

## შესავალი

**ნაშრომის აქტუალობა.** ბიოლოგიური მაკრომოლეკულების, მათ შორის გლობულური ცილების, ფუნქციური მექანიზმების შესწავლას ამ ობიექტების კონფორმაციულ ძვრადობასა და თერმოდინამიკურ სტაბილობასთან ურთიერთკავშირში ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანი ადგილი უკავია თანამედროვე მოლეკულურ ბიოფიზიკასა და მომიჯნავე მიმართულებებით.

თანამედროვე წარმოდგენების მიხედვით, ბიომაკრომოლეკულები, მათი ფუნქციიდან გამომდინარე, ხასიათდებიან როგორც ჩამოყალიბებული სტრუქტურული თავისებურებებით (კარგად გამოკვეთილი სამ-განზომილებიანი აგებულება), ასევე მათი ფუნქციონირებისათვის აუცილებელი მოქნილობით (ფლუქტუაციული ლაბილობით), და იმის უნარით, რათა ერთი კონკრეტული სტრუქტურული მდგომარეობიდან გადავიდნენ სხვა, მსგავსს, ან განსხვავებულ სტრუქტურულ მდგომარეობაში (ან ქვე-მდგომარეობაში). ასეთი გადასვლები, გარდა უშუალო ფუნქციური დანიშნულებისა (მაგალითად, ფერმენტული კატალიზი, ელექტრონების ტრანსპორტი, უნბადის ტრანსპორტი და სხვა), აგრეთვე ასრულებენ უმნიშვნელოვანეს როლს ბიო-მაკრომოლეკულების სასიცოცხლო წრებრუნვაში (მაგალითად მათი აწყობა და დეგრადაცია, ტრანსმემბრანული ტრანსპორტი, და სხვა).

გლობულური ცილების ფუნქციური აქტივობის მექანიზმების ექსპერიმენტული შესწავლის მიზნით ტრადიციულად სხვადასხვა კინეტიკური მეთოდი გამოიყენება. მაგრამ, ატომ-მოლეკულური გარდაქმნების, მათ შორის, მუხტის გადატანის თანამედროვე ფიზიკური თეორიის წარმოშობამდე ამ მიმართულებით ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევები ძირითადად უფრო ბიოქიმიის სფეროს მიეკუთვნებოდა. XX საუკუნის 50-60-იანი წლებიდან დაწყებული, ინტენსიურად ვითარდებოდა და ამ დროისათვის მაღალი განვითარების დონეს მიაღწია თეორიულმა წარმოდგენებმა კონდენსირებულ გარემოში (სითხეები, თხევადი კრისტალები, მინისებრი მატერია, ბიომოლეკულები) მიმდინარე პროცესების ფიზიკური მექანიზმების შესახებ. ამ საქმეში მნიშვნელოვანი როლი ითამაშეს გამოჩენილმა მეცნიერებმა: რ. მარკუსმა, რ. დოლონაქემ, ჯ. ჯორტნერმა, ჯ. ჰოპფილდმა, ლ. ზუსმანმა. აღნიშნული თეორიული წარმოდგენების საფუძველზე შესაძლებელი გახდა და ეხლაც მზარდი ტემპით მიმდინარეობს მრავალი, მათ შორის ბიოლოგიური, პროცესის ფიზიკური შინაარსის გაშიფვრა, ასევე ისეთი ახალი კინეტიკური ექსპერიმენტების დაგეგმვა, რომლებიც პირდაპირ ტესტირებას გაუწევდნენ თეორიული მოდელების ფარგლებში პროგნოზირებულ კანონზომიერებებს, მათ შორის ელექტრონების და ატომების კვანტური ბუნების ტუნელირების ეფექტის გამოვლინებებით.

ამრიგად, კინეტიკურმა, მათ შორის, ბიო-კინეტიკურმა ექსპერიმენტმა ახალი, მეტად ღრმა ფიზიკური დატვირთვა შეიძინა და, უკვე XX საუკუნის 70-80-იანი წლებიდან დაწყებული, სრულფასოვნად ემსახურება მოლეკულური ბიოფიზიკის ახალ ქვემომართულებას ბიომოლეკულური გარდაქმნების ფიზიკას. ამასთან ერთად, სულ უფრო ცხადი ხდება მოლეკულური ბიოფიზიკის და ფიზიკური ქიმიის როგ ქვემომართულებებთან, მაგალითად ბიომოლეკულების თერმოდინამიკასთან, ბიოელექტროქიმიასთან სინერგიული ურთიერთკავშირის არსებობის აუცილებლობა, როგორც თეორიული ისე ექსპერიმენტული კვლევების დონეზე.

მოცემულ სადისერტაციო ნაშრომში განსხვავებული ფუნქციის მქონე გლობულური ცილების ფუნქციონირების ფიზიკური არსის, ანუ ელექტრონულ-კონფორმაციული გარდაქმნების მექანიზმების თანამედროვე თეორიული წარმოდგენების საფუძველზე ჩადრმავებული ანალიზის მიზნით, რიგი

კინეტიკური მეთოდების გამოყენებით (pH-მეტრული ტიტრაცია, სწრაფი შერევის სპექტროსკოპია, ციკლური ვოლტამპერომეტრია) შესწავლილია ცვლადი სარეაქციო გარემოს (მადესტაბილური ან მასტაბილური ორგანული დანამატები, ტემპერატურა, წნევა, იმობილიზაცია სხვადასხვა სისქის ორგანულ ფირებზე) გავლენა შესაბამისი ბიომოლეკულური პროცესების მახასიათებელ კინეტიკურ პარამეტრებზე. რიგ შემთხვევებში, ბიომოლეკულის თერმოდინამიკურ სტაბილურობასა, მის ფლუქუაციურ ძვრადობასა და ფუნქციურ აქტივობას შორის შინაგანი კავშირის შესახებ კომპლემენტური ინფორმაციის მიღების მიზნით გამოყენებული იყო აგრეთვე თერმოდინამიკური კვლევის მეთოდოლოგია (მიკროკალორიმეტრია). აქედან გამომდინარე, სადისერტაციო ნაშრომის აქტუალურობა ეჭვს არ უნდა იწვევდეს.

**ნაშრომის მიზანი.** სადისერტაციო ნაშრომის უმთავრეს მიზანს წარმოადგენდა იმის გამოკვლევა, თუ რა როლს თამაშობენ ცილებისთვის მეტად დამახასიათებელი ე.წ. კონფორმაციული თავისუფლების ხარისხები (რელაქსაციების დრო მეტად ფართო სპექტრით) სხვადასხვა წარმოშობისა და სრულიად განსხვავებული ფუნქციის მქონე ცილების მუშაობის დროს (მაგალითად, ფერმენტ-სუბსტრატის ურთიერთ-გამოცნობის საწყის, თუ მომდევნო კატალიზურ სტადიებზე). ამასთან, განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობოდა კონფორმაციული თავისუფლების ხარისხების და სხვა ტიპის, სახელდობრ ელექტრონული დრუბლების გადანაწილების (ქიმიური გარდაქმნების) და გარემოს დინამიკური რეორგანიზაციის მახასიათებელი თავისუფლების ხარისხების ურთიერთ-შეუღლებების ხარისხს, ანუ ელექტრონულ-კონფორმაციული გარდაქმნების კლასიფიკაციას.

**კვლევის ამოცანები.** ამათგან უნდა აღინიშნოს შემდეგი უმთავრესი ამოცანები:

1. ენდოპეპტიდაზური ფუნქციის მქონე ცილა-ფერმენტის  $\alpha$ -ქიმოტრიპსინის მიერ სპეციფიკური ესთერული სუბსტრატის ჰიდროლიზის მახასიათებელ კინეტიკურ პარამეტრების შესწავლა სარეაქციო არეში მადესტაბილური დანამატის - შარდოვანას კონცენტრაციის ფართო ფარგლებში.
2. შარდოვანას დანამატების გავლენის შესწავლა  $\alpha$ -ქიმოტრიპსინის თერმულ სტაბილურობაზე კინეტიკურ ექსპერიმენტების პირობებთან მაქსიმალურად მიახლოებულ პირობებში და მიღებული შედეგების შეჯერება კინეტიკური კვლევების შედეგებთან.
3. ეგზოპეპტიდაზური ფუნქციის მქონე ცილა-ფერმენტის, კარბოქსიპეპტიდაზა A-ს მიერ ქიმიურად განსხვავებული ორი სუბსტრატის ჰიდროლიზის მახასიათებელ კინეტიკურ პარამეტრების შესწავლა ცვლადი ტემპერატურის, ასევე სარეაქციო არეში მასტაბილური და მადესტაბილური დანამატების სხვადასხვა კონცენტრაციებით თანაობისას.
4. ელექტრონის გადამტანი ცილის, აზურინის იმობილიზაცია თვითაწყობილ, თხელი ორგანული ფირებით დაფარულ ოქროს ელექტროდებზე და აზურინის სპილენძის შემცველ ცენტრსა და ელექტროდს შორის ელექტრონის მიმოცვლის მექანიზმების ჩაღრმავებული შესწავლა ციკლური ვოლტამპერომეტრიის მეთოდით.

**ნაშრომის მეცნიერული სიახლე.** ნაშრომის შემაჯამებელ ნაწილის პრაქტიკულად ყველა დასახელებულ პუნქტში მითითებული შედეგები (გარდა პირველი ზოგადი პუნქტისა) მეცნიერული თვალსაზრისით წარმოადგენს სიახლეს.

**ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა.** სადისერტაციო ნაშრომში მიღებული შედეგები მნიშვნელოვანწილად აღრმავენ ფუნდამენტურ ცოდნას სხვადასხვა ტიპის გლობულური ცილების ფუნქციონირების ფიზიკური მექანიზმების შესახებ, კერძოდ მათში ელექტრონულ-კონფორმაციული შეუღლების ტიპების და ხარისხის თვალსაზრისით. მნიშვნელოვანია მიღებული ინფორმაცია ცილების თერმოდინამიკურ სტაბილობას, ფლექსიბილობას და ფუნქციას შორის არსებული შინაგანი კავშირების შესახებ. აგრეთვე მოცემულია ახალი განზოგადებანი დენატურანტით ან ტემპერატურით ინდუცირებული მოლტენ-გლობულის ტიპის მდგომარეობების არსებობის და მათი ფუნქციონირების შესახებ. პრაქტიკული თვალსაზრისით, მიღებული ცოდნა, განსაკუთრებით აზურინის “ნანომოწყობილობის” შესახებ, შესაძლებელია სასარგებლო იყოს სხვადასხვა ტიპის ბიოსენსორების, ან მზის ენერჯის გარდამქმნელ ბიონიკური სისტემების კონსტრუირების თვალსაზრისით; აგრეთვე სამრეწველო ბიორეაქტორებში ცილების სტაბილობისა და რეაქციის უნარის ვარირების თვალსაზრისით.

**ნაშრომის აპრობაცია.** სადისერტაციო ნაშრომის შედეგები მოხსენებული იყო მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტის სამეცნიერო სემინარებზე, 2004, 2006 წწ., და წარდგენილი იყო პოსტერის ტიპის ორი მოხსენების სახით ევროპის ბიოფიზიკოსთა მე-7 კონგრესზე (2009 წ. 11-15 ივლისი, გენუა, იტალია).

**პუბლიკაციები.** დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულია ოთხი სამეცნიერო ნაშრომი რეცენზირებად ჟურნალებში, აქედან ერთ-ერთი მაღალრეიტინგულ, აშშ ნაციონალური მეცნიერებათა აკადემიის გამოცემაში (იხ. პუბლიკაციების ნუსხა).

**დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა.** სადისერტაციო ნაშრომი შედგება შესავლის, სამი ნაწილის, დასკვნებისა და გამოქვეყნებული ლიტერატურის სიისგან. I ნაწილი წარმოადგენს ლიტერატურის მიმოხილვას, II ნაწილში აღწერილია სადისერტაციო ნაშრომში გამოყენებული კვლევის მეთოდები, ხოლო III ნაწილი წარმოგვიდგენს მიღებულ შედეგებს და მათ განხილვას. ნაშრომი გადმოცემულია ნაბეჭდი ტექტის 105 გვერდზე, შეიცავს 20 სურათსა და 10 ცხრილს, ციტირებული ლიტერატურის სია მოიცავს 110 დასახელების ნაშრომს.

## შეჯამება:

1. განსხვავებული ფუნქციის მქონე გლობულური ცილების ელექტრონულ-კონფორმაციული გარდაქმნების ფიზიკური არსის გამოვლენის მიზნით, რიგი კინეტიკური მეთოდების გამოყენებით შესწავლილია ცვლადებადი სარეაქციო გარემოს გავლენა შესაბამისი პროცესების მახასიათებელ კინეტიკურ პარამეტრებზე.
2. ენდოპეპტიდაზური ფუნქციის მქონე ცილა-ფერმენტის  $\alpha$ -ქიმოტრიპსინის შემთხვევაში pH-მეტრული ტიტრაციის მეთოდით შესწავლილი იყო მადესტაბილუბელი დანამატის შარდოვანას გავლენა ესთერული სუბსტრატეს ჰიდროლიზის მახასიათებელ კინეტიკურ პარამეტრებზე და მიღებული შედეგები შეჯერებულ იქნა ადრე მიღებულ შედეგებთან იმავე პროცესზე ტემპერატურის გავლენის კუთხით.
3. ასევე დიფერენციული მასკანირებელი კალორიმეტრიის მეთოდით შესწავლილი იყო შარდოვანას დანამატების გავლენა  $\alpha$ -ქიმოტრიპსინის თერმულ სტაბილობაზე და მიღებული შედეგები შეჯერებულ იქნა კინეტიკური კვლევების შედეგებთან.
4.  $\alpha$ -ქიმოტრიპსინის შემთხვევაში მიღებული შედეგები მიუთითებენ იმაზე, რომ შარდოვანას კონცენტრაციის ზრდა 0 5 M ფარგლებში, საზოგადოდ, იწვევს ცილის თანდათანობით თერმოდინამიკურ დესტაბილიზაციას, რაც ასევე გამოიხატება ფერმენტ-სუბსტრატის კომპლექსის სტაბილობის შემცირებაში (მიხაელისის კონსტანტის ზრდაში). ეს გარემოება არ აისახება პროცესის სიჩქარის კონსტანტაზე, რაც მიუთითებს ცილის აქტიური ცენტრის დესტაბილუბულ, მაგრამ ჯერ კიდევ ფუნქციურად მოქმედ მდგომარეობაზე. ეს მდგომარეობა შეიძლება დახასიათდეს როგორც მოლტენ-გლობულის მსგავსი მდგომარეობა.
5. ექსპერიმენტული მონაცემების შემდგომმა კომპლექსურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ ტემპერატურის ზომიერი მომატება (თერმული დენატურაციის წინმსწრებ ინტერვალში), ისევე როგორც შარდოვანას კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი ზრდა, იწვევს მოლტენ-გლობულის ტიპის მდგომარეობას (ტემპერატურით ინდუცირებული მოლტენ-გლობულა), რაც სავარაუდოდ, გლობულური ცილებისთვის ზოგადად დამახასიათებელ მოვლენას უნდა წარმოადგენდეს.
6. ეგზოპეპტიდაზური ფუნქციის მქონე ცილა-ფერმენტის კარბოქსიპეპტიდაზა A-ს შემთხვევაში, სწრაფი შერევის კინეტიკური მეთოდით, ორი ქიმიურად განსხვავებული სუბსტრატის გამოყენებით, შესწავლილი იყო მასტაბილუბელი და მადესტაბილუბელი დანამატების, ასევე ტემპერატურის გავლენა კატალიზური პროცესის კინეტიკურ და მიხაელისის კონსტანტებზე.
7. პეპტიდური და ესტერული სუბსტრატებისთვის კინეტიკურმა კვლევებმა დაადგინა პროცესის საწყის ეტაპზე ფერმენტ-სუბსტრატის კონფორმაციული ურთიერთქმედების ნატიფი “მორგების” განსხვავებული მექანიზმი, რაც შემდგომ საკუთრივ კატალიზურ სტადიაზე განაპირობებს ქიმიური გარდაქმნების განსხვავებულ მექანიზმებს, ანუ ელექტრონულ-კონფორმაციული გარდაქმნების განსხვავებულ განხორციელებას.
8. ამ კინეტიკურმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ პეპტიდური სუბსტრატის ჰიდროლიზის შემთხვევაში კატალიზური სტადიის სიჩქარე ძირითადად განპირობებულია ქიმიური თავისუფლების ხარისხების გარდაქმნებით (სუსტი ელექტრონულ-კონფორმაციული შეუღლება), მაშინ როდესაც ესთერული სუბსტრატის შემთხვევაში კატალიზური პროცესი დაკავშირებულია როგორც ქიმიურ, ისე კონფორმაციული გარდაქმნებთან (ძლიერი ელექტრონულ-კონფორმაციული შეუღლება).

9. ელექტრონის გადამტანი ცილის, აზურინის შემთხვევაში, გამოყენებული იყო ოქროს ელექტროდზე თხელი ორგანული ფირების თვითაწყოების ტექნიკა და ბიოელექტროქიმიური მეთოდი.
10. ტემპერატურის და წნევის ვარიაციების პირობებში დადგინდა, რომ ყველაზე თხელი ორგანული ფირების შემთხვევაში ელექტროდთან ელექტრონის მიმოცვლის აქტივაციის ენერგია შეიცავს კომპონენტს, რომელიც უშუალოდ არის განპირობებული ცილის კონფორმაციული დინამიკის ტემპერატურული ფაქტორით, ხოლო პროცესის აქტივაციის მოცულობა დადებითია. შედარებით სქელი ფირების შემთხვევაში პროცესის აქტივაციის ენერგია განპირობებულია მხოლოდ ფრანკ-კონდონის წევრით, ხოლო აქტივაციის მოცულობა უარყოფითია. ეს შედეგი მიუთითებს ელექტრონის მიმოცვლის ორ სხვადასხვა მექანიზმზე და მათში ელექტრონულ-კონფორმაციული ურთიერთქმედების სრულიად სხვადასხვა ხასიათზე.