

წიწილების თავის ტვინის ენდოპლაზმური ბადის ცილა კოგნიტის
ინტერაქტომის შესწავლა

მაკა ჩხეიძე

სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო და საინჟინრო ფაკულტეტზე მოლეკულური
ბიომეცნიერებათა მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების

შესაბამისად

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სამაგისტრო პროგრამა

ხელმძღვანელი: პროფესორი რევაზ სოლომონია

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2017 წელი

სარჩევი

სურათების ჩამონათვალი-----	ii
აბრევიატურების ჩამონათვალი-----	iii
აბსტრაქტი-----	1
შესავალი-----	3
1. ლიტერატურის მიმოხილვა-----	6
1.1 ცილა კოგნინის პირველი იდენტიფიკაცია და მისი დახასიათება-----	6
1.2 იმპრინტინგი როგორც მოდელი დასწავლისა და მეხსიერების შესწავლისათვის -----	11
1.3 ცილა კოგნინის მონაწილეობა მხედველობითი შთაბეჭდვის პროცესებში-----	18
1.4 ცილა კოგნინის ენდოპლაზმურ ბადეში ინტერაქტომი სშესწავლის საჭიროება -----	20
2. მეთოდოლოგია-----	21
2.1 ენდოპლაზმური ბადის ფრაქციის მიღება წიწილების თავის ტვინიდან-----	22
2.2 სუბუჯრედული ფრაქციის ექსტრაქცია RIPA ბუფერით-----	22
2.3 კო-იმუნოპრეციპიტაცია კოგნინის წინააღმდეგ გამომუშავებული ანტისხეულებით და აფინური ქრომატოგრაფია პროტეინ A/G სეფაროზაზე -----	23
2.4 ელუატის 1-განზომილებიანი ელექტროფორეზი და გამოვლენილი ცილოვანი ლაქების იდენტიფიკაცია მას-სპექტრომეტრული მეთოდით-----	25
ვესტერნ იმუნობლოტინგი-----	26
3. მიღებული შედეგები-----	27

3.1 78კდა გლუკოზის- რეგულაციის ცილა/ GRP78-----	30
3.2 ტუბულინ α და ტუბულინ β -----	31
3.3 ჰეტეროგენული ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინებიhnRNP3-----	32
3.4 VPS10 დომენის შემცველი რეცეპტორი SorCS1-----	33
3.5 მიტოქონდრიული ცილა სტრეს-70-----	33
4. დასკვნა-----	34
5. ბიბლიოგრაფია-----	35

აბრევიატურების ჩამონათვალი

1. პდი- პროტეინ დისულფიდ იზომერაზა
2. იმმ-ინტერმედიალური და მედიალური მეზოპალიუმი
3. DTT- დითიოტრეიტოლი
4. NEM- ნ-ეთილმალეიმიდი
5. EDTA- ეთილენდიამინ-ტეტრამჟავა
6. IAA -იოდოაცეტამიდი
7. SDS- ნატრიუმის დოდეცილსულფატი
8. TCEP- ტრი(2-(კარბოქსიეთილ)ფოსფინი
9. hnRNP -ჰეტეროგენული ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინი
10. GRP- გლუკოზის რეგლაციის ცილა
11. კდა-კილოდალტონი
12. მკლ- მიკრო ლიტრი

სურათების ჩამონათვალი

სურ.1.წიწილების ტრენირება მბრუნავ ბორბალში

სურ.2 კოგნინის კო-იმუნოპრეციპიტანტის კუმასით შეღებილი ფორეზის გელი

სურ.3კოგნინის კო-იმუნოპრეციპიტანტის ვესტერნ იმუნობლოტის

გამჟღავნებული ფირი

სურ. 4. GRP78ცილის სამ-განზომილებიანი სტრუქტურა

აბსტრაქტი

თანამედროვე მეცნიერებაში დასწავლა-მეხსიერების მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმის შესწავლისათვის წარმატებით იყენებენ იმპრინტინგის მოდელს ახლად გამოჩეკილ წიწილებში. იმპრინტინგი არის მეხსიერების ერთ-ერთი ფორმა, რომელიც ცხოველების მრავალი სახეობისთვის არის დამახასიათებელი, რომლის დროსაც ცხოველები სწავლობენ ობიექტის ვიზუალურ მახასიათებლებს და შემდგომი შეხვედრისას ამოიცნობენ მას.

წიწილების თავის ტვინში ნანახი იქნა დასწავლასა და ვიზუალურ მეხსიერებაში მონაწილე უბანი, რომელსაც წარმოადგენს მედიალური და ინტერმედიალური მეზოპალიუმი (იმმ). დასწავლასთან დაკავშირებული ცვლილებების პროტეომის შესწავლამ გამოავლინა დასწავლასთან დაკავშირებული სპეციფიკური ცილების გაზრდილი რაოდენობა იმმ-ში (განსაკუთრებით კი მარცხენა იმმ-ში). მათ შორის გამოიკვეთა ცილა კოგნინის მნიშვნელოვანი მონაწილეობა მხედველობით იმპრინტინგში, დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში.

კოგნინი წარმოადგენს უჯრედის ადჰეზიურ ცილას. ცნობილია, როგორც პროტეინ დისულფიდ იზომერაზა. იგი მდიდარია თიოლის ჯგუფებით და დისულფიდური გაცვლების საშუალებით ბევრ ცილასთან ამყარებს ცილა-ცილოვან კავშირს. უჯრედში ძირითადად გვხვდება ენდოპლაზმურ ბადეში და პლაზმურ მემბრანაში. თავდაპირველად ენდოპლაზმურ ბადეშია ლოკალიზებული და შემდეგ გადაინაცვლებს უჯრედის ზედაპირზე. იმპრინტინგის პროცესში მისი რაოდენობა სპეციფიკურად იზრდება მემბრანულ ფრაქციაში.

ჩვენი კვლევის მიზანია, წიწილების თავის ტვინში, ცილა კოგნიტის ინტერაქტომის შესწავლა მის ბაზისურ სუბუჯრედულ კომპარტმენტში ენდოპლაზმურ ბადეში. კოგნიტთან მორეაგირე ცილების იდენტიფიკაცია საშუალებას მოგვცემს უფრო ღრმად გავერკვიოთ კოგნიტის ფუნქციებში დასწავლა-მეხსიერების პროცესებში.

კოგნიტის ინტერაქტომის იდენტიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ 1-განზომილებიანი (აკრილამიდის) გელ-ელექტროფორეზის, კო-იმუნოპრეციპიტაციის, აფინური ქრომატოგრაფიის, ვესტერნ იმუნობლოტისა და მას-სპექტრომეტრული მეთოდი.

მას-სპექტრულმა ანალიზმა გამოავლინა ცილა კოგნიტთან დაკავშირებული ცილები: 78კდა გლუკოზის-რეგულაციის ცილა/ GRP78, ჰეტეროგენული ბირთვული რიბონუკლეოპროტეინები H3, VPS10 დომენის შემცველი რეცეპტორი SorCS1, ტუბულინ α და ტუბულინ β (ტუბულინ β -1, ტუბულინ β -2, ტუბულინ β -4, ტუბულინ β -7), ცილა სტრეს-70.

მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ კოგნიტის ინტერაქტომის ცილები ენდოპლაზმურ ბადეში სხვადასხვა მნიშვნელოვანი ბიოქიმიური გზების რეგულაციაში მონაწილეობენ.

საძიებო სიტყვები: იმპრიტინგი, კოგნიტის ინტერაქტომი, ენდოპლაზმური ბადე, დასწავლა-მეხსიერება.