დაბრუნდება;
iii. ცილას არც ტრანსპორტირების და არც შეკავების სიგნალი აქვს მიღებული, მაგრამ მას წინასწარ არსებული სატრანსპორტო გზა გააჩნია.

რეტროგრადული ტრანსპორტი (გოლჯის აპარატიდან ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში და უკუმიმართულებით).

ენდოპლაზმური რეტიკულუმი და გოლჯის აპარატი ვეზიკულები-დან გამოსულ, საკუთარი შენებისთვის საჭირო ცილებს თავის შემადგენლობაში ინარჩუნებენ. გადაადგილებისას, ინტეგრალური მემბრანული ცილა და ენდოპლაზმური ბადის სანათურის ხსნადი ცილა დონორულ კომპარტმენტს რეტროგრადული ტრანსპორტის მეშვეობით უბრუნდებიან. მაგალითად, ცილის COOH-ტერმინალურ ბოლოზე არსებული KDEL თანმიმდევრობა ემსახურება ცილის გოლჯის აპარატიდან ენდოპლაზმურ ბადეში დაბრუნებას KDEL-რეცეპტორის საშუალებით; KKXX და XXRR (K-ლიზინი, R-არგინინი, D-ასპარტატის მჟავა, L-გლუტამატის მჟავა, X-ნებისმიერი ამინომჟავა) მონაწილეობს ენდოპლაზმური ბადის ცილების რეტროგრადულ მოძრაობაში.

ტრანსპორტი გოლჯის აპარატის ცის-ზედაპირიდან ტრანს-ზედაპირზე (ანტეროგრადული და რეტროგრადული ტრანსპორტი).

ენდოპლაზმური ბადიდან სატრანსპორტო მოლეკულები ჯერ ცის-ზედაპირზე, ხოლო იქიდან კი ტრან-ზედაპირზე გადაიტანება. ვინაიდან KDEL-რეცეპტორები გოლჯის აპარატის ყველა ცისტერნას გააჩნია, ცილის უკუმიმართულებით გადაადგილება ყველა ცისტერნაშია შესაძლებელი. რეტროგრადული ტრანსპორტი ორი გზით ხორციელდება:

1. ჯვარედინა ნაკადი - პირდაპირი გადადგილება გოლჯის ყველა ცისტერნიდან ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში;
2. საპირისპირო ნაკადი - გადაადგილება უკუმიმართულებით და დაბრუნება გოლჯის აპარატში.

ზოგჯერ გოლჯის აპარატში ორივე ეს გზა ერთდროულად ხორციელდება.

დისტილაციური სვეტის ჰიპოთეზა

გოლჯის აპარატის ცისტერნების დასტამ შესაძლოა დისტილაციური სვეტის მსგავსი როლი ითამაშოს ცილის ცისტერნების უველა ნაკრებში დაკავებისას. ამიტომაც ცილების ცის-ზედაპირზე კონცენტრაცია უფრო მაღალია, ვიდრე ტრანს-ზედაპირხე. ამას ასევე ის გარემოება უწყობს ხელს, რომ KDEL-რეცეპტორები ცის-ზედაპირზე უფრო მეტია ტრანს-ზედაპირთან შედარებით.

ტრანსპორტი გოლჯის აპარატის ტრანს-ზედაპირიდან ლიზოსომებში - ენდოპლაზმური ბადიდან გოლჯის აპარატში ტრანსპორტირებული ცილა შესაძლოა იყოს **რეზიდენტული** (რჩება გოლჯის აპარატში, როგორც მისი შემადგენელი ცილა) ან **სეკრეტორული** (გოლჯის აპარატში ხდება მისი დახარისხება და გადაგზავნა საბოლოო დანიშნულების ადგილამდე). ამ ბოლო შემთხვევაში ცილა ლიზოსომებში გადაიტანება (მაგალითად, მომნელებელი ფერმენტები).

ლიზოსომური ჰიდროლაზები და ლიზოსომების მემბრანული ცილები ხორკლიან ენდოპლაზმურ ბადეში სინთეზირდება. ისინი ლიზოსომებში გოლჯის აპარატის ტრანს-ქსელის მეშვეობით გადაიტანება.

მანოზა-6-ფოსფატი (M6P) შერჩევითად ახარისხებს ლიზოსომურ ცილებს ლიზოსომებში ტრანსპორტისათვის. M6P ამოცნობა M6P რეცეპტორებით ხდება. დანიშნულების ადგილის მიღწევის შემდეგ კომპლექსი დისოცირდება და უბრუნდება გოლჯის აპარატის ტრანს-ქსელს სატრანსპორტო ვეზიკულების საშუალებით.

ტრანსპორტი გოლჯის აპარატის ტრანს-ქსელიდან (გტქ) უჯრედის ზედაპირზე (ეგზოციტოზი).

ეგზოციტოზი - სეკრეცია უჯრედიდან- გოლჯის აპარატიდან იწყება. ვეზიკულები მოსწყდებიან გოლჯის აპარატის ტრანს-ზედაპირს, მაგრამ იმის ნაცვლად, რომ ლიზოსომებს შეერწყან, უჯრედის ზედაპირზე გადაადგილდებიან, სადაც პლაზმურ მემბრანას ერწყმიან. შესაბამისად, ამ ვეზიკულების შემადგენლობაში ლიპიდები, ჰიდროფობული მემბრანული და ხსნადი ცილები გადაადგილდებიან. ამ გზით ასევე ნეიროტრანსმიტერების და ჰორმონების რეგულირებადი სეკრეცია ხორციელდება.

არსებობს სეკრეციის 2 ტიპი:

1. **კონსტიტუციური სეკრეცია** - უჯრედებში მუდმივად ხდება (მაგ. ინსულინი, ეპინეფრინი, ტრიპსინი).
2. **რეგულირებადი სეკრეცია** - ხდება სპეციალიზირებულ უჯრედებში, რომლებიც სპეციფიკურ პროდუქტს წარმოქმნიან. მაგალითი:სპერმატოზოიდისაკროსომა,ოოციტისკორტიკალური გრანულები, ენდოკრინული უჯრედები. რეგულირებადი სეკრეცია ხორციელდება სწრაფად, თუმცა მხოლოდ საჭიროების შემთხვევაში.

ზოგადად, სეკრეტორული გრანულები სეკრეციის საიტის მიღწევის შემდეგ ყოვნდებიან პლაზმურ მემბრანასთან სიახლოვეში, სადაც სეკრეციის სიგნალის მიღებას ელოდებიან.

სეკრეტორული გრანულების ფორმირება ცილა კლატრინის მონაწილეობით ხდება, ისინი კლატრინით დაიფარება და გოლჯის აპარატის ტრანს-ქსელიდან გამოიყოფა. კლატრინის მოცილება მომწიფების დროს ხდება.

პოლარიზებულ უჯრედებში არსებობს დამატებითი **სეკრეციის გზა**, რომელიც განსხვავებულ დომენებში ნივთიერებათა გადატანის განსხვავებული სისტემებით ხორციელდება.

სეკრეტორული ცილები სინთეზირდება როგორც არააქტიური წინამორბედი ცილოვანი მოლეკულები (პრე-პრო-ცილები), რომლებიც პროტეოლიზის შედეგად ცილების აქტიურ ფორმებს წარმოქმნიან. ზოგიერთი სინთეზირებული პროტეინი სიგნალის როლს ასრულებს.

ნერვული უჯრედების შემთხვევაში სეკრეცია გოლჯის აპარატიდან საკმაოდ მოშორებით ხდება, სეკრეტორული ვეზიკულები აქსონის დაბოლოებებში პეპტიდურ ნეიროტრანსმიტერებს გამოყოფენ, რაც მოტორული ცილების მონაწილეობით ხდება. აქსონში ვეზიკულები სიგნალს მიიღებენ. ხშირად ამ პროცესში შიდაუჯრედული სიგნალის სახით Ca^{++} კონცენტრაციაა ჩართული. ქიმიური ტრანსმიტერით გამოწვეული მოქმედებათა პოტენციალი Ca^{++} იონების შიდაუჯრედულ კონცენტრაციას ზრდის, რაც, თავის მხრივ, ეგზოციტოზს ააქტიურებს.

ნეიროტრანსმიტერების გადამტანი სინაფსური ვეზიკულები

სინაფსური ვეზიკულები (50 ნმ დიამეტრში) ნანახია ნერვულ უჯრედებში, ისინი აქსონთან ახლოს მდებარე ენდოსომებიდან მიიღება. ამ ვეზიკულებით სინაფსურ ნაპრალში გამოიყოფა ისეთი ნეიროტრანსმიტერები, როგორიცაა აცეტილქოლინი, გლუტამატი და გამა-ამინოერბოს მჟავა. ნეიროტრანსმიტერები ემსახურება უჯრედებს შორის სიგნალის სწრაფ გადატანას ქიმიური სინაფსების საშუალებით.

მოქმედების პოტენციალის აღმოცენების დროს სინაფსური ვეზიკულების შიგთავსის გამოყოფა მილიწამებში ხდება. სინაფსური ვეზიკულები უკან ენდოციტოზის გზით გადაიტანება და მათგან ენდოსომები ფორმირდება. ენდოსომებიდან ვეზიკულები ისევ გამოიყოფა სინაფსური ვეზიკულების სახით. ნეიროტრანსმიტერების ვეზიკულებში დაგროვება ციტოზოლიდან ხდება. სინაფსური ტრანსმისიის დარღვევა პარკინსონის დაავადების მიზეზია.

4.3 პერმეაზები

პერმეაზები სატრანსპორტო ანუ გადამტანი ცილებია, რომლებიც ბაქტერიების პლაზმურ მემბრანაშია წარმოდგენილი. პერმეაზები, რაც მათი სახელწოდების „აზა“ დაბოლოებიდან ჩანს, ასევე ფერმენტებს

წარმოადგენენ და პირველ რიგში ცილების სწორედ ამ ფუნქციასთან ასოცირდებიან. პირველად ეს ფერმენტი E.coli ბაქტერიის პლაზმური მემბრანიდან იქნა გამოყოფილი კენედის მიერ, რომელმაც მას პერმეაზა დაარქვა. პერმეაზების რამოდენიმე სისტემას ასევე მიტოქონდრიების შიდა მემბრანები შეიცავენ.

ფუნქციები:

ა. აჩქარებს რეაქციებს ბაქტერიებში;
ბ. მონაწილეობს მემბრანულ ტრანსლოკაციაში;
გ. უზრუნველყოფს შერჩევითობას;

დამახასიათებელი ნიშანთვისებები:

ა. E.coli ბაქტერიის პლაზმური მემბრანა შეიცავს სპეციფიკურ სატრანსპორტო სისტემას, რომელსაც პერმეაზული სისტემა ეწოდება.
ბ. პერმეაზა არის ფერმენტი, რომელიც განაპირობებს ბაქტერიულ უჯრედში ლაქტოზის შესვლას.
გ. ფერმენტ პერმეაზას მეშვეობით უჯრედში ასევე β-გალაქტოზიდაზას შეღწევა ხდება.
დ. პერმეაზა პირველ რიგში როგორც ცილა განიხილება, მაშასადამე ის გენეტიკურად დეტერმინირებულია და სპეციფიკურ მემბრანულ სატრანსპორტო ცილას წარმოადგენს.
ე. E.coli უჯრედში რეაქციებს აჩქარებს წონასწორობის მიღწევამდე.
ვ. უცვლელი რჩება რეაქციის მსვლელობისას და განმეორებით გამოიყენება ყველა „შესვლა-გამოსვლის“ შემდეგ.

LacY

პროტონული ელექტრული გრადიენტის ჩამოყალიბებას ყოველ H+-იონის გადატანისას ლაქტოზის ერთი მოლეკულის გადატანა ხდება. ლაქტოზას პერმეაზა (LacY) ინტეგრირებული მემბრანული ცილაა.

4.4 სატრანსპორტო სისტემის ტუმბოები

გადამტანი ცილები სპეციფიკურ ნივთიერებებს უკავშირდებიან და გადააქვთ ისინი ლიპიდურ ბიშრეში კონფორმაციული ცვლილებების ფონზე, რომელთა შედეგად ნივთიერებასთან დაკავშირების საიტი ჯერ მემბრანის ერთ, ხოლო შემდეგ კი მეორე მხარეს აღმოჩნდება. ზოგიერთი გადამტანი ცილა ნივთიერებებს გრადიენტის მიმართულებით გადაიტანს, მაშინ როდესაც სხვა ცილები ტუმბოების როლს ასრულებენ და ნივთიერებები ელექტროქიმიური გრადიენტის საწინააღმდეგო მიმართულებით გადაყავთ, რისთვისაც ატფ-ის ჰიდროლიზის ან სხვა, გრადიენტის მიმართულებით განხორციელებული მოლეკულების (მაგალითად, ნატრიუმის) გადატანის შედეგად გამოყოფილ ენერგიას ხარჯავენ. ეს ენერგია კონფორმაციულ ცვლილებებს ხმარდება. დნმ-ის კლონირებასა და სექვენირების ცდებში ნაჩვენებია, რომ გადამტანი ცილები რამდენიმე ოჯახს ქმნიან, სადაც გაერთიანებულია მსგავსი ამინომჟავური თანმიმდევრობის ცილები, რომლებსაც საერთო წინაბორბედი აქვთ და რომლებიც მსგავსი მექანიზმებით მოქმედებენ. ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მაგალითს კათიონ-დამოკიდებული ატფაზები წარმოადგენენ, რომელთა შემადგენლობაში Na+,K+-ტუმბო შედის. ყოველი ასეთი ატფაზა შეიცავს დიდი ზომის კატალიზურ სუბერთეულს, რომელიც გადატანის ციკლში თანმიმდევრულად ფოსფორილირებას და დეფოსფორილირებას განიცდის. კლინიკური თვალსაზრისით განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ABC ტრანსპორტერების სუპეროჯახი. მასში შედის ცილები, რომლებიც პასუხისმგებელია კისტოზური ფიბროზის, ასევე კიბოს უჯრედების და მალარიის გამომწვევი პარაზიტების წამლების მიმართ რეზისტენტობის განვითარებაში.

ნატრიუმ-კალიუმის ტუმბოები (Na^+, K^+ -ატფაზური ტუმბოები)

ნატრიუმ-კალიუმის ტუმბო აღმოჩენილ იქნა ა.ლ. ხოდკინისა და რ.დ. კეინსის მიერ 1955 წელს.

Na^+,K^+-ატფაზური სისტემა, რომელსაც ჩვეულებრივ ნატრიუმის ტუმბოს უწოდებენ, ატფ-დამოკიდებული აქტიური სატრანსპორტო სისტემაა. ნატრიუმის ტუმბოში Na^+იონების უჯრედიდან განდევნა მჭიდროდ არის დაკავშირებული K^+ იონების უჯრედში ტრანსპორტირებასთან. ვინაიდან Na^+ და K^+ იონების გაცვლა აუცილებელ ხასიათს ატარებს, K^+ იონების უჯრედში შეღწევა ყოველთვის თანსდევს Na^+ იონების უჯრედიდან გასვლას.

მაგალითი:

ნერვული და კუნთოვანი უჯრედების ნატრიუმის ტუმბო.

დამახასიათებელი ნიშანთვისებებბი

- ყველა ცხოველურ უჯრედში ინტეგრირებული ცილის Na^+, K^+ -ატფაზის მეშვეობით Na^+ იონების უჯრედიდან, ხოლო K^+ იონების უჯრედში შესვლა ხდება.
- ნატრიუმის ტუმბო როგორც ანტიპორტის მექანიზმი მოქმედებს.
- ყველა უჯრედისთვის დამახასიათებელია უჯრედის შიგნით Na^+ იონების უფრო დაბალი (-15 mM) და K^+ იონების უფრო მაღალი (100-140 mM) კონცენტრაცია, ხოლო უჯრედის გარეთ ანუ მემბრანის გარეთა მხარეს კი პირიქით.
- Na^+ იონების უჯრედში შეტუმბვისათვის საჭირო ენერგია მიიღება ატფ-დან, რომელიც ფერმენტ ატფაზას მოქმედების შედეგად ჰიდროლიზს განიცდის. ზოგიერთ შემთხვევაში ჰიდროლიზს აკატალიზებს Mg^{++}-დამოკიდებული ატფაზა, რომელიც, როგორც ვარაუდობენ, პლაზმურ მემბრანაშია ლოკალიზებული.
- K^+ იონები მრავალი ფუნქციის განხორციელებისათვის არის საჭირო:

- ეხმარება ნეირონების კომუნიკაციას;
- არეგულირებს უჯრედის მოცულობას და ფორმას;
- მონაწილეობს ამინომჟავების, შაქრების, ნუკლეოტიდების და სხვა ნივთიერებების ტრანსპორტში.

- ატფაზის მოლეკულა შედგება:
  - α სუბერთეულისაგან (120 kDa), რომელიც 10 ტრანსმემბრანული სპირალისა და ორი დიდი ზომის ციტოპლაზმური დომენისაგან შედგება;
  - β სუბერთეულისაგან (35 kDa), რომელიც 1 ტრანსმემბრანულ სეგმენტსა და დიდი ზომის უჯრედგარეთა დომენს მოიცავს.
- ატფაზას მეშვეობით ატფ-ის ჰიდროლიზი მემბრანის ციტოპლაზმურ ზედაპირზე მიმდინარეობს, თან ყოველი ატფ-ის მოლეკულის სინთეზისათვის საჭიროა უჯრედიდან სამი Na^+ იონის გასვლა და უჯრედში ორი K^+ იონის გადატანა.
- ვინაიდან ამ დროს ხდება ერთით ზედმეტი დადებითი მუხტის უჯრედიდან გატანა, ნატრიუმის ტუმბოს **„ელექტროგენური“** ბუნების ტუმბოს უწოდებენ.
- ატფაზა ორი ფორმის სახით არსებობს, ესენია:
  - **E_1 ფორმა:** ამჟღავნებს აფინურობას Na^+ იონების მიმართ, Mg^{++} იონების თანდასწრებით ადვილად განიცდის ფოსფორილირებას და წარმოქმნის E_1-P სტრუქტურას, რომელიც სამი Na^+ იონის გადატანაში მონაწილეობს.
  - **E_2 ფორმა:** აქვს დაბალი აფინურობა Na^+ იონების მიმართ, და მაღალი - K^+ იონების მიმართ. E_1-P იცვლება E_2-Pi კომპლექსით, ეს უკანასკნელი გამოყოფს სამ Na^+ იონს, დაუკავშირდება მემბრანის გარეთა მხარეს მყოფ ორ K^+ იონს და წარმოქმნის E_2-2K, რომელიც გამოყოფს კალიუმის იონებს უჯრედის შიგნით. შედეგად მიიღება: E_2-2K + უჯრედში გათავისუფლებული 2K. პროცესი შემდეგი ფორმულით შეიძლება გამოვსახოთ:

ატფ + H_2O +3Na^+ (შიგნით) + 2K^+ (გარეთ) →ადფ + Pi + H_2O + 3Na^+ (გარეთ) + 2K^+ (შიგნით)

- ნატრიუმის ტუმბოს ნებისმიერი მიზეზით გამოწვეული არაეფექტური მუშაობა უჯრედების გაბერვას, გახეთქვას ან სისხლძარღვების შევიწროებას (ჰიპერტენზიას) იწვევს.

კალციუმ-ატფაზური ტუმბო ანუ კალციუმის ტუმბო

- Ca^{2+}-ატფაზის აქტიურობის მატარებელი ცილა დამახასიათებელია პლაზმური მემბრანისა და ზოგიერთი სხვა ორგანელის მემბრანისათვის, ენდოპლაზმური რეტიკულუმის და მიტოქონდრიების მემბრანების ჩათვლით.
- პლაზმურ მემბრანის გავლით Ca^{2+} იონები უჯრედიდან უჯრდშორის სივრცეში გადაიტანება.

- ამის შედეგია ის, რომ უჯრედების უმრავლესობაში Ca^{2+} ციტოზოლური კონცენტრაცია ძალზედ დაბალია უჯრედშორის Ca^{2+} -თან შედატებით, რომელიც საშუალოდ 10 000-ჯერ უფრო მაღალია.
- ციტოზოლური კალციუმის კონცენტრაცია კალციუმის არხების საშუალებით მატულობს. კალციუმის არხები Ca^{2+} იონებს საშუალებას აძლევენ დიფუზიის გზით გადავიდნენ უფრო მაღალი კონცენტრაციის არიდან დაბალი კონცენტრაციის არეში ანუ ციტოზოლში.

ფუნქციები:

- ციტოზოლში Ca^{2+} იონების კონცენტრაციის მატება იწვევს: ქიმიური სიგნალიზაციის აღმოცენებას და სიგნალის გადაცემის გზების ჩართვას; კუნთის შეკუმშვას და მოდუნებას (სარკოპლაზმური რეტიკულუმი, სრ);
- Ca^{2+} ტუმბო ანტიპორტის მექანიზმით მოქმედებს;
- აღმოჩენილია Ca^{2+}-ატფაზა, რომელიც Na^+, K^+ -ატფაზის მსგავსი მექანიზმით და ფუნქციით ხასიათდება.

წყალბადის ტუმბო ანუ H^+,K^+ ატფაზა.

- წყალბადი-კალიუმის ტუმბოს ცილა წარმოდგენილია პლაზმურ და ასევე ზოგიერთი ორგანელის მემბრანაში, მაგალითად შიდა მიტოქონდრიალურ მემბრანაში.
- პლაზმურ მემბრანაში წყალბადის ტუმბო წყალბადის იონებს უჯრედიდან გარეთ გადაიტანს და ამის სანაცვლოდ უჯრედში კალიუმის იონებს ტუმბავს, შესაბამისად, ასეთი ტრანსპორტი ელექტრულად ნეიტრალურია.
- კალიუმის (K^+) იონები უჯრედებიდან ქლორის იონებთან ერთად გამოიყოფა, რასაც მოჰყვება კუჭში HCl წარმოქმნა.
- კუჭში მაღალი მჟავიანობა ემსახურება საჭმლის მონელების პროცესის გაადვილებას.
- H^+,K^+ ატფაზა ტუმბოს შემადგენლობაში ფერმენტის როლს ასრულებს.
- K^+ და Cl^- იონების უჯრედიდან ერთიან გამოტუმბვას კოტრანსპორტი ეწოდება.
- ოსტეოკლასტების წყალბადური ტუმბო სხვა წყალბადური ტუმბოების მსგავს ნიშანთვისებებს ატარებს.

ლიზოსომური და ვაკუოლური მემბრანების ატფ-დამოკიდებული პროტონული ტუმბოები.

- პროტონული ტუმბოები ანუ H^+-ატფაზები წარმოდგენილია ვაკუოლებში, ლიზოსომებში, ენდოსომებში, გოლჯის აპარატში და ა.შ. (ნახ.24) ეს ტუმბოები ასევე საფუარებს და ბაქტერიებს გააჩნიათ,

სადაც ისინი სხვადასხვა ფუნქციას ემსახურებიან. მცირე ზომის ან უფრო დაბალი ორგანიზაციის მქონე ორგანიზმებში ნივთიერებათა ტრანსპორტი დამოკიდებულია სინათლის ენერგიაზე და ვინაიდან ტუმბოებისათვის ენერგიის გამოყენება ლიზოსომებსა და ვაკუოლებში ხდება, ამ უკანასკნელების შესაბამის სტრუქტურებს ლიზოსომური და ვაკუოლური მემბრანების ატფ-დამოკიდებული პროტონული ტუმბოები ეწოდება.

- ზოგადად, უმდაბლესი ცხოველებისათვის ენერგიის წყაროს სინათლე წარმოადგენს, შესაბამისად, მათი პიგმენტები ორ კლასად იყოფა:
  - ბაქტერიოროდოფსინი (bR, სინათლე-დამოკიდებული H^+-ტუმბო)
  - ჰალოროდოფსინი (hR, Cl^- -ტუმბო)
- ორივე პიგმენტი დამახასიათებელია არქებაქტერიებისათვის Halobacterium halobium.
- Halobacterium halobium ჟანგბადის მაღალი კონცენტრაციის პირობებში სუნთქვით პროცესს ახორციელებს.
- ჟანგბადის ნაკლებობის ან არარსებობის პირობებში bR და hR პროტონების ტრანსპორტის მეშვეობით სინათლის ენერგიას მოიხმარენ.
- ფოტონის აბსორბცია bR_{568} მიერ ყველა ტრანს-ფორმას 13-ცის-იზომერებში გადაიყვანს.
- რამდენიმე შუალედური ეტაპის გავლის შედეგად bR_{568} მიერ თითო აბსორბირებულ პროტონზე ორი H^+-იონის უკუმიმართულებით ტრანსპორტი ხდება.
- ამით მიიღწევა პროტონული გრადიენტი, რომელიც შემდგომში ატფ სინთეზსს და მოლეკულების მემბრანის გავლით გადაადგილებას ხმარდება.
- გარდა bR_{568} მიერ H^+-იონის უკუმიმართულებით ტრანსპორტისა, hR მეშვეობით Cl^- -იონების უჯრედის შიგნით შეტუმბვა მიმდინარეობს.
- სინათლე-დამოკიდებული (იონურ გრადიენტზე დამოკიდებული) აქტიური სატრანსპორტო სისტემა, რომელიც ატფ-ის ან სინათლის ენერგიას მოიხმარს, მეორად აქტიურ ტრანსპორტს იწვევს.
- მეორადი აქტიური ტრანსპორტის შედეგად სხვადასხვა ნივთიერებების, მაგალითად ამინომჟავების და შაქრების გადატანა ხდება.
- ეს ნივთიერებები ან იონებთან ერთი მიმართულებით (სიმპორტი) ან საპირისპირო მიმართულებით (ანტიპორტი) გადაადგილდებიან.

თავი V

რეცეპტორები და უჯრედშორისი სასიგნალო სისტემების მოდელები

5.1 რეცეპტორები

უჯრედების ერთმანეთთან კომუნიკაცია უჯრედული სასიგნალო სისტემების მეშვეობით ხორციელდება. მრავალუჯრედიან ორგანიზმში უჯრედშორისი კომუნიკაცია აუცილებელია ზრდის, განვითარებისა და მეტაბოლიზმის პროცესების წარმართვასა და რეგულირებისათვის. სპეციფიკური გარე სიგნალის საპასუხოდ უჯრედში ბიოქიმიური მოვლენების კასკადი აღმოცენდება. ყველაზე კარგად შესწავლილი ეგზოგენური სასიგნალო მოლეკულებია **ჰორმონები**. უჯრედულ სიგნალიზაციაში ჩართულ ჰორმონებს შორის არჩევენ ცილოვან მოლეკულებს, პეპტიდებს, სტეროიდებს (მაგ. გლუკოკორტიკოიდები, ესტროგენი, პროგესტერონი, ტესტოსტერონი), თირონინს (T3, T4) და სხვა.

სასიგნალო მოლეკულების აღქმა სპეციფიკური რეცეპტორებით ხდება. რეცეპტორები უჯრედის მიერ სიგნალზე პასუხის გაცემას განაპირობებენ. ეს უმეტესად **ცილები** ან **გლიკოპროტეინებია.** რეცეპტორები სპეციფიკურად უკავშირდებიან **ლიგანდებს** (მაგ. ინსულინი ჰორმონია, რომელიც ინსულინის რეცეპტორს უკავშირდება). დაკავშირების შემდეგ ლიგანდი უჯრედში შესაბამის ბიოლოგიურ რეაქციას იწვევს.

ერთუჯრედიან ორგანიზმებში ყოველი უჯრედი ზეგავლენას ახდენს სხვა უჯრედების ქცევაზე (უჯრედშორისი სიგნალიზაცია). ამის მაგალითია საფუარი (Saccharomyces cerevisiae). საფუარების რეპროდუქციისა და დაკვირტვის დროს ჰაპლოიდური ინდივიდი, რომელიც მზად არის შეერწყას სხვა ორგანიზმს, გამოყოფს „შეუღლების“ პეპტიდურ ფაქტორს, რომელიც სხვა ინდივიდებში პროლიფერაციის შეჩერებას და კონიუგაციისთვის მზადებას იწვევს.

ცხოველებში უჯრედშორისი სიგნალიზაცია მიმდინარეობს როგორც თავისუფალი სეკრეტირებული სასიგნალო მოლეკულების, ასევე პლაზმურ მემბრანასთან დაკავშირებული მოლეკულების მონაწილეობით.

უჯრედის გარე სასიგნალო მოლეკულები როგორც ზედაპირულ, ასევე უჯრედის შიგნით მდებარე რეცეპტორებს უკავშირდებიან (ნახ.25). რეცეპტორების ადგილმდებარეობა შესაბამისი ლიგანდის ხსნადობის თვისებებზეა დამოკიდებული. ისეთი მოლეკულები, როგორიცაა ნეიროტრანსმიტერები და ცილები, ჰიდროფილური და ლიპოფობურია და, შესაბამისად, დამოუკიდებლად უჯრედულ მემბრანას ვერ გადალახავენ. სხვები, როგორიცაა ცხიმში ხსნადი სტეროიდები, ადვილად ლახავენ ლიპიდურ შრეს და უჯრედშიდა რეცეპტორებს უკავშირდებიან. ასეთი ჰიდროფობული ლიპოფილური

მოლეკულები სატრანსპორტო ცილასთან დაკავშირებისას შესაძლოა გადატანილ იქნას სისხლის მეშვეობით, ამ დროს სისხლში მათი სიცოცხლის ხანგრძლივობა საათებითა და დღეებით განისაზღვრება. ამისგან განსხვავებით ჰიდროფილური მოლეკულები წამებში იშლება. მაშასადამე, წყალში ხსნადი სასიგნალო მოლეკულები, როგორც წესი, ხანმოკლე პასუხს იწვევენ, ხოლო ჰიდროფობული მოლეკულები კი ხანგრძლივი მოქმედებით ხასიათდებიან.

ზედაპირული რეცეპტორები პლაზმურ მემბრანაში ლოკალიზებული რეცეპტორებია. ზედაპირული რეცეპტორების მაგალითებია ნეიროტრანსმიტერების, ცილოვანი ჰორმონების და ცილოვანი ზრდის ფაქტორების რეცეპტორები. ერთუჯრედიანებს შორის მაგალითის სახით შესაძლებელია საფუარის მოყვანა. საფუარში უჯრედის ეგზოგენური სასიგნალო მოლეკულები ჰიდროფილური და ლიპოფობურია, და შესაბამისად, ვერ ლახავენ პლაზმურ მემბრანას. ამის გამო ისინი უჯრედის ზედაპირულ რეცეპტორებს უკავშირდებიან, რასაც სიგნალის უჯრედის შიგნით გადაცემა მოჰყვება.

უჯრედშიდა რეცეპტორები მცირე ზომის ჰიდროფობული და ლიპოფილური სასიგნალო მოლეკულებია (მაგ. სტეროიდული და თიროიდული ჰორმონები), რომლებიც გაივლიან სამიზნე უჯრედის პლაზმურ მემბრანას და ციტოპლაზმურ ან ბირთვულ უჯრედშიდა რეცეპტორებს დაუკავშირდებიან. ჰორმონისა და რეცეპტორის კომპლექსი კონფორმაციულ ცვლილებებს განიცდის, რის შედეგადაც რეცეპტორების აფინურობა დნმ-ს მიმართ იზრდება. ბირთვის შიგნით ასეთი რეცეპტორები უკავშირდებიან სპეციფიკურ გენებს და ტრანსკრიპციის პროცესის რეგულაციას ახორციელებენ. სპეციფიკურ გენებთან მათი დაკავშირება ამ გენების ტრანსკრიპციას ააქტიურებს, ან, პირიქით, თრგუნავს. დნმ-ის ამოცნობის საიტები, რომლებიც სტეროიდულ ჰორმონებზე მოპასუხე გენებს უკავშირდებიან, რეცეპტორ-დამოკიდებული ტრანსკრიპციული ენჰანსერის როლს თამაშობენ. ზოგიერთი ასეთი გენის პროდუქტმა შესაძლებელია სხვა გენების აქტივაციაზე იმოქმედოს, რაც დაყოვნებულ მეორად ეფექტს იწვევს.

უჯრედის გარე სასიგნალო მოლეკულები ზოგჯერ პლაზმური მემბრანის გადასალახავად სპეციალურ „გადამტან“ ცილებს უკავშირდებიან.

ამრიგად, უჯრედებში რეცეპტორები ლოკალიზებულია:

ა. პლაზმურ მემბრანაში (უჯრედის ზედაპირის რეცეპტორები);

ბ. ციტოპლაზმაში;

გ. ბირთვში.

სეკრეტირებული მოლეკულები სიგნალიზაციის ოთხ ფორმას განაპირობებენ, მათ შორის სინაფსური სიგნალიზაციაც განიხილება.

(1) აუტოკრინული სიგნალიზაცია - სასიგნალო უჯრედები იგივე სამიზნე უჯრედებია; უჯრედის მიერ გამოყოფილი ლიგანდები იმავე უჯრედის რეცეპტორებს უკავშირდებიან. აუტოკრინული სიგნალიზაცია იდენტური უჯრედების ჯგუფების მიერ „გადაწყვეტილებების“ მიღების კოორდინაციას ახდენს. აღმოჩნდა, რომ უფრო ეფექტური კომუნიკაციისთვის იდენტური უჯრედების მიერ სასიგნალო მოლეკულების სეკრეცია ერთდროულად მიმდინარეობს, და, შესაბამისად, რეცეპტორები უფრო მძლავრ სიგნალს იღებენ. ამ მოვლენას „ჯგუფური ეფექტი“ ეწოდება (ნახ.26).

მაგალითი: ეიკოზანოიდები - სასიგნალო მოლეკულები, რომლებიც ზრდასრულ ძუძუმწოვრებში ხშირად აუტოკრინული ტიპის რეაქციებში მონაწილეობენ.

(2) პარაკრინული სიგნალიზაცია - სასიგნალო უჯრედის მიერ გამოყოფილი ლიგანდი მეზობლად მდებარე სამიზნე უჯრედების რეცეპტორს უკავშირდება. ასეთ ლიგანდებს არ შეუძლიათ დიდ მანძილზე გადაადგილება და ისინი ხშირად ადგილობრივი მედიატორების „დახმარებას“ მიმართავენ (ნახ.27).

(3) ენდოკრინული სიგნალიზაცია - ენდოკრინული უჯრედები ასინთეზირებენ სასიგნალო მოლეკულებს, რომლებსაც ჰორმონები ეწოდება. ისინი გადაიტანება ცხოველურ უჯრედებში სისხლის, ხოლო მცენარეებში მცენარეული წვენის მეშვეობით. ასეთი სასიგნალო მოლეკულებით სიგნალი თითქმის მთელ სხეულში გაფანტულ სამიზნე უჯრედებამდე აღწევს (ნახ.28).

(4) სინაფსური სიგნალიზაცია

მაგალითი: ნერვული უჯრედები ანუ ნეირონები. ნეირონი აგზავნის ელექტრულ იმპულსს (მოქმედების პოტენციალი) თავისი აქსონის გასწვრივ. როდესაც იმპულსი აქსონის ტერმინალურ ნაწილს მიაღწევს, ის სპეციფიკური ქიმიური სასიგნალო მოლეკულის - ნეიროტრანს-მიტერის სეკრეციას განაპირობებს. ნეიროტრანსმიტერების მოქმედება სწრაფი და სპეციფიკურია. ნეიროტრანსმიტერების მონაწილეობით განახორციელებულ სიგნალიზაციას სინაფსური სიგნალიზაცია ეწოდება. სინაფსური სიგნალიზაციის დროს ნეიროტრანსმიტერები ვეზიკულების შემადგენლობაში სპეციალიზირებულ ნეირონულ კონტაქტებში - სინაფსებში გამოიყოფა და მხოლოდ პოსტსინაფსურ სამიზნე უჯრედებზე მოქმედებს.

სხვაობა ენდოკრინულ და სინაფსურ სიგნალინგს შორის მდგომარეობს იმაში, რომ სინაფსური სიგნალი დიდ მანძილზე ვრცელდება ელექტრული იმპულსის სახით და მისი გავრცელების სიჩქარე 100 მ/წმ აღწევს. ენდოკრინული სიგნალიზაცია სისხლის ნაკადის მეშვეობით ხორციელდება და, შესაბამისად, გაცილებით უფრო ნელია, ვიდრე ელექტრული იმპულსების გავრცელება სინაფსური

სიგნალიზაციის დროს. მაღალი სიჩქარე და სპეციფიკურობა ნერვული უჯრედებისთვის დამახასიათებელი სინაფსური სიგნალიზაციის უნიკალურ თვისებებს წარმოადგენს (ნახ.29).

ხშირად ერთი და იგივე მოლეკულა ენდოკრინული, პარაკრინული ან ნეიროტრანსმიტერული სიგნალის როლს თამაშობს.

უჯრედული კომუნიკაცია უჯრედული კონტაქტების მეშვეობითაც მიმდინარეობს **(იუქსტაკრინული სიგნალიზაცია).** კერძოდ, **ნაპრალი-სებური კონტაქტების** მეშვეობით ინფორმაცია მეზობელ უჯრედებს შორის ვრცელდება. ნაპრალისებური კონტაქტები ახლოს მდებარე პლაზმურ მემბრანებს შორის ყალიბდება, რაც განაპირობებს მეზობელი უჯრედების პირდაპირ ციტოპლაზმურ კავშირს თხელი არხების მეშვეობით. ეს არხები მცირე ზომის უჯრედშიდა სასიგნალო მოლეკულების (როგორიცაა cAMP ან Ca^{2+}) უჯრედებს შორის მიმოცვლას უზრუნველყოფენ, თუმცა ისინი ვერ ატარებენ მაკრომოლეკულებს, როგორიცაა ცილები, ნუკლეინის მჟავები და ა.შ. ნაპრალისებური კონტაქტებით გაერთიანებული უჯრედები **პირდაპირ კომუნიკაციას** ახორციელებენ (ნახ.30).

ერთი უჯრედი მრავალ ლიგანდს იკავშირებს, ამასთან ერთად, გასხვავებულ უჯრედებს ერთსა და იგივე ლიგანდის დაკავშირება შეუძლიათ. რეცეპტორის მიერ ინიცირებული უჯრედული პასუხის ბუნება როგორც რეცეპტორის ტიპზე, ასევე რეცეპტორის ლოკალიზაციაზეა დამოკიდებული.

განვიხილოთ აცეტილქოლინის (Ach) მაგალითი. ნეიროჰორმონი აცეტილქოლინი ჩონჩხის და ასევე გულის კუნთის რეცეპტორებს უკავშირდება. ჩონჩხის კუნთებში აცეტილქოლინი შეკუმშვას იწვევს, გულის კუნთში კი, პირიქით, შეკუმშვას თრგუნავს.

რეცეპტორს ორი მნიშვნელოვანი ფუნქციური საიტი უნდა ჰქონდეს, ესენია:

- ამოცნობის დომენი (ლიგანდის ამოცნობისათვის);
- დომენი, რომელიც გადმოსცემს ინფორმაციას „ლიგანდ-რეცეპტორის“ დაკავშირების შესახებ სხვადასხვა უჯრედშიდა საიტზე.

ეფექტორები

- უჯრედული ზედაპირის ამ ტიპის რეცეპტორები სიგნალის გადამცემის როლს თამაშობენ.
- ეს მაღალი აფინურობის მქონე ზედაპირული რეცეპტორები ლიგანდს უკავშირდებიან და მიღებულ გარე სიგნალს გარდაქმნიან უჯრედშიდა სიგნალებად, რომლებიც სამიზნე უჯრედის ქცევას განსაზღვრავენ.
- უჯრედული ზედაპირის ყველა რეცეპტორი ტრანსდუქციის მექანიზმის მიხედვით სამი არსებული კლასიდან ერთ-ერთს მიეკუთვნებიან. ესენია:

1. იონურ არხებთან დაკავშირებული რეცეპტორები (ტრანსმიტერ-დამოკიდებული იონური არხები);
2. G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორები;
3. ფერმენტთან დაკავშირებული რეცეპტორები.

(1) იონურ არხებთან დაკავშირებული რეცეპტორები

ეს არის ტრანსმიტერ-დამოკიდებული იონური არხები, რომლებიც სწრაფ სინაფსურ სიგნალიზაციაშია ჩართული (მაგ. ნერვულ ქსოვილში ან ნერვულ-კუნთოვანი დაკავშირების ადგილას). ტრანსმიტერ-დამოკიდებული იონური არხების აქტიურობას მცირერიცხოვანი ნეიროტრანსმიტერები არეგულირებენ. ნეიროტრანსმიტერები გარკვეული დროით ხსნიან ან ხურავენ ცილოვან იონურ არხებს. ისინი ჩართულები არიან ელექტრულად აგზნებად უჯრედებს შორის სინაფსური სიგნალის სწრაფ გადაცემაში. ყველა ამგვარი რეცეპტორი ტრანსმემბრანული ცილების ერთსა და იგივე ოჯახს (multipass transmembrane proteins) მიეკუთვნება (ნახ.31).

ნეირონებს შორის სიგნალის გადაცემა სინაფსის მეშვეობით ხდება, ერთი ნეირონი შესაძლოა რამდენიმე სინაფსის (1-დან 1000-მდე) წარმოქმნაში იყოს ჩართული. სინაფსების ნეირონებთან შეფარდება 40000:1 ტოლია.

სინაფსები შეიძლება ელექტრული ან ქიმიური იყოს. ელექტრულ სინაფსებში ნაპრალი პრესინაფსურსა და პოსტსინაფსურ უჯრედს შორის მცირეა (0.2 ნმ). ქიმიურ სინაფსებში ნაპრალის სისქე 20ნმ-დან 50ნმ-მდე მერყეობს. ელექტრულ სინაფსებში პრესინაფსური მემბრანა პირდაპირი გზით მოქმედების პოტენციალის აღმოცენებას განაპირობებს, მაშინ როდესაც ქიმიურ სინაფსებში პრესინაფსური მემბრანა ნეიროტრანსმიტერების ქიმიურ სეკრეციაშია ჩართული.

(2) G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორები

ეს რეცეპტორები არაპირდაპირი გზით პლაზმური მემბრანის გარკვეული სამიზნე ცილების აქტიურობას არეგულირებენ. ამ შემთხვევაში სამიზნე ცილა ან ფერმენტს წარმოადგენს, ან იონური არხის შემადგენელი ცილაა. რეცეპტორსა და სამიზნე ცილის ურთიერთქმედებას ხელს უწყობს მესამე ცილა, რომელსაც G-ცილა ეწოდება. G-ცილა ტრიმერული (α, β, γ სუბერთეულებისგან შემდგარი) GTP-დაკავშირებულირეგულატორულიცილაა,რომელიცსამიზნეცილას ააქტიურებს, რასაც ან უჯრედშიდა მედიატორების კონცენტრაციის, ან პლაზმური მემბრანის იონურ განვლადობის ცვლილება მოჰყვება. თავის მხრივ, უჯრედშიდა მედიატორები სხვა უჯრიდშიდა ცილების მოქმედებას არეგულირებენ. ყველა G-ცილა მიეკუთვნება 7 TM (seven pass transmembrane proteins) პოლიტოპური ტრანსმემბრანული ცილების სუპეროჯახს (ნახ.32).

სპეციფიკურ ლიგანდთან დაკავშირებისას რეცეპტორები არაპირდაპირი გზით პლაზმური მემბრანის ცილის, ფერმენტისა თუ იონური არხის ცილის აქტივაციას ან, პირიქით, ინაქტივაციას იწვევენ. რეცეპტორის და შესაბამისი ფერმენტისა თუ იონური არხის ცილის ურთიერთობაში GTP-დაკავშირებული ცილა მონაწილეობს. G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორები სამიზნე უჯრედში ქიმიური რეაქციების კასკადს იწვევენ, რაც ზოგადად მცირე ზომის უჯრედშიდა მესენჯერების (მაგალითად, cAMP ან ინოზიტოლტრიფოსფატის) კონცენტრაციას ცვლის. თავის მხრივ, მეორადი მესენჯერები სხვა უჯრედშიდა ცილების ფუნქციებზე მოქმედებენ. ასე, cAMP კონცენტრაციის ცვლილება ააქტიურებს cAMP-დამოკიდებულ კინაზებს, რომლებიც სპეციფიკური სამიზნე ცილების ფოსფორილირებას განაპირობებენ. კალციუმი გარკვეული ფერმენტების აქტიურობაზე კალციუმ-დამოკიდებულ ცილასთან - კალმოდულინთან დაკავშირების შედეგად მოქმედებს. სწორედ კალმოდულინი ააქტიურებს სამიზნე ცილებს. ყველა მეორადი მესენჯერის მოქმედება დროებითი ხასიათისაა და ადვილად იხსნება უჯრედშიდა სიგნალის მოშორების შედეგად. უჯრედების პასუხი გარეთა სიგნალზე აინიცირებს სასიგნალო კასკადებს, რომლებიც არეგულირებენ და ასევე საგრძნობლად აძლიერებენ სხვადასხვა უჯრედშიდა პროცესს. G-ცილის ეფექტორული ნაწილი ციტოზოლისკენაა ორიენტირებული.

ქვემოთ მოყვანილია ზოგიერთი ლიგანდი, რომელიც G-ცილასთან შეუღლებულ რეცეპტორებთან (G-protein coupled receptor, GPCR) დაკავშირებისას გენების ექსპრესიას ცვლის:

- ცილოვანი და პეპტიდური ჰორმონები, როგორიცაა:
  - თიროიდ-მასტიმულირებელი ჰორმონი (TSH)
  - ACTH
- ზოგიერთი ფერომონი
- ლეიკოტრიენები
- GABA (რომელიც გარდა იმისა, რომ ნეიროტრანსმიტერს] წარმოადგენს, ასევე გენების ექსპრესიის რეგულაციას ახდენს)

(3) ფერმენტთან დაკავშირებული რეცეპტორები

ფერმენტთან დაკავშირებული რეცეპტორები 1 TM (single pass transmembrane proteins) მონოტოპური ტრანსმემბრანული ცილებია. მათი ლიგანდის დამაკავშირებელი საიტი უჯრედის გარეთ, ხოლო კატალიზური საიტი უჯრედის შიგნით მდებარეობს. ფერმენტთან დაკავშირებული რეცეპტორები ჰეტეროგენური ბუნებისაა და აქტივაციის დროს ან პირდაპირი (როგორც ფერმენტები), ან არაპირდაპირი (სხვა ფერმენტებს უკავშირდებიან) მოქმედებით ხასიათდება. მათი უმრავლესობა საკუთრივ პროტეინკინაზებს ან პროტეინკინაზებთან (უმეტესად ეს თიროზინკინაზაა) დაკავშირებულ ცილებს წარმოადგენს.

ლიგანდ-რეცეპტორის დაკავშირებით აღმოცენებული ინფორმაცია ეფექტორების საშუალებით გადაეცემა უჯრედის შიგნით სხვადასხვა უბანში.

მაგალითები: ადენილატციკლაზა, გუანილატციკლაზა.

ეფექტორის ფუნქცია

ეფექტორების ფუნქცია **„მეორადი მესენჯერების“** აქტივაციაში მდგომარეობს.

მეორადი მესენჯერების მაგალითებია:

ა. ციკლური ამფ (cAMP);
ბ. ციკლური გმფ (cGMP);
გ. პროტეინკინაზები;
დ. კალციუმის იონები;
ე. ინოზიტოლტრიფოსფატი IP3;
ვ. დიაცილგლიცეროლი (DAG).

მეორადი მესენჯერის ფუნქცია ეგზოგენური სასიგნალო მოლეკულების მოქმედების უჯრედშიდა დონეზე გადაყვანაში მდგომარეობს, სწორედ ამიტომ მათ მეორადი მესენჯერები ეწოდება (პირველად მესენჯერებს ლიგანდებს მიაკუთვნიან).

სიგნალის გადაცემა (ტრანსდუქცია)

- სიგნალის გატარებას პლაზმურ მემბრანაში სიგნალის ტრანსდუქცია ეწოდება.
- პროცესი იწყება ლიგანდის უჯრედის ზედაპირზე არსებულ რეცეპტორთან დაკავშირებით .
- ლიგანდის რეცეპტორთან დაკავშირების შემდეგ ეს უკანასკნელი ან აქტივირებულ, ან პირიქით, ინაქტივირებულ მდგომარეობაში გადადის.
- ორივე შემთხვევაში ეფექტორები ამოცნობენ „ლიგანდ-რეცეპტორის კომპლექსის“ მიერ აღმოცენებულ გზავნილს და გაავრცელებენ მას უჯრედის შიგნით მეორადი მესენჯერების მეშვეობით.
- უჯრედების პასუხი სიგნალზე განსხვავებულია. ასე, სასიგნალო მოლეკულებმა შეიძლება გამოიწვიონ:
  1. დაუყოვნებლივი ცვლილებები უჯრედის მეტრაბოლიზმში (მაგ, გლიკოგენოლიზის აქტივაცია ღვიძლზე ადრენალინის მოქმედების შედეგად);
  2. პლაზმური მემბრანის ელექტრული პოტენციალის სწრაფი ცვლილება (მაგ. მოქმედების პოტენციალის აღმოცენება);
  3. გენური ექსპრესიის ცვლილება (ასეთ პასუხს, რომელიც ბირთვის დონეზე ხორციელდება, მეტი დრო სჭირდება).

პირველადი მესენჯერების ზოგიერთი მაგალითი

სტეროიდები

სტეროიდები მცირე ჰიდროფობულ მოლეკულებია, რომლებიც თავისუფლად დიფუნდირებენ პლაზმურ მემბრანასა და ციტოზოლში და საბოლოოდ ბირთვში შეაღწევენ.

სტეროიდების მაგალითებია:

- გლუკოკორტიკოიდები (მაგ. კორტიზოლი)
- მინერალკორტიკოიდები (მაგ. ალდოსტერონი)
- სასქესო ჰორმონები, როგორიცაა:
  - ესტრადიოლი
  - პროგესტერონი
  - ტესტოსტერონი
- ეკდიზონი

სასიგნალო მექანიზმი:

- სტეროიდები თავის შიდაუჯრედულ რეცეპტორებს უკავშირდებიან.
- წარმოქმნილი კომპლექსი:
  - გამოყოფს HDAC-ს და ჩართავს ჰისტონ-აცეტილაზებს (HAT), რაც ქრომოსომების რეპრესიას ასუსტებს;
  - უკავშირდება დნმ-ის გენების პრომოტორული უბნის სპეციფიკურ თანმიმდევრობას - SRE (steroid response element), რაც ააქტიურებს გენების ექსპრესიას.

აზოტის ოქსიდი

- NO თავისუფლად დიფუნდირებს უჯრედის მემბრანაში;
- NO-ს ბევრ სხვადასხვა მოლეკულასთან ურთიერთქმედება შეუძლია, ამიტომ ის სწრაფად მოხმარდება თავისივე წარმოქმნის ადგილის სიახლოვეში. შესაბამისად, NO პარაკრინულად ან სულაც აუტოკრინულად მოქმედებს - მისი მოქმედება მხოლოდ მისი სინთეზის ადგილის სიახლოვეში მდებარე უჯრედებზე ვრცელდება.
- NO-ს სასიგნალო ფუნქციები მისი უჯრედის ცილოვან რეცეპტორთან დაკავშირებით იწყება; დაკავშირების საიტები შეიძლება იყოს:
  - ცილის ლითონის იონი;
  - ამინომჟავური ნაშთის (მაგ. ცისტეინის) ერთ-ერთი S ატომი.

სასიგნალო მექანიზმი:

NO-ს დაკავშირება ცილასთან ამ უკანასკნელში ალოსტერულ ცვლილებებს იწვევს, რაც, თავის მხრივ, უჯრედში მეორადი მესენჯერების წარმოქმნას განაპირობებს. NO-ს ყველაზე გავრცელებულ სამიზნე ცილას გუანილატციკლაზა (ანუ გუანილილციკლაზა) წარმოადგენს. ეს ფერმენტი მეორადი მესენჯერის - ციკლური გმფ (cGMP) სინთეზში მონაწილეობს.

მემბრანული რეცეპტორების მაგალითები

G-ცილასთან შეუღლებული რეცეპტორები (G-protein coupled receptors, GPCR)

სასიგნალო მექანიზმი:

- ლიგანდი რეცეპტორის უჯრედის გარეთ მდებარე დომენს უკავშირდება.
- ლიგანდის რეცეპტორთან დაკავშირება იწვევს ციტოპლაზმურ C-ბოლოსთან დაკავშირებული G-ცილის აქტივაციას;
- ეს უკანასკნელი აინიცირებს მეორადი მესენჯერის წარმოქმნას. ყველაზე გავრცელებულია: ციკლური ამფ (cAMP), რომელიც მიიღება ატფ-დან ადენილატციკლაზას მოქმედებით, და ინოზიტოლ 1,4,5-ტრიფოსფატი (IP3).
- მეორადი მესენჯერი, თავის მხრივ, იწვევს უჯრედშიდა რეაქციების სერიას, როგორიცაა: ფოსფორილირება და ფერმენტების აქტივაცია; Ca2+-ის უჯრედშიდა დეპოებიდან ციტოპლაზმაში გათავისუფლება.
- cAMP-ს შემთხვევაში ფერმენტული ცვლილებები მოიცავს CREB (cAMP response element binding protein, ციკლური ამფ-დამოკიდებული ელემენტის დამაკავშირებელი ცილა) ტრანსკრიპციული ფაქტორის აქტივაციას;
- CREB დაუკავშირდება რა შესაბამის ლიგანდ-დამოკიდებულ საიტს გენების პრომოტორულ უბანში -5'TGACGTCA3' , გენების ტრანსკრიპციას ჩართავს.
- უჯრედი ზედაპირული სიგნალის საპასუხოდ შესაბამისი გენების პროდუქტების წარმოქმნას იწყებს.

ციტოკინური რეცეპტორები

დღეისათვის აღმოჩენილია მრავალი ციტოკინური რეცეპტორი. ამ რეცეპტორების უმრავლესობა ორ ძირითად ოჯახს მიეკუთვნება, ესენია:

1. თიროზინკინაზას რეცეპტორები (RTKs);
2. რეცეპტორები, რომლებიც JAK-STAT სასიგნალო გზას რთავენ.

თიროზინკინაზას რეცეპტორები (RTKs)

წარმოადგენენ მონოტოპურ ტრანსმემბრანულ ცილებს. მათი ლიგანდებია:

- ინსულინი
- სისხლძარღვების ენდოთელიუმის ზრდის ფაქტორი **(VEGF)**
- თრომბოციტების ზრდის ფაქტორი **(PDGF)**
- ეპიდერმული ზრდის ფაქტორი **(EGF)**
- მაკროფაგების კოლონიების მასტიმულირებელი ფაქტორი **(M-CSF)**

სასიგნალო მექანიზმი:

- ლიგანდთან დაკავშირებისას ორი მეზობლად მდებარე რეცეპტორი აქტიურ დიმერს წარმოქმნის.
- ეს აქტივირებული დიმერი თიროზინკინაზას წარმოადგენს. თიროზინკინაზა თიროზინის ფოსფორილირებას აკატალიზებს, ფოსფორილირდება თვით თიროზინკინაზა და აგრეთვე სხვა ცილებიც, რის შედეგად ისინი აქტიურ მდგომარეობაში გადადიან.
- ამ ცილების უმრავლესობა ასევე თიროზინკინაზებს წარმოადგენს და, შესაბამისად, მათი აქტივაციის გზით ციტოზოლში ფოსფორილირების რეაქციათა კასკადი აღმოცენდება.

TGF-β ფაქტორის რეცეპტორები, SMAD

წარმოადგენენ ტრანსმემბრანულ ცილებს, რომლებიც ლიგანდთან დაკავშირებისას კინაზებად გარდაიქმნებიან. ეს კინაზები სამიზნე ცილების **სერინისა** და **თრეონინის** ამინომჟავური თანმიმდევრობების ფოსფორილირებას ახდენენ.

ამ რეცეპტორების ლიგანდებია:

- **TGF-β** (საიდანაც გამომდინარეობს ამ რეცეპტორების ზოგადი სახელწოდება);
- აქტივინები;
- ძვლის მორფოგენეტიკური ცილები **(BMP)**

სასიგნალო მექანიზმი:

- ლიგანდი უკავშირდება რეცეპტორის გარეთა ნაწილს;
- რეცეპტორი ფოსფორილირებას განიცდის და მეორე ტრანსმემბრანულ რეცეპტორთან დიმერს წარმოქმნის;
- წარმოქმნილი დიმერი ციტოზოლის **SMAD** ცილის ფოსფორილირებას აკატალიზებს.

T-უჯრედების ანტიგენური რეცეპტორი (TCR)

T-უჯრედებისთვის დამახასიათებელია ტრანსმემბრანული დიმერული ცილა, რომელსაც ისინი რეცეპტორად იყენებენ ანტიგენური ფრაგმენტების სპეციფიკური კომბინაციის ამოსაცნობად. ეს ფრაგმენტები მთავარი ჰისტოშეთავსებულობის კომპლექსის (MHC) გენებით კოდირებული გლიკოპროტეინის გარკვეულ უბანშია მოთავსებული.

თავი VI

სიგნალის გადაცემა

6.1. სიგნალის გატარება (ტრანსდუქცია)

სასიგნალო გზა იწყება ლიგანდის დაკავშირებით ზედაპირულ ან უჯრედის შიგნით არსებულ რეცეპტორთან. ლიგანდის რეცეპტორთან დაკავშირებისას ეს უკანასკნელი ან აქტივირდება, ან, პირიქით, ინაქტივირებულ მდგომარეობაში გადადის. ორივე შემთხვევაში მიღებული სიგნალი ვრცელდება უჯრედის შიგნით მეორადი მესენჯერების წარმოქმნის და ასევე სიგნალის მნიშვნელოვანი გაძლიერების - **ამპლიფიკაციის** საშუალებით. მთელ ამ რთულ მოვლენათა ჯაჭვს სიგნალის გადაცემა, ანუ **ტრანსდუქცია** ეწოდება.

სიგნალის ამპლიფიკაცია

გარდა სასიგნალო ინფორმაციის უჯრედის შიგნით გავრცელებისა, მეორადი მესენჯერი ასევე მნიშვნელოვნად აძლიერებს სიგნალს. სიგნალიზაციაში ჩართული ცილებისა და სხვა მოლეკულების რაოდენობა ბიოქიმიური კასკადის ყოველ მომდევნო ეტაპზე მნიშვნელოვნად იზრდება, შესაბამისად, შედარებით სუსტ სიგნალსაც კი შეუძლია მნიშვნელოვანი პასუხი გამოიწვიოს. ამ მოვლენას სიგნალის გაძლიერება ანუ **ამპლიფიკაცია** ეწოდება (ნახ.33).

სიგნალის ამპლიფიკაციის პროცესში მონაწილე მეორადი მესენჯერების მაგალითები:

I. ციკლური ამფ (cAMP)
II. ციკლური გმფ (cGMP)
III. ინოზიტოლტრიფოსფატი(IP_3)
IV. დიაცილგლიცეროლი (DAG)
V. პროტეინკინაზები
VI. კალციუმის იონები

სასიგნალო სისტემის ძირითადი კომპონენტები - ტერმინოლოგია

სტიმული: ყველა შესამჩნევი ცვლილება სისტემაში (მაგ. ტემპერა-ტურის, K^+ კონცენტრაციის, წნევის ცვლილება და ა.შ).

რეცეპტორი: მოლეკულა, რომელიც იცვლის თავის კონფორმაციას სტიმულის საპასუხოდ.

აფერენტული გზა: გზა, რომელსაც გაივლის სიგნალი რეცეპტორიდან ინტეგრაციის ცენტრამდე.

ინტეგრაციის ცენტრი: სიგნალის გავრცელების ცენტრი

ეფერენტული გზა: გზა ინტეგრაციის ცენტრიდან ეფექტორებამდე.

პასუხი: პასუხი არის ის საბოლოო შედეგი, რომელიც უჯრედში ცვლილებას ან ცვლილებათა თანმიმდევრობას იწვევს. კასკადის ერთი რგოლის მოლეკულა მოქმედებს მომდევნო რგოლის მოლეკულებზე, რაც იწვევს პასუხის გეომეტრულ პროგრესიაში გაძლიერებას.

ციკლური ამფ (cAMP) სიგნალის ამპლიფიკაციაში

cAMP არის 3',5'-ადენოზინმონოფოსფატი, შემოკლებით cAMP, რომელიც მიიღება მემბრანის შიდა ზედაპირზე ლოკალიზებული ფერმენტის ადენილატციკლაზას მოქმედების შედეგად, როგორც ატფ-ის პროდუქტი (ნახ.34).

პოსტ-რეცეპტორული ეფექტები

პირველადი მესენჯერის (ლიგანდის) რეცეპტორთან დაკავშირება უჯრედეული პასუხის მხოლოდ პირველი საფეხურია, რომელიც უჯრედში შემდეგი სახის ცვლილებებს იწვევს:

ა. ცვლილება მემბრანის განვლადობაში, სატრანსპორტო ფუნქციაში ან ელექტრულ სტატუსში;
ბ. კუნთის შეკუმშვის ინტენსიობის ცვლილება (ნახ.35);
გ. გარკვეული ნივთიერებების სინთეზის ან სეკრეციის სიჩქარის ცვლილება (ნახ.36).

ყველა ცვლილება, რომელიც ლიგანდ-რეცეპტორის დაკავშირების შემდეგ ხორციელდება, გარკვეული უჯრედული ცილების კონფორმაციული ცვლილებების შედეგია. ასეთი ცილების მაგალითებია:

ა) კუნთის შეკუმშვა - კუმშვადი ცილები;
ბ) ღვიძლში გლუკოზის სინთეზის ინტენსიობის ცვლილება - ინსულინის რეცეპტორი;
გ) ელექტრული სიგნალის გენერირება ნერვულ უჯრედებში - მემბრანული ცილები.

6.2 სიგნალიზაცია G-ცილასთან შეუღლებული ზედაპირული რეცეპტორების მონაწილეობით.

პლაზმური მემბრანის რეცეპტორების ეს ტიპი წარმოდგენილია ცილებით, რომლებიც იონური არხების როლს თამაშობენ. ლიგანდის დაკავშირების შედეგად აღმოცენებული მემბრანული რეცეპტორის სტრუქტურის ცვლილება ახლოს მდებარე იონური არხის ცილასთან ურთიერთქმედების საშუალებას იძლევა.

ა. რეცეპტორთან ურთიერთქმედების შედეგად იონური არხი იხსნება ან იხურება, რასაც მოჰყვება ამ არხისთვის სპეციფიკური იონების პლაზმურ მემბრანაში დიფუზიის გაძლიერება ან შესუსტება. ასეთი ტიპის არხებს რეცეპტორ-დამოკიდებული არხები ეწოდება.

ბ) არხებში გატარებული იონები ნერვულ, კუნთოვან და ზოგიერთ ჯირკვლოვან უჯრედში ელექტრულ იმპულს გენერირებენ (შეცვლილი მემბრანული ელექტრული სიგნალი).

მესენჯერის დაკავშირება პლაზმური მემბრანის ზოგიერთ რეცეპტორთან მემბრანის შიდა ზედაპირზე ლოკალიზებული ფერმენტ ადენილატციკლაზას აქტივაციას იწვევს.

აქტივირებული ადენილატციკლაზას მოქმედებით უჯრედშიდა ატფ გარდაიქმნება 3',5'-ადენოზინმონოფოსფატად, რომელსაც cAMP ეწოდება (ნახ.36). cAMP ვრცელდება უჯრედის შიგნით, რასაც უჯრედშიდა ცვლილებების კასკადის აღმოცენება მოჰყვება, ეს უკანასკნელი კი საბოლოოდ უჯრედულ პასუხს განსაზღვრავს. cAMP-ის აქტიურობა წყდება მისი არაციკლურ ამფ-ად გარდაქმნის შემდეგ. ამ რეაქციას ფერმენტი ფოსფოდიესთერაზა აკატალიზებს. უჯრედშიდა არეში cAMP ერთს ან რამდენიმე ფერმენტს ააქტიურებს, რომლებსაც cAMP-დამოკიდებული პროტეინკინაზები ეწოდება. პროტეინკინაზები თავისუფალ მდგომარეობაში როგორც ციტოპლაზმაში, ასევე პლაზმურ მემბრანაში გვხვდება.

არააქტიური პროტეინკინაზები აქტიურ პროტეინკინაზებად გადაიქცევიან.

იონურ არხებში სხვა იონების გატარებასთან ერთად უჯრედში ასევე კალციუმი ხვდება, რასაც მოჰყვება ციტოზოლში მისი კონცენტრაციის ზრდა.

კალციუმის კონცენტრაციის ზრდა ასევე უჯრედის პასუხს იწვევს. ასე, ციტოზოლში არსებული კალციუმი უკავშირდება სპეციფიკურ ცილას, რომელსაც **კალმოდულინი** ეწოდება. ასეთი დაკავშირება საბოლოოდ უჯრედში გარკვეულ საპასუხო მოქმედებას იწვევს (შეკუმშვა, სეკრეცია, და ა.შ.).

ციტოზოლის კალციუმი თავადვე მეორად მესენჯერს წარმოადგენს. პლაზმურ მემბრანაში მრავალი კალციუმის არხია, რომელიც უშუალოდ რეცეპტორებით არ იმართება. ეს არხები იხსნება ან იხურება ელექტრული სიგნალის საპასუხოდ.

cAMP ციტოზოლის კალციუმის კონცენტრაციაზე მოქმედებს, რაც გარკვეული ცილების სტრუქტურის შეცვლას იწვევს. ეს კი, თავის მხრივ, უჯრედის სიგნალზე პასუხს განაპირობებს.

სიგნალის ამპლიფიკაცია cAMP მეშვეობით

ფერმენტ ადენილატციკლაზას ან პროტეინკინაზას აქტივაცია მოვლენათა მზარდ „კასკადს" იწვევს. მაგალითად, ვთქვათ, რომ cAMP მოლეკულების რაოდენობა 100 ტოლია, თითო cAMP-ით აქტივირებული პროტეინკინაზას მოლეკულების რაოდენობაა ასევე 100, შესაბამისად, მიიღება 100x100=10000 აქტიური ცილის ფოსფორილირების ფერმენტი, საბოლოოდ ამპლიფიკაცია კი 10000x10000=100 000 000 მიაღწევს.

6.3 ინოზიტოლტრიფოსფატის სინთეზი და მისი როგორც მეორადი მესენჯერის როლი

ინოზიტოლ ფოსფოლიპიდი უჯრედული მემბრანის მინორულ ფოსფოლიპიდს წარმოადგენს. უჯრედის G-ცილა დამოკიდებული ზედაპირული რეცეპტორის გარე სასიგნალო მოლეკულასთან დაკავშირებისას ინოზიტოლტრიფოსფატი აქტივირებულ მდგომარეობაში გადადის და ფოსფატიდილ-ინოზიტოლად (PI) გარდაიქმნება. ინოზიტოლფოსფოლიპიდები მეტად მნიშვნელოვანია სიგნალის ტრანსდუქციაში, განსაკუთრებით აღსანიშნავია PI ფოსფორილირებული დერივატები, სახელდობრ PI ფოსფატი (PIP) და PI ბიფოსფატი (PIP_2), რომლებიც პლაზმური მემბრანის ბილიპიდური შრის შიგნითა ზედაპირზეა ლოკალიზებული. PIP_2 PIP-თან შედარებით ნაკლებად მისაწვდომია, თუმცა მისი ჰიდროლიზი მეტად მნიშვნელოვანია სიგნალის ტრანსდუქციისათვის.

ინოზიტოლ-ფოსფოლიპიდის ფოსფორილირება

მოვლენათა თანმიმდევრობა, რომლის შედეგად PIP_2-ის დაშლა ხდება, სასიგნალო მოლეკულის G-ცილასთან შეუღლებულ ზედაპირულ რეცეპტორთან დაკავშირებით იწყება. აქტივირებული რეცეპტორი ასტიმულირებს ტრიმერულ G-ცილას, რომელსაც Gq ეწოდება. Gq, თავის მხრივ, ააქტიურებს ფოსფოინოზიტოლ-სპეციფიურ ფოსფოლიპაზას, რომელსაც ფოსფოლიპაზა C-β ეწოდება. ერთ წამზე ნაკლებ დროში ეს ფერმენტი PIP_2-ს ორი პროდუქტის - ინოზიტოლტრიფოსფატის და დიაცილგლიცეროლის წარმოქმნით შლის.

ცხრილი11. ინოზიტოლტრიფოსფატის სასიგნალო გზასთან და G-ცილა დამოკიდებულ რეცეპტორებთან დაკავშირებული უჯრედული პასუხის ზოგიერთი მაგალითი

სამიზნე ქსოვილი	სასიგნალო მოლეკულა	ძირითადი პასუხი
1. ღვიძლი	ვაზოპრესინი	გლიკოგენის დაშლა
2. პანკრეასი	აცეტილქოლინი (ACh)	ამილაზას სეკრეცია
3. გლუვი კუნთი	აცეტილქოლინი (ACh)	შეკუმშვა
4. პოხიერი უჯრედები	ანტიგენი	ჰისტამინის სეკრეცია
5. სისხლის ფირფიტები	თრომბინი	აგრეგაცია

ინოზიტოლ ფოსფოლიპიდები და PIP_2 ჰიდროლიზი

PIP_2-ის ჰიდროლიზის შედეგად უჯრედში ორი მედიატორი წარმოიქმნება. ესენია ინოზიტოლტრიფოსფატი (IP_3) და დიაცილგლიცეროლი (DAG). IP_3 ციტოზოლში ვრცელდება და ენდოპლაზმური ბადიდან Ca^{2+} გამოყოფას იწვევს. DAG პლაზმურ მემბრანასთან დაკავშირებული რჩება და ფერმენტის პროტეინკინაზა-C-ს აქტივაციაში მონაწილეობს. არსებობს ფოსფოლიპაზას სამი კლასი, ესენია: C-β, γ და σ. C-β კლასის ფოსფოლიპაზას G-ცილა დაკავშირებული რეცეპტორი ააქტიურებს. γ კლასის აქტივაციას რეცეპტორთა სხვა ჯგუფის წარმომადგენელი - თიროზინკინაზა ახორციელებს. თიროზინკინაზა IP სასიგნალო გზას შუალედური G-ცილას გარეშე ააქტიურებს.

ინოზიტოლტრიფოსფატი (IP_3) - Ca^{2+} გათავისუფლება ენდოპლაზმური ბადიდან

ინოზიტოლტრიფოსფატი (IP_3) PIP_2-ის (ფოსფატიდილინოზიტოლ-დიფოსფატი) ჰიდროლიზის გზით მიიღება. ეს არის მცირე ზომის წყალში ხსნადი მოლეკულა, რომელიც პლაზმური მემბრანიდან ციტოზოლში გადადის, სადაც სწრაფად ვრცელდება. ციტოზოლში ის იწვევს Ca^{2+} გათავისუფლებას ენდოპლაზმური ბადიდან ამ უკანასკნელის მემბრანაში არსებულ IP_3-დამოკიდებულ კალციუმის არხებთან დაკავშირების გზით. ეს კალციუმის არხები იონური არხების მსგავსია. საწყისი Ca^{2+} პასუხის მოსახსნელად ორი მექანიზმი ირთვება:

ა. IP_3 სწრაფი დეფოსფორილირება (გადადის ინაქტივირებულ მდგომარეობაში) სპეციფიკური ფოსფატაზების მოქმედებით;

ბ. ციტოზოლის Ca^{2+} სწრაფად გადადის უჯრედშორის სივრცეში.

დეფოსფორილირებას IP_3 მოლეკულების ნაწილი განიცდის. ზოგიერთი მათგანი კი ფოსფორილირდება და ინოზიტოლ 1,3,4,5-ტეტრაკისფოსფატს (IP_4) წარმოქმნის. IP_4 უფრო ნელა ფუნქციონირებს და უფრო ხანგრძლივი მოქმედებით ხასიათდება.

Ca^{2+} კონცენტრაციის ოსცილაცია ხშირად ახანგრძლივებს IP_3 - დამოკიდებულ კალციუმის პასუხს.

თუ ცალკეულ უჯრედებში, სადაც აქტივირებულია ინოზიტოლტრიფოსფატის სასიგნალო გზა, კალციუმის მონიტორინგის მიზნით მიმართავენ მგრძნობიარე ფლუორესცენტულ ინდიკატორებს, როგორიცაა ექვორინი ან ფურა-2, ხშირად კალციუმის სიგნალის გავრცელება ტალღის მაგვარად გამოიყურება. კალციუმის კონცენტრაციის ოსცილაცია შეინიშნება მანამდე, სანამ უჯრედის პლაზმური მემბრანის რეცეპტორი აქტივირებულ მდგომარეობაშია. ოსცილაციის ბიოლოგიური მნიშვნელობა გაურკვეველია. მისი სიხშირე ეგზოგენური სასიგნალო მოლეკულების კონცენტრაციაზეა დამოკიდებული.

დიაცილგლიცეროლი (DAG) პროტეინ-კინაზებს (C-კინაზებს) ააქტიურებს.

დიაცილგლიცეროლი (DAG) PIP_2-ის ჰიდროლიზის პროდუქტია. რეაქციის სხვა პროდუქტი - IP_3 ზრდის Ca^{2+} კონცენტრაციას ციტოზოლში. დიაცილგლიცეროლი სიგნალიზაციაში ორმაგ როლს თამაშობს, სახელდობრ:

ა. ის შეიძლება არაქიდონის მჟავამდე დაიშალოს. არაქიდონის მჟავა კი შეიძლება მეორადი მესენჯერის ფუნქცია შეასრულოს ან ეიკონაზოიდების სინთეზში მიიღოს მონაწილეობა;

ბ. ის ააქტიურებს სერინ/თრეონინ პროტეინკინაზას, რომელიც სამიზნე უჯრედის ცილების ფოსფორილირებას ახდენს.

დიაცილგლიცეროლის მიერ აქტივირებულ ფერმენტს პროტეინკინაზა C ეწოდება (C-კინაზა ანუ PKC), ვინაიდან ის Ca^{2+} -ზეა დამოკიდებული. დიაცილგლიცეროლს არ აქვს უნარი უზრუნველყოს C-კინაზას ხანგრძლივი მოქმედება, რაც საჭიროა, მაგალითად, უჯრედის პროლიფერაციასა თუ დიფერენცირებისათვის. ხანგრძლივი პასუხისაღმოცენებისათვის დიაცილგლიცეროლი ფოსფატიდილქოლინს გამოყოფს. აქტივირებულ მდგომარეობაში C-კინაზა სამიზნე ცილების სერინ/თრეონინის თანმიმდევრობებს აფოსფორილირებს. ეს პროცესი უჯრედის ტიპზეა დამოკიდებული. C-კინაზას უმაღლესი კონცენტრაცია ნაჩვენებია თავის ტვინში. სხვადასხვა უჯრედში მისი აქტივაცია სპეციფიკური გენების ტრანსკრიპციას განსაზღვრავს.

მაგალითები

სასიგნალო გზაში ჩართულია:

(ა) არააქტიური C-კინაზა (არ ხდება 1 და 2 გენის ტრანსკრიპცია)

(ბ) აქტიური C-კინაზა (1 და 2 გენის ტრანსკრიპციის აქტივაცია)

(ა) არააქტიური C-კინაზას პირობებში

- პლაზმური მემბრანა
- ციტოპლაზმა ან ციტოზოლი

⇩

არააქტიური C-კინაზა, MAP-კინაზა, Ik-B (ცილა-ინჰიბიტორი) და NF-kB (ცილა-რეგულატორი)

- ბირთვი

⇩

SRE
SRF
EIK-1

(ბ) აქტიური C-კინაზას პირობებში

პირველი სასიგნალო გზა:

C-კინაზა
⇩ ფოსფორილირება
MAP-კინაზა
⇩ ფოსფორილირება
EIK-1
⇩
EIK-1 + SRF
⇩ აქტივაცია
SRE
⇩
მრნმ →**1 გენი**

მეორე სასიგნალო გზა:

C-კინაზა
⇩ ფოსფორილირება
Ik-B
⇩ გათავისუფლება
NF-kB
⇩
მრნმ →**2 გენი**

ორივე სასიგნალო გზის შემთხვევაში Ik-B (ცილა-ინჰიბიტორი) ან ცილა რეგულატორი სპეციფიკური გენების ტრანსკრიპციას ასტიმულირებს.

გარეთა სიგნალი უჯრედშიდა მედიატორების ჩართვის და ფერმენტული კასკადების აღმოცენების შედეგად ამპლიფიკაციას განიცდის. ამპლიფიკაცია ინოზიტოლტრიფოსფატის შემთხვევაში ისეთივეა, როგორც cAMP-სთვის.

6.4 სიგნალიზაცია ფერმენტ-დამოკიდებული ზედაპირული მოლეკულების მონაწილეობით

ციკლური GMP ანუ cGMP

ციკლური GMP ანუ cGMP (3',5'-გუანოზინ მონოფოსფატი) ფერმენტ-დამოკიდებულ რეცეპტორს წარმოადგენს, რომლის აქტივაციაში ფერმენტი გუანილატციკლაზა მონაწილეობს. ის ციტოზოლში cGMP წარმოქმნას აკატალიზებს.

cGMP-ის როლი სიგნალინგში

cGMP სინთეზირდება ატფ-დან ფერმენტ გუანილატციკლაზას მოქმედების შედეგად. cGMP აზოტის ოქსიდის (NO) სიგნალიზაციაში მეორადი მესენჯერის როლს თამაშობს.

გუანილატციკლაზას რეცეპტორების ერთი კლასი უკავშირდება წინაგულების ნატრიურეტულ პეპტიდს (atrial natriuretic peptides, ANP), რომელიც კუნთოვანი უჯრედების მიერ სინთეზირდება.

cGMP მონაწილეობს:

- სინათლის აღქმაში თვალის ბადურას ჩხირების მიერ;
- გლუვი კუნთის შეკუმშვაში;
- წყლის ბალანსის შენარჩუნებასა და იონთა ცვლაში;
- ნერვული ქსოვილის პლასტიკური თვისებების გამოვლინებაში.

გუანილატციკლაზა

აქტივაციის ფერმენტი გუანილატციკლაზა ორი ოჯახითაა წარმოდგენილი:

1. ციტოპლაზმური ლოკალიზაციის ხსნადი გუანილატციკლაზები (sGC)
2. მემბრანასთან ასოცირებული რეცეპტორული გუანილატციკლაზები (rGC)

ციტოპლაზმური ლოკალიზაციის ხსნადი გუანილატციკლაზები (sGC)

ჰეტეროდიმერული ცილებია, რომლებიც ხელს უწყობენ ჰემის პროსთეტიკური ჯგუფის დაკავშირებას და რომელთა აქტივაციას აზოტის ოქსიდი (NO) ახდენს.

მემბრანასთან ასოცირებული რეცეპტორული გუანილატციკლაზები (rGC)

აქტივირდებიან ეგზოგენური ლიგანდებით, უმეტესად პეპტიდური ჰორმონებით, რომლებიც ფერმენტის უჯრედის გარეთ მიმართულ ნაწილს უკავშირდებიან.

cGMP წარმოქმნა

- პლაზმურ მემბრანასთან დაკავშირებული რეცეპტორები მემბრანული ცილებია, რომლებიც მემბრანაში იონური არხების როლს თამაშობენ. პირველადი მესენჯერის დაკავშირების შედეგად აღმოცენებულ მემბრანა-რეცეპტორის კავშირის სტრუქტურის ცვლილებებს მოჰყვება რეცეპტორის დაკავშირება მეზობლად მდებარე იონური არხის ცილებთან.
- მესენჯერის დაკავშირება სპეციფიკურ მემბრანულ რეცეპტორებთან ფერმენტ გუანილატციკლაზას აქტივაციას იწვევს.
- ხსნადი გუანილატციკლაზები sGC ციტოპლაზმური NO-ს ზემოქმედების შედეგად აქტივირდება და უჯრედშიდა ატფ-დან 3',5'-გუანოზინმონოფოსფატის (გმფ) წარმოქმნას აკატალიზებენ.
- რეცეპტორთან ასოცირებული გუანილატციკლაზები rGC აქტივირდებიან მესენჯერის რეცეპტორტან დაკავშირების შედეგად და უჯრედშიდა ატფ-დან 3',5'-გუანოზინ მონოფოსფატის (გმფ) წარმოქმნას აკატალიზებენ.
- sGC-ს მიერ სინთეზირებული ციკლური გმფ დიფუნდირებს უჯრედის შიგნით და უჯრედშიდა რეაქციების კასკადს იწვევს, რასაც საბოლოოდ უჯრედული პასუხის აღმოცენება მოჰყვება.
- ციკლური გმფ განაპირობებს არააქტიური პროტეინკინაზების აქტიურ ფორმაში გადასვლას. პროტეინკინაზები ***sGC-ს მოქმედების შედეგად*** პროტეინ კინაზა G ფორმაში გადადიან.
- cGMP მოქმედება წყდება მისი აციკლურ ფორმაში გადასვლისას; ამ რეაქციას ფერმენტი ფოსფოდიესთერაზა აკატალიზებს.
- ზემო აღნიშნული მექანიზმის კარგ მაგალითს თვალის რეცეპტორული ცილა როდოპსინი წარმოადგენს.

მაგალითი - თვალის ბადურას ფუნქციონირება

როგორ მუშაობს ადამიანის თვალის ბადურა:

სინათლის სხივი ობიექტიდან → რქოვანა გარსი → ბროლი (სადაც ხდება რეფრაქცია) → ბადურა (ინვერტირებული გამოსახულება)

ბადურაში: სინათლის გარდაქმნა ელექტრულ სიგნალებად და ელექტრული სიგნალების გადაცემა ოპტიკური ნერვის მეშვეობით → მხედველობის ცენტრები თავის ტვინში

სინათლის სხივები ბადურას სინათლის რეცეპტორებს აღწევს სისხლძარღვოვანი გარსის და ასევე ორი სატრანსპორტო შრის, სახელდობრ კი განგლიური და ბიპოლარული უჯრედების შრის გავლით. საბოლოოდ ის ჩხირებს და კოლბებს აღწევს, სადაც ხდება მათი ელექტრულ იმპულსებად გარდაქმნა. თითო თვალის ბადურაზე დაახლოებით 100 მილიონი ჩხირი და კოლბაა; ჩხირები მგრძნობიარეა სიბნელისა და განათების ხარისხის მიმართ, და უგრძნობია ფერის მიმართ, მაშინ როდესაც კოლბები, პირიქით, მგრძნობიარეა ფერის მიმართ, ხოლო განათების ხარისხს ვერ აღიქვამენ.

ჩხირები

- ჩხირების რეცეპტორია ტრანსმემბრანული ცილა როდოფსინი, რომელიც მემბრანაში შვიდ ხვეულს წარმოქმნის.
- აქტივირებული როდოფსინი ასტიმულირებს ტრანსდუცინს (G-ცილა), რომელიც ააქტიურებს rGC ფერმენტს.
- cGMP ააქტიურებს ჩხირებს და ხურავს „სიბნელის“ არხს, რაც იწვევს ნატრიუმისა და კალციუმის იონების მოძრაობას.
- აქტიურდება sGC ფერმენტი და წყდება ნატრიუმისა და კალციუმის იონების ტრანსპორტი.

სიგნალის ამპლიფიკაცია cGMP მიერ

rGC ან sGC აქტივაცია იწვევს უჯრედშიდა რეაქციათა კასკადს, რასაც ცალკეული სიგნალის ამპლიფიკაცია მოჰყვება. სიგნალის ამპლიფიკაციისა და სასიგნალო გზის ჩართვის მაგალითია როდოფსინის აქტივაცია.

როდოფსინის ერთი მოლეკულა ერთ ფოტონს შთანთქავს

⇩

აქტივირდება ტრანსდუცინის 500 მოლეკულა

⇩

105 ციკლური გმფ განიცდის ჰიდროლიზს

⇩

იხსნება/იხურება 250 Na^+ და Ca^{2+} არხი

⇩

შედეგი: სიგნალის ტრანსდუქცია ადამიანის თვალის ბადურას ჩხირებსა და კოლბებში

6.5 G-ცილის ფუნქციები სიგნალის ტრანსდუქციაში

G-ცილები

G-ცილა ჰეტეროდიმერული GTP-ცილების ოჯახის წარმომადგენელია, რომელიც სასიგნალო გზებში მნიშვნელოვანი შუამავლის როლს თამაშობს.

სიგნალის ტრანსდუქციის პროცესი

G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორები სამიზნე უჯრედში ქიმიური რეაქციების კასკადს იწვევენ, რის შედეგად იცვლება მცირე უჯრედშიდა მესენჯერების (მაგ. cAMP ან ინოზიტოლტრიფოსფატის) კონცენტრაცია. თავის მხრივ, ეს უჯრედშიდა მესენჯერები უჯრედშიდა ცილების ქცევაზე მოქმედებენ. **cAMP** მოქმედებს უჯრედებზე cAMP-დამოკიდებული **პროტეინკინაზას** სტიმულაციის გზით, პროტეინკინაზა კი სპეციფიკურ სამიზნე ცილებს აფოსფორილირებს. **კალციუმის** კონცენტრაცია მოქმედებს გარკვეული ფერმენტების აქტიობაზე კალციუმ-დამოკიდებულ ცილასთან - **კალმოდულინთან** დაკავშირების გზით. მეორადი მესენჯერების სიგნალი სწრაფად იხსნება უჯრედშიდა სიგნალის მოცილებისას. უჯრედის პასუხი გარე სიგნალზე მოიცავს სასიგნალო კასკადს, რომლის დროსაც საწყისი სიგნალის ამპლიფიკაცია და სხვადასხვა სახის ცვლილების აღმოცენება ხდება.

G-ცილას ფუნქციები შემდეგ სტრუქტურებს უკავშირდება:

ა) ცხვირის ყნოსვის ბოლქვები;
ბ) ოდორანტული ლიგანდები;
გ) ბადურას ჩხირები და კოლბები;
დ) საფუარას უჯრედები (გამოყოფს პეპტიდურ „შეუღლების“ ლიგანდს, რომელიც აუტოკრინული ტიპის სიგნალიზაციაში მონაწილეობს).

მაგალითები

ა. ეპინეფრინი

ეპინეფრინი აგრეთვე ადრენალინის სახელწოდებითაა ცნობილი. მას თირკმელზედა ჯირკვლების ქრომაფინური უჯრედები ასინთეზირებენ. თირკმელზედა ჯირკვლები განლაგებულია თირკმელების ზედა მხარეზე. სტრესულ მდგომარეობაში გამოყოფილი ეპინეფრინი ორგანიზმში სისხლის მეშვეობით ვრცელდება და ორგანიზმის სხვადასხვა ქსოვილში შთაინთქმება სპეციფიკური ზედაპირული რეცეპტორებით.

ეპინეფრინის რეცეპტორი
cAMP

აქტიური პროტეინკინაზა-1	აქტიური პროტეინკინაზა-2
არააქტიური ფოსფორილაზა	აქტიური გლიკოგენსინთეტაზა
აქტიური ფოსფორილაზა	არააქტიური გლიკოგენსინთეტაზა
გლიკოგენისსინთეზისგაჩერებაან	გლიკოგენისსინთეზისშემცირება
გლიკოგენის დაშლა	

β-ადრენერგული რეცეპტორი დახვეულია და შვიდჯერ განჭოლავს პლაზმურ მემბრანას. მემბრანასთან დაკავშირებული β-ადრენერგული რეცეპტორი სიგნალს მხოლოდ ხანმოკლე პერიოდის განმავლობაში აღიქვამს. რეცეპტორი იღებს სიგნალს სპეციფიკური აქტიური G-ცილის მხრიდან. ციტოპლაზმაში β-ადრენერგული რეცეპტორი ასტიმულირებს მეორე ცილას - G1 ან იგივე G-ცილას. ეს მეორე ცილა, რომელსაც ასევე G-ცილა ეწოდება, ციტოპლაზმაში ინაქტივირებულ მდგომარეობაში ინახება.

აქტივაციისას G-ცილა აგზავნის სიგნალებს უჯრედის შიგნით. G-ცილის აქტიობა ხანმოკლეა და დროის მცირე მონაკვეთში ის გამოირთვება. G-ცილა ორმაგი ჩამრთველის როლს ასრულებს, ის ორ - ჩართულ და გამორთულ მდგომარეობაში არსებობს. მის ფუნქციას განსაზღვრავს მასთან დაკავშირებული ნუკლეოტიდი. ინაქტივირებულ მდგომარეობაში ის გუანოზინდიფოსფატს უკავშირდება (GDP), ხოლო აქტიურ მდგომარეობაში ის გუანოზინტრიფოსფატთანაა (GTP) კავშირში. GDP ყოველთვის დაკავშირებულ ფორმაში გვხვდება, რაც იმას ნიშნავს, რომ ტრიმერული ცილა, სახელდობრ მისი α, β და γ სუბერთეული ერთმანეთთანაა დაკავშირებული. GTP მოლეკულაში ეს კონფიგურაცია ირღვევა და α-სუბერთეული გამოეყოფა β და γ სუბერთეულს. მაშასადამე, GTP -ის აქტივაციის დროს β და γ სუბერთეულები დაკავშირებულნი რჩებიან, მაშინ როდესაც α სუბერთეული ცალკე გამოიყოფა.

ბ. როდოფსინი

როდოფსინი იყო პირველი 7-მარყუჟიანი რეცეპტორთა ოჯახიდან, რომლის სტრუქტურა რენტგენული კრისტალოგრაფიით იქნა დადგენილი. ეს 7-მარყუჟიანი რეცეპტორი კავშირშია G-ცილასთან (ჰეტერომერული GTP-დაკავშირებული ცილა). G-ცილას სამ სუბერთეულს შესაბამისად α, β და γ სუბერთეული ეწოდება. 7-მარყუჟიან რეცეპტორს, რომელიც G-ცილას უკავშირდება, GPRC ანუ G-ცილასთან შეუღლებული რეცეპტორი ეწოდება. GPRC-თან მრავალი ცილა შედის კავშირში, რაც მათ აქტიურობას განაპირობებს. G-ცილა, რომელიც

სიგნალიზაციის დროს ადენილატციკლაზას ასტიმულირებს, Gs ცილა, ხოლო მის α სუბერთეულს კი Gsα ეწოდება. α სუბერთეული (Gα) უკავშირდება GTP-ს, რომელიც GDP და Pi იშლება. β და γ სუბერთეულების კომპლექსი Gα-ს აინჰიბირებს (ნახ.38).

მოვლენათა თანმიმდევრობა სიგნალის ამპლიფიკაციის დროს

ჩართვის სიგნალი

ა) თავდაპირველად Gα GDP-სთან კავშირშია, ასე რომ α, β და γ სუბერთეულები ერთიან კომპლექსს წარმოადგენენ.
ბ) როდესაც 7-მარყუჟიანი GPRC რეცეპტორი უკავშირდება G-ცილას, Gα ათავისუფლებს GDP-ს და GTP-ს დაუკავშირდება. ამას GDP-GTP გაცვლა ეწოდება.
გ) GDP-GTP გაცვლა Gα-ში კონფორმაციულ ცვლილებებს იწვევს.
დ) Gα-GTP დისოცირდება β-γ კომპლექსისაგან და ადენილატციკლაზას ააქტიურებს.
ე) Gα-GTP-ით აქტივირებული ადენილატციკლაზა cAMP-ის სინთეზს აკატალიზებს.
ვ) შედეგად პროტეინკინაზა-A (cAMP-დამოკიდებული კინაზა) სხვადასხვა ცილის ფოსფორილირებას იწვევს.

გამორთვის სიგნალი

ზ) Gα-ს მოქმედების შედეგად GTP GDP-ის და Pi-ის წარმოქმნით იშლება.
თ) Gα ისევ β-γ კომპლექსს უკავშირდება.
ი) ადენილატციკლაზა ინაქტივირებულ ფორმაში გადადის.
კ) ფოსფოდიესტერაზას მოქმედებით cAMP ჰიდროლიზს განიცდის AMP-ის წარმოქმნით.

ზოგიერთი სხვა GTP-დამოკიდებული ცილა

- ზრდის ფაქტორები
- Ras
- Rab
- ARF
- Ran
- Rho

6.6 კალციუმის იონების მიმოცვლა და მათი როლი სიგნალიზაციაში.

როგორც წესი, კალციუმის კონცენტრაცია ციტოზოლში დაბალია პლაზმური მემბრანის და ენდოპლაზმური რეტიკულუმის Ca^{++}-ატფაზას ტუმბოების მოქმედების შედეგად. ეს არის P-კლასის (Ca^{++}) ოჯახის იონური ტუმბოები, რომლებიც მონაწილეობენ კალციუმის გამოდევნაში ციტოზოლიდან ან უჯრედგარეთა სივრცეში, ან ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში.

კალციუმის იონების კონცენტრაცია

ციტოზოლში კალციუმის კონცენტრაცია 10^{-6} μM ფარგლებში მერყეობს. ძუძუმწოვრებში უჯრედშორის სივრცეში კალციუმის კონცენტრაცია 10^{-3} μM ფარგლებშია. კალციუმის კონცენტრაცია შედარებით მაღალია ენდოპლაზმური რეტიკულუმის სანათურებში, რომლებიც კალციუმის დეპოს ფუნქციას ასრულებენ. ასევე კალციუმის რეზერვუარს მიტოქონდრიები წარმოადგენს.

კალციუმთან **დაკავშირებული ცილები**

ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში Ca^{++}-დაკავშირებული ცილები „იკავებენ“ თავისუფალ კალციუმს და ზრდიან კალციუმის სარეზერვო მარაგს.

კალსექვესტრინი - ლოკალიზებულია სარკოპლაზმური რეტიკულუმის (SR, კუნთოვანი უჯრედის სპეციალიზირებული ენდოპლაზმური რეტიკულუმი) სანათურში.

კალრეტიკულინი - ლოკალიზებულია არაკუნთოვანი უჯრედების ენდოპლაზმური რეტიკულუმის სანათურში. ასევე შაპერონის როლს თამაშობს.

კალმოდულინი - არააქტიურ ფორმაში ნანახია ყველა უჯრედის ციტოზოლში.

კალციუმის ვიზუალიზაცია

ციტოზოლის კალციუმზე დაკვირვება შესაძლებელია საინდიკატორო საღებავებისა და ისეთი ცილების საშუალებით, რომლებიც კალციუმთან დაკავშირებისას ლუმინესცირებას იწყებენ ან ფლუორესცენციის უნარს ამჟღავნებენ. ფლუორესცენტულ კონფოკალურ მიკროსკოპიაში ფლუორესცენტული საღებავების გამოყენება უჯრედში კალციუმის იონების კონცენტრაციის ფლუქტუაციის მაღალი გარჩევითობის სურათების მიღების და ასევე რაოდენობრივი ანალიზის ჩატარების საშუალებას იძლევა.

სიგნალით აქტივირებული კალციუმის არხები

სასიგნალო კასკადი ააქტიურებს კალციუმის არხებს ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში ან პლაზმურ მემბრანაში, რის შედეგად კალციუმი სწრაფად გადადის ციტოზოლში. კალციუმის იონების კონცენტრაციის მომატება ციტოზოლში დროებითია, ვინაიდან Ca^{++} -ატფ-აზური ტუმბოების მოქმედებით კალციუმი გამოიდევნება ციტოზოლიდან. კალციუმის იონების კონცენტრაციის დროებითი მომატება შესაძლებელია შემოიფარგლოს კალციუმის გამოყოფის არხთან ახლოს მდებარე უბნით. ასეთი ადგილობრივი კალციუმის გამოყოფა ააქტიურებს ეფექტორებს, რომელთა მოქმედებით დამატებითი კალციუმის იონების

გამოყოფა ხდება და, შესაბამისად, კალციუმის იონების ტალღა მეზობელ უჯრედებზეც ვრცელდება. ასევე შესაძლებელია კალციუმის პულსირებადი ტალღების აღმოცენება.

რიანოდინის რეცეპტორი

დიდი ზომის კალციუმის არხს კუნთის სარკოპლაზმური რეტიკულუმის (SR) მემბრანაში რიანოდინის რეცეპტორი ეწოდება. ეს სახელწოდება ამ რეცეპტორის მცენარეული ალკალოიდის რიანოდინის მიმართ მგრძნობელობიდან გამომდინარეობს. ჩონჩხის კუნთის შეკუმშვა ხდება, როდესაც კალციუმი რიანოდინის რეცეპტორის გავლით SR სანათურიდან ციტოზოლში გადადის.

კუნთოვანი ბოჭკოს პლაზმური მემბრანის ინვაგინაციებს T-მილაკები ეწოდება. T-მილაკების მემბრანის მუხტ-დამოკიდებული Ca^{++} არხები ურთიერთქმედებენ ახლოს მდებარე SR რიანოდინის რეცეპტორებთან. მუხტ-დამოკიდებული Ca^{++} არხები, რომლებიც T-მილაკების მოქმედების პოტენციალით აქტივირდება, რიანოდინ-დამოკიდებული არხების გახსნას და კალციუმის გათავისუფლებას იწვევენ. კალციუმი ენდოპლაზმური რეტიკულუმის სანათურიდან ციტოზოლში გადადის, გაივლის რიანოდინის რეცეპტორის ტრანსმემბრანულ, და შემდგომ ციტოპლაზმურ ნაწილშიც. რიანოდინის რეცეპტორის აქტივაცია ციტოზოლის Ca^{++} იონებით ხდება, რასაც Ca^{++} სიგნალის ამპლიფიკაცია მოსდევს.

ინოზიტოლტრიფოსფატი კალციუმის გათავისუფლებას იწვევს

ძუძუმწოვრების ზოგიერთ უჯრედში IP_3 Ca^{++} იონების ენდოპლაზმური ბადიდან გათავისუფლებას იწვევს. მეორადი მესენჯერი IP3 წარმოიქმნება მემბრანული ლიპიდი ფოსფატიდილინოზიტოლიდან, მაგალითად, ჰორმონალური სიგნალის საპასუხოდ. IP_3-დამოკიდებული Ca^{++}-ის არხები ლიგანდ-დამოკიდებული არხების მაგალითია, ისინი ხელს უწყობენ კალციუმის ცილა კალმოდულინთან დაკავშირებას.

მრავალი უჯრედული რეაქცია Ca^{++} იონებით რეგულირდება.

კალმოდულინი - კალციუმ-დამოკიდებული ცილა, კალციუმის მრავალ სასიგნალო ფუნქციაშია ჩართული. კალმოდულინი კალციუმის 4 იონს იკავშირებს. დაკავშირების ყველა საიტში კალციუმი გლუტამინის ან ასპარტატის გვერდითი კარბოქსილის ჯგუფების ან ცილოვანი ჩონჩხის ჟანგბადის ატომებთან ურთიერთქმედებს. ასეთი დაკავშირება სწორი კუთხით 2 ალფა-სპირალს შორის მარყუჟში ხდება. ამგვარ სპირალი-მარყუჟი-სპირალის მოტივს EF მხარი ეწოდება.

სპირალი-მარყუჟი-სპირალი კალმოდულინში

კალმოდულინში 4 სპირალი-მარყუჟი-სპირალის მოტივიაა. კალციუმის იონების გარეშე კალმოდულინი ჰანტელის ფორმას იღებს - მოლეკულის ყველა მხარეს ორ-ორი სპირალი-მარყუჟი-სპირალის თანმიმდევრობაა. კალციუმთან დაკავშირებისას კალმოდულინი სხვადასხვა სამიზნე ცილასთან შედის ურთიერთქმედებაში. აქტიური კალმოდულინი ეხვევა კალმოდულინ-მგრძნობიარე ცილის სამიზნე დომენს, რასაც ცილის აქტიურობის ცვლილება მოჰყვება. კალმოდულინის სამიზნე დომენი დადებითად დამუხტულ, პოლარული და არაპოლარული ზედაპირის მქონე ამფიპათურ α-სპირალს წარმოადგენს. კალმოდულინის მეთიონინით მდიდარი ნაშთები კალმოდულინ-დამოკიდებული ფერმენტების სამიზნე დომენების ჰიდროფობულ მოტივებს უკავშირდებიან. კალციუმით გააქტივებული კალმოდულინი არეგულირებს პროტეინკინაზების აქტიურობას, რომლებიც ფოსფატის ჯგუფის ატფ-დან ფერმენტების ჰიდროქსილის ჯგუფებზე გადატანას განაპირობებენ.

სიგნალის გამორთვა

პლაზმური მემბრანის Ca^{++}-ატფაზები, რომლებიც კალციუმის იონების უჯრედიდან გატუმბვას ემსახურებიან, ერთ-ერთი იმ სამიზნე ფერმენტთაგანია, რომელთა აქტივაცია Ca^{++} კალმოდულინით ხდება. ისინი თვითონვე გამორთავენ კალციუმის სიგნალს.

6.7 პროტეინკინაზას ფოსფორილირება

ცხოველურ უჯრედებში ციკლური ამფ-ის ეფექტი გამოიხატება ძირითადად ე.წ. cAMP-დამოკიდებული პროტეინკინაზას ანუ A-კინაზას აქტივაციაში. cAMP-დამოკიდებული ცილის ფოსფორილირების როლი პირველად იქნა შესწავლილი ჩონჩხის კუნთოვან უჯრედებში მიმდინარე გლიკოგენის მეტაბოლიზმის პროცესში. მაგალითებში ნაჩვენებია გლიკოგენის დაშლა ჩონჩხის კუნთში პროტეინკინაზა-A-ს (PKA) მონაწილეობით (ნახ.39).

მაგალითი 1 - ეპინეფრინის რეცეპტორი

ეპინეფრინის რეცეპტორი

⇩

ციკლური ამფ

⇩

აქტიური PKA-1 აქტიური PKA-2

აქტიური PKA-1: არააქტიური ფოსფორილაზა აქტიურ ფორმაში გადადის და, მაშასადამე, გლიკოგენის დაშლას აკატალიზებს.

აქტიური PKA-2: აქტიური გლიკოგენსინთაზა არააქტიურ ფორმაში გადადის, და, შესაბამისად, გლიკოგენი შემცირებული რაოდენობით სინთეზირდება.

ციკლური ამფ-ს მოქმედების შედეგად არააქტიური კინაზა-A გადადის აქტიურ ფორმაში, რასაც ფოსფორილაზა-კინაზას გააქტივება მოჰყვება. ასეთი აქტივირებული ფოსფორილაზა-კინაზას მოქმედების შედეგად ატფ ადფ-ის წარმოქმნით ჰიდროლიზდება, ხოლო გლიკოგენი გლუკოზო-1-ფოსფატად იხლიჩება. პროცესს, რომლის დროსაც გლიკოგენი ინაქტივირდება, გლიკოლიზი ეწოდება.

მაგალითი 2 - ცილა ფოსფატაზა-1-ის როლი cAMP-დამოკიდებული გლიკოგენის მეტაბოლიზმის რეგულაციაში (ნახ.40)

არააქტიური A-კინაზა → cAMP → აქტიური A-კინაზა→ გადაიქცევა: (1) არააქტიურ ფოსფატაზა-მაინჰიბირებელ ცილად; (2) აქტიურ ფოსფატაზა- მაინჰიბირებელ ცილად. შესაბამისად, მოხდება ატფ და ადფ-ის გამოყოფა. აქტივაციის ფაზის ბოლოს აქტიური პროტეინ-ფოსფატაზა-I არააქტიურ ფორმაში გადადის.

თავი VII

უჯრედების კულტივირება

7.1. შესავალი

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სხვადასხვა დარგში უჯრედის კულტივირება უმნიშვნელოვანესი ტექნოლოგია გახდა. უჯრედის კულტივირება გულისხმობს როგორც პროკარიოტული, ასევე ეუკარიოტული უჯრედების მოვლა-შენარჩუნებას და გამრავლებას შესაბამის საკვებ გარემოში (in vitro პირობებში). ამრიგად, კულტივირება არის უჯრედების ხელოვნური ზრდის პროცესი.

პირველად უჯრედის კულტივირება განხორციელდა როს ჰარისონის მიერ 1907 წელს, როდესაც მან ბაყაყის ქსოვილის კულტივირების მეთოდი შეიმუშავა. ობიექტად ბაყაყის შერჩევას ორი მიზეზი ჰქონდა: 1) ვინაიდან ბაყაყი ცივსისხლიანი ცხოველია, მისი ქსოვილების გამოყენებისას არ არის საჭირო ინკუბაცია და 2) ქსოვილები სწრაფად რეგენერირებს. შემდგომ, 1940-იან წლებში შემუშავდა ქათმის ჩანასახის ქსოვილის კულტივირების მეთოდი, ხოლო 1950-იან წლებში ადამიანის HeLa უჯრედების კულტივირება მოხდა. HeLa უჯრედების შესწავლამ ცხადყო, რომ ადამიანის სიმსივნის უჯრედებს შეეძლოთ საფუძველი დაედოთ უჯრედების უსასრულო კოლონიებისთვის. სხვადასხვა ცხოველების უჯრედებს შორის ლაბორატორიაში ყველაზე ხშირად თაგვის უჯრედების კულტურები გამოიყენება.

მნიშვნელოვანი ტერმინები

ორგანოთა კულტურა: ინტაქტური ქსოვილის (ორგანოს ნაწილის) კულტურა, სადაც შენარჩუნებულია ბუნებრივი ჰისტოლოგიური ნიშან-თვისებების უმეტესობა, ორგანოთა კულტურად იწოდება.

უჯრედული კულტურა: გულისხმობს ქსოვილიდან ან უჯრედების ხაზებიდან მიღებულ გაფანტული (ან დეზაგრეგირებული) უჯრედების კულტურას.

ჰისტოტიპური კულტურა: უჯრედების კულტურა, სადაც უჯრედები სეგრეგირდებიან, რათა ჩამოაყალიბონ ქსოვილისმაგვარი სტრუქტურა, ჰისტოტიპურ კულტურას წარმოადგენს.

ორგანოტიპური კულტურა: კულტივირებისას გამოიყენება სხვადასხვა ტიპის უჯრედების რეკომბინინაციის მეთოდები, უფრო გამოხატული ქსოვილის ან ორგანოს წარმოქმნისათვის.

პირველადი კულტურა: ორგანიზმიდან ახლად იზოლირებული უჯრედები ან ქსოვილები პირველად კულტურებს წარმოქმნიან. ეს უჯრედები ჰეტეროგენურია, ნელი ზრდით ხასიათდებიან და თავისი ნიშანთვისებებით წააგავენ ქსოვილს, რომლისგანაც წარმოიშვნენ.

უჯრედული ხაზი: პირველადი კულტურის სუბკულტივირებით უჯრედული ხაზები მიიღება. ტერმინი „მუდმივი უჯრედული ხაზი“ გულისხმობს უჯრედების განუსაზღვრელ ზრდას შემდგომი სუბკულტივირებისას. მეორე მხრივ, **უჯრედების შეზღუდული ხაზები** გულისხმობს უჯრედების კვდომას რამდენიმე სუბკულტივირების შემდეგ.

7.2. პროკარიოტული და ეუკარიოტული უჯრედების კულტივირების მეთოდები

პროკარიოტული თუ ეუკარიოტული უჯრედების კულტივირების მეთოდები მნიშვნელოვნად განსხვავდება ზრდის არის შემადგენლობის, pH და ტემპერატურის რეჟიმის მიხედვით.

ზრდის არე ეს არის ის გარემო, რომელშიც ხდება უჯრედების ზრდა. სხვადასხვა სახის უჯრედების გასაზრდელად სხვადასხვანაირი არე გამოიყენება. არეები განსხვავდება მცენარეთა და ცხოველური უჯრედების, ასევე მიკროორგანიზმების კულტურებისათვის და ამ განსხვავებას განაპირობებს ის ფაქტი, რომ მთლიანი ორგანიზმიდან აღებულ და კულტურაში გაზრდილ უჯრედებს ხშირ შემთხვევაში არ შეუძლიათ ზრდა, თუ არ კმაყოფილდება გარკვეული მოთხოვნები, მაგალითად, არეში არ არის ჰორმონები ან ზრდის ფაქტორები, რომლებიც, ჩვეულებრივ, ბუნებრივ პირობებში (in vivo) გვხვდება.

ცხოველური უჯრედების შემთხვევაში ეს მოთხოვნები ხშირად კმაყოფილდება არეში სისხლის შრატის დამატებით. ეს არე ხშირად წითელი ან ვარდისფერია pH ინდიკატორების დამატების გამო. მიკროორგანიზმების შემთხვევაში ასეთი შეზღუდვები არ არსებობს, რადგან ისინი უმეტესად ერთუჯრედიან ორგანიზმებს წარმოადგენენ. კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი განსხვავებაა ის, რომ ცხოველური უჯრედები კულტურაში ხშირად ბრტყელ ზედაპირზე იზრდებიან, რომელსაც ისინი ემაგრებიან, ხოლო არე ამ შემთხვევაში თხევადია და უჯრედებს ფარავს. ისეთი ბაქტერიის კულტივირება, როგორიცაა Escherichia coli, შეიძლება როგორც მყარ, ასევე თხევად არეში. თხევად მკვებავ არეს ხშირად მკვებავი ბულიონი ეწოდება.

მიკროორგანიზმების ზრდისთვის ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი არეა მკვებავი ბულიონი ანუ ლურია-ბერტრანის არე (L-B არე). თხევად კულტურებში გაზრდილი ბაქტერიები ხშირად კოლოიდურ სუსპენზიებს ქმნიან. აგარის (რომელიც ჟელედ იქცევა) თხევად არეში დამატებისას, შეიძლება მისი პეტრის ჯამებში გადმოსხმა, სადაც იგი გამყარდება და ე.წ. აგარის ფილებს წარმოქმნის.

კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი განსხვავება ზრდის სხვადასხვა არეებს შორის არის მათი განსაზღვრულობა ან განუსაზღვრელობა. განსაზღვრულ არეში ყველა კომპონენტი ცნობილი რაოდენობითაა შეტანილი. მიკროორგანიზმების შემთხვევაში ის შეიცავს

მიკროელემენტებს, მიკრობებისთვის საჭირო ვიტამინების და ნახშირბადის და აზოტის წყაროს (მაგ. ნახშირბადის წყაროდ ხშირად გლუკოზა ან გლიცერინი გამოიყენება; არაორგანული აზოტის წყაროდ - ამონიუმის მარილები ან ნიტრატები). მკვებავი არე არ არის განსაზღვრული, თუ იგი შეიცავს ისეთ ინგრედიენტებს, როგორიცაა საფუარის ექსტრაქტი, რომლის შემადგენლობა ცვალებადობს მისი წყაროს მიხედვით. ეს განმარტება მიესადაგება უჯრედულ კულტურებსაც, სადაც არე შეიცავს, მაგალითად, ცხოველის სისხლის შრატს. ასეთი არე განუსაზღვრელია, რადგან შრატის შემადგენლობა განსხვავებულია მიმწოდებლებისა და პარტიების მიხედვით.

ზოგიერთი ორგანიზმი მოითხოვს სპეციალიზირებულ გარემოს, მაგალითად, რამდენადაც ვირუსები ობლიგატურ უჯრედულ პარაზიტებს წარმოადგენენ, მათ ცოცხალი უჯრედების შემცველი გარემო ესაჭიროებათ. ზრდის არე შეიძლება იყოს როგორც შერჩევითი, ასევე დიფერენცირებული. გარკვეული ნაშანთვისებების მქონე უჯრედების გასაზრდელად სპეციფიკური არე გამოიყენება. მაგალითად, თუ მიკროორგანიზმი რეზისტენტულია გარკვეული ანტიბიოტიკის მიმართ, არეში შეიძლება ამ ანტიბიოტიკის დამატება, რათა მოხდეს იმ უჯრედების ზრდის პრევენცია, რომლებსაც ასეთი რეზისტენტულობა არ გააჩნიათ.

დიფერენცირებული არეები გამოიყენება ერთ არეში გაზრდილი მიკროორგანიზმის ტიპების ერთმანეთისგან განსასხვავებლად. თუკი შერჩევითი არე იძლევა მხოლოდ ერთი ტიპის მიკროორგანიზმების ზრდის საშუალებას, დიფერენცირებული გარემო მრავალი ტიპის ზრდის საშუალებას იძლევა, თუმცა იგი განმასხვავებელ მახასიათებლების გამომჟღავნებას იწვევს (მაგალითად, მკვეთრი შეფერილობის ან ფლუორესცენტული საღებავის გამოყენება).

7.3. მცენარეული უჯრედების კულტივირება

მცენარეული უჯრედების კულტივირება უმნიშვნელოვანესია იმ მეთოდებს შორის, რომლებიც ტრანსფორმირებული უჯრედების გამრავლებისა და გენეტიკურად იდენტური კლონების მიღების საშუალებას იძლევა. კულტივირებული მცენარეული უჯრედების გენეტიკური ტრანსფორმაციები მრავალი მეთოდის გამოყენებითაა შესაძლებელი. ექსპლანტების ტრანსფორმაცია შესაძლებელია პირდაპირი გზით *Agrobacterium tumefaciens*-ის მეშვეობით, ან დნმ-ით დაფარული ნაწილაკებით ბომბარდირებით. პროტოპლასტები (მცენარეული უჯრედები, რომლებსაც მოშორებული აქვთ უჯრედის კედელი) მიკროინიექციის და ელექტროპორაციის (დნმ-ის შთანთქმნა ელექტრული ველის გამოყენებით) სამიზნეს წარმოადგენენ. მცენარეული ქსოვილების კულტივირებისათვის შემუშავებულია

მრავალი საკვები არე, თუმცა ყველა მათგანი შეიცავს ერთსა და იგივე ძირითად კომპონენტებს, როგორიცაა:

- არაოგანული მარილები (მაკრო და მიკრონუტრიენტები);
- ვიტამინები;
- ორგანული ნახშირბადის წყარო.

ამ კომპონენტების გარდა, არეების უმეტესობა მოიცავს მცენარის ზრდის რეგულატორებს (მცენარეულ ჰორმონებს) - აუქსინს და/ან ციტოკინინს. მცენარეული ქსოვილის კულტურალური არე ჩვეულებრივ გელისებრი აგენტების დამატებითაა გამყარებული. ექსპერიმენტში გამოყენებული არე შეიცავს აგარის შემცველს, რომელიც ქმნის სუფთა, უფერულ, მკვრივ გელს, რაც ხელს უწყობს მიკრობული დაბინძურების აღმოფხვრას.

მინიმალური მოთხოვნები უჯრედების კულტივირებისათვის:

- სტერილური პირობების დაცვა
- საჭირო აღჭურვილობა
- ვივარიუმი
- მიკრობიოლოგიური ლაბორატორია
- სასაწყობო ოთახი (ჭურჭლის, ქიმიური რეაგენტების და მცირე აღჭურვილობისთვის)

აღჭურვილობა

- ლამინარი
- ინკუბატორი
- მაცივარი და საყინულე (-20°C)
- სასწორი
- CO_2 სვეტი
- ცენტრიფუგა
- ინვერტირებული მიკროსკოპი
- დისტილატორი
- ჰემოციტომეტრი
- თხევადი აზოტის დიუარი
- მოწყობილობა ნელი გაციებისთვის (უჯრედების გასაყინად)
- პიპეტების სარეცხი და ღრმა სარეცხი ნიჟარა

გარდა ზემოთ ჩამოთვლილი აღჭურვილობისა, არსებობს სხვა მეტად გამოსადეგი საშუალებებისა, რომლებიც ქსოვილების კულტივირებისთვის გამოიყენება. მათ შორისაა სპეციალურად აღჭურვილი დაცული ოთახი ბიოლოგიურად სახიფათო სამუშაოებისთვის, ფაზო-კონტრასტული მიკროსკოპი, ვიდეოაპარატურა და სხვა.

საკულტივაციო ჭურჭელი

ქსოვილების კულტურებში უჯრედები ეკრობიან და იზრდებიან ჭურჭლის კედლებზე, რომლებიც სუბსტრატის როლს ასრულებს. აქედან გამომდინარე, დიდი მნიშვნელობა ენიჭება კულტივირების ჭურჭლის დასამზადებლად გამოყენებული მასალების ბუნებას და ხარისხს.

როდესაც უჯრედებს ზრდისთვის ესაჭიროებათ მიმაგრება, გამოიყენება ზედაპირული კულტივირება. მეორე მხრივ, ზოგიერთი უჯრედი განიცდის ტრანსფორმაციას და ხდება ზედაპირისგან დამოუკიდებელი.

საკულტივაციო ჭურჭლისთვის გამოყენებული მასალები

მინა: მიუხედავად იმისა, რომ მინა თავდაპირველად ფართოდ გამოიყენებოდა საკულტივაციო სუბსტრატის სახით, მისი გამოყენება ამჟამად თითქმის შეყწვეტილია. ამის ძირითადი მიზეზია უფრო შესაფერისი ალტერნატიული სუბსტრატების ხელმისაწვდომობა.

ერთჯერადი პლასტმასები: ამჟამად გამოიყენება შესაბამისი კონსისტენციისა და ოპტიკური მახასიათებლების მქონე სინთეტიკური პლასტიკური მასალები, რათა მიღებულ იქნას ერთგვაროვანი და პროლიფერაციის უნარის მქონე კულტურები. ყველაზე ფართოდ გამოიყენება ისეთი მასალები, როგორიცაა პოლისტირენი, პოლივინილქლორიდი (PVC), პოლიკარბონატი, მეტინექსი და თერმონექსი (TPX).

საკულტივაო ჭურჭლის ტიპები

საკულტივაციო ჭურჭლის ფართოდ გავრცელებული სახეებია პლანშეტები (multiwell plates), პეტრის ჯამები, კოლბები და შესანჯღრევი ბოთლები. კულტივირების ჭურჭლის შერჩევა დამოკიდებულია რამდენიმე ფაქტორზე, როგორიცაა უჯრედების ზრდის ტიპი – ერთშრიანი კულტურა თუ სუსპენზია, უჯრედების რაოდენობა, ნიმუშების აღების სიხშირე, უჯრედების კულტივირების დანიშნულება და ღირებულება.

ზოგადად, ერთშრიანი კულტურებისთვის უჯრედების სიმრავლე თითქმის პროპორციულია კულტივაციის ჭურჭლის ზედაპირის ფართობისა. ამიტომ ასეთი კულტურებისათვის, ჩვეულებრივ, გამოიყენება ფლაკონები. სუსპენზირებული კულტურების გასაზრდელად შეიძლება ნებისმიერი სახის კულტივირების ჭურჭლის გამოყენება. აუცილებელია ჭურჭელში სუსპენზირებული უჯრედების ნელი და უწყვეტი შენჯღრევა.

საკულტივაციო ჭურჭლის ზედაპირის დამუშავება

უჯრედების ზედაპირზე მიმაგრებისა და ეფექტური ზრდის ხელშესაწყობად შემუშავებულ იქნა რიგი მოწყობილობები. ნაჩვენებია, რომ უჯრედები უკეთესად იზრდებიან ზედაპირზე მეორადი დათესვისას. ეს აიხსნება იმით, რომ ზედაპირი იფარება გარკვეული ნივთიერებებით, როგორიცაა კოლაგენები და ფიბრონექტინი, რომლებიც პირველადი კულტივირების უჯრედების მიერ იქნა გამოყოფილი. ამჟამად გამოიყენება სპეციალური კომერციული მატრიცები (მაგ. მატრიგელი, პრონექტინი, სელ-ტაკი).

მკვებავი შრეები

ქსოვილების ზოგიერთი კულტურა საჭიროებს ცოცხალი უჯრედების მეტაბოლურ პროდუქტებს. მაგალითად, თაგვის ემბრიონის ფიბრობლასტები გამოყოფენ გარკვეულ პროდუქტებს, რომლებიც კვებავენ რა ახალ უჯრედს, აძლიერებენ მათ ზრდას.

ალტერნატიული სუბტრატები, როგორც საკულტივაცო ჭურჭლის შემცველი

ბოლო წლებში შემუშავებულ იქნა საკულტივაციო ჭურჭლის გამოყენების ალტერნატიული საშუალებები. მნიშვნელოვან ხელოვნურ ალერნატიულ სუბსტრატებს მიკრომატარებლები და ლითონის სუბსტრატები წარმოადგენს.

მიკრომატარებლები

მიკრომატარებლებს აქვთ მცირე ზომა, ისინი მზადდება კოლაგენისგან, ჟელატინისგან, პოლიაკრილამიდისა და პოლისტირენისგან. მიკრო-გადამტანები უმეტესწილად გამოიყენება მყარ ზედაპირზე დამოკიდებული უჯრედების სუსპენზიაში გამრავლებისთვის.

ლითონის სუბსტრატები

უჯრედების გარკვეულ სახეებს წარმატებით შეუძლიათ ზრდა ზოგიერთი ლითონის ზედაპირზე ან თუნდაც ფოლადის დისკებზე. მაგალითად, ფიბრობლასტებს პალადიუმზე ზრდიან.

არაადჰეზიური სუბსტრატების გამოყენება ქსოვილების კულტივირებისათვის

ზედაპირისგან დამოუკიდებელი უჯრედების ზრდა შესაძლებელია უჯრედების მოთავსებით არაადჰეზიურ სუბსტრატზე, როგორიცაა აგარი, აგაროზა ან მეთილცელულოზა. ამ პირობებში უჯრედების გამრავლების დროს მშობელი და შვილეული უჯრედები ერთად იყრიან თავს და თავისი „არაადჰეზიურობის“ მიუხედავად კოლონიებს ქმნიან.

7.4. ცხოველური უჯრედის კულტივირება

ცხოველური უჯრედის კულტივირებისას ხშირი მოვლენაა კულტურების დაბინძურება. ის შესაძლოა სხვადასხვა გზით მოხდეს, მაგალითად, ჭურჭლის, მოწყობილობების, რეაგენტების, უჯრედული ხაზების დაბინძურების ან არასწორად გამოყენებული ტექნოლოგიების შედეგად.

მიკრობული დაბინძურების ტიპები

ცხოველური კულტურის დაბინძურებაზე პასუხისმგებელია ვირუსები, ბაქტერიები, საფუარები, სოკოები, ობი და მიკოპლაზმა. ყველაზე მნიშვნელოვანი პრობლემები უკავშირდება ერთი და იგივე სახეობით განმეორებით დაბინძურებას. უკიდურესი სიფრთხილის მიუხედავად, არცერთ ლაბორატორიას არ შეუძლია მთლიანად გამორიცხოს დაბინძურება. საჭიროა დაბინძურების უწყვეტი მონიტორინგი და მისი ადრეულ ეტაპზე აღმოფხვრა.

ქსოვილური კულტურების ლაბორატორიაში დაბინძურების ძირითად გზებს საკულტივაციო აღჭურვილობა და ინსტრუმენტარი წარმოადგენს. აღჭურვილობა მოიცავს ლამინარულ ბოქსებს, მშრალ ინკუბატორებს, CO_2 ინკუბატორებს, დამატენიანებელ ინკუბატორებს და სხვა დანადგარებს. საკულტივაციო ჭურჭელი და რეაგენტები მოიცავს პიპეტებს, ხრახნიან სახურავებს, საკულტივაციო მინებს, ბოთლებს არისათვის და ბიოლოგიურ მასალებს, მათ შორის ინფიცირებული ქსოვილის ნიმუშებს და უჯრედულ ხაზებს. მუშაობისას დაბინძურების წყაროს წარმოადგენს ოპერატორის ხელები, თმა, ტანისამოსი, სუნთქვა, სამუშაო ოთახი, პიპეტების გამოყენება და დამშლელი და სხვა ოპერაციული მანიპულატორები.

ანტისეპტიკური პირობები

სხვადასხვა დამაბინძურებლების (მიკროორგანიზმებისა და ვირუსების) აღმოსაფხვრელად საჭიროა სათანადო ანტისეპტიკური პირობების შენარჩუნება. დაბინძურების მინიმალურ დონეზე დასაყვანად და ანტისეპტიკური პირობების შესაქმნელად რეკომენდებულია შემდეგი ღონისძიებები:

- სტანდარტული სტერილური მეთოდებისა და სამუშაო კოდექსის მკაცრი დაცვა;
- რეაგენტებისა და გარემოს სტერილურობის შემოწმება გამოყენებამდე;
- კულტურების ვიზუალური და მიკროსკოპული (ფაზურ-კონტრასტულ მიკროსკოპში) შემოწმება მათი ყოველი გამოყენებისას;
- უჯრედების ყოველი ხაზისთვის რეკომენდებულია მხოლოდ მათთვის განკუთვნილი არისა და ცალკე ბოთლების გამოყენება;
- სამუშაო ადგილზე სისუფთავისა და წესრიგის შენარჩუნება.

სტერილიზაცია

სტერილიზაციის პროცედურების დანიშნულებას მიკრო-ორგანიზმების დახოცვასთან ერთად სპორების განადგურებაც წარმოადგენს. სტერილიზაციის სამი ძირითადი საშუალება არსებობს:

- მშრალი გაცხელება;
- ცხელი ორთქლით გაცხელება (ავტოკლავი);
- ფილტრაცია.

სტერილიზაცია მშრალი გაცხელებით: ხორციელდება მინიმუმ 160°C ტემპერატურაზე ერთი საათის განმავლობაში.

სტერილიზაცია ცხელი ორთქლით: გარკვეული სითხეებისა და მალეფუჭებადი საგნების სტერილიზაცია შეიძლება ავტოკლავში 121°C ტემპერატურაზე 15-20 წუთის განმავლობაში. ცხელი ორთქლით ეფექტიანი სტერილიზაციისთვის აუცილებელია, რომ ორთქლმა შეაღწიოს სასტერილიზაციო მასალების ყველა ნაწილში.

სტერილიზაცია ფილტრაციით: სითხეების სტერილიზაციისთვის ხშირად საჭიროა ფილტრაციის მეთოდის გამოყენება, რადგან სითხეების შემადგენელი კომპონენტები შეიძლება დაიშალოს მაღალი ტემპერატურის ზემოქმედებით (მშრალი ან ცხელი ორთქლით გაცხელება).

სტერილური ფილტრაცია მაღალი ტემპერატურისადმი მგრძნობიარე ხსნარების სტერილიზაციის შედარებით ახალი მეთოდია. ფილტრების მიკროფორების ზომაა 0.1 – 0.2 μm. ფილტრების დასამზადებლად სხვადასხვა მასალები გამოიყენება, მაგალითად, ნეილონი, ცელულოზის აცეტატი, ცელულოზის ნიტრატი, პოლიკარბონატი, პოლიეთერ-სულფონი (PES) და კერამიკისგან დამზადებული ფილტრები. მზადდება სხვადასხვა დიზაინის ფილტრები, კერძოდ კი დისკოიდური ფილტრის კარტრიჯები და ღრუ ბოჭკოვანი ფილტრები. ზოგადად, მრავალი კომერციული კომპანია (მაგ. მილიპორი, დურაპორი) აწარმოებს როგორც მრავალჯერადი გამოყენების, ასე ერთჯერად ფილტრებს, რომლებიც სტერილიზაციის სხვადასხვა მიზნებისთვისაა განკუთვნილი.

ისეთი ლაბორატორიული აღჭურვილობა, როგორიცაა საფარი და სასაგნე მინა, პიპეტები, შუშის ამპულები, პასტერის პიპეტები, ინსტრუმენტები და სინჯარები შეიძლება სტერილიზებულ იქნას მშრალი გაცხელების გამოყენებით. ავტოკლავის გამოყენება შეიძლება პლასტმასის ამპულების, სილიკონის მილების, მრავალჯერადი ფილტრების, ხრახნიანი მინის ბოთლების, მაგნიტური სანჯღრეველას, ხრახნიანი სახურავების, რეზინისა და სილიკონის საცობების სტერილიზაციისთვის.

საკვები ნივთიერებები და არეები მოიცავს მარილხსნარებს, გლუკოზას (20%-იანი), აგარს, ბაქტო-პეპტონს, გლიცეროლს, ლაქტობუმინ-ჰიდროლიზატს, ფენოლის წითელს, ტრიპტოზას, HEPES,EEDTA და წყალს. სტერილიზაციის მიზნით რეკომენდირებულია შრატის ფილტრაცია. არეში ამატებენ ამინომჟავებს, ვიტამინებს, ანტიბიოტიკებს, ხარის შრატის ალბუმინს, კოლაგენაზას, გლუტამინს, NaOH-ს, ტრიპსინს და ტრანსფერინს.

ცხოველური უჯრედების კულტურების გამოყენება

იმ საფრთხის გამო, რომელიც დაკავშირებულია ლაბორატორიული ექსპერიმენტებისთვის ცოცხალი ცხოველების ინტენსიურ გამოყენებასთან (რაც ზნეობრივად და ეთიკურად გამართლებული არ არის), ზოგიერთი მკვლევარი სხვადასხვა კვლევების ჩასატარებლად ამჯობინებს ცხოველური უჯრედების კულტურის გამოყენებას.

ცხოველური უჯრედების ლაბორატორიული კულტურები გამოიყენება შემდეგი ძირითადი მიზნებისთვის:

- შესამჩნევი აქტივობის, მაგალითად, უჯრედული ციკლის, დიფერენცირების, მეტაბოლიზმის კვლევა;
- უჯრედული ტრანსპორტის (ჰორმონალური რეცეპტორების, სიგნალის ტრანსდუქციისა და მემბრანული ტრანსპორტის) კვლევა;
- უჯრედშორის ურთიერთქმედებასთან (მაგ. უჯრედების ადჰეზიასთან, მოძრაობასა და მეტაბოლიზმთან) დაკავშირებული კვლევები;
- გარემოს ფაქტორების ზეგავლენის (მაგ. ციტოტოქსიკურობის, მუტაგენეზის) შეფასება;
- უჯრედშიდა აქტიურობა: უჯრედული ციკლის, დიფერენცირების, ტრანსკრიპციის, ტრანსლაციის, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმისა და მედიკამენტოზური მეტაბოლიზმის კვლევები;
- ურთიერთქმედება უჯრედებს შორის: უჯრედების ადჰეზიის, მოძრაობის, უჯრედშორის მატრიქსთან ურთიერთქმედების, მორფოგენეზის და მეტაბოლური კოოპერაციის კვლევა.
- გარემოსთან ურთიერთქმედება: მედიკამენტების მოქმედებასთან, ინფექციებთან, ციტოტოქსიკურობასთან, მუტაგენეზთან და კანცეროგენეზთან დაკავშირებული კვლევები;
- გენეტიკა: გენეტიკურ ანალიზთან, ტრანსფექციასთან, ტრანსფორმაციასთან, უკვდავობასთან და დაბერებასთან დაკავშირებული კვლევები;
- უჯრედული პროდუქტების (მაგ. ჰორმონების, ინტერფერონების და სხვ.) შემოწმება;

- სამედიცინო/ფარმაცევტული ნაერთების და ნივთიერებების (მაგ. ვაქცინების, ინტერფერობენის და ჰორმონების) ლაბორატორიული წარმოება ფართო გამოყენებისთვის.

არსებობს ცხოველური უჯრედული კულტურების გამოყენების გარკვეული შეზღუდვებიც. ეს უმეტესწილად განპირობებულია in vivo (ბუნებრივ) და in vitro (ლაბორატორიულ) სისტემებს შორის არსებული განსხვავებებით და ლაბორატორიაში ჩატარებული კვლევების სარწმუნოებით.

ცხოველური უჯრედების კულტივირების პროდუქტები

ვაქცინების წარმოება:
პოლიოვაქცინები – პოლიომიელიტის პროფილაქტიკისთვის;
წითელას ვაქცინა – წითელას პროფილაქტიკისთვის;
ცოფის ვაქცინა – ცოფის პროფილაქტიკისთვის;
მალარიის ვაქცინა – მალარიის პროფილაქტიკისთვის;
HIVვაქცინა – შიდსის პროფილაქტიკასა და მკურნალობისთვის.

თერაპიული საშუალებების წარმოება

1. პლაზმინოგენის აქტივატორი
   - ქსოვილური ტიპის;
   - უროკინაზას ტიპის;
   - რეკომბინანტული.

გამოყენება: მიოკარდიუმის მწვავე ინფარქტი, ფილტვის ემბოლია, ღრუ ვენების თრომბოზი და მწვავე ინსულტი.

2. ინტერფერონები:
   - ინტერფერონი α (სიმსივნური ზრდის საწინააღმდეგოდ);
   - ინტერფერონი β (იმუნომოდულატორი);
   - ინტერფერონი- γ (ანტივირუსული).
3. სისხლის შედედების ფაქტორები:

ფაქტორები VII, VIII, IX და X

გამოყენება: ჰემოფილიის დროს როგორც სისხლის შედედების აგენტები.

4. ჰორმონები:
   - ადამიანის სომატოტროპინი (ზრდის შეფერხება ბავშვებში);
   - ფოლიკულების მასტიმულირებელი ჰორმონი (უშვილობის მკურნალობა);
   - ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინი (უშვილობის მკურნალობა).

5. მონოკლონური ანტისხეულები:
   - ანტილიპოპოლისაქარიდებ (სეფსისის მკურალობა);
   - ადამიანის B-უჯრედები (ლიმფომების მკურნალობა);
   - ანტიფიბრინი 99 (სისხლის შედედების დიაგნოსტირება ვიზუალიზაციის მეთოდით).
   - Tcm-Fab (სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის დიაგნოზი)
6. ასევე:
   - ერითროპოეტინი (ამტიანემიური აგენტი);
   - სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი (ანტისიმსივნური აგენტი, HIV მკურნალობა);
   - გრანულოციტების მასტიმულირებელი ფაქტორი (ანტისიმსივნური);
   - კარცინოემბრიონული აგენტი (ანტისიმსივნური; სიმსივნის მქონე პაციენტების დიაგნოსტირება და მონიტორინგი).

ცხოველური უჯრედების მოდიფიკაციები და მათი გამოყენება

დღეისათვის შესაძლებელია ცხოველური (ძუძუმწოვრების) უჯრედების მოდიფიცირება მათში კონკრეტული გენების ჩაშენებით სასურველი ცილის სინთეზისათვის და ასევე უჯრედული ხაზის მახასიათებლების გასაუმჯობესებლად. ძუძუმწოვრის უჯრედებში უცხო დნმ-ის შესატანად გამოიყენება შემდეგი მეთოდები:

- ელექტროპორაცია;
- ლიპოფექცია;
- მიკროინიექცია;
- ძუძუმწოვრების უჯრედების ბაქტერიებთან ან ვირუსებთან შერწყმა.

ძუძუმწოვრების უჯრედულ გენომში უცხო დნმ-ის ინტეგრირებისას სასურველი ცილის მაკოდირებელი გენი ექსპრესიას იწყებს. თუმცა, აუცილებელია საუკეთესო მახასიათებლების რეკომბინანტული უჯრედების შესაბამისი მეთოდებით შერჩევა სელექციური გენეტიკური მარკერების გამოყენებით. ტრანსფექციული უჯრედების შესარჩევად გამოიყენება შემდეგი სელექციური მარკერები:

- ვიტალური თიმიდინკინაზა;
- ბაქტერიული დიჰიდროფოლატრედუქტაზა;
- ბაქტერიული ნეომიცინ-ფოსფოტრანსფერაზა.

გენეტიკური მანიპულაციის საშუალებით ძუძუმწოვრების უჯრედებში შესაძლებელია რამდენიმე ცილის ჭარბწარმოება. ამის მაგალითებია: ქსოვილური პლაზმინოგენის აქტივატორი - ერითროპროეტინი, ინტერლეიკინ-2, ინტერფერონ-γ, შედედების ფაქტორები VIII და IX, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი. ჩვეულებრივ, ძუძუმწოვრების რეკომბინანტული უჯრედები ფართო გამოყენების მქონე მონოკლონური ანტისხეულების საწარმოებლად გამოიყენება.

რისკის კატეგორიები და უსაფრთხოების საკითხები

- მოვლა-მომსახურების რისკები: სხვადასხვა აღჭურვილობის ასაკი და მდგომარეობა და ნარჩენების გაჟონვა;
- პერსონალური რისკები: არასაკმარისი ტრენინგი, კონცენტრაციისა და ინტერესის ნაკლებობა;
- ფიზიკური რისკები: ელექტროშოკები, ხანძარი და ძლიერი ყინვა;
- ქიმიური რისკები: ტოქსიკურობა საწამლავების, კანცეროგენების, მუტაგენების, გამაღიზიანებლების და ალერგენების გამო;
- ბიოსაფრთხეები: პათოგენური ორგანიზმები, ვირუსები, გენეტიკური მანიპულაციები;
- რადიოიზოტოპური რისკები: ენერგიის გამოსხივება, გაჟონვა და იონიზაცია;
- უჯრედების კულტივირების ლაბორატორიებში რისკების მინიმიზაციის რამდენიმე ზოგადი უსაფრთხოების წესია:
- უსაფრთხოების ადგილობრივი კომისიების პერიოდული შეკრებები და დისკუსიები;
- ლაბორატორიების სისტემატური მონიტორინგი;
- პერსონალის პერიოდული ტრენინგი სემინარებისა და მუშა შეხვედრების საშუალებით;
- სტანდარტული სამუშაო პროცედურების ხელმისაწვდომობა მთელი პერსონალისთვის, მათი ამობეჭდვა;
- ჩანაწერების სისტემატური წარმოება;
- შეზღუდული დაშვება ლაბორატორიაში (მხოლოდ ტრენირებული პერსონალისა და შერჩეული სტუმრებისთვის);
- ნარჩენების გატანის სათანადო სისტემა ბიოლოგიურად სახიფათო და რადიაქტიული ნარჩენებისათვის, ტოქსინებისა და კოროზიული ნივთიერებებისთვის.

ბიოლოგიური რისკები

ბიოლოგიურ მასალებთან დაკავშირებული ინციდენტები ან რისკები ბიორისკებად ანუ ბიოლოგიურ რისკებად მიიჩნევა. ბიორისკების გამოწვევის ორი ძირითადი სისტემა არსებობს:

1. ბიოლოგიური მასალების პირდაპირი წყაროები;
2. დამუშავების პროცედურები.

ბიორისკების წყაროები

ბიოლოგიური მასალები

- პათოგენების მატარებელი ქსოვილის ნიმუშები და კულტურები;
- ვირუსებით (რეტროვირუსების ჩათვლით) ინფიცირებული ადამიანის უჯრედები;
- უჯრედები გენეტიკური მანიპულაციების შემდეგ.

ბიორისკების კონტროლი

ბიორისკების კორნტროლი მნიშვნელოვანწილად შესაძლებელია მარეგულირებელი სახელმძღვანელო პრინციპების და მოვლა-მომსახურების პროგრამების მკაცრი დაცვით. ქვემოთ ჩამოთვლილია ბიორისკების პრევენციასთან დაკავშირებული რამდენიმე მნიშვნელოვანი ასპექტი:

- მიკრობიოლოგიური უსაფრთხოების კარადის ან პათოგენების დამჭერი ფილტრებით აღჭურვილი ბოქსის გამოყენება;
- ვერტიკალური ლამინარული ბოქსის გამოყენება (ჰორიზონტალური ლამინარის ნაცვლად), რომელსაც მინიმუმამდე დაჰყავს სინჯების/პათოგენების პირდაპირი ზემოქმედება ოპერატორზე;
- პათოგენების შემცველი სინჯების დამუშავება ცალკე ოთახებში განცალკევებული საშუალებებით (ცენტრიფუგა, ინკუბატორი, უჯრედების მთვლელი);
- ნებისმიერი ტიპის ნარჩენების, მინის ჭურჭლის და ა.შ. სტერილიზაცია და სათანადო განთავსება;
- ოთახებში შესვლისა და გასვლისას ტანისამოსის გამოსაცვლელი სათავსოს მოწყობა;
- კულტივირების ოთახებში შერჩეული პერსონალის დაშვების მკაცრი დაცვა.

საკულტივაციო არეები ცხოველური უჯრედებისთვის

უჯრედების in vitro კულტივირებისათვის შესაფერისი არის შერჩევა მნიშვნელოვანი და არსებითი ეტაპია. ძუძუმწოვრების უჯრედები ორგანიზმში საკვებ ნივთიერებებს სისხლის ცირკულაციის საშუალებით იღებენ. ამ უჯრედების in vitro კულტივირებისათვის საჭიროა მათი უზრუნველყოფა სისხლში არსებული კომპონენტების ანალოგებით. ზოგადად, საკულტივაციო არის არჩევა დიდადაა დამოკიდებული საკულტივაციო უჯრედების ტიპზე და კულტივირების მიზანზე (ზრდა, დიფერენცირება, თუ სასურველი პროდუქტების წარმოება). საკულტივაციო არე შეიძლება იყოს ბუნებრივი ან ხელოვნური.

ბუნებრივი არეები

ადრე გამოიყენებოდა სხვადასხვა ბიოლოგიური წყაროებიდან მიღებული ბუნებრივი არეები.

ორგანიზმის სითხეები

ჩვეულებრივ, გამოიყენებოდა პლაზმა, შრატი, ლიმფა, ამნიოტური სითხე, პლევრალური სითხე, თვალის წყლოვანი სითხე და მწერის ჰემოლიმფა. გამოყენებამდე ეს სითხეები მოწმდება სტერილურობასა და ტოქსიკურობაზე.

ქსოვილების ექსტრაქტები

ქსოვილების ექსტრაქტებიდან ყველაზე ფართოდ ქათმის ჩანასახის ექსტრაქტი გამოიყენება. საკულტივაციო არის სახით ასევე გამოიყენებოდა ღვიძლის, ელენთას, ძვლის ტვინის ექსტრაქტები.

ხელოვნური არეები

ხელოვნური, ნაწილობრივ განსაზღვრული კომპონენტების შემცველი არეები უჯრედების კულტივირებისათვის 1950 წლიდან გამოიყენება. მინიმალური კრიტერიუმები, რომლებიც აუცილებელია ცხოველური უჯრედების საკულტივაციო არის შესარჩევად, ქვემოთაა ჩამოთვლილი:

- საკულტივაციო არე უჯრედებისთვის საჭირო ყველა საკვებ ნივთიერებას უნდა შეიცავდეს;
- ფიზიოლოგიური pHHსათანადო ბუფერირებით დაახლოებით 7.0-ზე უნდა იყოს დაყვანილი;
- არე უნდა იყოს სტერილური და უჯრედებისთვის იზოტონური.

უჯრედების საკულტივაციო არის საფუძველს წარმოადგენს **დაბალანსებული ფიზიოლოგიური ხსნარი**, რომელიც **ფიზიოლოგიური pH და ოსმოლარობის შესაქმნელად** გამოიყენება, რაც აუცილებელია უჯრედების შენარჩუნებისთვის in vitro პირობებში. უჯრედების ზრდისა და გამრავლების ხელშესაწყობად საკულტივაციო არეს სხვადასხვა კომპონენტი (გლუკოზა, ამინომჟავები, ვიტამინები, ზრდის ფაქტორები, ანტიბიოტიკები და ა.შ.) ემატება, ამის მიხედვით შემუშავებულია რამდენიმენაირი საკულტივაციო არე. ჩვეულებრივ პრაქტიკას წარმო-ადგენს სხვადასხვა საკულტივაციო არეში შრატის დამატება. თუმცა ზოგიერთი მკვლევარი ბოლო დროს უშრატო საკულტივაციო არეს იყენებს.

ქვემოთ მოყვანილია ქსოვილების კულტივირებისათვის საჭირო არის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების მოკლე დახასიათება. ამას მოჰყვება საკულტივაციო არეში ხშირად გამოყენებადი გაწონასწორებული მარილხსნარების და უშრატო არეების აღწერა.

საკულტივაციო არის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები

საკულტივაციო არეს უნდა გააჩნდეს გარკვეული ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები (pH, O_2, CO_2 კონცენტრაცია, ბუფერული ოსმოლარობა, სიბლანტე, ტემპერატურა, და ა.შ.), რომელთა შენარჩუნება აუცილებელია კულტივირებული უჯრედების ზრდასა და გამრავლებისათვის.

pH

უჯრედების უმრავლესობას შეუძლია ზრდა, როდესაც pH 7.0 – 7.4 დიაპაზონში მერყეობს, თუმცა უჯრედების ტიპიდან გამომდინარე (მაგ. უჯრედული ხაზებისთვის) არსებობს მცირე ვარიაციები. არის pH-ის ვიზუალიზაციისათვის ყველაზე ფართოდ ფენოლის წითელი გამოიყენება. მისი შეფერილობა სხვადასხვა pH-ზე მითითებულია ქვემოთ:

pH 7.8 - იისფერი
pH 7.4 – წითელი
pH 7.0 – ნარინჯისფერი
pH 6.5 – ყვითელი

ნახშირორჟანგი საკულტივაციო არეში გახსნილ მდგომარეობაშია და მისი კონცენტრაცია ატმოსფერულ CO_2-ზე და ტემპერატურაზეა დამოკიდებული. საკულტივაციო არეში CO_2 არსებობს როგორც ნახშირმჟავა (H_2CO_3) ბიკარბონატის (HC_3), და H^+ იონების სახით, როგორც ეს ქვემოთაა ნაჩვენები.

$CO_2 + H_2O$ ---------- H_2CO_3---------- $H^+ + HCO_3$

როგორც ზემოთ მოყვანილი ფორმულიდან ჩანს, CO_2-ის და HCO_3-ის კონცენტრაცია და pH მნიშვნელობა ურთიერთდამოკიდებულია. ატმოსფერული CO_2–ის გაზრდისას pH მცირდება, რაც საკულტივაციო არეს მჟავურს გახდის. ნატრიუმის ბიკარბონატის (როგორც ბიკარბონატული ბუფერის კომპონენტის) დამატება ბიკარბონატის იონებს ანეიტრალებს.

$NaHCO_3$ ---------- $Na^+ + HCO_3$

ზოგადად, მზა საკულტივაციო არეები ბიკარბონატის და CO_2–ის რეკომენდებულ კონცენტრაციას შეიცავს საჭირო pH–ის მისაღწევად. ბოლო წლებში საკულტივაციო არეებში გამოიყენება HEPES (ჰიდროქსილ-ეთილის პიპერაზინ 2-ის მჟავა) ბუფერი, რომელიც უფრო ეფექტიანია ბიკარბონატის ბუფერთან შედარებით, თუმცა მკვლევარების უმეტესობა უპირატესობას ბიკარნობატის ბუფერს ანიჭებს მისი დაბალი ფასის, ნაკლები ტოქსიკურობის და საკვები ღირებულების გამო. მისგან განსხვავებით HEPES ძვირია და უჯრედებისთვის ტოქსიკურია.

პირუვატის არსებობა საკულტივაციო არეში იწვევს უჯრედების მიერ CO_2–ის მომატებულ ენდოგენურ გამოყოფას. ეს პოზიტიური ფაქტორია, რადგან ამ დროს მცირდება დამოკიდებულება ეგზოგენური CO_2 და HCO_3 მიწოდებაზე. ასეთ შემთხვევაში ბუფერი ამინომჟავების მაღალ კონცენტრაციებს შეიცავს.

ჟანგბადი

სუნთქვითი პროცესების განხორციელებისათვის უჯრედების უმეტესობა in vitro პირობებში O_2–ის მოწოდებაზეა დამოკიდებული. In vivo პირობებში O_2 უწყვეტად მიეწოდება ქსოვილებს ჰემოგლობინის საშუალებით.

კულტივირებული უჯრედები დიდადაა დამოკიდებული საკულტივაციო არეში გახსნილ O_2–ზე, რომელიც მაღალი კონცენტრაციისას შეიძლება ტოქსიკურიც კი იყოს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის გამო. ამიტომ აუცილებელია O_2–ის

ადეკვატური რაოდენობის მიწოდება, რათა უჯრედული მოთხოვნები დაკმაყოფილდეს, ხოლო ტოქსიკური ეფექტები თავიდან იქნას აცილებული. ტოქსიკურობის გასანეიტრალებლად საკულტივაციო არეს აგრეთვე ემატება თავისუფალი რადიკალების შემბოჭავი ნივთიერებები (გლუტათიონი და მერკაპტოეთანოლი). ტოქსიკურობის შემცირებას ასევე სელენის დამატება უწყობს ხელს (სელენი გლუტათიონის სინთეზის კოფაქტორია).

ზოგადად, გლიკოლიზი, რომელიც კულტივირებულ უჯრედებში მიმდინარეობს, უფრო ანაერობულია, ვიდრე უჯრედებში in vivo. ვინაიდან საკულტივაციო არის სისქე გავლენას ახდენს დიფუზიის სიჩქარეზე, რეკომენდებულია არის სისქის შენარჩუნება 2-5 მმ ფარგლებში.

ტემპერატურა

ზოგადად, მოცემული უჯრედების კულტივირებისთვის ოპტიმალური ტემპერატურა იმ ორგანიზმის სხეულის ტემპერატურაზეა დამოკიდებული, საიდანაც მოხდა უჯრედების გამოყოფა. შესაბამისად, ადამიანისა და თბილსისხლიანი ცხოველებისგან მიღებული უჯრედებისთვის ოპტიმალური ტემპერატურაა 37 ^{O}C. In vitro პირობებში უჯრედები ვერ იტანენ უფრო მაღალ ტემპერატურას და მათი უმეტესობა კვდება, თუ ტემპერატურა 40°C–ს გადააჭარბებს. ამიტომ დადებითი შედეგების მისაღწევად აუცილებელია მუდმივი ტემპერატურული რეჟიმის შენარჩუნება (± 0.5 ^{O}C).

თუ უჯრედები მიღებულია ფრინველებისგან, კულტივირებისთვის ოპტიმალური ტემპერატურა ოდნავ მაღალია (38.5^{O}C). ცივსისხლიანი (პოიკილოთერმული) ცხოველებისთვის (მაგ. ცივი წყლის თევზები), რომლებიც სხეულის ტემპერატურას ვერ არეგულირებენ, კულტივირების ტემპერატურა უნდა იყოს 15-25°C ფარგლებში. გარდა უჯრედების ზრდაზე პირდაპირი ზემოქმედებისა, ტემპერატურა მოქმედებს CO_2–ის ხსნადობაზე - მაღალი ტემპერატურა ხსნადობას აძლიერებს.

ოსმოლარობა

სხვადასხვა ორგანიზმებიდან საკულტივაციოდ აღებული უჯრედების უმეტესობისთვის ოსმოლარობა 260-320 მოსმ/კგ ფარგლებში მერყეობს. ეს შეედარება ადამიანის პლაზმის ოსმოლარობას (290 მოსმ/კგ). საკულტივაციო არესთვის ოსმოლარობის შერჩევის შემდეგ იგი უნდა ერთსა და იგივე დონეზე (±10 მოსმ/კგ ფარგლებში) შენარჩუნდეს. გარემოში მჟავების, ფუძეების, მედიკამენტების და სხვა ნივთიერებების დამატება ოსმოლარობაზე მოქმედებს. ლაბორატორიაში ოსმოლარობის გასაზომად გამოიყენება ინსტრუმენტი, რომელსაც ოსმომეტრი ეწოდება.

გაწონასწორებული მარილხსნარები

გაწონასწორებული მარილხსნარები (balanced salt solutions, BSS) უმეტესად არაორგანული მარილებისგან შედგება. ზოგჯერ ბფხ-ში (ფიზიოლოგიურ ხსნარში) შეიძლება ნატრიუმის ბიკარბონატის, გლუკოზის და HEPES-ის ბუფერის ჩამატება. pH ინდიკატორის როლს ფენოლის წითელი ასრულებს. ქვემოთ ჩამოთვლილია გაწონასწორებული ხსნარების მნიშვნელოვანი ფუნქციები:

- აუცილებელი არაორგანული იონების მიწოდება;
- საჭირო pH–ის უზრუნველყოფა;
- სასურველი ოსმოლარობის შენარჩუნება;
- ენერგიის მიწოდება გლუკოზის სახით.

ფაქტიურად, საკულტივაციო არე ეს არის გაწონასწორებული ფიზიოლოგიური ხსნარი, რომელსაც სხვა ნივთიერებები ემატება. გარდა ამისა, ბფხ ხანმოკლე პერიოდით (4 საათამდე) უჯრედების ინკუბაციისათვის გამოიყენება.

სრული საკულტივაციო არე

ადრე უჯრედების კულტივირებისას მათი გამრავლების ხელშესაწყობად გაწონასწორებულ მარილხსნარებს სხვადასხვა საკვებ ნივთიერებებს (ამინომჟავებს, ვიტამინებს, შრატებს და ა.შ.) უმატებდნენ. საკულტივაციო არეების ერთ-ერთმა პირველმა შექმნელმა ხ. იგლმა 1950-60 წლებში განსაზღვრა ძუძუმწოვრების უჯრედების კულტურების მოთხოვნებები საკვებ ნივთიერებებზე. მას შემდეგ კულტივირების მეთოდები მრავალგზის დაიხვეწა. ამჟამად სხვადასხვა ტიპის კულტურებისთვის ხელმისაწვდომია მრავალი ტიპის საკულტივაციო არე. ზოგიერთი მათგანია:

EMEM - იგლის მინიმალური აუცილებელი არე;

DMEM - იგლის არის დულბეკოს მოდიფიკაცია;

GMEM - იგლის არის გლაზგოუს მოდიფიკაცია;

RPMI 1630 და RPMI 1640 - როსუელ პარკ მემორიალ ინსტიტუტში (Rosewell Park Memorial Institute) შემუშავებული საკულტივაციო არე.

ზოგადად, სრული საკულტივაციო არე შეიცავს მრავალ კომპონენტს, როგორიცაა ამინომჟავები, ვიტამინები, მარილები, გლუკოზა, სხვა ორგანული დანამატები, ზრდის ფაქტორები, ჰორმონები, ანტიბიოტიკები, ასევე შრატი. არის ტიპიდან გამომდინარე იცვლება საკულტივაციო არის კომპონენტების ტიპი და რაოდენობა.

ამინომჟავები

საკულტივაციო არე უნდა შეიცავდეს ყველა შეუცვლელ ამინომჟავას (არ სინთეზირდება უჯრედების მიერ). გარდა ამისა, საკულტივაციო არეს ემატება შეცვლადი ამინომჟავებიც (რომლებიც შეიძლება სინთეზირებულ

იქნას უჯრედების მიერ), რათა თავიდან იქნას აცილებული მათი უჯრედების მიერ სინთეზის შეზღუდვა. ასეთი ამინომჟავებიდან საკულტივაციო არეს ხშირად ემატება გლუტამინის და/ან გლუტამატის დიდი რაოდენობა, რადგან ეს ამინომჟავები ენერგიისა და ნახშირბადის წყაროს წარმოადგენს.

ვიტამინები

ვიტამინების სახეები და რაოდენობა საკულტივაციო არეზეა დამოკიდებული. მაგალითად, იგლის MEM შეიცავს მხოლოდ წყალში ხსნად ვიტამინებს (მაგ. B-კომპლექსს, ქოლინს და ინოზიტოლს). სხვა ვიტამინები მიიღება დამატებული შრატიდან. გარემო M 199 ცხიმში ხსნად ყველა ვიტამინს (A, D, E და K) შეიცავს. ზოგადად, ***უშრატო*** საკულტივაციო არე უნდა შეიცავდეს ***ვიტამინების უფრო მაღალ კონცენტრაციას***.

მარილები

სხვადასხვა საკულტივაციო არის მარილები ძირითადად გაწონასწორებული მარილხსნარების (იგლის BSS და ჰენკის BSS) კომპონენტებია. მარილები უზრუნველყოფს კათიონებს (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} და ა.შ.) და ანიონებს (Cl^-, HCO^{-3}, SO_2^{-4}, PO_3^{-4}) და ზოგადად ოსმოლარობის შენარჩუნებაზეა პასუხისმგებელი. ქვემოთ ჩამოთვლილია მარილების იონების სხვა მნიშვნელოვანი ფუნქციები:

- Ca^{2+} იონები გარდა მათი მნიშვნელობის უჯრედების გამრავლებასა და დიფერენცირებაში, აგრეთვე უჯრედების ადჰეზიასა და სიგნალის ტრანსდუქციაში მონაწილეობენ.
- Na^+, K^+ და CL^- იონები მემბრანების პოტენციალს არეგულირებენ.
- PO_3^{-4}, SO_2^{-4} და HCO^{-3} იონები მონაწილეობენ უჯრედშიდა მუხტის შენარჩუნებაში; გარდა იმისა ეს იონები ზოგიერთი მნიშვნელოვანი ნაერთებისთვის პრეკურსორის როლს ასრულებენ, მაგ. PO_3^{-4} საჭიროა ATP სინთეზისათვის.

გლუკოზა

საკულტივაციო არეების უმეტესობა შეიცავს გლუკოზას, რომელიც **ენერგიის მნიშვნელოვანი წყაროს როლს ასრულებს**. გლუკოზა გლიკოლიზის დროს იშლება პირუვატ/ლაქტატის წარმოქმნით. ეს ნაერთები შემდგომში ლიმონმჟავას ციკლში შედის და CO_2-ად იჟანგება. თუმცა ექსპერიმენტების შედეგები მოწმობს, რომ გლუკოზის წვლილი ლიმონმჟავას ციკლში საგრძნობლად უფრო დაბალია in vitro პირობებში, ვიდრე in vivo. ამ შემთხვევაში ნახშირბადის წყარო ლიმონმჟავას ციკლში არა გლუკოზა, არამედ გლუტამინია. აქედან გამომდინარე, კულტივირებულ უჯრედებს ესაჭიროებათ გლუტამინის მაღალი შემცველობა.

ჰორმონები და ზრდის ფაქტორები

შრატის შემცველ საკულტივაციო არეში ჰორმონებისა და ზრდის ფაქტორების დამატება, ჩვეულებრივ, საჭირო არ არის. ისინი ხშირად ემატება უშრატო საკულტივაციო არეს. ჰიდროკორტიზონი ხელს უწყობს უჯრედების ადჰეზიას, მაშინ როდესაც ინსულინი უჯრედების მიერ გლუკოზის ათვისებას აადვილებს. სომატომედინი (IGF) ხელს უწყობს უჯრედების პროლიფერაციას. შრატში არის ზრდის ფაქტორები, რომლებიც საკულტივაციო უჯრედების გამრავლებას ასტიმულირებს, ესენია:

- თრომბოციტების ზრდის ფაქტორი (PDGF)
- ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი (FGF)
- ეპიდერმული ზრდის ფაქტორი (EGF)
- სისხლძარღვების ენდოთელიუმის ზრდის ფაქტორები (VEGF)
- ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორები (IGF-1, IGF-2).

ორგანული დანამატები

კულტივირების ხელშესაწყობად საკულტივაციო არეს, ჩვეულებრივ, ემატება რამდენიმე დამატებითი ორგანული ნაერთი. მათ შორისაა სპეციფიკური ცილები, პეპტიდები, ლიპიდები, ნუკლეოზიდები და ლიმონმჟავას ციკლის შუალედური ნაერთები. უშრატო საკულტივაციო არეში ასეთი ნაერთების დამატება მეტად დადებით შედეგს იძლევა.

ანტიბიოტიკები

ადრეულ წლებში საკულტივაციო არე ყოველთვის შეიცავდა ანტიბიოტიკებს. ანტიბიოტიკებიდან ყველაზე ფართოდ გამოიყენებოდა ამპიცილინი, პენიცილინი, გენტამიცინი, ერითრომიცინი, კანამიცინი, ნეომიცინი და ტეტრაციკლინი. ანტიბიოტიკების დამატება დაბინძურების შესამცირებლად ხდებოდა. თუმცა ქსოვილების კულტივირების თანამედროვე ლაბორატორიებში არსებულ გაუმჯობესებულ ანტისეპტიკურ პირობებში ანტიბიოტიკების დამატება საჭირო არ არის. ფაქტობრივად, ანტიბიოტიკების გამოყენება რამდენიმე უარყოფით მომენტთან არის დაკავშირებული, კერძოდ:

- კულტურაში ანტიობიოტიკისადმი რეზისტენტული უჯრედების წარმოქმნის შესაძლებლობა;
- ანტიმეტაბოლური ეფექტის გამოწვევის და გამრავლების შეფერხების შესაძლებლობა;
- ინფექციების დროებითი დამალვის შესაძლებლობა;
- ცუდი ანტისეპტიკური პირობების ხელშეწყობა.

ამჟამინდელი რეკომენდაციაა, რომ უჯრედების რუტინული კულტივირებისას ანტიბიოტიკების დამატება არ უნდა მოხდეს. თუმცა, მათი გამოყენება შესაძლებელია პირველადი კულტურების შექმნისას.

შრატი

შრატი წარმოადგენს უჯრედების გამრავლების ხელშემწყობი კომპონენტებით მდიდარ ბუნებრივ ბიოლოგიურ სითხეს. შრატების სხვადასხვა ტიპში არსებული ძირითადი შემადგენელი ელემენტები ქვემოთაა ჩამოთვლილი. ყველაზე ფართოდ გამოიყენება ხბოს შრატი (CS), ხარის ფეტალური შრატი (FBS), ცხენის შრატი და ადამიანის შრატი. ადამიანის შრატის გამოყენების შემთხვევაში აუცილებელია მისი შემოწმება მთელ რიგ დაავადებებზე (B ჰეპატიტი, შიდსი). უმეტესწილად სხვადასხვა არეში დასამატებლად შრატის 5-20% (v/v) გამოიყენება. ქვემოთ მოკლედაა აღწერილი შრატის კომპონენტების ზოგიერთი მნიშვნელოვანი თვისება.

შრატის ძირითადი შემადგენელი კომპონენტები

ცილები

ალბუმინი
გლობულინები
ფეტუინი
ფიბრონექტინი
ტრანსფერინი
პროტეაზას ინჰიბიტორები
α1 -ანტიტრიპსინი

ამინომჟავები

თითქმის ოცივე ამინომჟავა

ლიპიდები

ქოლესტეროლი
ფოსფოლიპიდები
ცხიმოვანი მჟავები

ნახშირწყლები

გლუკოზა
ჰექსოზამინი

სხვა ორგანული ნაერთები

რძემჟავა
პირუვინის მჟავა
პოლიამინები
შარდოვანა

ვიტამინები

ვიტამინი A
ფოლიუმის მჟავა

ზრდის ფაქტორები

ეპიდერმული ზრდის ფაქტორი
თრომბოციტების ზრდის ფაქტორი
ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი

ჰორმონები

ჰიდროკორტიზონი
თიროქსინი
ტრიიოდთირონინი
ინსულინი

არაორგანული კომპონენტები

კალციუმი
ნატრიუმი
კალიუმი
ქლორიდები
რკინა
ფოსფატები
ცინკი
სელენიუმი

ცილები

შრატის ცილების in vitro ფუნქციები ბოლომდე ცნობილი არ არის. ზოგიერთი მათგანი მონაწილეობს უჯრედების სუბსტრატთან მიმაგრებაში და ზრდაში (მაგ. ფეტუინი და ფიბრონექტინი). ცილები ზრდიან საკულტივაციო არის სიბლანტეს. გარდა იმისა, ისინი ბუფერულ ფუნქციაშიც მონაწილეობენ.

საკვები ნივთიერებები და მეტაბოლიტები

შრატი შეიცავს ამინომჟავებს, გლუკოზას, ფოსფოლიპიდებს, ცხიმოვან მჟავებს, ნუკლეოზიდებს და მეტაბოლიზმის შუალედურ ნივთიერებებს (პირუვინის მჟავას, რძემჟავას და ა.შ.). ამ კომპონენტებს გარკვეული წვლილი შეაქვთ უჯრედების საკვებ ნივთიერებებზე მოთხოვნილების დაკმაყოფილებაში. თუმცა კომპლექსურ არეში, საკვები ნივთიერებების სიჭარბის პირობებში, ეს შესაძლოა უმნიშვნელო იყოს.

ინჰიბიტორები

შრატი ასევე შეიძლება უჯრედის ზრდის ინჰიბიტორებს შეიცავდეს. მათი უმეტესობა ბაქტერიული ტოქსინები ან ანტისხეულებია. ბუნებრივი შრატი ასევე შეიცავს ფიზიოლოგიური ზრდის ინჰიბიტორებს, სახელდობრ კი TGF-β ფაქტორს. ზრდის ინჰიბიტორების უმეტესობა ინაქტივირდება სითბური დამუშავების გზით (56^{0}C-ზე 30 წუთის განმავლობაში).

საკულტივაციო არის და შრატის შერჩევა

როგორც უკვე აღინიშნა, უჯრედების კულტივირებისთვის მრავალი საკულტივაციო არე არსებობს. ამა თუ იმ გარემოს შერჩევა ეფუძნება უჯრედულ ხაზსა და კულტივირების მიზანს. მაგალითად, ქათმის ემბრიონის ფიბრობლასტებისთვის და HeLa უჯრედებისთვის გამოიყენება EMEM. DMEM არის გამოყენება შეიძლება ნეირონების კულტივირებისთვის. შრატის შერჩევა ასევე საკულტივაციო უჯრედების შესაბამისად ხდება. შრატის შერჩევისას გასათვალისწინებელია შემდეგი კრიტერიუმები:

- განსხვავებები პარტიებს შორის;
- ხარისხის კონტროლი;
- უჯრედების ზრდისა და შენახვის ხელშეწყობის ეფექტურობა;
- სტერილურობა;
- სითბური ინაქტივაცია.

უშრატო არეები

შრატის დამატება საკულტივაციო არეში ძველისძველი პრაქტიკაა. თუმცა ბოლო წლებში შემუშავდა სპეციფიკური უშრატო საკულტივაციო არეები. უპრიანია შრატის გამოყენებასთან დაკავშირებული ნაკლოვანი მხარეების და უშრატო გარემოს დადებითი და უარყოფითი მხარეების ცოდნა. საკულტივაციო არეში შრატის დამატების უარყოფით მხარეებს შორის აღსანიშნავია:

ცვლადი შემადგენლობა, რომელიც დამოკიდებულია წყაროზე, პარტიაზე, სეზონზე, შეგროვების მეთოდზე და დამუშავებაზე. შემადგენლობის ასეთი სხვადასხვაობა მნიშვნელოვან ზემოქმედებას ახდენს კულტივირებულ უჯრედებზე.

ხარისხის კონტროლი: შრატის ერთგვაროვნების შენარჩუნებისთვის შრატის გამოყენებამდე ჩასატარებელია ყოველი პარტიის სპეციალური ტესტირება.

ცხრილი12. უჯრედული ხაზები და საკულტივაციო არეები/შრატი

უჯრედები ან უჯრედული ხაზი	საკულტივაციო არე	შრატი
ქათმის ემბრიონის ფიბრობლასტები	EMEM	CS
ჩინური ზაზუნას საკვერცხე (CHO)	EMEM, Ham's F12	CS
HeLa უჯრედები	EMEM	CS
ადამიანის ლეიკემია	RPMI 1640	FB

თაგვის ლეიკემია	ფიშერის არე RPMI 1640	FB, HoS
ნეირონები	DMEM	FB
სარძევე ჯირკვლის ეპითელიუმი	RPMI 1640, DMEM	FB
ჰემატოპოეზური უჯრედები	RPMI 1640, ფიშერის არე	FB
ჩონჩხის კუნთი	DMEM F12	FB, HoS
გლიის უჯრედები	MEM, F12 DMEM	FB
3T3 უჯრედები	MEM, DMEM	CS
(CS – ხბოს შრატი; FB - ხარის ფეტალური შრატი; HoS – ცხენის შრატი)		

უშრატო საკულტივაციო არის შექმნა

უშრატო საკულტივაციო არის შექმნისას სასურველია შრატის სხვადასხვა შემადგენელი კომპონენტის და მათი რაოდენობის აღწერა. უჯრედების კულტივირებისათვის ბუნებრივი შრატის ყველაზე მნიშვნელოვანი კომპონენტების კატეგორიებია:

- ზრდის მარეგულირებელი ფაქტორები (მაგ. PDGF, TGF-β);
- უჯრედული ადჰეზიის ფაქტორები;
- მნიშვნელოვანი ნუტრიენტები (მაგ. ვიტამინები, მეტაბოლიტები, მინერალები, ცხიმოვანი მჟავები);
- ჰორმონები (მაგ. ინსულინი, ჰიდროკორტიზონი)

შრატის ჩანაცვლებისთვის და უშრატო საკულტივაციო არის შესაქმნელად არეს სხვადასხვა კომპონენტები უნდა დაემატოს. ქვემოთ განხილულია უშრატო არეების რამდენიმე მნიშნელოვანი ასპექტი:

უშრატო არის დადებითი და უარყოფითი მხარეები

დადებითი მხარეები

- უშრატო არეში აღმოფხვრილია შრატის გამოყენებასთან დაკავშირებული შეზღუდვები (აღწერილია ზემოთ).
- განსაზღვრული შემადგენლობის არის არჩევა. უშრატო არეების ძირითადი უპირატესობაა უჯრედების ზრდის კონტროლი სურვილისამებრ, კარგად განსაზღვრული არის საშუალებით. ეს შრატის გამოყენების საპირისპიროა, როდესაც ზრდის მიმდინარეობა ხშირად არაკონტროლირებადია.
- დიფერენცირების რეგულირება. ფაქტორის ან ფაქტორთა ერთობლიობის გამოყენებით შესაძლებელია დიფერენცირების წარმართვა სასურველი და სპეციალიზებული ფუნქციის მქონე უჯრედების მისაღებად.

უარყოფითი მხარეები

- **უჯრედების ნელი გამრავლება**. უჯრედების ზრდის ხელშეწყობაში უშრატო არეების უმეტესობა არ არის ისეთი ეფექტიანი, როგორც შრატის შემცველი არეები.
- მრავალი არის საჭიროება. განსხვავებული უჯრედული ხაზებისათვის სხვადასხვა უშრატო არეების შექმნაა საჭირო. ამან შეიძლება მთელი რიგი პრაქტიკული სირთულეები გამოიწვიოს რამდენიმე უჯრედული ხაზის ერთდროულად მოვლისას.
- უშრატო არის გამოყენების კიდევ ერთი შეზღუდვაა ის, რომ ერთ არეს არ შეუძლია ერთი და იგივე უჯრედული ხაზის უჯრედების განვითარების სხვადასხვა ეტაპის უზრუნველყოფა. ამიტომ ზოგიერთ შემთხვევაში უჯრედების ერთი და იგივე ხაზისთვის შეიძლება სხვა არე გახდეს საჭირო.
- რეაქტივების სისუფთავე. აქტიურ შრატს გააჩნია გარკვეული დამცავი დეტოქსიკაციის მექანიზმი, რომელსაც შეუძლია გამწმენდი ზემოქმედება იქონიოს აპარატურასა და რეაქტივებზე. ამიტომ უშრატო პირობებში გამოყენებულ უნდა იქნას სუფთა ხარისხის რეაქტივები და სტერილური აპარატურა.
- ხელმისაწვდომობა და ფასი. საერთოდ, უშრატო არე უფრო ძვირია, ვიდრე შრატის შემცველი არეები. ეს იმის გამო ხდება, რომ ბევრი სუფთა ქიმიკატი, რომელიც უშრატო გარემოს ემატება, თავადაა ძვირი. გარდა ამისა, შეზღუდვებს უშრატო გარემოს ხელმისაწვდომობაც ემატება.

ცხრილი 13. კომერციულად ხელმისაწვდომი უჯრედული ხაზები და უშრატო საკულტივაციო არეები

უჯრედული ხაზი	არე
ქათმის ემბრიონის ფიბრობლასტები	MCDB 202
ჩინური ზაზუნას საკვერცხე (CHO)	MCDB 402
ადამიანის ფილტვის ფიბრობლასტები	MCDB 110
ადამიანის სისხლძარღვების ენდოთელიუმი	MCDB 131
სარძევე ჯირკვლის ეპითელიუმი	MCDB 170
პროსტატის ეპითელიუმი	WAJC 404
ბრონქების ეპითელიუმი	LHC 9
ფიბრობლასტები	MCDB 202
3T3 უჯრედები	MCDB 402

კულტივირებული უჯრედების მახასიათებლები

ქვემოთ მოყვანილია კულტივირებული უჯრედების ზოგიერთი მნიშვნელოვანი განმასხვავებელი თვისება:

1. უჯრედები, რომლებიც ჩვეულებრივ არ იზრდებიან in vivo პირობებში, შეიძლება გაიზარდონ და გამრავლდნენ კულტურაში.
2. უჯრედშორისი ურთიერთქმედება კულტივირებულ უჯრედებში მეტად უმნიშვნელოა.
3. კულტივირებულ უჯრედებს არ გააჩნიათ სამგანზომილებიანი არქიტექტურა, რომელიც in vivo უჯრედებისთვის არის დამახასიათებელი.
4. ჰორმონალური და მკვებავი ზემოქმედება კულტივირებულ უჯრედებზე in vivo უჯრედებთან შედარებით განსხვავებულია.
5. კულტივირებულ უჯრედებს არ შეუძლიათ დიფერენცირებული და სპეციალიზირებული ფუნქციების შესრულება.
6. კულტივირებული უჯრედების არის პირობები ხელს უწყობს არასპეციალიზირებული უჯრედების გამრავლებასა და გავრცელებას.

გარემო ფაქტორების ზემოქმედება კულტივირებულ უჯრედებზე

გარე გარემოს ფაქტორები ძლიერ ზემოქმედებას ახდენენ კულტივირებულ უჯრედებზე. ასეთი ფაქტორების ზემოქმედების ძირითადი გზები ქვემოთაა ჩამოთვლილი:

- სუბსტრატის ან ფაზის ბუნება, რომელშიც იზრდებიან უჯრედები. ერთშრიანი კულტურებისთვის სუბსტრატი მყარია (მაგ. პლასტმასა), ხოლო სუსპენზირებული კულტურებისთვის კი თხევადი;
- კულტურის ნუტრიენტების და ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების განმსაზღვრელი არის შემადგენლობა;
- ჰორმონებისა და ზრდის ფაქტორების დამატება;
- აირთა ფაზის შემადგენლობა;
- კულტურის ინკუბაციის ტემპერატურა.

ქვემოთ მოკლედ განხილულია კულტივირებული უჯრედების ბიოლოგიური და სხვა ასპექტები:

1. უჯრედული ადჰეზია;
2. უჯრედების გამრავლება;
3. უჯრედების დიფერენცირება;
4. კულტივირებული უჯრედების მეტაბოლიზმი;
5. უჯრედული კულტურის ინიცირება;
6. უჯრედული ხაზების ევოლუცია და განვითარება.

უჯრედული ადჰეზია

მყარი ქსოვილებიდან მიღებული უჯრედების უმეტესობა კულტურაში იზრდება როგორც წებოვანი მონოშრე. ქსოვილის აგრეგატებიდან ან სუბკულტურებიდან მიღებული უჯრედები ემაგრებიან სუბსტრატს და შემდეგ გამრავლებას იწყებენ. ადრე, კულტივირების მეთოდების შემუშავების საწყის ეტაპზე სუბსტრატად გამოიყენებოდა სუსტად უარყოფითად დამუხტული მინის ჭურჭელი. ბოლო წლებში სუბსტრატის სახით გამოიყენება პლასტმასა (როგორიცაა პოლისტიროლი) ელექტრული მუხტით დამუშავების შემდეგ.

უჯრედების ადჰეზია ხორციელდება უჯრედშორისი მატრიქსის კომპონენტების უჯრედების ზედაპირული რეცეპტორების საშუალებით. აღმოჩნდა, რომ უჯრედები გამოყოფენ მატრიქსის ცილებს, რომლებიც სუბსტრატზე ვრცელდება. შემდეგ უჯრედები ეკრობა მატრიქსს რეცეპტორების საშუალებით. დაკვირვების შედეგად დადგინდა, რომ მეორადი სუბსტრატები (მინის ან პლასტმასის), რომელზედაც უკვე მოხდა უჯრედების კულტივირება, ადჰეზიისთვის უკეთეს ზედაპირს წარმოადგენენ.

უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები

უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულებს (CAM) მიეკუთვნება სამი ჯგუფის ცილები, რომლებიც მონაწილეობენ უჯრედების ერთმანეთთან ან სუბსტრატთან დაკავშირებაში.

უჯრედშორისი ადჰეზიის ცილოვანი მოლეკულები -

მონაწილეობენ ჰომოლოგიური უჯრედების ერთმანეთთან ადჰეზიაში. არის ორი ტიპის – კალციუმ-დამოკიდებული და კალციუმ-დამოუკიდებელი CAM.

ინტეგრინები - არეგულირებენ უჯრედებისა და სუბსტრატის ურთიერთქმედებას. ინტეგრინებს გააჩნიათ რეცეპტორები ისეთი მატრიქსული ცილების მიმართ, როგორიცაა ფიბრონექტინი და კოლაგენი.

პროტეოგლიკანები - დაბალი აფინურობის ტრანსმემბრანული რეცეპტორებია. პროტეოგლიკანებს შეუძლიათ მატრიქსის კოლაგენთან და ზრდის ფაქტორებთან დაკავშირება. უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები კულტივირებული უჯრედების ციტოჩონჩხს უკავშირდება.

უჯრედული პროლიფერაცია

კულტივირებულ უჯრედებს ჩვეულებრივი უჯრედული ციკლი ახასიათებთ. უჯრედულ ციკლში ოთხ ფაზას არჩევენ.

M ფაზა: ამ ფაზაში (M-მიტოზი) ორი ქრომატიდი, რომლებიც ქრომოსომას შეადგენს, ნაწილდება შვილეულ უჯრედებს შორის.

G1 (gap1) ფაზა: ეს ფაზა ძალიან მგრძნობიარეა სხვადასხვა სახის მაკონტროლებელი მექანიზმებისადმი, რომლებიც საზღვრავს, დაიწყებს თუ არა უჯრედი დნმ-ის სინთეზს, ხელახლა შევა ციკლში თუ დიფერენცირებისკენ აიღებს კურსს.

S ფაზა: ეს ფაზა ხასიათდება დნმ სინთეზით ანუ დნმ-ის რეპლიკაციით.

G2 (gap2) ფაზა: ამ ფაზაში უჯრედი ემზადება მიტოზში შესასვლელად. დნმ-ის მთლიანობა, მისი აღდგენა ან აღდგენის შეუძლებლობის შემთხვევაში აპოპტოზში (უჯრედების პროგრამირებული კვდომა) შესვლა განისაზღვრება ორ საკონტროლო წერტილში, შესაბამისად, დნმ-ის სინთეზის დაწყებისას და G2 ფაზში.

უჯრედული პროლიფერაციის კონტროლი

უჯრედების კულტივირებისას უჯრედის ციკლს, და, მაშასადამე, უჯრედების პროლიფერაციას გარემოს სიგნალები აკონტროლებს. არეში უჯრედების დაბალი სიმჭიდროვე ზრდის გარკვეულ ფაქტორებთან (მაგ. ეპიდერმული ზრდის ფაქტორი, თრომბოციტების ზრდის ფაქტორი) ერთად, უჯრედებს მიტოზურ ციკლში შესვლისაკენ უბიძგებს. მეორე მხრივ, უჯრედების მაღალი სიმჭიდროვე აფერხებს უჯრედების უჯრედულ ციკლში შესვლას, და, ამგვარად, გამრავლებასაც.

გარემოს ფაქტორების ზემოქმედების გარდა, უჯრედულ ციკლს გარკვეული უჯრედშიდა ფაქტორებიც არეგულირებენ. მაგალითად, ციკლინები ხელს უწყობენ პროლიფერაციას, მაშინ როდესაც p35 და Rb გენების პროდუქტები მიტოზს აფერხებენ.

ამრიგად, უჯრედების აქტიურ პროლიფერაციას და ზრდას კულტურის მრავალი ფაქტორი განაპირობებს. უჯრედული პროლიფერაციის აქტივაციის ფაქტორებს შორის გამოირჩევა:

- უჯრედების დაბალი სიმჭიდროვე;
- Ca^{2+} დაბალი კონცენტრაცია;
- ზრდის ფაქტორების არსებობა.

უჯრედული დიფერენცირება

იმისთვის, რომ მოხდეს უჯრედების დიფერენცირება, საჭიროა უჯრედების გამრავლების შეზღუდვა ან სრულად შეწყვეტა. უჯრედების დიფერენცირებას შემდეგი ფაქტორები განაპირობებენ:

- უჯრედების მაღალი სიმჭიდროვე;
- Ca2+ მაღალი კონცენტრაცია;
- დიფერენცირების ინდუქტორების (მაგ. ჰიდროკორტიზონი, ნეირალური ზრდის ფაქტორი) არსებობა.

როგორც ზემოთქმული ცხადყოფს, უჯრედების გამრავლებისა და დიფერენცირებისთვის საჭიროა სხვადასხვა და თითქმის საპირისპირო პირობები. მაშასადამე, უჯრედების დიფერენცირებისთვის აუცილებელია ორი სახის პირობების დაცვა:

1. უჯრედების გამრავლების შეჩერება;
2. უჯრედების დიფერენცირების ოპტიმიზაცია.

დიფერენცირების შენარჩუნება

სივრცითი სტრუქტურების მუდმივობის შემთხვევაში უჯრედები დიდი ხნის განმავლობაში ინარჩუნებენ თავის დამახასიათებელ ფუნქციებს. ამჟამად მკვლევარები ატარებენ ექსპერიმენტებს, რათა შექმნან სამგანზომილებიანი სტრუქტურები ერთშრიანი კულტურების პერფუზიით. უჯრედების შემდგომი in vitro კულტივირება სპეციალურ მატრიქსზე ან მის შიგნით (მაგ. ცელულოზა, კოლაგენის გელი, გლიკოპროტეინული მატრიქსი) აგრეთვე განაპირობებს უჯრედების მიერ სამგანზომილებიანი სტრუქტურის მიღებას.

დედიფერენცირება

დედიფერენცირება ნიშნავს უჯრედების სპეციალიზირებული თვისებების შეუქცევად დაკარგვას მათი in vitro კულტივირებისას. მეორე მხრივ, დეადაპტაცია ნიშნავს უჯრედების სპეციალიზირებული თვისებების ხელახლა აღდგენას შესაბამისი პირობების შექმნის გზით.

In vivo სისტემებში ღეროვანი უჯრედების მცირე ჯგუფი წარმოქმნის წინამორბედ უჯრედებს, რომლებსაც შეუძლიათ დიფერენცირებული უჯრედების პულის შექმნა. In vitro კულტურაში კი წინამორბედი უჯრედები პროლიფერაციას განაგრძობენ. ახლად წარმოქმნილი უჯრედებიდან მხოლოდ ძალიან მცირე ნაწილს შეუძლია დიფერენცირებული უჯრედების წარმოქმნა. ამის საბოლოო შედეგია დიფერენცირების ბლოკირება.

კულტივირებული უჯრედების მეტაბოლიზმი

ძუძუმწოვრის კულტივირებული უჯრედების მეტაბოლიზმში ენერგიის წყაროდ გლუკოზა ან გლუტამინი განმოიყენება. ეს ორი კომპონენტი აგრეთვე მნიშვნელოვან ანაბოლურ პრეკურსორებს წარმოადგენს.

როდესაც გლუკოზა იშლება გლიკოლიზით, ძირითადად ლაქტატი წარმოიქმნება. ეს იმიტომ ხდება, რომ კულტივირების პირობებში ჟანგბადი უჯრედს ჩვეულებრივ შეზღუდული რაოდენობით მიეწოდება, რაც ანაერობულ პირობებს ქმნის. გამოყოფილი ლაქტატი გროვდება არეში. გლიკოლიზისას წარმოქმნილი პირუვატის გარკვეული რაოდენობა კრებსის ციკლში იჟანგება. გლუკოზის მცირე ნაწილი (4-9%) იწყებს პენტოზის ფოსფატის გზას, რათა მიაწოდოს რიბოზის 5-ფოსფატი და NADPH კლებადი ექვივალენტი ბიოსინთეზური პროცესებისათვის (მაგ. ნუკლეოტიდების სინთეზისთვის).

გლუტამინი კულტივირებული უჯრედებისთვის ენერგიის მნიშვნელოვანი წყაროა. ფერმენტ გლუტამინაზას მოქმედებით გლუტამინი განიცდის დეამინიზაციას გლუტამატის და ამონიუმის იონების გამოყოფით. გლუტამატი ტრანსამინაციისას (ან ოქსიდატური

დეამინაციისას) წარმოქმნის α-კეტოგლუტარატს, რომელიც კრებსის ციკლში შედის. პირუვატი უმეტესწილად მონაწილეობს ტრანსამინაციის რეაქციაში ალანინის წარმოქმნით, რომელიც ადვილად გადადის საკულტივაციო არეში. სწრაფად მზარდ კულტივირებულ უჯრედებში ტრანსამინაციის რეაქცია გლუტამინის მეტაბოლიზმის უპირატესი გზაა.

გლუტამინის დეამინაციის შედეგად გამოიყოფა ამონიუმის თავისუფალი იონები, რომელიც ტოქსიკურია კულტივირებული უჯრედებისთვის და ზღუდავს მათ ზრდას. ბოლო წლებში ამონიუმის გამოყოფის შესამცირებლად დიპეპტიდები გლუტამილ-ალანინი ან გლუტამილ-გლიცინი გამოიყენება. გარდა ამისა, ეს დიპეპტიდები არეში უფრო სტაბილურია.

უკვე აღნიშნული α-კეტოგლუტარატი, მიღებული გლუტამინიდან (გლუტამატის გავლით), შედის კრებსის ციკლში და იჟანგება ნახშირორჟანგამდე და წყლამდე. კრებსის ციკლის სათანადოდ ფუნქციონირებისთვის საჭიროა ციკლის შუალედური ეტაპების დაბალანსება. კრებსის ციკლის ორი მეტაბოლიტი, სახელდობრ მალატი და ოქსალოაცეტატი გამოდის ციკლიდან და გარდაიქმნება, შესაბამისად, პირუვატად და ფოსფოენოლ-პირუვატად. ეს ორი უკანასკნელი ნაერთი შეიძლება ხელახლა შევიდეს კრებსის ციკლში აცეტილ-CoA–ს ფორმირებით. ამგვარად, ნარჩუნდება კრებსის ციკლის უწყვეტობა. როგორც გლუკოზის, ასევე გლუტამინის მეტაბოლიზმი კულტივირებულ უჯრედებში ემსახურება ენერგიის ატფ-ის სახით დაგროვებას.

უჯრედული კულტურის ინიცირება

უჯრედების კულტურის ქსოვილისგან ინიცირება შესაძლებელია ფერმენტული ან მექანიკური დამუშავების გზით. პირველადი კულტივირება შერჩევითი პროცესია, რომლის შედეგად მიიღება შედარებით ერთგვაროვანი უჯრედული ხაზი. შერჩევა ხდება უჯრედების უნარით, რომ გადარჩნენ ერთშრიანი კულტურის (სუბსტრატზე მიწებების გზით) ან სუსპენზიის სახით.

კულტივირებულ უჯრედებს შორის ზოგიერთს შეუძლია ზრდა და განვითარება, ზოგი კი საკულტივაციო არეში ვერ გადარჩება. უჯრედები განაგრძობენ ზრდას ერთშრიან კულტურად, სანამ სუბსტრატი არ შეივსება.

ტერმინი „კონფლუენცია“ გამოიყენება მაშინ, როდესაც კულტივირებული უჯრედები ახლო კონტაქტში შედიან ერთმანეთთან და სრულად იკავებენ ზრდისთვის შესაძლებელ არეს. კულტურებში, სადაც უჯრედები მგრძნობიარენი არიან სიმჭიდროვით განპირობებული ზრდის შეზღუდვისადმი, უჯრედები წყვეტენ ზრდას კონფლუენციის მიღწევისთანავე. თუმცა ტრანსფორმირებული უჯრედები არ არიან მგრძნობიარე კონფლუენციისადმი და აგრძელებენ ჭარბ ზრდას.

როდესაც კულტურა კონფლუენტური ხდება, უჯრედები შემდეგ თვისებებს ამჟღავნებენ:

1. მორფოლოგიური მსგავსება პირველწყარო ქსოვილთან (მშობელ ქსოვილთან);
2. უჯრედების სპეციფიური ფუნქციების გამოხატულება, რომლებიც მშობლიური უჯრედების ფუნქციებთან ახლოსაა.

უჯრედული ხაზების ევოლუცია და განვითარება

პირველადი კულტურა იზრდება მას შემდეგ, რაც პირველ სუბკულტურას უჯრედული ხაზი დაერქმევა. მოცემული უჯრედული ხაზი შეიძლება გამრავლდეს შემდგომი სუბკულტივირებით. სუბკულტივირების გამეორებისას დომინირებენ ის უჯრედები, რომლებიც ყველაზე სწრაფად მრავლდებიან, ხოლო ის უჯრედები, რომლებიც არ მრავლდებიან ან ნელა მრავლდებიან, ზავდებიან და შემდეგ ქრებიან.

დაბერება

გარკვეული რიცხვით უჯრედების გამრავლების (პოპულაციის გაორმაგების) შემდეგ აღმოცენებულ გენეტიკურად განსაზღვრულ მოვლენას, რომელსაც ქსოვილში ჩვეულებრივ უჯრედული კვდომა მოჰყვება, დაბერება ეწოდება. თუმცა, გერმინატულ და ტრანსფორმირებულ უჯრედებს უწყვეტი გამრავლება შეუძლიათ. In vitro კულტივირებისას ტრანსფორმირებულ უჯრედებს შეუძლიათ დასაბამი მისცენ უჯრედების უწყვეტ ხაზებს.

მუდმივი უჯრედული ხაზების მიღება

კულტურაში გარკვეული ცვლილებების გამოწვევით, რომლებსაც ერთობლივად ტრანსფორმაცია ეწოდება, შესაძლოა დასაბამი ჩაეყაროს უჯრედების მუდმივ ხაზებს. ტრანსფორმაცია შეიძლება მოხდეს სპონტანურად, ქიმიურად, ან ინდუცირებულ იქნას ვირუსის მიერ. ტრანსფორმაცია ძირითადად მოიცავს ზრდის მახასიათებლების ცვლილებას, როგორიცაა კონტაქტური ინჰიბირების უნარის დაკარგვა, ზრდის სიმჭიდროვესთან დაკავშირებული შეზღუდვის და დამაგრებისადმი მგრძნობელობის მოხსნა. კულტივირებული უჯრედების შეუზღუდავ სიცოცხლისუნარიანობას ხშირად უკვდავობას უწოდებენ.

გენეტიკური ცვლილება

უჯრედების უნარი, რომ უწყვეტად გაიზარდონ უჯრედულ ხაზებში, უჯრედების გენეტიკური ცვლილების საფუძველს წარმოადგენს. ყველაზე ხშირად უჯრედების უწყვეტ გამრავლებაზე პასუხისმგებელია p53 გენის დელეცია ან მუტაცია. ნორმალურ უჯრედებში p53 გენი უჯრედების ციკლის შეკავებაზეა პასუხისმგებელი.

უჯრედების უწყვეტი ხაზების უმეტესობა ანეუპლოიდურია, მათ გააჩნიათ ქრომოსომთა ნაკრები დიპლოიდურსა და ტეტრაპლოიდურს შორის.

ნორმალური უჯრედები და მუდმივი უჯრედული ხაზები

ნორმალური უჯრედების უმეტესობას არ შესწევს უნარი დასაბამი მისცეს მუდმივ უჯრედულ ხაზებს. მაგალითად, ადამიანის ნორმალური ფიბრობლასტები მრავლდებიან დაახლოებით ორმოცდაათი თაობის მანძილზე და შემდეგ წყვეტენ გამრავლებას, თუმცა სიცოცხლისუნარიანობას ინარჩუნებენ დაახლოებით 18 თვის მანძილზე. სიცოცხლის მთელი პერიოდის განმავლობაში ფიბრობლასტები ეუპლოიდურები რჩებიან. ასევე იქცევიან ქათმის ემბრიონის ფიბრობლასტებიც. უჯრედების უსასრულო ხაზების ფორმირება შეუძლიათ ეპიდერმულ უჯრედებს და ლიმფობლასტებს.

კულტურის უჯრედების დახასიათება

კულტურის უჯრედების ან უჯრედული ხაზების დახასიათება მეტად მნიშვნელოვანია უჯრედული ხაზების უჯრედების ბანკების საშუალებით გასავრცელებლად და კვლევით ლაბორატორიებსა და კომერციულ კომპანიებს შორის კონტაქტების დასამყარებლად. უჯრედული ხაზების დახასიათება ხდება ძირითადად შემდეგი პარამეტრების გათვალისწინებით:

1. უჯრედების მორფოლოგია;
2. სახეობა, რომლიდანაც აღებულია უჯრედები;
3. წარმოშობის ქსოვილი;
4. ცილოვანი ფილამენტები როგორც ქსოვილური მარკერები;
5. უჯრედის ზედაპირული ანტიგენები როგორც ქსოვილური მარკერები.

უჯრედების მორფოლოგია

კულტურის უჯრედების მარტივი და პირდაპირი იდენტიფიცირება შესაძლებელია მათ მორფოლოგიურ მახასიათებლებზე დაკვირვებით. ამავე დროს უჯრედების მორფოლოგიის დათვალიერებისას გასათვალისწინებელია, რომ იგი დიდადაა დამოკიდებული საკულტივაციო პირობებზე. მაგალითად, ეპითელური უჯრედები, რომლებიც კულტურის ცენტრში იზრდებიან, პოლიგონალური ფორმისაა მკაფიოდ გამოხატული კიდეებით, მაშინ როდესაც პერიფერიაზე გაზრდილი უჯრედები უსწორმასწორო და გაბერილია. უჯრედების მორფოლოგიაზე ასევე საკულტივაციო არის შემადგენლობა და სუბსტრატის შეცვლა მოქმედებს. ქსოვილური კულტურების ლაბორატორიაში ტერმინები „ფიბრობლასტური“ და „ეპითელური“ ჩვეულებრივ უჯრედების სტრუქტურის და არა წარმოშობის აღსაწერად გამოიყენება.

ფიბრობლასტური უჯრედები: ამ უჯრედების სიგრძე, ჩვეულებრივ, სულ მცირე ორჯერ აღემატება სიგანეს. ფიბრობლასტური უჯრედები შეიძლება ბიპოლარული ან მულტიპოლარული უყოს.

ეპითელური უჯრედები: ეს უჯრედები პოლიგონალური ფორმის და ერთნაირი ზომისაა; ისინი ჩვეულებრივ ერთ შრედ ლაგდებიან.

სახეობა, რომლიდანაც აღებულია უჯრედები

სახეობების დადგენა, საიდანაც წარმოშობილია უჯრედული ხაზი, შეიძლება:

- ქრომოსომული ანალიზით;
- იზოფერმენტების ელექტროფორეზით;
- ორივე მეთოდის კომბინაციით.

ბოლო წლებში ქრომოსომული იდენტიფიკაცია ხორციელდება მოლეკულური სინჯების გამოყენებით.

წარმოშობის ქსოვილი

უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირება ორ მახასიათებელს ითვალისწინებს:

1. ხაზი, რომელსაც მიეკუთვნება უჯრედი;
2. უჯრედების სტატუსი (მაგალითად, ღეროვანი უჯრედები ან წინამორბედი უჯრედები).

უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირების ქსოვილური მარკერები

ქვემოთ მოკლედაა აღწერილი უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირების ქსოვილური მარკერები.

დიფერენცირების პროდუქტები როგორც უჯრედული მარკერები
ზრდადასრულებულ კულტივირებულ უჯრედებს შეუძლიათ დიფერენცირების პროდუქტების წარმოქმნა, რომლებიც უჯრედული ხაზების საიდენტიფიკაციო მარკერებად გამოიყენება. ზოგიერთი მათგანია:

- ალბუმინი ჰეპატოციტებისთვის;
- მელანინი მელანოციტებისთვის;
- ჰემოგლობინი ერითროიდული რიგის უჯრედებისთვის;
- მიოზინი (ან ტროპომიოზინი) კუნთოვანი უჯრედებისთვის.

ფერმენტები როგორც ქსოვილის მარკერები

კულტურის უჯრედებში შემდეგი ფერმენტების იდენტიფიკაცია ხდება:

- კონსტიტუციური ფერმენტები;
- ინდუცირებადი ფერმენტები;
- იზოფერმენტები.

უჯრედული ხაზების საიდენტიფიკაციო ფერმენტული მარკერები მოყვანილია ცხრილში 14.

თიროზინ-ამინოტრანსფერაზა სპეციფიკურია ჰეპატოციტებისთვის, მაშინ როდესაც თიროზინაზა – მელანოციტებისთვის. კრეატინკინაზა (MM) შრატში ასრულებს კუნთოვანი უჯრედების მარკერის როლს, ხოლო კრეატინკინაზა (BB) ნეირონებისა და ნეიროენდოკრინული უჯრედების დეტექციისთვის გამოიყენება.

ცხრილი 14. უჯრედული ხაზების საიდენტიფიკაციო ფერმენტული მარკერები

ფერმენტი	*უჯრედის ტიპი*
თიროზინ-ამინოტრასფერაზა	ჰეპატოციტები
თიროზინაზა	მელანოციტები
გლუტამილსინთაზა	თავის ტვინი (ასტროგლია)
კრეატინკინაზა (იზოფერმენტი MM)	კუნთოვანი უჯრედები
კრეატინკინაზა (იზოფერმენტი BB)	ნეირონები
არასპეციფიკური ესთერაზა	მაკროფაგები
DOPA-დეკაბროქსილაზა	ნეირონები
ტუტე ფოსფატაზა	ენტეროციტები, I ტიპის პნევმოციტები
ანგიოტენზიური ფაქტორი	ენდოთელიუმი
საქაროზა	ენტეროციტები
ნეირონ-სპეციფიკური ესთერაზა	ნეირონები

DOPA – დიჰიდროქსიფენილალანინი, MM – კუნთის ორსუბერთეულიანი პოლიპეპტიდი; BB – თავის ტვინის პოლიპეპტიდი.

ცხრილი 15. უჯრედების ტიპების დადგენისათვის გამოსაყენებელი ზოგიერთი ანტისხეულის ჩამონათვალი

ანტისხეული	*უჯრედის ტიპი*
ციტოკერატინი	ეპითელიუმი
ეპითელური მემბრანული ანტიგენი	ეპითელიუმი
ალბუმინი	ჰეპატოციტები
α-ლაქტალბუმინი	სარძევე ჯირკვლის ეპითელიუმი
კარცინოემბრიონული ანტიგენი (CEA)	კოლორექტალური და ფილტვის ადენოკაცინომა
პროსტატას სპეციფიური ანტიგენი (PSA)	პროსტატას ეპითელიუმი
უჯრედშიდა ადჰეზიის მოლეკულები (I-CAM)	T-უჯრედები და ენდოთელიუმი
α-ფეტოპროტეინი	ჩანასახის ჰეპატოციტები
ადამიანის ქორიონული	
გონადოტროპინი (hCG)	პლაცენტას ეპითელიუმი
ადამიანის ზრდის ჰორმონი (HGH)	ადენოჰიპოფიზი
ვიმენტინი	მეზოდერმული უჯრედები
ინტეგრინები	ყველა უჯრედი
აქტინი	ყველა უჯრედი

ცილოვანი ფილამენტები როგორც ქსოვილის მარკერები

ქსოვილურ ან ხაზის მარკერებად ფართოდ გამოიყენება შუალედური ფილამენტების ცილები. მაგალითად:

- ასტროციტების იდენტიფიცირება შესაძლებელია გლიის ფიბრილარული მჟავური ცილის (FGAP) მიხედვით;
- კუნთოვანი უჯრედების იდენტიფიცირება დესმინით შეიძლება;
- ეპითელური და მეზოთელური უჯრედების კი–ციტოკერატინით.

უჯრედის ზედაპირული ანტიგენები როგორც ქსოვილის მარკერები

კულტივირებული უჯრედების ანტიგენები გამოსადეგია ქსოვილის ან უჯრედის წარმოშობის მისაკვლევად. უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირებისათვის შემუშავებულია მრავალი ანტისხეული (არსებობს კომერციული კომპლექტები-კიტები) (ცხრილი 15). ეს ანტისხეულები უჯრედის ზედაპირული ანტიგენების ან სხვა ცილების მიმართაა მიღებული.

სეკრეტირებული ანტიგენი - α-ფეტოპროტეინის მიმართ გამომუშავებული ანტისხეულები ჩანასახოვანი ჰეპატოციტების მარკერია. უჯრედის ზედაპირული ანტიგენების, კერძოდ კი ინტეგრინების მიმართ გამომუშავებული ანტისხეულები უჯრედული ხაზების ზოგადი დეტექციისთვის გამოიყენება.

7.5. ტრანსფორმირებული უჯრედები

ტრანსფორმაცია არის ახალი გენეტიკური მასალის შეძენის შედეგად ფენოტიპის ცვლილების ფენომენი. ტრანსფორმაცია გენეტიკურ არასტაბილურობასთან არის დაკავშირებული. ტრანსფორმირებული და კულტივირებული უჯრედები მთელი რიგი პარამეტრების ცვლილებით ხასიათდებიან, ესენია:

- ზრდის სიჩქარე;
- ზრდის ტიპი;
- სიცოცხლის ხანგრძლივობა;
- სიმსივნის წარმოქმნის უნარი;
- სპეციალიზირებული პროდუქტების წარმოქმნა.

უჯრედული ხაზების დახასიათებისას აუცილებელია ზემოთ ჩამოთვლილი მახასიათებლების გათვალისწინება ტრანსფორმირებული უჯრედის წყაროს დასადგენად - უჯრედული ხაზი სიმსივნური უჯრედებიდან წარმოიშვა, თუ კულტურაში განიცადა ტრანსფორმაცია.

სპეციფიკური უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირება

კულტივირების ლაბორატორიებში სპეციფიკური უჯრედული ხაზების იდენტიფიცირების მრავალი მეთოდი არსებობს, მაგალითად:

- ქრომოსომული ანალიზი;
- დნმ დეტექცია;
- რნმ და ცილების ანალიზი;
- ანტიგენური მარკერების გამოყენება.

ქრომოსომული ანალიზი

ქრომოსომული ანალიზით შესაძლებელია იმ ცხოველის სახეობის და სქესის დადგენა, რომლიდანაც წარმოიშვა უჯრედული ხაზი. გარდა ამისა, ქრომოსომული ანალიზით ასევე შესაძლებელია ნორმალური და

ავთვისებიანი უჯრედების გარჩევა. აღსანიშნავია, რომ ნორმალური უჯრედები უფრო სტაბილურ ქრომოსომებს შეიცავენ. ქვემოთ მოკლედაა აღწერილი ის მნიშვნელოვანი მეთოდები, რომლებიც ქრომოსომულ ანალიზთან მიმართებაში გამოიყენება.

ქრომოსომების ბენდინგი: ამ მეთოდის საშუალებით შესაძლებელია ქრომოსომების ინდივიდუალური წყვილების იდენტიფიცირება მაშინაც კი, როდესაც მათ შორის მცირე მორფოლოგიური სხვაობაა. ქრომოსომული ბენდინგი გიმზას მიხედვით შეღებვითაა შესაძლებელი.

ქრომოსომების დათვლა: ქრომოსომების პირდაპირი დათვლა შეიძლება განხორციელდეს 50-100 სინჯის დიაპაზონში. ამ დროს შესაძლებელია camera lucida-ს ან დახურულწრედიანი კამერის გამოყენება.

ქრომოსომების კარიოტიპირება: ამ მეთოდის გამოყენების დროს ქრომოსომები იჭრება, ხარისხდება და შემდეგ დაიტანება ფურცელზე. შეიძლება გამოსახულების ჩაწერა ან პრეპარატიდან სკანირება. ქრომოსომის კარიოტიპირება ქრომოსომების დათვლასთან შედარებით უფრო დიდ დროს მოითხოვს.

დნმ დეტექცია

ნორმალურ უჯრედში დნმ-ის რაოდენობა კონსტანტური რიცხვია, რომელიც სახეობასპეციფიკურია. ის მუდმივია, მაგალითად ადამიანის, ქათმის ჩანასახის ან ზაზუნის ფიბრობლასტებისგან მიღებული უჯრედული ხაზებისათვის. თუმცა დნმ-ის შემადგენლობა იცვლება თაგვის ნორმალური უჯრედების ხაზებში, აგრეთვე სიმსივნური ქსოვილებიდან მიღებულ უჯრედულ ხაზებში. როგორც უკვე აღინიშნა, ტრანსფორმირებული უჯრედების უმეტესობა ანეუპლოიდურია. დნმ-ის ანალიზი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ასეთი უჯრედების დახასიათებისთვის. დნმ-ის ანალიზის ჩატარება შეიძლება დნმ ჰიბრიდიზაციის და დნმ-ის ანაბეჭდების მიღების მეთოდებით.

დნმ ჰიბრიდიზაცია: დნმ-ის სპეციფიკური თანმიმდევრობის მისაკვლევად ხშირად ე.წ. Southern blotting მეთოდი გამოიყენება. ამ მიზნით შეიძლება სპეციალური მოლეკულური რადიოიზოპოტური, ფლუორესენტული ან ლუმინესცენტური სინჯების გამოყენება.

საკვლევი უჯრედებიდან ხდება დნმ-ის გამოყოფა, მისი დაჭრა ენდონუკლეაზების საშუალებით, შემდეგ ტარდება დნმ ელექტროფორეზი, ბლოტინგი ნიტროცელულოზაზე და მოლეკულურ სინჯთან ან სინჯებთან ჰიბრიდიზაცია. ამ მიდგომით შეიძლება უჯრედულ ხაზებში დნმ-ის სპეციფიური თანმიმდევრობების დადგენა.

დნმ-ის ანაბეჭდების აღება (ფინგერპრინტინგი): უჯრედის დნმ-ში არატრანსკრიბირებადი უბნები არსებობს. ამ უბნებს, რომლებსაც სატელიტური დნმ ეწოდება, ფუნქციები არ გააჩნიათ. ვარაუდობენ, რომ ისინი წარმოადგენდნენ რეზერვს გენეტიკური ევოლუციისათვის. სატელიტური დნმ-ის უბნები ჰიპერვარიაბელურია. შესაძლებელია ამ უბნების სპეციფიკური ენდონუკლეაზით დაჭრა და დნმ სინჯების გამოყენებით დეტექცია.

ელექტროფორეზისა და ავტორადიოგრაფიის გამოყენებით შეიძლება სატელიტური დნმ-ის ვარიაციების მიკვლევა. ასეთ ვარიაციებს დნმ-ის ანაბეჭდებს უწოდებენ, ისინი ყველა უჯრედული ხაზისთვის სპეციფიკურია. ბოლო წლებში დნმ-ის ანაბეჭდების მიღების მეთოდი მეტად პოპულარული და მძლავრი ინსტრუმენტი გახდა უჯრედული ხაზების წარმოშობის დასადგენად.

რნმ და ცილების ანალიზი

უჯრედული ხაზის ფენოტიპური მახასიათებლების დადგენა გენების ექსპრესიის ანუ რნმ-ის და/ან ცილების მიხედვითაა შესაძლებელი. მრნმ-ის იდენტიფიცირება Northern blot მეთოდით, ხოლო ცილების – Western blot მეთოდით არის შესაძლებელი.

ფერმენტული აქტივობა

ფერმენტების in vivo აქტივობის ნაწილი უჯრედების in vitro კულტივირებისას იკარგება. მაგალითად, ღვიძლის უჯრედების ანგინაზასაქტივობარამდენიმედღისკულტივირებისშემდეგითრგუნება. თუმცა გარკვეული უჯრედული ხაზები გამოყოფენ სპეფიციკურ ფერმენტებს, რომელთა გამოყენებაც ამ ხაზების საიდენტიფიკაციოდაა შესაძლებელი. ამის მაგალითს წარმოადგენს ჰეპატოციტების თიროზინ-ამინოტრანსფერაზა და თავის ტვინის ასტროგლიის გლუტამილ-სინთაზა. უჯრედული ხაზების სხვა საიდენტიფიკაციო ფერმენტები იხილეთ ცხრილში 14.

იზოფერმენეტები

ფერმენტის მრავლობით ფორმებს, რომლებიც ერთი და იგივე რეაქციის კატალიზატორებს წარმოადგენენ, იზოფერმენტებს ანუ იზოზიმებს უწოდებენ. იზოფერმენტები განსხვავდება მრავალი ფიზიკური და ქიმიური თვისებებით, როგორიცაა სტრუქტურა, ელექტროფორეზული და იმუნოლოგიური თვისებები, K_m და V_{max} სიდიდეები.

იზოფერმენტების განცალკევება შეიძლება ისეთი ანალიტიკური მეთოდებით, როგორიცაა ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფია. ყველაზე ხშირად გამოიყენება ელექტროფორეზი აგაროზაში, ცელულოზის აცეტატში, სახამებლისა ან პოლიაკრილამიდის

გელში. ნატიური „უხეში“ ფერმენტი ელექტროფორეზული გარემოს ერთ წერტილში დაიტანება. იზოფერმენტების მიგრაციისას ისინი სხვადასხვა ზოლებში ნაწილდება, რომელთა გამოვლინება შესაბამისი ქრომოგენული საღებავების საშუალებით ხორციელდება.

იზოფერმენტები სახეობათსპეციფიკური ან ქსოვილსპეციფიკურია. უჯრედული ხაზების საიდენტიფიკაციოდ ჩვეულებრივ შემდეგი ფერმენტების იზოფორმები გამოიყენება:

- ლაქტატ-დეჰიდროგენაზა;
- მალატ-დეჰიდროგენაზა;
- გლუკოზა-6- ფოსფატ-დეჰიდროგენაზა;
- ასპარტატ-ამინოტრანსფერაზა;
- პეპტიდაზა B

იზოფერმენტული ანალიზი ასევე მნიშვნელოვანია უჯრედული ხაზების სახეობათშორისი ჯვარედინი დაბინძურების გამოსავლენად. მაგალითად, პეპტიდაზა B იზოფერმენტების გამოყენებით შესაძლებელია თაგვის უჯრედული ხაზების ზაზუნის უჯრედების ხაზებით დაბინძურების დადგენა.

ანტიგენური მარკერები

უჯრედული ხაზების დახასიათება შეიძლება ანტისხეულების საშუალებით გამოვლენილი ანტიგენური მარკერების მერშვეობით. ანტიგენური მარკერები უჯრედის ზედაპირზეა ლოკალიზებული, ან გამოიყოფა საკულტივაციო არეში.

უჯრედების სხვადასხვა ტიპების საიდენტიფიკაციო ანტისხეულები მოყვანილია ცხრილში 15.

კულტივირებული უჯრედების ზრდის პარამეტრების გაზომვა

ინფორმაცია მოცემული კულტურის ზრდის მდგომარეობის შესახებ საჭიროა:

- კულტურების გამოყენებით ექსპერიმენტების დიზაინის განსაზღვრისთვის;
- კულტურის რუტინული მოვლისთვის;
- უჯრედების პროლიფერაციის შეფასებისთვის;
- სუბკულტივირების საჭირო დროის გამოთვლისთვის;
- კონკრეტულ სტიმულზე ან ტოქსინზე კულტურის რეაქციის დადგენისათვის.

ქვემოთ ახსნილია კულტივირებული უჯრედების ზრდის გაზომვასთან დაკავშირებული ფართოდ გამოყენებული ტერმინები.

პოპულაციის გაორმაგების დრო (*population doubling time, PDT*)

დროის ინტერვალი, რომელიც საჭიროა უჯრედების პოპულაციის გაორმაგებისთვის ლოგარითმული (ლოგ) ფაზის შუაში.

უჯრედების ციკლის ანუ გენერაციის დრო

დროის ინტერვალი უჯრედული ციკლის ერთი წერტილიდან შემდგომი ციკლის იგივე წერტილამდე. ამგვარად უჯრედის ციკლის დრო იზომება უჯრედის ციკლის ერთი და იგივე წერტილის ხელახლა მიღწევამდე.

კონფლუენცია

აღნიშნავს კულტივირების საფეხურს, როდესაც მთელი ხელმისაწვდომი სუბსტრატი - ზრდის ტერიტორია გამოიყენებულია და უჯრედები მჭიდრო კონტაქტში არიან ერთმანეთთან.

კონტაქტური ინჰიბირება

უჯრედის მოძრაობის ინჰიბირება და პლაზმური მემბრანის დანაოჭება მეზობელ უჯრედებს შორის მჭიდრო კონტაქტების დამყარების დროს. ეს უმეტესწილად კონფლუენციის ეტაპზე ხდება, რასაც უჯრედების პროლიფერაციის შეწყვეტა მოჰყვება.

უჯრედების სიმჭიდროვე

უჯრედების რაოდენობა არის ერთ მილიმეტრზე.

გაჯერების ხარისხი

უჯრედების სიმჭიდროვე (უჯრედები/მლ2 ზედაპირზე) პლატოს ფაზაში.

კულტურის უჯრედების ზრდის ციკლი

ჩვეულებრივ, კულტურის უჯრედების ზრდის პროცესში სამ თანმიმდევრულ ფაზას არჩევენ, ესენია ლაგ-ფაზა, ლოგ (ექსპონენციური ზრდის) ფაზა და პლატოს ფაზა. კულტივირებული უჯრედების თვისებები ფაზების მიხედვით იცვლება.

ლაგ-ფაზა

ლაგ-ფაზა წარმოადგენს ადაპტაციის პერიოდს, როდესაც უჯრედი აყალიბებს უჯრედის ზედაპირს და დამატებით უჯრედშორის მატრიქსს (რომელიც იკარგება ტრიპსინიზაციის დროს), მაგრდება და ვრცელდება სუბსტრატზე. ამ დროს მიმდინარეობს სპეციფიკური ფერმენტების (მაგ. დნმ პოლიმერაზას) და სტრუქტურული ცილების ინტენსიური სინთეზი,

რაც უჯრედებს გამრავლებისთვის ამზადებს. სპეციფიკური პროდუქტების გამოყოფა ქრება და შეიძლება არც აღდგეს, სანამ უჯრედების გაყოფა მიმდინარეობს. ლაგ-ფაზა წარმოადგენს უჯრედების გამრავლებისთვის მოსამზადებელ პერიოდს სუბკულტივირებისა და ხელახალი დათესვის შემდეგ.

ლოგ-ფაზა

ლოგ-ფაზა ლაგ-ფაზას მოსდევს და უჯრედების ექსპონენციური ზრდით ხასიათდება. ლოგ-ფაზის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია უჯრედების შემდეგ პარამეტრებზე:

- დათესვის სიმჭიდროვე;
- ზრდის სიჩქარე;
- სიმჭიდროვე გამრავლების შემდეგ.

ლოგ-ფაზაში კულტივირებული უჯრედები ყველაზე ერთგვაროვან და აღწარმოებად მდგომარეობაში იმყოფებიან; მათ მაღალი სიცოცხლისუნარიანობა ახასიათებთ. ეს იდეალური დროა სინჯების ასაღებად. ლოგ-ფაზა წყდება კონფლუენციის მიღწევისას პოპულაციის ერთი ან ორი გაორმაგების შედეგად.

პლატოს ფაზა

როგორც კი უჯრედები კონფლუენციას აღწევენ, ზრდის ტემპი ბევრად კლებულობს და კულტივირებული უჯრედების გამრავლება თითქმის წყდება. ეს ფაზა წარმოადგენს პლატოს ან სტაციონარულ ფაზას და ხასიათდება უჯრედების დაბალი მოძრაობით, პლაზმური მემბრანის შემცირებული დანაოჭებით, უჯრედების მიერ ზედაპირის მინიმალური ფართობის დაკავებით, კონტაქტური ინჰიბირებით, გაჯერების მაღალი ხარისხით, საკვები ნივთიერებების და ზრდის ფაქტორების შემცირებით, სტრუქტურული ცილების სინთეზის დათრგუნვით და სპეციალიზირებული პროდუქტების წარმოქმნის აქტივაციით.

მონოშრის წარმომქმნელი ნორმალური კულტივირებული უჯრედების უმეტესობა წყვეტს ზრდას კონფლუენციის მიღწევისას. თუმცა, ზოგი უჯრედი კონფლუენციის მიღწევის შემდეგადაც გარემოს შევსებისას აგრძელებს ზრდას (შემცირებული ტემპით), აყალიბებს რა უჯრედების მრავალ შრეს. ტრანსფორმირებული კულტივირებული უჯრედები პლატოს ფაზაში ჩვეულებრივ, უჯრედების უფრო მაღალ სიმჭიდროვეს აღწევენ, ვიდრე ნორმალური უჯრედები.

კულტივირებული უჯრედების პლეიტინგის მეთოდის ეფექტურობა

პლეიტინგი წარმოადგენს კოლონიის ფორმირებას უჯრედების დაბალი სიმჭიდროვისას. ის გამოიყენება უჯრედების გამრავლებისა და გადარჩენის ხარისხის გასაზომად.

კლონირების ეფექტურობა

როდესაც დაბალი სიმჭიდროვის პირობებში ხდება უჯრედების კულტივირება სუსპენზიის სახით, ისინი ცალკეულ კოლონიებს წარმოქმნიან. პლეიტინგის ეფექტურობა შემდეგი ფორმულით გამოითვლება:

$$\text{პლეიტინგის ეფექტურობა} = \frac{\text{წარმოქმნილი კოლონიების რაოდენობა}}{\text{დათესილი უჯრედების რაოდენობა}} \times 100$$

ტერმინი „**კლონირების ეფექტურობა**“ (ნაცვლად პლეიტინგის ეფექრურობისა) გამოიყენება მაშინ, როდესაც კოლონია ცაკლე უჯრედიდან იზრდება.

დათესვის ეფექტურობა

დათესვის ეფექტურობა წარმოადგენს უჯრედების მიერ სიცოცხლის შენარჩუნებას მაღალი სიმჭიდროვის პირობებში. მისი გაანგარიშება შემდეგნაირად ხდება:

$$\text{დათესვის ეფექტურობა} = \frac{\text{გადარჩენილი უჯრედების რაოდენობა}}{\text{დათესილი უჯრედების რაოდენობა}} \times 100$$

7.6. უჯრედების სინქრონიზაცია

სინქრონიზაცია სიტყვა-სიტყვით ნიშნავს ორი ან მეტი მოვლენის ერთდროულად მოხდენას. მაგალითად, შესაძლებელია ორი არ მეტი საათის სინქრონიზაცია, რათა მათ ზუსტად ერთი და იგივე დრო აჩვენონ.

შესაძლებელია კულტურაში უჯრედის ციკლის სხვადასხვა ფაზაში მყოფი უჯრედების სინქრონიზაცია, რათა ყველა უჯრედი ერთ ფაზაში იყოს.უჯრედებისსინქრონიზაციასაჭიროაუჯრედულიციკლისგავლისას უჯრედების პროგრესის შესასწავლად. უჯრედების სინქრონიზაციის მისაღწევად შემუშავებულია რამდენიმე ლაბორატორიული მეთოდი. ისინი ორ ძირითად ჯგუფად იყოფა, სახელდობრ:

- უჯრედების განცალკევება ფიზიკური ფრაქციონირებით;
- უჯრედების განცალკევება ქიმიური ბლოკირებით.

უჯრედების განცალკევება ფიზიკური მეთოდებით

ფიზიკური ფრაქციონირება ანუ უჯრედების განცალკევების ფიზიკური მეთოდები შემდეგ მახასიათებლებს ეფუძნება:

- უჯრედების სიმჭიდროვე;
- უჯრედების ზომა;
- ანტისხეულების აფინურობა უჯრედის ზედაპირული ანტიგენური დეტერმინანტების მიმართ;
- მონიშნული უჯრედების მიერ სინათლის გაფანტვა ან ფლუორესცენტული ემისია.

ქვემოთ მოკლედაა აღწერილი ორი ფართოდ გავრცელებული მეთოდი - ცენტრიფუგული ელუტრიაცია და ფლუორესენცია-დამოკიდებული უჯრედების განცალკევება.

ცენტრიფუგული ელუტრიაცია

ცენტრიფუგული ელუტრიაციის მეთოდი ეფუძნება უჯრედების ისეთ ფიზიკურ მახასიათებლებს, როგორიცაა უჯრედების ზომა და სედიმენტაციის სიჩქარე. ბეკმანის ცენტრიფუგული ელუტრიატორი თანამედროვე დანადგარია, რომლის საშუალებით ხდება სედიმენტაციის სიჩქარის გაზრდა, რაც ხელს უწყობს გამოსავლიანობის გაზრდას. უჯრედების განცალკევება ხდება სპეციალურად შექმნილ როტორულ ცენტრიფუგაში. არეში არსებული უჯრედები გადაიტუმბება სპეციალურ იზოლირებულ კამერაში როტორის ბრუნვის დროს. ცენტრიფუგული ძალის ზემოქმედებით უჯრედები კედლებისკენ გამოიდევნება.

ამის შემდეგ საკულტივაციო არე გადმოიტუმბება კამერის გავლით ისე, რომ ცენტრისკენული ძალები უჯრედების სედიმენტაციის სიჩქარეს გაუტოლდება. უჯრედების (ზომის, სიმჭიდროვის, უჯრედის ზედაპირის კონფიგურაციის) სხვადასხვაობის გამო უჯრედები სხვადასხვა სიჩქარით დაილექებიან და წონასწორობას კამერის სხვადასხვა დონეზე მიაღწევენ. ელუტრატორში მიმდინარე პროცესებზე დაკვირვება შესაძლებელია სპეციალური პორტიდან, რამდენადაც კამერა სტრობოსკოპული შუქითაა განათებული. წონასწორობაში ნაკადის სიჩქარე შეიძლება გაიზარდოს, უჯრედები გამოიტუმბება და მათი სხვადასხვა ფრაქციები განსხვავებულ სინჯარებში დაგროვდება. შესაძლებელია უჯრედების განცალკევება სრულ საკულტივაციო არეში, რათა განცალკევების შემდეგ მოხდეს უჯრედების პირდაპირი კულტივირება.

ფლუორესცენცია-დამოკიდებული უჯრედების დახარისხება

ფლუორესცენტულად აქტიური უჯრედების დახარისხება არის მეთოდი, რომლის მეშვეობით უჯრედები ხარისხდება იმ სხვაობების საფუძველზე, რომელთა დეტექცია ან შუქის გაფანტვით (მაგ. უჯრედების ზომა), ან ფლუორესცენტული ემისიითაა (წინასწარ დამუშავებული დნმ, რნმ, ცილები) შესაძლებელი.

პროცედურა გულისხმობს უჯრედების ცალკეული ნაკადის გატარებას ლაზერის სხივში, რათა აღმოჩენილ და რეგისტრირებულ იქნას უჯრედების მიერ გაფანტული სინათლე. უჯრედების ფლუორესცენტული საღებავით (მაგ. ქრომომიცინი A დნმ-ისთვის) წინასწარ დამუშავებას, შესაძლებელია ლაზერით აგზნებული ფლუორესცენტული ემისიის დეტექცია.

ფლუორესცენცია-დამოკიდებული უჯრედების დახარისხების პრინციპზე ორი ძირითადი ხელსაწყო მუშაობს:

1. გამდინარე ციტომეტრი: ამ ხელსაწყოს შეუძლია ციკლის სხვადასხვა ფაზაში მყოფი უჯრედების დახარისხება (პოპულაციიდან გამოყოფა) უჯრედების ზომისა და დნმ-ის ფლუორესცენციის კომბინირებული გაზომვების საფუძველზე.
2. ფლუორესცენტულად აქტივირებული უჯრედების სორტერი (**FACS**): ამ ხელსაწყოს მეშვეობით იზომება უჯრედების ემისია, და უჯრედები შემგროვებელ მილებში ხარისხდება.

ფიზიკური მეთოდების შედარება

დიდი რაოდენობის უჯრედების გამოცალკევების მიზნით უმჯობესია ცენტრიფუგული ელუტრიატორის გამოყენება. მეორე მხრივ, ფლუორესცენცია-დამოკიდებული უჯრედების დახარისხება უმეტესწილად გამოიყენება უჯრედების მცირე რაოდენობიდან მაღალხარისხიანი სუფთა ფრაქციების მისაღებად.

უჯრედების განცალკევება ქიმიური ბლოკადით

უჯრედების განცალკევება შესაძლებელია მეტაბოლური რეაქციების ბლოკირებით. გამოიყენება მეტაბოლური ბლოკადის ორი ტიპი, კერძოდ, დნმ-ის სინთეზის ინჰიბირება და უჯრედების შიმშილი.

დნმ სინთეზის ინჰიბირება

უჯრედული ციკლის S ფაზაში მიმდინარე დნმ-ის სინთეზის ინჰიბირება შესაძლებელია ისეთი ინჰიბიტორების გამოყენებით, როგორიცაა თიმიდინი, ამინოპტერინი, ჰიდროქსიშარდოვანა და არაბინოზილციტოზინი. ამ ინჰიბიტორების ზემოქმედება სხვადასხვაგვარია. უჯრედული ციკლის ბლოკირება უმეტესწილად S ფაზაში ხდება, რაც უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე მოქმედებს.

უჯრედების შიმშილი

დაახლოებით 24 საათის განმავლობაში საკულტივაციო არიდან შრატის ან იზოლეცინის ამოღება იწვევს უჯრედების G_1 ფაზაში დაყოვნებას. ნუტრიენტების არარსებობით გამოწვეული ეფექტი შექცევადია, მისი მოხსნა საკვები ნივთიერებების დამატებითაა შესაძლებელი, რასაც უჯრედების სინქრონიზაცია მოჰყვება.

უჯრედების სინქრონიზაციის რამდენიმე მნიშვნელოვანი ასპექტი

- უჯრედების განცალკევება ფიზიკური მეთოდებით ქიმიურ პროცედურებზე უფრო ეფექტურია;
- ქიმიური ბლოკადა ხშირად ტოქსიკურია უჯრედებისთვის;
- შიმშილის გამოწვევით შეუძლებელია ტრანსფორმირებული უჯრედების სინქრონიზაცია;

- სინქრონიზაციის მაღალი მაჩვენებლის (>80%) მიღწევა პირველ ციკლში ხდება, ხოლო მეორე ციკლში ის <60% იქნება. მესამე ციკლში უჯრედების გადანაწილება მხოლოდ ნაწილობრივ მოხდება.

7.7 უჯრედების დაბერება და აპოპტოზი

კულტურაში ზრდისას უჯრედები ბერდებიან და კარგავენ პროლიფერაციის უნარს. უჯრედების მიერ ასაკთან ერთად პროლიფერაციის უნარის დაკარგვას დაბერება ეწოდება.

უჯრედების დაბერება

უჯრედების ზრდა ჩვეულებრივ პოპულაციის გაორმაგებით (პგ, population doubling, PD) იზომება. PD აღნიშნავს, თუ რამდენჯერ მოხდა უჯრედების პოპულაციის გაორმაგება კულტივირებისას. ის შემდეგი ფორმულით გამოითვლება:

$$PD = \frac{\log_{10}(\text{მიღებული უჯრედების } N) - \log_{10}(\text{დათესილი უჯრედების } N)}{\log^2{}_{10}}$$

დაბერების ფენომენის შესწავლა უმეტესწილად ადამიანის ფიბრობლასტების კულტურების მაგალითზე ხდებოდა. პოპულაციის 30-60-ჯერ გაორმაგების შემდეგ კულტურა ძირითადად დაბერებული ფიბრობლასტებისგან შედგება. ასეთ დაბერებულ ფიბრობლასტებს აღარ შეუძლიათ გაყოფა მიტოზური სტიმულის საპასუხოდ.

კულტურაში უჯრედების ზრდის გასაზომად გამოყენებული სხვადასხვა პარამეტრი:

- უჯრედების რაოდენობის პირდაპირი დათვლა;
- დნმ/რნმ შემცველობის განსაზღვრა;
- ცილების/ატფ-ის კონცენტრაციის შეფასება.

დაბერების ხარისხის გაზომვა

დაბერებული უჯრედების პირდაპირი იდენტიფიცირება საკმაოდ რთულია. ზოგიერთი არაპირდაპირი საზომია:

- მეტაბოლური აქტივობის დაკარგვა;
- მონიშნული პრეკურსორის (^{3}H-თიმიდინი) დნმ-ში ჩართვის შეფერხება;
- ზოგიერთი ჰისტოქიმიური მეთოდი.

დაბერებასთან დაკავშირებული β–გალაქტოზიდაზას აქტიობის განსაზღვრა

დაბერების დროს უჯრედებში ადგილი აქვს ლიზოსომური ფერმენტის β–გალაქტოზიდაზას ჭარბ პროდუცირებას. ამ ფერმენტის რაოდენობის

მატება ასევე დაკავშირებულია უჯრედის ზომის ზრდასთან, რომელიც აღინიშნება უჯრედის პერმანენტულ არაგაყოფად მდგომარეობაში შესვლის შემდეგ.

კულტურაში დაბერებული უჯრედების რაოდენობის გაზომვა შეიძლება დაბერებასთან დაკავშირებული β–გალაქტოზიდაზას (SA-β) ანალიზით. მეთოდიკა შემდეგ ეტაპებს მოიცავს:

1. უჯრედების გარეცხვა, ფიქსატორში (მაგ. პარაფორმალდეჰიდში) ფიქსირება და ხელმეორე გარეცხვა.
2. ფიქსირებული უჯრედების შეღებვა (ბუფერში გახსნილი X-გალ ფხვნილი და დიმეთილფორმამიდი) და ინკუბაცია.
3. დაბერებული უჯრედები იღებენ მუქ ლურჯ შეფერილობას, რაც მათი დათვლის შესაძლებლობას იძლევა.

აპოპტოზი

უჯრედების პროგრამირებულ კვდომას აპოპტოზი ეწოდება. უჯრედების კვდომის ინიცირება სპეციალური სტიმულით ან გარემოდან მიღებული რამდენიმე სიგნალის შედეგად ხდება.

აპოპტოზი მემკვიდრული უჯრედული მექანიზმების ჩართვის შედეგად ხორციელდება და საბოლოო ჯამში უჯრედის თვითგანადგურებას ნიშნავს. უჯრედი ააქტიურებს მოლეკულურ მოვლენათა სერიას, რომელიც იწვევს უჯრედის კომპონენტების თანმიმდევრულ დეგრადაციას მეზობელ ქსოვილებზე მინიმალური ზემოქმედებით.

in situ აპოპტოზის მიზეზები

1. აუცილებელია განვითარებისთვის: მაგალითად, ნაყოფის ხელისა და ფეხის თითების განვითარება მოითხოვს მათ შორის არსებული აპკების მოშორებას. ეს, ჩვეულებრივ, აპოპტოზით ხდება.
2. იმ უჯრედების დაშლა, რომლებიც ორგანიზმის მთლიანობისთვის საფრთხეს წარმოადგენენ: უჯრედების პროგრამირებული კვდომა საჭიროა იმ უჯრედების დაშლისა და მოშორებისთვის, რომლებიც აპოპტოზის გარეშე დააზიანებდნენ ორგანიზმს. ამის მაგალითებია:
   - ემბრიონული განვითარების პროცესში დაზიანებული დნმ-ის მქონე უჯრედები. თუ ისინი არ ელიმინირდება, შესაძლებელია თანდაყოლილი დეფექტების განვითარება;
   - იმუნური სისტემის უჯრედები შესაბამისი იმუნური ფუნქციის შესრულებისას კვდომას განიცდიან. ეს საჭიროა ავტოიმუნური დაავადებების, მაგალითად რევმატოიდული ართრიტის თავიდან ასაცილებლად;
   - აპოპტოზით იშლება ვირუსით ინფიცირებული უჯრედები.
3. უჯრედების დაშლა ნეგატიური სიგნალების გამო: უჯრედებში არსებობს რამდენიმე ნეგატიური სიგნალი, რომლებიც აპოპტოზს აინდუცირებს. მათ შორისაა თავისუფალი რადიკალების დაგროვება, ულტრაიისფერი სხივების, რენტგენის სხივების და ქიმიოთერაპიული მედიკამენტების ზემოქმედება.

აპოპტოზის მექანიზმი

უჯრედების პროგრამირებული კვდომა შეიძლება სამი სხვადასხვა მექანიზმით მოხდეს:

1. აპოპტოზი შიდა სიგნალების გამო;
2. გარე სიგნალებით, მაგალითად TNF-α ფაქტორით ინიცირებული აპოპტოზი;
3. ჟანგბადის რეაქტიული ფორმებით ინიცირებული აპოპტოზი.

კასპაზების როლი აპოპტოზში

უჯრედების პროგრამირებულ კვდომაში გადამწყვეტ როლს ასრულებს ფერმენტთა ჯგუფი, სახელდობრ, აქტივირებული პროტეაზები. ეს პროტეაზები ცისტეინილ- ასპარტატის სპეციფიკურ პროტეინაზებს წარმოადგენს, რომლებსაც მოკლედ კასპაზები ეწოდება. არსებობს კასპაზების ათამდე სხვადასხვა სახეობა, რომლებიც სხვადასხვა სუბსტრატზე მოქმედებენ და საბოლოოდ უჯრედის კვდომას იწვევენ. მაგალითად, კაპსაზა I ინტერლეიკინ 1β-ს გახლეჩვას იწვევს.

კაპსაზის აქტიობის ინჰიბირება

რადგან კაპსაზები მჭიდროდ არის ჩართული აპოპტოზის პროცესში, შესაძლებელია უჯრედის კვდომის პრევენცია კასპაზების აქტივობის ინჰიბირებით. ამჟამად იდენტიფიცირებულია პეპტიდები, რომლებიც ახდენენ კასპაზების და, შესაბამისად, აპოპტოზის ინჰიბირებას.

აპოპტოზის ხარისხის განსაზღვრა

მკვდარი ან მომაკვდავი უჯრედების აღმოჩენის მარტივი გზაა პირდაპირი მიკროსკოპული დაკვირვება. მომაკვდავი უჯრედები მომრგვალო ფორმისაა, აქვთ მკვრივი სხეულაკები, რომელთა იდენტიფიცირება ფაზურ-კონტრასტულ მიკროსკოპში შეიძლება. უჯრედები, რომლებიც აპოპტოზის პროცესშია შესული, შეიცავს ფრაგმენტირებულ ქრომატინს, რომლის აღმოჩენაც შეიძლება რუტინული შეღებვის მეთოდით. ბოლო წლებში შემუშავდა აპოპტოზის გაზომვის უფრო მგრძნობიარე და საიმედო მეთოდები. კვემოთ მოყვანილია ზოგიერთი მათგანის მოკლე აღწერა.

ადფ/ატფ შეფარდების განსაზღვრა

როგორც უჯრედების ზრდა, ასევე მათი აპოპტოზი ატფ-ს საჭიროებს. თუმცა ზრდის შეკავებისას უჯრედებში ადფ იმატებს. ამგვარად, ადფ/ ატფ-ის შეფარდების გაზომვა მკვდარ უჯრედებს გამოავლენს. ადფ/ ატფ შეფარდების გასაზომი ანალიზური სისტემები კომერციულად ხელმისაწვდომია.

TUNEL ანალიზი

აპოპტოზის დროს მნიშვნელოვანი ბიოქიმიური მოვლენაა ენდოგენური ნუკლეაზების გააქტიურება. ეს ფერმენტი ხლეჩს დნმ-ს 3-ჰიდროქსილის ჯგუფის შემცველ ფრაგმენტებად. ახლად წარმოქმნილი დნმ-ის მცირე ფრაგმენტების გაზრდა ფერმენტ დნმ-ის პოლიმერაზას მოქმედების შედეგად ხდება. დნმ-ის ფრაგმენტის სინთეზისათვის მონიშნული ნუკლეოტიდების გამოყენება მათი შემდგომი დეტექციის საშუალებას იძლევა.

აბრევიატურა „TUNEL“ TdT-დამოკიდებული dUTP დაბოლოების მონიშვნის მეთოდს (TdT-mediated dUTP nick end-labelling assay) ნიშნავს. ***TUNEL*** ძალიან სწრაფი და ეფექტური მეთოდია ენდოგენური ნუკლეაზური აქტიობით წარმოქმნილი დნმ-ის ფრაგმენტების დასადგენად. აპოპტოზური ბირთვების იდენტიფიცირება შეიძლება ფლუორესცენტული მიკროსკოპის ქვეშ ფლუორესცენტული იზოთიოციანატის (FITC) და 4,6-დიამინოფენილინდოლის გამოყენებით.

დნმ-ის „კიბის“ ტესტირება

აპოპტოზის პროცესში გენომური დნმ მონო და ოლიგონუკლეოსომურ ფრაგმენტებად იხლიჩება. ამ ფრაგმენტების განცალკევება და დეტექცია აგაროზის ელექტროფორეზითაა შესაძლებელი. აპოპტოზური უჯრედების ნუკლეოსომური ფრაგმენტები ელექტროფორეზის დროს დამახასიათებელ „კიბის“ მაგვარ სტრუქტურას წარმოქმნიან.

ტესტირების შეზღუდვა

დნმ-ის „კიბის“ ტესტირება სპეციფიური არ არის, რადგან ზოგიერთი აპოპტოზური უჯრედი ამგვარ სურათს არ იძლევიან. უფრო მეტიც, დნმ-ის „კიბის’ სურათი შეიძლება არააპოპტოზურ უჯრედებშიც მივიღოთ, სწორედ ამიტომ დნმ-ის „კიბის“ ტესტირება ტარდება აპოპტოზის სხვა სახის მეთოდებთან ერთად.

ბიოუსაფრთხოების ღონისძიებები კულტივირების მეთოდების გამოყენებისას

ვინაიდან კულტივირების მეთოდები გამოიყენება ცხოველური ან ადამიანის ქსოვილების მიმართაც, აუცილებელია უსაფრთხოების ღონისძიების და სამედიცინო ეთიკის დაცვა. ზოგიერთ ქვეყანაში

საკულტივაციო ქსოვილების შერჩევასა და გამოყენებასთან დაკავშირებულ საკითხებს შესაბამისი საკანონმდებლო ნორმები არეგულირებს. მაგალითად, გაერთიანებულ სამეფოში 1986 წლიდან მოქმედებს ცხოველებზე ექსპერიმენტების (სამეცნიერო პროცედურების) ჩატარების აქტი.

ადამიანის უჯრედების გამოყენება ხშირად ისეთ პრობლემებს ქმნის, რომლებიც არ გვხვდება ცხოველების ქსოვილებთან მიმართებაში. ადამიანის ჩანასახოვანი და ბიოპსიის მასალის გამოყენებისას საჭიროა პაციენტის და/ან მისი ნათესავების, და გარდა ამისა, ადგილობრივი ეთიკური კომიტეტების თანხმობა. უფრო მეტიც, ნებისმიერი ქსოვილის უმცირესი რაოდენობითაც კი აღება მოითხოვს დონორის სრულ თანხმობას დადგენილი ფორმის დაცვით. ადამიანის ქსოვილების გამოყენების შემთხვევაში სრულად უნდა იქნას გათვალისწინებული შემდეგი საკითხები.

1. პაციენტის და/ან მისი ნათესავების თანხმობა ქსოვილების კვლევითი მიზნებით გამოყენებაზე;
2. მიღებული უჯრედული ხაზებისა და მათი დერივატების კუთვნილების განსაზღვრა;
3. თანხმობა უჯრედული ხაზების გენეტიკურ მოდიფიცირებაზე;
4. საპატენტო უფლება უჯრედული ხაზების ნებისმიერ კომერციულ გამოყენებაზე.

ზოგადად, ადამიანის ქსოვილების გამოყენებისას უჯრედების კულტივირების პრაქტიკაში დონორს და ან მის ნათესავებს ქსოვილის აღებამდე სთხოვენ ხელის მოწერას სპეციალურ განცხადებაზე (დადგენილი ფორმით). ამ მიდგომით მინიმუმამდე დაიყვანება სამართლებრივი გართულებები.

ადამიანის ქსოვილების გამოყენება დაკავშირებულია სხვადასხვა ინფექციების გავრცელების სერიოზულ რისკთან. ამიტომ აუცილებელია ადამიანის ქსოვილების დამუშავება ბიოუსაფრთხო ბოქსებში. ქსოვილები გამოყენებამდე უნდა შემოწმდეს სხვადასხვა ინფექციებზე, როგორიცაა ჰეპატიტი, ტუბერკულოზი, HIV. გარდა ამისა, გამოყენების შემდეგ ინსტრუმენტები და აპარატურა უნდა დამუშავდეს ავტოკლავში ან ჩაუტარდეს სხვა სახის დეზინფექცია, რათა მკვეთრად შემცდეს ინფექციის გავრცელების საშიშროება.

პირველადი კულტურები და უჯრედული ხაზები

პირველადი კულტივირება ნიშნავს უშუალოდ ორგანიზმიდან აღებული უჯრედების, ქსოვილების ან ორგანოების კულტივირების დაწყებას. ამგვარად, პირველადი კულტურა არის პირველი სუბკულტივირების წინ მიღებული კულტურა. ტერმინი „უჯრედული ხაზი“ გამოიყენება პირველი სუბკულტივირების შემდეგ კულტურების მიმარტებაში. ქვემოთ მოკლედაა აღწერილი პირველადი კულტურებისა და უჯრედული ხაზების ზოგიერთი ფუნდამენტური ასპექტი.

უჯრედების პირველადი კულტურა

როგორც უკვე აღინიშნა, პირველადი კულტივირება მოიცავს მეთოდებს, რომლებიც გამოიყენება უჯრედების გამოყოფის შემდეგ პირველ სუბკულტივირებამდე. პირველადი კულტურები ჩვეულებრივ ქსოვილის დიდი მასებისგან მზადდება. ამგვარად, ეს კულტურები შეიძლება შეიცავდნენ მრავალ სხვადასხვა დიფერენცირებულ უჯრედს, მაგალითად ფიბრობლასტებს, ლიმფოციტებს, მაკროფაგებს და ეპითელურ უჯრედებს.

პირველადი კულტურების ეფექტური გამოყენებისათვის შემდეგი კრიტერიუმების გათვალისწინება ხდება:

- პირველადი კულტივირებისთვის უფრო გამოსადეგია ემბრიონული და არა მოზრდილი ქსოვილები. ეს იქიდან გამომდინარეობს, რომ ემბრიონული უჯრედების დაშლა უფრო ადვილია, ისინი უფრო მაღალი სიცოცხლის უნარიანობით ხასიათდებიან და, გარდა ამისა, სწრაფად მრავლდებიან in vitro პირობებში.
- პირველადი კულტივირებისათვის გამოყენებული უჯრედების რაოდენობა უფრო დიდი უნდა იყოს, რადგან მათი გადარჩენის ალბათობა გაცილებით ნაკლებია სუბკულტივირებასთან შედარებით.
- პირველადი კულტივირებისთვის ქსოვილები ისე უნდა დამუშავდეს, რომ უჯრედებს მინიმალური ზიანი მიადგეს. გარდა ამისა, საჭიროა მკვდარი უჯრედების მოშორება.
- რეკომენდებულია შესაფერისი არის შერჩევა (უმჯობესია იგი საკვები ნივთიერებებით მდიდარი იყოს). შრატის დამატების შემთხვევაში ხბოს ან ცხენის შრატთან შედარებით უპირატესობა ხარის შრატს ენიჭება.
- აუცილებელია უჯრედების დესეგრეგაციის გამომწვევი ფერმენტების არიდან მოშორება ცენტრიფუგირების საშუალებით.

პირველადი კულტივირების მეთოდები

იზოლირებული ქსოვილების უჯრედების პირველადი კულტივირებისთვის შემუშავებული სხვადასხვა მეთოდებიდან ყველაზე ფართოდ გამოიყენება სამი მეთოდი, ესენია;

1. მექანიკური დეზაგრეგაცია;
2. ფერმენტული დეზაგრეგაცია
3. პირველადი ექსპლანტანტების მეთოდი

მექანიკური დეზაგრეგაცია

რბილი ქსოვილების (მაგ. ელენთის, თავის ტვინის, ემბრიონული ღვიძლის, რბილი სიმსივნეების) დეზაგრეგაციისათვის ჩვეულებრივ მექანიკური მეთოდი გამოიყენება. ეს მეთოდი გულისხმობს ქსოვილის ფრთხილ დაქუცმაცებას ან შრეებად დაჭრას და უჯრედების შეგროვებას. უჯრედების შეგროვება შეიძლება ორი გზით:

- ქსოვილების ნაჭრების საცერში გატარებით, საცრის დანაყოფების ზომის თანდათანობითი შემცირებით;
- ქსოვილების ფრაგმენტების შპრიცში და ნემსში გატარებით.

მიუხედავად იმისა, რომ მექანიკური მეთოდი მოიცავს უჯრედების დაზიანების რისკს, პროცედურა ნაკლებად ძვირადღირებული, სწრაფი და მარტივია. ეს მეთოდი განსაკუთრებით გამოსადეგია მაშინ, როდესაც ქსოვილის დიდი რაოდენობაა ხელმისაწვდომი და გამოსავალის ეფექტიანობა მნიშვნელოვანი არ არის. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ მექანიკური მეთოდით მიღებული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა გაცილებით დაბალია ფერმენტული მეთოდის გამოყენებასთან შედარებით.

ფერმენტული დეზაგრეგაცია

ფერმენტული დეზაგრეგაცია უმეტესწილად გამოიყენება იმ შემთხვევაში, როდესაც საჭიროა ქსოვილიდან დიდი რაოდენობით უჯრედების მიღება. ფერმენტების გამოყენების შემთხვევაში ემბრიონული ქსოვილების დანაწევრება უფრო ეფექტიანია და უჯრედების მაღალ გამოსავალს იძლევა. ეს იმიტომ ხდება, რომ ემბრიონულ ქსოვილებში ნაკლებია ბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილი და უჯრედშორისი მატრიქსი. ფერმენტული დეზინტეგრაცია შესაძლებელია ტრიპსინის, კოლაგენაზის ან ზოგიერთი სხვა ფერმენტების გამოყენებით.

დაშლა ტრიპსინით

ფერმენტ ტრიპსინით ქსოვილების დაშლას ჩვეულებრივად ტერმინით „ტრიპსინიზაცია“ აღნიშნავენ. ბევრი მკვლევარი უპირატესობას ანიჭებს ნედლი და არა გასუფთავებული ტრიპსინის გამოყენებას შემდეგი მიზეზების გამო:

- ნედლი ტრიპსინი უფრო ეფექტურია სხვა პროტეაზების შემცველობის გამო;
- უჯრედები უკეთ იტანენ ნედლ ტრიპსინს;
- ნედლი ტრიპსინის ნარჩენი აქტივობა ადვილად შეიძლება განეიტრალდეს საკულტივაციო გარემოს შრატით (უშრატო გარემოს გამოყენების შემთხვევაში ნეიტრალიზაციისთვის გამოიყენება ტრიპსინის ინჰიბიტორი).

უჯრედებად დაშლა შეიძლება აგრეთვე სუფთა ტრიპსინის გამოყენებით, რომელიც ნაკლებად ტოქსიკურია და უფრო სპეციფიური მოქმედებისაა. საკვლევი ქსოვილი ქუცმაცდება 2-3 მმ ნაჭრებად და შემდეგ ტრიპსინით მუშავდება. არსებობს ტრიპსინიზაციის ორი მეთოდი: თბილი ტრიპსინიზაცია და ცივი ტრიპსინიზაცია.

თბილი ტრიპსინიზაცია

ეს მეთოდი ფართოდ გამოიყენება უჯრედების დეზინტეგრაციისათვის. დაქუცმაცებული ქსოვილი ირეცხება DBSS ხსნარში, გადაიტანება

კოლბაში, რომელშიც თბილი (37^{0}C) ტრიპსინია შეტანილი. ხდება შიგთვასის არევა ოცდაათი წუთის ინტერვალით, ხოლო შემდეგ გროვდება დისოცირებული უჯრედების შემცველი სუპერნატანტი. ტრიპსინის მოშორების შემდეგ უჯრედები გადაიტანება შესაბამის არეში და ინახება დახურულ სინჯარებში ყინულზე.

ტრიპსინის დამატების (ქსოვილების ნაწილებისთვის), ინკუბაციის და დანაწევრებული უჯრედების შეგროვების პროცესი (30 წუთიანი ინტერვალებით) დაახლოებით 4 საათის განმავლობაში გრძელდება. დანაწევრებული უჯრედები გროვდება, ითვლება, სათანადოდ იხსნება და შემდეგ ინკუბირდება.

ცივი ტრიპსინიზაცია

ეს მეთოდი უფრო უპრიანია მოვიხსენიოთ როგორც ტრიპსინიზაცია წინასწარი ცივი ექსპოზიციით. ამ მეთოდით შეიძლება შემცირდეს 370C-ზე ტრიპსინის ხანგრძლივი ზემოქმედებით (თბილი ტრიპსინიზაციისას) განპირობებული უჯრედების დაზიანება.

დაქუცმაცებისა და გარეცხვის შემდეგ ქსოვილის ნაწილები ინახება სინჯარებში (ყინულზე) და მუშავდება ცივი ტრიპსინით დაახლოებით 6-24 საათის განმავლობაში. ამის შემდეგ ახდენენ ტრიპსინის მოშორებას. თუმცა ქსოვილის ნაწილები ნარჩენ ტრიპსინს შეიცავენ. ქსოვილის ნაწილებს აინკუბირებენ 370C-ზე 20-30 წუთის განმავლობაში. უჯრედები გაიფანტება განმეორებადი პიპეტირებით. შემდეგ ხდება დაცალკევებული უჯრედების დათვლა, შესაბამის არეში გადატანა და გამოყენება.

ცივი ტრიპსინიზაციის მეთოდის შედეგად, ჩვეულებრივ, მიიღება დიდი რაოდენობით სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები, რომლებსაც 24-საათიანი ინკუბაციის შემდეგ გადარჩენის უფრო მაღალი ალბათობა ახასიათებთ. მეთოდი არ მოიცავს მორევას ან ცენტრიფუგირებას. ცივი ტრიპსინიზაციის ძირითადი შეზღუდვაა ის, რომ იგი არ არის შესაფერისი ქსოვილების დიდი ოდენობიდან უჯრედების მიღებისათვის.

ტრიპსინით დეზაგრეგაციის შეზღუდვები

ტრიპსინით დამუშავება შეიძლება ზოგი უჯრედები (მაგ. ეპითელური უჯრედები) დააზიანოს, ასევე ის შეიძლება თითქმის არაეფექტური იყოს გარკვეული ქსოვილებისთვის (მაგ. ბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილისთვის). აქედან გამომდინარე, უჯრედების გაცალკევებისთვის ასევე სხვა ფერმენტებიც გამოიყენება.

დანაწევრება კოლაგენაზით

კოლაგენი ყველაზე უხვი სტრუქტურული ცილაა უმაღლეს ცხოველებში. იგი ძირითადად წარმოდგენილია შემაერთებელი ქსოვილისა და კუნთის უჯრედშორის მატრიქსში. ფერმენტი კოლაგენაზა (ჩვეულებრივ, დაუმუშავებელი, არასპეფიციური პროტეაზებით

დაბინძურებული) ეფექტურად შეიძლება იქნას გამოყენებული სხვადასხვა ტრიპსინის მიმართ მგრძნობიარე ნორმალური ან ავთვისებიანი ქსოვილების დანაწევრებისთვის. გამოიყენება აგრეთვე გაწმენდილი კოლაგენაზა, თუმცა ის ნაკლებად ეფექტური აღმოჩნდა დაუმუშავებელ კოლაგენაზასთან შედარებით.

ქსოვილი ანტიბიოტიკების შემცველ DBSS ხსნარში გაჩერების შემდეგ ქუცმაცდება ნაწილებად. ეს ნაწილები ირეცხება და შემდეგ თავსდება სრულ არეში, რომელშიც კოლაგენაზაა დამატებული. 1-5 დღის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ ქსოვილის ნაწილები პიპეტირებით იშლება. უჯრედების კლასტერები ცალკევდება დალექვით. ასე შეიძლება ეპითელური და ფიბრობლასტური უჯრედების გაცალკევება.

კოლაგენაზით დანაწევრება წარმატებით იქნა გამოყენებული ადამიანის თავის ტვინისთვის, ფილტვისა და სხვა რამდენიმე ეპითელური ქსოვილისთვის, გარდა ამისა, ადამიანის სიმსივნეებისა და სხვა ცხოველების ქსოვილებისთვის. უჯრედებად დაშლას ხელს უწყობს სხვა ფერმენტის - ჰიალურონიდაზას დამატება (მოქმედებს ზედაპირულ ნახშირწყლებზე). კოლაგენაზის და ჰიალურონიდაზის კომბინაციის გამოყენება მეტად ეფექტურია ვირთაგვას ან კურდღლის ღვიძლის დისოციაციისთვის. ასეთ დამუშავებას ახორციელებენ in situ სისტემებში ორგანოს პერფუზიის გზით. ზოგი მკვლევარი გარკვეული ქსოვილების დისოციაციისათვის კოლაგენაზას ტრიპსინთან ერთად იყენებს- ეს მეთოდი პირველად ქათმის შრატზე იყო აპრობირებული.

სხვა ფერმენტების გამოყენება დეზაგრეგაციისათვის

ტრიპსინი და კოლაგენაზა ქსოვილების დისოციაციის ყველაზე ფართოდ გამოიყენებადი ფერმენტებია. ზოგი ბაქტერიული პროტეაზა (მაგ. პრონაზა, დისპაზა) შეზღუდული წარმატებით გამოიყენება. ზემოთ აღწერილი ჰიალურონიდაზასთან ერთად უჯრედების ზედაპირული ნახშირწყლების დაშლისათვის გამოიყენება ნეირამინიდაზაც.

პირველადი ექსპლანტის მეთოდი

პირველადი ექსპლანტაციის მეთოდი შემუშავებულ იქნა 1907 წელს ჰარისონის მიერ. ამ მეთოდმა რამდენიმე ცვლილება განიცადა და დღეისათვის ასევე ფართოდ გამოიყენება. DBSS-ში მოთავსებული ქსოვილი ქუცმაცდება და ირეცხება. ხდება DBSS მოშორება. ქსოვილის ნაწილები თანაბრად გაიშლება ზედაპირზე. შესაფერისი საკულტივაციო არის დამატების შემდეგ, 3-5 დღის განმავლობაში ხორციელდება ქსოვილის ინკუბაცია. არე იცვლება კვირაში ერთხელ, სანამ არ შეიმჩნება უჯრედების მნიშვნელოვანი ზრდა. ამის შემდეგ ხდება ექსპლანტების ამოღება და გადატანა ახალ საკულტივაციო ჭურჭელში.

პირველადი ექსპლანტის მეთოდი განსაკუთრებით გამოსაყენებადია ქსოვილების მცირე რაოდენობის დისოციაციისათვის (მაგ. კანის ბიოპსია). ორი ალტერნატიული მეთოდი, სახელდობრ მექანიკური

ან ფერმენტული დეზინტეგრაცია არ გამოიყენება უჯრედების მცირე რაოდენობის შემთხვევაში, რადგან არსებობს უჯრედების დაკარგვის რისკი. ექსპლანტის მეთოდის შეზღუდვაა ზოგიერთი ქსოვილების ცუდი ადჰეზიურობა ზედაპირის მიმართ და უჯრედების შერჩევა ჭარბი ზრდის პირობებში. თუმცა ნაჩვემებია, რომ პირველადი ექსპლანტის მეთოდის გამოყენება შეიძლება ემბრიონული უჯრედების უმეტესობისთვის, მაგალითად, ფიბრობლასტებისთვის, მიობლასტებისთვის, ეპითელური და გლიური უჯრედებისთვის.

სიცოცხლისუნარიანი და არასიცოცხლისუნარიანი უჯრედების გაცალკევება

დისოცირებული უჯრედებისგან პირველადი კულტურის მომზადებისას ჩვეულებრივი პრაქტიკაა არასიცოცხლისუნარიანი უჯრედების ამოღება. ჩვეულებრივ, ეს ხდება არის პირველი გამოცვლისას. ცოტა რაოდენობით დარჩენილი სიცოცხლისუუნარო უჯრედები ნელ-ნელა ზავდებიან და სისცოცხლისუნარიანი უჯრედების პროლიფერაციის შედეგად თანდათანობით საერთოდ გაქრებიან.

ზოგჯერ არასიცოცხლისუნარიანი უჯრედები შეიძლება ამოღებულ იქნას პირველადი კულტურებიდან ცენტრიფუგირების საშუალებით. უჯრედებს ემატება ფიკოლი და ნატრიუმის მეტრიზოატი და ხდება მათი ცენტრიფუგირება. მკვდარი უჯრედები მილის ფსკერზე გროვდებიან.

უჯრედული ხაზები

ტერმინი 'უჯრედული ხაზი" აღნიშნავს კ**ულტურის გამრავლებას პირველი სუბკულტივირების შემდეგ.** სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, პირველადი კულტურა სუბკულტივირების შემდეგ უჯრედული ხაზი ხდება. მოცემული უჯრედული ხაზი მოიცავს რამდენიმე უჯრედულ სტრენდს ერთნაირი ან განსხვავებული ფენოტიპით.

შესაძლებელია კონკრეტული უჯრედული სტრენდის სელექცია კლონირებით, უჯრედების ფიზიკური გამოცალკევებით ან სელექციის სხვა მეთოდით. უჯრედების სტრენდები არ არის უკვდავი, რამდენიმე გაყოფის შემდეგ უჯრედები იღუპებიან.

შეზღუდული უჯრედული ხაზი. უჯრედები კულტურაში მხოლოდ რამდენჯერმე იყოფიან, შემდეგ მათი ზრდის ტემპი ეცემა და ისინი თანდათანობით კვდებიან. უჯრედული ხაზები, რომელთა **უჯრედების სიცოცხლე შეზღუდულია, ცნობილია როგორც შეზღუდული უჯრედული ხაზები**. ჩვეულებრივ, უჯრედები დაღუპვამდე 20-100-ჯერ იყოფიან (ანუ პოპულაციის გაორმაგება 20-100-ჯერ ხდება). გაორმაგების კონკრეტული რიცხვი დამოკიდებულია სახეობაზე, უჯრედების სტრენდების სხვადასხვაობაზე, პირობებზე და ა.შ. საერთოდ, ადამიანის უჯრედები 50-100-ჯერ, ხოლო თაგვებისა და ვირთაგვების - 30-50-ჯერ იყოფიან.

მუდმივი უჯრედული ხაზები. კულტურაში შეიძლება იყოს განსხვავებული მორფოლოგიის რამდენიმე უჯრედი, რომლებიც უფრო სწრაფად იზრდებიან და ახალი დამოუკიდებელი კულტურების წყარო შეიძლება გახდნენ. ასეთი სახეცვლილი უჯრედებიდან მიღებული შთამომავლობა უსასრულოდ ცოცხლობს (უჯრედების იმ სტრენდისგან განსხვავებით, რომლიდანაც ისინი წარმოიშვნენ). მათ უსასრულო უჯრედული ხაზები ეწოდებათ. **მუდმივი უჯრედული ხაზების უჯრედები ტრანსფორმირებული, უკვდავი და კანცეროგენულია.** უსასრულო უჯრედული ხაზების ტრანსფორმირებული უჯრედები შეიძლება მიღებულ იქნას ნორმალური პირველადი უჯრედული კულტურიდან (ან უჯრედული სტრენდიდან) ქიმიური კანცეროგენებით დამუშავების ამ ონკოგენური ვირუსით ინფიცირების გზით.

ცხრილი 16. შეზღუდული და უსასრულო უჯრედული ხაზების თვისებების შედარება

თვისება	შეზღუდული უჯრედული ხაზი	მუდმივი უჯრედული ხაზი
ზრდის ტემპი	ნელი	სწრაფი
ზრდის ტიპი	ერთშრიანი	სუსპენზია ან ერთშრიანი
გამოსავალი	დაბალი	მაღალი
ტრანსფორმაცია	ნორმალური	უკვდავი, კანცეროგენული
პლოიდურობა	ეუპლოიდური	
(მრავლობითი ან ჰაპლოიდური ქრომოსომები)	ანეუპლოიდური (არაფიქსირებული მრავლობითი ან ჰაპლოიდური ქრომოსომები)	
დამოკიდებულება ზედაპირზე	დიახ	არა
კონტაქტური ინჰიბირება	დიახ	არა
კლონირების ეფექტიანობა	დაბალი	მაღალი
შრატის საჭიროება	მაღალი	დაბალი
მარკერები	ქსოვილების მიხედვით	ქრომოსომული, ანტიგენური ან ფერმენტული

ქვემოთ მოყვანილია უჯრედულ ხაზებთან მიმართებაში ხშირად გამოყენებადი ტერმინები.

გახლეჩის კოეფიციენტი: სუბკულტივირებისას უჯრედული კულტურების გაყოფების რაოდენობის ამსახველი კოეფიციენტი. მაგალითად, როდესაც ყოველი სუბკულტივაციისას კულტურა ორად იყოფა, გახლეჩის კოეფიციენტი 1:2 იქნება.

გადათესვის რაოდენობა: კულტურის სუბკულტივირების რიცხვი.

გენერაციის რაოდენობა: აღნიშნავს უჯრედული პოპულაციის გაორმაგების რიცხვს.

უჯრედული ხაზების ნომენკლატურა

უჯრედული ხაზების საიდენტიფიკაციოდ მიღებულია მათთვის სპეციალური კოდების მინიჭება. მაგალითად, კოდი **NHB2-1** წარმოადგენს ადამიანის ნორმალური თავის ტვინის უჯრედების ხაზს, პირველი რიცხვი აღნიშნავს უჯრედული სტრენდის (ან უჯრედული ხაზის) ნომერს (2), ხოლო მეორე - კლონის ნომერს (1). კულტივირების ლაბორატორიებში მიღებულია ყოველი უჯრედული ხაზისათვის სარეგისტრაციო ჟურნალის ან კომპიუტერული მონაცემთა ბაზის შექმნა.

უჯრედული ხაზების სახელდებისას აუცილებელია უჯრედების კოდის უნიკალურობის უზრუნველყოფა, რათა არ მოხდეს მონაცემთა არევა პუბლიკაციის დროს. გარდა ამისა, გამოქვეყნების დროს უჯრედების ხაზის სახელწოდებას უნდა დაემატოს პრეფიქსი, რომელიც იქნება იმ ლაბორატორიის აღმნიშვნელი, სადაც მოხდა უჯრედული ხაზის მიღება. მაგ. NCI - კიბოს ეროვნული ცენტრისთვის (National Cancer Institute); WI - ვისტარის ინსტიტუტისთვის (Wistar Institute).

უჯრედული ხაზების სელექცია

უჯრედული ხაზების სელექციის დროს გათვალისწინებულ უნდა იქნას რამდენიმე ფაქტორი:

1. სახეობა: ზოგადად, არა-ადამიანის უჯრედულ ხაზებთან ნაკლები ბიოლოგიური საფრთხეებია დაკავშირებული, ამიტომ უპირატესობა მათ ენიჭებათ. ადამიანებზე მონაცემების ექსტრაპოლირების დროს მხედველობაში უნდა იქნას მიღებული სხვაობები სახეობებს შორის.
2. შეზღუდული თუ მუდმივი უჯრედული ხაზები: უპირატესობა ენიჭება მუდმივ უჯრედულ ხაზებს, რადგან მათი უჯრედები უფრო სწრაფად იზრდებიან, ადვილია მათი კლონირება და შენარჩუნება და ისინი უფრო მაღალ გამოსავალს იძლევიან. თუმცა საეჭვოა, თუ რამდენად ადეკვატურია მუდმივი ხაზების უჯრედების ფუნქციები. ამიტომ, ზოგიერთი მკვლევარი უჯრედების შეზღუდულ ხაზებს აძლევს პრიორიტეტს, მიუხედავად მათთან მუშაობის სირთულისა.
3. ნორმალური თუ ტრანსფორმირებული უჯრედები: უპირატესობა ენიჭება ტრანსფორმირებულ უჯრედებს, რადგან ისინი „უკვდავები“ არიან და სწრაფად იზრდებიან.

4. ხელმისაწვდომობა: ასევე მნიშვნელოვანია უჯრედული ხაზების ხელმისაწვდომობა. ზოგჯერ საჭიროა ლაბორატორიაში კონკრეტული უჯრედული ხაზის შექმნა.

ცხრილი 17. ხშირად გამოყენებადი უჯრედული ხაზების ჩამონათვალი

უჯრედული ხაზი	წარმომშობი სახეობა	წარმომშობი ქსოვილი	მორფოლოგია	პლოიდურობა	დახასიათება
IMR- 90	ადამიანი	ფილტვი	ფიბრობლასტი	დიპლოიდი	მგრძნობიარეა ადამიანის ვირუსული ინფექციები-სადმი
3T3-A31	თაგვი	შემაერთე-ბელი ქსოვილი	ფიბრობლასტი	ანეუპლოიდი	კონტაქტური ინჰიბირება, ადვილად ტრანსფორმი-რებადი
BHK21-C13	ზაზუნა (სირიული)	თირკმელი	ფიბრობლასტი	ანეუპლოიდი	ადვილად ტრანსფორმი-რებადი
CHO-K1	ჩინური ზაზუნა	საკვერცხე	ფიბრობლასტი	დიპლოიდი	მარტივი კარიოტიპი
NRK49F	ვირთაგვა	თირკმელი	ფიბრობლასტი	ანეუპლოიდი	ზრდის შეჩერების ინდუცირება TGF-α,β-ით
BLR 3A	ვირთაგვა	ღვიძლი	ფიბრობლასტი	დიპლოიდი	წარმოშობს IGF2-ს
Vero	მაიმუნი	თირკმელი	ფიბრობლასტი	ანეუპლოიდი	ვირუსული სუბსტრატი და ანალიზი
Hela- S3	ადამიანი	ცერვიკალუ-რი კარცინომა	ეპითელური	ანეუპლოიდი	სწრაფი ზრდა, მაღალი პლეიტინგი
Sk/ HEP- 1	ადამიანი	ჰეპატომა	ენდოთელური	ანეუპლოიდი	ფაქტორი VIII

Caco-2	ადამიანი	კოლო- რექტალური კანცერომა	ეპითელური	ანეუპლოიდი, პოლარიზე- ბული	ქმნის მჭიდრო ერთშრიან საყრდენს
MCF- 7	ადამიანი	სარძევე ჯირკვლის სიმსივნე (დიფუზური)	ეპითელური	ანეუპლოიდი	დადებითია ესტროგენის რეცეპტორის მიმართ
Friend	თაგვი	ელენთა	სუსპენზია	ანეუპლოიდი	ჰემოგლობინი, ზრდის ჰორმონი

5. ზრდის მახასიათებლები: მხედველობაში უნდა იქნას მიღებული ზრდის შემდეგი მახასიათებლები:
   - პოპულაციის გაორმაგების დრო;
   - სუსპენზიაში ზრდის უნარი;
   - გაჯერების ხარისხი (გამოსავალი ერთ სინჯარაზე);
   - კლონირების ეფექტურობა.
6. სტაბილურობა: მნიშვნელოვანია უჯრედის კოლონიის სტაბილურობა კლონირებასთან, სათანადო მარაგის წარმოქმნასა და შენახვასთან მიმართებაში.
7. ფენოტიპური ექსპრესია: მნიშვნელოვანია, რომ ხაზის უჯრედები სათანადო ფენოტიპის იყოს.

7.8. უჯრედული კულტურების შენარჩუნება

უჯრედული ხაზების (პირველად კულტურაში ან სუბკულტურაში) შენარჩუნებისთვის მნიშვნელოვანია უჯრედების მორფოლოგიის შემოწმება და საკულტივაციო არის პერიოდული გამოცვლა.

უჯრედის მორფოლოგია

კულტურაში საჭიროა უჯრედების რეგულარული შემოწმება, რათა დადგინდეს უჯრედების ჯანმრთელობის მდგომარეობა, დაბინძურების არარსებობა და სხვა სერიოზული გართულებები (გარემოში ტოქსინების არსებობა, არასაკმარისი საკვები ნივთიერებები და ა.შ.).

არის შეცვლა

კულტურაში უჯრედული ხაზების მოვლა-შენარჩუნებისთვის საჭიროა არის პერიოდული ცვლა უჯრედების გამრავლებისგან დამოუკიდებლად. პროლიფერირებადი უჯრედებისთვის არე უფრო ხშირადუნდაიცვალოს,ვიდრეარაპროლიფერირებადიუჯრედებისთვის. არის ცვლის ინტერვალი დამოკიდებულია უჯრედების ზრდის ტემპსა და მეტაბოლიზმზე. მაგალითად, სწრაფად მზარდი ტრანსფორმირებული

უჯრედებისთვის (მაგ. HeLa), არე კვირაში ორჯერ უნდა შეიცვალოს, მაშინ როდესაც ნელა მზარდი არატრანსფორმირებული უჯრედებისთვის (მაგ. IMR-90) არე შეიძლება შეიცვალოს კვირაში ერთხელ. გარდა ამისა, სწრაფად პროლიფერირებადი უჯრედებისთვის სუბკულტივირება უნდა განხორციელდეს უფრო ხშირად, ვიდრე ნელა მზარდი უჯრედებისთვის.

არის შეცვლისას გათვალისწინებულ უნდა იქნას შემდეგი ფაქტორები:

1. უჯრედების კონცენტრაცია: უჯრედების მაღალი კონცენტრაციის კულტურები უფრო მეტ საკვებ ნივთიერებებს მოიხმარენ, ვიდრე დაბალი კონცენტრაციის კულტურები; ამიტომ პირველ შემთხვევაში არე უფრო ხშირად უნდა შეიცვალოს.
2. pH-ის შემცირება: pH-ის შემცირება გარემოში მიუთითებს იმაზე, რომ არე შესაცვლელია. უჯრედების უმეტესობის ზრდისთვის ოპტიმალური pH 7.0 ტოლია, უჯრედები თითქმის წყვეტენ ზრდას, როდესაც pH 6.5-ზე დაბლა ვარდება. pH-ის შემდგომი შემცირებისას (6.5-სა და 6.0-ს შორის) უჯრედებმა შეიძლება დაკარგონ თავისი სიცოცხლისუნარიანობა. ზოგადად, pH-ის ვარდნის სისწრაფე გამოითვლება უჯრედების ყოველი ხაზისათვის შერჩეული არის პირობებში. თუ დღეში ვარდნა 0.1 pH ერთეულზე ნაკლებია, უჯრედებს არავითარი ზიანი არ მიადგებათ იმ შემთხვევაშიც კი, თუ გარემო დაუყოვნებლივ არ შეიცვლება. მაგრამ როდესაც დღიური ვარდნა 0.4 ერთეულს აჭარბებს, არე დაუყოვნებლივ უნდა შეიცვალოს.
3. უჯრედებისტიპი:ემბრიონულიუჯრედები,ტრანსფორმირებული უჯრედები და მუდმივი ხაზების უჯრედები სწრაფად იზრდებიან და უფრო ხშირ სუბკულტივირებას და არის ცვლას მოითხოვენ. ამით ისინი განსხვავდებიან ნორმალური უჯრედებისგან, რომლებიც ნელა იზრდებიან.
4. მორფოლოგიური ცვლილებები: უჯრედების მორფოლოგიის ხშირი შემოწმება მეტად მნიშვნელოვანია კულტივირების მეთოდიკაში. უჯრედების მორფოლოგიის ნებისმიერმა გაუარესებამ შეიძლება შეუქცევადი ზიანი მიაყენოს უჯრედებს. უჯრედების დაზიანების რისკის თავიდან ასაცილებლად უნდა განხორციელდეს არის შეცვლა.

სუბკულტივირება

სუბკულტივირება (ან გადასმა) აღნიშნავს უჯრედების გადატანას ერთი საკულტივაციო ჭურჭლიდან მეორე ჭურჭელში. სუბკულტივი-რება ხშირად (არა ყოველთვის) გულისხმობს პროლიფერირებადი უჯრედების გაყოფას, რაც შესაძლებელს ხდის უჯრედული ხაზის გაფართოებას. ტერმინი „გადათესვის რიცხვი“ გამოიყენება კულტურის სუბკულტივირების რაოდენობის აღსანიშნავად.

კულტურაში უჯრედების ზრდის სტანდარტული მრუდი მოიცავს საწყის ლაგ-ფაზას, რომელსაც მოჰყვება ექსპონენციური ანუ ლოგ-ფაზა და პლატოს ფაზა. ლოგ-ფაზაში აქტიური ზრდის პერიოდის დროს არე უფრო სწრაფად უნდა იცვალოს. წინააღმდეგ შემთხვევაში ზრდა შეწყდება. უჯრედების კონცენტრაცია არის ტევადობას რომ გადააჭარბებს, კულტურა სუბკულტურად უნდა დაიყოს.

არსებობს სუბკულტურების ორი სახე - ერთშრიანი სუბკულტურა და სუსპენზირებული სუბკულტურა:

ერთშრიანი კულტურები

როდესაც კულტივირების ჭურჭლის ძირი დაიფარება უჯრედების ჩვეულებრივ ერთი უჯრედის სისქის უწყვეტი ფენით, კულტურას ერთშრიანი კულტურა ეწოდება. უჯრედების ერთმანეთთან და სუბსტრატზე (მაგალითად, საკულტივაციო ჭურჭელზე) მიმაგრებას ხელს უწყობს ზედაპირული გლიკოპროტეინები (უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულები) და კალციუმის იონები (Ca2+). ერთშრიანი კულტურების სუბკულტივირებისთვის, ჩვეულებრივ, საჭიროა არის მოშორება და მონოშრის უჯრედების დაცალკევება უჯრედული ადჰეზიის მოლეკულების დაშლის და აგრეთვე Ca2+-ის მოშორების გზით.

უჯრედების დაცალკევების მეთოდები

არსებობს ერთშრიანი კულტურების უჯრედების დაცალკევების ფიზიკური და ფერმენტული მეთოდები. ერთშრიანი კულტურების დაცალკევებისთვის ჩვეულებრივ შემდეგი მეთოდები გამოიყენება:

ფიზიკური

მექანიკური შენჯღრევა	არამტკიცედ შეწებებული უჯრედები
ამოფხეკა	პროტეაზასადმი მგრძნობიარე უჯრედები

ფერმენტული

ტრიპსინი	უჯრედების მუდმივი ხაზების უმეტესობა
ტრიპსინი + კოლაგენაზა	მჭიდრო და მრავალშრიანი
კულტურების დისპაზა	ეპითელიუმის მოშორება
პრონაზა	ერთუჯრედიანი სუსპენზიები

ამოფხეკა გამოიყენება არამტკიცედ დამაგრებული კულტურებისთვის და იმ შემთხვევაში, როდესაც თავი უნდა ავარიდოთ პროტეაზების გამოყენებას. ფერმენტებიდან ყველაზე ხშირად ტრიპსინი გამოიყენება. გარკვეული უჯრედული მონოშრისთვის, რომლის დაშლაც შეუძლებელია ტრიპსინით, გამოიყენება სხვა ფერმენტები, როგორიცაა პრონაზა, დისპაზა და კოლაგენაზა. ფერმენტების საშუალებით უჯრედების დაცალკევებამდე მონოშრეები Ca^{2+}-ის მოსაშორებლად ჩვეულებრივ EDTA-თი მუშავდება.

მონოშრეების სუბკულტივირების კრიტერიუმები

სუბკულტივირება ყველაზე კარგად ხორციელდება შუა ლოგ-ფაზას და პლატოს ფაზაში შესვლას შორის. უჯრედების სუბკულტივირება არ უნდა მოხდეს ლაგ-ფაზაში. მონოშრეების სუბკულტივირების სხვა მნიშვნელოვანი კრიტერიუმები ქვემოთაა აღწერილი.

კულტურის სიმჭიდროვე

რეკომენდებულია ნორმალური ან ტრანსფორმირებული ერთშრიანი კულტურების სუბკულტივირება კონფლუენციის მიღწევისთანავე. კონფლუენცია გამოხატავს კულტივირების იმ ეტაპს, როდესაც ზრდისთვის მთელი ხელმისაწვდომი ზედაპირი გამოყენებულია და უჯრედები მჭიდრო კონტაქტშია ერთმანეთთან.

გარემოს გამოფიტვა

pH-ის ვარდნას ჩვეულებრივ თან ახლავს კულტივირებული უჯრედების სიმჭიდროვის ზრდა. ამგვარად, pH-ის დაცემის დროს არე უნდა შეიცვალოს, რასაც უნდა მოჰყვეს სუბკულტივირება.

სუბკულტივირებისთვის განსაზღვრული დრო

ამჟამად შესაძლებელია ყოველი უჯრედული ხაზისათვის სუბკულტივირების განრიგის დადგენა. უჯრედების კულტურების უმეტესობისთვის არის ცვლა ხორციელდება 3-4 დღის შემდეგ, ხოლო სუბკულტივირება კი 7 დღეში ერთხელ.

სუბკულტივირების მიზანი

უჯრედების კლონირების მიზეზი კიდევ ერთ მნიშვნელოვან კრიტერიუმს წარმოადგენს, რომელიც გათვალისწინებულ უნდა იქნას სუბკულტივირებისას. ზოგადად, თუ უჯრედები გამოიყენება რაიმე სპეციფიკური მიზნით, მათი სუბკულტივირება უფრო ხშირად უნდა განხორციელდეს.

ერთშრიანი სუბკულტივირების მეთოდები

ერთშრიანი უჯრედების სუბკულტივირება ძირითადად შემდეგი ეტაპებისგან შედგება:

1. არის მოცილება;
2. უჯრედების ხანმოკლე დამუშავება ტრიპსინით;
3. ტრიპსინის მოშორება და უჯრედების გადატანა არეში;
4. უჯრედების ინკუბაცია;
5. არეში უჯრედების რესუსპენზირება დათვლისა და გადათესვისათვის;
6. უჯრედების გადათესვა და მონოშრეებად გაზრდა.

უჯრედების კონცენტრაცია სუბკულტურაში

მუდმივი უჯრედული ხაზების გადათესვის დროს უჯრედების კონცენტრაცია $1x10^4$-$5x10^4$ უჯრედი/მლ შეადგენს. ახალი კულტურების შესაქმნელად სუბკულტივაციის დროს უჯრედების კონცენტრაცია გაზრდილი უნდა იყოს მისი თანდათანობითი კლებით.

სუსპენზირებული კულტურები

უჯრედების მუდმივი ხაზების უმეტესობა მონოშრის სახით იზრდება. ზოგიერთი უჯრედი, რომელიც არ მაგრდება სუბსტრატზე, მაგალითად, ლეიკოციტები ან სპეციფიკური უჯრედები, რომლებიც მექანიკურად შეიძლება ვამყოფოთ სუსპენზიაში, სუსპენზიაში მრავლდებიან. ამ მეთოდით ხდება ტრანსფორმირებული უჯრედების სუბკულტივირება. სუბკულტივირება სუსპენზიაში შეიძლება ბაქტერიების ან საფუარების კულტივირებას შევადაროთ.

სუსპენზიაში უჯრედების გამრავლების დადებითი მხარეები:

- გამრავლების პროცესი უფრო სწრაფად მიმდინარეობს;
- ლაგ-ფაზა ჩვეულებრივ უფრო მოკლეა;
- იძლევა უჯრედების ერთგვაროვან სუსპენზიას;
- ტრიპსინით დამუშავება საჭირო არ არის;
- მოსახერხებელია კოლონიის გაფართოება;
- არ არსებობს არის ხშირად ცვლის საჭიროება;
- მოვლა ადვილია;
- ადვილად მიიღწევა უჯრედების დიდი მოცულობით წარმოება.

კრიტერიუმები სუსპენზიაში სუბკულტივირებისთვის

სუსპენზიაში სუბკულტივირებისთვის მიღებული კრიტერიუმები იგივეა, რაც ერთშრიანი სუბკულტურებისთვის ზემოთ აღწერილი კრიტერიუმები. საჭიროა შემდეგი ასპექტების გათვალისწინება:

- კულტურის სიმჭიდროვე;
- pH-ის ცვლილება, რაც მიუთითებს არის გამოფიტვაზე;
- სუბკულტივირების განრიგის შედგენა;
- სუბკულტივირების მიზანი.

კულტურის სუსპენზირების მეთოდები

უჯრედების სუსპენზირება შეიძლება საკულტივაციო სინჯარაში (მოსარევ კოლბაში), რომელიც სასურველ არეს შეიცავს. არე განუწყვეტლივ ირევა მაგნიტით, რომელიც სინჯარის ძირში ბრუნავს. საჭიროა უჯრედების პერიოდული შემოწმება დაბინძურების ან გაფუჭების ნიშნებზე.

ღეროვანი უჯრედების კულტურები

უჯრედებს, რომლებიც ინარჩუნებენ გამრავლების უნარს მთელი სიცოცხლის მანძილზე, ღეროვანი უჯრედები ეწოდება. როდესაც ღეროვანი უჯრედები იყოფიან, მათ შეუძლიათ დიფერენცირებული უჯრედების და/ან სხვა ღეროვანი უჯრედების წარმოქმნა. ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ დაზიანების შემდეგ ქსოვილის აღდგენა. ღეროვანი უჯრედების დამახასიათებელი თვისებაა ქსოვილსპეციფიური დიფერენცირების მარკერების არქონა.

ემბრიონული ღეროვანი (embryonic stem, ES) უჯრედები

ჩანასახოვანი განვითარების დროს **ემბრიონის შიდა მასის** უჯრედები (უჯრედები, რომლებიდანაც მომავალში ჩანასახი ვითარდება) ემბრიონულ ღეროვან (ES) უჯრედებს წარმოადგენენ. ისინი აგრძელებენ დაყოფას და არადიფერენცირებულ ტოტიპოტენტურ მდგომარეობაში რჩებიან. შესაძლებელი გახდა ES უჯრედების ხაზების შექმნა-შენარჩუნება. ლაბორატორიაში ყველაზე ხშირად თაგვის ბლასტოცისტიდან მიღებული ES უჯრედები გამოიყენება. ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი ემბრიონული ღეროვანი უჯრედების ხაზებია 3T3, WI-38, MRC-5 და ადამიანის ჩანასახის ფილტვის ფიბრობლასტების სხვა ხაზები.

ES უჯრედების გამოყენების დადებითი მხარეები

ზოგადად, ემბრიონული ქსოვილებიდან მიღებული კულტურები მოზრდილი ქსოვილების კულტურებისგან განსხვავებით უფრო მაღალი სიცოცხლისუნარიანობით და აქტიური პროლიფერაციით ხასიათდებიან. ეს აიხსნება იმით, რომ ES უჯრედები ნაკლებად სპეციალიზირებულია და გამრავლების უფრო მაღალი პოტენციალი აქვთ.

ES უჯრედების გამოყენების შეზღუდვები

ზოგიერთ შემთხვევაში ES უჯრედები განსხვავდება მოზრდილი უჯრედებისგან, და, ამგვარად, არ არსებობს არავითარი გარანტია, რომ ისინი სრულყოფილ „მოზრდილ“ უჯრედს მოგვცემენ. ამიტომ აუცილებელია ამ უჯრედების შესაბამისი მეთოდებით დახასიათება.

ეპითელური ღეროვანი უჯრედები

ეპითელური უჯრედები (მაგ. ნაწლავების ამომფენი ეპითელიუმი) მუდმივად ჩამოიფცქვნება ზედაპირიდან. უჯრედების დაკარგვა კომპენსირდება მათი უწყვეტი ჩანაცვლებით. ასეთი ჩანაცვლება კარგადაა ორგანიზებული და რეგულაციას ექვემდებარება.

გაანგარიშებულია, რომ ადამიანის შემთხვევაში კანის ზედაპირი ყოველდღიურად განახლდება. თაგვის ნაწლავების ამომფენი ეპითელიუმის ზედაპირი მთლიანად იცვლება ყოველ 3-4 დღეში ერთხელ. უჯრედების ჩამოფცქვნის და განახლების პროცესი მთელი სიცოცხლის მანძილზე მიმდინარეობს. კანის ეპიდერმისს გააჩნია ღეროვანი უჯრედების შრე, ასევე პოსტმიტოზური და ტრანზიტული უჯრედების პოპულაციისგან შემდგარი შრეები. ტრანზიტული უჯრედები შეზღუდული სასიცოცხლო ციკლის მქონე უჯრედებისგან წარმოიშვება, და ზედაპირზე გადაადგილებისას ჩამოიფცქვნება.

ღეროვანი უჯრედების კულტურაში შენარჩუნება

ღეროვანი უჯრედის in vitro პირობებში მოვლა-შენარჩუნების ძირითადი მიზანია იმის უზრუნველყოფა, რომ უჯრედებმა შეინარჩუნონ იგივე მახასიათებლები და დიფერენცირების უნარი, რაც in vivo სისტემაში. ქვემოთ აღწერილია ეპიდერმული და არაეპიდერმული ეპითელური უჯრედების in vitro კულტურებში შენარჩუნების ასპექტები.

ეპიდერმული ღეროვანი უჯრედები კულტურაში

ეპიდერმული ღეროვანი (ანუ კერატინოციტული ღეროვანი) უჯრედების წარმატებით კულტივირება შესაძლებელია 3T3 მკვებავი (ფიდერული) შრის უჯრედებთან თანაკულტივაციით. ამ მეთოდით, გარდა უჯრედების პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მახასიათებლების შენარჩუნებისა, შესაძლებელია უჯრედების ხანგრძლივი კულტივირების მიღწევა. ნაჩვენებია, რომ ამ მეთოდით კულტივირებული ღეროვანი უჯრედები შიშველ თაგვებში შეყვანისას მრავალშრიანი გარქოვანებული ეპითელიუმის წარმოქმნაში მონაწილეობენ. დადასტურებულია, რომ ეპიდერმული ღეროვანი უჯრედების კულტურაში მოვლა-შენარჩუნებისთვის ყველაზე ეფექტურია უშრატო არე ზრდის ფაქტორების დამატებით.

ეპითელური უჯრედები კულტურაში

კულტურაში შესაძლებელია რამდენიმე არაეპიდერმული ტიპის ეპითელური უჯრედების გაზრდა და შენარჩუნება. ისევე, როგორც ეპიდერმული ღეროვანი უჯრედების შემთხვევაში, ეპითელური უჯრედების კულტურებში მკვებავი შრე (ფიდერი) გამოიყენება. პროსტატას ეპითელური უჯრედების კულტურები წარმატებით იზრდება სუსპენზიაში 3T3 მკვებავი შრის დამატებით. იგივე მეთოდი გამოიყენება ადამიანის სარძევე ჯირკვლის ეპითელური უჯრედებისა და კოლორექტალური კარცინომის უჯრედების კულტივირებისთვის.

ღეროვანი უჯრედების დახასიათება

ღეროვანი უჯრედების სხვადასხვა პოპულაციების დასახასიათებლად ფართოდ გამოიყენება იმუნოლოგიური მეთოდები. ეს მეთოდები უმეტესწილად ეფუძნება იმუნოციტოქიმიას ფლუორესცენტული მიკროსკოპიის და შეღებვის სხვადასხვა მეთოდის გამოყენებით.

ქსოვილების უჯრედები სპეციფიკურ ზედაპირულ და ციტოპლაზმურ ცილებს წარმოქმნიან. ზედაპირული ცილები, როგორიცაა ინტეგრინები ან დიფერენცირების კლასტერის (cluster of differentiation, CD) ანტიგენების წევრები (მაგ. CD10, CD31,CD44) შეიძლება გამოყენებულ იქნას ეპითელური უჯრედების მარკერებად. გარდა ამისა, ეპითელური უჯრედების (ციტოკერატინის ოჯახის) ციტოპლაზმური ცილები ასევე გამოიყენება ამ უჯრედების საიდენტიფიკაციოდ.

კულტივირებული ღეროვანი უჯრედების გამოყენება

ემბრიონული ღეროვანი უჯრედები ქსოვილების აღდგენაში

კულტივირებული ღეროვანი უჯრედების გამოყენებით შეიძლება დაზიანებული ან დაბერებული ქსოვილების რეპარაცია. შეიძლება კულტივირებული ემბრიონული ღეროვანი უჯრედებით მანიპულირება, რათა მათ წარმოქმნან კონკრეტული ქსოვილისთვის დამახასიათებელი კულტურები. ამგვარად, შესაძლებელია შემდეგი დაავადებების მკურნალობა:

- დიაბეტი - პანკრეასის ინსულინის მაპროდუცირებელი უჯრედებით;
- პარკინსონის დაავადების - კულტივირებული დოფამინის მაპროდუცირებელი ნეირონებით.

ემბრიონული ღეროვანი უჯრედები გამოიყენება ტრანსგენული ცხოველების მისაღებად. ასევე შესაძლებელია ES უჯრედების გენომის მოდიფიცირება გენის პოზიციონირებით, in vitro ტრანსფორმაციით და სელექციით.

ქსოვილსპეციფიკური ღეროვანი უჯრედების გამოყენება

ადამიანებისა და ცხოველების სხვადასხვა ქსოვილებიდან იზოლირებული და in vitro პირობებში კულტივირებული ღეროვანი უჯრედები ES უჯრედებთან შედარებით ნაკლები პოტენტურობით ხასიათდებიან. ისინი ჩვეულებრივ დიფერენცირდებიან უჯრედის ერთ რომელიმე ტიპად და, შესაბამისად, მათ უნიპოტენტური უჯრედები ეწოდებათ. ძვლის ტვინის უჯრედების პოტენციები ES უჯრედებთან შედარებით ასევე შეზღუდულია. თაგვში, რომელსაც ძვლის ტვინი არ გააჩნია, კულტივირებული ნერვული უჯრედების ძვლის ტვინში ტრანსპლანტაციისას ისინი სისხლის უჯრედებს წარმოქმნიან.

7.9 უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობა და ციტოტოქსიკურობა

როდესაც ხდება უჯრედების ცოცხალი ორგანიზმიდან (in vivo) ამოღება და საკულტივაციო არეში (in vitro) მოთავსება სხვადასხვა სახის ექსპერიმენტული მანიპულაციების ჩასატარებლად, დიდი მნიშვნელობა უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას ენიჭება. უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა გამოხატავს მათი არსებობის, გადარჩენისა და განვითარების უნარს.

ბევრ ექსპერიმენტში ცხოველური მოდელების ნაცვლად უჯრედული კულტურები გამოიყენება. ეს მართებულია სხვადასხვა კომპონენტების უსაფრთხოებასა და ციტოტოქსიკურობის შესწავლასთან მიმართებაში (ფარმაცევტული საშუალებები, კოსმეტიკა, კიბოს საწინააღმდეგო წამლები, საკვები დანამატები). ციტოტოქსიკურობისა და უსაფრთხოების შეფასება in vitro პირობებში ეკონომიურია და, გარდა ამისა, ამცირებს ცხოველების გამოყენების უცილებლობას. ციტოტოქსიკურობის კვლევები ფართოდ მოიცავს დაკვირვებას უჯრედების მეტაბოლურ ცვლილებებზე, მათ შორის უჯრედების კვდომზე ნაერთების ტოქსიკური ზემოქმედების გამო. მაგალითად, კიბოს საწინააღმდეგო წამლების შემთხვევაში ყურადღება უჯრედების კვდომას ექცევა, მაშინ როდესაც კოსმეტიკური საშუალებების შემთხვევაში უფრო მნიშვნელოვანია მეტაბოლური ცვლილებები და ალერგიული რეაქციები.

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობისა და ციტოტოქსიკურობის სინჯები

მიუხედავად ზემოთ აღნიშნული შეზღუდვებისა, შემუშავებულია ლაბორატორიულ პირობებში უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობისა და ციტოტოქსიკურობის შეფასების სხვადასხვა მეთოდი. ისინი ზოგადად შემდეგნაირად კლასიფიცირდება:

- სინჯები ციტოტოქსიკურობაზე;
- სინჯები სიცოცხლის შენარჩუნებაზე;
- მეტაბოლური სინჯები;
- ტრანსფორმაციის სინჯები;
- ანთების სინჯები.

უჯრედების კლონირება

კულტივირების ტრადიციულ მეთოდების გამოყენებისას კულტურის უჯრედები ჰეტეროგენური ბუნებისაა. სხვადასხვა მიზნებისთვის ხშირად საჭიროა უჯრედების სუფთა ხაზების იზოლირება. *უჯრედების კლონირება ზოგადად ერთი უჯრედიდან უჯრედების პოპულაციის მიღებას გულისხმობს.* მუდმივი უჯრედული ხაზების კლონირება ბევრად უფრო ადვილია, ვიდრე პირველადი კულტურების ან შეზღუდული უჯრედული ხაზების კლონების მიღება.

არსებობს ნორმალური ქსოვილებიდან მიღებული კულტივირებული უჯრედების კლონირების გარკვეული შეზღუდვები. ეს უჯრედები ცოცხლობენ თაობების შეზღუდული რაოდენობის განმავლობაში და ამიტომ კლონირების შედეგად შეიძლება არ იქნას მიღებული უჯრედების მნიშვნელოვანი რაოდენობა. მეორე მხრივ, ბევრად უფრო ადვილია უჯრედების მუდმივი ხაზების კლონირება მათი ტრასფორმირებული სტატუსის გამო. ამგვარად, ტრანსფორმირებული უჯრედების კლონირება უფრო ეფექტურია, ვიდრე ამ მიზნით ნორმალური უჯრედების გამოყენება. კლონირება შეიძლება განხორციელდეს ორი გზით - ერთშრიანი და სუსპენზირებული კულტურების კლონირება.

ერთშრიანი კულტურების კლონირება

ერთშრიანი კულტურების კლონირებისთვის შეიძლება პეტრის ჯამების ან პლანშეტების გამოყენება. შედარებით ადვილია უჯრედების ცალკეული კოლონიების მოშორება მათი დამაგრების ზედაპირიდან.

სუსპენზირებული კულტურების კლონირება

კლონირება შეიძლება განხორციელდეს სუსპენზიაში, უჯრედების ბლანტ ხსნარებში ან გელზე (აგარში) დათესვით. ვინაიდან შვილეული უჯრედები სუსპენზიაში ყალიბდება, ისინი ინტაქტურნი რჩებიან და სუსპენზიაში კოლონიებს აყალიბებენ.

ორგანოთა კულტურები

ქვემოთ მოკლედ არის აღწერილი ორგანოების კულტივირების (ორგანოების ან მათი დიდი ფრაგმენტების) გამოყენება მათი სტრუქტურული მთლიანობის, საკვები ნივთიერებებისა და აირთა ცვლის, ზრდისა და დიფერენცირების, აგრეთვე დადებით და უარყოფით მხარეებთან მიმართებაში.

სტრუქტურული მთლიანობა

როგორც უკვე აღინიშნა, იზოლირებული უჯრედები ინდივიდუალურია, მაშინ როდესაც ორგანოს კულტურაში უჯრედები ერთ მთლიან ერთეულშია ინტეგრირებული. კულტურაში მნიშვნელოვანწილად ნარჩუნდება უჯრედშორისი კავშირები და ურთიერთქმედებები, რასაც ბუნებრივ ქსოვილში ან ორგანოში ვხვდებით.

ვინაიდან ქსოვილის სტრუქტურული მთლიანობა შენარჩუნებულია, ერთმანეთთან დაკავშირებულ უჯრედებს შეუძლიათ ადჰეზიისა და კომუნიკაციის საშუალებით ერთმანეთში სიგნალების გაცვლა.

საკვები ნივთიერებებისა და აირთა ცვლა

ორგანოს კულტურაში არ არის სისხლძარღვთა სისტემა. ეს ზღუდავს უჯრედებში საკვები ნივთიერებების მიწოდებას და აირთა ცვლას, მიუხედავად იმისა, რომ ლაბორატორიაში სათანადოდ ხორციელდება ღონისძიებები საკვები ნივთიერებების და აირების სწრაფი დიფუზიისთვის ორგანოს კულტურების თხევადი და აირული ფაზების საზღვარზე მოთავსებით. ამის შედეგად, ორგანოს ცენტრალურ ნაწილში შეიძლება ნეკროზი განვითარდეს.

ზოგიერთი მკვლევარი ორგანოების კულტივირებისას უპირატესობას ანიჭებს O_2-ის მაღალი კონცენტრაციის (ზოგჯერ სუფთა O_2-ის) გამოყენებას. უჯრედების O_2-ის მაღალი კონცენტრაციის პირობებში მოთავსება დაკავშირებულია O_2-ით ინდუცირებული ტოქსიკურობის რისკთან, მაგ. ძლიერ ზიანდება საკვები მეტაბოლიტების ცვლა.

ზრდა და დიფერენცირება

ზოგადად ორგანოთა კულტურები არ იზრდება, გარდა მცირეოდენი პროლიფერაციისა, რომელსაც შეიძლება ადგილი ჰქონდეს გარე უჯრედულ შრეებში.

ორგანოთა კულტურების გამოყენების დადებითი მხარეები

- წარმოადგენს მთლიანი ქსოვილის ქცევის ლაბორატორიული შესწავლის პირდაპირ წყაროს;
- აადვილებს ორგანოს/ქსოვილის ბიოქიმიური და მოლეკულური ფუნქციების გაგებას.

ორგანოთა კულტურების გამოყენების შეზღუდვები

- ორგანოთა კულტურები არ მრავლდება, ამიტომ ყოველი ექსპერიმენტის შემთხვევაში საჭიროა დონორისგან ახალი ორგანოს მიღება;
- ვარიაბელურობა მაღალია, რეპროდუქცია კი დაბალი;
- მომზადება ძვირი და რთულია.

ორგანოთა კულტივირების მეთოდები

ორგანოს ან ქსოვილის კულტივაციისას ყველაზე მნიშვნელოვანი მოთხოვნაა მათი ისეთნაირად მოთავსება, რომ ხდებოდეს საკვები ნივთიერებებისა და აირთა ოპტიმალური ცვლა. უმეტესწილად ეს მიიღწევა ქსოვილის აირ-შეზღუდულ ზედაპირზე მოთავსებით შემდეგ საყრდენზე:

- ნახევრადმყარი აგარის გელი;
- შედედებული პლაზმა;
- მიკროფორებიანი ფილტრი;
- ქაღალდის „ტივი“;
- პერსპლექსის ან პლექსიგლაზის ზოლი.

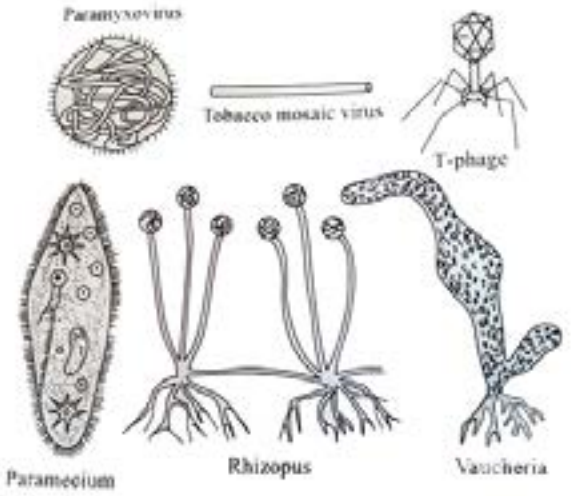
ბოლო წლებში ქსოვილების ბუნებრივი არქიტექტურის შენარჩუნებისთვის გამოიყენება ფილტრის საფენები (*filter-well inserts*).

ორგანოთა კულტიცავიის პროცედურა

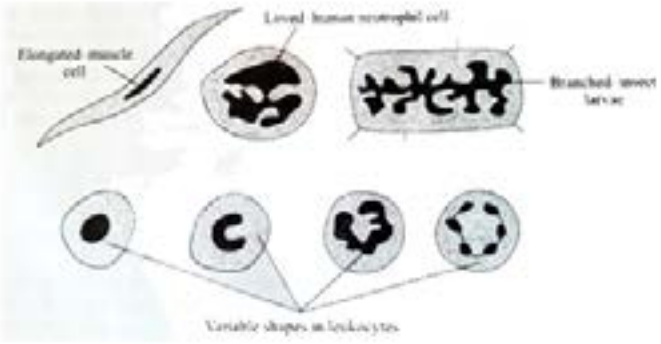
ორგანოთა კულტივაცია შემდეგ ძირითად ეტაპებს მოიცავს:

1. გაკვეთა და ორგანოს ქსოვილის აღება;
2. ქსოვილის ზომის სურვილისამებრ შემცირება (უმჯობესია რომ იყოს ერთ მილიმეტრზე ნაკლები სისქის);
3. ქსოვილის მოთავსება საყრდენზე (მითითებულია ზემოთ), აირული გარემოს ზედაპირზე;
4. ინკუბირება ტენიან CO_2 ინკუბატორში;
5. არის შეცვლა (M 199 ან CMRL 1066) სასურველი სიხშირით;
6. ორგანოთა კულტურის ანალიზი შესაძლებელია ჰისტოლოგიური, ავტორადიოგრაფიული და იმუნოქიმიური მეთოდებით.

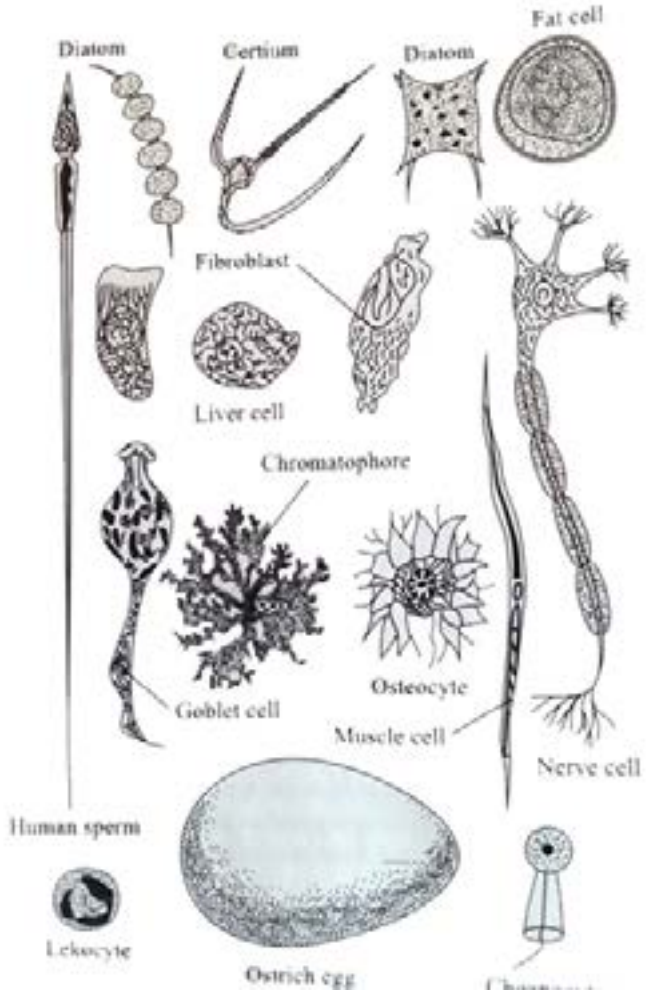
ნახატები



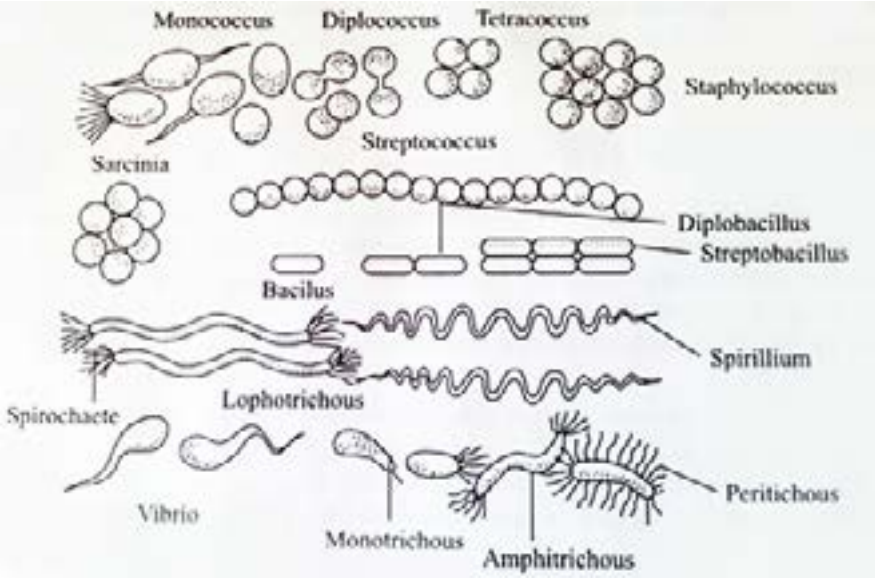
ნახ. 1 გამონაკლისი უჯრედული თეორიიდან (პარამიქსოვირუსი, თამბაქოს მოზაიკური ვირუსი, T-ფაგი, პარამეცია (ქალამანა), რიზოპუსი, ვაუჩერია).



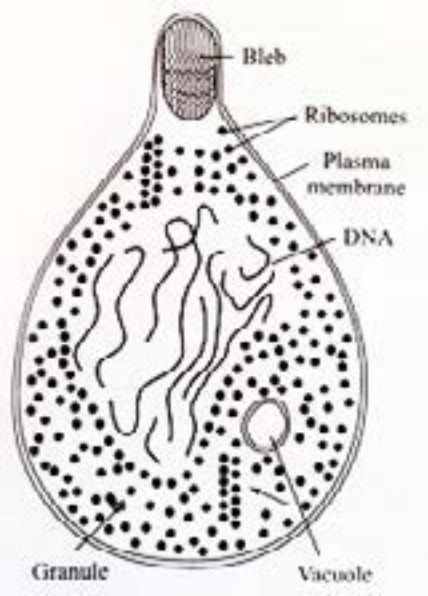
ნახ. 2 ცხოველური უჯრედის ბირთვის ფორმები (წაგრძელებული - კუნთოვანი უჯრედი; სეგმენტირებული - ადამიანის ნეიტროფილი; დატოტვილი - მწერების ლარვა; ლეიკოციტების ბირთვების სხვადასხვა ფორმა).



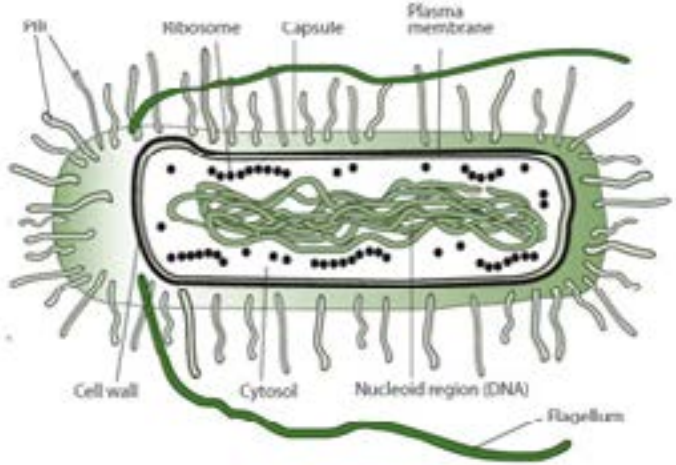
ნახ. 3 ეუკარიოტული უჯრედების ფორმები (დიატომური წყალმცენარეები, ცერტიუმი, ცხიმოვანი უჯრედი, ჰეპატოციტი, ფიბრობლასტი, ბოთლისებრი უჯრედი, პიგმენტური უჯრედი, ოსტეოციტი, კუნთოვანი უჯრედი, ნერვული უჯრედი, ადამიანის სპერმატოზოიდი, ლეიკოციტი, სირაქლემას კვერცხი, ქოანოციტი).



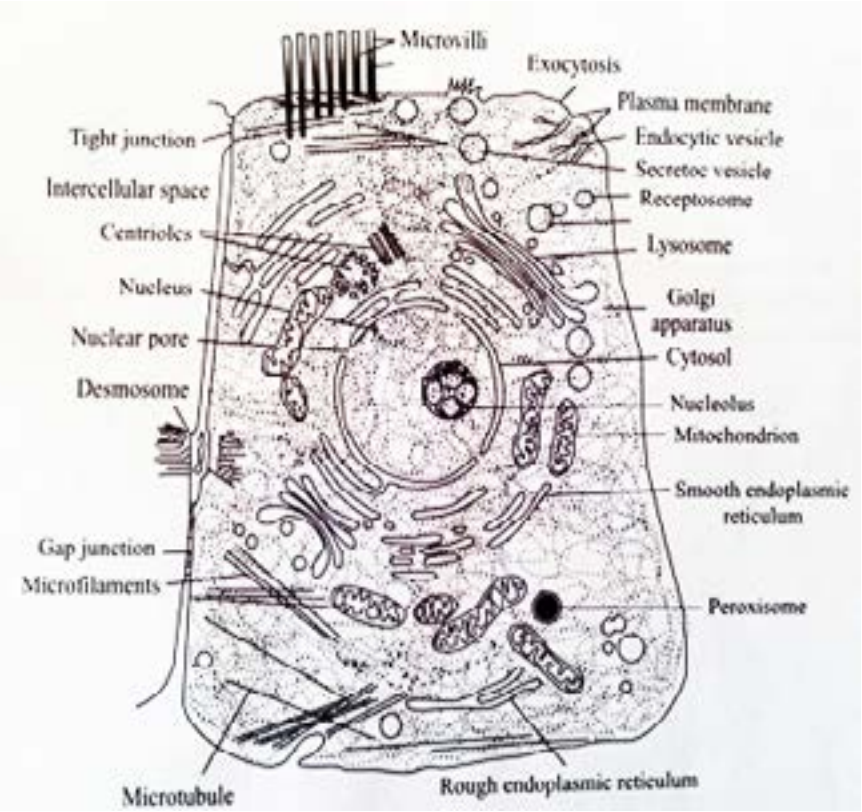
ნახ. 4 ბაქტერიული უჯრედები (მონოკოკი, დიპლოკოკი, ტეტრაკოკი, სტაფილოკოკი, სარცინია, სტრეპტოკოკი, დიპლობაცილა, ბაცილა, სტრეპტობაცილა, სპიროქეტა, სპირილიუმი, ვიბრიონი, ლოფოტრიქები, მონოტრიქები, ამფიტრიქები, პერიტრიქები).



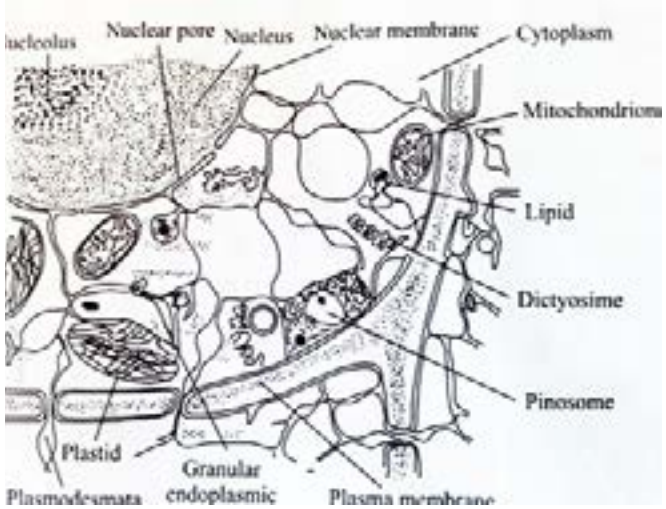
ნახ. 5 ტიპური PPLO უჯრედი (ბუშტუკი, რიბოსომები, პლაზმური მემბრანა, დნმ, ვაკუოლი, გრანულები).



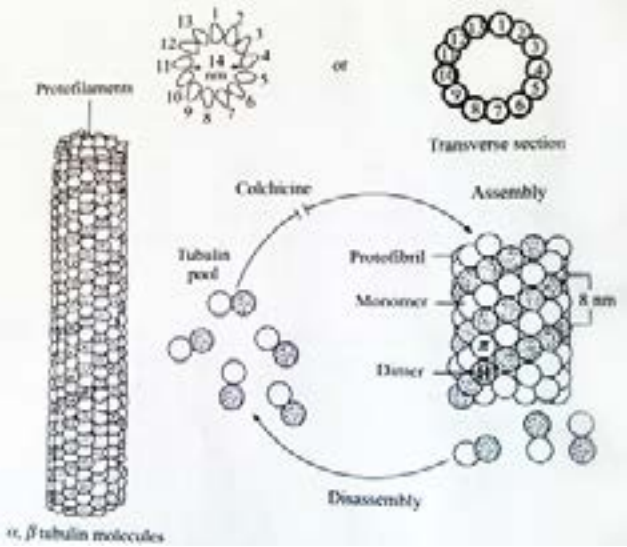
ნახ. 6 Escherichia coli -ტიპური პროკარიოტული უჯრედი (პლაზმური მემბრანა, კაპსულა, რიბოსომები, მიკროპილი, უჯრედული კედელი, ციტოზოლი, ნუკლეოიდი, შოლტი).



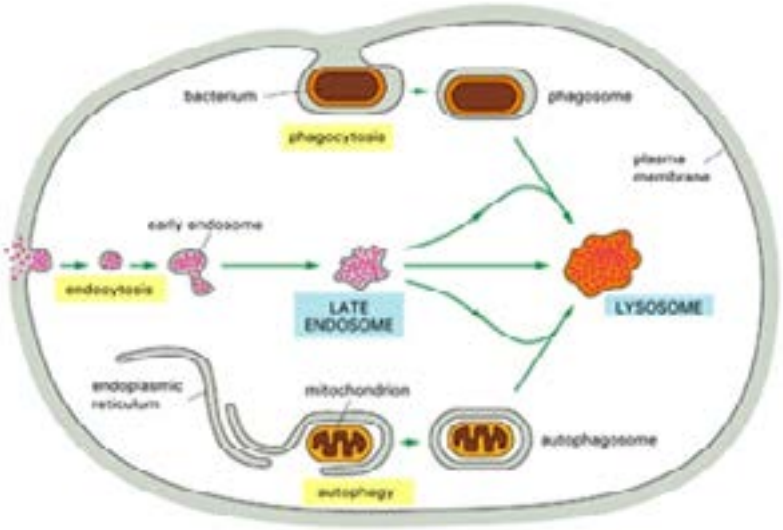
ნახ. 7 ცხოველური უჯრედის ულტრასტრუქტურა (მიკრომილაკები, მიკროფილამენტები, ნაპრალისებური კონტაქტი, დესმოსომა, ბირთვული ფორა, ბირთვი, ცენტრიოლი, მკვრივი კონტაქტი, მიკროხაოები, ეგზოსომა, პლაზმური მემბრანა, ენდოსომა, სეკრეტორული გრანულა, რეცეპტოსომა, ლიზოსომა, გოლჯის აპარატი, ციტოზოლი, ბირთვაკი, მიტოქონდრია, გლუვი ენდოპლაზმური რეტიკულუმი, პეროქსისომა, ხორკლიანი ენდოპლაზმური რეტიკულუმი).



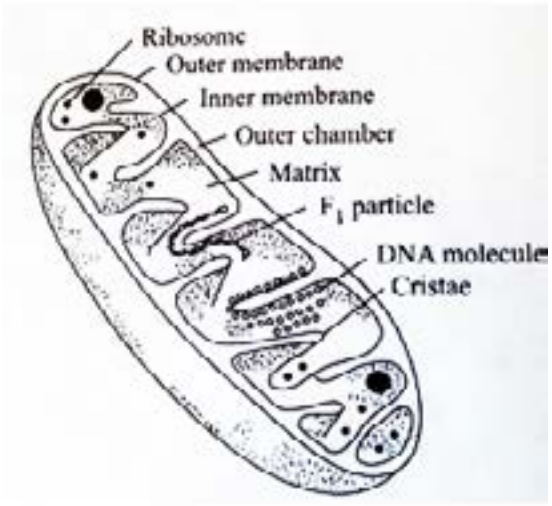
ნახ. 8 მცენარეული უჯრედის ულტრასტრუქტურა (ბირთვაკი, ბირთვული ფორა, ბირთვი, ბირთვული მემბრანა, ციტოპლაზმა, მიტოქონდრია, ცხიმის წვეთი, დიქტიოსომა, პინოსომა, პლაზმური მემბრანა, გრანულარული ენდოპლაზმური ბადე, პლასტიდა, პლაზმოდესმები).



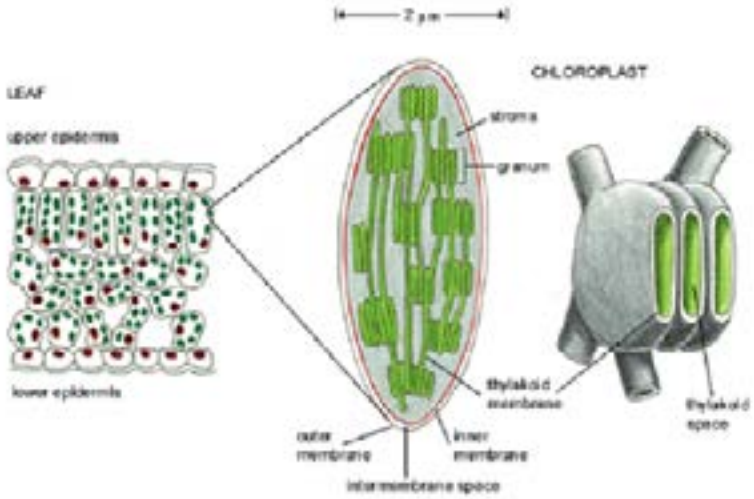
ნახ. 9 მიკრომილაკის აგებულება (α დ β ტუბულინისგან შემდგარი პროტოფილამენტები; მიკრომილაკის განივი ჭრილი; მიკრომილაკების აწყობა-დაშლა).



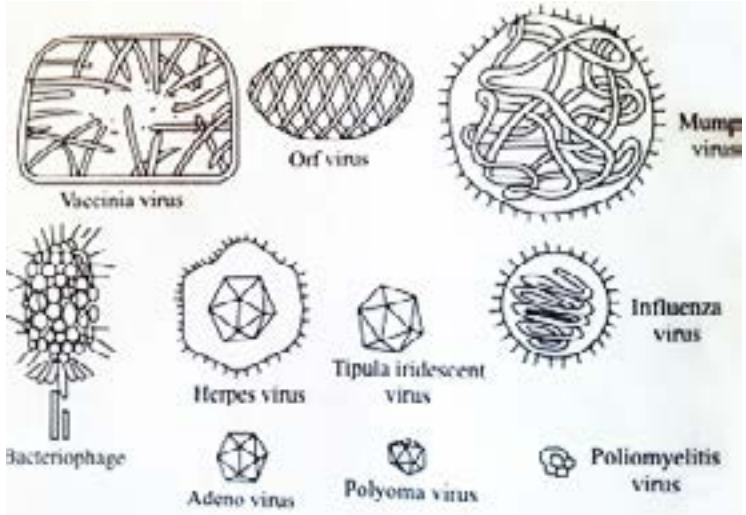
ნახ. 10 სამი ტიპის ლიზოსომების წარმოშობა (ბაქტერიის ფაგოციტოზი - ფაგოსომა - ფაგოლიზოსომა; ენდოციტოზი - პირველადი ენდოსომა - მეორადი ენდოსომა- ენდოლიზოსომა; მიტოქონდრიის აუტოფაგია - აუტოფაგოსომა - აუტოფაგოლიზოსომა).



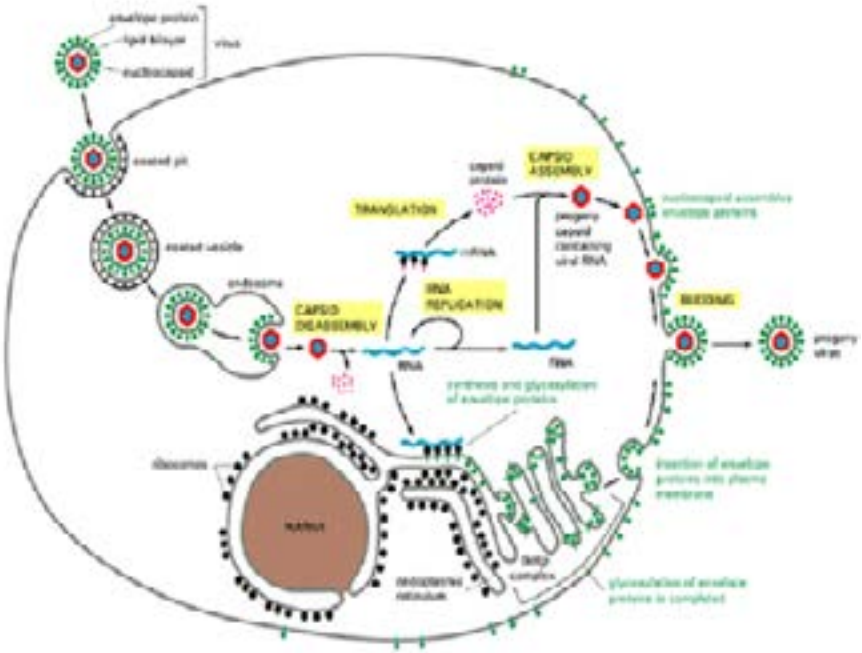
ნახ. 11 მიტოქონდრია - შინაგანი სტრუქტურა (სიგრძივი ჭრილი) (რიბოსომა, გარეთა მემბრანა, შიგნითა მემბრანა, მატრიქსი, F1 - ნაწილაკი, დნმ, კრისტა).



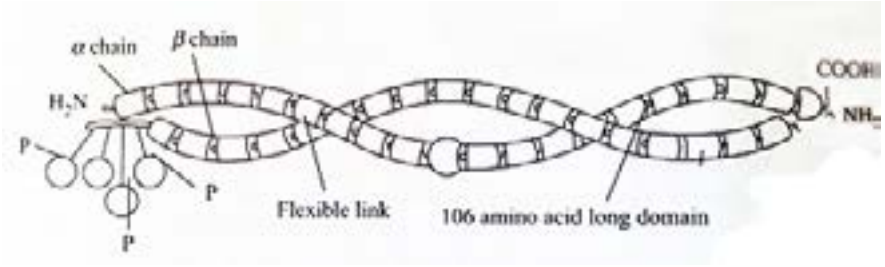
ნახ. 12 A - ქლოროპლასტების განაწილება ფოთლის უჯრედებში; B - ქლოროპლასტის ულტრასტრუქტურა (გარეთა მემბრანა, შიგნითა მემბრანა, მემბრანათაშორისი სივრცე, სტრომა, გრანები, თილაკოიდის მემბრანა); C - გრანების სტრუქტურა (თილაკოიდის მემბრანა, თილაკოიდის სივრცე) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



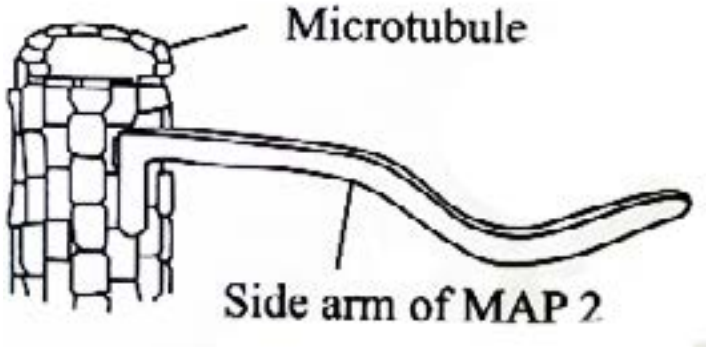
ნახ. 13 ვირუსების ტიპები (ვაქცინიას ვირუსი, თურქულის ვირუსი, წითურას ვირუსი, ბაქტერიოფაგი, ჰერპეს ვირუსი, გრიპის ვირუსი, Tipula iridescent ვირუსი, ადენოვირუსი, პოლიომას ვირუსი, პოლიომიელიტის ვირუსი).



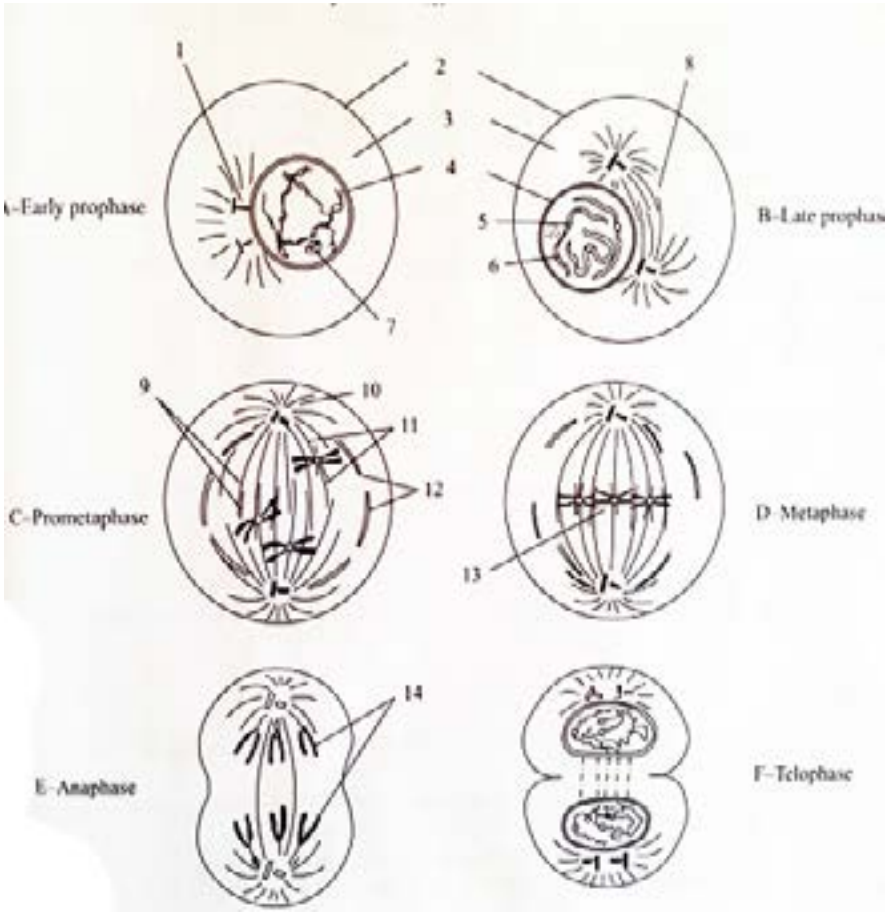
ნახ. 14 სემილიკის ტყის ვირუსის სასიცოცხლო ციკლი (გარსის ცილა; ვეზიკულა; ენდოსომა; გამოსვლა ენდოსომიდან; კაპსიდის ცილა - ნუკლეოკაპსიდი უკავშირდება გარსის ცილას - დაკვირტვა - წარმოქმნილი ვირიონი; ხორკლიანი ენდოპლაზმური რეტიკულუმი - გარსის ცილის გლიკოზილირება - გარსის ცილის მასპინძელი უჯრედის პლაზმურ მემბრანაში ჩაშენება (ალბერტსისა და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 15 ადამიანის ერითროციტის სპექტრინი (A-ჯაჭვი, β-ჯაჭვი, 106 ამინომჟავის სიგრძის დომენი).



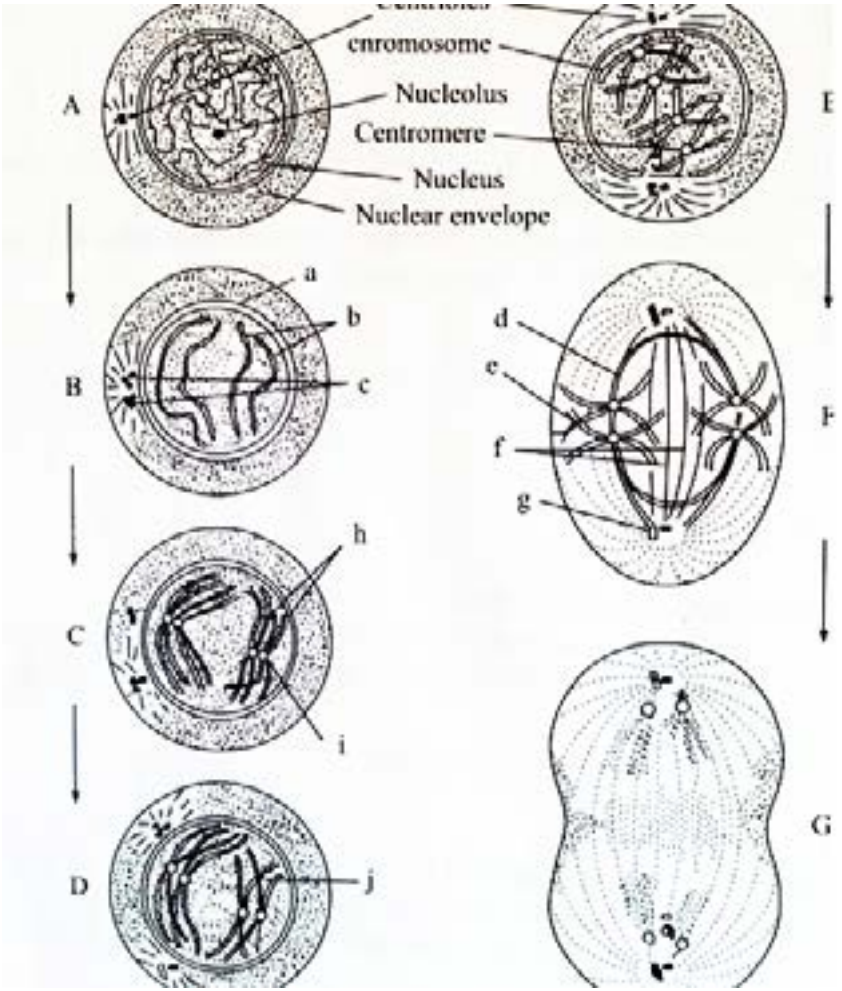
ნახ. 16 მიკრომილაკის სტრუქტურა (MAP2-ის გვერდითი მხარი)



ნახ. 17 მიტოზი ცხოველურ უჯრედში.

A- ადრეული პროფაზა
B- გვიანი პროფაზა
C- პრომეტაფაზა
D- მეტაფაზა
E- ანაფაზა
F- ტელოფაზა

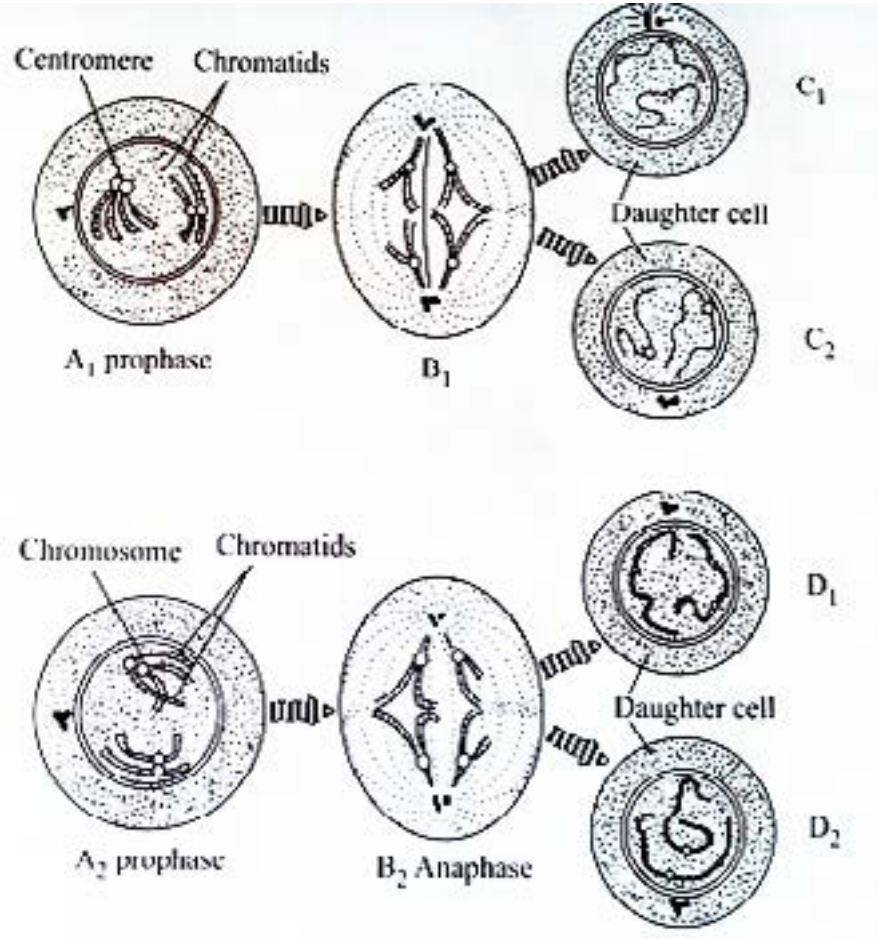
1 - ცენტრიოლი, 2 - პლაზმური მემბრანა, 3 - ციტოპლაზმა, 4 - ბირთვული მემბრანა, 5 - ცენტრომერა, 6 -ქრომოსომები, 7 - ბირთვაკი, 8 - ბიპოლარული თითისტარა, 9 - მიკრომილაკები, 10 - თითისტარას პოლუსები, 11 - კინეტოქორის მიკრომილაკები, 12 - ბირთვული მემბრანის ფრაგმენტები, 13 - მეტაფაზურ ფირფიტაზე დაწყობილი ქრომოსომები (ეკვატორი), 14 - ქრომოსომები (ბერნსისა და ბოტინოს მიხედვით, 1989).



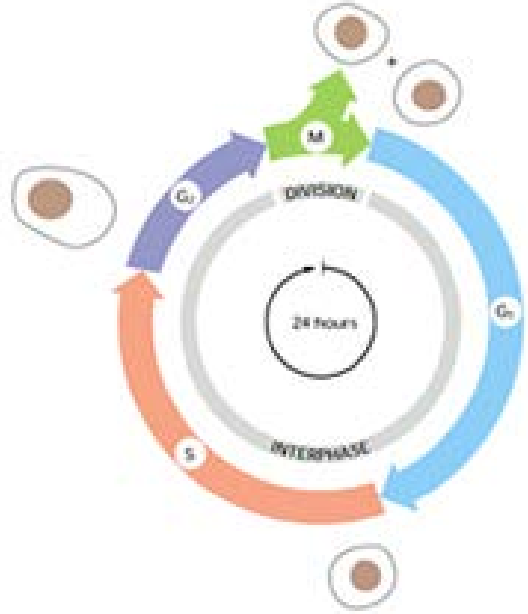
ნახ. 18 პირველი მეიოზური გაყოფა.

(A - ლეპტოტენა; B - ზიგოტენა; C – პაქიტენა; D- დიპლოტენა; E- დიაკინეზი; F- მეტაფაზა; G - გვიანი მეტაფაზა.

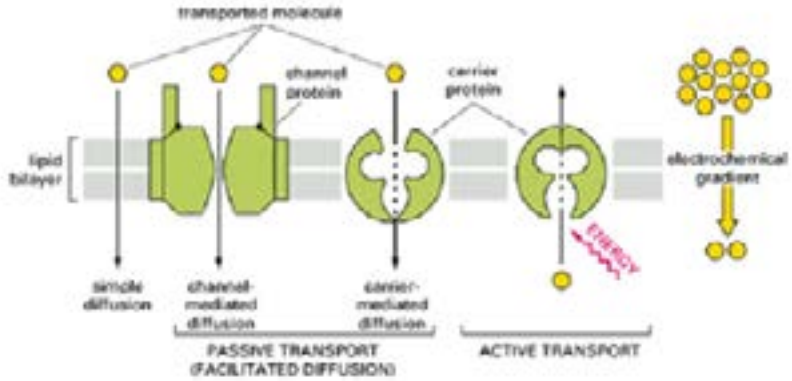
ა - ბირთვული მემბრანა; ბ - ჰომოლოგიური ქრომოსომები; გ - შვილეული ცენტრიოლები; დ - ქრომოსომული ძაფები; ე,კ - ქიაზმა; ვ - გრძელი ფიბრილები; ზ- ცენტრიოლები; თ - ქრომატიდები; ი - ცენტრომერა) (კინგის მიხედვით, 1965).



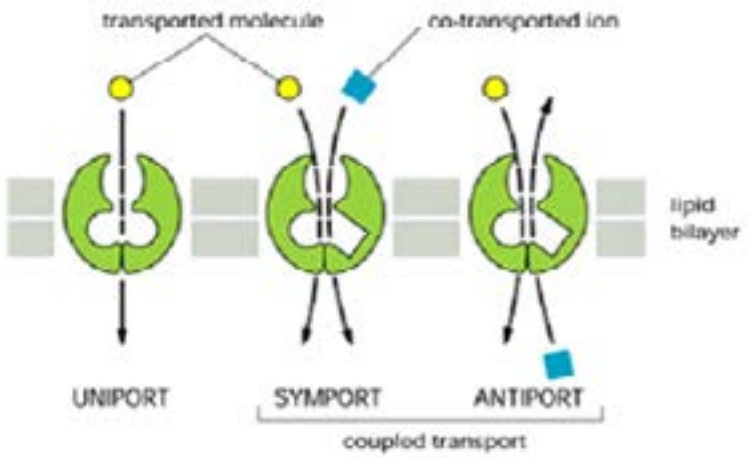
ნახ. 19 მეორე მეიოზური გაყოფა.
(A1 პროფაზა B1 ანაფაზა; A2 პროფაზა B2 ანაფაზა) (კინგის მიხედვით, 1965).



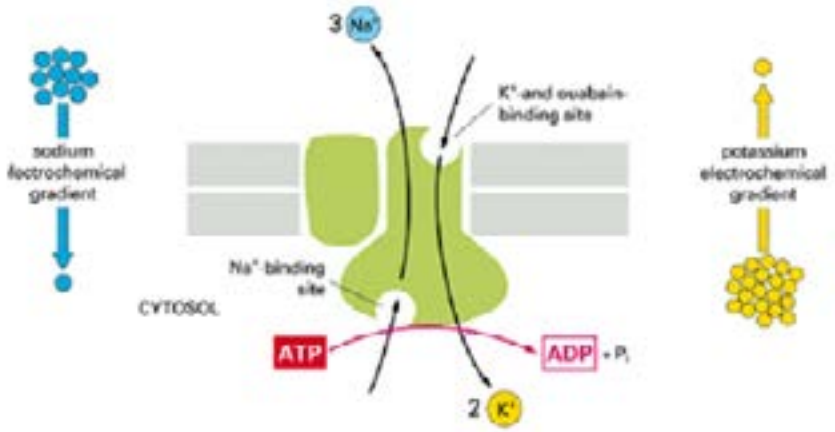
ნახ. 20 უჯრედული ციკლის ფაზები (გაყოფა; ინტერფაზა)



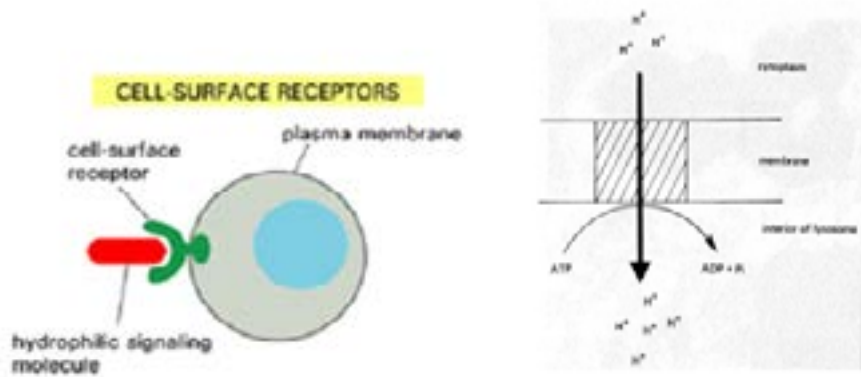
ნახ. 21 პასიური და აქტიური მემბრანული ტრანსპორტის ტიპები (სატრანსპორტო მოლეკულა - მარტივი დიფუზია ბილიპიდურ შრეში; დიფუზია იონური არხის მეშვეობით; დიფუზია ცილა-მატარებლის მეშვეობით; აქტიური ტრანსპორტი; ელექტროქიმიური გრადიენტი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007)



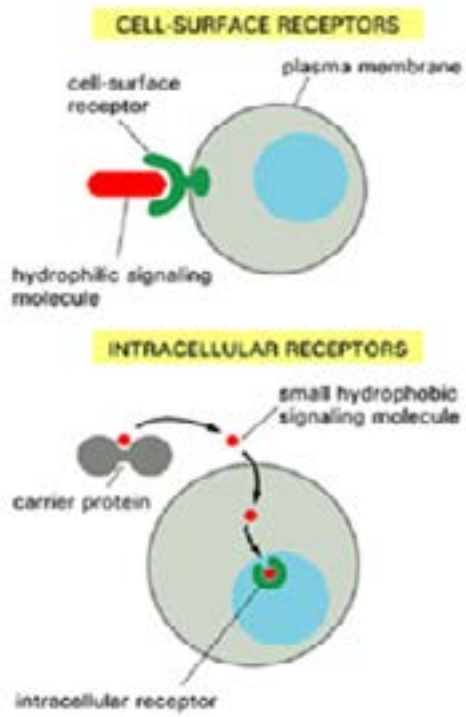
ნახ. 22 ტრანსპორტი იონური არხების საშუალებით (უნიპორტი, შეწყვილებული ტრანსპორტი (სატრანსპორტო მოლეკულა და კოტრანსპორტის იონი - სიმპორტი, ანტიპორტი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



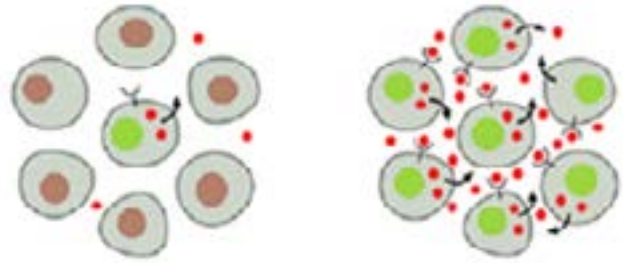
ნახ. 23 Na^+, K^+ -ატფაზური ტუმბო (მარცხნივ - ნატრიუმის ელექტროქიმიური გრადიენტი, მარჯვნივ - კალიუმის ელექტროქიმიური გრადიენტი; მაღლა - კალიუმის დაკავშირების საიტი, დაბლა - ნატრიუმის დაკავშირების საიტი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 1989)



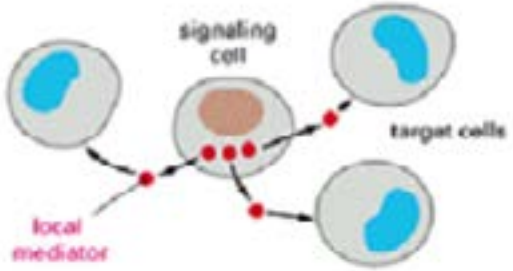
ნახ. 24 პროტონული ტუმბო (ციტოპლაზმა, მემბრანა, ლიზოსომის შიგთავსი)



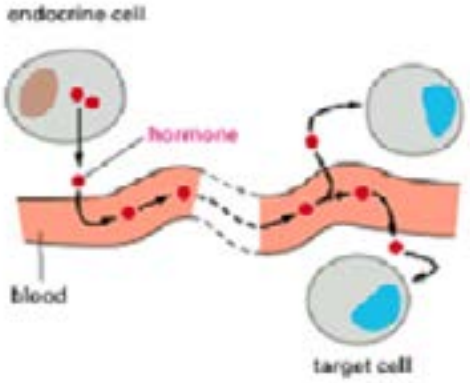
ნახ. 25 უჯრედის გარე სასიგნალო მოლეკულები - კავშირი უჯრედული ზედაპირის რეცეპტორებთან ან უჯრედშიდა რეცეპტორებთან (უჯრედული ზედაპირის რეცეპტორი - ჰიდროფილური სასიგნალო მოლეკულა, პლაზმური მემბრანის ზედაპირული რეცეპტორი; უჯრედშიდა რეცეპტორი - ცილა-მატარებელი, მცირე ჰიდროფობული სასიგნალო მოლეკულა, შიდაუჯრედული რეცეპტორი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



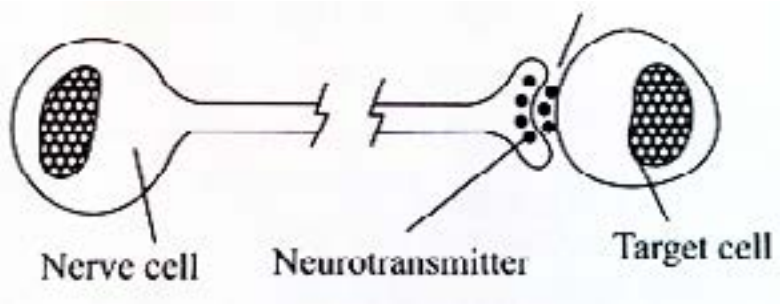
ნახ. 26 აუტოკრინული სიგნალიზაცია (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



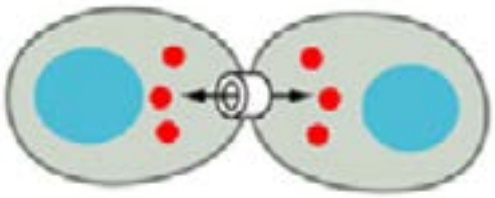
ნახ. 27 პარაკრინული სიგნალიზაცია (სასიგნალო უჯრედი, ადგილობრივი მოქმედების მედიატორი, სამიზნე უჯრედები) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



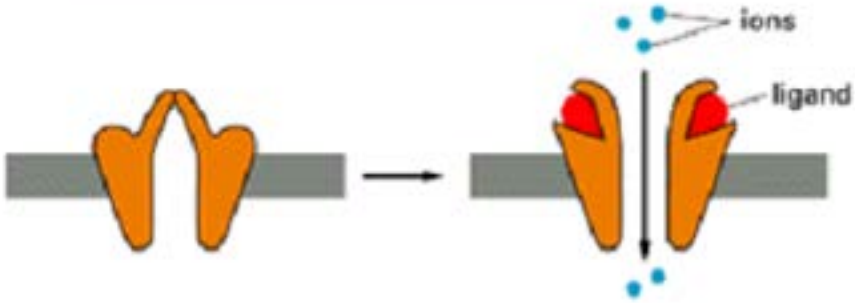
ნახ. 28 ენდოკრინული სიგნალიზაცია (ენდოკრინული უჯრედი, ჰორმონი, სისხლი, სამიზნე უჯრედი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



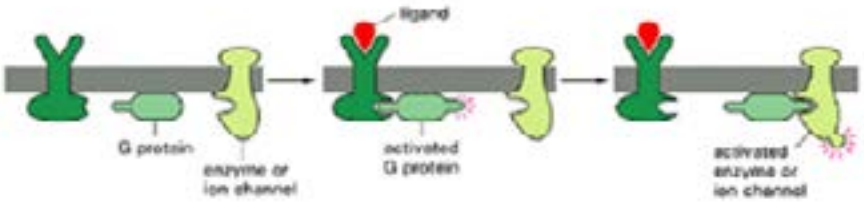
ნახ. 29 სინაფსური სიგნალიზაცია (ნეირონი, ნეიროტრანსმიტერი, სამიზნე უჯრედი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 1989).



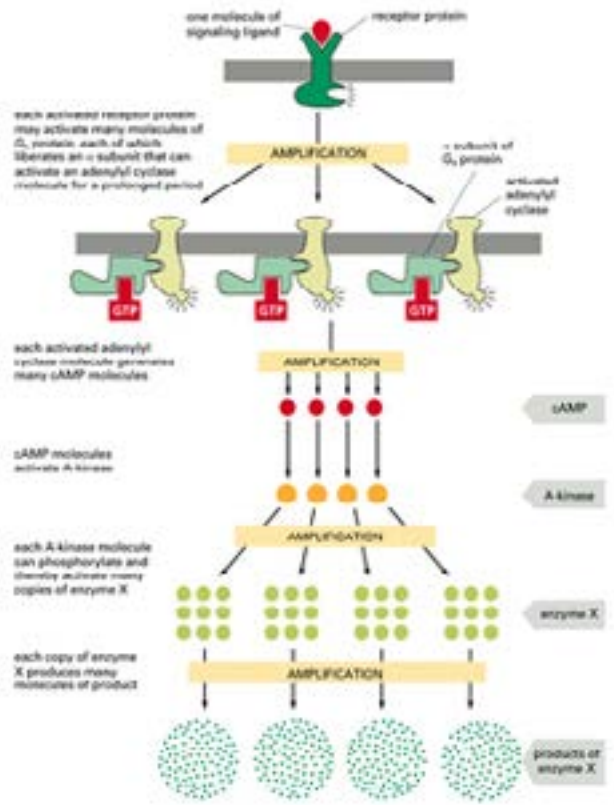
ნახ. 30 სიგნალიზაცია ნაპრალისებრი კონტაქტების მეშვეობით (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 31 იონურ არხთან დაკავშირებული რეცეპტორი (იონები, ლიგანდი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 32 G - ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორი (G-ცილა, ფერმენტი ან იონური არხის ცილა, აქტივირებული G-ცილა, აქტივირებული ფერმენტი ან იონური არხი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 33 ამპლიფიკაციის პროცესი, რომელიც კასკადის მოდელის მიხედვით მიმდინარეობს (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).

(სასიგნალო ლიგანდის ერთი მოლეკულა - რეცეპტორული ცილა;

ყოველი აქტივირებული რეცეპტორული ცილა ააქტიურებს G-ცილის მრავალ მოლეკულას, ყოველი G-ცილას მოლეკულა ათავისუფლებს α-სუბერთეულს, რომელიც ხანგრძლივი პერიოდით ადენილილციკლაზას ააქტიურებს;

ამპლიფიკაცია;

ყოველი აქტივირებული ადენილილციკლაზა ააქტიურებს მრავალ ციკლურ ამფ-ს;

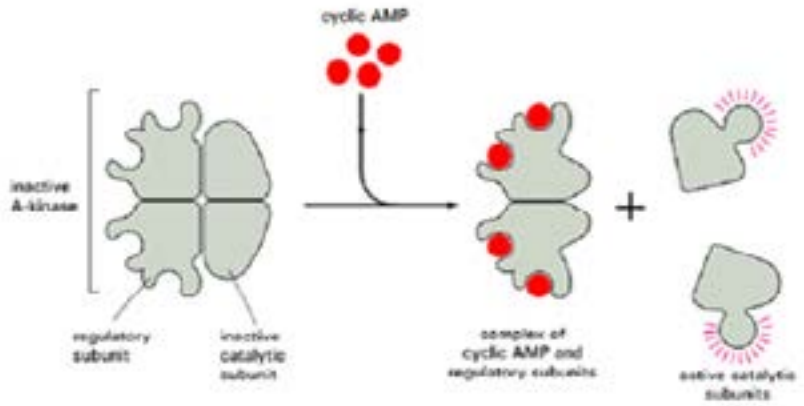
ყოველი cAMP ააქტიურებს მრავალ A-კინაზას;

ამპლიფიკაცია;

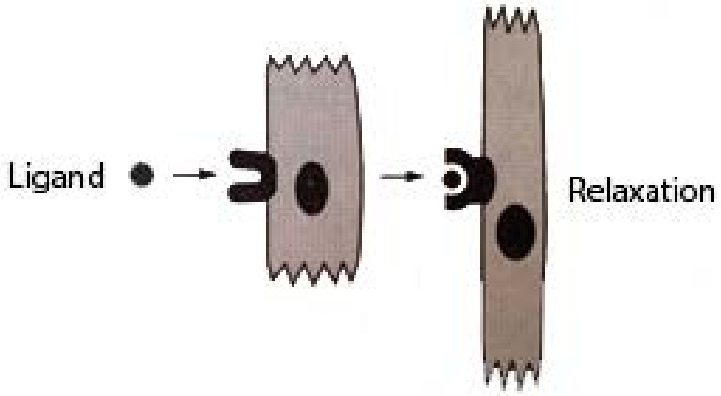
ყოველი A-კინაზა აფოსფორილირებს და ამდენად ააქტიურებს x ფერმენტის მრავალ კოპიას;

ამპლიფიკაცია;

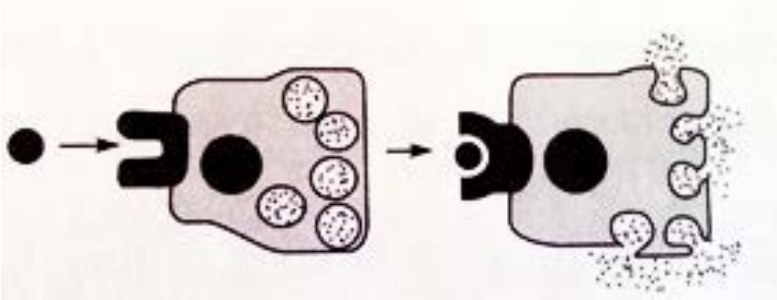
x ფერმენტის ყოველი კოპია პროდუქტის მრავალ მოლეკულას წარმოქმნის)



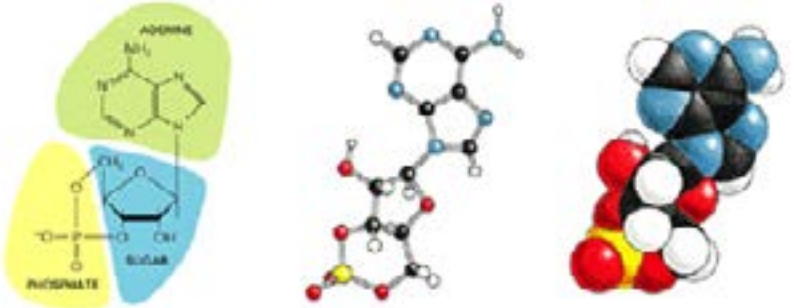
ნახ. 34 ციკლური ამფ - დამოკიდებული პროტეინკინაზას (A-კინაზა) აქტივაცია (ინაქტივირებული A-კინაზა, რეგულატორული სუბერთეული, ინაქტიური კატალიზური სუბერთეული, ციკლური ამფ, ციკლური ამფ-ს და რეგულატორული სუბერთეულების კომპლექსი, აქტიური კატალიზური სუბერთეულები).



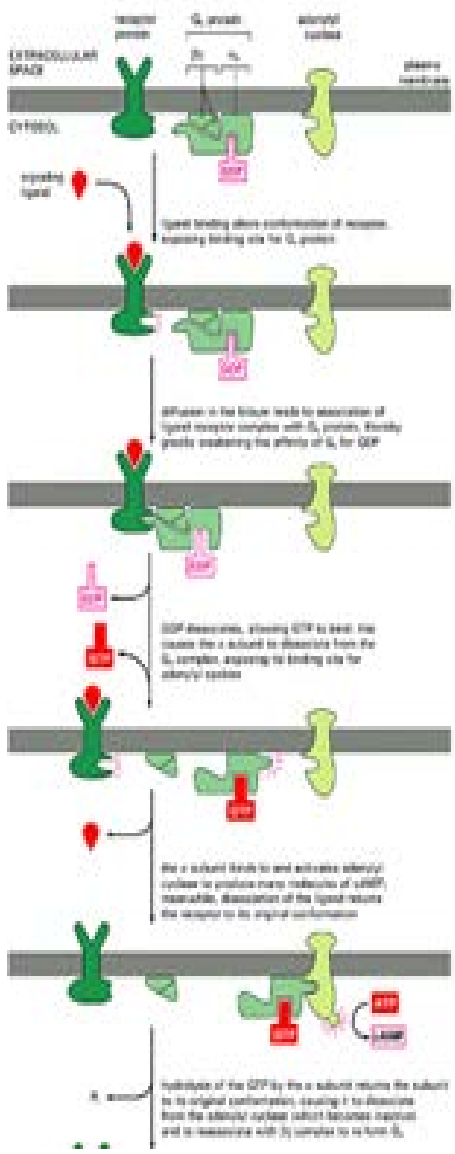
ნახ. 35 შეკუმშვა და მოდუნება გულის კუნთის უჯრედებში (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 1989).



ნახ. 36 სეკრეტორული უჯრედი (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 1989).



ნახ. 37 ციკლური ამფ (ნაჩვენებია ფორმულა; მოდელი სიბრტყეში; სივრცითი მოდელი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 38 როგორ უკავშირდება Gs ცილასთან შეუღლებული რეცეპტორის აქტივაცია ადენილატციკლაზას აქტივაციას - თანამედროვე მოდელი (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).

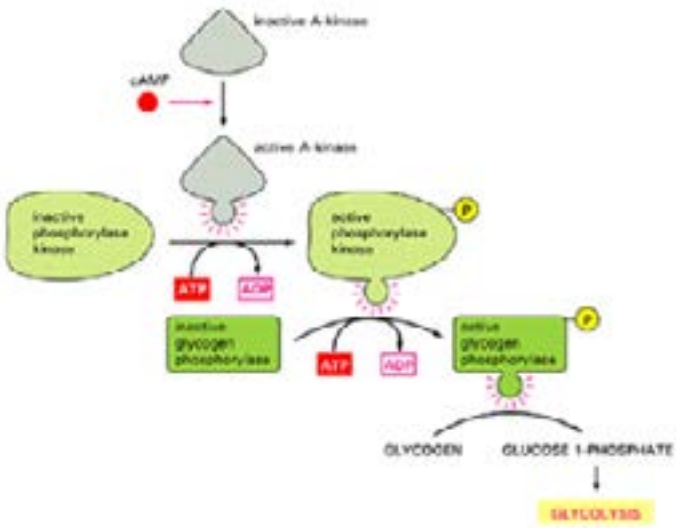
საფეხური - 1: ლიგანდთან დაკავშირება იწვევს რეცეპტორის კონფორმაციის ცვლილებას, რასაც მოჰყვება Gs-დაკავშირების საიტის გახსნა.

საფეხური - 2: დიფუზია პლაზმური მემბრანის ორმაგ შრეში იწვევს ლიგანდ-რეცეპტორის კომპლექსის დაკავშირებას Gs-ცილასთან, შედეგად მკვეთრად სუსტდება Gs ცილის აფინურობა GDP-ს მიმართ.

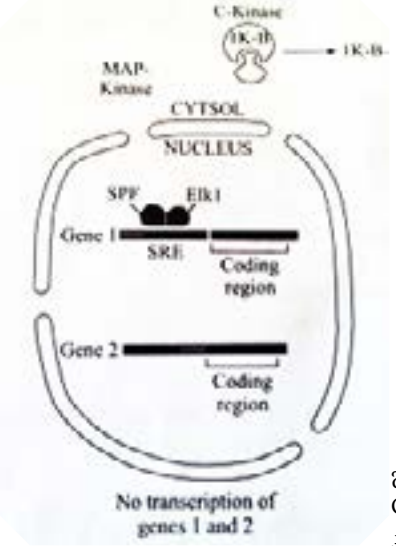
საფეხური - 3: GDP დისოცირდება, მყარდება კავშირი GTP-სთან, ამის შედეგად α-სუბერთეული დისოცირდება Gs კომპლექსიდან, და იხსნება ადენილატციკლაზას დაკავშირების საიტი.

საფეხური-4:α-სუბერთეული უკავშირდება და ააქტიურებს ადენილატციკლაზას მრავალი ციკლური AMP მოლეკულის წარმოქმნით; ამავდროულად ლიგანდ-რეცეპტორული კავშირის დისოციაცია იწვევს ამ უკანასკნელის კონფორმაციის პირვანდელ მდგომარეობაში დაბრუნებას.

საფეხური - 5. GTP-ის ჰიდროლიზის შედეგად α-სუბერთეული აღადგენს თავის საწყის კონფორმაციას, ამის შედეგად ის დისოცირდება ადენილატციკლაზასაგან (რომელიც აქტიურ ფორმაში გადადის) და ისევ უკავშირდება β-γ კომპლექსს Gs მოლეკულის აღდგენით.



ნახ. 39 პროტეინფოსფატაზა I-ის როლი გლიკოგენის მეტაბოლიზმში ციკლური ამფ-ს მონაწილეობით (არააქტიური A კინაზა; cAMP, აქტიური A კინაზა, ინაქტიური ფოსფატაზა-მაინჰიბირებელი ცილა; ატფ; ადფ; არააქტიური ფოსფორილაზკინაზა - აქტიური ფოსფორილაზკინაზა; არააქტიური გლიკოგენფოსფორილაზა - აქტიური გლიკოგენფოსფორილაზა; გლიკოგენ - გლუკოზო-1-ფოსფატი; გლიკოლიზი) (ალბერტსის და სხვ. მიხედვით, 2007).



ნახ. 40 ორი უჯრედშიდა სასიგნალო გზა, რომლის მეშვეობით გააქტივებული C-კინაზა სპეციფიკური გენების ტრანს-კრიპციას ააქტიურებს.