

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI VA O'RTA MAXSUS TA'LIM
VAZIRLIGI**

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI

«MUXANDISLIK TEXNOLOGIYALARI» FAKULTETI

«BIOTEXNOLOGIYA» KAFEDRASI



**«MOLEKULYAR BIOLOGIYA»
fanidan o'quv-uslubiy majmua**

Bilim sohasi

Ta'lim sohasi

Ta'lim yo'nalishi

300000 -Ishlab chiqarish - texnik soha

320000 -Ishlab chiqarish texnologiyalari

**5320500 – Biotexnologiya (oziq-ovqat, ozuqa, kimyo va
qishloq xo'jaligi sohalari)**

TOSHKENT – 2022

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI VA O'RTA MAXSUS TA'LIM
VAZIRLIGI**

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI

«MUXANDISLIK TEXNOLOGIYALARI» FAKULTETI

«BIOTEXNOLOGIYA» KAFEDRASI



**«MOLEKULYAR BIOLOGIYA»
fanidan o'quv-uslubiy majmua**

TOSHKENT – 2022

Mazkur o'quv-uslubiy majmua O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi 2020 yil " " avgustdagi -sonli buyrug'i bilan (buyruqning ____ -ilovasi) tasdiqlangan "Molekulyar biologiyai" fani dasturi asosida tayyorlangan.

Tuzuvchilar:

Mirxodjayeva D.D. "Biotexnologiya" kafedrası dotsenti. t.f.f.d. PhD

Mirzayeva D.A. "Biotexnologiya" kafedrası dotsenti. b.f.f.d. PhD

Taqrizchilar:

V.Z.Nurmuhamedova TKTI "Biotexnologiya" kafedrası dotsenti

K.K.Nazarov TDTU "Biotexnologiya" kafedrası dotsenti

O'quv uslubiy majmua Toshkent davlat texnika universiteti Kengashida ko'rib chiqilgan va tavsiya qilingan.
(2022__ yil " " _____dagi " " – sonli bayonnoma).

MUNDARIJA

I	O'quv materiallar	
	Ma'ruza matni	
	Amaliy mashg'ulotlar.....	
	Laboratoriya mashg'ulotlari.....	
II	Mustaqil ta'lim mashg'ulotlari	
III	Glossariy	
IV	ILOVALAR	
	Fan dasturi	
	Ishchi fan dasturi (Syllabus)	
	Tarqatma materiallar	
	Testlar	
	Ishchi fan dasturiga muvofiq baholash mezonlarini qo'llash bo'yicha uslubiy ko'rsatmalar	
	Mavzuni o'zlashtirish uchun qo'shimcha materiallar	

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI VA O'RTA MAXSUS TA'LIM
VAZIRLIGI**

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI

«MUXANDISLIK TEXNOLOGIYALARI» FAKULTETI

«BIOTEXNOLOGIYA» KAFEDRASI

«MOLEKULYAR BIOLOGIYA»
FANIDAN MA'RUZALAR MATNI



TOSHKENT – 2022

Annotatsiya. Mazkur o'quv uslubiy majmua 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) bakalavriatura yo'nalishlari bo'yicha bakalavrlar tayyorlash o'quv rejasiga ko'ra «Molekulyar biologiya» fani bo'yicha tuzilgan namunaviy dastur asosida tayyorlangan. Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) tahsil olayotgan bakalavriatura talabalari uchun mo'ljallangan.

Tuzuvchilar:

Mirxodjayeva D.D. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. t.f.f.d. PhD

Mirzayeva D.A. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. b.f.f.d. PhD

Taqrizchilar:

V.Z.Nurmuhamedova TKTI “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

K.K.Nazarov TDTU “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

Ushbu o'quv uslubiy majmua TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakulteti, “Biotexnologiya” kafedrası yig'ilishida muhokama qilingan va fakultet Kengashiga muxokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

Kafedra mudiri, dotsent

Nazarov K.K.

Ushbu o'quv uslubiy majmua TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakultetida Kengashida muhokama qilingan va Universitet Kengashiga muhokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

**Fakultet Kengashi raisi,
professor**

Maxmudov N.N.

O'quv uslubiy majmua Toshkent davlat texnika universiteti Ilmiy kengashida muhokama qilingan va tasdiqlangan («____» _____2022 yil, ____sonli bayonnoma).

1 MAVZU: MOLEKULAR BIOLOGIYA FANINING PREDMETI, VAZIFALARI VA MAQSADLARI.

Maruza rejasi:

1. Molekulyar biologiyaning paydo bo'lish tarixi va rivojlanish tarixi.
2. Molekulyar biologiyaning ilmiy tadqiqot metodlari.
3. Molekulyar biologiya fanining nazariy va amaliy ahamiyati.

Tayanch so'zlar: *genetik kod, dezoksiriboza, nuklein kislota. Ribonuklein kislota, translyasiya.*

Molekulyar biologiya fani hayotni paydo bo'lishini molekulyar darajada o'rganadi, ya'ni tirik organizmlarning asosiy xossalari, o'sishi va rivojlanishi, ko'payish va differensiyalanish, irsiyat va immunitet, harakatlanish va tashqi muhitga moslashish va boshqa juda ko'p biologik makromolekulalarning molekulyar asosini o'rganishga va tushuntirishga qaratilgan fan.

Molekulyar biologiya fani XX asrning 2-yarmida dunyoga keldi. Bu davrda umuman biologiya fanida juda ko'p ilmiy tadqiqotlar yaratildi, ba'zan XX asrni «Biologiya asri» deb ham ataladi.

1944 yilda bir guruh ingliz olimlari mikroblarning naslini o'zgartiradigan mikroblar transformatsiyasini chiqaradigan omillar DNK molekulasi ekanligining kashf etilishi tarixiy voqea bo'ldi.

Molekulyar biologiyaning fan tariqasida dunyoga kelishi Jeyms Uotson bilan Jeyms Krikning kashfiyotiga bog'liq. Bu olimlar tomonidan DNK dezoksiribonuklein kislotasining modeli kashf etilgan, ya'ni DNK molekulasi qo'sh spiral tuzilishga ega ekanligini isbot qildilar (1953). Bu kashfiyot irsiy belgilar qanday saqlanadi va avloddan-avlodga qanday o'tadi, degan muammolarni ham hal qilish imkoniyatini berdi. «Transkripsiya» va «Translyasiya» mexanizmlar aniqlandi. So'ngra genetik kodlarni «molekulyar genetikadagi» muammolari hal qilindi. Genetik kod muammosini hal qilinishi avvalo qaysi nukleotid yoki nukleotidlar to'plami qanday aminokislotani ifodalashi mumkin, degan masalani hal qilishdan iborat.

1953 yilda Gamov (AQSH) genetik kod 3 ta nukleotid to'plamdan (tripletlikoddan) tashkil topgan bo'lishi kerak, degan g'oyani ilgari surdi. Haqiqatan ham, bunda 4 xil nukleotid yordamida 64 ta kombinatsiya hosil qilish mumkin. 1961 yil boshlarida ingliz olimi Krik genetik kod muammosining matematik analiziga asoslanib, kod haqiqatda ham tripletli xarakterga ega, degan xulosaga kelgan. Triplet Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Molekulyar biologiya kompleks fan hisoblanadi, chunki u yuksak molekulyar organik birikmalarning tuzilishi haqidagi eng so'nggi ilmiy ma'lumotlariga asoslanadi.

Molekulyar biologiya eng muhim biologik makromolekulalarning turli shakllari va ularning evolyusiya formalarini o'rganadi. Bu fan eng avvalo nuklein kislotalarning, oqsillar va boshqa makromolekulalarning strukturasini, shuningdek eng muhim hujayra komponentlari (xromosom) yadro, plazmatik membrana, mitoxondriyalar, Golji kompleksi, lizosomalar, ribosomalarning strukturaviy tuzilishi bilan ularning bajaradigan funksiyasi orasidagi bog'lanishni o'rganadi.

Shunday qilib, molekulyar biologiya evolyusiya qanday borishini, uning mexanizmini ochib beradi, ya'ni jonli organizmlar uchun xos bo'lgan rivojlanish fenomenini ham molekulyar tekislikda oqsillar va nuklein kislotalarning o'zaro munosabati, reaksiyalari shaklida ifodalaydi.

Molekulyar biologiyaning ilmiy tadqiqot ishlarida keng qo'llaniladigan metodlari va asboblari: elektron mikroskop, ultratsentrifuga, rentgen-struktura analizi, xromotografiya, elektroforez, nishonlangan atomlar va xakazo

XX asrning 2-yarmida ko'plab mamlakatlarda o'limga sababchi bo'lgan turli yuqumli kasalliklar (vabo, o'lat, chechak) yo'qotildi. Ammo keyingi vaqtda yuqumli kasalliklar kamaygan bo'lsa, rak, yurak qon tomir sistemalarining jarohatlanishi, moddalar almashinuvi kasalliklari, ruhiy va nasliy (irsiy) kasalliklar juda ham ko'paydi. Tirik sistemalarning strukturaviy tuzilishi va funksiyasini mukammal o'rganilgandagina, kasalliklarning tabiatini to'g'ri aniqlanadi va davolanadi yoki kasalliklarni oldini olish mumkin.

Molekulyar biologiya va gen injenerligining turli tarmoqlari nihoyatda jadallik bilan rivojlanmoqda, birinchi darajali ahamiyatga ega masala-insonning jismoniy va ruhiy holati, funksiyasi, imkoniyati boshqarilishi molekulyar asosini tushunishdir.

XX asrning 40-yillari boshlarida biokimyo, biofizika, genetika, sitokimyo, mikrobiologiya va virusologiyaning ko'plab bo'limlarining rivojlanishi. hayot hodisalarini molekulyar darajada o'rganishga yaqindan olib keldi. Ushbu fanlarning bir vaqtning o'zida va turli tomonlardan erishgan muvaffaqiyatlari tananing asosiy boshqaruv tizimlari molekulyar darajada ishlashini va ushbu fanlarning keyingi taraqqiyoti ularning ochilishiga bog'liqligini anglashga olib keldi. organizmlar tanasini tashkil etuvchi molekulalarning biologik funktsiyalari, ularning hujayradagi birikmalarning sintezi va parchalanishi, o'zaro o'zgarishi va ko'payishi, shuningdek, bu holda sodir bo'ladigan energiya va axborot almashinuvidagi ishtiroki. Shunday qilib, ushbu biologik fanlarning kimyo va fizika bilan tutashgan joyida mutlaqo yangi tarmoq - molekulyar biologiya paydo bo'ldi.

Biokimyodan farqli o'laroq, zamonaviy molekulyar biologiyaning e'tibori asosan biopolimerlarning eng muhim sinflari - oqsillar va nuklein kislotalarning tuzilishi va funktsiyalarini o'rganishga qaratilgan bo'lib, ularning birinchisi metabolik reaksiyalarning juda ehtimolini aniqlaydi, ikkinchisi esa - kimyoviy reaksiyalar. maxsus oqsillarning biosintezi. Shunday ekan, molekulyar biologiya va biokimyoni, genetika, mikrobiologiya va virusologiyaning tegishli tarmoqlarini aniq ajratib bo'lmasligi aniq.

Molekulyar biologiyaning paydo bo'lishi yangi tadqiqot usullarini ishlab chiqish bilan chambarchas bog'liq edi, ular allaqachon tegishli boblarda muhokama qilingan. Elektron mikroskopiya va mikroskopik texnikaning boshqa usullari rivojlanishi bilan bir qatorda 1950-yillarda ishlab chiqilgan hujayra elementlarini fraksiyalash usullari muhim rol o'ynadi. Ular differentsial sentrifugalashning takomillashtirilgan usullariga asoslangan edi (A. Klod, 1954). Bu vaqtga kelib, biopolimerlarni izolyatsiya qilish va fraksiyalashning ishonchli

usullari allaqachon mavjud edi. Bunga, xususan, A. Tiselius (1937; Nobel mukofoti, 1948) tomonidan taklif qilingan elektroforez orqali oqsillarni fraksiyalash usuli, nuklein kislotalarni ajratib olish va tozalash usullari (E. Kay, A. Downs, M. Sevag, A. Mirskiy) kiradi. , va boshqalar.). Shu bilan birga, dunyoning ko'plab laboratoriyalarida xromatografik tahlilning turli usullari ishlab chiqildi (A. Martin va R. Sing, 1941; Nobel mukofoti, 1952), keyinchalik sezilarli darajada yaxshilandi.

Rentgen nurlari difraksion tahlili biopolimerlarning tuzilishini ochishda bebaho xizmat qildi. Rentgen nurlari difraksion tahlilining asosiy tamoyillari King's College London universitetida V. Bragg rahbarligida bir guruh tadqiqotchilar tomonidan ishlab chiqilgan bo'lib, ular orasida J. Bernal, A. Londsdeyl, U. Astberi, J. Robertson va boshqalar bor edi.

Molekulyar biologiya ning keyingi rivojlanishi uchun katta ahamiyatga ega bo'lgan Protoplazma biokimyosi (1925 - 1929), Moskva davlat universiteti professori A.R.Kizelning tadqiqotlarini alohida ta'kidlab o'tish kerak. Kizel har qanday protoplazma maxsus oqsil tanasiga asoslangan, go'yo uning barcha muhim strukturaviy va funktsional xususiyatlarini belgilaydigan plitalarga asoslangan degan qat'iy fikrga zarba berdi. U plastinkalar faqat miksomitsetlarda, so'ngra rivojlanishning ma'lum bir bosqichida bo'lgan oqsil bo'lib, protoplazmada doimiy komponent - bitta skelet oqsili mavjud emasligini ko'rsatdi. Shunday qilib, protoplazmaning tuzilishi va oqsillarning funktsional roli muammosini o'rganish to'g'ri yo'l tutdi va uning rivojlanishi uchun keng qamrov oldi. Kiselning tadqiqotlari butun dunyoda e'tirofga sazovor bo'lib, hujayraning tarkibiy qismlari kimyosini o'rganishni rag'batlantirdi.

Birinchi marta ingliz kristallografi Lids universiteti professori V. Astberi tomonidan qo'llanilgan «molekulyar biologiya» atamasi, ehtimol, 1940-yillarning boshlarida (1945 yilgacha) paydo bo'lgan. 1930-yillarda Astberi tomonidan o'tkazilgan oqsillar va DNKning rentgen nurlari diffraksiyasining fundamental tadqiqotlari ushbu biopolimerlarning ikkilamchi tuzilishini keyinchalik muvaffaqiyatli dekodlash uchun asos bo'lib xizmat qildi. 1963 yilda J. Bernal

shunday deb yozgan edi: «Uning yodgorligi butun molekulyar biologiya - u nomlagan va haqiqatda asos solgan fan tomonidan o'rnatiladi» * , Adabiyotda bu atama birinchi marta, ehtimol, 1946 yilda paydo bo'lgan. ingliz jurnali «Nature» da chop etilgan W. Astbury «Organik va fibrilyar birikmalarning rentgen difraksion tahlilidagi progress» maqolasida ** . O'zining Harvey ma'ruzasida, Astberi (1950) ta'kidlagan: «Men molekulyar biologiya atamasi hozirda juda keng qo'llanilayotganidan mamnunman, garchi uni birinchi bo'lib taklif qilgan bo'lishim dargumon. Bu menga yoqdi va uzoq vaqt davomida uni tarqatishga harakat qildim» ***. 1950 yilda Astberi molekulyar biologiya, birinchi navbatda, tirik organizmlarning faoliyatini tushunish uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega bo'lgan makromolekulalarning tuzilishi va konformatsiyasi bilan shug'ullanishi aniq edi.

* (biogr. Mem. Hamkasblar Roy. Soc, 1963, v. 9, 29.)

** (V. T. Estberi. Organik va tolali tuzilmalarning rentgenologik tahlilining borishi.- Tabiat,. 1946, v. 157, 121.)

*** (V. T. Estberi. Molekulyar biologiyada sarguzashtlar. Tomas Springfield, 1952, p. 3.)

Molekulyar biologiya oldida, aslida, butun biologiya bilan bir xil vazifalar - hayotning mohiyatini va uning asosiy hodisalarini, xususan, irsiyat va o'zgaruvchanlikni bilish. Zamonaviy molekulyar biologiya, birinchi navbatda, genlarning tuzilishi va funktsiyalarini, ontogeneznining turli bosqichlarida va uni o'qishning turli bosqichlarida organizmlarning genetik ma'lumotlarini amalga oshirish usullari va mexanizmlarini ochishga mo'ljallangan. U genlar faolligi va hujayralar differentsiatsiyasini tartibga solishning nozik mexanizmlarini ochib berish, mutagenez tabiatini va evolyutsiya jarayonining molekulyar asoslarini yoritish uchun mo'ljallangan.

2-MAVZU:
**NUKLEIN KISLOTALAR VA ULARNING TURLARI. NUKLEIN
KISLOTALAR VA ULARNING FIZIK KIMYOVIY XOSSALARI**

Maruza rejasi:

1. Nuklein kislotalarning kashf etilishi
2. Chargoff qoidasi
3. DNK tarkibi
4. Nukleotidlar-nuklein kislotalarning stuktura elementlari
5. Azot asoslari-purinlar va pirimidinlar

Tayanch so'zlar: *Nuklein kislotalar, transformatsiya, qo'sh spiral, purinlar, pirimidinlar*

Molekulyar biologiyaning yangi fan, tabiatshunoslikning yuqori bosqichi sifatida shakllanishi birinchi navbatda nuklein kislotalarning strukturasi bilan hujayradagi funksiyasi orasidagi bog'lanishni tadqiq etish va bu sohadagi buyuk kashfiyotlar samarasidir.

Nuklein kislotalar yangi biologik modda sifatida 1868yili shveysariyalik biolog Fridrix Misher tomonidan kashf etilgan. U yiringni tashkil qiladigan qon elementlari-leykotsitlar ("yiring hujayralari") yadrosidan fosforiga boy noma'lum birikmalar ajratib olib, unga nuklein nomini beradi. Bu birikma kislota xossasiga ega bo'lganidan keyinroq nuklein kislota deb ataladigan bo'lgan. Lekin uzoq vaqtgacha bu birikmalar biologlar e'tiborini jalb qilmaydi, hujayradagi ahamiyati o'rganilmaydi va asosan ximiyaviy ob'ekt sifatida tadqiq qilib kelinadi. 1891 yili nemis olimi Kyossel bu moddani gidroliz qilib, u uch xil komponentdan: purin va pirimidinlar qatoriga kiradigan geterotsiklik azot asoslari, uglevod va fosfat kislotalardan tashkil topganligini aniqlaydi. Shu olimning o'zi nuklein kislotalarning ikki xili mavjud ekanligini ko'rsatdi. Keyinroq ular tarkibiga kiradigan uglevod komponenti-pentozaning riboza yoki dezoksiriboza bo'lishiga qarab, ribonuklein kislota (RNK) va dezoksiribonuklein kislota (DNK) nomini oldi. Undan ilgari nuklein kislotalarning birinchi xili olingan manbaiga qarab achitqi yoki sitoplazma nuklein kislota, ikkinchi xili buqoq bezi (timus) dan ajratib olingani uchun tomonuklein kislota yoki yadro nuklein kislota deb atalar edi.

Nuklein kislotalarni gidroliz qilib, ular polimer birikma va monomerlari azot, ugled va monomerlari azot asosi, uglevod va ugled va fosfat kislotalardan tashkil topgan nukleotidlar, binobarin, RNK-ribozopolinukleotid va DNK-dezoksiribozopolunukleotid ekanligi tasdiqlandi.

Ammo 1950-yillargacha nuklein kislota molekulasini to'rt xil nukleotidlarning tartibli takrorlanishi-tetranukleotidlardan iborat, degan fikr qabul qilingan edi. Bu tushunchaning notog'ri ekanligini turli manbalardan ajratib olingan DNK molekulalarining nukleotil tarkibini sinchiklab o'rganib, ular orasida katta farq mavjud ekanligini aniqlagan amerika olimi E. CHargaff isbotladi. Nuklein kislotalarning aniq tuzilishi 50-yillardan keyin, ularning biologik funksiyasi, biosintezi va boshqa xossalarni tadqiq etish jarayonidagina to'la tushunila boshlandi, hozirgi kunda ham bu ishlar davom etadi. Nuklein kislotalarning hujayra ichida tarqalishi va biologik roli haqida muhim ma'lumotlar ham sitologiyaning ayrim usuli –*sitoximiya* yordamida va klassik genetikada xromosoma nazariyasi o'rnatilishi bilan to'plana borib, bu yo'nalishda 40-yillarda ulug' kashfiyotga olib keldi.

Yigirmanchi yillarning oxirida hujayra yadrosidagi xromosomada dezoksiribonuklein kislota ko'p miqdorda topilishiga chuqur e'tibor bera boshlandi. Avvalo gistoximiyaviy foydalanib, DNK xromosomalarda, RNK sitoplazmada joylanishi aniqlandi. Xuddi shu yillar irsiy belgilarning nasldan-naslga o'tishi xromosomalarda joylashgan genlarga bog'liq ekanligini tasdiqlovchi faktlar irsiyatning xromosoma nazariyasi uzil-kesil qabul qilinishiga olib keladi. SHuning bilan birga genlar fermentlarni idora qilishi, ya'ni bioximiyaviy jarayonlarni boshqarishi haqida ko'lab ma'lumotlar to'plana boshlandi. Mana shu yillar ingliz olimi Fred Griffits pnevmokokklarning kasallik qo'zg'atmaydigan turi hujayralarni ularning kasallik qo'zg'atadigan, lekin qaynatish yo'li bilan o'ldirilgan, ya'ni kasallik qo'zg'atish qobiliyatini yo'qotgan hujayralari bilan qo'shib kalamush tanasiga kirgizilsa, kasallik paydo bo'lishini kuzatdi. Bu tajriba bakteriyaning bir turiga xos xususiyat (kasallikni qo'zg'atish) uning nobud

qilingan hujayrasidan ikkinchi turiga o'tib, uning tirik hujayralarni o'zgartirishini tasdiqladi. Bu hodisa *mikroblar transformatsiyasi* deb atalib, nobud qilingan hujayrada tirik hujayrani o'zgartira oladigan qandaydir omil (transformatsiya chaqiruvchi faktor) mavjud. Degan xulosa tug'ilishiga sabab bo'ladi.

Bu faraz keng tadqiqot qilinib kelsa ham, transformirlovchi agentning ximiyaviy tabiati deyarli yana 10 yilgacha noma'lum bo'lib qoldi. Faraz etilgan faktorni tozalash va uning ximiyaviy tabiatini aniqlash ustida olib borilgan tadqiqotlar 1944 yil ulug' kashfiyotga olib keldi. Mana shu yili amerikalik olim Everi o'zining kasbdoshlari Mak Leod va Mak Kartilar bilan 10 yillik ishlari yakunini e'lon qildi. Bu mashhur maqolada pnevmokokklarning bir turini ikkinchi turga aylantiradigan modda DNK ekanligi haqida xabar berildi.

Demak, DNK belgini tashuvchi malekula, chunki nobud qilingan pnevmokokklarning kasallik qo'zg'atish xususiyati DNK molekulasiga va DNK ta'sirida bu xususiyat tirik, lekin kasallik qo'zg'atish xususiyatida mahrum bakteriyalarga uzatiladi va hujayra ko'payganda nasldan-naslga o'tadi. SHubhasiz bu kashfiyot tufayli molekulyar biologiya poydevoriga salmoqli xissa qo'shdi. Bu yillar asosiy tadqiqotlar bakteriyalar, viruslar o'tkazilib, ular irsiy xossasining saqlanishi, ko'chirilishi, transformatsiyasining molekulyar mexanizmini aniqlashda qator-qator muhim kashfiyotlarga olib keldi. 1941 yilda "bir gen-bir oqsil" formulasi fanda umumiy qoida sifatida qabul qilinadi. Bidl va Tatum kashf etgan bu qoidaning ma'nosi genlar oqsil (ferment)lar sitezini idora qilishi prinsipini aniqlab berishdadir. Bakteriyalarni emiruvchi, ya'ni *bakteriofag* deb ataluvchi eng mayda mikroorganizmlarning irsiy materiali ham DNK ekanligi isbotlandi.

DNK molekulasining ximiyaviy tarkibini o'rganish ham yangi muhim bosqichga ko'tarildi. DNK tarkibiga kiradigan to'rt xil nukleotidni turli organizmlardan ajratib olingan DNK molekulalarida tekshirish azot asoslari adenin (A), guanin (G, G), sitozin (S, S) va timin (T) ma'lum nisbatda muayyan bo'lishini tasdiqladi. Kashfiyot amerika olimi E. CHargaff nomi bilan bog'liq bo'lganidan bu nisbiy munosabatlar *Chargaff qoidasi* deb ataladi. Odatda DNK

molekulasida purin va pirimidin asoslarining bir-biriga nisbati hamma organizmlarda ham qat'iy va 1 ga teng. Demak, molekulada purin asoslari (A,G) ning jami pirimidin asoslari (S,T) ning jamiga teng, ya'ni ularning nisbati 1 ga teng:

$$\frac{A}{T} = 1; \frac{G}{C} = 1.$$

Demak, DNKning nukleotid taakibi ikkita nukleotidning qo'sh:A bilan T,G bilan S ning birga kelishi bilan belgilanadi. Bu qo'sh nukleotidlar molekulada turli nisbatda bo'lganidan ba'zan DNKda AT, boshqa holda GS ko'proq bo'lishi mumkin. Bu munosabatlarni aniqlash DNKning tarkibiga qarab turlarni fiologenetik xarakterlash imkoniyatini beradi. Rus akademigi A.N.Belozerskiy juda ko'p bakteriyalar, suvo'tlar, yuksak o'simliklar va hayvonlar nuklein kislotalarning nukleotid tarkibini tekshirib DNK ning nukleotid tarkibi organizmlar evolyusion sistemasining xarakteristikasidan biri bo'lib xizmat qilishi mumkin ekanligini ko'rsatdi.

To'plangan ma'lumotlar DNK ning polimer zanjiridagi genetik axborot to'rt monomerlar zvenolarining birin-ketin kelish tartibida yozilgan, degan konsepsiyani ifodalash imkonini berdi. Bu vaqtgacha DNK molekulasining dastlabki rentgenogrammalari ingliz olimlari M.Uilkins va R.Franklin tomonidan olingan edi. Jadallik bilan olib borilgan tadqiqotlar 1953 yili Dj. Uotson va F. Krik tomonidan DNK qo'sh spiralli modelining yaratilishi bilan yakunlandi.

DNK molekulasining o'z-o'zidan ko'payish g'oyasi uning molekulasining qo'sh spiralli modelidan kelib chiqishi tabiiy edi. Bu jarayon *replikatsiya*, ya'ni *nusxa ko'chirish* deb ataladi. Va tabiiy shariotda eng sodda bajarilishini viruslarda kuzatish qulay. Replikatsiyani bajaruvchi ferment DNK –polimeraza 1957yili A.Kornberg tomonidan kashf etilib, keyinroq u shu fermentdan foydalanib, DNK molekulasini saqlovchi tirik mavjudot-virusni jaxonda birinchi bo'lib sun'iy ravishda sintez qilishga muvassar bo'ldi.

1950-yillarda oqsil sintezi ribosomalarda bajarilishi tasdiqlandi. Lekin DNK dan axborotni ribosomalarga ko'chiradigan vositachi(informatsion RNK) mavjud degan tushuncha faqat 1961 yili F.Jakob va J.Mono tomonidan bayon qilingan.

Nuklein kislotalar funksiyasini o'rganishdagi asosiy bosqichlardan biri axborotning DNK da yozilish usuli va uni oqsil strukturasiga uzatish prinsipi ya'ni genetik kodni rasshifrovka qilish bo'ldi. Bu kashfiyotgacha RNK ning uch xili: informatsion, ya'ni matritsa RNK si (m-RNK), ribosoma RNKsi (r-RNK) va transport RNKsi (t-RNK) mavjud ekanligi ular oqsil sintezida ishtirok etishi aniqlangan.

Genetik kodning mazmuni shundan iboratki, oqsil molekulasidagi har bir aminokislota uchta nukleotiddan iborat triplet muvofiq keladi. Oqsil sintezi ribosomalarda kechar ekan, ularga birikkan matritsa RNKsi (m-RNK) da tegishli aminokislota muvofiq kodon ribosomaga aktivlangan aminokislota tashuvchi transport RNKsi (t-RNK) ning antikodoni bilan vaqtincha bog'lanib, har bir aminokislota DNK da yozilgan axborot RNK vositasida realizatsiya qilinadi. Axborot oqimining DNK-RNK-oqsil yo'nalishida uzatilishi molekulyar biologiya asosiy postulatidir.

Genetik kod etilishi bilan nuklein kislotalarning tuzilishi va funksiyasini o'rganishda yangi bosqich ochiladi: DNK molekulasida hujayrada spetsifik fermentlar-endonukleazalar, restriktazalar tomonidan maxsus joylarida uzilishi, ulanishi turli modifikatsiyalarga duchor bo'lishi, RNK matritsasida DNK sintezlanish fenomeni (teskari transkripsiya) va uning fermenti aniqlanadi. Mana shunday mexanizmlardan foydalanib 1972 yili P.Berg bir-biridan farq qiladigan ikkita viruslar DNKsini hujayradan tashqarida ulashga erishadi. SHuning bilan turli organizmlarning genetik materiali ya'ni ular DNK molekulalarining ma'lum fragmentlarini ulash, chatishtirish (rekombinatsiya) orqali yangi, sun'iy organizmlarni yaratish imkonini beradigan ajoyib soha- *genetika injenerligi* paydo bo'ldi. genetika injenerligining asosiy quroli restriktazalar juda ham spetsifik fermentlardir. DNK fragmentlarini olish uchun restriksion endonukleazalardan, ularni ulash uchun DNK-ligazalardan foydalaniladi. Irsiy belgilarni tashuvchi

bunday rekombinirlangan DNK ni hujayraga kiritib yot axborotni amalga oshirish, replikatsiya, transkripsiya, oqsil sintezini ta'minlash usullari ishlab chiqildi. YOt organizmlarda, masalan, bakteriyalarda hayvonlar tegishli genlarning o'qilishi (ekspressiyasi) ni ta'minlaydigan sistemalarni tuzish, tayinlangan belgilarga ega tirik organizmlar yaratish imkonini tug'dirdi. Tez orada bunday imkoniyatlar biotexnologiyada amalga oshirila boshlandi. Odatda hayvonlar organizmida va odamlarda sintezlanadigan xilma-xil oqsillarni biosintez qilish qobiliyatiga ega mikroblar olindi, xususan rekombinirlangan genlardan foydalanib odam uchun zarur gormonlar va fermentlar – insulin, o'sish gormoni, interferon va boshqalar olina boshlandi. Bu soha keng miqyosda shiddatli rivojlanmoqda.

Nuklein kislotalar va ularning fizik kimyoviy xossalari

Har bir tirik organizmda nuklein kislotalarning har ikki turi-ribonuklein kislota (RNK) va dezoksiribonuklein kislota (DNK) mavjud. Faqat viruslar bularning bir turini, yo DNK, yoki RNK ni tutadi. Nuklein kislotalar oqsillar bilan birga hayotning moddiy asosini tashkil qiladi. Ular bir-biri bilan har tomonlama uzviy bog'liq, ammo ularning hujayradagi o'rne va funksiyasi tubdan farq qiladi: oqsillar assosan qurilish va hujayraning ishchi organlari materiali, nuklein kislota esa informatsion material, u organizmning tuzilishi, o'sishi, rivojlanishiga tegishli axborotning saqlanishi, takrorlanishi, almashinuvi va nasldan-naslga o'tishini ta'minlaydi.

Uzoq ajdodlardan milliard yillar davomida uzilmay kelgan axborot biopolimerlar bu ikki turining o'zaro kelishib ishlashi jarayonida amalga oshadi. Hayotning ma'nosi ham naslning saqlash, o'z-o'zini takrorlash bo'lsa, bu jarayon nuklein kislotalarda nukleotidlarning birin-ketin kelishi tartibi shaklida ximiyaviy tilda yozilgan axborotni oqsil molekulasida aminokislotalar tartibiga o'tkazishda amalga oshiriladi. Demak, nuklein kislotalardagi ramziy buyruq organizmning real oqsillarida ifodalanadi. Oqsil esa har qanday hujayraning morfologiyasini ham, funksiyasini ham belgilaydi. Demak, nuklein kislotalarning biologik roli cheksiz buyukdir. Barcha nuklein kislotalar yuksak molekulyar

birikmadir. Ular eng kichik vakillarining molekulyar massasi 25 ming atrofida bo'lsa, eng kattalariniki 1mlrd.ga etadi. DNK molekulalari hujayradagi eng katta molekulalar qatoriga kiradi.

RNK va DNK ning bioximiyasini o'rganishda keyingi yillarda ajoyib muvaffaqiyatlarga erishilgan, bu ma'lumotlar asosida organizmlar genini o'zgartirish, tuzatish, yangi genlar kompleksi, ya'ni sun'iy yo'l bilan yangi organizmlar yaratish davri ham keldi.

Nukleotidlar-nuklein kislotalarning stuktura elementlari

RNK ham, DNK ham nukleotidlar deb ataladigan monomerlardan tuzilgan, shuning uchun nuklein kislotalar polinukleotidlar deyiladi. Har bir mononukleotid birg'biridan farq qiladigan uchta ximiyaviy komponentdan: anorganik fosfat, monosaxarid riboza yoki dezoksiriboza va azot asosi: purin yoki pirimidin asosidan tashqari topgan. DNK va RNK molekulalari tarkibiga kiradigan monosaxarid va azot asoslari birmuncha farq qiladi. DNK tarkibidagi monosaxarid dezoksiriboza bo'lganidan uning mononukleotidlar ham dezoksiriboza mononukleotidlar, DNK ning o'zi dezoksiriboza-polinukleotid; RNK esa ribozomononukleotidlardan tashkil topgan ribozopolinukleotidlar. Azot asoslarida farqi pirimidin asoslariga oid bo'lib, RNK tarkibiga uratsil, DNK tarkibiga esa timin kiradi. Bu farqlar quyidagi jadvalda ko'rsatilgan.

2-jadval

Nuklein kislotalarning tarkibi

<i>Komponentlar</i>	<i>RNK</i>	<i>DNK</i>
Fosfat kislota	Fosfat kislota	Fosfat kislota
Uglevod-monosaxarid Pentoza Azot asoslari Purin asoslari Pirimidin asoslari	Riboza Adenin, Guanin Uratsil, Sitozin	Dezoksiriboza Adenin, Guanin Sitozin, Timin

Quyida bu komponentlar va ularning birikishida hosil bo'ladigan nukleotidlar bilan tanishamiz.

Bu ikkala monosaxarid ham beshta uglerod atomi tutadigan pentozalar bo'lib, aldopentozalar qatoriga kiradi va furanoza strukturasiga ega. Ular orasidagi farq faqat ikkinchi uglerod atomiga tegishli. Ribozada 2-uglerod ON bilan bog'langan, dezoksiriboza ON gruppasi o'rnida N atomi turadi, ya'ni 2-uglerod O atomidan mahrum, shuning uchun ham uning nomiga "dezoksi" prefiksi qo'shilgan.

Ko'pincha bu strukturalar yozilganda uglerod atomlari halqada ko'rsatilmaydi.

Azot asoslari-purinlar va pirimidinlar

RNK va DNK tarkibiga kiradigan azot asoslari-purinlar-adenin (A) va guanin (G,G) va pirimidinlar-sitozin (S,S), Timin (T) va uratsil (U,U) dir. Ularning strukturasini va sistematik nomlari quyida keltirilgan:

Ular uchun keto-enol tautomeriya ma'lum. Asosiy azot asoslaridan tashqari, nuklein kislotalar tarkibida kam miqdorda bir nechta siyrak minor asoslar ham uchraydi. Ular qatorida DNK tarkibida topilgan 5-metilsitozin, 6-metiladenin, 5-gidroksimetitsitozin, transport RNK da topilgan tiouratsil, degidrouratsil, nukleotid, psevdouridinlar kiradi:

Fosfat gruppasi

Nukleotidlar tarkibida ortofosfat kiradi. U molekulada bitta (mono-), ikkita (di-) uchta (tri-) bo'lishi mumkin.

Nuklein kislotalarning genetik rolini aniqlash

Molekulyar biologiyani rivojlanishi uchun quyidagi kashfiyotlar eng katta ahamiyatga ega edi. 1944-yilda amerikalik tadqiqotchilar O.Averi, K.Makleod (1923-yil Nobel mukofoti) va M.Makkarti pnevmokokklardan ajratilgan DNK molekulalari transformatsion faollikka ega ekanligini ko'rsatdi. Bu DNKlarni dezoksiribonukleaza ta'sirida gidroliz qilgandan so'ng, ularning transformatsion faolligi butunlay yo'qoladi. Shunday qilib, birinchi marta hujayradagi genetik funktsiyalarga ega bo'lgan oqsil emas, balki DNK ekanligi ishonchli tarzda isbotlandi.

Adolat uchun shuni ta'kidlash kerakki, bakterial transformatsiya hodisasi Averi, MakLeod va Makkarti kashfiyotidan ancha oldin kashf etilgan. 1928 yilda F. Griffit o'z maqolasini nashr etdi, unda u inkapsullangan virulent shtammning o'ldirilgan hujayralarini virulent bo'lmagan (kapsullanmagan) pnevmokokklarga qo'shgandan so'ng, hosil bo'lgan hujayralar aralashmasi sichqonlar uchun o'limga olib kelishi haqida xabar berdi. Bundan tashqari, ushbu aralashma bilan kasallangan hayvonlardan ajratilgan jonli pnevmokokk hujayralari allaqachon virulent bo'lib, polisakkarid kapsulasiga ega edi. Shunday qilib, ushbu tajribada o'ldirilgan pnevmokokk hujayralarining ba'zi komponentlari ta'sirida bakteriyalarning kapsulalanmagan shakli kapsula hosil qiluvchi virulent shaklga aylanishi ko'rsatildi. O'n olti yil o'tgach, Averi, MakLeod va MakKarti bu tajribada butun nobud bo'lgan pnevmokokk hujayralarini dezoksiribonuklein kislotasi bilan almashtirdilar va aynan DNK transformatsion faollikka ega ekanligini ko'rsatdilar (shuningdek, 7 va 25-boblarga qarang). Ushbu kashfiyotning ahamiyatini ortiqcha baholash qiyin. Bu dunyodagi ko'plab laboratoriyalarda nuklein kislotalarni o'rganishni rag'batlantirdi va olimlarni DNKga e'tibor berishga majbur qildi.

Averi, MakLeod va MakKartining kashfiyoti bilan bir qatorda, 1950-yillarning boshlariga kelib, nuklein kislotalarning hayotda alohida rol o'ynashi va genetik funktsiyani bajarishi to'g'risida juda ko'p miqdordagi to'g'ridan-to'g'ri va bilvosita dalillar to'plangan edi. Bu, xususan, hujayradagi DNK lokalizatsiyasining tabiati va R. Vendrelli (1948) ma'lumotlari shuni ko'rsatdiki, har bir hujayradagi DNK miqdori qat'iy doimiy bo'lib, ploidlik darajasi bilan bog'liq: haploid jinsiy hujayralarda DNK. diploid somatik hujayralardagining yarmi. DNKning aniq metabolik barqarorligi ham DNKning genetik roli foydasiga guvohlik berdi. 50-yillarning boshlariga kelib, ma'lum bo'lgan mutagen omillarning aksariyati asosan nuklein kislotalarga va xususan, DNKga ta'sir qilishini ko'rsatadigan juda ko'p turli xil faktlar to'plangan edi (R. Xotchkiss, 1949; G. Efrussi-Taylor, 1951; E. Freese, 1957 va boshqalar).

Nuklein kislotalarning genetik rolini aniqlashda turli faglar va viruslarni o'rganish alohida ahamiyatga ega edi. 1933 yilda D. Shlesinger ichak tayoqchasi bakteriofagida DNKni topdi. U. Stenli (1935, Nobel mukofoti, 1946) tamaki mozaikasi virusini (TMV) kristall holatda ajratib olgandan beri o'simlik viruslarini o'rganishning yangi bosqichi boshlandi. 1937-1938 yillarda. Rothamsted qishloq xo'jaligi stansiyasi (Angliya) xodimlari F. Bouden va N. Piri ular tomonidan ajratilgan ko'plab o'simlik viruslari globulinlar emas, balki ribonukleoproteinlar bo'lib, majburiy komponent sifatida nuklein kislota borligini ko'rsatdi. 40-yillarning boshida G. Shramm (1940), PA Agatov (1941), G. Miller va V. Stenli (1941) asarlari nashr etildi, bu protein komponentining sezilarli kimyoviy modifikatsiyasiga olib kelmasligini ko'rsatadi. TMV infeksiyasini yo'qotish. Bu ko'plab mikrobiologlar ishonishda davom etganidek, oqsil komponenti virusning irsiy xususiyatlarining tashuvchisi bo'la olmasligini ko'rsatdi. O'simlik viruslarida nuklein kislota (RNK) genetik roli foydasiga ishonchli dalillar 1956 yilda Tyubingenda (Germaniya) G. Shramm va Kaliforniyada (AQSh) X. Frenkel-Konrat tomonidan olingan. Ushbu tadqiqotchilar deyarli bir vaqtning o'zida va bir-biridan mustaqil ravishda RNKni TMV dan ajratib olishdi va oqsil emas, balki uning infeksiyali ekanligini ko'rsatdilar: tamaki o'simliklarini ushbu RNK bilan yuqtirish natijasida ularda oddiy virus zarralari hosil bo'lgan va ko'paygan. Bu RNK barcha virus komponentlarini, shu jumladan virus oqsilini sintez qilish va yig'ish uchun ma'lumotni o'z ichiga olganligini anglatadi. 1968 yilda I. G. Atabekov oqsilning o'simliklarning infeksiyalanishida muhim rol o'ynashini aniqladi - oqsilning tabiati mezbon o'simliklar spektrini belgilaydi.

1957 yilda Frenkel-Konrat birinchi marta TMV ni uning tarkibiy qismlari - RNK va oqsildan qayta tiklashni amalga oshirdi. Oddiy zarrachalar bilan bir qatorda u aralash «duragaylar» oldi, ularda RNK bir shtammdan, oqsil esa boshqa shtammdan edi. Bunday duragaylarning irsiyati RNK tomonidan to'liq aniqlangan va viruslarning nasli RNKsi dastlabki aralash zarralarni olish uchun ishlatilgan shtammga tegishli edi. Keyinchalik A. Gierer, G. Shuster va G. Shramm (1958)

va G. Vitman (1960 - 1966) tajribalari shuni ko'rsatdiki, TMV nuklein komponentining kimyoviy modifikatsiyasi ushbu virusning turli mutantlarining paydo bo'lishiga olib keladi.

1970-yilda D.Baltimor va G.Temin genetik ma'lumotlarning o'tkazilishi nafaqat DNKdan RNKga, balki aksincha sodir bo'lishi mumkinligini aniqladilar. Ular ba'zi onkogen RNK o'z ichiga olgan viruslarda (onkornaviruslar) RNK zanjirlarida qo'shimcha DNKni sintez qilishga qodir bo'lgan teskari transkriptaza deb ataladigan maxsus fermentni topdilar. Ushbu yirik kashfiyot RNK o'z ichiga olgan viruslarning genetik ma'lumotlarini xost genomiga kiritish mexanizmini tushunish va ularning onkogen ta'sirining tabiatiga yangicha qarash imkonini berdi.

Nuklein kislotalarning ochilishi va xossalari o'rganish

Nuklein kislotalar atamasi 1889 yilda nemis biokimyogari R. Altman tomonidan kiritilgan, bu birikmalar 1869 yilda shveytsariyalik shifokor F. Misher tomonidan kashf etilgandan keyin. Misher bir necha hafta davomida suyultirilgan xlorid kislotasi bilan yiringli hujayralarni ajratib oldi va qolgan qismida deyarli sof yadroviy material oldi. U bu materialni hujayra yadrolarining xarakterli «moddasi deb hisobladi va uni nuklein deb atadi. Xususiyatlariga ko'ra, nuklein oqsillardan keskin farq qilar edi: u ko'proq kislotali edi, oltingugurt yo'q edi, lekin juda ko'p fosfor bor edi, u ishqorlarda oson eriydi, lekin suyultirilgan kislotalarda erimaydi.

Misher nuklein bo'yicha o'z kuzatuvlari natijalarini jurnalda chop etish uchun F.Goppe-Seylarga yubordi. U ta'riflagan modda juda g'ayrioddiy edi (o'sha paytda barcha biologik fosforli birikmalardan faqat lesitin ma'lum edi) Goppe-Seyler Misherning tajribalariga ishonmadi, qo'lyozmani unga qaytarib berdi va xodimlari N. Plosh va N. Lyubavinga ko'rsatma berdi. boshqa materiallar bo'yicha xulosalarini tekshiring. Misherning «Yiringli hujayralarning kimyoviy tarkibi haqida» asari ikki yildan so'ng (1871) nashr etildi. Shu bilan birga, Goppe-Seyler va uning hamkorlarining yiringli hujayralar, qushlarning eritrotsitlari,

ilonlar va boshqa hujayralar tarkibiga oid asarlari nashr etildi. Keyingi uch yil ichida nuklein hayvonlar hujayralari va xamirturushdan ajratildi.

Misher o'z ishida turli nukleinlarni batafsil o'rganish ular o'rtasidagi farqlarni o'rnatishga olib kelishi mumkinligini ta'kidladi va shu bilan nuklein kislotalarning o'ziga xosligi haqidagi g'oyani kutish mumkin. Misher qizil ikra sutini o'rganayotib, ulardagi nuklein tuz shaklida ekanligini va u protamin deb atagan asosiy oqsil bilan bog'liqligini aniqladi.

1879 yilda A. Kossel Goppe-Seyler laboratoriyasida nukleinlarni o'rganishga kirishdi. 1881 yilda u gipoksantinni nukleindan ajratib oldi, ammo o'sha paytda u bu asosning kelib chiqishiga shubha bilan qaradi va gipoksantin oqsillarning parchalanishi mahsuloti bo'lishi mumkinligiga ishonadi. 1891 yilda nuklein gidrolizi mahsulotlari orasida Kossel adenin, guanin, fosfor kislotasi va shakar xossalariga ega bo'lgan boshqa moddalarni topdi. Nuklein kislotalar kimyosi bo'yicha tadqiqotlari uchun Kossel 1910 yilda Nobel mukofotiga sazovor bo'ldi.

Nuklein kislotalarning strukturasini ochishdagi keyingi taraqqiyot P. Levin va uning hamkasblarining (1911 - 1934) tadqiqotlari bilan bog'liq. 1911 yilda P. Levin va V. Jacobs adenozin va guanozinning karbongidrat komponentini aniqladilar; ular bu nukleozidlarda D-riboza borligini aniqladilar. 1930 yilda Levin dezoksiribonukleozidlarning uglevod komponenti 2-deoksi-D-riboza ekanligini ko'rsatdi. Uning ishidan nuklein kislotalar nukleotidlardan, ya'ni fosforlangan nukleozidlardan tuzilganligi ma'lum bo'ldi. Levin nuklein kislotalardagi (RNK) asosiy bog'lanish turi 2», 5» fosfodiester bog'lanishi deb hisoblagan. Bu tushuncha noto'g'ri bo'lib chiqdi. Ingliz kimyogari A.Todd (Nobel mukofoti, 1957) va uning hamkorlari hamda ingliz biokimyogarlari R.Marxem va J.Smitning mehnatlari tufayli 50-yillarning boshlarida RNKdagi asosiy bog'lanish turi ma'lum bo'ldi. 3», 5» - fosfodiester bog'lanishi.

Levin turli nuklein kislotalar uglevod komponentining tabiatiga ko'ra farq qilishi mumkinligini ko'rsatdi: ularning ba'zilarida shakar dezoksiriboza, boshqalari esa riboza mavjud. Bundan tashqari, bu ikki turdagi nuklein kislotalar asoslardan birining tabiatiga ko'ra farqlanadi: pentoza tipidagi nuklein kislotalar

tarkibida urasil, deoksipentoza tipidagi nuklein kislotalar esa timinni o'z ichiga oladi. Deoksipentoza nuklein kislotasi (zamonaviy terminologiyada dezoksiribonuklein kislotasi - DNK) odatda buzoqlarning timusidan (shirin bez) ko'p miqdorda osongina ajratilgan. Shuning uchun u timonuklein kislotasi deb ataldi. Pentoza tipidagi nuklein kislolaning (RNK) manbai asosan xamirturush va bug'doy urug'i edi. Ushbu tur ko'pincha xamirturush nuklein kislotasi deb ataladi.

1930-yillarning boshlarida o'simlik hujayralari xamirturush tipidagi nuklein kislota bilan tavsiflanadi degan tushuncha ancha mustahkam ildiz otgan, timonuklein kislotasi esa faqat hayvon hujayralari yadrolariga xos edi. Nuklein kislotalarning ikki turi, RNK va DNK keyinchalik mos ravishda o'simlik va hayvon nuklein kislotalari deb ataldi. Biroq, A. N. Belozerskiyning dastlabki tadqiqotlari shuni ko'rsatdiki, nuklein kislotalarning bunday bo'linishi asossizdir. 1934 yilda Belozerskiy birinchi marta o'simlik hujayralarida timonuklein kislotasini topdi: no'xat ko'chatlaridan DNKga xos bo'lgan timin-pirimidin asosini ajratib oldi va aniqladi. Keyin u boshqa o'simliklarda (soya urug'i, loviya) timinni topdi. 1936 yilda A. N. Belozerskiy va I. I. Dubrovskaya ot kashtan ko'chatlaridan DNK ni preparativ ravishda ajratib olishdi. Bundan tashqari, 1940-yillarda Angliyada D. Devidson va uning hamkasblari tomonidan olib borilgan bir qator tadqiqotlar o'simlik nuklein kislotasi (RNK) ko'plab hayvonlar hujayralarida mavjudligini ishonchli tarzda ko'rsatdi.

R. Felgen va G. Rozenbek (1924) tomonidan ishlab chiqilgan DNK uchun sitokimyoviy reaksiyaning keng qo'llanilishi va J. Brachetning (1944) RNKga bo'lgan reaksiyasi ushbu nukleinlarning imtiyozli lokalizatsiyasi masalasini tez va aniq hal qilish imkonini berdi. hujayradagi kislotalar. Ma'lum bo'lishicha, DNK yadroda, RNK esa asosan sitoplazmada to'plangan. Keyinchalik RNK sitoplazmada ham, yadroda ham borligi aniqlandi va bundan tashqari sitoplazmatik DNK aniqlandi.

Nuklein kislotalarning birlamchi tuzilishi masalasiga kelsak, 1940-yillarning o'rtalariga kelib, P. Levinning g'oyasi fanda mustahkam o'rin oldi, unga ko'ra barcha nuklein kislotalar bir xil turga ko'ra qurilgan va bir xil tetranukleotid deb

ataladigan narsadan iborat. bloklar. Bu bloklarning har biri, Levinning fikriga ko'ra, to'rt xil nukleotidni o'z ichiga oladi. Nuklein kislotalar tuzilishining tetranukleotid nazariyasi asosan bu biopolimerlarni o'ziga xoslikdan mahrum qildi. Shu sababli, o'sha paytda tirik mavjudotlarning barcha o'ziga xos xususiyatlari faqat monomerlarining tabiati ancha xilma-xil (20 ta aminokislotalar) bo'lgan oqsillar bilan bog'liq bo'lganligi ajablanarli emas.

Nuklein kislotalarning tetranukleotid tuzilishi nazariyasidagi birinchi bo'shliq ingliz kimyogari J.Gulandning (1945 - 1947) analitik ma'lumotlari bilan yuzaga keldi. Nuklein kislotalarning tarkibini asos azot bilan aniqlashda u asoslarning ekvimolyar nisbatini olmadi, chunki u Levin nazariyasiga ko'ra bo'lishi kerak edi. Nihoyat, E. Chargaff va uning hamkorlari (1949 - 1951) tadqiqotlari natijasida nuklein kislotalar tuzilishining tetranukleotid nazariyasi barbad bo'ldi. Chargaff kislota gidrolizi natijasida DNKdan ajralib chiqqan asoslarni ajratish uchun qog'oz xromatografiyasidan foydalangan. Ushbu asoslarning har biri spektrofotometrik tarzda aniq aniqlangan. Chargaff turli xil kelib chiqishi DNKdagi asoslarning ekvimolyar nisbatidan sezilarli og'ishlarni payqadi va birinchi marta DNKning aniq tur o'ziga xosligiga ega ekanligini aniq ta'kidladi. Bu tirik hujayradagi oqsil o'ziga xosligi tushunchasining gegemonligiga barham berdi. Turli xil kelib chiqishi DNKni tahlil qilib, Chargaff DNK tarkibining noyob naqshlarini topdi va shakllantirdi, bu Chargaff qoidalari nomi bilan fanga kirdi. Bu qoidalarga ko'ra, barcha DNKda kelib chiqishidan qat'iy nazar adenin miqdori timin miqdoriga ($A = T$), guanin miqdori sitozin miqdoriga ($G = C$), purinlar pirimidinlar miqdoriga teng ($G + A = C + T$), 6-amino guruhi bo'lgan asoslar miqdori 6-keto guruhlari ($A + C = G + T$) bilan asoslar soniga teng. Shu bilan birga, bunday qat'iy miqdoriy muvofiqliklarga qaramay, turli xil DNKlar $A+T:G+C$ nisbati qiymatida farqlanadi. Ayrim DNKda guanin va sitozin miqdori adenin va timin miqdoridan ustun turadi (Chargaff bu DNKni GC tipidagi DNK deb atagan); boshqa DNKlar guanin va sitozinga qaraganda ko'proq adenin va timinni o'z ichiga olgan (bu DNKlar AT tipidagi DNK deb nomlangan). Chargaff tomonidan DNK tarkibi to'g'risida olingan ma'lumotlar molekulyar biologiyada

alohida rol o'ynadi. Aynan ular 1953 yilda J. Uotson va F. Krik tomonidan yaratilgan DNK tuzilishini ochishga asos bo'ldi.

1938-yilda U.Astberi va F.Bell rentgen difraksion tahlilidan foydalanib, DNKdagi asos tekisliklari molekulaning uzun o'qiga perpendikulyar bo'lishi va go'yo bir tepada yotgan plastinkalar to'plamiga o'xshab turishi kerakligini ko'rsatdi. boshqa. 1952 - 1953 yillarga kelib, rentgen nurlari diffraksiyasini tahlil qilish texnikasini takomillashtirish bilan. to'plangan ma'lumotlar individual bog'lanishlarning uzunligi va moyillik burchaklarini baholashga imkon berdi. Bu DNK molekulasi shakar-fosfat magistralidagi pentoza qoldiqlari halqalarining yo'nalishini eng katta ehtimollik bilan ifodalash imkonini berdi. 1952 yilda S.Farberg DNKning ikkita spekulativ modelini taklif qildi, ular o'z-o'zidan buklanmagan yoki o'ralgan bir zanjirli molekulani ifodalaydi. DNK tuzilishining bundan kam bo'lmagan spekulativ modeli 1953 yilda L. Pauling (Nobel mukofoti sovrindori, 1954) va R. Kori tomonidan taklif qilingan. Ushbu modelda DNKning uchta buralgan iplari uzun spiralni hosil qildi, uning yadrosi fosfat guruhlar bilan ifodalangan va asoslar uning tashqarisida joylashgan edi. 1953 yilga kelib M. Uilkins va R. Franklin DNKning aniqroq rentgen nurlari diffraksiya naqshlarini oldi. Ularning tahlili Farberg, Pauling va Kori modellarining to'liq muvaffaqiyatsizligini ko'rsatdi. Chargaff ma'lumotlaridan foydalanib, alohida monomerlarning molekulyar modellarining turli kombinatsiyalarini va rentgen nurlarining diffraksiya ma'lumotlarini taqqoslab, 1953 yilda J. Uotson va F. Krik DNK molekulasi ikki zanjirli spiral bo'lishi kerak degan xulosaga kelishdi. Chargaff qoidalarini tavsiya etilgan DNK modelidagi asoslarning mumkin bo'lgan tartiblangan birikmalari sonini keskin cheklab qo'ydi; ular Uotson va Krik DNK molekulasi o'ziga xos asos juftligi - adenin bilan timin va guanin bilan sitozin bo'lishi kerakligini taklif qilishdi. Boshqacha qilib aytganda, DNKning bir zanjiridagi adenin har doim boshqa zanjirdagi timinga, bir zanjirdagi guanin esa ikkinchisidagi sitozinga mutlaqo mos keladi. Shunday qilib, Uotson va Krik birinchi marta alohida ahamiyatga ega bo'lgan DNKning komplementar tuzilishi printsiplarini ishlab chiqdilar, unga ko'ra bir DNK

zanjiri boshqasini to'ldiradi, ya'ni bir zanjirning asoslar ketma-ketligi boshqasidagi asoslar ketma-ketligini o'ziga xos tarzda aniqlaydi (komplementar).) ip. Ma'lum bo'ldiki, DNKning o'zidayoq uning aniq ko'payishi uchun potentsial mavjud. DNK tuzilishining ushbu modeli hozirda umumiy qabul qilingan. Krik, Uotson va Uilkins 1962 yilda DNK tuzilishini dekodlash uchun Nobel mukofotiga sazovor bo'lishdi.

Ta'kidlash joizki, makromolekulalarni aniq ko'paytirish va irsiy ma'lumotni uzatish mexanizmi g'oyasi mamlakatimizda paydo bo'lgan. 1927 yilda N. K. Koltsov hujayraning ko'payishi jarayonida molekulalarning ko'payishi mavjud ota-molekulalarning aniq avtokatalitik ko'payishi bilan sodir bo'lishini taklif qildi. To'g'ri, o'sha paytda Koltsov bu xususiyatni DNK molekulalari bilan emas, balki funktsional ahamiyati noma'lum bo'lgan oqsil tabiatining molekulalari bilan ta'minlagan. Shunga qaramay, makromolekulalarning avtokatalitik ko'payishi va irsiy xususiyatlarning uzatilish mexanizmi g'oyasi bashoratli bo'lib chiqdi: bu zamonaviy molekulyar biologiyaning etakchi g'oyasiga aylandi.

A. N. Belozerskiy laboratoriyasida A. S. Spirin, G. N. Zaitseva, B. F. Vanyushin, S. O. Uryson, A. S. Antonov va boshqalar tomonidan o'tkazilgan turli xil organizmlar Chargaff tomonidan kashf etilgan naqshlarni to'liq tasdiqladi va DNK tuzilmasi tomonidan taklif qilingan molekulyar modelga to'liq mos keldi. Uotson va Krik. Bu tadqiqotlar turli bakteriyalar, zamburug'lar, suv o'tlari, aktinomitsetlar, yuqori o'simliklar, umurtqasizlar va umurtqali hayvonlarning DNKsi o'ziga xos tarkibga ega ekanligini ko'rsatdi. Tarkibdagi farqlar (AT-asos juftlarining tarkibi) ayniqsa mikroorganizmlarda sezilarli bo'lib, muhim taksonomik xususiyatga aylanadi. Yuqori o'simliklar va hayvonlarda DNK tarkibidagi turlarning xilma-xilligi kamroq aniqlanadi. Ammo bu ularning DNKsi kamroq aniq ekanligini anglatmaydi. Asoslarning tarkibiga qo'shimcha ravishda, o'ziga xoslik ko'p jihatdan ularning DNK zanjirlaridagi ketma-ketligi bilan belgilanadi.

Oddiy asoslar bilan bir qatorda DNK va RNKda qo'shimcha azotli asoslar topilgan. Shunday qilib, G. Uayt (1950) o'simliklar va hayvonlarning DNKsida 5-

metilsitozinni, D. Dann va J. Smit (1958) esa ba'zi DNKlarda metillangan adeninni topdi. Uzoq vaqt davomida metilsitozin yuqori organizmlarning genetik materialining o'ziga xos belgisi hisoblangan. 1968 yilda A. N. Belozerskiy, B. F. Vanyushin va N. A. Kokurina bakteriyalar DNKsida ham bo'lishi mumkinligini aniqladilar.

1964 yilda M. Gold va J. Xurvits DNKning tabiiy modifikatsiyasini - uning metilatsiyasini amalga oshiruvchi fermentlarning yangi sinfini kashf etdilar. Ushbu kashfiyotdan so'ng, sitozin va adenin qoldiqlarining maxsus ketma-ketlikda o'ziga xos metilatsiyasi natijasida tayyor DNK polinukleotid zanjirida kichik (oz miqdorda mavjud) asoslar paydo bo'lishi aniq bo'ldi. Xususan, B. F. Vanyushin, Ya. I. Buryanov va A. N. Belozerskiy (1969) ma'lumotlariga ko'ra, ichak tayoqchasi DNKsida adenin metillanishi yakunlovchi kodonlarda sodir bo'lishi mumkin. A.N.Belozerskiy va uning hamkasblari (1968 - 1970), shuningdek M. Meselson (AQSh) va V. Arber (Shveytsariya) (1965 - 1969) ma'lumotlariga ko'ra metillanish DNK molekulalariga o'ziga xos individual xususiyatlarni beradi va ta'siri bilan birgalikda maxsus nukleazalar, hujayradagi DNK sintezini boshqaradigan murakkab mexanizmning bir qismidir. Boshqacha qilib aytadigan bo'lsak, ma'lum bir DNKning metilatsiyasining tabiati uning ma'lum bir hujayrada ko'payishi mumkinmi degan savolni oldindan belgilaydi.

Deyarli bir vaqtning o'zida DNK metilazalari va restriksion endonukleazlarni izolyatsiya qilish va intensiv o'rganish boshlandi; 1969-1975 yillarda bu fermentlarning ba'zilar tomonidan DNKda tan olingan nukleotidlar ketma-ketligi aniqlangan (X. Boyer, X. Smit, S. Lin, K. Myurrey). Turli DNKlar cheklovchi ferment yordamida gidrolizlanganda, uchlari bir xil "yopishqoq" bo'lgan ancha katta bo'laklar parchalanadi. Bu kichik viruslarda (D. Nathans, S. Adler, 1973 - 1975) bo'lgani kabi, nafaqat genlarning tuzilishini tahlil qilish, balki turli xil genomlarni qurish imkonini beradi. Ushbu o'ziga xos cheklovchi fermentlarning kashf etilishi bilan genetik muhandislik aniq haqiqatga aylandi. Har xil kelib chiqishi kichik plazmid DNK genlari allaqachon turli hujayralarga osongina kiritilgan. Shunday qilib, ma'lum antibiotiklarga chidamli bo'lgan yangi turdagi

biologik faol plazmidlar olindi (S. Koen, 1973), qurbaqa va drozofilaning ribosoma genlari ichak tayoqchasi plazmidlariga kiritildi (J. Morrow, 1974; X. Boyer, D. Xogness, R. Devis, 1974-1975). Shunday qilib, turli genlarni genofondga kiritish va integratsiya qilish orqali tubdan yangi organizmlarni olishning haqiqiy yo'llari ochiq. Bu kashfiyot butun insoniyat manfaatiga qaratilgan bo'lishi mumkin.

1952 yilda G. Uayt va S. Koen T-juft faglarning DNKsida noodatiy asos - 5-gidroksimetilsitozin borligini aniqladilar. Keyinchalik, E. Volkin va R. Sinsheymer (1954) va Koen (1956) ishlaridan ma'lum bo'ldiki, gidroksimetilsitozin qoldiqlari to'liq yoki qisman glyukozidlanishi mumkin, buning natijasida fag DNK molekulasi gidrolitik ta'sirdan himoyalangan. nukleazlar.

1950-yillarning boshlarida D. Dann va J. Smit (Angliya), S. Zamenhof (AQSh) va A. Vaker (Germaniya) asarlaridan ma'lum bo'ldiki, ko'plab sun'iy asos analoglari DNKga kiritilishi mumkin, ba'zan esa o'rnini bosadi. 50% gacha timin. Qoida tariqasida, bu almashtirishlar DNK replikatsiyasi, transkripsiyasi va tarjimasidagi xatolarga va mutantlarning paydo bo'lishiga olib keladi. Shunday qilib, J. Marmur (1962) ba'zi faglarning DNKsida timin o'rniga oksimetilurasil borligini aniqladi. 1963 yilda I. Takaxashi va J. Marmur faglardan birining DNKsida timin o'rniga urasil borligini aniqladilar. Shunday qilib, nuklein kislotalar ilgari ajratilgan yana bir printsip qulab tushdi. P. Levin ishlagan vaqtdan boshlab timin DNKning, urasil esa RNKning o'ziga xos belgisidir, deb hisoblangan. Bu belgi har doim ham ishonchli emasligi aniq bo'ldi va ikki turdagi nuklein kislotalarning kimyoviy tabiatidagi asosiy farq, bugungi kunda ko'rinib turganidek, faqat uglevod komponentining tabiati.

Faglarni o'rganishda nuklein kislotalarning tashkil etilishining ko'plab noodatiy xususiyatlari ochildi. 1953 yildan beri barcha DNK ikki zanjirli chiziqli molekulalar, RNK esa faqat bitta zanjirli ekanligiga ishonishgan. Bu pozitsiya 1961 yilda R. Sinsheymer ph X 174 fagining DNKsi bir zanjirli aylana molekula bilan ifodalanishini aniqlaganida sezilarli darajada silkindi. Biroq, keyinchalik

ma'lum bo'ldiki, bu shaklda bu DNK faqat vegetativ fag zarrachasida mavjud va bu fag DNKsining replikativ shakli ham ikki ipli. Bundan tashqari, ba'zi viruslarning RNKsi ikki zanjirli bo'lishi mumkinligi juda kutilmagan bo'lib chiqdi. RNKning makromolekulyar tashkilotining bu yangi turi 1962 yilda P.Gomatos, I.Tamm va boshqa tadqiqotchilar tomonidan hayvonlarning ayrim viruslarida va o'simliklar yarasi o'simtasi virusida topilgan. Yaqinda V. I. Agol va A. A. Bogdanov (1970) chiziqli RNK molekulalaridan tashqari yopiq yoki tsiklik molekulalar ham mavjudligini aniqladilar. Ular siklik ikki zanjirli RNKni aniqladilar, xususan, ensefalomyelokardit virusida. X. Devio, L. Tinoko, T. I. Tixonenko, E. I. Budovskiy va boshqalarning (1960 - 1974) ishlari tufayli bakteriofaglarda genetik materialni tashkil etish (yotqizish)ning asosiy xususiyatlari ma'lum bo'ldi.

1950-yillarning oxirida amerikalik olim P.Doti qizdirish DNK denaturatsiyasiga olib kelishini aniqladi, bu esa asos juftlari orasidagi vodorod aloqalarining uzilishi va komplementar zanjirlarning ajralishi bilan kechadi. Bu jarayon «spiral-spiral» fazali o'tish xarakteriga ega va kristallarning erishiga o'xshaydi. Shuning uchun Doti DNK DNK erishining termal denaturatsiyasi jarayonini chaqirdi. Sekin sovutish bilan molekulalarning renaturatsiyasi sodir bo'ladi, ya'ni bir-birini to'ldiruvchi yarmlarning birlashishi.

1960 yilda renaturatsiya tamoyilidan J. Marmur va K. Shildkrautlar tomonidan turli mikroorganizmlar DNKsining «gibridlanish» darajasini aniqlash uchun foydalanilgan. Keyinchalik, E. Bolton va B. Makkarti DNK-agar ustunlari deb ataladigan usulni taklif qilish orqali ushbu texnikani takomillashtirdilar. Bu usul turli DNK nukleotidlar ketma-ketligining homologiya darajasini o'rganish va turli organizmlarning genetik munosabatlarini yoritishda ajralmas bo'lib chiqdi. Doti tomonidan kashf etilgan DNKning denaturatsiyasi J. Mandel va A. Xershey tomonidan tasvirlangan metillangan albumin bo'yicha xromatografiya * (1960) va zichlik gradienti sentrifugalash (usul 1957 yilda M. Meselson, F. Stahl va D tomonidan ishlab chiqilgan. Winograd) alohida komplementar DNK zanjirlarini ajratish, izolyatsiya qilish va tahlil qilish uchun keng qo'llaniladi. Masalan, V.

Shibalskiy (AQSh) lambda fagining DNKsini ajratish uchun ushbu usullardan foydalangan holda 1967 - 1969 yillarda ikkala fag zanjiri ham genetik jihatdan faol ekanligini ko'rsatdi. , va bitta emas, chunki bu hisoblangan (S. Spiegelman, 1961). Shuni ta'kidlash kerakki, lambda fagining ikkala DNK zanjirining genetik ahamiyati haqidagi g'oya birinchi marta SSSRda SE Bresler (1961) tomonidan ifodalangan.

* (Bakteriyalar va viruslar genetikasi bo'yicha olib borgan ishlari uchun A. Xershey M. Delbryuk va S. Luriya bilan birgalikda 1969 yilda Nobel mukofotiga sazovor bo'ldi.)

Genomning tashkil etilishi va funktsional faolligini tushunish uchun DNK nukleotidlari ketma-ketligini aniqlash katta ahamiyatga ega. Bunday aniqlash usullarini izlash dunyoning ko'plab laboratoriyalarida olib boriladi. 1950-yillarning oxiridan boshlab M.Bir va uning hamkorlari AQSHda elektron mikroskop yordamida DNK ketma-ketligini o'rnatishga harakat qilishdi, ammo hozirgacha muvaffaqiyatga erisha olmadi. 1950-yillarning boshida Sinsheymer, Chargaff va boshqa tadqiqotchilarning DNKning fermentativ degradatsiyasiga oid birinchi ishlaridan ma'lum bo'ldiki, DNK molekulasidagi turli nukleotidlar tasodifiy bo'lmasa-da, lekin notekis ravishda taqsimlanadi. Ingliz kimyogari C. Barton (1961) ma'lumotlariga ko'ra, pirimidinlar (70% dan ortiq) asosan mos keladigan bloklar shaklida to'plangan. A. L. Mazin va B. F. Vanyushinlar (1968 - 1969) turli DNKlarning pirimidin birikish darajasi har xil ekanligini va hayvon organizmlari DNKsida u pastdan yuqoriga qarab sezilarli darajada oshishini aniqladilar. Shunday qilib, organizmlar evolyutsiyasi ularning genomlari tuzilishida ham namoyon bo'ladi. Shuning uchun ham evolyutsiya jarayonini bir butun sifatida tushunish uchun nuklein kislotalarning tuzilishini qiyosiy o'rganish alohida ahamiyatga ega. Biologik ahamiyatga ega polimerlar va birinchi navbatda DNK tuzilishini tahlil qilish filogenetik va taksonomiyaning ko'plab alohida muammolarini hal qilish uchun juda muhimdir.

Shunisi qiziqki, mollyuskalarning gemoglobinlarini o'rgangan ingliz fiziologi E.Lankester roppa-rosa 100 yil avval molekulyar biologiya g'oyalarini oldindan

bilgan holda shunday yozgan edi: “Hayvon va o’simliklarning turli turlari va avlodlari o’rtasidagi kimyoviy tafovutlar ham xuddi shunday muhim ahamiyatga ega. ularning paydo bo’lish tarixi ularning shakli sifatida. Agar biz organizmlarning molekulyar tashkil etilishi va faoliyatidagi farqlarni aniq belgilab olsak, biz turli organizmlarning kelib chiqishi va evolyutsiyasini morfologik kuzatishlar asosidagidan ko’ra ancha yaxshi tushungan bo’lardik «* . Taksonomiya uchun biokimyoviy tadqiqotlarning ahamiyatini V. L. Komarov ham ta’kidlab, «biz turlarni tasniflaydigan va o’rnatadigan barcha hatto sof morfologik belgilarning asosi aynan biokimyoviy farqlardir» ** deb yozgan.

* (E. R. Lankester. *Über das Vorkommen von Hämoglobin in den Muskeln der Mollusken und Verbreitung desselben in den lebendigen Organismen.* - «Pflüger» s Archiv für die gesammte Physiologie, 1871, Bd 4, 319.)

** (V. L. Komarov. *Tanlangan asarlar*, 1-jild. M.-L., SSSR Fanlar akademiyasi nashriyoti, 1945, 331-bet.)

A. V. Blagoveshchenskiy va S. L. Ivanov 1920-yillarda mamlakatimizda organizmlar evolyutsiyasi va sistematikasining ayrim masalalarini ularning biokimyoviy tarkibini qiyosiy tahlil qilish asosida yoritish uchun birinchi qadamlarni qo’yishdi (2-bobga qarang). Oqsillar va nuklein kislotalarning strukturasini qiyosiy tahlil qilish hozirgi vaqtda taksonomlar uchun tobora aniq vositaga aylanib bormoqda (21-bobga qarang). Molekulyar biologiya bu usuli nafaqat alohida turlarning tizimdagi o’rnini aniqlab olishga imkon beradi, balki organizmlarni tasniflashning o’ziga xos tamoyillariga yangicha qarashni, ba’zan esa butun tizimni qayta ko’rib chiqishni talab qiladi. , masalan, mikroorganizmlarning sistematikasi bilan sodir bo’lganidek. Shubhasiz, kelajakda genomning tuzilishini tahlil qilish organizmlar kimyosistematikasida markaziy o’rinni egallaydi.

DNK replikatsiyasi va transkripsiyasi mexanizmlarini dekodlash molekulyar biologiya rivojlanishi uchun katta ahamiyatga ega edi.

3 MAVZU: NUKLEIN KISLOTALARNING BIRLAMCHI STRUKTURASI.

Maruza rejasi:

- 1.Nukleotidlar strukturasiga
- 2.Polinukleotidlarning tuzilishi
- 3.Nuklein kislotalarning nukleotid tarkibi.
- 4.DNK replikatsiyasi

Tayanch so'zlar: replikatsion ayri, DNK – polimeraza, reparatsiya.

Nukleotidlar strukturasiga

Nukleotidlar strukturasiga azot asosi, uglevod qoldig'i va fosfat kislota kiradi. Ucha komponent molekulada: A-U-R tartibda joylashgan. Nukleotidni ikki xil gidrolizlash yo'li bilan bu tartibni aniq tasdiqlash mumkin. Birinchi xil gidrolizda uglevod bilan fosfat kislota orasidagi bog' uzilib, azot asosi va uglevoddan iborat glikozid xosil bo'ladi. Ikkinchi xil gidrolizda azot asosi erkin holda ajralib uglevod bilan fosfat kislotadan iborat monosaxarid fosfat hosil bo'ladi. Demak, nukleotid molekulasida uglevod o'rtada joylashgan:

Nukleotid tarkididagi azot asoslari va uglerod komponentlardagi atomlarni aniq belgilash maqsadida riboza va dezoksiriboza molekulasidagi uglerod vatamlari nomerlari ustiga shtrix qo'yiladi. Nukleozidlar tarkibidagi azot asosi nomiga qarab adenozin, guanozin, uridin va sitidin, DNKda uchraydigan dezoksiribozonukletidlar dezoksiadenozin, dezoksiguanozin, dezoksitsitidin va timidin deb ataladi.(Timidin nomida dezoksi old qo'shimcha yo'qligini sababi timin riboza bilan hosil qilgan nukleotid deyarli uchramaydi.)

Nukleotidlar molekulasidagi uglevod (riboza yoki dezoksiriboza) o'zining 1-uglerod atomi bilan purin asoslarining 9-,pirimidin asoslarning 1-azotiga birikkan. YUqorida aytilgan psevdouridilat kislota bundan mustasnodir.Uning molekulasida ribozaning 1-uglerodi uratsilning 1-azoti bilan emas.balki 5-uglerod atomi bilan birikkan:Nukleozid nukleotid molekulasining fragmentidir.Unga fosfat kislota birikishi bilan nukleotid hosil bo'ladi.Fosfat kislota qoldig'i nukleozidning uglevod komponentini 5-uglerodiga birikadi.Birikkan fosfat kislota qoldiqlarining

soniga qarab nukleozidmonofosfat, nukleoziddifosfat, nukleozidtrifosfatlar farq qilinadi. Nukleotidlarning bu uch xili doim hujayrada mavjud. Nukleotidlar nomenklaturasi ikki xil asosda tuzilishi mumkin, ularni nukleotidlarning fosfat efiri sifatida qaralganda, adenzin unumlarini adenzin 5-monofosfat (AMR), adenzin 5-(ADR), adenzin 5-trifosfat (ATR) deb ataladi. Yoki kislotali fosfat gruppasi bo'lganidan ularni nukleozidlarning kislota unumlari sifatida adenilat dezoksiadenilat, uridilat, timidilat kislotalar deb ataladi.

Adenzintrifosfatning hujayra energetikasidagi roli

Nukleozid 5-trifosfatlar birinchi navbatda nuklein kislotalar sintezi uchun zarur. Ular polinukleotid zanjirining halqalarini tashkil qiladi. Bundan tashqari, juda ko'p katalitik reaksiyalarda koferment sifatida ishtirok etadi. Barcha trifosfonukleotidlar orasida adenzin 5-trifosfat alohida ahamiyatga ega. Undan adenilatsiklaza fermenti ta'sirida 3,5-siklik adenilat (3,5-siklik adenzin monofosfat) hosil bo'ladi. Bu siklik nukleotid biologik aktiv moddalar, asosan gormonlar ta'sirining elchisi sifatida hujayra metabolizmini idora qilishda hal qiluvchi rol o'ynaydi. Siklik AMR dan tashqari, 3,5 siklik guanozin monofosfat (sGMR) ham gormon elchisi sifatida bioximiyaviy jarayonlarni rostlab turishda ishtirok etadi va ko'pincha s AMR nisbatan teskari ta'sir ko'rsatadi.

Lekin adenzintrifosfatning bioenergetik jarayonlardagi o'rnini uning barcha funksiyalaridan benihoya yuksak turadi ATR barcha tirik hujayralarda energiyani saqlovchi va tashuvchi molekula vazifasini bajaradi. ATR ning bunday ajoyib o'ziga xos fueksiyasi uning tarkibidagi fosfat kislota qoldiqlari orasidagi ximiyaviy bog'lar yuksak energiyali bog'bo'lishi, ya'ni ular uzilganda ximiyaviy bog'lar uzilganiga qaraganda 4-5marta ortiq energiya ajralishiga bog'liq.. ATR molekulasida bunday bog'lardan ikkita, ADR da bitta bor. Bunday bog'lar to'liqlik bilan ko'rsatiladi. ATR ning parchalanishi energiya sarflanishi zarur:

Gidroliz $ATR-ADR+aR+E(7,0); E_e^-$ erkin energiya (kkallarda)

$ATR-AMR+aRR+E_e(8.6)$

Sintez uchun zarur energiyani energiyaga boy boshqa molekula yetkazadi, masalan, atsilfosfatlar.

ATRning yuksak potentsiali gruppalar bir molekuladan ikkinchisiga ko'chirilgan ortofosfat, pirofosfat, qoldiqlari bilan birga uzatiladi; bunday ko'chirish reaksiyalarida ATR parchalanib, erkin anorganik fosfat yoki pirofosfat hosil bo'lmaydi va energiya ajralib issiqlik shaklida yoyilmaydi. Hujayrada energiyaga boy bo'lgan birikmalar (yog' kislotalar, uglevodlar) parchalanganda ajraladigan energiya makroergik bog' shaklida oraliq mahsulotlarda ushlanadi va ADR fosforirlanib (anorganik fosfat biriktirib) ATR hosil qilishi uchun sarflanadi. Shunday qilib, hujayrada ximiyaviy energiya almashinuvining universal yo'li makroergik fosfatni ko'chirish va anorganik fosfatni bog'lashga asoslangan.

Oksidlanish reaksiyalarining energiyasi hisobiga anorganik fosfatning bog'lanishi fosforlovchi oksidlanish deb ataladi, u mitoxondriyalarda kechadi:

ATR ning yuksak potentsiali yana AMR qoldig'ini ko'chirish bilan kechadigan turli sintetik reaksiyalarda sarflanadi. Bu jarayon sintetaza (fosfokinaza) fermentlari ishtirokida pirofosfat kislota ajralishi bilan boradi.

Polinukleotidlarning tuzilishi

Nuklein kislotalar ximiyaviy tuzilishi bo'ycha molekulyar massa 20000 dan bir necha milliongacha bo'lgan polenukleotidlardir. RNK DNK ga nisbatan ancha sodda, molekulyar massasi xam kichikroq, tarkibiga kiradigan mononukleotidlar soni 70 dan 100 mingacha, DNK da esa 100 milliongacha etadi.

Polenukleotid molekulasida mononukleotidlar o'zaro fosfat kislota orqali bog'langan. Fosfat gruppasi ikkita qo'shni nukleotidlarning uglevod qoldiqlarini 3-va 5-atamlari bilan efir bog'lari xosil qilganidan u 3-5 fosfodiefir deb ataladi. Polinukleotid zanjir shoxlanmagan uzun tuzulma xosil qilganidan uning bir uchida erkin 5 ON, ikkinchi uchida erkin 3 ON bo'ladi. Polinukleotidlarda mononukleotidlarning birin-ketin kelishi (izchil joylashuvi) uning birlamchi strukturasini tashkil qiladi. Uni aniqlash juda ham muhim va katta qiziqish

tug'diradi, chunki nukleotidlarning nuklein kislota molekulasidagi joylashish tartibi ximiyaviy kod bo'lib, ularning biologik funksiyasini ifodalaydi.

Bu sxemada tetranukleotid formulasi keltirilgan, chapda 5-uchi fosfat gruppaga tutadi, o'ng uchida 3-uglerod erkin ON gruppaga tutadi. Polinukleotid zanjiri uzun bo'lganda uning formulasini bunday to'la yozish ancha mashaqqatli ish. SHuning uchun nuklein kislotaning formulasini qisqartirilgan shaklda yozish qabul qilingan. Bunda har bir nukleotid bitta bosh harf bilan ifodalanadi: N-umuman nukleotid; A, G, S, U, T (A, G, C, U (C)-sitozin, U (U)-uratsil, T (T)-timin. Bunda fosfat T)-konkret nukleotidlar: A (A)-adenin, G (G)-guanin, S kislota qoldig'i (R) oldinda bo'lsa, u monomerning 5-uchini, orqada bo'lsa 3-uchini bildiradi. Nukleozidlarni vertikal chiziqlar shaklida ifodalab, 1-uchida azot asosi, 5-uchida fosfat gruppaga va uning 3-o'rindagi S bilan bog'langanligi ko'riladi (quyidagi formulaga qarang).

Yana ham soddaroq yozilganda u quyidagi ko'rinishda bo'ladi:



Nuklein kislotalarning birlamchi strukturasini o'rganish hozirgi vaqtda juda ham takomillashtirilgan va avtomatlashtirilgan. Avvalo RNK va DNK ni hujayralardan, hujayradan kichik fraksiyalardan yoki viruslardan ajratib olish, tozalash usullari ishlab chiqiladi. Nuklein kislotalar tarkibida fosfat kislota bo'lganidan ular kislota xossasiga ega va fiziologik sharoitda manfiy zaryadlangan bo'ladi. Hujayrada ular musbat zaryadga ega oqsillar (asosan gistonlar) bilan birikib, nukleoproteid shaklida uchraganidan biologik material maydalangan (gomogenlashtirilgan) dan so'ng nuklein kislotaning oqsil bilan hosil qilgan kompleksi buziladi. Buning uchun maydalangan material NaCl ning kuchli eritmasi yoki fenol bilan ishlanib, ajralib chiqqan nuklein kislota etanol bilan cho'ktiriladi. Bu jarayon oqsilni denaturlaydigan komponent (masalan, natriy dodetsil sulfat yoki natriy salitsilat) ishtirokida o'tkazilsa, sentrifugalashda denaturlangan oqsil fenol fazasida, nuklein kislotalar esa suv muhitida qoladi. So'ngra nuklein kislotalar sovuqda etanol bilan cho'ktiriladi.

Hozirgi vaqtda RNK bilan DNK aralashmasini komponentlarga ajratish uchun ion almashinuvchi, adsorbsion, gel-ichiga kiradigan va affin

xromatografiya va konsentratsiya gradientida ultratsentrifugalash usullari qo'llaniladi. Bu va boshqa (masalan, gibridizatsiya) usullar amaliy qo'llanmalarda batafsil keltiriladi.

Nuklein kislotalarning nukleotid tarkibi.

Nuklein kislotalarda azot asoslari- A,G,S,U,T larning protsent nisbatini o'rganish bir qator muhim kashfiyotlarga olib keladi. Polinukleotidlar tarkibidagi nukleotidlarni aniqlash uchun nuklein kislota to'la gidroliz qilinib, hosil bo'lgan nukleotidlar xromotografik usulda (odatda, ion almashinuvchi ustunchada) analiz qilinadi. Polimerni monomerlarga parchalash uchun nuklein kislotalar gidrolizini katalizlovchi nukleazalar deb ataladigan fermentlardan foydalaniladi.

Har bir RNK va DNK molekulasi ayni nukleotidlar tarkibiga ega bo'lsa ham, bu uning strukturasi yagona o'ziga xos (unikal) xarakteristikasi emas. Nuklein kislotalarning o'ziga xosligini faqat tarkibidagi asoslarning izchil joylashuvi ifodalaydi. Ammo DNK molekulalari nukleotidlari tarkibi uchun ularning ajratib olingan manbaidan qat'i nazar muhim umumiy qonuniyatlar ma'lum: ularning nukleotid tarkibi yuqorida keltirilgan Chargaff qoidalariga bo'ysunadi, ya'ni DNK molekulalarida:

1. Purin asoslari (A+G) soni pirimidin asoslari (S+T) ga teng, ya'ni purinlarning pirimidinlarga nisbati birga teng.
2. Adenin qoldiqlarining soni timin qoldiqlari soniga teng, ya'ni adeninning timinga nisbati birga teng ($A/T=1$).
3. Guanin qoldiqlarining soni sitozinga nisbati birga teng ($G/S=1$).

Bu qoidalar DNK molekulasi foizdagi strukturasi aniqlashda xal qiluvchi ahamiyatga ega bo'ladi.

DNK replikatsiyasi.

DNK biosintezi-genlar replikatsiyasi, ya'ni organizm belgilarining yuzaga chiqishidir. Geteropolimer bo'lgan informatsion makromolekulalar genetik informatsiyani o'zining birlamchi strukturalarida saqlaydi va tashiydi. DNK molekulasida nukleotidlar izchil joylashgan bu informatsiya replikatsiya ham

transkripsiyada amalga oshadi. Genetik informatsiyaning realizatsiya qilinishi DNK

Molekulasida nukleotidlar tartibi shaklida yozilgan buyruq (ko'rsatma)ni oqsil molekulasi sintezida aminokislotalar tartibga aylantirishdan iborat. Informatsiya oqimi quyidagi yo'nalishda kechadi:

DNK---->RNK---->oqsil---->hujayra---->organizm

Hozirgi zamon biologiyasining asosiy postulati DNK RNK ni yaratadi, RNK oqsilni. DNK ning o'zi informatsiya xazinasini, u oqsil sintezida bevosita ishtirok etmaydi. DNK faqat hujayra siklida, bola hujayralar paydo bo'lishidagina ikkita zanjirga ajraladi va bunda har bir zanjir muvofiq etishmagan komplementlar zanjir sintezlanib, bitta DNK molekulasidan ikkita molekula yaratiladi. Bu fundamental jarayon hujayralar bo'linishi, belgilarning nasldan-naslga o'zgarmay o'tish asosida bo'lib, replikatsiya, nusxa olish deb ataladi. Irsiy informatsiya amalga oshirishning ikkinchi bosqichi oqsil sintezini boshqaradigan uch xil RNK molekulalarini sintez qilishidir. Bu jarayon transkripsiya (ko'chirib yozish) deyiladi. Molekulyar biologiyaning "markaziy dogma"si

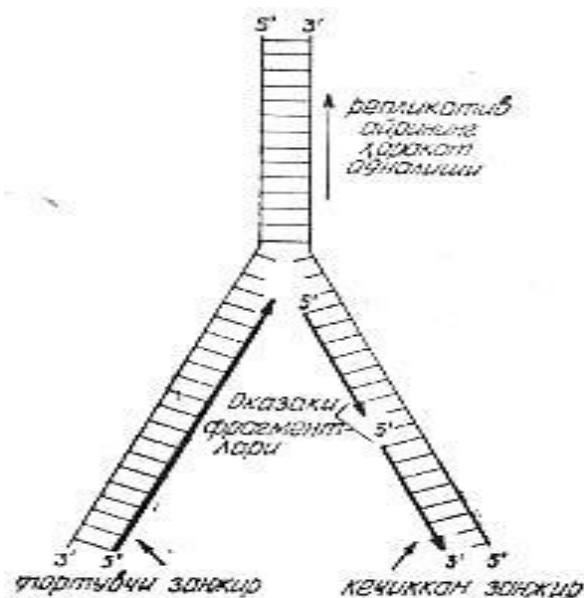
DNK → DNK → RNK → oqsil prinsipiga muvofiq, informatsiya oqsilga o'tar ekan, uning orqaga qaytmasligi qayd qilinadi.

Ko'p asrlar davomida noma'lum bo'lib kelgan organizm irsiy begilarining nasldan-naslga o'tish muammosi DNK molekulasining ikki zanjirli tuzilishi va bu zanjirlar tuzilishi va bu zanjirlar bir-biriga komplementar ekanligi kashf etilgandan so'ng, tez sur'atlar bilan ishlanib, qisqa vaqt ichida hal bo'ldi.

Uotson va Krik gipotezasiga muvofiq, DNK qo'sh spiralining har bitta zanjiri komplementar bola zanjirlar replikatsiyasi uchun matritsa sifatida xizmat qiladi. SHuni eslatib o'tish kerakki, makromolekulalarning aniq qaytadan yaratilish va irsiy informatsiyani uzatilish g'oyasi birinchi bo'lib Rossiyada N.K.Kolsov tomonidan ishlab chiqilgan edi. 1927 Kolsov hujayralar ko'payishida xromosomalar («irsiy molekulalar») matritsa asosida o'z-o'zidan ko'payadi, degan gipotezani e'lon qildi. Lekin u yillarda u yillarda hali oqsillarning funksional ahamiyati haqida ma'lumot etarli bo'lmagandan, bu xususiyat DNK ga

emas, oqsil molekulasiga taalluqli deb faraz qilingan edi. SHunday bo'lsa ham, makromoleklalarning avtokatalitik yo'l bilan yangidan paydo bo'lishi haqidagi fikrning o'zi shubhasiz, bashoratdir

1956yili Amerika olimi Artur Kornberg bir zanjirli DNK dan matritsa sifatida foydalanib, uning qo'sh zanjirini sintez qiladigan DNK-polimeraza fermentini ochdi. 1950 yillar oxirida M. Mezelson va F.V. Shital oqilona eksperimentlar qilib, har bir yangi DNK molekulasining har bir zanjiri oldinda mavjud (tayyor) molekuladan, ikkinchisi esa yangidan sintez qilingan ekanligini ochiq-oydin tasdiqlab berdi. Bunday mexanizm yarim konservativ sintez deb ataladi, chunki har bir bola DNK da faqat bitta ona zanjir saqlanadi.



37-расс. Репликация айриси.

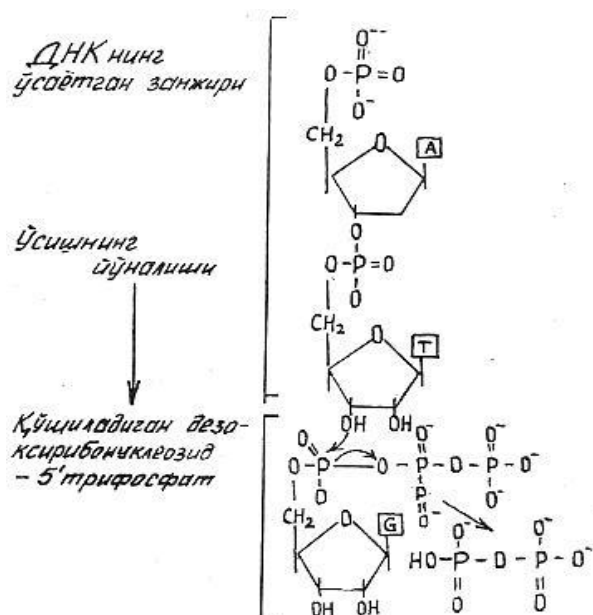
Mana shu erda DNK strukturasini qat'iy aniq joyda yoyadigan maxsus sharnir mexanizmi borki, u bir vaqtda replikatsiya qilish uchun ikki zanjirni ham ochadi. Hosil bo'lgan replikatsiya "ayrisi" qo'sh zanjir bo'ylab ikki zanjirning nusxasi olinmaguncha harakat qiladi. so'ngra eukariot DNK replikatsiyasi bir vaqtda juda ko'p (ularning soni 1000dan ham ortiq) nuqtalarda boshlanishi tasdiqlandi. Bunday nuqtalarining har biridan bir vaqtda qarama qarshi tomonlarga qarab ikkita replikativ ayri harakatda bo'ladi. Natijada butun eukariot xromosomaning replikatsiyasi juda tez o'tadi. DNK replikatsiyasi asosan A.Kornberk kashf etgan. Bir DNK- polimeraza fermenti ta'sirida o'tadi. U substrat sifatida

dizoksiribonukleotid trifosfatlarni iste'mol qilib, dizoksiribonukleotid tid qoldiqlari DNK zanjirining uchiga ulanishi katalizlaydi.

Bu yerda: dNMP dizoksiribonukleozid 5, monofosfat ; d NTP-dizoksiribozonukleozid-trifosfat.

Agar bu oldbirikmalarning to'rt xilidan bittasi bo'lmasa ham DNK sintezlanmaydi. Dizoksiribonukleozid 5-trifosfatlarning bittasi ham tegishli 5-di yoki monofosfatlar bilan almashtirilishi ham mumkin emas. DNK-polimeraza ishlashi uchun Mg^{2+} ionlariga muhtoj.

DNK polimeraza yangi dizoksiribonukleotidlarning α -fosfatning DNK ning tayyor zanjirining erkin 3-gidroksil gruppasiga bog'lanishini katalizlaydi binobarin DNK sintezi $5 \rightarrow 3$ yo'nalishida boradi. DNK tarkibida har bir yangi fosfodiefir bog' hosil bo'lishi uchun zarur energiya oldmoddalar-dizoksiribonukleozid 5-trifosfatlarning α va β -fosfat gruppalari orasidagi pirofosfat bog'larining uzilishi bilan ta'minlanadi.

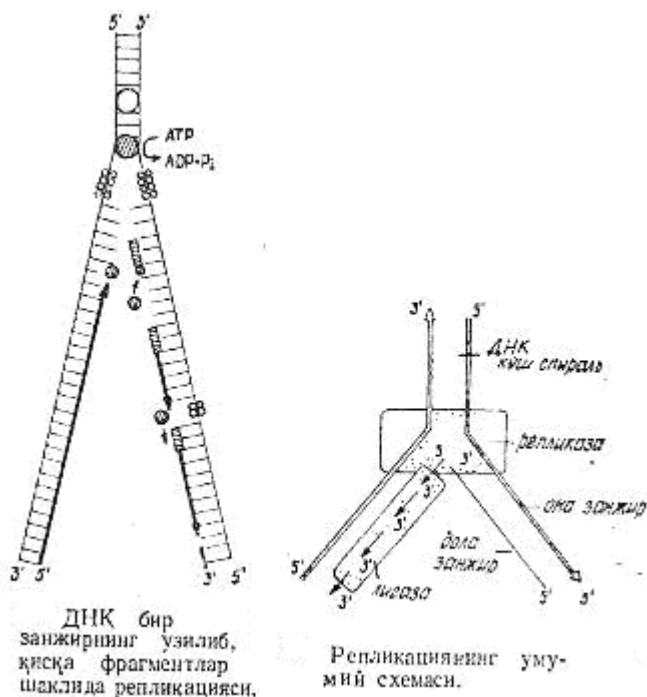


Kornberg va uning xodimlari DNK molekulasining tayyor namunasi DNK-polimerazaga nima uchun lozim ekanligini tekshirib, u DNK-polimeraza reaksiyada ikkita muhim vazifa bajarishini aniqladilar: bir-namuna (zatravka, tomizg'i), ikkinchisi- matritsa sifatida. DNK-polimerazaning o'zi namuna bo'lmaganda yangi DNK sintezini boshlay olmaydi.

DNK replikasiyasi uchun faqat DNK-polimeraza fermentining o'zi etarli emas. Bugungi kunda ham replikasiya jarayonining to'la va aniq tasviri yo'q, bu jarayonda ma'lum funktsiyani bajaradigan yigirmadan ortiq ferment va oqsillar ishtirok etsa kerak. Replikatsiyaning o'zi birin-ketin kechadigan bir qancha bosqichlardan iborat. Bu bosqichlarning hammasi juda katta tezlikda, oliy darajada aniq o'tadi.

DNK ning qo'sh spirali zich o'ralgan tuzilma va qodlaydigan asoslar buramaning ichida bo'lganida replikasiya qiladigan fermentlar matritsaning nukleotidlar qatorini "o'qishi" uchun ona DNK sining zanjirlari hech bo'lmasa kalta bir bo'limida echilgan bo'lishi lozim.

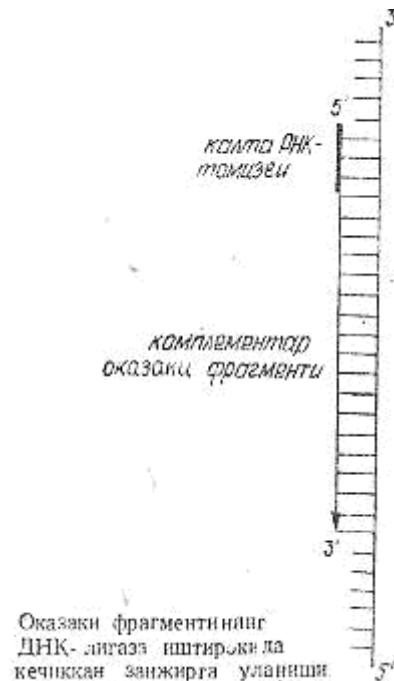
Qo'sh zanjir o'rimining yozilishi-echilishi va ikkala zanjir yangidan qo'shilib ketmasligi uchun ularni bir-biridan ma'lum masofada tutib vazifasini bir nechta maxsus oqsillar bajaradi. Xelikaza (helix-burama so'zidan olingan) nomli fermentlar DNK ning kalta uchastkalarini yozadi, ajralgan zanjirlar qaytadan qo'shilib ketmasligi uchun DNK-bog'lovchi oqsillar; replikasiya jarayonida zanjirlar juda tez echilishida uzilib ketmasligi uchun topoizomeraza (prokariotlarda giraza, hiras-aylanish so'zidan) va yana bir qator ferment va oqsillar, matritsalar va initsiatorlar ishtirok etadi.



Zanjirlarning yoyilishida har bir qo'sh asoslar ajralishi uchun ikki molekula ATP ning gidroliz energiyasi sarf bo'ladi. Umuman, DNK ning yoyilishi DNK replikatsiyasining eng qiziqarli va eng murakkab muammolaridan biridir.

Yigirmadan ortiq replikativ fermentlar va faktorlardan iborat to'la kompleks DNK-replikaza sistemasi yoki qisqacha replisoma deb ataladi. E.soli hujayralarida ma'lum darajada bir-biridan farq qiladigan uchta DNK-polimeraza mavjud. Ular I, II, III polimerazalar deb belgilanadi. I va III polimerazalar bola zanjirining uzayishini ta'minlashidan tashqari, ekzonukleazalik aktivligiga ham ega, ya'ni DNK molekulasining har ikki uchidan ham oxirgi nukleotidlarni ajrata oladi. E.soli hujayrasida DNK zanjiri elongatsiyasiga asosan III DNK-polimeraza javob beradi. II DNK –polimerazaning funksiyasi hozircha aniqlangan emas.

DNK molekulasining har ikkila zanjirining bir vaqtda replikatsiya qilinishi bir qator yangi muammolarni keltirib chiqardi. Ulardan biri DNK- polimerazalar yangi monomerlarni faqat DNK ning 3-uchiga bog'lashgagina qobil ekanligidan kelib chiqadi. Unda DNK ning 5-uchidan boshlanadigan sintez qanday o'tadi? Buning uchun alohida mexanizm va maxsus ferment bormi yoki bitta fermentning o'zi zanjirning 3-uchidan ham, 5-uchidan ham uzaytira olmadimi? Bu savollarga yapon olimi Reydji Okazakining muxim kuzatishlari javob berdi.



1969 yili bu olim xar ikkala zanjir bir vaqtda replikatsiya qilinganda, bir zanjir uzluksiz, ikkinchi yangi zanjir esa kalta fragmentlar shaklida sinezlanishini kashf etdi. Uzluksiz sintezlanadigan zanjir “*boshlovchi*”, uzilib sintezlanadigan “*qoloq*” zanjir deb ataladi. So’ngra Okazaki fragmentlarining sintezi uchun tomizg’i (zatravka) sifatida RNK ning kichik bo’lakchalari kerak ekanligi xam malum bo’ldi, chunki DNK-polimerazaning o’zi zanjirni initsiiray olmaydi. Ribonukleozid trifosfatlardan 5→3 yo’nalishidagi bog’lanish *primaza* deb ataladi. RNK zatravka kalta bir zanjirli RNK bo’lib, uning 3-uchiga izchilik bilan dezoksiribonukleotid qoldiqlari birikadi. Eng keyingi vaqtda xar ikkala zanjir xam kalta fragmentlar shaklida sintezlanishi isbotlandi.

Replikatsiya bir necha initsia nuqtalarida boshlanadi va xar bir replikatsiya ayrisi ikkala tomonga xarakat qiladi. Qo’sh spiralning ayrilishi zanjirning bittasini tanlab, unga ulanadigan “ayruvchi oqsillar tasiri” tufayli boradi. Xosil bo’lgan 1000-2000 ta nukleotiddan tuzilgan Okazaki fragmentlari, so’ngra *ligaza* fermenti yordamida bir-biriga ulanadi.

Replikatsiya xalqali DNK molekulalarida o’ziga xos mexanizm bilan boradi, bunda boshqa fermentlar qatnashadi. Lekin jarayon shu qadar murakkab bo’lishiga qaramay juda tez sur’atda o’tadi: 1 minutda bitta replikativ ayriq

45000 qo'sh nukleotidni bog'laydi. Uning barcha nozik detallari mukammal o'rganilganiga hayratda qolasiz. Okazaki fermentlari DNKning kechikkan zanjiriga DNK-ligaza yordamida 3-5 difosfoefir bog'lar orqali ulanadi. Difosfoefir bog'ini hosil bo'lishi energiya sarf qilinishiga muxtoj. Bu energiya NAD + yoki ATR ning priofosfat bog'ini bir vaqtda uzilishi bilan ulangan.

4-MAVZU:

RNK STRUKTURASI VA UNING SINTEZI. TRANSKRIPSIYA JARAYONI

Reja

1. RNK tiplari
2. RNKning birlamchi va ikkilamchi strukturalari.
3. Transkripsiya

Tayanch so'zlar: *ribosoma, mitoxondriya, xloroplast*

Bajaradigan funksiyasiga qarab, RNK lar asosan uch sinfga bo'linadi: messenjer (elchi)-informatsion RNK (m-RNK), ribosomol RNK (r-RNK) va transport (tanishuvchi) RNK (t-RNK). Ular xam ikkilamchi va uchlamchi strukturaga ega. Viruslar RNK si m-RNK ga juda o'xshash bo'ladi.

Eukariot xujayralarda RNK yadroda, sitoplazmada va sitoplazma organellalari (ribosoma, mitoxondriya, xloroplastlar)da bo'ladi. YAdro RNK sintezlanadigan asosiy joydir. Barcha RNK tiplarining funksiyasi tirik xujayrada DNK da yozilgan genetik informatsiyani malum o'zgarishlar bilan ko'chirib olib (dezoksiriboza o'rniga riboza, timin o'rniga uratsil), almashtirib oqsil sintez qiladigan joyga (ribosomalarga) etkazish va oqsil sintezi jarayonida shu informatsiyani amalga oshirish (translyasiya), tarjima qilishga qaratilgan. Ichak tayoqchasida RNK sining tiplari quyidagi nisbatda bo'ladi: m-RNK~2, t-RNK~16% va r-RNK~82%.

3- jadval

RNK ning tiplari

RNK larning xossalari				
Sinf	Седиментация тезлиги	Молекуляр массаси	Нуклеотид қол-диқларининг тах-миний сони	RNKning хужай-радаги умумий миқдори (%)
m- RNK	6—25 s	25000—1000000	75—3000	~2
t- RNK	4	23000—30000	73—93	~16
r- RNK	5	35000	100	
	16	550000	1500	~82
	23	1100000	3100	

RNK ning har uch tipi ham oqsil sintezida ishtirok etadi, lekin ularning har birining bu jarayonda maxsus, takrorlanmas funksiyasi bor.

Euakariot hujayralarda RNK ning boshqa tiplari ham topilgan, lekin ularning funksiyasi hali aniqlangan emas, shuning uchun ularning belgilari ham yo'q. Ularning ba'zilar yadroda, boshqalari sitoplazmada uchraydi.

RNK turli tiplarining funksiyasini quyidagicha tasvirlash mumkin:



Matritsa RNK si. RNK ning bu tipi informatsion RNK deb ham ataladi. U transkripsiya jarayonida DNK ning zanjirlaridan birida hosil bo'lib, uning ayrim bo'lagining aniq nusxasini tashkil qiladi, faqat uglevod komponenti bo'yicha farq qiladi (dezoksiriboza o'rniga riboza) va timin o'rniga uratsil tutadi. RNK ning bu tipi DNK dagi informatsiyani tashuvchisi bo'lgani uchun informatsion RNK (i-RNK) deb atalsa, matritsa RNK si m-RNK nomi bilan yuritilishi oqsil sintezida matritsa (qolip,

andaza) sifatida xizmat qilgani uchun berilgan. Informatsion RNK eng uzun RNK va uning umri juda qisqa: sintezlangan joyi-yadrodan sitoplazmaga o'tib ribosomaga joylashadi va polipeptid zanjir uchun matritsa bo'lib xizmat qiladi.

Ribosoma RNK lari

Agarda ribosoma bu RNK demakdir deyilsa, mubolag'a bo'lmas edi. Chunki qachonlardir ribosoma faqat RNK dan tashkil topgan, evolyusiya jarayonida ribosoma tarkibida oqsillar paydo bo'la boshlagan.

Evolyusiya jihatidan yoshroq eukariotik hujayra ribosomalari 1: 2 qismi oqsildan iborat bo'lsa, evolyusion eski prokariot hujayralar ribosomalari 1: 3 nisbat oqsildan iborat bo'ladi.

Ribosoma RNKlarining turlari. Prokariot hamda eukariotik ribosomalar har bir subbirliliklarida bittadan har xil yuqori polimerlangan RNK ushlaydilar va bita kichkina molekulyar massali 5S RNK ushlaydilar. Bundan tashqari eukariot hujayralar kichkina molekulyar massali 5,8S RNK ham ushlaydilar. Bu RNK prokariot ribosoma katta subbirligi tarkibidagi yuqori molekulali RNKning 5'-oxirgi zanjiri gomologi bo'lib hisoblanadi. SHu jumladan xloroplastlar ribosomalari 4,5S RNK ushlaydilar. Bu RNK bakteriyalar ribosomalari katta subbirliliklari tarkibiga kiruvchi yuqori molekulali RNKning 3'-zanjirining gomologi bo'lib hisoblanadi. SHunday qilib, eukariot hujayralar 5,8S RNK va xloroplast ribosomalar 4,5S RNKlarini yuqori polimerlangan katta subbirlilik RNKlaridan ajralish hosilasi deb qarash mumkin, ya'ni bu hodisalar biogenez va ribosomalar etishishi natijasida sodir bo'ladi.

Ushbu kichik molekulyar massali 4,5S RNK va 5,8S RNK Lar yuqori molekulyar massali RNKlarning shakllanishida ishtirok qilishadi, shu sababli bu RNKlarga mustaqil tur sifatida qaralmaydi.

Kichkina subbirlilikning yuqori polimerlangan RNKsi

Bakteriyalar ribosomasi kichkina subbirliliklarida (30S) 1500-1600 nukleotidlar qoldiqlariga teng uzunlikka ega bo'lgan RNK mavjud. (*E.soli*) Ushbu RNK 16S RNK ko'rinishida belgilanadi. 16S-bu sedimentatsiya koeffitsnti hisoblanadi. (S_{20}^0 w)/

Ushbu RNKning molekulyar massasi $0,5 \times 10^6$ Daltonga tengdir.

O'simliklar xloroplastlari ribosomalarining kichkina subbirliliklari (30S)- 16S RNKga ega, ya'ni 1490 nukleotid uzunligiga teng RNK ushlaydi.

Zamburug'lar ribosoma subbirliliklari esa bir oz kattaroq bo'lishadi. (1661 nukleotid qoldig'i). Sut emizuvchilar hujayra mitoxondriyalari ribosomalari esa aksincha kichikroq bo'ladi. 12S RNK, ya'ni (954-956 nukleotid qoldig'iga teng).

Eukariotik 40S subbirliliklar ancha yirikroq RNKga ega (18S RNK). Uzunligi 1800 nukleotid qoldig'iga teng bo'ladi. Molekulyar massasi $0,6 \times 10^6$ Dalton.

Eukariotik 18S RNK muhitda Mg^{+2} miqdoriga bog'liq ravishda hamma tomonlama prokariotik 16S RNK bilan o'xshash bo'ladi.

Katta subbirlikning yuqori polimer RNKsi

Bakteriyalar (*E.soli*) ribosomalari 50S katta subbirliklari 3000 nukleotidlar qoldiqlariga teng uzunlikdagi RNK ushlaydi. 23S RNK shaklida belgilanadi, 6×10^6 Dalton molekulyar og'irlikka ega. (Eukariotik 18S RNK muhitda Mg^{+2} miqdoriga bog'liq ravishda hamma tomonlama prokariotik 16S RNK bilan o'xshash). Demak, katta subbirliklar kichkina subbirliklarga nisbatan 2 marotaba kattaroq RNK Larga ega bo'lishda. Ximiyaviy xususiyatlari jihatdan bir xil bo'lishadi.

Katta subbirlik 5S RNKsi

Prokariotik hamda eukariotik hujayralar ribosomalari katta subbirliklari kichkina molekulyar massaga ega bo'lgan RNK ushlaydilar. 120 nukleotid qoldig'iga teng uzunlikda, 5S RNK ko'rinishida belgilanadi.

Mitoxondrial ribosomalarda, o'simliklar hujayralari mitoxondriyalaridan tashqari, 5S RNK uchramaydi.

tRNK strukturasi (tuzilishi)

1965 yilda R.Xolli tRNK birinchi molekulasining nukleotid ketma-ketligi haqida ma'lumot berdi. Bu achitqilarning alanin tRNKsi edi. SHu vaqtgacha turli tRNKlarning o'nlab ketma-ketliklari echib berilgan bo'lib, ular bir qator umumiy xususiyatlarga ega.

tRNK zanjiri uzunligini 74-95 nukleotid qoldiqlari tashkil qilishi mumkin. Xamma tRNK Z'-oxirida universal SSA trinukleotid ketma-ketlik bilan tugaydi, aynan oxirgi invariant adenosin aminoatsil tRNK hosil bo'lishida aminokislota koldig'ini akseptorlaydi.

Antikodonli triplet taxminan tRNK zanjirining o'rtasida joylashgan. Undan 5'-tomonda 2 ta pirimidin qoldiqlar, Z'-tomonda esa ko'pincha 2 ta purin qoldiqlari (ikkinchisi pirimidin bo'lishi ham mumkin) joylashadi. Mana shu ettita nukleotid koldiklar birgalikda antikodon tugunini hosil qilib, bu tugun o'ziga xos fazoviy strukturaga ega bo'lgan holda mRNK bilan o'zaro munosabatga kirishadi.

Taxminan tRNK zanjiri umumiy uzunligining 1/3 kismi oralig'ida ko'pchilik tRNK uchun umumiy bo'lgan GTC yoki GAC ketma-ketlikdan iborat qism joylashgan, unga ikki tomondan purin qoldiqlari yopishgan bo'ladi.

Bitga tRNKdagi ketma-ketliklarni ko'rib chiqadigan bo'lsak, unda to'rtta asosiy nukleotid qoldiqlariga (AGCU) qo'shimcha ravishda turli xil modifikatsiyalangan nukleotidlar borligi aniqlanadi. Ko'pincha bunday nukleotidlar «**minor**»- nukleotidlar deyiladi. Ular tRNK polinukleotid zanjirining maxsus joylarida oddiy nukleotid qoldiqlarining posttranskripsion modifikatsiyasi natijasida xosil bo'ladi. Hozirgi vaqtda tRNK dagi bir necha o'nlab modifikatsiyalangan nukleotidlar identifikatsiyalangan.

Eng ko'p tarkalgan «**minor**» qoldiqlar-oddiy nukleotidlarning metillashgan xosilalaridir. Masalan, 1- metilguanozin (m^1G) N^2 - metilguanozin (m^2G), 7-metilguanozin(m^7G).

Antikodonning birinchi holatida G va S modifikatsiyalanmagan bo'lishi mumkin.

Antikodonga 3 - tomondan birikuvchi antikodon tugunning purin nukleotidi ko'pincha o'ziga xos modifikatsiya turi («gipermodifikatsiya») bilan xarakterlanadi. Masalan, antikodonga 3'- tomondan yopishuvchi qoldiq eukariotik tRNK, tRNK, tRNKlarda N^6 - izopenteniladenozin (i^6A) ko'rinishda yoki bakteriyalarning analogik tRNK larida N^6 -izopentenil-2-metiltioadenozin (mS^i^6A) ko'rinishida keladi. Hamma eukariotlarning tRNA zanjirida esa u uaytbutozin (u yoki U) yoki uning oksihosilasi (oyu) ko'rinishida gipermodifikatsiyalangan bo'ladi.

tRNK ikkilamchi strukturasi.tRNK birlamchi strukturasi ko'rib chiqqanimizda, bir-biriga antiparallel qismlarning komplementarligini ko'rgandik. Mana shu komplementar ketma-ketliklarni juftlab, sxematik tasvirlanganda, beda bargini eslatuvchi struktura kelib chiqadi. Ahamiyatlisi shundaki, hamma tRNK lardagi nukleotid ketma-ketliklarni mana shunday «**beda bargi**» ko'rinishida taxminlash mumkin bo'lib chiqdi. «Beda bargi» qismlari quyidagicha belgilandi:

akseptor yoki AA band- u universal SSA ketma-ketlikka ega bo'lgan 3 - oxiriga ega bo'lib, aminokislota qoldig'ini akseptorlaydi;

digidrouridil yoki D ayri(shpilka) - tarkibida odatda, bittadan beshtagacha digidrouridil qoldiqlarni saqlovchi tuguni bor;

antikodon yoki AS ayri - undagi antikodon tugun doimiy uzunlikka ega bo'lib, ettita nukleotid qoldiqlardan iborat;

GTYC A universal ketma-ketlikdan iborat tugunni tashuvchi timidilpsevdouridil yoki T ayri.

Bundan tashkari «**beda bargi**» qo'shimcha variabel yoki V tugun ajratilib, u antikodon va T- ayrilar oralig'ida joylashadi.

Strukturasi jihatdan har bir ayri va bandning juftlashgan qismi qo'sh buramani hosil qiladi. RNK qo'sh buramasi bir o'ramga 11juft nukleotid qoldiqlar to'g'ri kelishi bilan xarakterlanadi. Bu spiral (burama) parametrlari DNK A- shakliga yaqin. Mana shu tRNK 2 lamchi strukturasi asosiy elementidir

Lekin tugunlar va akseptor SSA - oxirlarga o'xshash juftlashmagan qismlar 2 lamchi strukturasi boshqacha xarakterga ega. Bunda ko'pincha bir necha qoldiqlar bir burama (spiral) hosil qilib joylashadilar va ular asoslarning tekisliklararo o'zaro ta'sirlashuvi («**steking**») bilan ushlanib turadilar. Antikodon tugun strukturasi aloxida qiziqish uyg'otadi: antikodonning 3 asosi va unga 3 - tomondan birikuvchi keyingi 2 asoslar bir-biri bilan bitta «**steking**»da joylashib, bir ipli o'ngga buralgan spiral hosil qilib shunday o'raladilarki, natijada, antikodonning birinchi asosi ayrining eng uchida, hosil antikodonning hamma 3 asosida vodorod bog'larni hosil qiluvchi guruhlar esa tashqariga qarab qoladilar. Oxirgisi mRNK kodoni bilan o'zaro ta'sirlashishda muhim ahamiyatga ega bo'lsa kerak.

tRNKning uchlamchi strukturasi. tRNK ning 3 lamchi strukturasi shifri birinchi marta achitqi tRNK (drojjevaya) uchun uning kristallarini rentgenostruktur analiz qilish yordamida AQIII da Aleksandr Rich guruxi va Buyuk Britaniyada Aaron Klug guruhi tomonidan 1974 yilda echilgan. Keyinchalik boshqa yana bir necha tRNK lar uchlamchi strukturasi

o'rganilganda, bu tRNK zanjirining uchlamchi strukturaga taxlanishining asosiy surati universalligi aniqlandi.

Akseptor band va T-ayri (shpilka) bitta o'q bo'ylab joylashib, 12 juft nukleotidlardan iborat uzluksiz qo'sh burama hosil qiladi; antikodon ayri va digidrouridil ayrilar ham bitta o'q bo'ylab joylashib, o'z ichiga 9 juft nukleotidlarni oluvchi boshqa qo'sh buramani shakllantiradi; bu ikki buramalar(spirallar) bir-biriga nisbatan to'g'ri burchak hosil qilib shunday joylashadilarki, digidrouridil tugun GG- invariantning YS -invariant bilan o'zaro birikishi orqali T-tugun bilan yaqinlashadi.

Natijada lotincha L xarfi kelib chikib, uning 2 tomonlarining uchlari antikodon va akseptor 3^g - oxirlardan iborat bo'ladi. L-simon molekulaning ichki burchagi yaqinida digidrouridil buramaga (spiralga) akseptor band va digidrouridil burama orasidagi qisqa bir ipli tortma, digidrouridil tugun qismi qo'shimcha variabel tugun taxlanadi. Natijada juda ko'p uchlamchi o'zaro munosabatlardan iborat molekulaning yadrosi hosil bo'ladi. tRNK L - simon molekulasi har bir shoxining uzunligi 7nm, kalinligi 2 nm ga yaqin. Antikodon va akseptor uchi orasidagi masofa 7,6 -7,8 nm, antikodonning hamma 3 asosi xar bir shoxI uchida L simon molekula burchagining ichki tomoniga qaragan bo'ladi.

t-RNK kashf qilinishi.Ma'lumki, oqsillarning aminokislotali ketma-ketligi uchun mo'ljallangan axborot nukleotid ketma-ketlik holida tegishli nusxa beruvchi (matritsa) RNK larda kodlangan. Lekin aminokislotalar strukturasi bilan ularga mos keluvchi kodonlar o'rtasida yaqqol sterik mutanosiblik kuzatilmaydi. Ushbu mulohazadan kelib chiqqan holda 1955 yilda F. Krik o'zining «**adaptor gipotezasini**» taklif kildi. Unda u maxsus kichik adaptor RNK lar va ularga aminokislotalar qoldig'ini kovalent biriktiruvchi maxsus (spetsifik) fermentlar borligini taxmin kiladi. Gipotezaga ko'ra, har bir aminokislotaga faqat o'ziga mos keladigan adaptor RNK va ferment to'g'ri keladi. Boshqa tomondan, adaptor RNK keyinchalik antikodon deb atalgan nukleotid tripletga ega bo'lib, u nusxa beruvchi RNK ning tegishli kodoniga komplementardir. Shunday qilib,

aminokislota tomonidan kodonning tanib olinishi bevosita bo'lmay, adaptor RNK-ferment sistemasi orqali amalga oshiriladi: maxsus (spetsifik) ferment bir vaqtning o'zida aminokislota va unga mos adaptor molekulani tanib oladi va ular o'zaro birikadi; o'z navbatida, adaptor (aminokislota unga osilgan) nusxa beruvchi RNKning tegishli kodonini taniydi va unga birikkan aminokislota ayni shu kodonga yopishadi.

Bularning hammasi tez orada bir qator eksperimentlarda tasdiqlandi. 1957 yilda M. Xogland, P. Zamechnik va M. Stefenson AQSHda, hamda K. Ogata, X. Noxara Yaponiyada nisbatan quyi molekulyar RNK va aminokislotalarni unga biriktiruvchi maxsus ferment fraksiyasi (rN-5 ferment) kashf qilinganini e'lon qilishdi. Hosil bo'ladigan aminotsil-tRNK oqsil polipeptid zanjiriga aminokislotalarni tashib o'tishda oraliq birikma ekanligi ko'rsatildi. Keyinchalik, bu RNK transport RNK, unga mos keluvchi fermentlar esa aminotsil-tRNK-sintetazalar deb ataladigan bo'ldi.

Hujayrada oqsil hosil bo'lishida qatnashuvchi har bir 20 aminokislota uchun o'zining aminoatsil - tRNK- sintetazasi mavjud. Shunday qilib, prokariotik hujayralarda 20 xil aminoatsil - tRNK-sintetaza bor. Eukariotik hujayralarda esa vaziyat murakkabroq.

Bunga asosiy sabab- asosiy sitoplazmatik sintetazalarga qo'shimcha ravishda xloroplast va mitoxondriyalarda maxsus aminoatsil-tRNK-sintetazalarning mavjudligidir.

tRNK turlarining soni esa aminokislota va aminoatsil-tRNK -sintetazalar sonidan ortiq. Masalan, bakteriyalarda (E coli) turli genlar bilan kodlanadigan tRNK ning kamida 40 turi bor. Bu shuni anglatadiki, bir necha tRNK aynan bitta aminoatsil-tRNK- sintetaza tomonidan tanilib, ayni bitta aminokislota ga birikishi mumkin, bunday tRNK **izoakseptorlar** deb ataladi. Turli izoakseptor tRNK lar muayyan aminokislota uchun mos keladigan turli kodonlarni taniy oladilar, Ba'zida birlamchi strukturasi bilan farqlanuvchi izoakseptor tRNKlar o'xshash antikodonlarga ega bo'lgan holda aynan bitta kodonlarni tanib olishlari mumkin. Eukariot xujayralar sitoplazmasida xam vaziyat shunga o'xshash.

Eukariotik mitoxondriyalarda esa tRNK ning turli antikodonlarga ega bo'lgan 23-24 xili bo'lib, ular mitoxondrial mRNK larning 61-62 kodonlarini tanib olish uchun etarlidir.

Aminotsil - tRNK - sintetazalar. tRNK fazoviy strukturasi asosan universalligiga qaramasdan, aminotsil - tRNK - sintetazalar turlicha oqsillar bo'lib chiqdilar.

Ular molekulyar massasi 100 000 dan 400 000 gacha daltondan iborat yirik oqsillar bo'lib, aksariyati to'rtlamchi strukturaga ega; lekin monomer fermentlar xam uchrab turadi.

Sintetazalarning to'rtlamchi strukturasi identik yoki har xil bo'lgan 2 yoxud 4ta oqsil subbirliklardan tashkil topgan. Masalan, bakteriyalarning tirozil - tRNK - sintetazasi har biri 47000 dalton molekulyar massaga ega bo'lgan ikkita identik subbirlikdan, bakteriyalarning metionin sintetazasi esa har biri 80 000 - 90 000 dalton molekulyar massali 2 ta identik subbirliklardan tashkil topgan. Bakteriya va achitqi zamburug'larning (drojji) fenilalanin aminoatsil - tRNK -sintetazalari molekulyar massalari 50 000 va 60 000 daltondan iborat 2 turdagi 4ta subbirliklardan iborat (α_r , β_r tiplar). Bakteriyalarning valin, leysin, izoleysin kabi aminoatsil- tRNK -sintetazalari monomer fermentlardir (α , tip), ya'ni molekulyar massasi 110 000 dalton bo'lgan bitta polipeptid zanjirlardir. Taxminlarcha, oxirgi holatda polipeptid zanjir 2 ta gomologik qismlardan tashkil topgan bo'lib, har biri massasi 50 000 - 60 000 dalton bo'lgan 2 o'xshash domenlarni hosil qiladi. SHu bilan birga bakteriyalarning sistein va gistamin aminoatsil - tRNK - sintetazalari xam molekulyar massasi 40 000 - 60 000 dalton bo'lgan bitta polipeptid zanjirdan (α , tip) tuzilgan, lekin ular 2 gomologik qismlarga bo'linmagan.

Qayd qilingan turli-tumanlikka qaramasdan, ko'pchilik aminoatsil - tRNK - sintetazalar uchun ularning subbirlik strukturalari yoki domen strukturalarining umumiy sxemasini taklif qilish mumkin.

Har qalay, har doim bo'lmasa-da, ko'pincha molekulyar massasi 100 000 daltonga yaqin bo'lgan sintetazalar 2 subbirlikdan yoki 2 o'xshash domentlardan

tuzilgan bo'ladi. Massasi katta bo'lgan (200 000 ga yaqin) sintetazalar yuqorida ko'rsatilgan fermentlar turining ikkilangan ko'rinishi bo'lib chiqadilar. SHunday kilib, fermentning asosiy bloki (domen yoki subbirlik) 35 000-60 000 molekulyar massaga ega bo'lsa, u holda ko'pchilik aminoatsil - tRNK -sintetazalar quyidagi sxema buyicha tuzilgan bo'ladilar.

(35000-60000) x 1 yoki 2.

Ba'zi xollarda asosiy blok yirikrok bo'lishi ham mumkin; masalan, bakteriyalarning alanin sintetazasi xar biri 100 000 dalton massali 4 yoki 2 identik subbirliklardan tuzilgan bo'lib, undagi aminokislota ketma-ketliklarda takrorlanishlar kuzatilmaydi.

Funksional testlarga ko'ra, ko'pgina aminoatsil - tRNK -sintetazalar substrat biriktiruvchi joylarning ikkilangan to'plamiga ega, ya'ni ular funksional ma'noda ham dimerlar hisoblanadilar.

Eukariotik va ayniqsa hayvonlar aminoatsil - tRNK -sintetazalarining o'ziga xos tomonlarini ko'rsatib o'tish kerak. Eukariotik sintetazalar, ayniqsa, sut emizuvchilar hujayralariniki, yirik ko'p fermentli komplekslarga yoki agregatlarga uyushgan. Bu komplekslar ajratilib olinishi mumkin. Masalan, sut emizuvchilarning bir qator hujayralaridan molekulyar massasi 10 daltonga yaqin kompleks ajratilganda, uning tarkibida arginin, glyutamin kislota, leysin, izoleysin, metionin uchun spetsifik bo'lgan 7 ta aminoatsil - tRNK- sintetazalar aniqlangan.

Shu bilan birga kompleks ko'rinishida ularning mavjud bo'lishi sintetazalarning aktivligiga ta'sir qilmaydi: bir tomondan, ular hujayralarda individual ko'rinishda xam uchrashlari mumkin, boshqa tomondan esa, kompleks tarkibida ular bir-biriga bog'lik bo'lmagan holda ishlaydilar. Sintetazalardan tashqari, komplekslar tarkibida hujayralarning oqsil sintezlovchi apparatiga xizmat qiluvchi boshqa oqsillar ham bo'lishi mumkin.

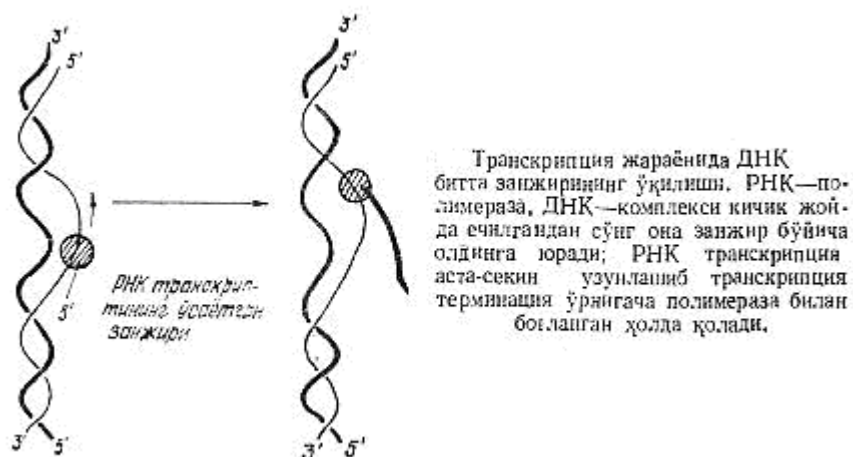
Eukariotik aminoatsil - tRNK - sintetazalarning yana bir xususiyati shundan iboratki, ularning ancha kismi hujayraning oqsil sintezlovchi kiritmalari bilan (poliribosomalar bilan) bevosita assotsiatsiyalashgan bo'ladi. Assotsiatsiya

nisbatan muvaqqat va qaytardir, lekin muayyan berilgan bir vaqtda aminoatsil - tRNK-sintetazalarning ko'pismi ribosomalarda konsentratsiyalashgan bo'ladi. Eukariotik sistemalarning bu xususiyati fermentlarning molekulyar xususiyatlari bilan belgilansa kerak. Xaqiqatan, tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, prokariotik aminoatsil -tRNK- sintetazalardan farqli o'larok, ularning eukariotik anologlari yukori molekulyar RNK lar (mRNK va ribosoma RNKlari xam ular jumlasiga kiradi) bilan kuchli nospetsifik yaqinlikka ega. Eukariotik sintetazalarning aynan shu yaqinligi (RNK- bog'lash xususiyati) ularning oqsil sintezlovchi kiritmalarda qisman kompartmentalizatsiyasini ta'minlashi mumkin.

Transkripsiya

Genlar transkripsiyasi RNK xosil bo'lishiga olib keladi. RNK ning xamma turlari xam yadroda sintezlanadi. DNK matritsasida kechadigan xamma sintezlar DNK da yozilgan axborotga muvofiq amalga oshadi. RNK ning barcha turlari t-RNK, r-RNK va m-RNK sintezlanishida, DNK asoslarning tartibi RNK asoslari tartibini belgilaydi.

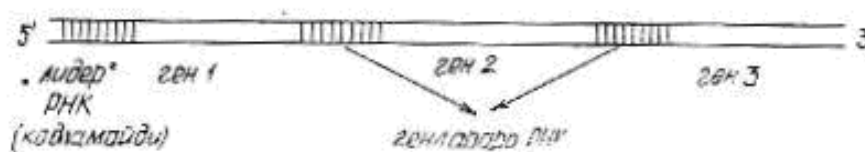
Polinukleotid zanjiri faqat ribozonukleotid trifosfatlardan sintezlanadi va bu jarayonda anorgik pirofosfat molekulalari ajralib chiqadi. RNK sintezi bir necha bosqichda bajariladi: a) initsiatsiya (boshlang'ich), v) polimerizatsiya va z) TERMINATSIYA (tugash). Reaksiyaning boshlanishi uchun maxsus oqsil – sigma faktor tugashi uchun tugatuvchi terminator-kodon ishtirok etadi. Transkripsiya DNK qo'sh spiralining bir zanjirida amalga oshadi. Buning avvalo polimeraza fermenti DNK molekulasining initsiatsiya signali beradigan nuqtasiga birikadi, bu erda qo'sh bog' echilib qo'sh zanjirning faqat bittasi o'qiladi. Nusxasi olinadigan shu zanjir bo'yicha polimeraza 5 dan 3 ga tomon yo'nalib 3→5 shaklda boradigan RNK zanjirini hosil qiladi. DNK matritsasida yangi sintez qilingan maxsulot (RNK molekulalari) *transkript* deb ataladi.



Polinukleotid zanjiri katta tezlikda sintezlanadi. Masalan, transkripsiya qilinganda bir sekundda 50 nukleotid birikadi. Ichak tayoqchasi xromosomasi transkribirlanishida 90-95% matritsa RNK si paydo bo'lib, xromosomaning qolgan qismi t-RNK, r-RNK lar, gen ishlashi uchun zarur boshqa polinukleotidlar: liderlar, speyserlar va zanjirning dumidagi nukleotid qatorlarini kodirlaydi.

Matritsa RNK lari polipeptid zanjirini kodlaydi. Ular bir zanjirli turli uzunlikka ega polinukleotid. U monogenli (bir sistronli), ya'ni bitta oqsilning sintezini ta'minlashga mo'ljallangan yoki poligenli (politsistronli), bakteriyalardan asosan bir nechta oqsillarni kodirlaydigan bo'ladi.

Bakterial transkripsiyada hosil bo'ladigan m-RNK doimo polipeptidni kodirlash uchun kerak bo'lganidan ko'proq nukleotid tutadi. Buning sababi shundaki, m-RNK 5-uchida kodirlamaydigan polinukleotid "lider" gruppaga ega. Uning uzunligi 25 dan 150 asosgacha. Poligen m-RNK transkribirlanmaydigan genlararo sohalarni yoki spayserlarni ham saqlaydi. Ular balki transkripsiya sur'atini tartibga solishda ishtirok etsa kerak.



Прокариот хужайра полиген м-РНК сининг схематик тасвири.

Matritsa RNKsi DNKga muxtoj RNK-polimeraza tomonidan sintezlanadi. Ferment DNKga muhtoj DNK-polimerazaga o'xshashdir.

DNKning ikki zanjiridan faqat bittasi transkribirlanadi. Eukariot hujayra yadrosida uch xil RNK-polimeraza mavjud.

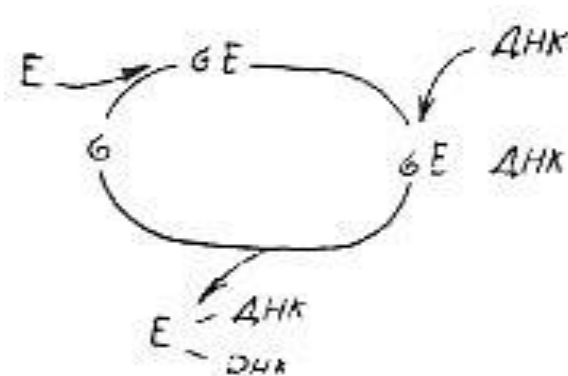
Ularning mahsuloti

I RNK-polimeraza	5,8s-18s va 28s r-RNK
II →→→	m-RNK
III →→→	t-RNK 5 s r-RNK

RNK ning barcha tiplari ham mana shu polimeraza fermenti tomonidan bajariladi. Prokariotlarda bu bitta fermenti tomonidan bajariladi. Prokariotlarda bu bitta ferment – E.coli polimeraza sistemasining molekulyar massasi ~ 700 000. U yangi sintezlanayotgan RNK zanjiriga oddiy nukleotidlarning ba'zi analoglarini ham kiritish qobiliyatiga ega (masalan, STR, UTR, GTR lar o'rniga 5Vg UTR, 5Vg, STR, 5G' - UTR).

RNK sintezi uchun ikkita oqsil faktori kerak, ulardan biri sigma faktor δ faqat RNK zanjiri sintezining initsiatsiyasi uchun zarur, ikkinchisi nukleotidlararo bog'larni hosil qiladi.

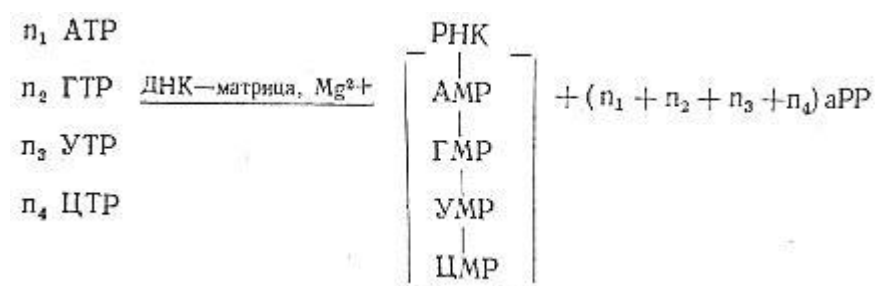
RNK- polimeraza reaksiyasining initsiatsiyasi (sigma sikli) quydagicha.



Bu erda: E-ferment RNK-polimeraza; δ-sigma faktor.

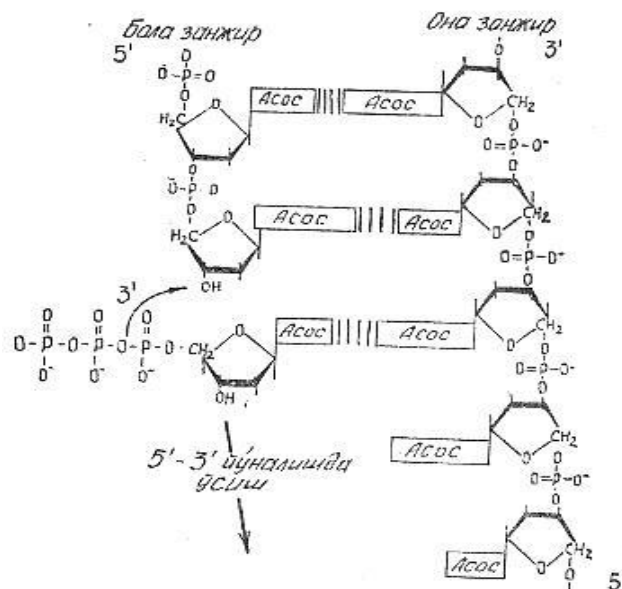
RNK-polimeraza juda yuksak konstanta bilan DNK matritsaning ikki zanjiridan birida matritsali DNK ning ayrim qatorlari-promotor qismlari bilan

bog'lanadi. Bir necha nukleotidlar qatoridan tashkil topgan promotor sintezning yo'nalishini va DNK dan RNK ga ko'chirilib yozilishi lozim bo'lgan birinchi asosni belgilaydi. Reaksiyaning borishi uchun ribozonukleotid trifosfatlarning hamma xillari, RNK zatrovka, DNK matritsa, RNK-polimeraza, oqsil faktorlar, Mg^{2+} zarur:



Hosil bo'lgan aRR tezdan gidrolizlanadi va reaksiy RNK sintezi tomon boradi. RNK-polimeraza zanjirni 5-3yo'nalishda uzaytiradi. RNK-polimeraza ikki zanjirli DNK bilan eng aktiv bo'ladi. Transkripsiya davomida zanjirning o'sishi qo'sh asoslar DNK dupleksining transkripsiya qilinayotgan joyidagina erisa (echilsa) kerak m-DNK bilan RNK transkrip orasidagi bog'lanish vaqtincha, tranikripsiya tugashi bilan DNK matritsaasoslari qaytadan qo'shiladi. SHunday qilib, transkripsiya to'la konservativ bo'lishi bilan replikatsiya jarayonida farq qiladi.

Shu bilan birga RNK-polimeraza ishlaganda, DNK-polimerazaning aksicha, matritsa to'la bog'lanish xolda saqlanadi va qaytadan foydalanishi mumkin, yani sof katalitik vazifani bajaradi.



Reaksiya sxema ravishda yuqoridagicha yozilgan:

RNK zanjirlari elongatsiyasini antibiotik aktinomitsin spetsifik ingibirlaydi. RNK bog'lanishtranskriptlarning ko'pchiligi biologik aktiv emas. Ularni m-RNK, t-RNK, r-RNK larning old maxsuloti deb qarash mumkin. Ular keyingi o'zgarishlar (posttranskripsion modifikatsiyalar)ga duchor bo'lib etishgan shakllarga aylanadi. Bu o'zgarishlar: 1) uzun zanjirli old maxsulot (transkript) ni fragmentlarga bo'lish; 2) uchlariga nukleotidlarni ulash va 3) nukleotidlarni spetsifik modifikatsiya qilishdan iborat. Bu o'zgarishlar kichik RNK lar (t-RNK va r-RNK lar) da bir xil, m-RNK da boshqa xil yshl bilan o'tadi, eukariot RNK ning transformatsiyasi xam prokariotlarnikidan farq qiladi. Albatta asosiy transformatsiyalarning manosi va prinsipi xamma organizmlarda xam umumiy qonuniyatga asoslangan bo'ladi.

Transport RNK va ribosoma RNK lan boshlang'ich transkriptlarning malum nuqtalaridan spetsifik ekzo- va endonukleazalar tomonidan fragmentatsiya qilinishidan xosil bo'ladi. Bunda bitta bosh maxsulotdan faqat bitta t-RNK molekulasi, bazan esa ikkita, xatto uchta xam xosil bo'lishi mumkin. T-RNK larning – SSA – 3 uchi bir xil etishadi. Odatda, bosh maxsulot fragmentatsiyasidan oldin t-RNK asoslari modifikatsiyaga uchraydi: metillanadi, sulfirlanadi, dezaminlanadi, gidrirlanadi, riboza va uratsil orasidagi normal S-N bog' psevdouratsil (ψ) xosil qiladigan S-S bog'ga aylanadi. Bunday

modifikatsiyalar aniq nukleotidlarda, malum o'rinlarda, spetsifik fermentlar tasiridagina o'tadi. Ular t-RNK molekulalari strukturasi va funksiyasining prinsipial xususiyligi uchun zarur bo'lsa kerak.

Ribosoma RNK lar fragmentatsiyadan so'ng boshqa xech qanday modifikatsiyaga uchraydi.

Eukariot informatsion (matritsa) RNK. Eukariotlar yadrosida sintez qilingan m-RNK hali etishgan, o'z funksiyasini bajarishga tayyor shaklda emas. Ularning ko'pchiligi uch bosqichni o'tadi: 1) 5'-uchini kepirlash va matirlash; 2) 3'-uchini poliadenilirlash va 3) genni kodirlamaydigan qismlar (intronlar) ni kesib tashlab ekzonlarni ulash.

Kepirlash (boshiga qalpoq kiydirish) m-RNK ning 5'-uchidagi rrr Ar qoldig'iga Gp qoldig'i qo'shib 5'-5' uchfosfat turkum hosil qilishdan iborat. G qoldig'i N-metillangan vaadenil qoldig'ining 2'ON ham metillangan. 3'-uchiga ham bir nechta AMR qoldig'i birikib, oxirgi poliaenil qatorni tashkil qiladi. Bu modifikatsiyalarning ma'nosi hali to'la yoritilgan emas.

m-RNK protsessingining eng muhim kutilmagan xususiyati 1977 yilda aminokislotalar qatorini qodlovchi axboratning uzluksiz bo'lmay qodirlamaydigan qatorlar bilan uzilganligini ya'ni genlar uzilgan bo'lishini kashf etilishi bo'ldi.

Transkripsiyada uzilgan genning to'la nusxasi, ya'ni RNK ning boshlang'ich transkripti olinadi. Keyin tor spetsifik fermentlar yordamida kodirlamaydigan uchastkalar (ular intronlar deb ataladi) kesib olinib, kodirlovchi segmentlar (ekzonlar) bir-biriga ulanadi. Ulanish boshlang'ich transkriptda intron-ekzonlar qanday joylashgan bo'lsa, xuddi shu tartibda bajariladi. Kesuvchi fermentlar endonukleazalar, ulovchilar esa ligazalardir.

Prokariot matritsa RNK si genlarning to'la nusxasi, ularda hech qanday o'zgarishlar bo'lmaydi, hech bir qanday o'zgarishlar bo'lmaydi, hech bir qismi kesib olinmaydi. Eukariot m-RNK protsessingi davomida intronlarning chetlatishi shunday o'tadiki, birin-ketin keladigan ekzonlar hech vaqt jismoniy ajralmaydi. Bu mexanizmدا ekzonlarning ulanadigan uchlarini yaqinlashtiradigan maxsus kichik yadro RNKsi ishtirok etadi.

Hayvonlarning ba'zi onkogen (rak qo'zg'atuvchi) RNK tutuvchi viruslari, masalan, Raus sarkomasi virus, o'ziga xos birdan-bir ferment- RNK ga muhtoj DNK polimeraza – teskari transkriptaza fermentiga ega ekanligi ma'lum bo'ldi. 1970 yilda G.Temin va sichqon leykomiyasida Baltimor tomonidan kashf etilgan bu ferment revertaza deb ham ataladi. Virus esa retrovirus nomini ham oldi, chunki bu virusdan ajratib olingan ferment virusining bir zanjirli RNK sidan matritsa sifatida foydalanib dezoksiribonukleotidlardan RNK/DNK duragayini yaratadi, ya'ni RNK matritsasida rakni qo'zg'atuvchi genlarni tutuvchi DNK sintezlanadi. Bu DNK ko'pincha eukariot hujayra genomiga ulanib oladi va ko'p avlodlarda tinch yotishi mumkin lekin payti kelganda u ekspressiya qilinib rakka sabab bo'ladi.

5 MAVZU:
GENETIK KOD. OQSILLARNING BIOSINTEZI. TRANSLYASIYA

Reja:

1. Genetik kod haqida tushuncha.
2. Ma'noli va ma'nosiz tripletlar.
3. Aminokislotalarni aktivlanishida t- RNKning ahamiyati.
4. Translyasiyaning elongatsiya va terminatsiya boskichlari

Tayanch so'zlar: *genetik kod, kodon, triplet, terminator kodonlari.*

Biron bir ma'lumotni shartli belgilar yordamida ifodalash, odatda, kodlash yoki kod deb ataladi. 1961 yilda Krik genetik kodni matematik analiz qildi. Oqsil molekulasidagi har bir aminokislotani ifodalovchi kod tripletli bo'lib, u Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Biologik kodning kashf etilishi, t-RNKning adaptorlik funksiyasini tadqiq etish natijasida bu yuksak darajada oqilona mexanizmning poydevori bo'lgan biologik kod (aminokislota, oqsil kodi) tushunchasi, uning ishlash usuli haqida juda samarali yangi bir soha yangi bir soha dunyoga keldi. Biologik kod ta'limotiga ko'ra nuklein kislotalarda har bir aminokislotani taniydigan va tanlab tashishda vositachilik qiladigan nukleotidlar kombinatsiyasi mavjudki, aminokislota o'zining kodi bilan bevosita bog'lanmasa, ham, shu kodga komplementar, antikodon deb ataladigan nukleotidlar kombinatsiyasiga ega nuklein kislota bilangina munosabatga kiradi. Har bir aminokislotani o'zi uchun maxsus kodoni mavjud bo'lishi shart, shundagina adashtirmay ular bilan bog'lanadi. Oqsil molekulasiga kiradigan aminokislotalar kamida 20 xil bo'lganidan kodonlar soni ham 20 dan kam bo'lishi mumkin. Demak 4 ta nukleotidning o'zi yoki ikkita nukleotiddan hosil bo'ladigan $16(4^2)$ kombinatsiya ham etarli emas. Turli tadqiqot va mulohazalardan so'ng kod uch nukleotiddan iborat triplet tabiatga ega ekanligi aniqlandi. Albatta bunda hosil bo'ladigan kombinatsiyalar soni $64(4^3)$, kodirlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko'p ma'lum bo'ldiki, 20 ta aminokislotadan 18 tasi bittadan ortiq (2,3,4 va 6) kodon bilan kodirlanar ekan.

Bu holat kodning ayniganligi deb ataladi. U axborotni to'g'ri o'qishga xiloflik qilmaydi, balki replikatsiya yoki transkripsiya jarayonida paydo bo'lishi mumkin bo'lgan xatolarni chetlatishga yordam beradi. 64 ta tripletdan uchasi UAA, UAG va UGA aminokislotalarni kodirlamaydi va polipeptid zanjir sintezi tugaganidan xabar beradi, ular terminatsiya signalini beradi.

Genetik kod universalidir. Hamma organizmlarda-eukariotlarda, prokariotlarda va viruslarda ham barcha kodonlar uchun birday belgilardan foydalaniladi. Binobarin, genetik kod dunyoda hayot paydo bo'lgandan beri o'zgarmay hukmronlik qilmoqda. Bunga 3mlrd yil bo'ldi. Ammo eng keyingi yillarda bu dogmaga bir oz o'zgartirish kiritishga to'g'ri keldi. Mitoxondriyalarning genetik sistemasi ma'lum biologik kodga to'la to'g'ri kelmadi. Uning DNKsi (15669 nukleotid) ning ayrim genlari nukleotid tartibi polipeptidlarning aminokislota tartibi bilan solishtirilganda koddan chetlashishlar mavjud ekanligi aniqlandi.

Lekin bu ajoyib fenomenning kelib chiqishi va ma'nosi hali tushunilgani yo'q.

Генетик код
Кодоннинг иккинчи нуклеотида

	У	Ц	А	Г	
Кодоннинг биринчи нуклеотида	У УУУ } Фен УУЦ } УУА } Лей УУГ }	Ц УЦУ } Сер УЦЦ } УЦА } УЦГ }	А УАУ } Тир УАЦ } УАА } терминатор УАГ } терминатор	Г УГУ } Цис УГЦ } УГА } терминатор УГГ } Три	У Ц А Г
	Ц ЦУУ } Лей ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }	Ц ЦЦУ } Про ЦЦЦ } ЦЦА } ЦЦГ }	А ЦАУ } Гис ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ } Глу	Г ЦГУ } ЦГА } ЦГА } ЦГГ }	У Ц А Г
	А АУУ } Иле АУЦ } АУА } АУГ } Мет	А АЦУ } Тре АЦЦ } АЦА } АЦГ }	А ААУ } Асп ААЦ } ААА } ААГ } Лиз	Г АГУ } Сер АГЦ } АГА } АГГ } Арг	У Ц А Г
	Г ГУУ } Вал ГУЦ } ГУА } ГУГ }	Г ГЦУ } Ала ГЦЦ } ГЦА } ГЦГ }	Г ГАУ } Асп ГАЦ } ГАА } ГАГ } Глу	Г ГГУ } ГГЦ } Гли ГГА } ГГГ }	У Ц А Г

Кодоннинг учинчи нуклеотида

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, bir xil aminokislotalarni ifodalovchi tripletlar bir-biriga o'xshash bo'ladi. Masalan: valin aminokislotasini

ifodalovchi tripletlarning barchasi GU dipleti, Alaninni ifodalovchi tripletlar GS dipleti bilan boshlangan bo'ladi.

U axborotni to'g'ri o'qishga xiloflik kilmaydi, balki replikatsiya yoki transkripsiya jarayonida paydo bo'lishi mumkin bo'lgan xatolarni chetlatishga yordam beradi.

Genetik kod universaldir. Barcha organizmlarda – eukariotlar, prokariotlarda va viruslarda xam barcha kodonlar uchun birday belgilardan foydalaniladi. Barcha kodon uchta nukleotiddan (tripletdan) iborat. Yonma-yon turgan kodonlar bir-birini qoplamaydi, ya'ni birinchi kodonning oxirgi nukleotidi undan keyingi kodonning boshlang'ich nukleotidi bo'la olmaydi. Informatsiya ma'lum nuqtadan boshlanadi.

Bir xil aminokislotalarni ifodalovchi tripletlar bir-biriga o'xshaydi.

Aminokislotalar kodi lug'atida, kodirlanayotgan oqsil informatsiyasi i-RNKda yozilgan buladi.

Kodonlar 5' -> 3' yo'nalishda o'qiladi.

Kodonlardagi uchinchi azot asos, birinchi va ikkinchi azot asoslariga qaraganda kamroq spetsifiklikka egadir. Metionin aminokislotasini ifodalovchi kodon 1 ta bo'lib, initsirlovchi kodondir. Ahamiyat berib qaralsa, metionin va triptofandan tashqari kariyb hamma aminokislotalar bittadan ortiq kodonlarda ifodalanadi.

DNKdagi aminokislotalar kodi shunday yozilganki, u i-RNKdagi kod so'zlariga komplementar bo'lib antiparalel holatdir, ya'ni T qoldig'iga A koldig'i komplementardir va A koldig'ining holati U qoldig'iga komplementardir.

Masalan: Metionin uchun: iRNK va DNK kodonlar kuyidagi holatda ko'rinadi:

iRNK(5) AUG(Z)

DNK (3) TATS

Odatda kodonlar va antikodonlar 5 —> 3, chapdan o'ngga qarab yoziladi.

Oqsillar biosintezi bioximiya tarixida eng muhim muammolardan biri bo'lib kelgan. Bugungi kunda biz bu muammo haqida ko'p ma'lumotlarga egamiz lekin hozircha to'plangan axborot bu sohada bilishi kerak bo'lgan narsalarning ozgina qismini qoplashi mumkin: oqsil sintezi biosintez jarayonlari orasida eng murakkabi bo'lsa kerak, uning ayrim bosqichlarida polipeptid zanjir initsiatsiyasi, uzayishi, tamomlanishi va oqsillarning etishishida yuzga yaqin fermentlar, maxsus oqsil faktorlar, umuman 200 yaqin makromolekulalar ishtirok etadi. Bu makromolekulalarning ko'pi ribosomalar uch o'lchovli murakkab strukturasi tashkiliy qismlaridir.

Oqsil biosintezi apparati shu qadar murakkab bo'lishiga qaramay, jarayon juda katta tezlikda o'tadi. Masalan, E.coli va 100ta aminokislo-tadan iborat oqsil zanjirining yaratilishi uchun hujayra ribosomalariga 5 sekundgina kifoya.

Oqsil sintezi haqida hozirgi tushunchasi 50-yillarda qilingan uchta muhim kashfiyotlar asosida shakllangan. Ularning birinchisi Pol Zamechnik tomonidan oqsillar sintez qilinadigan joy ilgariroq hujayra ichida topilgan, so'ngra ribosomalar deb atalgan ribonukleoproteid parchalar ekanligining kashf etilishi bo'ldi. Ikkinchi kashfiyot Melon Xoglend va Pol Zamechnik tomonidan aminokislotalarni, keyinroq transport RNK deb atalgan, RNK ning eruvchan termotabil maxsus tipiga ATR ishtirokida birikishining aniqlashnishi edi. Bu qator uchinchi muhim kashfiyot Frensis Krik nomi bilan bog'liq. U oqsil sintezida t-RNK ning adaptorlik rolini belgilab berdi. t-RNK tomonidan bunday funksiyaning bajarilishi uning molekulasini bir uchastkasi spetsifik aminokislota bilan bog'lana oladigan ikkinchisi esa m-RNKda mana shu aminokislota kodlaydigan kalta nukleotidlar qatorini taniy oladigan bo'lishidan kelib chiqadi. Ayni shu uchta kashfiyot tezdan oqsil sintezining asosiy bosqichlarini aniqlashga va nixoyasida aminokislotalar uchun genetik ta'minlashga olib keldi.

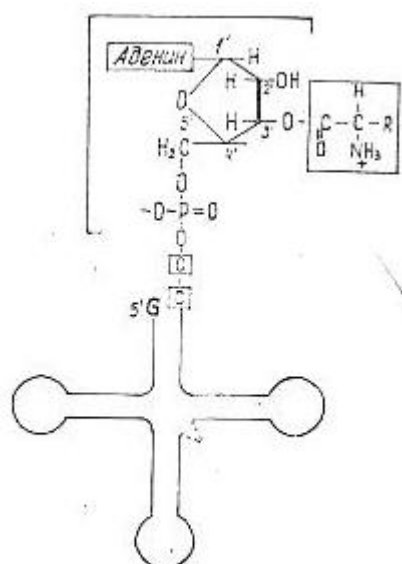
Oqsil sintez m-RNK ni dekodirlash, ya'ni RNK molekulasida to'rt xil asoslarning izchil kelishi yozilgan axborotning 20 xil aminokislotalarning oqsil molekulasida izchil kelish tiliga o'tkazilishidir. SHuning uchun ham bu jarayon translyasiya (tarjima qilish) deyiladi.

Genetik axborotning DNK dan uzatilishi RNK yordamida bajarilishini 1961 yilda ikki mashhur fransiz olimlari Jakob va Mono kashf etdilar. Undan keyingi yillarda Nirenberg, Korano va Xolli dekodirlash t-RNK ning tegishli kodoni tomonidan spetsifik bog'lanishida yuzaga chiqishini kod (aminokislotalarning nukleotidlar tilidagi shifri, ramzi) triplet tabiatiga ega ekanligini tasdiqladilar.

Oqsil sintezining bosqichlari. Bu jarayon asosan 5 bosqichda o'tadi.

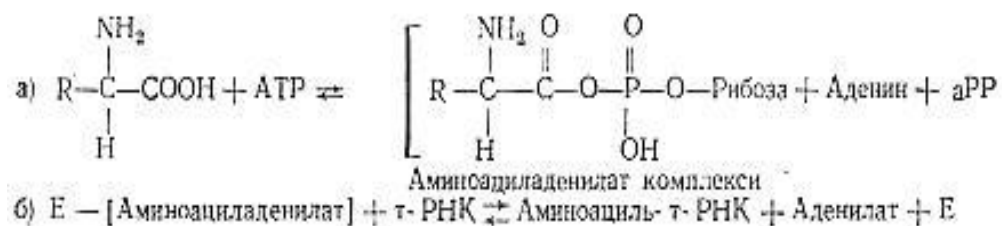
Aminokislotalarning ATR yordamida aktivlanishi va tegishli transport RNK ga ko'chirilishi oqsil biosintezi uchun energetik asos yaratadi.

Bu ikki jaryon uzluksiz bog'langan bo'lib bitta enzym E-spetsifik aminoatsil-t-RNK –sintetaza ta'sirida kechadi. Frensis Krik bu jarayonda t-RNK adaptorlik rolini o'ynashini aniqladi.



Аминокислотанинг активланиши.

Bu bosqich uchun barcha (20) aminokislota, 20 yoki ortiqroq t-RNK, aminoatsil-t-RNK-sintetazalar (E), ATR va Mg^{+} mujassam bo'lishi zarur. Mazkur bosqich quyidagi ikki reaksiyada boradi:



Oxirgi reaksiyada aminotsilli qoldiq t-RNK sentetazalar (ATS) ham mavjud, ya'ni bitta aminokislota bir necha ATS ham tashishi mumkin. Shu bilan birga fermentning o'zi ham bir zanjirli (masalan, Val, Ile, Ley uchun), bir xil bir nechta zanjirli (Met uchun), uchinchilar ikkita har xil zanjirlardan tuzilgan (Met uchun), uchinchilar ikkita har xil zanjirlardan tuzilgan (Gli, Trp uchun) bo'ladi.

Polipeptid zanjirining initsiatsiyasi. Initsiatsiya juda murakkab va juda muhim bosqich, boshlab beruvchi reaksiya. Bu bosqichda oqsil sintezi uchun lozim bo'lgan apparat ayrim komponentlardan eg'ilib ish boshlashga tayorlanadi.

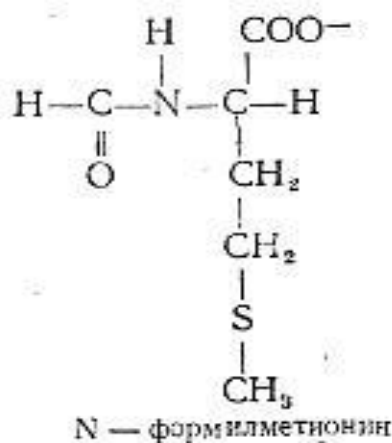
Translyasiya jarayonining markazi ribosomalaridir. Buning uchun u m-RNK bilan bog'lanishi kerak, ribosomalar erkin holda bo'lsa, darhol kichik birliklarga ajralib ketadi. Translyasiya jarayonida ribosoma kichik birliklaridan yig'iladi. Oqsil sintezi NH_2 turkumdan boshlanib, SOON bilan yakunlanadi: $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COON}$. Eukariot hujayralarda initsiyalovchi aminokislota sifatida N-formil metionin (t-RNK f^{Met}) maydonga chiqadi, demak sintezlanadigan polipeptid zanjirining N-uchida (birinchi aminokislota) f^{Met} bo'ladi, ya'ni f^{Met} yuklangan t-RNK, m-RNKda tegishli kod (AUG) topib, o'zining antikodoni (UATS) bilan bog'lanadi. Reaksiya quyidagi tartibda o'tadi:



Ikkinchi reaksiyada formil gruppaga transformilaza fermenti yordamida N-formiltetragidrofolat (TG- folat kislota, vitamin) ga ko'chiriladi:



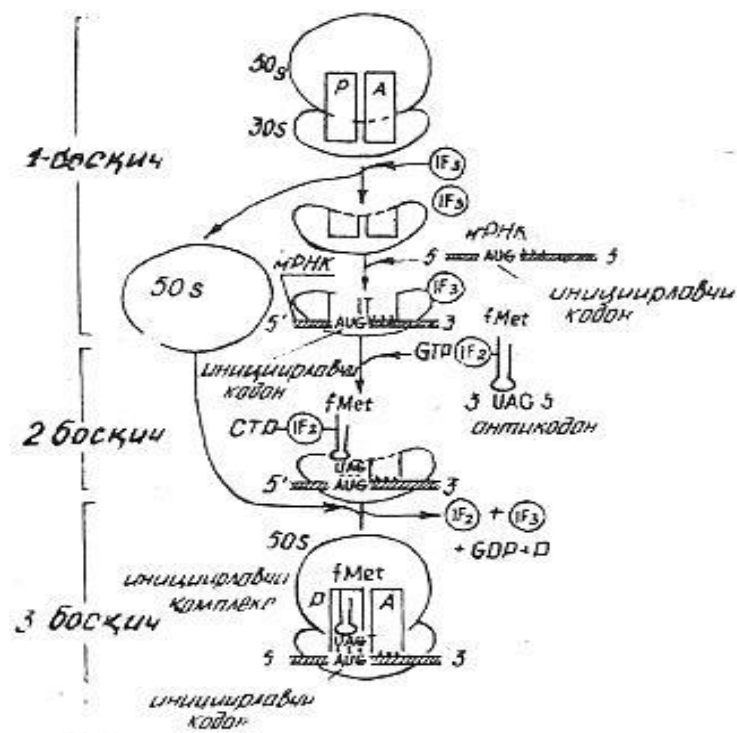
Transformilaza erkin Met ni transformillash xususiyatiga ega emas, u faqat Met- t- RNK tarkibidagi Met nigina formillaydi:



Metioninning aminogruppasi N-formil qoldig'i bilan blokirlash bunday aminokislota polipeptid zanjirining ichki qismlariga kirishiga yo'l qo'ymaydi, lekin fMet- t-RNK^{fMet} ning ribosomada maxsus initsiatsiya uchastkasiga bog'lanishga imkoniyat tug'dirihadi, bu uchastka bilan na Met t-RNK Met, na boshqa aminokislota bog'lana olmaydi. Translyasiyaning ayrim bosqichlarida yana qo'shimcha bir qator oqsil faktorlar (F₁, F₂, F₃) va GTR ham ishtirok etadi.

Polipeptid zanjiri sintezining initsiatsiyasi aynan bir necha davrlarda o'tadi. Birinchi davrda ribosomaning 30S kichik parchasi initsiatsiya faktori 3 (IF-3) bilan bog'lanadi, bu faktor 30S kichik parchaning 50S kichik parcha bilan bog'lanishiga to'sqinlik qilib turadi. So'ngra F₁

(IF-I ning roli to'la aniqlangan emas) bilan bog'langan 30S kichik parcha m-RNK bilan shu tarzda bog'lanadiki, m-RNK ning initsiatsiya qiluvchi kodoni (5')→AGU← (3') 30S kichik parchaning tayinli qismiga ulanadi. Uning to'g'ri o'rnashishi m-RNK da AUG kodoniga yaqin joylashgan initsiirlovchi signal tomonidan ta'minlanadi. Hosil bo'lgan kompleks fMet –fRNK-Met-qo'shiladigan joyni ko'rsatadi. Initsiatsiya jarayonining ikkinchi davrida bu kompleksga 1F-2 yordamida yana 1F-3, GTR faktorlar va N-formil metionil t-RNK birikadi. Initsiatsiyaning uchinchi davrida bu katta kompleks 50 S ribosoma parchasi bilan bog'lanadi; aynan shu vaqtda GTR molekulasida GDR va aR ga gidrolizlanadi. Initsiatsiya faktorlari 1F-3 va 1F-2 ham ribosomadan ajraladi. Mana endi *initsiirlovchi kompleks* deb ataladigan funksional aktiv 70 S ribosomaga ega bo'linadi.

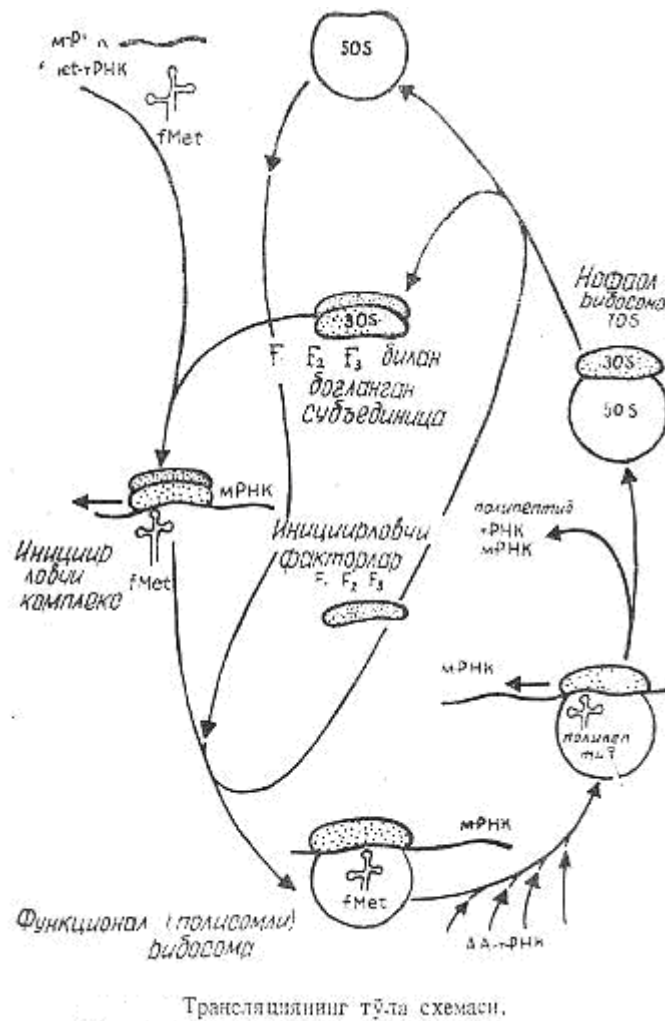


48- расм. Трансляция босқичлари.

Ribosomaning 50 S kichik birligida aminokislota va o'sayotgan polipeptid zanjirlar uchun tegishli joylar - saytlar mavjud. Ular aminotsil (A) va peptidli (II) saytlar deb ataladi. Translatiya davomida avvalo aminokislota ($t\text{-RNK}^{\text{met}}$) o'ziga spetsifik transport RNK orqali o'z saytiga o'tiradi. Mana shu shaklda tayyor bo'lgan initsiirlovchi kompleks endi polinukletid zanjirining uzayishidan iborat elongatsiya davriga o'tadi.

Translyasiyaning ayrim bosqichlarida ishtirok etadigan oqsil faktorlari: F_1 , F_2 , F_3 va energiya manbai vazifasini bajaradigan GTR bu murakkab mexanoximiyaviy jarayonlarda kuzatiladigan tanib olish, harakat hodisalari bilan bog'liq konformatsion o'zgarishlar uchun zarur.

Elongatsiya takrorlanadigan qaytalma jarayon bo'lib, birinchi bosqichda navbatdagi aminoatsil-t-RNK (aa-t-RNK) elongatsiya faktori Tu (EG- Tu) va GTR bilan bog'lanadi. Hosil bo'lgan uch komponentli kompleks t-RNK- Tu-GTR 70S initsiirlovchi kompleksga birikadi. Ayni vaqtda GTR parchalanadi, Tu-GDR ribosomadan chetlanadi.



Keyin ribosomaning A uchastkasi bilan yangi aa-t-RNK bog'lanadi. Elongatsiyaning ikkinchi davrida II uchastkadan N-formilmethionin qoldiq uni tashib yurgan t-RNK dan peptidiltransferaza yordamida ko'chirilishi tufayli A uchastkadan dipeptidil-t-RNK hosil bo'ladi. Bu jarayonlarni 48,49-rasmlardan ko'rish mumkin.

Endi ribosomaning A uchastkasi bilan yangi aa-t-RNK birikadi va sikl takrorlanaveradi.

Elongatsiya siklining uchinchi davrida ribosoma RNK bo'ylab 3-uchiga qarab bir qadam masofaga siljiydi. Bunda dipeptidil t-RNK ham A uchastkadan II uchastkaga ko'chib ozod bo'lgan t-RNK sitozolga o'tadi. Bu davr *translokatsiya* deyiladi. Bu bosqich uchun translokatsiya fraksiyasi (translokaza deb ham ataladi) va yana bir GTR ning gidrolizi lozim.

Translyasiyaning oxirgi davri terminatsiya (tugatish) deb ataladi. Oqsil sintezi polinukleotid zanjirida maxsus terminirlovchi kodonlardan biri – UAA, UAG, UGA tripletlaridan biri tomonidan uziladi.

Polipeptid zanjirining S uchiga oxirgi aminokislota birikkandan keyin ham sintezlangan oqsil ribosoma bilan bog'langan holda qolali. Polipeptid zanjirining t-RNK ribosomadan ajralishi spetsifik faktor – maxsus ajratish faktori (R) ta'sirida amalga oshadi.

GENETIK AXBOROTNI TADBIQ ETISH JARAYONLARINING PROKARIOT VA EUKARIOTLARDA O'XSHASH VA FARQLANUVCHI TOMONLARI.

Reja:

1. Prokariot hujayralar genomi
2. Eukariot xujayra genomining tuzilishi

Prokariot hujayralar genomi ikki zanjirli yagona DNK ning yopiq halqasidan iborat bo'lib, hujayraning kattaligiga nisbatan u juda ulkan. Genetik eksperimentlar va bevosita mikroskopik tadqiqotlar E soli DNK si juda uzun molekula ekanligini ko'rsatdi. Uning uzunligi 1,36 mm, taxminan $4 \cdot 10^6$ juft asoslar, 4600 kv (k — kilo, b — base asos)ga ega, qalinligi 20 Å mol, massasi $2,8 \cdot 10^9$. Tushunarliki, DNK yuksak darajada o'ralgan bo'lishi kerak. Bakteriya DNK sining millionlab odatiy asoslari (A, T, G va S) orasida qo'shimcha metil gruppalar tutadigan asoslar ham uchraydi. Bakteriyaning har bir turi uchun metillangan asoslarning o'ziga xos ko'rinishi, xarakterli. Bir qator muhim tekshirishlarda metillangan asoslarning biologik ahamiyati aniqlandi. Ular bakteriyaga hujum qilib, uning DNK sini parchalaydigan viruslardan saqlanish quroli ekan. Bakteriya — xo'jayinning metillangan DNKsi o'zining restriktazasi tomonidan parchalanmaydi, holbuki, virus DNK si esa bu fermentlar ta'sirida yo'qotiladi.

Prokariotlarda genom struktura jihatdan ham ancha sodda tuzilgan, ularning genomida DNK regulyator va signal asoslar qatoridan tashqari, translyasiya qilinmaydigan jim-jit turadigan uchastkalar ham ancha siyrak.

Bundan tashqari, ba'zi bakteriya hujayralarida plazmidiy deb ataladigan halqa shaklidagi bir nechta, mayda sitot plazmada erkin yashaydigan DNK molekulalari ham, mavjud. Xromosomadan tashqari, erkin genetik element deb ataladigan bu strukturalar hujayraning juda ko'p bo'linish sikllarida o'zining xususiy ritmlarida yashayveradi. Binobarin, plazmidiy DNK ning turli segmentlaridan tashkil topgan, turlicha kelib chiqqan replikonlardir. Ular DNK dan juda kichik, 5—100 million dalton massaga ega, osonlik bilan o'z egasining genomiga va boshqa

hujayralar DNKsiga ham ulanib oladi. Ularning bunday xossasi genetik injenerlikda yot hujayraga kerakli genni joylashtirib ishlatishga majbur qilish uchun juda qo'l keldi.

Xar xil turlarga mansub eukariot xujayralarda bitta xujayraning o'zidagiDNK ning mikdori turlicha. Tirik organizm kancha murakkab bo'lsa, unda genetik axborot shuncha kup bo'ladi. YAgona odam xujayrasidagi DNKning umumiy uzunligi 2 m ga teng xisoblanadi; bu taxminan $5 \cdot 5 \cdot 10^9$ kushasoslarga, binobarin, $4 \cdot 10^{12}$ molekulyar massaga to'g'ri keladi. Odam xujayralarida 46 ta xromosoma bo'lib, ular xap birining uzunligi 4 sm ga teng. DNK da 1 million «xarf» (nukleotidlar) 0,034 sm uzunlikda joylashadi va 10^6 nm^3 xajmni ishgol kiladi. Boshkacha aytganda, odam organizmining diametri 20 mkm ga teng bo'lgan tipik xujayrasida, bitta gaploid genomda axborotning yarmini saklaydigan urug xujayrasidagi 3-YU⁹ nukleotidlarda joylashgan genetik axborot sirralari $1 \cdot 5 \cdot 10^{-4}$ sm (1.5 mk) kubga sigadi. Solishtirish uchun aytish mumkinki, bunday axborot kitobda $3 \cdot 10^9$ xarf, 1 mln betni egallar edi.

Umuman bitta xromosomada nechta gen joylashgan, degan sa-vol xam olimlarni kiziktirib kelgan. Bu savolga javob berish uchun xam molekulyar biologiyaning sevimli ob'ekti *E.coli* ga murojaat kilishga to'g'rikeldi. Tez orada turli yo'llar bilan bitta xromosomada juda ko'p genlar joylashganligi aniklandi.

Ichak tayokchasida ularning soni 3000 dan ortik, balki 5000 atrofidadir. Turli genetik yondashishlar orkali ko'pgina genlarning xromosomada joylanish tartibi xam belgilangan. Bir DNK molekulasidagi genlarning soni, albatta, ularning o'lchamixakidagi savolni xam tugdiradi. Genlar o'lchamininazariy xisob bilan xam belgilab buladi. YAna o'sha molekulyar biologiyaning ishonchli ob'ekti *E. coliga* murojaat kilamiz, Ma'lumki, ichak tayokchasi $4 \cdot 10^6$ kushnukleotidlardan iborat.hapbir aminokislotani izchil keladigan

uchta asos (triplet) kodirlaganidan va genetik kodda ularni ajratib turadigan vergullar bo'lmaganidan 350 ta aminokislota bo'ldigidan tuzilgan o'rtacha oqsilni kodirlash uchun 1050 ta asos to'g'ri keladi. Bunday asosli xisobga E. coli da mavjud bo'lgan 4 million qo'shasoslar 3800 ta genni kodirlash uchun etarli bo'ladi ($4 \cdot 10^6 : 1050 = 3800$). Gen strukturasida regulyator katorlar vagenlar orasida kodlamaydigan uchastkalar speyserlar borligi xisobga olinganda genlarning soni kamroq bo'lishi kerak.

Eukariot DNK da genlarning tashkil etilishi struktura va funktsiya jihatidan ham ancha murakkab. Sichqon va boshqako'p organizmlarda o'tkazilgan tajribalar ularning xromosomalarida juda ko'p takrorlanadigan katorlar mavjud ekanligini, prokariotlarda ular yo'qligini tasdiqladi. Bu takrorlanishlarning kichik (10 asosdan kam) qatordan tashkil topganlari milliondan ortiq bo'lishi mumkin. Ular yuksak takrorlanishlar deb atalib, sichqon DNK sinigining ~10% ni tashkil qiladi. 10000 martadan kam bo'lmagan o'rtacha takrorlanishlar yana 20% ni tashkil etadi va dolgan 70% DNK ning yagona qismiga to'g'ri keladi. Turli eukariotlarda yuksak va o'rtacha takrorlanadigan katorlar soni har xil turlarda farq qiladi.

Gaploid genomdagi DNKning miqdori organizmlarning evolyusion zanjiridagi o'rniga bog'liq emas. Bir qator yaqin turadigan turlarda ham DNK ning miqdori orasida keskin farq kuzatilishi mumkin. Buning mohiyatini shundan tushunilsa bo'ladi, sut emizuvchilarda ular genomining 1% dan kamigina zarur oksillarni kodiraydigan DNK xisobiga to'g'ri keladi. Binobarin, sut emizuvchilar genomi deyarli 3 mln oqsilni kodirlash uchun etarli o'lchamga ega ($3 \cdot 10^9$ nukleotid) bo'lsa ham, hech bir organizm 30000 dan ortiq aloxida qatorlarni real kodlashga qabul tuzilmalarga molik emas. Bu nuqtai nazardan inson taxminan 5000 genga ega pashsha — drozofiladan faqat 6 martagina murakkab.

Ma'lumki, barcha DNK ning faqat ozgina qismigina haqiqatan oksillarni kodiraydigan DNKdir. Xromosomadagi DNK ning ko'p qismi

oqsillarni kodirlamaydi. DNK ning qo'sh zanjiri yuzasida juda ko'p oqsillar sochilib yotadi. Ular nukleotidlarning spetsifik qatorini taniydi (regulyator oqsilar), masalan, oqsil repressor DNK bilan boglanib, laktoza metabolizmiga javobgar va butun genlar klasteri oilasi sintezini to'la ingibirlaydi. Bunday oqsillardan bir qanchasi ma'lum.

Odam, xayvonlar va yuksak o'simliklar xujayralarida DNK ning miqdori bakteriyalarnikiga Karaganda 10000 marta ko'p, genlar miqdori esa faqat 1000, ba'zan undan kam kam marta ko'proq. Xujayradagi DNK ning mikdori million genga etadi, lekin xar bir ayni daqiqada 100000 dan kami ishlay-di, qolganlari tinch xolatda bo'ladi.

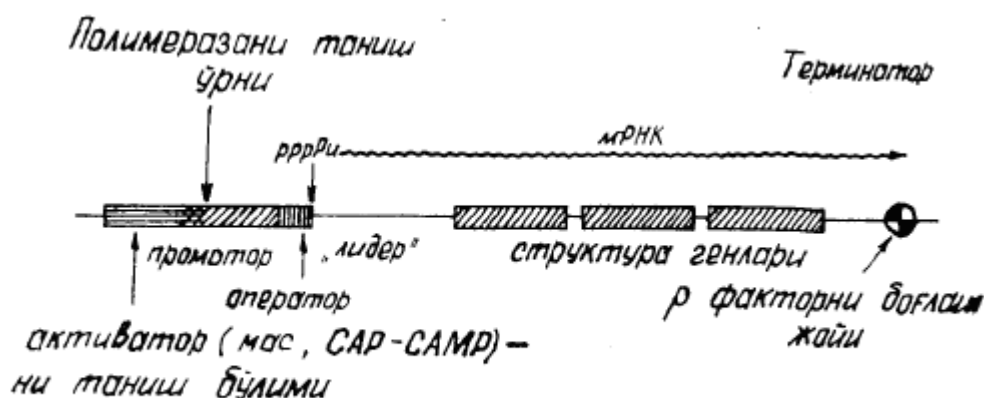
Ba'zi eukariot genlar xujayrada juda ko'p nusxalarda uchraydi. Bunga to'rt xil r-RNK ni kodirlaydigan genlar yigindisi yorqin misoldir. Gistonlarni kodirlaydigan genlar xam 1000 gacha nusxada uchraydi. Lekin bunday voqea uncha ko'p tarqalgan emas. Masalan, eukariotlarning bir qancha to'imalari va xujayralarida juda ko'p miqdorda uchraydigan oqsillar» masalan, zardob albumini, gemoglobin, kollagen va tuxum albumini genlari bir yoki bir nechta nusxada bo'ladi.

aktivligining regulyasiyasi

Genning oxirgi maxsuloti oqsil bo'lganydan uning regulyadiyasi bevosita oqsil sintezini nazorat qilish mexanizmining kalitidir. Ichak tayoqchasi-xromosomasi DNK sining kattaligi, t-RNK va r-RNK lar xisobga olinmaganda, taxminan 3000 ta oqsilni kodirlash uchun etarli. Ammo bir vaqtning o'zi-da faqat 1000 tagina oqsil sintezlanadi. Odamning 46 xromosomasida kodirlangan oqsillar soni 10—100 marta ortiq, lekin bu erda xam bu oqsillar xammasi doimo sintez qilinmaydi. Shuning bilan birga xamma genlar xam polipeptid zanjirini xosil qilib ekspressiyalanmaydi. Anchagina genlar oqsillarni kodirlovchi sistronlarning boshlanishi va tugashini belgilaydi, boshqalari bu genlarni ishga solish va to'xtatish signallarini tashkil qiladi. Bulardan shunday xulosaga kelish mumkinki, jonli xujayra oqsillar sintezini idora silish

qobiliyatiga ega, binobarin, ba'zi oksillar fatsat ular uchun zarur sharoit tugilgandagina sintezlanadi. Mana shunday nazorat mexanizmini tushuntirish uchun 1961 yili fransuz olimlari F. Jakob va J. Mono *genlar induksiyasi va repressiyasi nazariyasini* taklif qildilar. Bu nazariya so'ngra yana takomillashtirilib, juda ko'ptajribalarda to'la tasdiqlandi.

Induksiya va repressiya nazariyasiga ko'ra, gen, ya'ni DNK ning ma'lum chegaralangan segmentining ikki qismi: *regulyator gen* va *struktura gen* ibor. Struktura genlari (ya'ni xujayra strukturasini va uning metabolizmini ta'minlab turadigan oqsillarni kodirlovchi genlar) regulyator gen ekspressiyasi tufayli nazorat qilinadi. Bu funktsiyani regulyator gen struktura gen ekspressiyasini bo'rib turadigan maxsus oqsil — repressorni sintez qilish yo'libilan ta'minlaydi. Demak, normal xolatda struktura genlari repressirlangan bo'ladi. Gen ishlashi uchun repressor aktivsizlanishi lozim. Bunday funktsiyani *induktor* (kupincha gen ta'sir etadigan substrat) bajaradi. Haqiqatan xujayrada substrat bo'lmasa genning ishlashi xam kerak emas. Muxitda induktor paydo bo'lishibilan gen ishlaydi va shu substratdan foydalanish uchun lozim bo'lgan ferment sintezlanadi. U *indutsirlanadigan ferment* deyiladi.

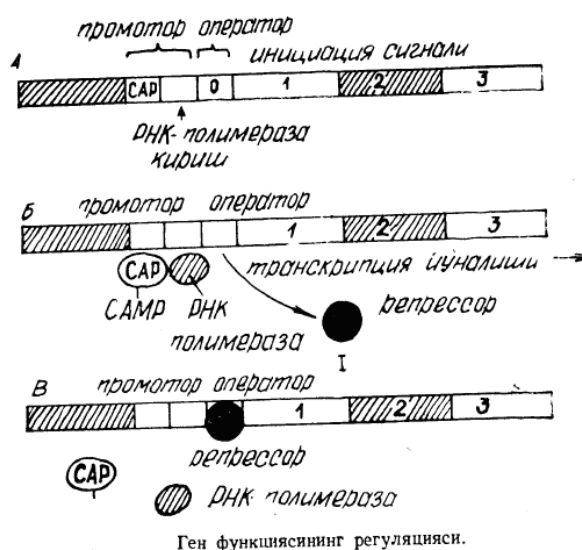


Оперон структурасининг модели.

Repressor oqsil tabiatli modda bo'lib, DNK ning *operator* nomli segmenti bilan reaksiyaga kirishadi. Repressorning boglanadigan joyi promotor bilan struktura genlari orasida. DNK ga muxtoj RNK-polimerazaning boglanadigan joyi promotorning start nuqtasi.

Repressorning operator bilan boglanishi tufayli RNK-polimeraza promotor bilan birika olmaydi. DNK molekulasining regulyator uchastkasidagi operatorlar — regulyator oqsillarni taniydigan joy, *promotorlar* initsiatsiya (struktura geni ish boshlash) joyini taniydi.

Ba'zi vaqtlarda shu qismga «ijobiy» nazorat qiladigan elementlar, masalan, kompleks siklik AMP—KFO (katabolik aktivlovchi oqsil) xam kiradi. Mana shu uchastkalarining xammasi struktura genlari, bitta promotor, va bitta operatoridan iborat funksional birlik *operonni* xosil qiladi.



Eng yaxshi o'rganilgan operon — ichak tayoqchasining *laktaza operoni* — Ias-operondir. Lac-operon 120 ta qo'shasoslar satoridan tuzilgan. Operator bilan struktura genlari orasida 166 ta qo'shnukleotiddan iborat *lider qatorlik* joylashgan, uning ma'lum qismi *attenyuator* deb ataladi. Odatda, attenyuatorda, agar qandaydir stimulyatorlar to'sqinlik qilmasa, transkripsiya tugaydi.

Transkripsiya qilinayotgan gen (yoki genlar) tugagani xaqida DNK matritsada asoslarning maxsus terminirlovchi *qatori* signal beradi. Transkripsiyaning tugashi uchun r xarfi bilan belgilanadigan spetsifik oqsil xam kerak.

Struktura genlari initsiirlovchi kodondan boshlanib, terminirlovchi kodon bilan tugaydi. Promotor DNK ga muxtoj RNK-polimerazani,

operator tartibga soluvchi molekulalarni borlaydi.

Laktaza operonining barcha promotor-operatorli uchastkasi ajratib olinib, uning nukleotid satori anitslangan. Umumiy uzunligi 120 ta qo'sh asoslar bo'lyb, operator (ya'ni 1/3), pro-motor taxminan 80 (²/z sismini) tashkil qiladi. Operonda nazorat ostida bittadan gen xam bo'lishimumkin. Laktoza operonida birin-ketin kelgan uchta gen (β -galaktozidaza, permeaza, transatsetilaza) uchta ayrim start va terminal kodonlar tashuvchi bitta m-RNK sifatida transkripsiya qilinadi.

Eukariot xujayrada genlar ifodasi

Endi DNK molekulasining funksional jixatdan eng muxim qismi bo'lgan genlardagi axborotning amalga oshishini va bu jarayonning boshqarilishini ko'rib chiqaylik. DNK molekulasida to'rtta nukleotidning izchil qat'iy tartibda joylashishini belgilaydigan genetik axborot xap bir tirik organizm uchun yagonadir. XX asrning dastlabki yillarida gen deb atalgan uning birligi doim biologiya fanining markazida bo'lib, tobora anik; ta'riflanib keldi.

Gen klassik biologik ma'noda organizmning qandaydir bir farqli belgisi, ya'ni fenotipi, organizmning kuzatiladigan xossasi, tashqi ko'rinishi(masalan, ko'zning rangi) ni belgilaydigan xromosomaning qismidir. Keyinroq gen genetik materialning qandaydir bir fermentni aniqlaydigan yoki kodiraydigan qismi (Bidl va Tatumning: *bir gen—bir ferment* gipotezasi) degan ta'rif paydo bo'ldi. So'ngra bu ta'rif kengroq ma'noda «*bir gen — bir oqsil*» shaklini oldi. Lekin xozir genga yana xam aniqroq; bioximiyaviy ta'rif berish mumkin. Ma'lumki, ko'pgina oksillar bir nechta polipeptid zanjirdan tashkil topgan. Bu zanjirlar bir xil bo'lmaganidan (masalan, gemoglobinda α va β zanjirlar) ularni aloxida genlar kodirlaydi: shuning uchun *bir gen—bir polipeptid* ifodasi gen bilan oqsil orasidagi munosabatni aniqroqta'riflaydi.

SHunday qilib, genning ifodasi unda yozilgan informatsiyaning oqsil shaklida amalga oshishidir. Bu fenomen gen *ekspressiyasi* deb ataladi.

Lekin DNK ning o'zibevosita oqsil sintezida qatnashmaganidan DNK dagi informatsiyani oqsil shaklida realizatsiya qilinishigacha DNK ning birinchi maxsuloti matritsa RNK si — *transkript* xosil buladi. So'ngra m-RNK genning oxirgi maxsuloti— oqsilni yaratadi. Biror oqsil (ferment) ni bor-yo'qligixam organizmning irsiy belgi- sidir. Ayrim genlar va ular to'plamlarining tashqi muxit bilan bogliqxoldagi ekspressiyasi *fenotipni* belgilaydi.

7-MAVZU.
**O'ZGARUVCHANLIK VA NASL TASHUVCHI
MOLEKULALARNING EVOLYUSIYASI**

Ma'ruza rejası:

1. Genetika soxasida fundamental tadqiqotlar
2. Xromosomalardagi o'zgarishlar, mutatsiya, rekombinatsiya, transpozitsiya

Tabiatning xammani qiziqtiradigan eng chuqur sirlaridan biri organizmning *irsiyati va uzgaruvchanligidir*. Bu muammoning yoritilishida Gregor Mendel tomonidan 1865 yilda irsiyat qonuniyatlarining ochilishi, 1900 yilda uning bir vaqtda ikki olim De Friz va Chermak tomonidan yangidan aloxida- aloxida tasdiqlanishi muxim bosqich bo'ldi. Lekin bu kashfiyotlarning o'zihali irsiyatning saqlanishi nimaga boqliq va irsiy belgilar qanday yo'l bilan nasldan-naslga o'tadi, degan fundamental savollarga javob bermas edi. Asrimizning boshida irsiyat sirini molekulardan qidirish kerak, degan g'oya tug'ilib, uni tasdiqlaydigan bir qator dalillar to'plandi. Bu yo'nalishda ingliz olimi A.Gerrod birinchi qadam qo'ydi, desak bo'ladi. U siydikning havoda qorayib ketishi bilan kuzatiladigan *alkaptonuriya* kasalligining sababini tekshirib, bu kasallik gen ta'sirining etishmasligiga boglik ekanligini, kasallik nasldan-naslga utishini anikladi va uz tadjikotlari bilan metabolizmning tugma patologiyasi konsepsiyasini ishlab chikdi. Keyingi yillarda genlar oksillar strukturasini belgilashi va anchagina keng tarkalgan irsiy kasalliklar aynan ferment kamchiligi bilan boglik ekanligi aniklandi. YUkorida keltirilgan alkoptonuriya kasalligi xam aromatik aminokislota bulgan tirozin metabolizmining normal maxsuloti – gomogentizat kislotaning, organizmdagi uni oksidlaydigan ferment utishmasligi tufayli siydik bilan chikarilishiga boglik.

1941 yilda bir gen – bir ferment gipotezaning ilgari surilishi genetik bilan bioximiya orasida alokalar urnatilishiga sabab buldi. Bu koidani ishlab chikkan olimlar Djorj Bidl va Eduard Tatum uz oldilariga

bioximiyaviy belgilarni genlar boshkaradimi, degan fundamental savolga javob berishni maksad kilib kuyogan edila. Ular uz tadkikotlari uchun juda kulay ob'ekt – non mogori – neyrosporadan foydalanib, ultrabinafsha yoki rentgen nurlar ta'siradaularda mutatsiyalar paydo bulishini kuzatdilar. Ionlantiruvchi nurlar, rengen, yadro (gamma nurlar), uttrabinafshanurlar asosiy mutagen agentlardir. Bidl va Tatum neyrospora ionlashtiruvchi nurlar ta'sirida vitaminlar va aminkislotalar sintezlash xususiyatini youkotishini va bu xususiyat yangi naslga utishini tasdikladilar. Demak genlar fermentlar sintezini boshkarar ekan, chunki nur ta'sirida vitamin yoki aminokislota sintezlash xususiyati youkolishiga neyrospora xujayrasda tegishli ferment etishmasligi sabab buldi. Bidl va Tatum bu muxim kashfiyotlari uchun 1958 yilda bakterialarda jinsiy jaraynni kashf etgan olim Djoshuma Lederberg bilan birga Nobel mukofotiga sozovor buldilar.

Genetika soxasida fundamental tadqiqotlar uchun tegishli ob'ektning tanlab olinishi va muammoning to'g'ri yo'nilishi xal qiluvchi axamiyatga ega bo'ldi. Fiziologlar o'z tajribalarini itlarda, bioximiklar metabolik jarayonlarni kalamushlarda o'tkazdilar. Mendel o'zining juda sodda tajribalari uchun no'xatning bir necha navidan foydalandi.

1930—1950-yillar orasida turli organizmlardagi moddalar almashinuvini xap tomonlama o'rganish natijasida metabolizmning asosiy yo'llari, biosintetik reaksiyalarning izchil borishi va xal kiluvchi boskichlari mikroorganizmlarda (pro- va eukariotlarda), o'simliklar va xayvonlarda taxminan bir xil ekanligi aniklandi. Molekulyar biologiyaning boshlangich davrida kiskavakt ichida birin-ketin erishilgan ajoyib kashfiyotlar yangi royalar turilishiga olib keldi. Bulardan biri «Escherichia coliga nima to'g'ri kelsa, u filga xam to'rg'i keladi» degan mashxur ibora edi. Ammo keyingi yillarda genetik materialning aniq strukturasi belgilangach, bu ibora noto'g'ri bo'lib chikdi. 1970-yillar bir qator kutilmagan vokea lar aniklandi. Eukariotlarda ko'p jarayonlar

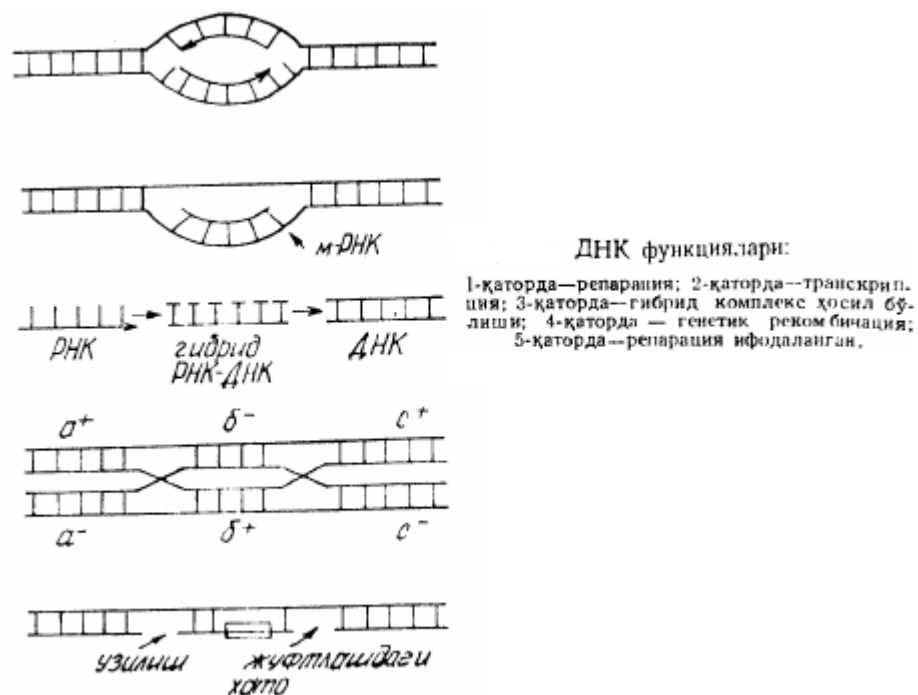
prokariotlardan butunlay boshkacha o'tishima'lum bo'ldi. Ko'p narsalar prokariotlarda ma'lum bo'lsa xam eukariotlarda xali noma'lum edi: genlar aktivligi kanday boshkariladi, eukariotlarning genetik apparatiga kanday signallar ta'sir kiladi va xokazolar.

Xromosomalardagi o'zgarishlar, mutatsiya, rekombinatsiya, transpozitsiya

Ko'p yillardan beri genomlar barkaror, turgun xisoblanib kelingan. Ammo yaqindan beri DNK ning ma'lum katorlarida turli o'zgarishlar bo'lib turishi, genomdagi joylarining almashinishi, DNK yaqin qismlarining qayta kurulishi tasdiklandi. Bunday xodisalar prokariot va eukariot organizmlarning tabiiy xayot jarayonida xam bo'lib turadi.

Xromosomalar doimo turli o'zgarishlarga, qaytadan tuzilishga duchor bo'ladi. Organizmlarning tabiiy xayotida xromosomalarda kuzatiladigan o'zgarishlarning bir necha xili ma'lum. Uzgargan xromosomalar paydo bo'lishiga olib keladigan genlar orasida normal biologik almashinuv yoki turli manbalardagi genlarning ko'shilishigenetik rekombinatsiya deb ataladi. Xosil bo'lgan xromosoma replikatsiya, transkripsiya va translyasiya xususiyatini saklab koladi. DNK ta'sirida bakteriyalar transformatsiyasi misolida genetik rekombinatsiyani Everi, Mak-Leod va Mak Kartilarning klassik eksperimentida tanishgan edik. Bu tajribalarda pnevmokokklarning virulent shtammidan ajratilib olingan DNK virulentmas xujayralarga kirganda bu shtammni virulentli shaklga aylantirishi kuzatilgan. Demak, donor xujayrada bo'lgan virulentlik geni retsipient genomiga ilinadi.

Xromosomalar normal fiziologik funksiya bajarishida xam doimo o'zgarishlar, kayta tuzilishlar bo'lyb turadi. Tyxum xujayra spermatozoid bilan ko'shilganda genetik rekombinatsiya yuz beradi; genlar yoki ularning ayrim kismolari xro- mosomaning bir joyidan ikkinchi joyiga ko'chishi, xujayra virus bilan infitsirlanganda xam genlar almashinuvi va yangi kombinatsiyalar tuzishi mumkin.



Genomning o'zgaruvchan ekanligi xakida ko'pdan beri ma'lum dalillar bo'lsa xam, DNK molekulasida ko'chib yuradigan genlarning kashf etilishi taajjublanadigan xodisa bo'lib chikdi. CHunki tabiatdagi xamma kuzatishlar irsiyatning kat'iy ekanligiga dalil, odamlar orasida xam bu fenomen miyaga kattiqo'rnashib kolgan. SHuning uchun xam amerikalik tadqiqotchi agronom Barbara Mak-Klintok 1940 yilda o'zining nozik tajribalarida genomning ayrim elementlarini aniklab berishi va xossalarini o'rganishiga karamay, uning dalillarini fan dunyosi tan olmay keldi. Fakat 20 yil o'tgandan keyin genomning xarakatchan elementlari yangidan ochilib, u bioximiyaviy nuqtai nazardan DNK ning gendagi kichkina kiritmalari sifatida qabul qilinadi. Ularni tekshirish kengayib, avvalo genomning xarakatchan uchastkalari yoki *sakrab utuvchi genlar* deb atalgan kismolari, keyinroq oldindan mavjud, joyini o'zgartirish xususiyatiga ega (*transpozitsiya, mobil, dispergirlangan—yoyilgan*) elementlar deb ataladi. Bu strukturalarning kashf etilishi ijobiy xulosalarga sabab bo'ldy. Fanda gen transformatsiyasiga (o'zgarishiga), onkogenlar (rak ko'zgatuvchigenlar) ga, genlarni ajratib olib uni boshqa organizm genomiga payvand kilish yo'libilan yangi xayvonlarni olish (transgen xayvonlar) soxalariga yangicha karash shakllanishiga olib keldi. Umuman bu fenomenning

evolyusiyaga alokasi xar tomonlama keng muxokama qilinib, bir qator samarali goyalar maydonga chikdi.

DNK molekulasida uzilishlar, doimo almashinuvlar, ulanishlar bo'lib tursa xam ularning turga oid xossalari o'zgarmay saklanadi. Bu xujayrada nukleotidlar ketorini asli- day tiklab turadigan maxsus fermentlar mavjudligiga boglik. 56- rasmda DNK molekulasining funksiyalari, undagi o'zgarishlar va tuzatish mexanizmlari sxematik ravishda keltirilgan.

Xromosomalaridagi bir kator o'zgarishlar tashki muxitning shikast etkazadigan omillari ionlantiruvchi nurlar, kator ximiyaviy moddalar va boshkalar ta'siridan kelib chikadigan, ba'zilar replikatsiya jarayonida uzun DNK mole- kulasining uzilishiga bogliq tasodifiy o'zgarishlar bo'lib, aksari xollarda ular I DNK-polimeraza va DNK-ligazalar ishtirokida tuzatiladi (reparatsiya). Agar DNK molekula- larida paydo bo'lgan bu o'zgarishlar bartaraf kilinmasa, yangi sintezlanadigan DNK da xam shunday nukson shaklida takrorlanadi, nasldan-naslga o'tadi. Bu xodisa mutatsiya, unga sabab bo'ladigan omillar *mutagenlar* deb ataladi. Demak, mutatsiyalar DNK molekulasining nukleotid qatorida paydo bo'lgan, nasldan-naslga o'tadsian o'zgarishlardir.

Mutatsiyalar — ayrim individlar xayotida juda siyrak uchraydigan tasodifiy xodisadir. Bitta juft asosda uchraydigan o'zgarish *nuktali mutatsiya* xosil kiladi. Anchagina mutagenlar odamlarda rak kasalligiga sabab bo'ladi. Mutatsiyalar ba'zan oksilning biologik funksiyasida jiddiy o'zgarishlarga, ba'zan esa biologik funksiyasi jixatidan o'zining aslidan yaxshipok, sifatli oksil xosil bo'lishiga olib keladi.

Genetik rekombinatsiyaning boshka bir xili *lizogeniya*. Bakteriya xujayrasi faglarining ma'lum turlari bilan infeksiyalanganida bu faglarining DNK si xo'jayin-xujayraning xalkali xromosomasiga ulanib olib, uning bilan birga, o'zini yangi fag parchasi sifatida namoyish qilmay, ko'pavlodlar davomida replikatsiya kilinishi mumkin. Ammo ma'lum vakt o'tgach, qanday bo'lmasin bir xodisa «uxlab yotgan» genning ekspressiya



mexanizmini ishga solib yuboradi. Natijada fag parchalari xosil bo'lib, xo'jayin-xujayra lizisga uchraydi (emiriladi). Mana shunday faglar *lizogenirlovchi* yoki xolis,mo''tadil deb ataladi. Bunday faglar orasida eng yaxshi o'rganilgany *E. coli*,xujayrasiga kiradigan λ (lyambda) fagdir.

Genetik rekombinatsiyalarning muxim bir turi *transduksiya* deb ataladi. Agar bakteriya xujayrasiga DNK tutuvchi ba'zi faglar yukkan bo'lsa, bakteriya-xo'jayin DNK sining kichik birismi uning DNK sig kovalent boglanishi, u bilan birga replikatsiya kilinishiva shuyo'l bilan bola fag parchalarining DNK sig ulanishi mumkin. Bunday parchalar boshka xo'jayinga yuksa, fag DNK si xujayraga birinchi xujayra xromosomasining bir kismini olib kiradi. Transduksiya («ko'chirib o'tkazish») tabiiy jarayon, u laboratoriya sharoitida bakteriyalar xromosomasi xaritasini tuzishda qo'llanadi.

Bakteriyalar *kon'yugatsiya* xam genetik rekombinatsiyaga misol bo'ladi. Bu ba'zan bakteriyalarda jinsiy kushilish (kon'yugatsiya) jarayonida kuzatiladi. Bu jarayonda donor xujayra xromosoma zanjirlaridan birining birismi, ba'zan to'la zanjir — *pil* deb ataladigan uzun biriktiruvchi naycha orqali shu turga oid retsipient xujayraga o'tkaziladi. Jinsiy kon'yugatsiya tufayli retsipient xujayraga bir nechta yangi genlar qo'shilib, uning xromosomalariga ulanadi.

8-MAVZU:
**NAST TASHUVCHI ELEMENTLARNING ALMASHISHI VA
KO'CHIRISH JARAYONLARNING MEXANIZMLARI.**

Reja:

1. Genetik rekombinatsiya.
2. Transduksiya.
3. Transformatsiya.
4. Transfeksiya.

Genetik rekombinatsiya (shuningdek, ma'lum genetik o'zgarish) almashish bo'lgan genetik material turli o'rtasida organizmlarning qaysi yo ota-ona topilgan farqli xususiyatlar kombinasyonlari bilan avlodlari ishlab chiqarish olib keladi. Yilda ökaryotlar davomida genetik rekombinatsiya O'z o'zgarishi bir yangi to'plamining olib kelishi mumkin genetik o'tib mumkin axborot ota-onalari avlodlariga. Rekombinatsiyalarning aksariyati tabiiy ravishda sodir bo'ladi

Genetik rekombinatsiya Eukariotlarda meyoza paytida gomologik xromosomalar o'rtasida amalga oshadi. Bunda xromosomalar o'rtasida ma'lumot uzatiladi. Axborot uzatish jismoniy almashinuvsiz sodir bo'lishi mumkin (genetik material bo'limi bir xromosomadan ikkinchisiga ko'chiriladi, genetik material beruvchi xromosoma o'zgartirilmaydi) (1-rasmdagi SDSA yo'lini ko'ring) yoki DNK ning yangi molekulalarini hosil qiladigan DNK zanjirlarining uzulishi va birlashishi bilan (1-rasmdagi DHJ yo'lini ko'ring) kechadi.

Rekombinatsiya, shuningdek, odatda xromosoma replikatsiyasidan keyin hosil bo'lgan ikkita singil xromosomalarni o'z ichiga olgan ökaryotlarda mitoz paytida ham sodir bo'lishi mumkin. Bunday holda, allellarning yangi birikmalari hosil bo'lmaydi, chunki opa-singil xromosomalar odatda bir xil bo'ladi. Mayoz va mitozda rekombinatsiya DNKning o'xshash molekulalari (gomologik sekanslar) o'rtasida sodir bo'ladi. Mayozda opa-singil bo'lmagan gomologik xromosomalar bir-biri bilan juftlashadi, shu sababli singil bo'lmagan gomologlar o'rtasida

xarakterli ravishda rekombinatsiya bo'ladi. Mayotik va mitotik hujayralarda ham homolog xromosomalar orasidagi rekombinatsiya DNKni tiklashda ishlatiladigan keng tarqalgan mexanizmdir.

Ikki zanjirli uzilish yoki bo'shliq bilan boshlangan, keyinchalik rekombinatsion ta'mirlash jarayonini boshlash uchun gomologik xromosoma va zanjir invaziyasi bilan juftlik bilan boshlangan meiotik rekombinatsiyaning hozirgi modeli. Bo'shliqni tuzatish yonbosh mintaqalarning krossover (CO) yoki krossover bo'lmagan (NCO) ga olib kelishi mumkin. CO rekombinatsiyasi yuqorida o'ngda tasvirlangan Double Holliday Junction (DHJ) modeli tomonidan sodir bo'lgan deb o'ylashadi. NCO rekombinantlari asosan chap tomonda ko'rsatilgan Sintezga bog'liq strand tavlani (SDSA) modeli bilan yuzaga keladi deb o'ylashadi. Aksariyat rekombinatsiya hodisalari SDSA turiga o'xshaydi.

Gen konversiyasi - gomologik ketma-ketlikni bir xil qilish jarayoni genetik rekombinatsiyaga ham uchraydi.

Genetik rekombinatsiya va rekombinatsion DNKni tiklash, shuningdek, jinssiz ko'payishni qo'llaydigan bakteriyalarva arxeylarda ham uchraydi.

Rekombinatsiyani laboratoriyada (in vitro) sun'iy ravishda qo'zg'atish mumkin, shu bilan emlash uchun rekombinant DNK hosil qiladi.

V (D) J rekombinatsiya bir bilan organizmlarda adaptiv immun tizimi immun hujayralari tez tanib va yangi moslashish diversifikatsiya yordam beradi sayt-maxsus genetik rekombinasyon bir turi bo'lib patogen mikroorganizmlarga.

Sinapsis

Meyoz paytida sinapsis (gomologik xromosomalarning juftligi) odatda genetik rekombinatsiyadan oldin bo'ladi.

Mexanizm

Genetik rekombinatsiya ko'plab turli fermentlar tomonidan katalizlanadi. Rekombinazlar - bu rekombinatsiya paytida ipni uzatish bosqichini katalizlovchi asosiy fermentlar. Escherichia coli-da topilgan

asosiy rekombinaza RecA DNKning ikki zanjirli tanaffuslarini (DSB) tiklash uchun javobgardir. Xamirturush va boshqa eukaryotik organizmlarda DSBlarni tiklash uchun zarur bo'lgan ikkita rekombinaza mavjud. RAD51 oqsil uchun zarur bo'lgan mitoz va o'z o'zgarishiga oid DNK ta'mirlash oqsil, Holbuki, rekombinasyon DMC1, o'z o'zgarishiga oid birlashtirishga xos. Archaea yilda ortholog bakterial rajo oqsil Rada hisoblanadi.

Bakteriyalarning rekombinatsiyasi In Bakterilerinin bor: muntazam bakterial rekombinatsiya, shuningdek noneffective transfer genetik material sifatida ifoda muvaffaqiyatsiz ko'chirish yoki abortiv uzatish, bu qabul qiluvchining genetik materialining bir qismi sifatida kiruvchi DNKni o'rnatgan donor hujayra qabul qiluvchilarining har qanday bakterial DNK uzatilishi. Abortdan o'tkazish quyidagi transduktsiya va konjugatsiyada qayd etildi. Barcha holatlarda uzatilgan parcha madaniyatning o'sishi bilan suyultiriladi.

Xromosoma krossoveri

Tomas Xant Morganning o'tish joyi haqidagi tasviri (1916)

Xromosomalari krossover. Krossover jarayoni avlodlarning otalariidan genlarning turli xil birikmalariga ega bo'lishiga olib keladi va vaqti-vaqti bilan yangi ximerik allellarni hosil qilishi mumkin. Genetik rekombinatsiya natijasida hosil bo'lgan genlarning aralashishi ortib boradigan genetik o'zgarishni keltirib chiqaradi. Bu, shuningdek, jinsiy yo'l bilan oldini olish uchun organizmlarni qayta beradi Myuller mandal bo'lgan, genomu bir yil jinssiz aholi yig'ilib genetik delesyonlarinin bir qat'iy tarzda.

Xromosomalarning bilan bog'liq o'tish bog'langan o'rtasidagi rekombinasyonu o'z ichiga oladi xromosomalardatda davomida yuzaga kelgan, ota-har bir meros O'z o'zgarishi. Davomida prophase Men (pachytene bosqich) to'rt mavjud kromatidden bir-biri bilan mahkam shakllanishi mavjud. Ushbu shakllanish jarayonida ikkita xromatidagi gomologik joylar bir-biri bilan chambarchas bog'lanib, genetik ma'lumot almashishi mumkin.

Rekombinatsiya xromosoma bo'ylab har qanday joyda kichik ehtimollik bilan sodir bo'lishi mumkinligi sababli, ikkita joy orasidagi rekombinatsiya chastotadi ularni ajratib turadigan masofaga bog'liq. Shuning uchun, xuddi shu xromosomada yetarlicha uzoq bo'lgan genlar uchun krossover miqdori allelar o'rtasidagi o'zaro bog'liqlikni yo'q qilish uchun etarlicha yuqori.

Krossoverlar natijasida hosil bo'lgan genlarning harakatini kuzatish genetiklar uchun juda foydali ekanligini isbotladi. Bir-birlariga yaqin bo'lgan ikkita gen bir-biridan uzoqroq bo'lgan genlarga qaraganda kamroq bo'linishi sababli, genetika mutaxassislari o'zaro faoliyat chastotasini bilsalar, xromosomadagi ikkita genni taxminan ajratib olishlari mumkin. Genetika mutaxassislari ushbu usuldan ma'lum genlarning mavjudligini aniqlash uchun ham foydalanishlari mumkin. Rekombinatsiya paytida odatda birga bo'lgan genlar bir-biriga bog'langan deb aytiladi. Bog'langan juftlikdagi bir gen ba'zan boshqa gen mavjudligini aniqlash uchun marker sifatida ishlatilishi mumkin. Bu odatda kasallik keltirib chiqaradigan gen mavjudligini aniqlash uchun ishlatiladi.

Ikki lokus o'rtasidagi rekombinatsiya chastotasi kesishish qiymati deyiladi. Bu ikkita bog'langan gen lokuslari o'rtasida o'tish chastotasi va kuzatilgan genetik lokuslarning o'zaro masofasiga bog'liq. Har qanday qat'iy genetik va atrof-muhit sharoitlari uchun bog'lanish strukturasining (xromosoma) ma'lum bir mintaqasida rekombinatsiya doimiy bo'lib qoladi va shu narsa genetik xaritaning ishlab chiqarishda ishlatiladigan kesishish qiymati uchun ham amal qiladi.

Transduksiya.

Genetik materialni bir akteriyadan ikkinchisiga fag orqali o'tilishi TRANSDUKSIYA deyiladi. Uch xil transduksiya bo'ladi: nespetsefik, spetsefik va abort formasi.

NESPETSEFIK TRANSDUKSIYA. Bu holda fag vibriionlari hosil bo'lish jarayonida bakteriya donor DNK sining qandaydir bir qismi hosil

bo'layotgan fag DNK siga kirib qoladi va qisman informatsiyani o'tkazadi, ya'ni transduksiya qiluvchi fag bir bakteriyadan ikkinchisiga faqat genetik materialni o'tkazuvchi bo'libgina qoladi va kulturani lizis qila olmaydi, ya'ni donor DNK si bakteriya xromasomasiga joylashadi.

SPETSIFIK TRANSDUKSIYA. Avvalgisidan farqli o'laroq bu holda donor DNK si retsipientga ma'lum bir genni to'liq o'tkazadi va DNK retsipient xromasomasi bilan mustahkam bo'lanadi. **ABORTIK TRANSDUKSIYA.** Bu holda donor DNK si retsipient hujayrasiga kiradi, lekin uning xromasomasi bilan bog'lanmasdan erkin holda turaveradi. Hujayra bo'linishi vaqtida bu DNK faqat bitta yangi qiz hujayraga berilishi mumkin, natijada kelgusi avlodda yo'q bo'lib ketadi.

Transformatsiya

Transformatsiya (lot. transformatio — qayta o'zgarish, qayta hosil bo'lish) (genetikada) — hujayraga yot DNK kirishi natijasida uning irsiy xususiyatlari o'zgarishi; prokariotlarda genetik material almashinish usullaridan biri. Birinchi marta ingliz olimi F. Griffit (1928) pnevmokokklarda kashf etgan. F. Griffit patogen pnevmokokklarni qizdirib o'ldirganda ular sichqonlarni zararlamasligini, lekin bakteriyalarni patogenlik xususiyatiga ega bo'lmagan tirik bakteriyalar bilan birga sichqonlarga yuborilganda nopatogen bakteriyalar patogenlik xususiyatiga ega bo'lishini aniqlagan. AQSH olimi O. Eyveri va uning xodimlari (1944) nopatogen bakteriyalar patogen bo'lib qolishi (transformatsiyalanishi)ning sababi patogen bakteriya shtammidan ajralgan DNK bilan bog'liq ekanligini aniqladi. T. keyinchalik har xil turkum va turlarga mansub bakteriyalar — streptokokk, gemofill bakteriyalar, pichan tayoqchasi va boshqalarda aniqlangan. T. hodisasi kompetentlik xususiyatiga ega bo'lgan ayrim hujayralar bilan bog'liq (hujayraning yot DNK ni bog'lash xususiyati maxsus oqsil molekulasi sintezlanishi bilan tushuntiriladi). Transformatsiyalaydigan DNKning mol. massasi 300000 dan kam bo'lmasligi, 2 spiralli va kimyoviy toza bo'lishi lozim. Hujayraga donor DNK sining bir bo'lagi o'tib, hujayra xromosomasi bilan rekombinatsiyalanadi va uning xossasini o'zgartiradi.

T.dan bakteriyalarni genetik analiz qilishda va genetik injeneriya sohasidagi tajribalarda foydalaniladi. T. jarayonining kashf etilishi va o'rganilishi natijasida DNKirsiyatning moddiy asosi ekanligi aniqlandi. T.dan eukariot hujayralarga yot DNK ni kiritishda ham foydalaniladi

9-MAVZU.
**XROMOSOMA TARKIBIGA KIRMAYDIGAN GENETIK
ELEMENTLAR**

Maruza rejasi:

1. Plazmidalar
2. Genom

Plazmidalar — hujayra xromosomalari tarkibiga kirmaydigan, sitoplazmada xromosomalar bilan bog‘lanmagan avtonom holatda mavjud bo‘lgan doimiy genetik elementlar. „Plazmidalar“ terminini J.Lederberger va boshqa (1952) taklif etgan. Xromosomalar bilan birika oladigan plazmidalar episomalar deyiladi. Bakteriya hujayralari plazmidalari yaxshi o‘rganilgan. Plazmidalar bakteriyalarida jinsiy belgini tashish (F — omil) va ularning antibiotiklarga chidamliligini belgilashda (R—omil) katta ahamiyatga ega. Bu omillarni o‘zida saqlovchi plazmidalar bir bakteriyadan ikkinchisiga o‘tib, ularning xususiyatlarini o‘zgartiradi. Plazmidalar halqasimon DNK molekulasidan tashkil topgan bo‘lib, tabiatda keng tarqalgan. Plazmidalardan genetik injeneriyada rekombinant DNK mo-lekulalarini boshqa hujayralarga ki-ritishda tashuvchi sifatida, bakteriyalarning antibiotiklarga chidamliligini bartaraf etish yo‘llarini ishlab chiqishda foydalaniladi.

Genom (nem. Genom) — xromosomalar (unda joylashgan genlar bilan birga) gaploid to‘plami; individ genetik tuzilishining asosiy elementlari majmui. «G.» terminini fanga nemis biologi G. Vinkler kiritgan (1920). Gaplofazada har bir hujayra bitta G.ga, diplofazada esa ikkita G.ga ega bo‘lib, zigota hosil bo‘lishida ularning biri erkak, ikkinchisi urg‘ochi gametalardan o‘tgan bo‘ladi. G. asosiy genetik va fiziologik sistemalarni o‘zida namoyon qilib, uning genetik jihatdan mukammalligi normal gameta va zigotalarning hosil bo‘lish zaminidir. Hayotchan, ammo qisman hosildor poliploid formalar kamida bir juft gomologik G.ga ega bo‘lishi shart; qolgan xromosomalar bo‘yicha turli chetlanishlar bo‘lishi mu.mkin, bu esa rivojlanishga deyarli ta’sir ko‘rsatmaydi. Agar kon’yugatsiyalanuvchi (gomologik xromosomalarning yaqinlashuvchi)

xromosomalardagi genlarning chiziqli joylashishi aynan o'xshash bo'lsa, u holda ikkala G. mutlaqo o'xshash (gomologik) bo'ladi. Chala gomologik G.da duplikatsiya (xromosoma uchastkasining ikki hissa ortishi) hamda deleniya (xromosoma uchastkalarining yetishmasligi) natijasida yuz beradigan resiprok translokatsiya (xromosomaning ikki uchastkasi o'zaro o'rin almashadi) va inversiya (xromosoma uchastkasi holatining o'zgarishi) tufayli barcha yoki ayrim kon'yugatsiyalanuvchi xromosomalarning qisman aynan o'xshashligi kuzatiladi. Segmentli aynan o'xshashlik bilan xromosoma kon'yugatsiyasining tipi va darajasi, shuningdek urug'lanish miqdori aniqlanadi. Euploidiya (bir butun G. normal sonining ortishi) va aneuploidiya (xromosomalar sonining xromosomaning karrali normal gaploid to'plamiga teng bo'lmagan holdagi o'zgarishi) G.li mutatsiyalarda olib keladi.

10-MAVZU. KONSERVANTLAR ISHLAB CHIQRISH

Maruza rejasi:

1. Vektorlar turlari va ularning ishlatish qoidalari.
2. Vektor molekulalar. Gen injeneriyaning asbob uskunalari

Tarkibida qo'shimcha irsiy axborotlar tutuvchi rekombinant DNK molekulalarini hujayralarga kiritish va uning barqarorligini saqlash gen muxandisligining asosiy kalit operatsiyasi hisoblanadi. Buni amalga oshirish uchun vektor molekulalardan foydalaniladi. Agar, DNK shundayligicha hujayraga kiritilsa, Masalan bakteriya hujayralarida fermentlari ularni nukleotidlarga parchalab tashlaydi. Ba'zi xollarda DNK hujayraga kirib o'rnashishi mumkin, lekin hujayraning bo'linish jarayonida u nasldan–naslga berilmay yo'qolib ketadi. Rekombinant DNK hujayraning genetik apparatining tashkil qiluvchi qismiga aylanishi uchun, u genomga birikishi (xromosomaga integratsiyasi) va shuning hisobiga replikatsiyalanishi yoki avtonom replikatsiyalanish xususiyatiga ega bo'lishi kerak.

Begona DNKning replikatsiyasi, ekspressiyasi va transformatsiyasini (boshqa organizmga ko'chishini) ta'minlovchi DNK molekulasi *vektor* deb ataladi. Vektor hujayraga qo'shimcha irsiy axborot kiritilishini amalga oshiradi. Vektor sifatida plazmidalar, bakteriofaglar, mobil elementlar va hayvonlarning viruslaridan foydalanish mumkin. Hozirgi vaqtda juda ko'p vektorlar yaratilgan bo'lib, ularni bir nechta tipga bo'lish mumkin:

1.Klonlash uchun vektorlar. Bunday vektorlarga biriktirilgan DNK fragmentlarni replikatsiyalash orqali soninini (amplifikatsiyasi) ko'paytirish uchun foydalaniladi. Bunday maqsadlar uchun bakteriya plazmidalari va faglar qo'llaniladi. Genomning katta o'lchamdagi fragmentlarini klonlash uchun esa bakteriya va achitqi xromosomalari asosida yaratilgan (VAS va YAC) sun'iy vektorlaridan foydalaniladi.

2. Ekspression vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligi aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Ko'p sonli ekspression tizimlar, ayniqsa prokariot organizmlar uchun mavjud. SHuningdek sut emizuvchilar, o'simliklar va achitqilar hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan. Eukariot organizmlar uchun yaratilgan ekspression vektorlar poliadenillanish sayti va mazkur organizmda ishlash qobiliyatiga ega promotordan iborat ekspression kasseta tutadi.

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Retsipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspression vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan.

Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani xaqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi. Bu genlarning oqsil mahsuloti-fermentlar antibiotiklarni modifikatsiyalaydi va ularning ta'sirini inaktivatsiyalaydi (kuchsizlantiradi). Masalan, nptII geni kanamitsin antibiotigini inaktivatsiyalovchi neomitsinfosfottransferaza genini kodirlaydi. Bakteriya hujayrasi nptII geni ishtirokida kanamitsinga nisbatan chidamlilik xosil qiladi va shu antibiotik ishtirok etuvi oziqa muhitlarida o'sib, klon va hujayralar koloniyasi xosil qiladi. Odatda tarkibida nptII geni bo'lmagan hujayralar bunday oziqa muhitlarda o'sa olmaydi va nobud bo'ladi. Demak, vektor konstruktsiya tarkibida nptII genini tutishi vektor ishtirok etayotgan hujayralarni aniqlash va ularni tanlab olish imkonini beradi.

E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi

Tarkibida begona DNK fragmentlari tutuvchi vektor konstruksiyalar *E.coli*ning maxsus shtammlari hujayralariga transformatsiya qilish uchun foydalaniladi. Vektor plazmidalarning bakteriyalarga transformatsiyasi hujayralarning DNK molekulalarini qabul qilish qobiliyatiga asoslangan (kompetentligiga). *E.coli* hujayralariga transformatsiyalash asosan kalsiy shoki yoki elektroporatsiya usullaridan birini qo'llash orqali amalga oshiriladi. Ikkala xolatda ham bakteriya membranasining DNK molekulalari uchun o'tkazuvchanligi oshadi.

Vektor molekulasi uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

- 1) vektor begona DNK fragmentlarini o'ziga biriktirishi uchun bir nechta restriktazalar uchun yagona restriksiya saytlari tutishi zarur.
- 2) vektor replikatsiya boshlanish nuqtasi izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikatsiyalanishi shart.
- 3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruksiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini engillashtiradi.

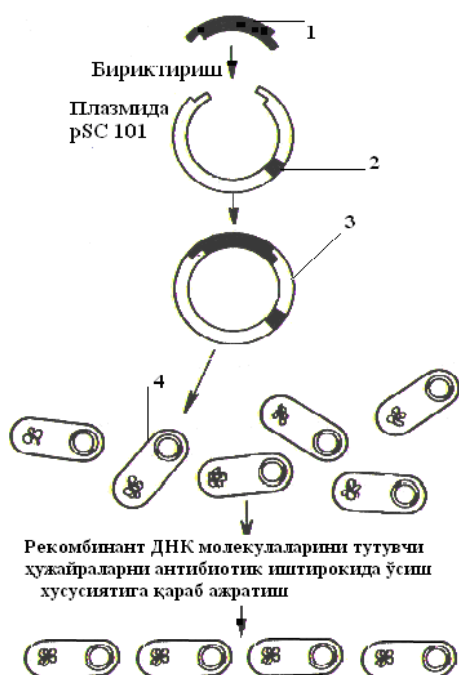
Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNKsidan tashqari, ko'p nusxada xalqasimon DNK molekulalari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekulalar *plazmidalar* deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikga chidamlilik genlarini tutadi. Hujayrada plazmidalarning ko'p nusxada xosil bo'lishi natijasida antibiotiklarni biokimyoviy neytrallovchi fermentlarning sintezi oshadi va hujayraning antibiotikka chidamliligi ortadi.

YUqorida bayon etilganidek, kalsiy ionlari ishtirokida tarkibida plazmidasi yo'q bakteriyalar tomonidan plazmidalar oson yutiladi. Bakteriyalar hujayrasida faqat bir tipdagi plazmidalar ishtirok etishi mumkin.

Hujayradagi plazmidalar nusxasining soni o'zgarib turadi. Bu hujayraning va plazmidalarning irsiy xususiyatlariga bog'liq. Ba'zi turdagi plazmidalar hujayradagi soni 10-200 nusxa bo'lguniga qadar ko'payishni

davom ettiradi. Boshqa turlari esa bakteriya xromosomasining ko'payish tezligida replikasiyalanadi. Bunday tipdagi plazmidalar hujayrada bir dona yoki bir nechta bo'lishi mumkin. Klonlash uchun faqat birinchi tipdagi plazmidalar asosidagi vektorlardan foydalanish maqsadga muvofiqdir.

Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973 yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan. Tajribalar uncha katta bo'lmagan (~9 m.n.j.), tetratsiklinga chidamlilik geni tutuvchi E.coli plazmidasi pSC 101 da olib borilgan. Plazmida tarkibida faqat bir dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning xalqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq xalqa xolatiga o'tkazadi. Plazmida pSC 101ning DNKsi ichak tayoqchasi uchun begona DNKning EcoRI–fragmentlari bilan aralashtiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pSC 101 plazmida yagona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani E.colining kompetent hujayralariga qo'shilganda u bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar tetratsiklinli selektiv muhitda ajratiladi. (1.6-rasm)

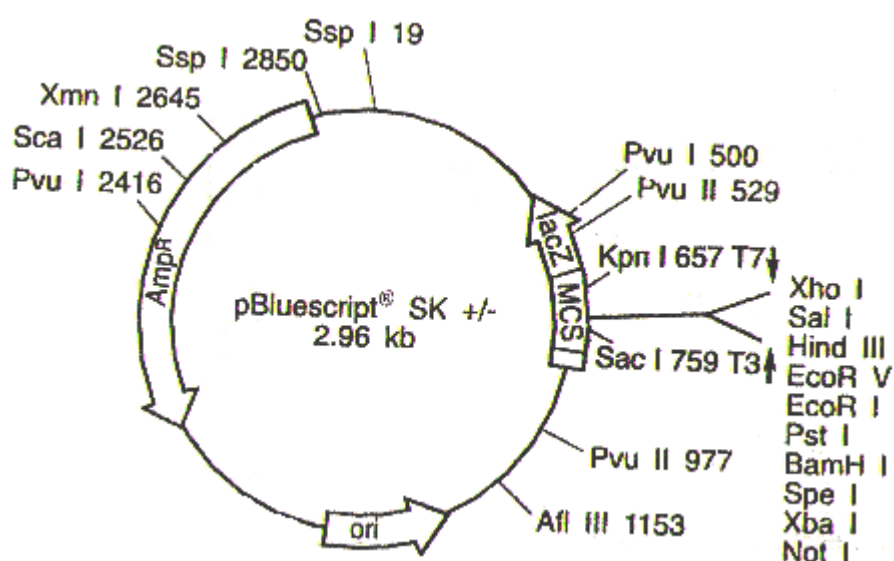


1.6-rasm. DNK fragment-larini plazmidalar yordamida klonlash bo'yicha tajriba sxemasi.

1-Biriktirilayotgan getero-logik DNK; 2-antibiotikka chidamlilik bo'yicha marker; 3-DNKning rekombinant molekulasi; 4-Rekombinant DNKni bakteriya hujayrasiga kiritish.

Bu tarixiy tajriba gen muxandisligi ishlarini boshlanishiga asos bo'ldi. Pro- va eukariot hujayralariga turli DNK fragmentlarni kiritish va yangi xususiyatli hujayralar olish bo'yicha tajribalar o'tkazish mumkin bo'ldi.

Hozirgi vaqtda tabiiy vektorlar asosida foydalanish qulay bo'lgan vektor konstruksiyalari yaratilgan. Ulardan pUC tipi vektorlari va ularning hosilalari (pBluescript, pGEM) keng tarqalgan bo'lib, ulardan klonlash uchun ham, shuningdek ekspressiyalash uchun ham foydalanish mumkin. Uncha katta bo'lmagan pUC vektorlari (~2,7 m.n.j.) tarkibida replikatsiya boshlanish nuqtasi izchilligini (ori-sayt) tutib, bu ularga bakteriya hujayrasida mustaqil replikatsiyalanish imkonini beradi. pUC vektorida klonlashni osonlashtirish uchun ko'p foydalaniladigan restriktazalar uchun takrorlanmas restriksiya saytlarini aks ettiruvchi sun'iy sintezlangan *polilinker* izchilligi mavjud. (1.7-rasm).



1.7-rasm. Klonlash uchun pBluescript SK vektori

(MCS –polilinker izchilligi; Amp^R-ampitsilinga chidamlilik geni (selektiv marker))

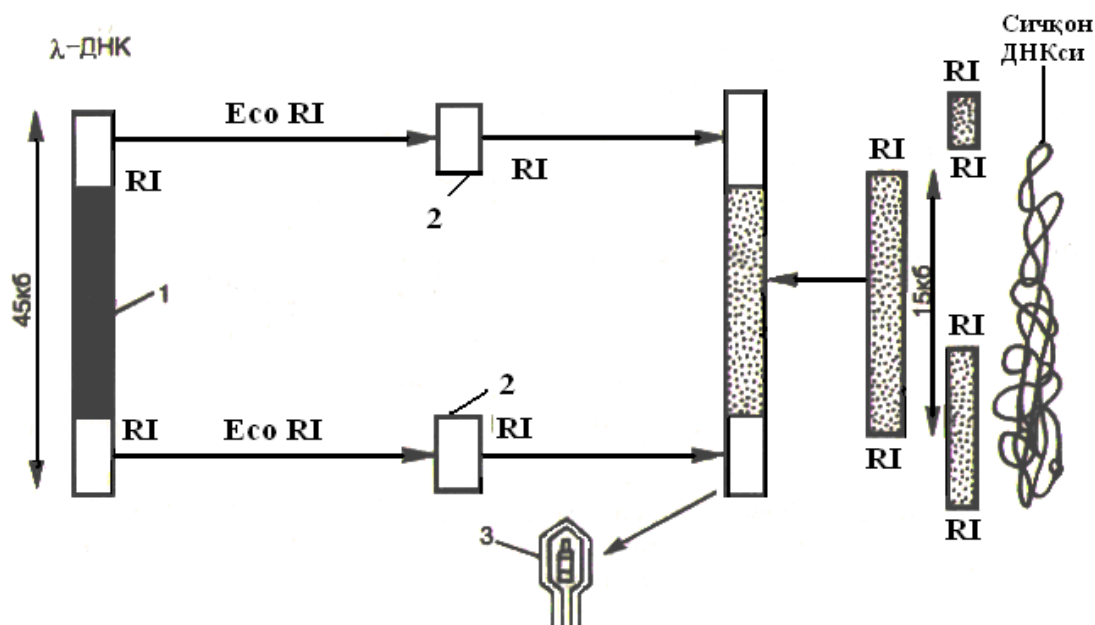
Polilinker vektordagi begona gen ishtirokining qulay markeri hisoblangan lac Z geniga o'rnatilgan. lac Z geni X-gal substratni parchalash xususiyatiga ega (β -galaktozidaza hosilalari) β -galaktozidaza genini kodirlaydi. Bunda bakteriya hujayralari rangi oq rangdan moviy ranggacha o'zgaradi. Polilinkerning uncha katta bo'lmagan izchilligi (100-20 n.j.) β -

galaktozidaza oqsili sinteziga ta'sir etmaydi. Begona DNK fragmentini klonlash uchun lac Z geni ekspressiyasini barbod qiluvchi pUC–vektori polilinkeriga biriktiriladi. DNK ulangan vektor tutuvchi hujayralar X-gal substratni parchalaydi va bunday bakteriya hujayralari boshqa gen ulanmagan bo'sh plazmida vektor tutuvchi moviy rang hujayralardan farqli oq rangda qoladi. pUC vektorlar va ularning hosilalarining oq-moviy rang seleksiyasi klonlash jarayonini ancha osonlashtiradi, chunki vektor plazmidaga begona genlarni ulash juda kam xollarda muvaffaqiyatli chiqadi. Aksariyat xollarda 10-30ta ligirlangan molekulalardan faqat bittasi rekombinant bo'ladi, ya'ni o'zining tarkibida begona fragment tutadi va faqat moviy rang seleksiya yordamidagina rekombinant DNK tutuvchi bakteriya klonlarini aniqlash mumkin.

pUC vektorlar tarkibida klonlangan genlarning transkripsiyasini ta'minlovchi regulyator izchillikdan iborat maxsus ekspression kassetalar tutadi.

Faglar asosidagi vektorlar. Kosmidlar. Vas- va Yas- vektorlar. Bakteriya plazmidalari asosidagi vektorlar klonlash uchun keng qo'llaniladi, lekin ularning bitta muhim kamchiligi bor, bu uning sig'imining kichikligidir. Bunday vektorlarda o'rtacha 7-8 m.j.n. uzunlikdagi fragmentlarni klonlash mumkin, eukariot genlari izchilligi esa (~10-25 m.j.n.) uzunroq bo'ladi. Bundan tashqari genlarning kodirlovchi qismi atrofida joylashgan regulyator izchilliklarni o'rganish uchun genomni kengroq klonlash zarur. Bunday katta fragmentlarni klonlash uchun esa plazmida vektorlari to'g'ri kelmaydi. Chunki katta o'lchamdagi xromosoma DNKsi (~9 m.n.j.dan ortiq) ulangan plazmidalar barqaror bo'lmaydi va replikatsiya jarayonida asta sekin o'lchami kamayib boadi. λ bakteriofagi asosida tarkibiga 22 m.j..n. uzunlikdagi begona DNK fragmentlarini tutuvchi vektor konstruksiya yaratilgan. λ bakteriofag asosida klonlash uchun bunday vektorlarni yaratishda fag DNK molekulasining markaziy qismi fagning E.coli da ko'payishi uchun zarur emasligi e'tiborga olingan xolda restriktazalar yordamida fag genomidan kesib olinganda

replikatsiya uchun zarur bo'lgan fagning o'ng va chap elkasi o'zgarmasdan qolishi kerak. Fag elkari boshqa fragmentlardan alohida ajratilib, klonlash uchun vektor sifatida qo'llaniladi. Kesilgan fag DNKsi o'rniga o'lchami 9-21 m.j.n. bo'lgan begona DNK ulanadi. Bakteriyalarda faqat fagning ikkala elkasi va begona DNK tutuvchi faglar ko'payadi (1.8 rasm). Bunda olingan fag rekombinant DNKsi 30 m.j.n. dan kam bo'lmasligi kerak.



1.8-rasm. Bakteriofag λ asosidagi vektorda DNKni klonlash.

1- Fagning replikatsiyasi uchun zarur bo'lmagan DNK fragmenti; 2- fagning bakteriya hujayralarida replikatsiyalanishi va fagning keyingi taxlanishi uchun javobgar genlarni tutuvchi DNK fragmentlari; 3-begona DNK fragmentlarini tutuvchi bakteriofag.

YAnada uzunroq genlarni yoki yonma-yon genlar guruhini ajratish va o'rganish uchun katta o'lchamdagi ($\sim 30-45$ m.n.j.) DNK fragmentlarini klonlash zarur. Bunday fragmentlarni klonlash uchun katta sig'imga ega maxsus vektor konstruksiyalar yaratilgan bo'lib, ular *kosmidlar* deb ataladi. Kosmidlar duragay molekulalar bo'lib, fag genomining maxsus cos-uchastkasini tutadi, shuning hisobiga ular λ fagining bosh qismiga joylasha oladi. Ularning plazmidalar kabi replikatsiyalanishi uchun imkoni yaratadi. Kosmidlarning o'lchami fag vektorlarinikiga nisbatan kichkina, hammasi

bo'lib 5 m.j.n., kosmidlarga 30-45 m.j.n. uzunlikdagi genlarni ulash mumkin. Bunday rekombinant DNK tutuvchi fagning boshchalari faglar kabi ko'paya olmaydi. Ular bilan E.coli hujayralari transformatsiyalanadi. Eukariot DNKsini tutuvchi cos-sayt o'rnatilgan duragay molekula E.colida plazmidalar singari ko'payadi va xar bir fag zarrachalari individual bakterial transformant koloniyasini xosil qiladi.

100 m.j.n.dan ortiq uzunlikdagi DNK fragmentlarini klonlash maxsus yaratilgan VAS va YAS vektorlarida amalga oshiriladi. VAS- vektorlar bakteriyaning F-plazmidasi asosida olingan bo'lib, bu plazmidalarning bakteriya hujayralaridagi replikatsiyasi va nusxasining ko'payishiga javobgar genlarni va klonlashni osonlashtiruvchi qator qo'shimcha nukleotid ketma-keliklarni tutadi. VAS –vektorlar sig'imi o'zining uncha katta bo'lmagan o'lchamida (~7 m.j.n) juda katta -100-300 m.j.n. Uning sig'imi genom bibliotekasini yaratishda klonlar sonini ko'p marta kamaytirish imkonini beradi.

YAS-vektorlar ham katta o'lchamdagi DNK fragmentlarini klonlashda foydalaniladi, achitqining sun'iy minixromosomasini namoyon qiladi. YAS-vektor sentromer, telomer va replikatsiya boshlanish nuqtasiga ega. Bunday vektorga begona DNKning 100 m.j.n., dan ortiq uzunlikdagi fragmentlarni ham ulash mumkin. Bunday minixromosoma achitqi hujayrasiga kiritilganda replikatsiyalanadi va mitoz bo'linishda o'zini boshqa achitqi xromosomalari kabi tutadi.

KERAKLI AKTIV GENLAR AJRATIB OLIISH USULLARI SXEMASI.

Reja:

- 1.Genlar izchilligini identifikatsiya qilish va ajratish
- 2.Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi.
- 3.Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi
- 4.DNK saqllovchi viruslar asosidagi o'simlik vektorlari.
- 5.Ko'chib yuruvchi genetik elementlar (transpozonlar) asosidagi vektorlar.

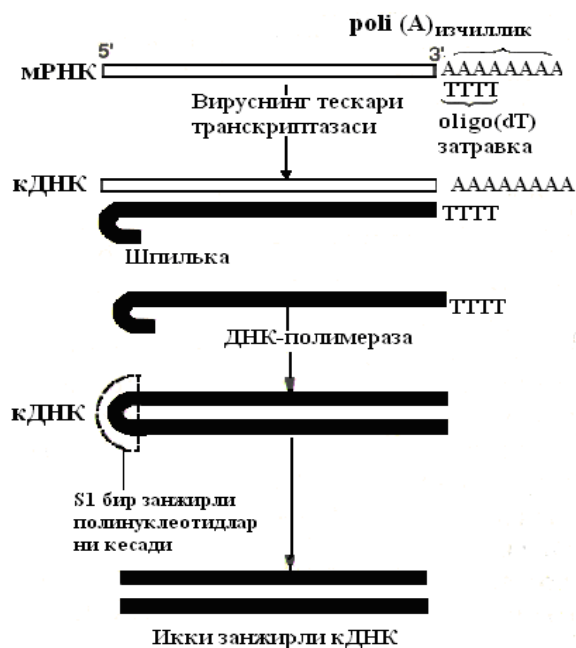
Genlarni ajratish gen muxandisligining asosiy bosqichlaridan biridir. Rekombinant DNK olishning bu bosqichidagi muvaffaqiyati avvalombor bu genning qanchalik darajada o'rganilgani va uning donor genomidagi joylashish xolatiga, mazkur gen mRNKsini ajratish usullari va shu gen mahsulotlarining funksional faolligini aniqlash usullarining yaratilishi; mazkur gen ko'p miqdorda mavjud bo'lgan (amplifikatsiyalangan) yoki faol bo'lgan ob'ektlarning mavjudligi, keyinchalik teskari transkripsiya yo'li shu genning DNKsini olishda foydalanib, uning mRNKsini etarli miqdorda ajratishga bog'liq.

Genlarni ajratishning ikkita asosiy usuli mavjud: gen sun'iy ravishda sintezlanadi yoki klonotekadan zarur genni tutuvchi klon tanlab olinadi.

Komplementar DNK sintezi (kDNK). *Teskari transkriptaza yoki revertaza* fermenti aniqlanganidan so'ng, genni sun'iy ravishda sintezlash orqali genlarni ajratish imkoniyati paydo bo'ldi. Bu ferment RNK tutuvchi onkogen viruslardan ajratib olingan. Ferment spetsifik DNK-polimerazani aks ettiradi va RNK boshqaruvchi DNK sintezini RNKdan matritsa sifatida foydalanib amalga oshiradi. Natijada komplementar DNK zanjiri sintezlanadi. Ferment gen ekspressiyasining birinchi bosqichiga–transkripsiyaga teskari reaksiyani katalizlaydi, uning nomi ham shundan olingan.

Muayyan genning mRNK gomogen preparatini ajratishga muvaffaq bo'ldik deb taxmin qilsak, ba'zi xollarda mRNK umumiy qismining asosini mRNKning tashkil etgan xollarda buni amalga oshirib bo'lmaydi. Deyarli barcha eukariot mRNKlari o'zining 3' uchida adenin qoldiqlaridan iborat poli (A)- izchillik tutadi. Bu izchillik protsessing natijasida mRNKga birlashadi.

DNKning sintez reaksiyasi boshlanishi uchun DNK revertazaga boshqa barcha DNK-polimerazalardagi kabi uncha uzun bo'lmagan ikki zanjirli zatrovka kerak bo'ladi. Agar reaksiyaga 18-20ta timin qoldiqlaridan iborat (poli dT) bir zanjirli qisqa oligonukleotidlar qo'shilsa, ular mRNKning poli(A)-izchilligi bilan birlashadi (komplementarlik prinsipi asosida DNK- RNK fragmentlar xosil qiladi) va bunday dupleks fermentativ reaksiyaning boshlanishi uchun zatrovka bo'lib xizmat qiladi (1.9. rasm). Natijada duragay RNK-DNK molekula xosil bo'ladi, uning uchida ferment ikki zanjirli DNKning qisqa bo'lagi-shpilkani sintez qiladi. SHpilka DNKning ikkinchi komplementar zanjiri sintezi uchun zatrovka bo'lib xizmat qiladiyu Buni DNK polimeraza I amalga oshiradi. mRNK zanjiri RNK-aza fermenti tomonidan gidrolizlanadi. DNKning bir zanjirli uchastkalarini gidrolizlovchi S_1 endonukleaza yordamida shpilkani kesib tashlash mumkin. Natijada zanjirlaridan biri mRNK ga komplementar bo'lgan ikki zanjirli DNK molekulasi xosil bo'ladi. Bunday DNK *kDNK* deb ataladi va u mRNKning dastlabki molekulasi transkripsiyalangan struktura geniga mos keladi (1.9.-rasm).



1.9-rasm. mRNKda kDNK sintezi sxemasi.

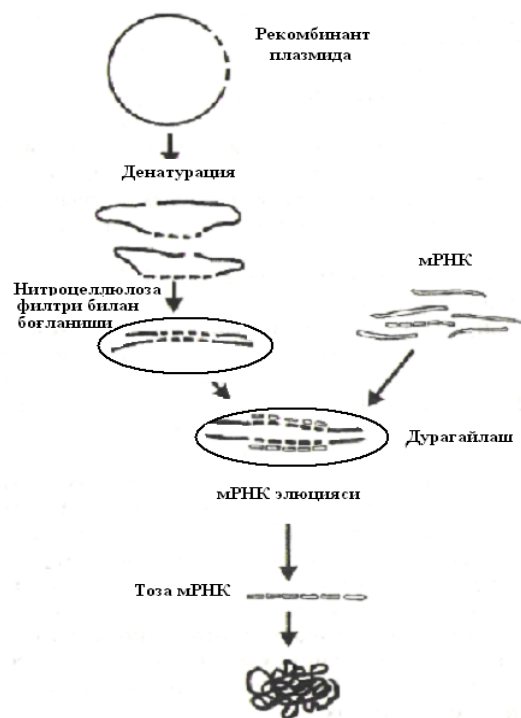
Olingan kDNKga «yopishqoq» uchlar birlashtiriladi va plazmidaga, masalan, pUC 19 plazmidasiga ulanadi. kDNK fragmentlarini ko'paytirish uchun

rekombinant DNK *E.coliga* kiritiladi. SHu kabi sxemalar ishlab chiqarilishi sanoat asosiga qo'yilgan. Insulin, o'sish gormoni, interferon, albumin, immunoglobulinlar, qator boshqa oqsillar genlarini olishda foydalaniladi.

Mazkur oqsilni kodirlovchi aynan shu gen olingani xaqida ishonch xosil qilishning bir nechta usullari mavjud. Agar gen tomonidan kodirlangan oqsilning aminokislotalar tartibi ma'lum bo'lsa, unda klonlangan DNKning nukleotid izchilligini aniqlab, uning aynan shu oqsilni kodirlashiga ishonch xosil qilish mumkin. (1.3.rasmga qaralsin).

Ba'zi xollarda DNK-RNK duragaylash usuli ham qo'llaniladi. buni amalga oshirish uchun individual mRNK ajratilgan bo'lishi kerak (1.10-rasm). kDNK molekulalari denaturatsiyalanadi (DNK iplari bir-birlaridan ajraladi) va radioaktiv nishonlangan mRNK bilan aralashtiriladi. Renaturatsiya sharoitida (qo'sh spiralning qayta tiklanish jarayoni, DNK va unga komplementar RNK zanjiri orasida ham xosil bo'lishi mumkin) DNK-RNK duragay molekulalari xosil bo'ladi. S_1 nukleazadan foydalanib, ularning to'liq komplementarligiga ishonch xosil qilish mumkin. Agar kDNK RNKga to'liq komplementar bo'lmasa, unda duragay molekulada juftlashmagan bir zanjirli uchastkalari bo'ladi, ularni S_1 nukleaza fermenti yordamida gidrolizlash orqali yo'qotish mumkin.

Agar kDNK vektor molekula tarkibida ekspressiyalanishga qodir bo'lsa, unda mRNK sintezi amalga oshadi, so'ngra mRNKdan oqsil sintez bo'ladi, genni uning mahsuloti bo'yicha oqsilni aniqlash immunokimyoviy usul yordamida identifikatsiya qilish mumkin. SHunday tarzda bu usullarning birini qo'llab aynan zarur gen olinganini isbotlash mumkin.



1.10-rasm. Filtrlarda DNK-RNK duragaylash yordamida kDNKni tutuvchi plazmidalar identifikatsiyasi

kDNK bibliotekasini yaratish. Biz yuqorida individual mRNK ajratish imkoniyatini yuqorida ko'rib chiqdik. Demak bu amalga oshishi uchun gen muayyan hujayra va to'qimalarda tanlab faol bo'lishi kerak. Bunday xollarda mRNK ning aralash populyasiyalarida teskari transkripsiya reaksiyasi o'tkaziladi va natijada barcha tipdagi mRNKlar teskari transkriptlari aralashmasini aks ettiruvchi kDNK olinadi. So'ngra odatda kDNK bankini yaratish usuliga o'tiladi. Buning uchun kDNK molekulalari vektor molekular bilan birlashtiriladi va ular bakteriya hujayralariga transformatsiyalanadi. Lekin tajribalar shunday o'tkazilishi kerakki, xar bir bakteriya hujayrasi bir dona rekombinant plazmidaga ega bo'lishi va shunga asosan faqat bir xil turdagi kDNK tutishi zarur. Xar biri o'zining tarkibida kDNK tutuvchi vektor plazmidalar yig'indisi *kDNK bibliotekasi* deb ataladi. Demak, kDNK bibliotekasi genom bibliotekasidan farqli, genomning butun izchilliklari va genlarini o'zida tutmaydi, faqat bu organizmda ekspressiyalanuvchi qisminigina namoyon qiladi. Bunday xollarda kDNK genning promotor va intron qismlarisiz faqat struktura qismini aks ettiradi.

Faqat bargdan yoki ildizdan mRNK ajratib, ildiz yoki barg to'qimasining muayyan to'qimalarda bargda yoki ildizda ekspressiyalanuvchi genlarga xos bo'lgan spetsifik kDNKsini olish mumkin. SHu yo'l bilan o'simlik yoki hayvonlar kDNK bibliotekasi bilan birga alohida organlar va to'qimalar kDNK bibliotekasi (organ yoki to'qimaga xos kDNK bibliotekasi) yoki ontogeneznining turli jarayonlariga xarakterli kDNK bibliotekasini yaratish mumkin.

Bunday bibliotekalarni olish va tahlil qilish- to'qimaga xos genlarni ajratish va hujayra xamda to'qimalarning differensiyalanish jarayonlarini o'rganish, to'qima va organlarga xos metabolizmni, bu jarayonlarda ishtirok etuvchi genlarni aniqlash imkonini beradi.

Klonotekadan zarur genni identifikatsiya qilish. Bunday xollarda tadqiqotchilarning oldida minglab klonlar orasidan uni qiziqtiruvchi genni tutuvchi DNK fragmenti mavjud bo'lgan klonnni izlab topish vazifasi turadi. Hozirgi vaqtda bunday muammoni xal qilish uchun molekulyar zondlardan foydalaniladi. Zond- genning izchilligiga gomologik bo'lgan nuklein kislotaning nishonlangan molekulasini o'zida aks ettiradi. qidirilayotgan genni tutuvchi bakteriya koloniyasini aniqlash uchun radioaktiv nishonlangan individual mRNK yaxshi zond bo'lib xizmat qiladi. Ammo individual mRNKni xar doim ham ajratishga muvaffaq bo'lish qiyin. Ba'zida hujayrada qidirilayotgan gen mahsuloti (demak mRNKsi ham) juda kam miqdorda bo'ladi, yoki mRNK juda tez degradatsiyalanadi, shuning uchun mRNKni ajratish mumkin emas. Barqaror oqsil ishtirokida uning ba'zi qismining uncha ko'p bo'lmagan miqdorini ajratish va amnokislotalar tartibini aniqlash mumkin (buning uchun uzunligi 5-10 aminokislota qoldig'idan iborat oqsil qismini bilish etarli). Aminokislotalarning ma'lum izchilligi bo'yicha mRNKning shu uchastkasidagi aminokislotalar izchilligini kodirlovchi qanday nukleotidlar izchilligi bo'lishi mumkinligini aniqlash mumkin. So'ng radioaktiv nishonlangan alohida nukleotidlardan 30 juft nukleotidan kam bo'lmagan uzunlikdagi oligonukleotidlar kimyoviy sintezlanadi, ulardan bittasi qidirilayotgan gen uchastkasiga to'liq komplementar bo'ladi.

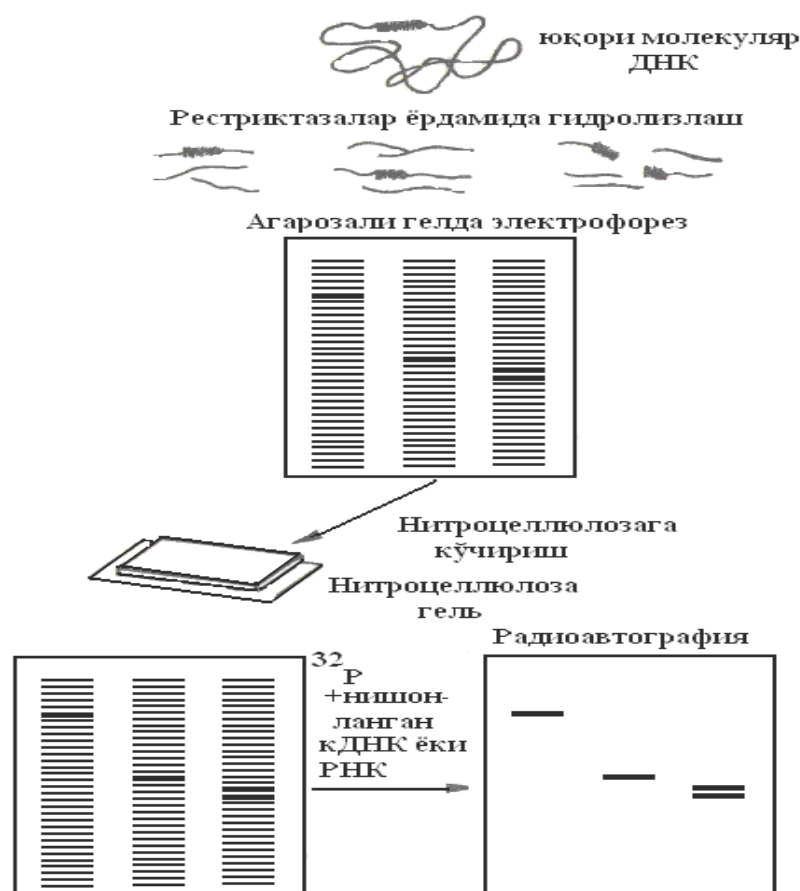
Bunday nukleotidlar kDNKga, so'ng genom bibliotekasidagi klonlarga mos keluvchi zond- namuna hisoblanadi.

Bibliotekalar skriningi. Radioaktiv nishonlangan zond olinganidan so'ng, zondga komplementar va tahlil qilinayotgan oqsilga mos izchillikga ega plazmida tutuvchi bakteriya koloniyalarini identifikatsiya qilish uchun, genom bibliotekasi yoki kDNK bibliotekasi ko'rib chiqiladi.

Bakteriya koloniyalari o'sayotgan Petri likobchasi ustiga maxsus neylon filtr yopiladi; xar bir koloniya hujayralarining bir qismi filtrga o'tadi, qolgan qismi likobchada qoladi. Natijada replika xosil bo'ladi: likobchada va filtrda koloniyalar bir xil taqsimlanadi. Neylon filtrga DNK mustaxkam o'rnashadi. Neylon filtrdagi bakteriyalarni lizis qilish va klonlarning DNKsini denaturatsiyalash uchun ishqor bilan ishlav beriladi. So'ng filtr nishonlangan zond (kDNK yoki mRNK yoki sun'iy oligonukleotid) solingan eritmaga joylashtiriladi. Duragaylanishda zond nishonlangan zondga komplementar izchilliklar tutuvchi koloniyalar bilan bog'lanadi; filtr zond molekulalari bilan bog'lanmagan hujayralardan yuvish orqali tozalanadi va radioaktiv nishon tutuvchi koloniyalarni aniqlash uchun radioavtografiya qilinadi. Bu koloniyalar Petri likobchasida identifikatsiyalanganidan so'ng, alohida olib ko'paytiriladi. SHunday qilib, genom bibliotekasi yoki kDNKning ko'p sonli klonlari orasidan tahlil qilinayotgan gen izchilligini tutuvchi klon aniqlanadi va keyingi ishlar butun genom bilan emas, faqat bitta gen (DNK fragmenti) bilan olib boriladi.

DNK tahlilining blot-duragaylash usuli nafaqat kDNK va genom bibliotekalari skriningida, shuningdek genom DNKsini tahlil qilishda ham foydalaniladi. SHu usul yordamida genomda muayyan DNK izchilligi ishtirokini aniqlash mumkin (masalan, transgen o'simliklar genomida begona gen ishtiroki, gen nusxalarining ko'payishi, genning nukleotid izchilligidagi o'zgarishlarni tahlil qilish mumkin). Blot-duragaylash usuli bilan DNKni tahlil qilish muayyan DNK fragmentlarining ularni spetsifik nishonlangan zondlar bilan duragaylash yo'li orqali aniqlashga asoslangan. U quyidagi bosqichlardan iborat: 1) DNK restriksiyasi; 2)restriksiyalangan DNK fragmentlarini geldan neylon filtrga

ko'chirish va ularni immobilizatsiyalash; 3) nishonlangan zond bilan duragaylash. YUqori molekulyar xromosoma DNKsi bitta yoki bir nechta restriktazalar bilan kesiladi. Xosil bo'lgan fragmentlar agarozali gelda elektroforez qilish orqali ajratiladi va oldindan denaturatsiyalangan (0,4 M NaOH) gelning ustiga neylon filtr, uning ustidan filtr qog'ozlar qo'yiladi. Kapillyar kuchlar ta'sirida DNK fragmentlari perpendikulyar ravishda filtrga o'tib, u bilan bog'lanadi (immobilizatsiyalanadi). Bunday ko'chirish blotting (blot –so'rish) deb ataladi. Bunda filtrda gelning replikasi xosil bo'ladi. So'ng filtr radoaktiv nishonlangan bir zanjirli zond solingan eritmaga joylashtirilganda filtrga birikkan xromosoma DNKsi fragmentlari bilan qo'shilib duragaylanadi. Zond faqat o'ziga gomologik DNK izchilligi tutuvchi fragmentlar bilan duragaylanadi. Nishon bilan bog'langan fragmentlar radioavtografiya orqali aniqlanadi. 1.11-rasmda Sauzern (Southern blotting) bo'yicha blot-duragaylashning sxemasi berilgan.



1.11-rasm. Sauzern bo'yicha blot-duragaylash usuli prinsipi.

Radioavtografiyada xosil bo'lgan chiziqchalar orqali genomda tahlil qilinayotgan fragmentlar mavjudligini, bu izchilliklardagi o'zgarishlarni (deletsiya, insersiya), chiziqchalarning och yoki to'q rangi orqali genning genomdagi nusxalari sonini aniqlash mumkin. Demak, bu usul butun genom va alohida genlarni tahlil qilish uchun ham qo'llaniladi.

Shunday usulda mRNK ni (Northern blotting usulida) xam immobilizatsiya qilib, tahlil qilish mumkin.

Demak, usullarni birgalikda qo'llash orqali ko'pchilik genlarni, ularning mahsulotlari oqsillarini juda kam miqdorda bo'lsa ham ajratish mumkin. Bu genlar kelajakda gen muxandisligi ishlari uchun ob'ekt bo'lib xizmat qilishi mumkin.

O'SIMLIKLAR VA MIKROORGANIZMLAR GEN INJENERIYASI**Reja:**

1. O'simliklarning genetik muhandisligi
2. Genni tanlash va uni klonlash.
3. Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi.
4. Transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlash.
5. Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi
6. Ti – plazmidalar asosida transformatsiya qilish uchun vektorlar.

O'simliklarning bitta hujayrasidan yaxlit o'simlik olish mumkinligi, ya'ni totipotentlik xususiyati hayvonlar hujayralariga nisbatan ularning eng muhim afzalligi hisoblanadi. O'simliklar gen muhandisligidagi natijalar o'simlik to'qimalari kulturasi usullari, ayniqsa, turli xil o'simliklarni regeneratsiya qilish uslublarini ishlab chiqishga bog'liq bo'ladi.

Gen muhandisligi texnologiyasi transgen o'simlik olishning quyidagi bosqichlarini o'z ichiga oladi: 1) genni tanlash va uni klonlash; 2) retsipient - o'simlik genotipini tanlash; 3) genni kiritish va uning retsipient – o'simlik genomiga ekspressiyasi; 4) transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlash.

Genni tanlash va uni klonlash.

Genni tanlash, o'simlikka ho'jalik ahamiyati qimmatli ma'lum bir belgini o'tkazish zaruriyatidan kelib chiqadi. Hozirgi vaqtda, asosan, o'simliklar transformatsiyasi uchun monogen belgilar, ya'ni, pestitsidlarga chidamlilik, yoki boshqa xil stress omillarga chidamlilikni belgilovchi genlar keng qo'llaniladi. Bu belgilarga javobgar genlarning ko'pchiligi bakteriya genomlaridan ajratib olingan. Keyingi vaqtlarda chidamlilik belgilariga javobgar donor sifatida yovvoyi o'simlik turlari genamlari tanlanmoqda. Turli xil tur, avlod va hatto oilalarga mansub o'simliklarning biologik jihatdan bir-biriga mos kelmasligi sababli bunday genlarni retsipient o'simliklar genomiga jinsiy gibridizatsiya usuli orqaligina kiritish mumkin emas. Hal etilishi yanada murakkab muammo bir guruh sifat belgilari: urug' sifati, qurg'oqchilik, yuqori va past haroratga chidamlilik belgilarini ajratib olish hisoblanadi.

Retsipient o'simlik genotipini tanlash. Retsipient sifatida ishlab chiqarish amaliyoti talablariga hosildorligi, urug' - mevasi sifati, biotik va abiotik stresslarga chidamliligi bilan javob bera oladigan, lekin faqat birgina salbiy belgi, masalan, zararkunanda hasharotga chidamsiz nav yoki liniyalar tanlab olinadi. Bunday o'simliklar genomiga hasharotlarni nobud qiluvchi prototoksin oqsili ekspressiyasini ta'minlovchi *vt2* bakteriya genini kiritish tanlab olingan navda hosildorlikni sezilarli oshishiga sabab bo'ladi. Shuningdek, retsipient o'simlik genotipini tanlashda hujayralarning yaxlit (fertil) etuk o'simlikka qadar regeneratsiya qilish xususiyati ham inobatga olinadi, chunki bu belgi genotipga ham bir qadar bog'liqdir.

Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi.

O'simliklar genomiga begona genlarni ko'chirib o'tkazish muammosi begona genlarni ikki pallali va ba'zi bir pallali o'simliklar genomiga ko'chirib o'tkazish imkonini beruvchi tuproq agrobakteriyalari *Agrobacterium tumefaciens* tarkibidagi Ti – plazmidlarining aniqlanishi bilan birmuncha engillashdi. So'nggi vaqtlarda o'simlik hujayralari transformatsiyasida bioballistik transformatsiya usuli, ayniqsa, bir pallali o'simliklar uchun keng qo'llanilmoqda. Begona genni retsipient o'simlik genomiga ekspressiyasini amalga oshirish va avlodlarda belgining nasldan – naslga turg'un o'tishini ta'minlash muhim masala hisoblanadi. Kiritilgan genni ekspressiya bo'lishi bir qator sabablar: genni o'simlik genomiga integratsiya bo'lgan joyi, promotor qismining metillanish izchilligi, kiritilgan genning xususiyatlari va h.k. larga bog'liq.

Transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlash. Transformant hujayralardan etuk o'simlikni regeneratsiya bo'lishi hujayralar totipotentligiga bog'liq, ammo bu har doim ham amalga oshavermaydi. Totipotentlik belgisi ikki pallali o'simliklar: tamaki, kartoshka, lavlagi, soya, raps, beda, pomidor, sabzi, karam va ba'zi mevali daraxtlarda yaqqol ifodalangan. Bir pallalilar, ayniqsa, boshoqdoshlarda bu belgi kuchsiz ifodalangan bo'lib, ularda hujayradan etuk o'simlikni regeneratsiyasi jarayoni juda qiyinchiliklar bilan kechadi. Hozirgi vaqtda

g'alla ekinlariga mansub ba'zi o'simliklar makkajo'xori, sholi, bug'doy, suli kabilarni regeneratsiya qilish usullari ishlab chiqilgan.

Shuni qayd etish lozimki, ko'plab o'simliklarni regeneratsiya qilish bo'yicha yildan yilga bir qator takomillashtirilgan usullar ishlab chiqilmoqda va rivojlantirilmoqda.

Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi

Transgen o'simliklar olishdagi asosiy muammolardan biri o'simliklar xromosomasiga begona genlarni kiritish ya'ni, o'simlik hujayralari transformatsiyasi hisoblandi. Bu borada tuproq agrobakteriyalari Ti – plazmidalaridan o'simliklar transformatsiyasi tabiiy tizimida foydalanish imkoniyatining kashf etilishi muhim turtki bo'ldi.

Ba'zi tuproq bakteriyalari turlari (Agrobacteria)ning ikki pallali o'simliklarni zararlashi va bunda o'ziga xos shish – gardishsimon bo'rtma hosil qilishi oldindan ma'lum edi. Bu shishlar zararlangan joyda muntazam ravishda bo'linib o'sadigan dedifferensiallashgan hujayralardan tashkil topgan. In vitro sharoitida o'stirilganda shish hujayralari normal o'simlik hujayralari o'sishi uchun zarur gormonlar uchramaydigan muhitda ham o'sa oladilar. Agar zararlantirilgandan so'ng barcha agrobakteriyalarni antibiotiklar qo'shib inaktivatsiya qilinsa ham shish hujayralari tartibsiz (nazorat qilinmaydigan) bo'linish xususiyatini saqlab qoladilar. SHunday qilib, agrobakteriyalar faqat shish hosil bo'lishini indutsirlash uchungina zarurdir. SHish hujayralari o'simlikka xos bo'lmagan aminokislotalar – opinlar (arginin hosilalari)ni sintezlay boshlaydi, ular agrobakteriyalar tomonidan azot va uglerod manbai sifatida foydalaniladi. Agrobakteriyalar bilan zararlangan o'simlikda, transformant o'simlik hujayralari metabolizmi qayta quriladi va ular faqat bakteriyalar uchun zarur bo'lgan birikmalar sintezini boshlaydi.

Shish hosil qiluvchi kuchli induktorlardan biri Agrobacterium tumefaciens misolida shish chaqiruvchi vosita Ti – plazmida deb nomlangan (ingliz tilidan Tumor inducing – shish chaqiruvchi) maxsus plazmida bo'lib, uning bir qismi o'simlik hujayrasi xromosomasiga o'rnashib olishi aniqlangan

Ti – plazmida uzunligi 200 m.n.j (ming nukleotid juft) dan iborat halqasimon DNK dan tashkil topgan. U bakteriya hujayralarida avtonom replikatsiya bo'la olish xususiyatiga ega. Ti – plazmidalarni ular sintezlaydigan opinlar tipiga ko'ra 4 ta guruhga bo'lishi mumkin. Ko'pincha nopalin yoki oktopin aminokislotalarini kodirlaydigan Ti – plazmidalar uchraydi. Agrobakteriya hujayrasi plazmidalarning faqat biri oktopin yoki nopalin kodirlaydigan tipini saqlashi mumkin.

Genetik tadqiqotlarning ko'rsatishicha, barcha Ti – plazmidalar o'xshash tuzilishga va ikki xil: 1) agrobakteriyaning o'zini metabolizmi uchun zarur (opinlar katabolizmi genlari, plazmidalar replikatsiyasi boshlang'ich nuqtasi va h.k.); 2) o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun zarur bo'lgan guruhga mansub ketma-ketliklarga ega guruhlariga bo'lish mumkin. Bunda shuni alohida qayd etish lozimki, birinchi guruh genlari promotorining prokariot tipiga ega va faqat bakteriya hujayrasidagina faoliyat yurita oladi, ikkinchi guruh genlari esa o'simlik hujayrasida ham ishlay oladi. Ikkinchi guruhga shish hosil bo'lishi va opinlar sintezi uchun javobgar genlar kiradi

O'simlikni agrobakteriyalar bilan zararlanishi natijasidagi transformatsiyasi quyidagicha kechadi. Aniqlanishicha, agrobakteriya ham, Ti – plazmida ham o'simlik hujayrasi ichiga kirmaydi, lekin Ti – plazmidaning bir qismi o'simlik hujayrasi yadrosiga o'tib, o'simlik genomiga joylashib olishi mumkin Ti – plazmidaning bu fragmenti T-DNK (ingliz tilidan transforming DNA – transformatsiyalanuvchi DNK) deb nomlanadi. T-DNK ning uzunligi 25 m.n.j. T-DNK oxirlarida uni plazmida tarkibidan qirqish va o'simlik genomiga integratsiyasi uchun zarur to'g'ri ketma-ketliklar (25 m.n.j) joylashgan. T-DNK ettita gen: opinlardan birini kodirlaydigan *nos* geni (nopalinsintetaza) yoki *ocs* (ontopintetaza)], shuningdek, shish hosil bo'lish belgilarini kodirlaydigan oltita gen, ulardan ikkitasi auksin sintezi, bittasi sitokinin sintezini kodirlaydigan genlarni tutadi. Bu genlar ekspressiyasi natijasida hujayralarning gormonal statusi o'zgaradi, bu esa ularning dedifferensiallashuvi va shish hosil bo'lishiga olib keladi.

Agrobakteriyalar yordamida o'simliklar transformatsiyasi amalga oshirilishi uchun uchta shart bajarilishi lozim:

- bakteriya hujayrasi yuzasida bakteriyaning o'simlik hujayrasi bilan birikishi uchun zarur maxsus polisaxaridlar sintezini amalga oshiruvchi to'rtta genni agrobakteriyalar xromosomasidagi faollashuvi;

- Ti – plazmidaning vir –hududi, ya'ni DNK ning o'simlik hujayrasi yadrosiga ko'chirib o'tkazilishi initsiatsiyasi uchun zarur qismining faollashuvi;

- T-DNK ning mavjud bo'lishi.

O'simliklar transformatsiyasi jarayoni agrobakteriyaning o'simlik hujayrasiga jarohatlangan qism orqali kirib borib birikishidan boshlanadi. Jarohatlanganda o'simlik hujayrasi tashqi muhitga maxsus fenolli birikma – atsetosirengon ajratib chiqaradi.

Shunday qilib, o'simlik hujayrasi transformatsiyasi amalga oshadi. Hozirgi vaqtda T-DNK ning ko'chirib o'tkazilishida ishtirok etadigan barcha oqsillar va mexanizmlar oxirigacha to'liq o'rganilmagan.

Ti – plazmidalar asosida transformatsiya qilish uchun vektorlar. Ti – plazmidaning nodir biologik xususiyatlari uni genlarni ko'chirib o'tkazishdagi ideal tabiiy vektorga aylantiradi. Ti – plazmidasi ho'jayinlarning keng spektriga ega, u T-DNK ni o'simlik xromosomasiga o'tkazadi, u erda T-DNK replikatsiyasi amalga oshadi va uning genlari oqsil hosil qilish bilan translyasiya bo'ladi. T-DNK chegaralari uzunligi 25 nukleotid juftliklardan iborat takrorlanuvchi to'g'ri ketma-ketliklardan iborat bo'lib, bu ketma-ketliklar oralig'iga ulangan har qanday begona DNK bo'lagi o'simlik hujayrasiga o'ta oladi. Biroq Ti – plazmidasi bilan ishlash uning katta o'lchamdaligi sababli qiyinchilik tug'diradi, an'anaviy usullarni qo'llab, genni plazmidaga ulab bo'lmaydi. SHuning uchun Ti – plazmida gen muhandisligi usullari yordamida modifikatsiya qilinib, uning asosida o'simliklar transformatsiyasi uchun vektorlar olingan (2.4 - rasm).

Bundan tashqari, shuni qayd etish lozimki, o'simliklarni tabiiy Ti – plazmidasi bilan transformatsiyasi natijasida, transformant hujayralar regeneratsiya bo'la olmaydi, chunki ularda shish hosil bo'lish belgilarini kodirlaydigan T-DNK hududining oltita geni faolligi sababli differensiallanish xususiyati to'xtatilgan bo'ladi. Agar differensiallashuvni blokirlaydigan genlar ketma-ketligini T-DNK dan

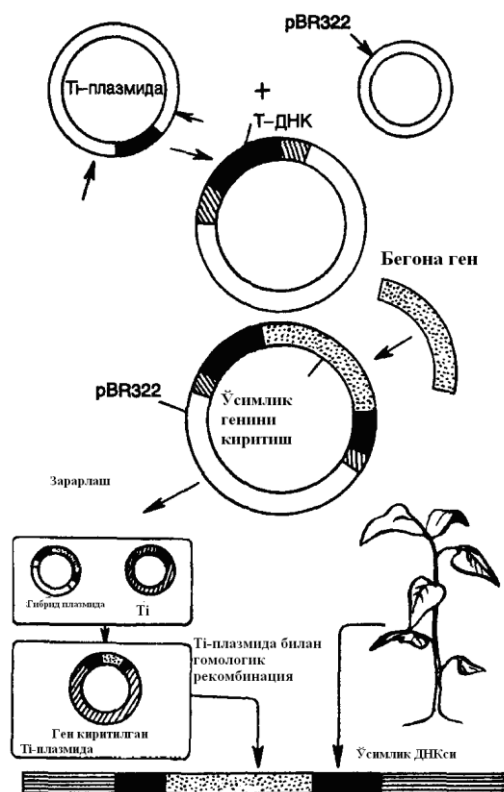
qirqib olib tashlansa, transformant hujayralar regeneratsiya qilish xususiyatini tiklaydi. SHuning uchun Ti – plazmidalaridan foydalanishda shish hosil qilish va opinlar sintezi uchun javobgar genlar ketma-ketligi qirqib olib tashlanadi, T-DNK ning faqat o'simlik genomiga ko'chirib o'tkazish uchun zarur fragmenti (eng avvalo chap va o'ng chegara takroriy ketma-ketliklari) ni qoldiriladi. Keyin T-DNK hududiga o'simlik genomiga kiritilishi lozim bo'lgan begona genlar joylashtiriladi.

Kointegrativ vektorlar. Begona DNK ni o'simlik genomiga kiritilishni osonlashtiruvchi usullardan biri kointegrativ vektorlardan foydalanish bo'lib hisoblanadi. Bu yo'nalishning mohiyati quyidagicha (2.5 a- rasm). Begona genni o'simlik genomiga ko'chirib o'tkazishdagi barcha jarayonlarni 2 bosqichga bo'linadi: o'simlik genomiga kiritilishi lozim genni klonlash va o'simlik hujayrasi genomi transformatsiyasini amalga oshirish. Bu ikkala bosqich turli xil vektorlar yordamida amalga oshiriladi.

Kerakli genni klonlash uchun yordamchi (oraliq) vektor sifatida *E. coli* asosidagi plazmidalardan foydalaniladi. Ularga T-DNK ning chegaralangan T-DNK ketma-ketliklari fragmenti va selektiv (odatda, antibiotiklar kanamitsin, gigromitsin yoki gerbitsidga) chidamlilik belgisini kodiraydigan geni joylashtiriladi, bu esa kelgusida transgen o'simliklarni tanlashni amalga oshirish imkonini beradi. Bunday vektor kichik hajmga ega, undan T-DNK hududiga kerakli gen ketma – ketligini ulab, klonlash maqsadida foydalaniladi.

Kon'yugatsiya yo'li bilan bunday oraliq vektorni o'simlik genomiga T-DNK qismining integratsiyasi uchun zarur bo'lgan genlarni saqlaydigan boshqa vektorga ega maxsus *Agrobacterium tumefaciens* shtammi hujayralariga ko'chirib o'tkaziladi. Bu vektor muayyan o'lchamga ega va u Ti – plazmidaning *vir*-hududi, T-DNK ning chegaralangan ketma-ketliklariga ega va oraliq vektorlarga analogik rVR322 plazmidasi fragmentlaridan tashkil topgan. Kon'yugatsiyadan so'ng ikkala vektorning gomologik qismlari o'rtasida rekombinatsiya amalga oshadi, buning natijasida oraliq vektorning kerakli gen va selektiv marker tutuvchi qismi *vir*- hududi va T-DNK ning chegaralangan ketma-ketliklari bilan birga ikkinchi vektorga ko'chirib o'tkaziladi. SHunday qilib, ikkita plazmida o'rtasidagi rekombinatsiya natijasida

kointegrativ vektor olinadi (2.5. b-rasm). Bunday kointegrativ vektorga ega agrobakteriya hujayralari selektiv oziqa muhitlarida tanlab olinadi va kelgusida o'simliklar transformatsiyasi uchun qo'llaniladi.



2.5 a-rasm. Ti-plazmidadan o'simlik hujayralariga genlarni ko'chirib o'tkazishda vektor sifatida foydalanish.

Бинар векторлар. Begona DNK ni ko'chirib o'tkazishning boshqa xil birmuncha sodda, keng qo'llaniladigan uslublaridan biri binar vektorlardan foydalanish hisoblanadi. Ilgari qayd etilganidek, agrobakteriyalar bilan o'simlik hujayrasini zararlantirish va javobgar *vir* –hududi transformatsiyani amalga oshirish uchun DNK ni ko'chirib o'tkazish va T-DNK rayonini chegaralovchi to'g'ri takroriy ketma-ketliklar zarurdir. Bundan tashqari *vir* hududi va DNK ning chegaralovchi takroriy ketma-ketliklari bitta plazmida tarkibida joylashgan bo'lishi muhimdir. Binar vektorlar tizimi shunga asoslanganki, o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan agrobakteriya hujayrasida bir vaqtning o'zida ikkita plazmida joylashgan bo'ladi. Ulardan biri T-DNK ning chegaralangan qismlar ketma-ketliklariga ega bo'lsa, ikkinchisi *vir* hududiga ega bo'ladi. Ikkala plazmida ham mustaqil replikatsiya bo'la oladi, lekin alohida holda o'simliklar transformatsiyasiga

sabab bo'la olmaydi. Bunda T-DNK tutuvchi plazmada o'z tarkibida E.coli plazmidasi fragmentlari (jumladan, replikatsiyaning boshlang'ich nuqtasini) tutadi, bu esa E. coli hujayralarida klonlash bo'yicha barcha manipulyasiyalarni amalga oshirish va barcha jarayonlar (soddalashtirish) ni osonlashtirish imkonini beradi. Kointegrativ vektorga analogik holda kerakli (maqsadli) gen va selektiv marker geni T-DNK hududiga ulanadi, shundan so'ng bunday rekombinant plazmada *vir*-hududiga ega boshqa plazmada saqlovchi agrobakteriyalar hujayrasiga kiritiladi. Kointegrativ vektorlardan farqli o'laroq, ikkala plazmidalar o'rtasida gomologik rekombinatsiya ro'y bermaydi va ular yagona vektor molekulasiga aylanmaydi. Bitta plazmidaning *vir*- genlari bilan ekspressiyalanuvchi oqsillarni qirqib, boshqa plazmidaning begona genlar bilan birga T-DNK hududini o'simlik genomiga joylashtiriladi. Hozirgi vaqtda bunday binar vektorlar o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun eng ko'p qo'llaniladi.

Ri – plazmidasi asosida o'simliklar transformatsiyasi. A. tumefaciensning Ti- plazmidalaridan tashqari A. rhizogenes agrobakteriyasidan ajratib olingan Ri plazmidalari (ingliz tilidan Root inducing – ortiqcha ildiz hosil bo'lishini indutsirlovchilar) ham o'simlik hujayrasiga transformatsiya bo'lish xususiyatiga ega. Ri plazmidalar ham ildiz hosil bo'lishini kuchaytirib, Ti – plazmidalar kabi opinlar sinteziga sabab bo'ladi. Biroq Ri plazmidalar Ti – plazmidalardan farqli o'laroq, onkogen emas, transformatsiyadan so'ng o'simlik hujayralari sog'lom, serhosildor o'simliklarni regeneratsiya qilish xususiyatiga ega bo'ladi. Hozirgi vaqtda Ri-plazmidalari asosida ham o'simliklar gen muhandisligi uchun ko'plab vektorlar olingan.

DNK saqlovchi viruslar asosidagi o'simlik vektorlari. Ko'pchilik fitoviruslar genetik axborot tashuvchi sifatida RNK tutadilar. O'simliklarni zararlovchi viruslarning faqat 1-2 % igina DNK saqlovchi bo'ladi. Aynan ular rekombinant DNK olish texnologiyasida qo'llash uchun juda qulay va o'simliklarga genlarni ko'chirib o'tkazuvchi vektorlar uchun asosiy vositalar hisoblanadi. Bu borada karamguldoshlar oilasiga mansub o'simliklarni zararlaydigan gulkaramning CaMV (cauliflower mosaic virus) mozaika virusi eng istiqbolli bo'lib hisoblanadi. Bu

virus qismlari diametri 50 nm atrofida bo'lib, 8000 j.n. uzunlikdagi halqasimon DNK tutadi. CaMV genomining katta bo'lmagan hajmi bilan xuddi bakteriya plazmidasi singari virus DNK si bilan in vitro sharoitida ishlash imkoni mavjud va uni o'simlik bargiga ishqalash orqali kiritish mumkin. Oz miqdordagi hujayralarni zararlantirish yaxlit o'simlikni zararlantirishga olib keladi, chunki virus hujayradan – hujayraga o'tib tez tarqaladi. Bitta o'simlikni zararlash uchun 1- 5 mkg DNK qo'llanilganda, agrobakteriyalar bilan zararlantirishga nisbatan bir muncha yuqori, deyarli 100 % ga etadigan samaradorlikka erishiladi.

Viruslar asosidagi vektor tizimlarning afzalliklariga quyidagilar: genomining kichik o'lchami (bu virus DNKsi bilan oson ishlashni ta'minlaydi); zararlangan o'simlik hujayralarida virus DNK si nusxalarining ko'pligi (bir hujayraga 50000 gacha); begona genlar ekspressiyasi samaradorligini ta'minlaydigan kuchli promotorlarning mavjudligini kiritish mumkin.

Ushbu vektorning kamchiligi sifatida uning kichik hajmdaligi (800-1000 j.n.) va faqat chegaralangan o'simliklar – karamguldoshlarnigina zararlay olishini ko'rsatib o'tish joiz.

Ko'chib yuruvchi genetik elementlar (transpozonlar) asosidagi vektorlar.

90-yillarda o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun o'ziga xos tuzilishiga ega va genom bo'ylab transpozitsiya bo'la oladigan DNK ketma-ketliklardan iborat ko'chib yuruvchi genetik elementlar asosidagi vektorlardan foydalanila boshlandi. Boshqa xil vektor konstruksiyalarga nisbatan qiyoslaganda bunday vektorlarni qo'llash qanday afzalliklarga ega? Mazkur usulning mohiyati shundaki, ko'chib yuruvchi genetik elementlar o'simlik xromosomasiga birlamchi integratsiyasidan so'ng qirqish va ketma-ket joylanish yo'li bilan genom bo'ylab o'rnamashib oladi. O'simliklar uchun As/Ds vektorlar tizimi keng qo'llaniladi.

Ac (Activator) – 1940 yillarning o'rtalarida makkajo'xori genomi maxsus uchastkalarida xromosomada uzilish va genomning maxsus uchastkalarida ksinillik holatini chaqirish xususiyatiga ko'ra, birinchi marta genetik usullar yordamida Barbara Mak Klinton tomonidan identifikatsiya qilingan. As- elementi genom

bo'ylab faol transpozitsiya bo'lish xususiyatiga ega ko'chib yuruvchi genetik elementlar guruhiga kiritiladi.

Transpozonlarning bu oilasiga birlamchi strukturasi jihatidan As- elementiga qardosh bo'lgan, biroq ichki rayonlaridagi deletsialari tufayli genomga mustaqil joylasha olmaydigan Ds – elementlari geterogen guruhi ham kiritiladi, bunda transpozitsiyalar ehtimoli faqat As – elementi maxsus oqsili transpozozaza ishtirokida amalga oshadi.

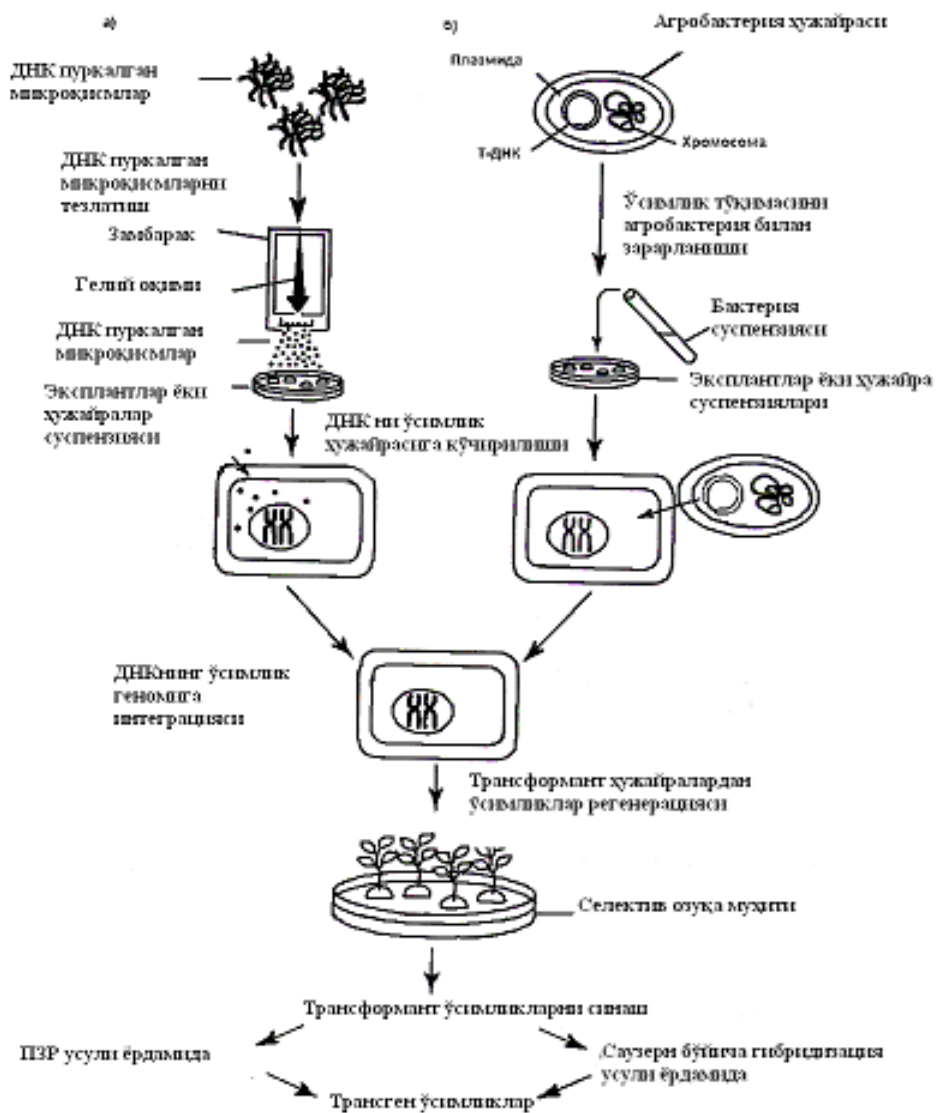
Aniqlanishicha, As–elementi makkajo'xori o'simligidan tashqari boshqa xil o'simliklar: arabidopsis, sabzi, kartoshka, pomidor, sholi va h.k. genomlarida ham faol bo'lishi mumkin ekan. Arabidopsis o'simligi genomida As–elementi transpozitsiyasi qonuniyatlarini tadqiq qilish bo'yicha tajriba natijalarining ko'rsatishicha, As- ko'chib yuruvchi elementi asosidagi konstruksiyalardan *nishonlangan transpozitsiyalar tizimini* olishda foydalanish mumkin, shuningdek, *qopqon (enhances trap lines) nomli genlar liniyalarini* yaratish yangi genlar, jumladan to'qimaga xos ekspressiya, ya'ni, ma'lum bir to'qimalarda transkripsiya va translyasiyaga uchraydigan genlar guruhini identifikatsiya qilish imkonini beradi. SHunday qilib, muayyan to'qimalarga xos bo'lgan, masalan, ildiz, murtak xaltasi va h.k. to'qimalariga xos genlar va oqsillarni identifikatsiya qilish (va kelgusida amaliyotda qo'llash) mumkin. Bunday vektorlarda reporter genlarni qo'llash transpozonli konstruksiyalardagi integratsiyaning yangi saytlarni belgilash va insersiya joylarini aniqlash imkonini beradi. Ular funksional genlarning ketma-ketligi atrofi yoki bevosita o'ziga o'tib olib, uning keyingi klonlanishi va sekvens qilinishiga sharoit yaratadi, shuning uchun bunday tipdagi plazmida- vektorlarni - gen tutgich (qopqon) deb ataladi.

O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari

Ikki pallali transgen o'simliklar olishda eng keng tarqalgan usullardan biri agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli hisoblanadi. U o'simlik eksplantlarini T-DNK hududiga begona gen joylashtirilgan vektor konstruksiyaga ega agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga asoslangan. Uning keng tarqalganligining sababi, transformatsiyani amalga oshirishning birmuncha soddaligi

transgen o'simliklarni ajratib olishda yuqori (o'simlik turiga qarab, 10-60 %) samaradorligi bilan izohlanadi.

Dastlabki material uchun vektor (binar, koingegrativ yoki muayyan transformatsiya turi uchun yaroqli boshqa biror) konstruksiyaga ega bo'lgan agrobakteriya shtammi bo'lishi lozim. Vektor o'simlik genomiga kiritilishi lozim bo'lgan gen ketma-ketligiga ega bo'lishi kerak. Genning kelib chiqishi (prokariot yoki eukariot) transformatsiya uchun ahamiyatsizdir, lekin u o'simlik hujayrasiga ekspressiya bo'la oladigan promotor nazorati ostida bo'lishi lozim. Fuksional gendan tashqari, vektor, albatta, transformatsiyaning selektiv nishon belgisini saqlashi shart. Bunday nishon belgi sifatida antibiotiklar: kanamitsin (*npt*-geni), gigromitsin (*npt*-geni) va yoki gerbitsidlar xlorosulforon (*ALS*-geni), fosfinotritsin (*bar*-geni) (BASTA) ga chidamlilik belgisini yuzaga chiqaradigan genlar ishlatiladi. Bundan tashqari, retsipient – o'simlik navlarini tanlab olish lozim. Transformatsiya uchun eksplant sifatida steril o'simlik barg plastinkalari olinadi. Biroq buning uchun yosh ildizlar (arabidopsisda), gipokotil (pomidorda), urug'palla (pomidor, baqlajonda), bo'g'im oralig'i (kartoshkada) ham ishlatilishi mumkin.



2.9. rasm – Transgen o'simliklarni olish sxemasi.

a)-bioballistikalar usuli; b)-agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya

Eksplantlarni vektor konstruksiyali agrobakteriyalar saqlovchi suyuq muhitida inokulyasiya qilinadi. Inokulyasiya qilish muddati har bir tur o'simlik uchun alohida tanlab olinadi. Bunda eksplantning jarohatlangan yuzasida hujayralarning zararlanishi boshlanib, kokultivatsiyadan so'ng 24 – 48 soat o'tgach, T-DNK bo'lagini begona (tanlab olingan) gen bilan birga o'simlik genomiga joylashishi sodir bo'ladi. SHundan so'ng, eksplantlarni antibiotiklar (karbenitsillin yoki sefotaksim) saqlovchi oziqa muhitiga o'tkaziladi, bu agrobakteriya hujayralarning tanlab nobud bo'lishiga sabab bo'ladi. Bundan tashqari, oziqa muhitiga kerakli (to'g'ridan-to'g'ri

regeneratsiya yoki kallus hosil bo'lishi uchun) fitogormonlar va transformant hujayralarni selektiv tanlab olish uchun antibiotiklar, gerbitsid qo'shiladi. Antibiotik yoki gerbitsidga chidamlilik genlarining ekspressiyasini amalga oshiruvchi ega transgen o'simliklar selektiv agent qo'shilgan muhitda o'sa olsa, transgen bo'lmagan o'simliklar bunday muhitda nobud bo'ladi. 2-5 haftadan so'ng transformant eksplantlardan poyalar o'sib chiqa boshlaydi, ularni ajratib olinadi yoki keyingi qo'shimcha molekulyar tahlillar uchun tuproqqa ko'chirib o'tkaziladi (2.9. a – rasm).

Protoplastlar shu yo'sinda transformatsiya qilinadi, lekin bu usuldagi transformatsiya protoplastlarning o'zida regeneratsiya qilish qobiliyati sustligi uchun kam samara beradi.

Agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli orqali hozirgi kunga qadar deyarli barcha ikki pallali qishloq ho'jalik ekinlaridan transgen o'simliklar olingan. Bu usul ba'zi bir pallalilar (bug'doy, makkajo'xori, sholi)da ham o'z ifodasini topgan.

O'simliklarga genlarni to'g'ridan - to'g'ri ko'chirib o'tkazish. O'simlik hujayralariga genlarni to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazishda o'simlik protoplastlarining transformatsiyasi keng qo'llaniladi. O'simlik hujayra devoriga fermentlar (sellyulaza, pektinaza) bilan ishlov berilganda hujayra devori emirilib, faqat protoplast qoladi. DNK ishtirokida protoplastlarni to'g'ridan - to'g'ri transformatsiyalash usuli ishlab chiqilgan. Transformatsiyaning birmuncha yuqori samaradorligiga (10^{-2}) elektroporatsiya va polietilenlikol qo'shish usuli orqali erishish mumkin. Agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga nisbatan, to'g'ridan - to'g'ri ko'chirib o'tkazish usulining chastotasi kam bo'lsa-da, birmuncha afzalliklarga ega. Vektor maxsus biologik signallar va transformatsiya funksiyalari (T-DNK hududi bilan chegaralangan va *vir*-hududi) ga ega bo'lmasligi ham mumkin. Transformatsiya uchun deyarli har qanday begona gen tutuvchi DNK vektori qo'llanilishi mumkin. Bunda gibrid gen (faqat tegishli regulyator hududlar mavjud bulganida) hujayra rekombinatsiyasi mexanizmlaridan foydalanib, ayniqsa, protoplast yadrosiga to'g'ridan - to'g'ri in'eksiya qilishda o'simlik yadro DNKsiga integratsiya bo'ladi va ekspressiyalanadi.

Hozirgi vaqtda 140 dan ortiq o'simlik turlari vektor DNKsini protoplast hujayralariga turli usullar bilan ko'chirib o'tkazish orqali transformatsiya qilingan.

DNK mikroin'eksiyasi. Bir qator tajribalarning ko'rsatishicha, o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun hayvon hujayralaridagi mikroin'eksiyalar singari mikroin'eksiyalari usulini qo'llash mumkin. Bunda in'eksiya uchun protoplastlar olishda ularni polilizinli shishalarga yopishtirish usullari ishlab chiqilganligi qator texnik qiyinchiliklarni bartaraf etish imkoniyatini berdi (2.10-rasm).

Vektor tipiga bog'liq bo'lmagan holda o'simlik protoplastlari transformatsiyasi samaradorligi 10-15 % dan oshmaydi, u ikki pallali o'simliklar uchun ham bir pallalilar uchun ham bir xilda muvofiq keladi.

Elektroporatsiya. Bu usul yuqori impulsli kuchlanishlarning biomembranalar o'tkazuvchanligini qaytar darajada oshirishga asoslangan. O'simlik protoplastlari uchun elektroporatsiya muolajalari juda samarali hisoblanadi. Usulning mohiyati quyidagicha: DNK- vektorini saqlovchi yuqori konsentratsiyali eritmadagi o'simlik protoplastlariga yuqori voltli impuls (kuchlanish 200-350 V, impuls davomiyligi 54 ms) bilan ta'sir etiladi. Natijada DNK molekulalari hujayra membranasidagi poralar (teshikchalar) orqali yutiladi. Eritma aralashtirilgandan so'ng protoplastlarni regeneratsiya bo'lishi uchun etarli muhitga ekiladi. Ko'chirib o'tkazishning samarasi elektr shokidan so'ng 24-28 soat o'tgach aniqlanadi.

Liposomalarga joylashtirish. O'simlik protoplastlariga o'tkaziladigan ekzogen genetik materialni nuklein kislotalarni parchalaydigan nukleazalar ta'siridan himoya qilishda qo'llaniladigan usullardan biri liposomalarga joylashtirish usuli.

Liposomalar qobig'i fosfolipidlardan tashkil topgan sferik shakllar hisoblanadi. Ularni fosfolipidlarni suvli emulsiyalariga ultratovushlar bilan ishlov berish yoki qattiq chayqatish natijasida olish mumkin. Liposomalar yordamida o'simlik protoplastlariga tamaki mozaikasi virusi RNK si, *A.tumefaciens* bakteriyasi Ti – plazmidasi DNK si, shuningdek, butun metafaza davri xromosomalari kiritilgan. Liposomalar yordamida ko'chirib o'tkazish tizimlarning afzalliklari sifatida ularning hujayralarga nisbatan zaharliligining kamligi, liposomalarni parchalash xususiyatiga ega hujayralari bo'lgan ko'plab o'simliklarda ishlatish mumkinligini ko'rsatish

mumkin. Hozirgi vaqtga kelib, mazkur usul texnik jihatdan qiyinligi va transformatsiyalash faolligining nisbatan kam (0,5-1 %) ligi uchun tobora kam foydalanilmoqda.

Bioballistik transformatsiyalar usuli. Bioballistika usuli bugungi kunga kelib, bir pallalilar uchun eng samarali usullardan hisoblanadi, shuningdek uni ikki pallali o'simliklarda ham muvaffiqiyat bilan qo'llash mumkin. Transformatsiya uchun dastlabki material sifatida kulturalar suspenziyasi, kallus to'qimasi yoki bir pallalilarning etilmagan murtak o'simtalari olinadi.

Mazkur usulning mohiyati shundan iboratki, diametri 0,6-1,2 mkm bo'lgan volfram, oltin yoki platina bo'lakchalari transformatsiya uchun zarur gen konstruksiyalari saqllovchi DNK ustidan purkaladi. DNK tutuvchi volfram, platina yoki oltin bo'lakchalari sellofan qobiq bilan o'ralib, bioballistik zambarak ichiga joylashtiriladi. Kallus yoki hujayra suspenziyasi agarli oziqa muhiti solingan Petri likopchasiga o'tkaziladi va bioballistik zambarak ro'parasiga 10-15 sm masofada joylashtiriladi. Zambarakdagi bosim vakuum nasos bilan 1,0 atm gacha tushiriladi. Bosim tushiriladigan vaqtda zambarakdan volfram yoki oltin bo'lakchalari otilib chiqib, hujayra devorini yorib o'tadi va sitoplazmaga, hujayra yadrosiga o'tadi.

Odatda bevosita markazda joylashgan hujayralar volfram va oltin bo'lakchalarining ko'plab kelib urilishi va juda kuchli bosimi tufayli nobud bo'ladi, ulardan 0,6-1 sm markazdan uzoqda esa transformant hujayralar joylashadi. Shundan so'ng hujayralarni davomli ekish va regeneratsiya qilish uchun oziqa muhitlariga ko'chirib o'tkaziladi.

Bioballistik zambaraklar yordamida bir pallali makkajo'xori, sholi, bug'doy, arpa o'simliklari transformatsiya qilinib, turg'un transgen o'simliklar olingan. Bundan tashqari bioballistik transformatsiya DNK ni embriogen changchiga to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish, transgen digaploid o'simliklar olish uchun qo'llaniladi va u seleksiya ishlarida muhim bosqich hisoblanadi. Bu usul bilan tamaki o'simligining transformatsiyasi amalga oshirilib, gaploid o'simliklar regeneratsiyasidan so'ng turg'un transfor-mantlar olingan.

O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi

Begona genlarning o'simlik genomiga ekspressiyasi natijasida bir qator muammolar kelib chiqadi. Birinchi marta o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan genlar bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, ularni o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun to'g'ridan –to'g'ri ishlatib bo'lmasdi.

Bakteriya genlari eukariot hujayralarda transkripsiya bo'lishi uchun ularning promotor ketma-ketliklarini o'simlik genlari promotorlari yoki boshqa o'simlik hujayrasida transkripsiyaning initsiatsiya qila oladigan promotorlariga almashtirish lozim bo'ladi. Bundan tashqari, bakterial genning 3 - qismiga poliadenillanish signalini saqlovchi fragmentni ulash lozim. Bunday modifikatsiyalar eukariot RNK – polimerazaning bakterial ketma-ketlikni transkripsiyalashi va undan so'ng mRNK o'simlik hujayrasida bakterial oqsilni translyasiya qilish uchun kerak bo'ladi.

Bakterial genlarning ekspressiyasi uchun promotor sifatida ko'pincha gulkaramning mozaika virusi (SaMV)ning 35S – RNK promotoridan foydalaniladi. Bunday tanlov bir vaqtning o'zida ikki xil muammoni hal etish imkonini beradi: birinchidan, ikki pallali o'simliklar promotorlari bir pallalilar genomida ko'p hollarda faoliyat yurit olmaydi, aksincha, 35S SaMV promotori har qanday o'simlik genomida transkripsiyaning ta'minlaydi. Ikkinchidan, ko'pgina eukariot promotorlari ancha kuchsiz bo'lib, SaMV ning 35S promotori uning nazoratidagi genning yuqori darajagi ekspressiyasini ta'minlaydi. Ko'pgina hollarda o'simlik hujayrasiga o'simlik genini transformatsiya qilishda oqsil mahsuloti ajralib chiqishini oshirish uchun uning promotorini juda kuchli bo'lgan SaMV ning 35S promotori bilan almashtiriladi. CaMV 35S-promotori konstitutiv bo'lib, transgen o'simlikning barcha to'qimalarida uning nazoratidagi genning kuchli ekspressiyasini ta'minlaydi. Aynan shuning uchun CaMV 35S-promotori o'simliklar transformatsiyasida qo'llaniladigan vektor konstruksiyalar ichida eng ko'p qo'llaniladi. Keyingi yillarda ba'zan CaMV 35S ketma-ketligini ikki karra ko'paytirilgan nusxasi, sun'iy olingan MAC - promotoridan ham foydalanilmoqda.

So'nggi paytlarda o'simlik genlarining to'qimaga xos promotorlari katta ahamiyat kasb etmoqda. Bu promotorlarning CaMV 35S promotoridan afzalligi

shundaki, bunday promotorlar nazoratidagi genlar ma'lum bir to'qimalardagina ekspressiya bo'ladi. Masalan, patatin promotori nazoratidagi har qanday gen faqat kartoshka o'simligi tuganagiga ekspressiya bo'ladi, chunki patatin oqsili – kartoshka tuganaklari zahira oqsili bo'lib, uning genlari faqat tuganaklardagina ekspressiyalanadi. To'qimaga xos promotorlar begona oqsil o'simlikning ma'lum bir a'zolari uchun zarur bo'lgan hollarda qo'llaniladi. Masalan, o'simliklar ildizini ba'zi bir tuproq patogenlaridan himoya qilishda ildizga xos promotorlardan foydalanish qulay, chunki ular o'simliklarning patogenlar bilan munosabatga kirishuvchi faqat er osti qismidagina himoya oqsili sintezlanishiga olib keladi. O'simliklar uchun bunday promotorlardan foydalanish birmuncha qulaydir.

Shuningdek indutsibel promotorlardan ham foydalaniladi. Konstitutiv CaMV 35S promotoridan farqli ravishda bunday promotorlar nazoratidagi genlar har doim ham ekspressiya bo'lavermasdan, faqat ma'lum sharoitlardagina ekspressiya bo'ladi. Masalan, jarohatlanishda indutsirlanadigan promotorlar, metall ionlari (mis, temir, va h.k.) ishtirokida yuzaga chiqadigan metall-indutsibellarini keltirish mumkin. SHunday qilib, bunday promotorlar nazoratidagi genlarning «kiritilishi va o'chirilishi» oson boshqariladi. Indutsibel promotorlar nafaqat o'simliklarda, balki, umuman, gen muhandisligida keng qo'llaniladi. To'qimaga xos va indutsibel promotorlarning kamchiligi ularning faolligining pastligidadir.

Promotorlardan tashqari transgenning ekspressiyalanishga uning o'simlik genomiga integratsiya bo'lish joyi ham ta'sir ko'rsatadi. T-DNK ketma-ketligi genomning istalgan qismiga o'rnasha oladi deb hisoblansa-da, ko'plab tadqiqotlarda bu hodisa tasodifan amalga oshmasligi isbotlangan. Ko'pincha T-DNK gen ekspressiyasi amalga oshmaydigan geteroxromatin uchastkalariga o'rnashadi va transgen har qanday kuchli promotor ta'sirida ham transkribirlanmaydi. Buni takroriy transformatsiyalar orqali ham anglab olish mumkin.

Transgen o'simliklar olishning ilk bosqichlarida begona genlar eksperessiyasining nishon belgilari – reporter genlardan foydalaniladi. Odatda, reporter genlarning mahsulotlari oddiy usullar bilan oson aniqlanadi. GUS deb nomlanuvchi reporter genidan keng foydalaniladi, u β - glyukuronaza fermentini

kodirlaydi va substratga qo'shilganda uni och havo rangli birikmaga qadar parchalaydi. Bundan tashqari *gfp* retseptor geni ekspressiya bo'lganda oson aniqlanadigan fluoressent oqsilni hosil qiladi. Odatda, retseptor genning ekspressiyasi transgen o'simlikda funksional gening ekspressiyalanish darajasi bilan o'zaro mos keladi.

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI

«MUXANDISLIK TEXNOLOGIYALARI» FAKULTETI

«BIOTEXNOLOGIYA» KAFEDRASI

«MOLEKULAR BIOLOGIYA»

FANIDAN BAKALAVRIAT TALABALARI

UCHUN AMALIY MASHG'ULOTLAR

BO'YICHA USLUBIY QO'LLANMA



TOSHKENT – 2022

Annotatsiya. Mazkur o'quv uslubiy qo'llanma 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) bakalavriatura yo'nalishlari bo'yicha bakalavrlar tayyorlash o'quv rejasiga ko'ra «Molekulyar biologiya» fani bo'yicha tuzilgan namunaviy dastur asosida tayyorlangan. Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) tahsil olayotgan bakalavriatura talabalari uchun mo'ljallangan.

Tuzuvchilar:

Mirxodjayeva D.D. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. t.f.f.d. PhD

Mirzayeva D.A. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. b.f.f.d. PhD

Taqrizchilar:

V.Z.Nurmuhamedova TKTİ “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

K.K.Nazarov TDTU “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakulteti, “Biotexnologiya” kafedrası yig'ilishida muhokama qilingan va fakultet Kengashiga muxokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

Kafedra mudiri, dotsent

Nazarov K.K.

Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakultetida Kengashida muhokama qilingan va Universitet Kengashiga muhokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

**Fakultet Kengashi raisi,
professor**

Maxmudov N.N.

O'quv uslubiy majmua Toshkent davlat texnika universiteti Ilmiy kengashida muhokama qilingan va tasdiqlangan («___» _____ 2022 yil, ___ sonli bayonnoma).

KIRISH

Molekulyar biologiya fani hayotning paydo bo'lishini molekulyar darajada o'rganadi, ya'ni tirik organizmlarning asosiy xossalari, o'sishi va rivojlanishi, ko'payish va differensiyalanish, irsiyat va immunitet, harakatlanish va tashqi muhitga moslashish va boshqa juda ko'p biologik makromolekulalarning molekulyar asosini o'rganishga va tushuntirishga qaratilgan fan.

Molekulyar biologiya fan tariqasida dunyoga kelishi Jeyms Uotson bilan Frensis Krikning kashfiyotiga bog'liq. Bu olimlar tomonidan DNK dezoksiribonuklein kislotasining modeli kashf etilgan, ya'ni DNK molekulasi qo'sh spiral tuzilishga ega ekanligini isbot qildilar (1953). Bu kashfiyot irsiy belgilar qanday saqlanadi va avloddan-avlodga qanday o'tadi, degan muammolarni ham hal qilish imkoniyatini berdi. «Transkripsiya» va «Translyatsiya» mexanizmlar aniqlandi. So'ngra genetik kodlarni «molekulyar genetikadagi» muammolari hal qilindi. Genetik kod muammosini hal qilinishi avvalo qaysi nukleotid yoki nukleotidlar to'plami qanday aminokislotani ifodalashi mumkin, degan masalani hal qilishdan iborat.

1953 yilda Gamov (AQSH) genetik kod 3 ta nukleotid to'plamdan (tripletlikoddan) tashkil topgan bo'lishi kerak, degan g'oyani ilgari surdi. Haqiqatdan ham, bunda 4 xil nukleotid yordamida 64 ta kombinasiya hosil qilish mumkin. 1961 yil boshlarida ingliz olimi Krik genetik kod muammosining matematik analiziga asoslanib, kod haqiqatdan ham tripletli xarakterga ega, degan xulosaga kelgan. Triplet Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Molekulyar biologiya kompleks fan hisoblanadi, chunki u yuksak molekulyar organik birikmalarning tuzilishi haqidagi eng so'nggi ilmiy ma'lumotlariga asoslanadi. Molekulyar biologiya eng muhim biologik makromolekulalarning turli shakllari va ularning evolyutsiya formalarini o'rganadi. Bu fan eng avvalo nuklein kislotalarning, oqsillar va boshqa makromolekulalarning strukturasini, shuningdek eng muhim hujayra komponentlari (xromosom) yadro, plazmatik membrana, mitohondriyalar, Goldji kompleksi, lizosomalar, ribosomalarning strukturaviy tuzilishi bilan ularning bajaradigan funksiyasi orasidagi bog'lanishni o'rganadi. Molekulyar biologiya evolyutsiya qanday borishini, uning mexanizmini ochib beradi, ya'ni jonli organizmlar uchun xos bo'lgan rivojlanish fenomenini ham molekulyar tekislikda oqsillar va nuklein kislotalarning o'zaro munosabati, reaksiyalari shaklida ifodalaydi.

1-amaliy mashg'ulot. MOLEKULAR BIOLOGIYANING BIOTEXNOLOGIYAGA TATBIQ QILISH

Ishning maqsadi: Molekular biologiyaning biotexnologiyaga tatbiq qilish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Molekular biologiya - biologik ob'ektlar va tizimlarni molekular darajaga yaqinlashadigan, ayrim hollarda esa bu chegaraga yetib boruvchi darajada o'rganish orqali hayot hodisalarining mohiyatini bilishni o'z oldiga vazifa qilib qo'yadigan fan. Bu holatda yakuniy maqsad hayotning irsiyat, o'z turini ko'paytirish, oqsil biosintezi, qo'zg'aluvchanlik, o'sish va rivojlanish, ma'lumotni saqlash va uzatish, energiya o'zgarishi, harakatchanlik kabi xarakterli ko'rinishlarni qanday va qay darajada aniqlashdir. Biologik muhim moddalar molekulalarining tuzilishi, xususiyatlari va o'zaro ta'siri, birinchi navbatda yuqori molekular biopolimerlarning ikkita asosiy sinfi - oqsillar va nuklein kislotalar bilan bog'liq. Molekular biologiyaning o'ziga xos xususiyati - jonsiz jismlardagi yoki hayotning eng ibtidoiy ko'rinishlarini namoyish qiluvchi hayot hodisalarini o'rganishdir. Bular hujayra darajasidan va undan past bo'lgan biologik shakllanishlar: hujayra osti organellalari, masalan, izolyatsiya qilingan hujayra yadrolari, mitoxondriyalar, ribosomalar, xromosomalar, hujayra membranalari; Keyinchalik - jonli va jonsiz tabiat chegarasida joylashgan tizimlar - viruslar, shu jumladan bakteriofaglar va tirik materiyaning eng muhim tarkibiy qismlari - nuklein kislotalar va oqsillar molekulalari bilan tugaydi. Ko'p funksiyali oqsillar kompleks xossalarga ega bo'lgan oqsillar bo'lganligi uchun ularning biotexnologiya sohasida qo'llanilishi keng doirasi bilan tavsiflanadi. Ulardan foydalanish, ayniqsa, eng muhim sohalarda, asosan farmatsevtika sanoatida muhim ahamiyatga ega, chunki ko'plab oqsillar mikroblarga qarshi xususiyatlarga ega.

Molekular biologiya va biotexnologiya quyidagi sohalarda qo'llaniladi:

1. Oziq-ovqat sanoatida biotexnologik jarayonlar. Ozuqa oqsilini ishlab chiqarishda xamirturush bakteriyalari, suv o'tlari va mikroskopik qo'ziqorinlardan foydalanish.
2. Ekologik biotexnologiya. Ekologik muammolarni hal qilishda biotexnologik jarayonlarni qo'llash. Ksenobiotiklarning biotransformatsiyasi. Biogaz ishlab chiqarish, quyosh energiyasini konversiyalash, vodorod foto ishlab chiqarish. Oqava suvlarni bioinjeneriya usullari bilan tozalash.
3. Biotexnologik jarayon mahsulotlarining tasnifi. Birlamchi (aminokislotalar, vitaminlar, organik kislotalar) va ikkilamchi (antibiotiklar, steroidlar) metabolitlari. Antibiotiklarni olish (benzilpenitsillin natriy va prokain tuzlarining mikrobiologik sintezi, ampitsillin).
4. Fermentlar biosanoati. Mikroorganizmlarni yetishtirish manbalari va texnologiyasi - fermentlar ishlab chiqaruvchilari. Immobilizatsiyalangan fermentlar (aminoatsilaza, glyukozomeraza, aminoglyukozidaza, penitsillinasilaza), hujayralar va ularning ahamiyati. Fermentlarni immobilizatsiya qilish usullari (fizik, kimyoviy). Immobilizatsiyalangan fermentlar (glyukoza-fruktoza siropi, L-aminokislotalar (L-lizin, L-triptofan), L-molik kislota) yordamida ayrim biotexnologik mahsulotlarni olish jarayonlari.

5. Rekombinant DNK biotexnologiyasi. Genlarni olish usullari (DNK dan genlarni ajratish, kimyoviy-fermentativ, fermentativ sintez). Rekombinant DNKning in vitro qurilishi (yopishqoq, to'q, qarama-qarshi uchlari bo'lgan parchalarning ulanishi). Bakterial plazmidlar, bakteriofaglar, viruslar asosidagi DNK vektorlari. Muhandislik E. coli hujayralarida inson insulinining biosintezi. Somatotropin, interferonlarni genetik muhandislik usullari bilan olish.

6. O'simliklarning genetik muhandisligi. Ti-, Ri-plazmidlar, o'simlik viruslari DNKsi, binar, oraliq vektorlar asosida transgen o'simliklarni olish. Bioballistik transformatsiya usuli.

Nazorat savollar:

1. Molekulyar biologiya qanaqa fan?
2. Biotexnologiya fani haqida ayting.
3. Molekulyar biologiyaning biotexnologiyaga tatbiq qilishni ayting.

2-amaliy mashg'ulot. NUKLEIN KISLOTALARNING STRUKTURAVIY TUZILISHI VA ULARNING O'ZARO FARQLANISHI

Ishning maqsadi: Nuklein kislotalarining tuzilish darajalarini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Nuklein kislotalarining tuzilish darajalari. DNK va RNK ning birlamchi strukturasi 3' 5'- fosfodiefir bog'lari bilan bog'langan mononukleotidlarning to'g'ri chiziqli polinukleotid zanjiridan iborat. DNK va RNK birlamchi strukturasi tuzilish negizi bir xil: mononukleotid zanjiridagi pentozaning 3' -gidroksil guruhi ikkinchi mononukleotiddagi pentozasining 5'-gidroksil guruhi bilan kovalent bog' orqali bog'langan. Shu sababdan 3' 5' -difosfodiefirli bog'lar deb ataladi. DNK va RNK ning to'g'ri chiziqlari zanjirining uzunligi ular tarkibidagi mononukleotidlar soniga bog'liq va ikkita oxiriga ega: ulardan birinchisi 3'-oxiri, ikkinchisi esa 5'-oxiri.

Hujayra nuklein kislotalari zanjirining yig'ilishida 5'-trifosfatlar boshlang'ich material bo'lganligi sababli zanjirning 5'-oxiri tomoni trifosfat, 3'-oxiri tomoni esa erkin gidroksil guruhi tutadi, ya'ni ular 5' $\rightarrow$ 3' va 3' $\rightarrow$ 5' yo'nalishga ega. Nuklein kislotalar zanjiri qutblidir. DNK ning genetik matni nukleotid tripletlari yordamida tuzilgan kodli so'zlar dan iborat bo'lib, kodogenlar deb ataladi. Barcha turdagi RNK ning birlamchi strukturasi to'g'risida ma'lumot saqlovchi DNK qismlariga strukturali genlar deyiladi.

Nuklein kislotalarning birlamchi strukturasi ularning yuqori darajadagi tuzilishini, ya'ni ikkilamchi va uchlamchi strukturalarini belgilaydi.

DNK ning ikkilamchi strukturasi. DNK molekulasi nukleotidlar tarkibi tuzilishida, ularning ajratib olingan manbasidan qat'iy nazar, muhim umumiy qonuniyatlar bor. Bu qonuniyatlarni kashf etgan olim nomi bilan Chargaff qoidalari deb ataladi va ular quyidagilardan iborat:

1. Purin nukleotidlari yig'indisi (A+G) soni pirimidin nukleotidlari yig'indisiga (S+T) teng, ya'ni purinlarni pirimidinlarga nisbati birga teng: $A+G/S+T=1$.

2. Adenin qoldiqlarining soni timin qoldiqlari soniga teng, ya'ni adeninning timinga nisbati birga teng ($A = T$ yoki $A/T = 1$).

3. Guanin qoldiqlarining soni sitozin qoldiqlarining soniga teng ($G = S$ yoki $G/S = 1$).

4. DNK tarkibidagi 6 ta aminoguruhlar soni 6 ta ketoguruhlar soniga teng: $G + T = A + S$.

5. Faqat $A + T$ va $G + S$ yig'indilari o'zgaruvchan. Agar $A + T > G + S$ bo'lsa, bu AT-turli DNK; agar $G + S > A + T$ bo'lsa, bu GS - turdagi DNK bo'ladi. Bu qoidadan DNK tuzilishi uchun purin va pirimidin asoslarining qat'iy tartibda mos kelishi (juftlashishi) emas, balki umuman timinning adenin bilan sitozinning guanin bilan mos kelishi nazarda tutilgan. Nukleotidlarning molekulyar massasi 330 ga, qo'sh nukleotidlarniki esa 660 ga teng. 1953 yilda Uotson va Krik DNK ni qo'sh spiral nomini olgan ikkilamchi strukturasi modelini kashf etdilar.

DNK ning ikkilamchi strukturasi. Purin nukleotidlari yig'indisi ($A+G$) soni pirimidin nukleotidlari yig'indisiga ($S+T$) teng, ya'ni purinlarni pirimidinlarga nisbati birga teng: $A+G/S+T=1$.

DNK ning uchlamchi strukturasi qo'sh spiralli molekulaning qo'shimcha buralishi natijasida hosil bo'ladi. U superspiral yoki egilgan qo'sh spiral ko'rinishiga ega.

RNK ning birlamchi strukturasi mana bunday yozuv tarzida ifodalanishi mumkin:

$A - U - A - A - G - U - C - C - C - U - A$

DNK strukturasi yozuvi «d» (dezoksi) old qo'shimchasi bilan belgilanadi:
 $d(G - G - S - A - T - A - T - T - G - S - \dots)$

Ana shunday yozuvda chap tomonda 5'-uchi, o'ng tomonda 3'-uchi bo'ladi, deb mo'ljallaniladi. Ba'zan polinukleotidlarni bunga qarama-qarshi tarzda yozishga to'g'ri keladi. Bu holda adashmaslik uchun qo'shimcha prefikslar qo'yiladi: ($5' \rightarrow 3'$) $A-U-A-A-G-\dots$ - bu o'rinda 5'-uchi chap tomonda; yoki ($3' \rightarrow 5'$) $G-A-A-U-A-\dots$ - 5'-uchi o'ngda bo'ladi.

mRNK ning ikkilamchi strukturasi egilgan zanjir shaklida, uchlamchi strukturasi esa g'altakka o'ralgan ip ko'rinishida bo'lib, bunda transport oqsili – informofer alohida o'rin tutadi.

rRNK ni ikkilamchi strukturasi egilgan zanjir birikishidan hosil bo'lgan spiralli uchastkalar ko'rinishiga ega. rRNK ning uchlamchi strukturasi ribosoma skeletsimon tayoqcha yoki kalava shakliga ega. Uning ichki tomoniga ribosoma oqsillari tegib turadi.

Transport RNKlarning ikkilamchi strukturasi xarakterlidir. Bu RNKlarda spiral holiga kelgan to'rtta qismi va bir zanjirli uchta (ba'zida to'rtta) qovuzlog'i bo'ladi. Ana shunday struktura tekislikda tasvirlanganida «beda bargi»ga o'xshash shakl yuzaga keladi. Hujayrada bo'ladigan necha o'nlab turli-tuman tRNK larning hammasi fazoviy strukturasi bir xilda bo'lgani holda, lekin tafsilotlari jihatidan bir-biridan farq qiladi. tRNK ning ikkilamchi strukturasi —beda bargil ko'rinishiga ega. Ushbu ko'rinish tRNK ichki zanjiri komplementar qismlari nukleotidlarining alohida juftlashishi oqibatida kelib chiqadi. Nukleotidlar orasida vodorod bog'lari hosil qilmaganlari tRNK qismlari halqa (petlya) shaklida yoki to'g'ri chiziqli bo'g'inlar hosil qiladi. tRNK da quyidagi struktura qismlari farq qilinadi:

1. Akseptor shoxchasi to'rtta to'g'ri joylashgan nukleotidlardan tashkil etilib, ulardan uchta barcha turdagi RNK larda bir xil tartibda – SSA ko'rinishiga ega. Bunda adenozinning 3' - OH gidroksili erkin. Unga aminokislotaning karboksil guruhi birikadi, tRNK ning ushbu qismini akseptor deb nomlanishi ham shundan kelib chiqqan. tRNK oqsil sintezida ribosomalarga adenozinning 3' - OH gidroksil guruhi bilan bog'lanadigan aminokislotani yetkazib beradi.
2. Antikodonli halqa, odatda, yettita nukleotiddan hosil bo'ladi. Har bir tRNK o'zining maxsus antikodoniga ega. Komplementarlik qoidasiga asosan tRNK ning antikodoni mRNK kodoni bilan juftlashadi. Kodon-antikodoni o'zaro ta'siri ribosomalarda polipeptid zanjirini yig'ilishida aminokislotalarning joylashish tartibini belgilab beradi.
3. Psevdouridilli halqa 7 ta nukleotiddan iborat va o'zida psevdouridil kislota qoldig'ini tutadi. Bu halqa tRNK ning ribosoma bilan bog'lanishida ishtirok etadi, deb taxmin qilinadi. Uning strukturasi pentoza N-C emas, balki C-C bog'lar orqali birikkan.
4. Digidouridinli yoki D-halqa, odatda, 8-12 ta nukleotiddan tashkil topgan bo'lib, ularning orasida digidouridin bir nechta qoldiqlari bor. Aminokislota o'zining transport RNK sini tanishida aminoatsil – tRNK – sintetaza bilan bog'lanishida D-halqa ishtiroki zarur deb hisoblanadi.
5. Qo'shimcha halqa o'lchami va nukleotidlar tarkibi bo'yicha turli xil tRNK larda turlicha bo'ladi.

RNK ning ikkilamchi va uchlamchi strukturalari. RNK bir zanjirli molekula, shu sababli uning ikkilamchi va uchlamchi strukturalari doimiy emas. RNK ning hamma turlari DNK ning bir zanjirli nusxasiga o'xshash. Tarkibida palindromlar saqlagan qismlaridan nusxa ko'chirilganda RNK molekulalarida shpilkalar (to'g'nog'ich) hosil bo'lishi aniqlangan.

tRNK ning uchlamchi strukturasi beda bargi shaklida emas, balki bukilib buralgan shaklda bo'lib, bunda beda bargining halqali yaproqchalari qo'shimcha van-der-vaals bog'lari orqali bog'langan holda o'ralgan bo'ladi.

DNK va RNK ning birlamchi strukturasi 3' 5' - fosfodiefir bog'lari bilan bog'langan mononukleotidlarning to'g'ri chiziqli polinukleotid zanjiridan iborat. DNK va RNK birlamchi strukturasi tuzilish negizi bir xil: mononukleotid zanjiridagi pentoza 3' -gidroksil guruhi ikkinchi mononukleotiddagi pentozasining 5' - gidroksil guruhi bilan kovalent bog' orqali bog'langan. Shu sababdan 3' 5' -difosfodiefirli bog'lar deb ataladi. DNK va RNK ning to'g'ri chiziqlari zanjirining uzunligi ular tarkibidagi mononukleotidlar soniga bog'liq va ikkita oxiriga ega: ulardan birinchisi 3'-oxiri, ikkinchisi esa 5'-oxiri.

DNK ning ikkilamchi strukturasi. Adenin bilan timin o'rtasida ikkita, guanin bilan sitozin o'rtasida esa uchta vodorod bog'lari bor. Vodorod bog'lari faqat adenin bilan timin va guanin bilan sitozin orasida bo'lganligi, uchun bir zanjirdagi asoslar tarkibi ikkinchi zanjirdagi asoslar tartibini, birin-ketin kelishini belgilaydi. Asoslarning bunday mos kelishiga komplementarlik deyiladi.

DNKning ikkilamchi strukturasi. 1. DNK molekulasi antiparallel ravishda yo'nalgan va boshidan oxirigacha vodorod bog'lari bilan bir-biriga bog'langan ikkita polinukleotid zanjirlaridan tuzilgan (mononukleotidlarning har biri vodorod

bog'lari hosil qilishda qatnashadi). 2. Zanjirlar orasidagi vodorod bog'lari bir zanjir adenin qoldig'ining ikkinchi zanjir timin qoldig'i bilan (A...T jufti bilan) va bir zanjirning guanin qoldig'i bilan ikkinchi zanjirning sitozin qoldig'i (G::: S jufti) ning o'ziga xos tarzda o'zaro ta'sir qilishi hisobiga hosil bo'ladi. Juftni hosil qiluvchi asoslar shu ma'noda bir-biriga komplementar bo'ladiki, bularning o'rtasida vodorod bog'lari boshqa kombinatsiyalardagiga qaraganda (masalan, A va G, A va S va hokazoga qaraganda) osonroq vujudga keladi. Bu – asoslar juftlari orasida vodorod bog'lari hosil bo'lishida ishtirok etuvchi guruhlarining joylashish geometriyasi bilan umuman DNK molekulasi geometriyasiga bog'liqdir. 3.DNK molekulasi bir zanjirining birlamchi strukturasi ikkinchi zanjir birlamchi strukturasi komplementardir. Ushbu jarayon quyidagi sxemada berilgan:

(51→31) A – T – T – S – T – S – G – T – S – G – G

.....

(31→51) T – A – A – G – A – G – S – A – G – S – S

4.Ikkala zanjir umumiy o'qqa ega bo'lgan spiral holida o'ralgan zanjirlarni yechib yozish yo'li bilangina bir-biridan ajratish mumkin (bunday spirallar plektonemik spirallar deb ataladi). Purin va pirimidin asoslari spiral ichiga qaragan va ularning tekisliklari spiral o'qiga tik va bir-biriga paralleldir. Shunga ko'ra asoslar dasta bo'lib turadi. Shu dastadagi asoslar o'rtasida gidrofob o'zaro ta'sirlar yuzaga chiqib, bular qo'shaloq spiralning turg'un holatda bo'lishiga zanjirlar orasidagi vodorod bog'lari asosiy hissani qo'shadi. Riboza fosfat qismlari chetki tomonlari joylashib, spiralning kovalent o'zagini hosil qiladi DNK strukturasi organizmlarning o'z-o'zini bunyodga keltirish, o'zgaruvchanlik singari asosiy biologik hodisalarning molekulyar mexanizmini tushuntirib berishga imkon ochadi.

T-RNK nativ molekulasi deyarli bir xil uchlamchi strukturaga ega. U «beda bargi» yassi strukturasi bilan, molekula turli qismlarini buklanishi hisobiga, juda ixchamligi bilan farqlanadi. Ba'zi viruslarda (reovirus, o'simlik o'simtalari yara viruslari va boshqalar) DNK strukturasi kabi bir xil tipdagi tabiiy ikki zanjirli RNK mavduddir. pH muhit, ion ta'sirlar va haroratni fiziologik darajalarida mRNK, rRNK bir zanjirli strukturalari qo'sh spiral hosil qilishi mumkin, bu esa ularni uchlamchi strukturasi ta'minlab beradi.

Nazorat savollar:

1. Nuklein kislota nima?
2. DNK haqida ayting.
3. RNKni nechta strukturasi bor?

3-amaliy mashg'ulot. NUKLEIN KISLOTALARNING KIMYOVIY TARKIBI. AZOT ASOSLARINING O'ZARO BOG'LANISHI.

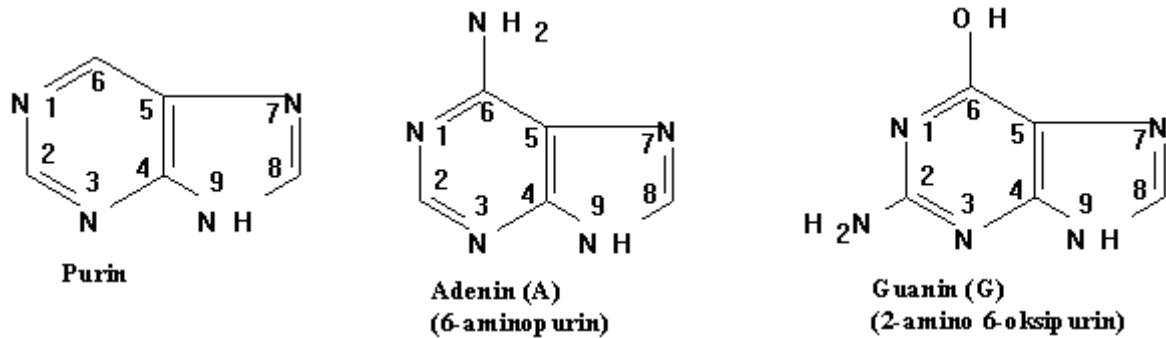
Ishning maqsadi: Nuklein kislotalarining kimyoviy tarkibini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

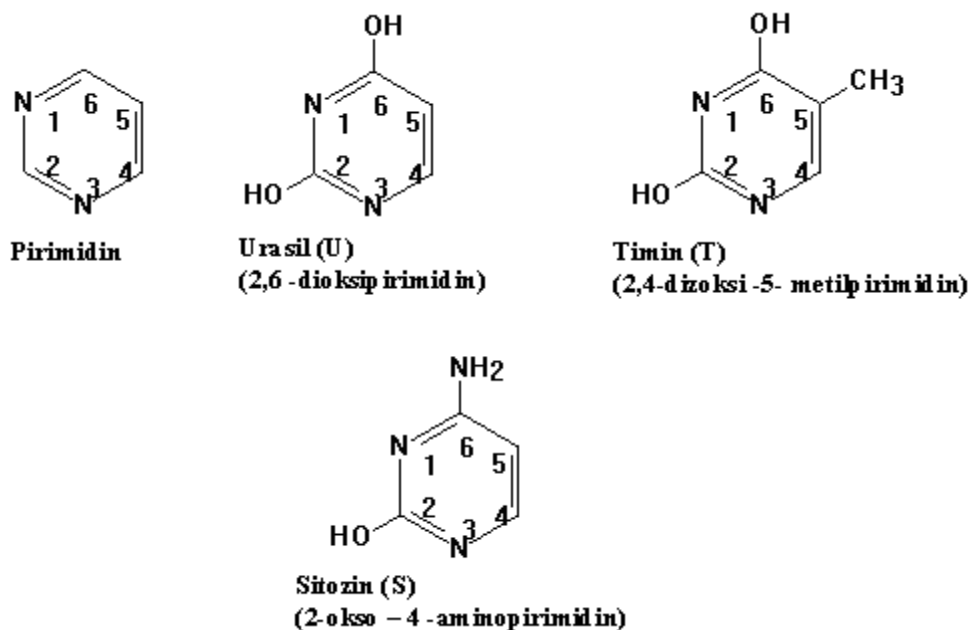
Ishning borishi. 3¹ 5¹ - fosfodiefir bog'lari yordamida bog'lanib, mononukleotidlar zanjiridan tashkil topgan yuqori molekulyar moddalarga nuklein kislotalar yoki polinukleotidlar deyiladi. Nuklein kislotalar yuqori molekuli

biopolimerlar bo'lib, molekulyar massasi 250 dan $1,2 \cdot 10^5$ kDa atrofida bo'ladi. Ular tirik organizmda irsiy belgilarni saqlab, ularni avlodidan-avlodga o'tkazishda bevosita ishtirok etib, kibernetik vazifani bajaradilar. 1869- yilda shvetsariyalik olim F.Misher tomonidan hujayra yadrosida nuklein kislotalar aniqlanganligi uchun nukleus (lotincha nucleys-yadro) deb atalgan. Tarkibidagi uglevodga qarab ular dezoksiribonuklein (DNK) va ribonuklein (RNK) kislotalariga bo'linadi.

Nuklein kislotalar (DNK, RNK) tarkibida asosan ikki xil purin asoslari adenin (A) va guanin (G) uchraydi. Bu birikmalar molekulasi pirimidin va imidazol halqasidan tashkil topgan purinning hosilalari hisoblanadi:



Pirimidin asoslaridan nuklein kislotalar DNK va RNK tarkibida sitozin, uratsil (RNK tarkibida) va timin (DNK tarkibida) kiradi.



Uglevod qismlardan RNK tarkibida riboza va DNK da esa dezoksiribozalar uchraydi. Azot asoslarini pentozalar bilan birikmasini nukleozidlar deyiladi. Nuklein kislotalardan ajratilgan nukleozidlar N-glikozidlardir. Nukleozid tarkibida D-riboza bo'lsa ribonukleozidlar, agar dezoksiriboza uchrasa, dezoksiribonukleozidlar deb ataladi. Nukleozidlar purindagi N₉, pirimidindagi N₁ atomlariga pentozalar β-konfiguratsiyali glikozid bog'lari orqali bog'lanadi. Ularning nomlanishi tarkibidagi getrosiklik azotli asoslardan kelib chiqadi.

Nukleotidlar nukleozidlarning monofosforli efirlaridir. Ular nuklein kislotalarning monomeri hisoblanadi. Ularning tarkibida azotli asoslar (purin va

pirimidin), uglevod komponentlari (riboza va dezoksiriboza) va fosfor kislotalari bo'ladi.

Ribonukleotidlarda fosfor kislotasi ribozaning 2', 3' va 5' atomlariga bog'lanishi mumkin.

Dezoksiribonukleotidlarda fosfor kislotasining qoldig'i dezoksiribozaning 3' va 5' uglerod atomlari orqali bog'lanadilar.

Nuklein kislotalarning qoldiqlari mononukleotidlar bo'lib, ular ikki xil bo'lishlari mumkin. RNK ning mononukleotidlari: adenzin-3' - va 5' -fosfatlar (adenil kislota), guanozin-3' - va 5' - fosfatlar (guanil kislota), sitidin-3' va 5' - fosfatlar (sitidil kislota), uridin -3' - va 5' - fosfatlar (uridil kislota).

DNKning mononukleotidlari: 2'-dezoksiadenozin -3' -va 5' - fosfatlar (dezoksiadenil kislota), 2' dezoksiguanozin-3' -5' - fosfatlar (dezoksiguanil kislota), 2' dezoksitimidin - 3' va 5' - fosfatlar (dezoksitimidil kislota), 2' dezoksisitidin-3' va 5' fosfatlar (dezoksisitidil kislota).

Monofosfatlarda fosfat atomi uglerodning 5' atomiga bog'langan bo'lsa ularni AMF, GMF, dAMF lar deb ataladi.

Nuklein kislota molekulari nukleotidlarning polimerlanishi natijasida hosil bo'lgan polinukleotidlar zanjiridan iborat. Nukleotidlar qoldig'i bir-biri bilan fosfat kislota yordamida birikadi. Fosfat kislota har doim bir nukleotid tarkibidagi riboza (dezoksiriboza)ning uchinchi C-atomi bilan, ikkinchi nukleotid tarkibidagi riboza (dezoksiriboza)ning beshinchi C-atomi bilan murakkab efir bog'lari orqali bog'lanadilar.

Nuklein kislotalar fermentlar, kislota, ishqor va boshqa kimyoviy birikmalar ta'sirida bir necha bo'laklarga parchalanadi. Mazkur struktura birikmalariga azot asoslaridan purin va pirimidin, uglevod komponentlaridan riboza va dezoksiriboza hamda fosfat kislota kiradi.

Nuklein kislotalar (DNK, RNK) tarkibida asosan ikki xil purin asoslari adenin (A) va guanin (G) uchraydi. Bu birikmalar molekulasi pirimidin va imidazol halqasidan tashkil topgan purinning hosilalari hisoblanadi. Purin azot asoslaridan tashqari, hujayrada gipoksantin (6-okso-purin) va ksantinlar (2,6 dioksopurin) bo'lib, ular adenin, guaninlarning dezaminirlanishidan hosil bo'lib, nuklein kislotalar almashinuvida ishtirok etadilar.

Pirimidin asoslaridan nuklein kislotalar DNK va RNK tarkibida sitozin, uratsil (RNK tarkibida) va timin (DNK tarkibida) kiradi.

Tabiiy nuklein kislotalar tarkibida azotli asoslar laktam va amin shaklida bo'lib, bu holat ularga sintezlanishini to'g'ri yo'nalishiga sababchi bo'ladi. Lekin, nuklein kislotalarga tashqi omillar, jumladan, nurlanish va shu asosda tautomerlarni hosil bo'lishi mutagenenezning asosini tashkil qiladi.

Uglevod qismlardan RNK tarkibida riboza va DNK da esa dezoksiribozalar uchraydi. - D-furanoza shaklida bo'ladi.

Uglerod atomlari, nukleotid tarkibidagi pentozalarda tartib raqamiga —shtrixl belgisi azot asoslaridan farq qilish uchun qo'yiladi.

Dezoksiribozadagi S-2' guruhidagi ON ni protonlanishi S-2' va S-3' bog'larini yanada mustahkamlab, DNK molekulasining fazoviy strukturasini kompakt, ixcham holatga keltirishda yordam beradi.

Azot asoslarini pentozalar bilan birikmasini nukleozidlar deyiladi. Nuklein kislotalardan ajratilgan nukleozidlar N- glikozidlardir. Nukleozid tarkibida D-riboza bo'lsa ribonukleozidlar, agar dezoksiriboza uchrasa, dezoksiribonukleozidlar deb ataladi. Nukleozidlar purindagi N9, pirimidindagi N1 atomlariga pentozalar - konfiguratsiyali glikozid bog'lari orqali bog'lanadi. Ularning nomlanishi tarkibidagi getrotsiklik azotli asoslardan kelib chiqadi.

Nukletidlar nukleozidlarning monofosforli efirlaridir. Ular nuklein kislotalarning monomeri hisoblanadi. Ularning tarkibida 67 azotli asoslar (purin va pirimidin) uglevod komponentlari (riboza va dezoksiriboza va fosfor kislotalari bo'ladi).

Ribonukleotidlarda fosfor kislotasi ribozaning 2', 3' va 5' atomlariga bog'lanishi mumkin.

Dezoksiribonukleotidlarda fosfor kislotasining qoldig'i dezoksiribozaning 3/ va 5/ uglerod atomlari orqali bog'lanadilar.

Nuklein kislotalarning qoldiqlari mononukleotidlar bo'lib, ular ikki xil bo'lishlari mumkin. RNK ning mononukleotidlari: adenzin-3' va 5' -fosfatlar (adenil kislota), guanozin-3' va 5' - fosfatlar (gunil kislota), sitidin-3' va 5' - fosfatlar (sitidil kislota), uridin -3' va 5' fosfatlar (uridil kislota).

DNKning mononukleotidlari: 2'-dezoksiadenozin -3' va 5' fosfatlar (dezoksiadenil kislota), 2/ dezoksiguanozin-3' va 5' - fosfatlar (dezoksiguanil kislota), 2' dezoksitimidin -3' va 5' fosfatlar (dezoksitimidil kislota), 2' dezoksitsitidin-3' va 5' fosfatlar (dezoksitsitidil kislota).

Monofosfatlarda fosfat atomi uglerodning 3' va 5' atomiga bog'langan bo'lsa ularni AMF, GMF, dAMF lar deb ataladi.

Nukleozidmonofosfatlardan tashqari, tirik organizmlarda nukleoziddifosfat va nukleozidtrifosfatlar uchraydi.

Nuklein kislota molekulari nukleotidlarning polimerlanishi natijasida hosil bo'lgan polinukleotidlar zanjiridan iborat. Nukleotidlar qoldig'i bir-biri bilan fosfat kislota yordamida birikadi. Fosfat kislota har doim bir nukleotid tarkibidagi riboza (dezoksiriboza)ning uchinchi S-atomi bilan, ikkinchi nukleotid tarkibidagi riboza (dezoksiriboza)ning beshinchi S-atomi bilan murakkab efir bog'lari orqali bog'lanadilar.

DNK tuzilmalari o'rtasidagi munosabatlar asosiy turlari quyidagilar: vodород; qutb, kovalent; molekular orasidagi kuchlar; Van der Waals.

DNK molekulasida ikkita o'ralgan spiraldan iborat. Har bir spiralning skeleti dezoksiriboza va fosfor kislotasining o'zgaruvchan qoldiqlari zanjiridir. Spirallar shunday yo'naltirilganki, ular asosiy o'qqa parallel ravishda ikkita teng bo'lmagan spiral yoy hosil qiladi. Bu oqsillar bilan to'ldirilgan gistonlar. Azotli asoslar spiral ichida joylashgan bo'lib, asosiy o'qqa deyarli perpendikulyar bo'lib, zanjirlar orasida bir-birini to'ldiruvchi juftlarni hosil qiladi. A...T va G...C.

Polinukleotid zanjirining skeleti uglevod va fosfat qoldiqlaridan iborat, geterosiklik azotli asoslar uglevodlar bilan N-b - glikozid bog'i orqali bog'langan.

Pentozadagi uglerod atomlarining raqamlanishi yuqoridagi kislorod atomidan boshlanadi va soat yo'nalishi bo'yicha ketadi. Oxirgi uglerod atomi (5") olinadi, u pentoza halqasidan tashqarida joylashgan va pentoza "dumini" hosil qiladi.

PIRIMIDIN, 1.3-diazin, $C_4H_4N_2$ — diazin sinfiga oid o'ziga xos hidli, rangsiz kristall modda.

Shakar molekulasidagi birinchi uglerod atomi $1C'$ ga azotli asos biriktirilgan.

Fosfor kislotasi qoldig'i gidroksil guruhining uchinchi va beshinchi uglerod atomlariga ($3C'$, $5C'$) biriktirilgan bo'lib, bu DNK va RNKning kislota guruhiga tegishli kimyoviy moddalarni aniqlaydi.

Adenin va guanin o'rtasida har doim ikkita vodorod aloqasi va guanin va sitozin o'rtasida uchta vodorod aloqasi hosil bo'ladi.

DNK biologik molekulalarning eng kattasi bo'lib, fosfor kislotasi qoldig'idan iborat to'rtta nukleotiddan iborat.

RNK azotli asoslar va fosfor kislotasi qoldiqlarini o'z ichiga olgan ribonuklein kislotadir.

Ikkalasi ham chiziqli polimerlar va besh uglerodli shakar qoldiqlaridan yaratilgan N-glikoziddir. Ularning orasidagi farq shundaki, RNK ning shakar qoldig'i riboza, suvda oson eriydigan pentoza guruhidan monosaxariddir.

4 ta uglerod atomi va 1 kislorod atomidan iborat halqa hosil qiluvchi ribozadan farqli o'laroq, dezoksiribozada ikkinchi uglerod atomi vodorod bilan almashtiriladi. DNK va RNK o'rtasidagi yana bir farq ularning hajmi - kattaroqdir. Bundan tashqari, DNKni tashkil etuvchi to'rtta nukleotiddan biri timin deb ataladigan azotli asos bo'lsa, RNKda timin o'rniga uning varianti - urasil mavjud.

RNKni tashkil etuvchi nukleotidlar tarkibida besh uglerodli shakar - riboza, azotli asoslar deb ataladigan to'rtta organik birikmalardan biri: adenin, guanin, sitozin, urasil (A, G, C, U) - va fosfor kislotasi qoldig'i. DNKni tashkil etuvchi nukleotidlar tarkibida besh uglerodli shakar - dezoksiriboza, to'rtta azotli asoslardan biri: adenin, guanin, sitozin, timin (A, G, C, T) va qolgan fosfor kislotasi bor.

Nukleotidlar tarkibida azotli asos bir tomondan riboza (yoki dezoksiriboza) molekulasiga, ikkinchi tomondan fosfor kislotasi qoldig'iga biriktirilgan.

Nukleotidlar bir-biri bilan uzun zanjirlar bilan bog'langan. Bunday zanjirning asosini muntazam ravishda almashinadigan shakar va organik fosfat qoldiqlari hosil qiladi va bu zanjirning yon guruhlari to'rt xil tartibsiz almashinadigan azotli asoslardan iborat. DNK molekulasi bir-biriga butun uzunligi bo'ylab vodorod bog'lari orqali bog'langan ikkita ipdan iborat strukturadir.

DNK molekulasi fosfat guruhi va azotli asosdan iborat.

Har bir nukleotid azotli asos, shakar (dezoksiriboza) va fosfat guruhidan iborat. Zanjirdagi nukleotidlar orasidagi bog'lanishlar dezoksiriboza va fosfat (F) guruhlari (fosfodiefir bog'lari) tomonidan hosil bo'ladi.

Pentoza molekulasidagi uglerod atomlari 1 dan 5 gacha raqamlangan. Fosfat uchinchi va beshinchi uglerod atomlari bilan birlashadi. Shunday qilib nuklein kislotalar bir-biriga bog'lanib, nuklein kislotalar zanjirini hosil qiladi. Shunday qilib, biz DNK zanjirining $3'$ va $5'$ uchlarini ajratib olishimiz mumkin. Misol uchun, agar bizga ketma-ketlikka ega bo'lgan DNK zanjiri berilsa $3'ATGTCCTAGCTGCTCG-5'$, keyin ikkinchi zanjir unga to'ldiruvchi bo'ladi va teskari yo'nalishda - $5'$ -uchidan $3'$ -uchgacha yo'naltiriladi: $5'-TACAGGATCGACGAGC-3'$.

Nazorat savollar:

1. Nukleozid nima?
2. Nukleotid haqida ayting.
3. Azot asoslariga nimalar kiradi?

4-amaliy mashg'ulot. POLINUKLEOTIDLARNING TUZILISHI VA ULARNING AHAMIYATI

Ishning maqsadi: Polinukleotidlarni o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Polinukleotid - nukleotidlardan tashkil topgan polimer molekulasi. Polinukleotidlar mononukleotid qoldiqlaridan hosil bo'lgan polimerik organik birikmalar. Polinukleotidlar biopolimerlar, nuklein kislotalar (lotincha yadrodan - yadro) nukleotid birliklari tomonidan hosil bo'lib, ular o'z navbatida azotli asos, karbohidrat reaktiv guruh va karbongidratlardan iborat. . Nukleotidlar zanjirlari fosfor kislotasi qoldig'i (fosfodiefir bog'i) orqali bog'lanadi. Ribonukleotid birliklaridan tashkil topgan polinukleotidlar ribonuklein kislotalar (RNK), dezoksiribonukleotid monomerlaridan tashkil topganlari esa dezoksiribonuklein kislotalar (DNK) deb ataladi. Ular nafaqat uglevod qoldiqlari, balki azotli asoslar turi bilan ham farqlanadi. Barcha nuklein kislotalarga adenin, sitozin va guanin, shuningdek timin (DNK) va urasil (RNK) kiradi. Polinukleotidlarni belgilashda nukleotid birliklarining qisqartirilgan nomlari 5' → 3' yo'nalishida, ya'ni chapdan o'ngga ko'rsatiladi. Agar bir nukleotidning fosfat guruhi boshqa nukleotidning 3'-OH guruhi bilan o'zaro ta'sir qilsa, fosfodiester bog'li dinukleotid hosil bo'ladi. Bunday dinukleotid 5' uchida erkin fosfat guruhini va 3' uchida erkin OH guruhini olib yuradi. Shuning uchun, boshqa fosfodiester bog'ining shakllanishi tufayli yangi mononukleotid biriktirilishi mumkin. Shu tarzda oligonukleotidlar va nihoyat polinukleotidlar hosil bo'ladi. Hujayralarda nuklein kislotalarning sintezi shablon sifatida rezident nuklein kislota molekulasidan foydalangan holda polinukleotidlarning yangi zanjirlarini hosil qiluvchi fermentlar tomonidan amalga oshiriladi. Muayyan nukleotid tarkibidagi polinukleotidlar DNK nanostrukturalarining strukturaviy elementlari yoki biogen nanozarrachalar elementlari sifatida ishlatilishi mumkin.

Polinukleotid (polinukleotid) [gr. poli - juda ko'p, lat. yadro - yadro va yunoncha eidos - tur] - mononukleotid qoldiqlaridan hosil bo'lgan polimerik organik birikma. Ribonukleotid bog'lanishlaridan tashkil topgan P. ribonuklein kislotasi (RNK), dezoksiribonukleotid monomerlaridan — dezoksiribonuklein kislotasi (DNK) deb ataladi. V. P. bitta nukleotidning shakari 3'-holatda fosfat guruhi orqali qo'shni nukleotidning shakariga 5'-holatda bog'langan. Polinukleotidlarni belgilashda nukleozid birliklarining qisqartirilgan nomlari 5' 3' yo'nalishida, ya'ni chapdan o'ngga ko'rsatiladi.

DNK va RNK, odatda, bir xil polinukleotidda bo'lmasa ham, to'rt turdagi nukleotidlar zanjirda istalgan tartibda paydo bo'lishi mumkin. Berilgan polinukleotid uchun DNK yoki RNK turlarining ketma-ketligi uning tirik organizmdagi funksiyasini belgilovchi asosiy omil hisoblanadi. Polinukleotidlar tabiiy ravishda

barcha tirik organizmlarda mavjud. Organizm genomi bir-biriga qo'sh spiral shaklida o'ralgan juda uzun polinukleotidlarning qo'shimcha juftlaridan iborat. Polinukleotidlar organizmlarda boshqa ko'plab rollarni o'ynaydi. Polinukleotidlar polimeraza zanjiri reaksiyasi (PCR) yoki DNK ketma-ketligi kabi biokimyoviy tajribalarda qo'llaniladi. Polinukleotidlar sun'iy ravishda oligonukleotidlardan, odatda 30 dan kam bo'linmalarni o'z ichiga olgan kichikroq nukleotid zanjirlaridan ishlab chiqariladi.

Polinukleotidlarning tuzilish xususiyatlari:

- 1) DNK makromolekulasining asosiy tuzilish chizig'i faqat pentoza va fosfor kislotasi birliklarining bir-biriga ketma-ket bog'lanishidan hosil bo'ladi;
- 2) azotli asoslar uglevod birliklari tomoniga biriktirilgan;
- 3) ular nuklein kislota makromolekulasining "chekkasini" hosil qiladi;
- 4) ortofosfor kislota qoldiqlari bir pentoza molekulasi uchun uchug'li uglerod atomi gidroksili va boshqa pentoza molekulasi uchun uchug'li uglerod atomi gidroksili bilan kimyoviy bog'lar hosil qilib (suv molekulalarining ajralib chiqishi hisobiga) uglevod birliklarini bir-biriga bog'laydi. Fosfor kislotasi qoldiqlari makromolekulyarlarning kislotali xususiyatlarini aniqlaydigan dissotsilanishga qodir bo'lgan yana bitta gidroksil guruhini saqlab qoladi;
- 5) nuklein kislotalar strukturasida eng muhimi pentoza va fosfor kislotasi qoldiqlaridan tashkil topgan asosiy zanjirga "biriktirilgan" azotli (pirimidin va purin) asoslar ketma-ketligi, ya'ni makromolekulada nukleotidlar ketma-ketligidir.

Nazorat savollar:

1. Polinukleotid nima?
2. Polinukleotidlar tuzilishi haqida ayting.
3. Polinukleotidlarning ahamiyati nimada?

5-amaliy mashg'ulot. DNK REPLIKATSIYASINING YARIM KONSERVATIV MEXANIZMI. DNKNI SEGREGATSIYASI

Ishning maqsadi: DNK replikasiyasining yarim konservativ mexanizmini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Replikatsiya (lotincha replicatio - yangilanish) - bu asosiy DNK molekulasi asosida ikkita qiz DNK molekulalarini yaratish jarayoni. DNK replikasiyasi replizoma deb ataladigan 15-20 xil ferment oqsillaridan tashkil topgan murakkab kompleks tomonidan amalga oshiriladi. Maxsus fermentlar yordamida ona DNKsining qo'sh spiral ikki ipga buralib, hosil bo'lgan har bir ipda ikkinchi zanjir tugallanib, ikkita bir xil qiz DNK molekulalarini hosil qiladi, keyinchalik ular alohida spirallarga o'raladi. Ona hujayraning keyingi bo'linishi paytida har bir qiz hujayra dastlabki ona hujayraning DNKsi bilan bir xil bo'lgan DNK molekulasi bitta nusxasini oladi. Bu jarayon irsiy axborotning nasldan naslga to'g'ri uzatilishini ta'minlaydi. RNK bu jarayonning eng muhim qismidir. Replikatsiya birligi replikon hisoblanadi. Termin F. Jakov va S. Brenner tomonidan taklif qilingan.

Replikatsiya DNK [nuklein kislotalarining](#) o'z-o'zidan hosil bo'lish jarayonidir.

Replikatsiya mexanizmining asosida DNK [molekulasining DNK](#) matritsasi (qolipi)da yoki RNK molekulasi RNK matritsasi fermentativ reaksiyalar yordamida sintezlanishi yotadi. Bu reaksiyalarni amalga oshiradigan fermentlar orasida 1 sek.da 1000 tagacha nukleotidni sintezlaydigan (bakteriyalarda) DNK polimeraza fermenti muhim o'rinni egallaydi. DNK molekulasida yarim konservativ xususiyatga ega, yangi hosil bo'layotgan 2 ta DNK molekulasidagi zanjirlarning biri "eski", boshqasi "yangi" bo'ladi. [Prokariotlar genomi](#), bitta, [eukariotlar genomi](#) juda ko'p replikonlardan tashkil topgan. Tirik organizmlarda [in vivo](#) sharoitida boradigan replikatsiya o'ta aniq jarayon hisoblanadi. Nuqsgali mutatsiyalarni vujudga keltiradigan xatoliklar juda kam bo'lib, avlodga nisbatan har bir nukleotid uchun 10⁹ dan yuqori bo'lmaydi. Eukariotlarda R. birmuncha sekin (sekundiga 100 [nukleotid](#)), ammo bir vaqgning o'zida bir DNK molekulasi bir necha nukleotidga amalga oshadi. Replikatsiyani xromosomalar sonining 2 baravar ortishi ham deyiladi. Bu jarayon asosida DNK replikatsiya si yotadi. 2 ta bir hil qosh spiralli molekulani hosil qilishga olib keladigan DNK molekulasidan aniq nusxa kochirish jarayoni replikatsiya deb ataladi DNK replikatsiyasi hujayra bo'linishining asosiy hodisasidir. Bo'linish vaqtida DNK to'liq va faqat bir marta takrorlanishi muhimdir. Bu DNK replikatsiyasini tartibga solishning muayyan mexanizmlari bilan ta'minlanadi.

Replikatsiya asosan boshlash bosqichida tartibga solinadi. Buni amalga oshirish juda oson, chunki replikatsiya har qanday DNK segmentidan emas, balki replikatsiyani boshlash joyi deb ataladigan qat'iy belgilangan qismdan boshlanishi mumkin. Genomda bunday saytlar faqat bitta yoki ko'p bo'lishi mumkin. Replikatsiyani boshlash joyi tushunchasi replikon tushunchasi bilan chambarchas bog'liq. Replikon - bu replikatsiyani boshlash joyini o'z ichiga olgan va ushbu saytdan DNK sintezi boshlanganidan keyin takrorlanadigan DNKning cho'zilishi. Bakterial genomlar, qoida tariqasida, bitta replikondir, ya'ni butun genomning replikatsiyasi faqat bitta replikatsiya boshlanishining natijasidir. Eukaryotik genomlar (shuningdek, ularning individual xromosomalari) ko'p sonli mustaqil replikonlardan iborat bo'lib, bu individual xromosoma replikatsiyasining umumiy vaqtini sezilarli darajada kamaytiradi. Hujayra bo'linish siklida har bir joyda replikatsiya boshlanishi sonini boshqaradigan molekulyar mexanizmlar nusxa ko'chirish sonini boshqarish deb ataladi. Xromosoma DNKsidan tashqari, bakteriya hujayralarida ko'pincha alohida replikon bo'lgan plazmidlar mavjud. Plazmidlar nusxalar sonini boshqarish mexanizmlariga ega: ular hujayra siklida plazmidning atigi bitta nusxasini yoki minglab nusxalarini sintezini ta'minlay oladilar.

Replikatsiya replikatsiya boshlangan joydan DNK qo'sh spiralinin yechilishi bilan boshlanadi va replikatsiya vilkasini hosil qiladi, to'g'ridan-to'g'ri DNK replikatsiyasi joyi. Har bir sayt replikatsiya bir yo'nalishli yoki ikki tomonlama bo'lishiga qarab bir yoki ikkita replikatsiya vilkalarini hosil qilishi mumkin. Ikki tomonlama replikatsiya ko'proq uchraydi.

Replikatsiya boshlanganidan bir muncha vaqt o'tgach, elektron mikroskopdan replikatsiya ko'zini kuzatish uchun foydalanish mumkin - xromosomaning DNK allaqachon replikatsiya qilingan va replikatsiya qilinmagan DNKning kengaytirilgan hududlari bilan o'ralgan hududi.

Replikatsiya vilkasida DNK asosiy fermenti DNK polimeraza bo'lgan katta protein kompleksini (replizoma) nusxa ko'chiradi. Replikatsiya vilkasi prokaryotlarda daqiqada taxminan 100 000 ta, eukariotlarda esa 500-5000 ta asosiy juftlik tezligida harakat qiladi.

DNK replikatsiyasi - bu fermentlar va oqsillar majmuasi tomonidan amalga oshiriladigan jarayon bo'lib, uning mohiyati hujayralar va organizmlarning avlodlarida genetik ma'lumotni uzatish uchun DNKning bir xil nusxalarini shakllantirishdir.

Replikatsiya tamoyillari:

1. To'ldiruvchilik
2. Antiparallelizm
3. Bir qutblilik
4. Urug'likka bo'lgan ehtiyoj
5. Uzluksizlik
6. Yarim konservativ

Replikatsiya uch bosqichda amalga oshiriladi:

1. replikatsiyaning boshlanishi
2. cho'zilish
3. replikatsiyani tugatish.

Replikatsiya jarayoni murakkab bo'lib, hujayra bo'linishi ya'ni mitoz vaqtida kuzatiladi. DNK ning replikatsiyasi ko'p bosqichli bo'lib, replikatsiya amalga oshishi uchun quyidagi sharoitlar zarur:

1) Qurilish materiali sifatida dezoksiribonukleoziduchfosfatlar (dATF, dGTF, dSTF, dTTF) bo'lishi kerak;

2) DNK ning qo'sh spiralining yechilishi;

3) Zatravka (tomizg'i) hosil bo'lishi kerak - (buning uchun ATF, GTF, STF, UTF zarur)

4) Zatravka hosil bo'lishi va DNKni yangi polinukleotid zanjirini hosil qilish uchun zarur fermentlar bo'lishi (geraza, xelikaza, DNK polimeraza I, II, III) kerak.

Ma'lumki, hozirgi kungacha replikatsiya jarayoni haqida to'liq va aniq ma'lumotlar yo'q. Lekin ilmiy asosda o'rganilgan replikatsiya jarayonining barcha bosqichlari juda tez va juda aniqlik bilan kechadi. 20 ta replikativ ferment va omillardan iborat bo'lgan kompleksni DNK-replikaza sistemasi yoki replisoma deb ataladi. 3 xil DNK-polimeraza –I, II, III mavjud. DNK zanjiri elongatsiyasiga DNK-polimeraza III javobgar. DNK-polimeraza I, III fermentativ faollikka ega bo'lishlaridan tashqari ular 5^1-3^1 va 3^1-5^1 ekzonukleaz faollikka ega. Shu munosabat bilan DNK oxiridan nukleotidlarni uzib tashlashlarini DNK polimeraza-I bajaradi.

Prokariotlarda DNK replikatsiyasining mexanizmi. Replikatsiyaning har, bir bosqichi uchun ma'lum fermentlar zarur.

1. Geraza – DNK matritsani, supperspiralni uzish uchun;
2. Xelikaza – komplementar azot asoslari orasidagi vodorod bog'larini uzish uchun;
3. DBO – DNK bog'lovchi oqsil. DNK bilan bog'lanib ajralgan spiralni bir – biriga qo'shilib ketmasligi uchun;

4. Primaza – yshbu ferment ishtirokida 5^1 oxiri – 3^1 yo'nalishida RNK zativka sintezlanadi.
5. DNK polimeraza – I yoki ribonukleaza – H – replikatsiyada RNK zativkani parchalaydi (gidrolizda qatnashadi);
6. DNK polimeraza – II – uning mexanizmida funksiyasi aniq emas;
7. DNK polimeraza – III – replikatsiyaning asosiy fermenti bo'lib, bir – biridan ajralgan DNK zanjirida 5^1 – 3^1 yo'nalishida DNK uchastkasi sintezida ishtirok etadi;
8. DNK – ligaza – yangi sintezlangan DNK fragmentlarini bir – biriga biriktiradi.

Replikatsiya mexanizimining asosi shundan iboratki bitta matritsali ona zanjirdan ikkita yangi qiz zanjir hosil bo'lishidan iborat. Buning natijasida qo'sh spiral yechiladi, bir biridan ajraladi, replikativ ayri hosil bo'ladi. DNK ning bitta zanjiri 5^1 - 3^1 yo'nalishida *boshlovchi* zanjir va DNK ning ikkinchi 3^1 - 5^1 yo'nalishida *kech qoluvchi* zanjiridan iborat.

Yarim konservativ model DNK strukturasiga mos bo'lib, unga ko'ra DNKning har bir zanjiri yangi va komplementar zanjir sintezlanishi uchun andoza bo'lib xizmat qiladi. Yarim konservativ - ona DNK zanjiri uzilib, gidrolizlanib, alohida yakka zanjirlar hosil bo'lib, ularning har biriga komplementarlik prinsipi asosida yangi zanjir birikib, ikkita qiz zanjir hosil bo'ladi.

Matritsali DNK ning spiralini - Geraza fermenti uzadi, asoslar orasidagi vodorod bog'larni – Xelikaza fermenti uzadi, natijada qo'sh spiral yechiladi va bir-biridan ajraladi, bunda replikativ ayri (vilka) hosil bo'ladi. Replikativ ayri hosil bo'lgan joyda (DBO) - DNK bog'lovchi oqsil bo'lib, spiralni brikib ketmasligini ta'minlaydi. DNKni 1ta zanjiri 3^1 - 5^1 yo'nalishida boshlovchi zanjir, boshqa zanjir esa *kech qoluvchi* zanjir deyiladi. Boshlovchi zanjir - DNK polimeraza - III yoki primaza fermenti ishtirokida RNK zativkadan boshlanadi. Keyin dezoksiribonukleotidlar va DNK polimeraza - III ishtirokida 5^1 - 3^1 yo'nalishida RNK va DNK gibridi hosil bo'ladi. So'ng DNK polimeraza - I yoki ribonukleaza - H zativkani parchalaydi va u muhitdan chiqib ketadi. Natijada DNKning qisqa zanjiri DNK polimeraza - III ishtirokida uzayadi va boshlovchi zanjir hosil bo'ladi. Aytish mumkinki DNK ning bitta zanjiri uzluksiz 5^1 - 3^1 yo'nalishida replikatsiya qilinadi, ya'ni replikativ ayri 5^1 - 3^1 yo'nalish bo'yicha bu zanjir boshlovchi zanjir deb ataladi. Boshqa zanjir uzlukli, qisqa fragmentlar hosil qilib sintezlanadi, yangi monomerlarni 3^1 – oxiriga birlashtiradi, ya'ni replikativ ayri yo'nalishiga qarama – qarshi. Bu *kech qoluvchi* zanjir 5^1 - 3^1 yo'nalishida primaza fermenti ishtirokida RNK zativkadan boshlanadi. Primazadan → RNK zativka hosil bo'ladi. RNK ning yakka zanjiri RNK zativkani → matritsali DNK zanjirga komplementar ketma – ket d-nukleotidlar qoldiqlari birikadi. Replikatsiya davrida hosil bo'lgan DNK ning ko'p qismi bo'lakchalar holatida bo'ladi. Bo'lakchalar Okazaki fragmentlari deb yuritiladi va 1000-2000ta nukleotid qoldiqlarini o'zida saqlaydi. Demak, Okazaki fragmenti sintezlanadi.

Okazaki fragmentlarini sintezi DNK polimeraza – III fermenti ishtirokida amalga oshadi. Sintezlangan fragmentlar uzlukli replikatsiya natijasida hosil bo'ladilar va so'ng bir birlari bilan bog'lanadilar. Okazaki fragmentlari sintezlangandan so'ng, RNK zativka DNK- polimeraza - I ta'sirida parchalanadi.

DNK - ligaza ishtirokida Okazaki fragmentlari tikiladi, DNK - ligaza Okazaki fragmentlarini qolip DNK ga komplementar ravishda bog'laydi va kech qoluvchi zanjir hosil bo'ladi. Kech qoluvchi zanjirda replikatsiya tugagandan so'ng, u replikatsiya qilinayotgan DNK bo'ylab yuqoriga suriladi, 2 ta yangi zanjir o'zining komplementar (matrisali zanjiri) zanjiri bilan bog'lanadi.

Xelikaza (helix - spiral) fermenti DNK ning replikativ ayri yaqinidagi qisqa bo'laklarini yechib beradi. Buning uchun 2ATF gidrolizidan hosil bo'ladigan energiya kerak. Har bir ajralgan zanjirga bir malekula DNK ni bog'lovchi oqsil birikadi, u komplementar juftlar hosil bo'lishi va qayta zanjirlarning birikishiga to'sqinlik qiladi. Qisqa ajralish ajralish va birikishlar DNK gipaza fermenti yordamida sodir bo'ladi u xelikozaga replikatsiya uchun DNK ni qayta aylantirishga yordam beradi.

Segregatsiya deb, DNK ning replikatsiyasi oqibatida sintezlanib ko'paygan yangi DNK molekulalarining yangi hosil bo'layotgan hujayralarga xromosoma tarkibida taqsimlanib o'tkazilish jarayoniga aytiladi.

Prokariot organizmlarda DNK molekulasini erkin holatda bo'lgani uchun segregatsiya jarayoni oddiy holatda kechadi. Ularda DNK molekulasining replikatsiyasi natijasida hosil bo'lib ko'paygan yangi DNK molekulalari yangi hosil bo'layotgan hujayralarga oqsillarsiz - «yalang'och» holatda taqsimlanib o'tkaziladi.

Eukariot organizmlarda segregatsiya jarayoni murakkab holatda namoyon bo'ladi. Ularda DNK replikatsiyasi natijasida hosil bo'lgan yangi DNK molekulalari kelgusi hujayra avlodlariga yangi hosil bo'lgan xromosomalar tarkibida taqsimlanib o'tkaziladi.

Nazorat savollar:

1. Replikatsiya nima?
2. DNK replikatsiyasi haqida ayting.
3. DNK replikatsiyasida qanday fermentlar qatnashadi?

6-amaliy mashg'ulot. RNK TURLARI VA ULARNING VAZIFALARI

Ishning maqsadi: RNK turlari va ularning vazifalarini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Ribosomal RNKlar ribosomalarning bir qismidir, hujayralardagi oqsillarni sintezi uchun javobgar tuzilmalar. Messenger RNKlari vositachilar sifatida ishlaydi va genetik ma'lumotni ribosomaga yetkazadi, bu xabarni nukleotidlar qatoridan aminokislotalar ketma-ketligiga aylantiradi. Ribosomal RNKlar oqsil sintez qiluvchi organellalar tuzilishida ishtirok etadi. Ribosomal RNKlarning bir qismi (28S, 18S va 5S) yadroda joylashgan. Ribosomal RNK mRNKning dastlabki hosil bo'lishida ishtirok etishi aniqlangan yadroda geterogen yadrolarga ega bo'lgan 2–10% RNKdan iborat. Ribosomal RNK (rRNK) ribosomalar deb ataladigan hujayra organoidlarining tarkibiy qismidir. Ribosoma ribosoma

oqsillari va rRNKdan iborat. Ribozomalar odatda ikkita kichik birlikdan iborat: katta va kichik bo'linmalar. Ribosomal subbirliklar yadroda yadro tomonidan sintezlanadi. Ribozomalar mRNK uchun bog'lanish joyini va katta ribosomal subbirlikda joylashgan tRNK uchun ikkita bog'lanish joyini o'z ichiga oladi. Tarjima paytida kichik ribosomal subbirlik mRNK molekulasi bilan birikadi. Shu bilan birga, tashabbuskor tRNK molekulasi bir xil mRNK molekulasidagi ma'lum bir kodon ketma-ketligini taniydi va bog'laydi. Keyinchalik yangi hosil bo'lgan kompleksga katta ribosomal subbirlik qo'shiladi. Ikkala ribosomal subbirlik mRNK molekulasi bo'ylab harakatlanib, mRNKdagi kodonlarni polipeptid zanjiriga aylantiradi. Ribosomal RNK polipeptid zanjiridagi aminokislotalar orasidagi peptid bog'lanishini hosil qilish uchun javobgardir. mRNK molekulasida tugatish kodoniga erishilganda, tarjima jarayoni tugaydi. Polipeptid zanjiri tRNK molekulasidan ajralib chiqadi va ribosoma yana katta va kichik subbirliklarga bo'linadi.

RNKning ikkinchi guruhi transfer RNK (tRNK) deb ataladi. Bu barcha RNKning 10-15% ni tashkil qiladi. 60 dan ortiq turlari ma'lum. Ularda molekulyar og'irligi 25-30 ming bo'lgan 75-90 ta nukleotid qoldiqlari mavjud. Ular oqsil sintezi jarayonida aminokislotalarni ribosomaga olib boradi. Hujayradagi har bir aminokislota uchun bitta, ikkita yoki undan ortiq tRNK mavjud. tRNKlar qaysi aminokislotalar tashilayotganiga qarab t-RNA_{val}, t-RNA_{clay} va boshqalar shaklida yoziladi. Uning umumiy ko'rinishi "beda bargi"ga o'xshaydi. t-RNK diagrammasidan ma'lumki, uning bir tomoni G bilan, ikkinchi tomoni esa SSA bilan tugaydi. Aminokislota har doim adenin bilan bog'liq. Bu molekula zanjirida oqsil sintezida mRNK kodonga mos keladigan triplet antikodon mavjud va tRNK aminokislotalarni ribosomaga «o'tkazadi». t-RNK birlamchi, ikkilamchi va uchinchi darajali tuzilishga ega. Transfer RNKlari har xil turdagi aminokislotalarni -20 faollashtirish va ribosomalarga o'tkazish uchun javobgardir. Xabarchi RNKdagi ketma-ketlikni tan oladigan har bir aminokislota uchun transfer RNK molekulasi mavjud. Bundan tashqari, to'g'ridan-to'g'ri oqsil sintezida ishtirok etmaydigan va genlarni boshqarishda ishtirok etadigan boshqa RNK turlari mavjud. Transfer RNK (tRNK) oqsil sintezining tarjima qismida muhim rol o'ynaydi. Uning vazifasi mRNKning nukleotid sekanslaridagi xabarni o'ziga xos aminokislotalar ketma-ketligiga aylantirishdir. Aminokislotalar ketma-ketligi birlashib, oqsil hosil qiladi. Transfer RNK uch dona soch ilmoqli yonca bargiga o'xshaydi. Uning tarkibida bir uchida aminokislota biriktiruvchi joy va o'rta tsikldagi antikodon joyi deb nomlangan maxsus bo'lim mavjud. Antikodon mRNK da kodon deb ataladigan ma'lum bir maydonni taniydi. Kodon aminokislotani kodlovchi yoki tarjima tugaganligini bildiruvchi uchta uzluksiz nukleotid asoslaridan iborat. RNKni ribosomalar bilan birga o'tkazish mRNA kodonlarini o'qiydi va polipeptid zanjirini hosil qiladi. Polipeptid zanjiri to'liq ishlaydigan oqsilga aylanishidan oldin bir nechta modifikatsiyaga uchraydi. Transfer RNK (tRNK) RNK molekulasi bo'lib, u oqsil sinteziga yordam beradi. Uning noyob shakli molekulaning bir uchida aminokislota biriktiriladigan joyini va aminokislota biriktirilish joyining teskari uchida antikodon mintaqasini o'z ichiga oladi. Tarjima paytida tRNKning antikodon mintaqasi xabarchi RNK (mRNA) da kodon deb nomlangan ma'lum bir sohani taniydi. Kodon ma'lum bir aminokislotani ko'rsatadigan yoki tarjimaning tugashiga ishora qiluvchi

uchta uzluksiz nukleotid asoslaridan iborat. tRNK molekulasi mRNK molekulasida bir-birini to'ldiruvchi kodon ketma-ketligi bilan tayanch juftlarni hosil qiladi. Shuning uchun tRNK molekulasida biriktirilgan aminokislota o'sib boruvchi oqsil zanjirida o'z joyiga joylashtirilgan.

Hujayradagi RNKning 65-80% ni ribosoma RNK (rRNK) tashkil qiladi. Bu RNK ribosomalarda, maxsus hujayra organellalarida saqlanadi. Ular rRNKning har xil turlarini aniqladilar -5S, 8S, 28S. Ularning molekulyar og'irligi 1,5-2 million bo'lib, 4000-6000 mononukleotid qoldiqlaridan iborat. rRNK hujayra oqsillari bilan bog'lanib, ribonukleoprotein zarrachalarini hosil qiladi.

RNKning uchinchi turi xabarchi RNK (mRNK) yoki oraliq mRNK (xabarchi) deb ataladi. Ushbu turdagi RNK umumiy RNKning 5% ni tashkil qiladi. U sitoplazma va yadroda ham uchraydi va nukleotid tarkibiga ko'ra DNK molekulasining ma'lum bir qismining nusxasi hisoblanadi. Bu RNK ma'lumotni DNK molekulasidan oqsil sintez qiluvchi organoid ribosomalariga olib boradi. I-RNKning molekulyar og'irligi millionga yaqin bo'lib, ularning nukleotid tarkibi sintezlangan oqsilning molekulyar og'irligiga qarab o'zgaradi. I-RNK sintezi yadroda boshlanadi, so'ngra sitoplazmaga o'tadi, ribosomaga joylashadi va oqsil sintezida shablon (matritsa) vazifasini bajaradi.

Messenger RNK bir necha qismlardan iborat bo'lib, ularning xabarchi qismi oqsil sintezida shablon vazifasini bajaradi. Informatsion bo'lmagan qism poliaden bo'laklaridan iborat (50-400 nukleotid qoldiqlari). I-RNK molekulasida poli A yonida 30 ta nukleotiddan iborat retseptor joylashgan bo'lib, u ribosoma bilan bog'lanishda ishtirok etadi. Molekulaning 5' uchida KEP (Engl. Cap-cap) deb nomlangan alohida tuzilish mavjud. Bu 7-metilganozin trifosfat bo'lib, u RNKni fermentlardan himoya qiladi va tarjimada ishtirok etadi. I-RNK molekulasining informatsion bo'lmagan qismi molekulaning barqaror bo'lishini ta'minlaydi. Xabarchi RNK sintezi yadroda boshlanib, sitoplazmada tugaydigan jarayon "qayta ishlash", ya'ni RNKning yetilishi deb ataladi. Messenger RNK (mRNA) DNKning transkripsiyasida muhim rol o'ynaydi. Transkripsiya - bu DNK tarkibidagi genetik ma'lumotni RNK xabariga ko'chirishni o'z ichiga olgan oqsil sintezidagi jarayon. Transkripsiya jarayonida transkripsiya omillari deb ataladigan ba'zi oqsillar DNK zanjirini yechib, RNK polimeraza fermentining faqat bitta DNK zanjirini transkripsiyalashiga imkon beradi. DNK tarkibida adenin (A), guanin (G), sitozin (C) va timin (T) to'rtta nukleotid asoslari mavjud (A-T va C-G). RNK-polimeraza DNKni mRNK molekulasiga transkripsiya qilganda adenin juftlari uratsil va sitozin juftlari guanin (A-U va C-G) bilan juftlashadi. Transkripsiya oxirida mRNK sitoplazmasiga oqsil sintezini yakunlash uchun tashiladi.

Nazorat savollar:

1. RNK nima?
2. RNKning qanday turlari bor?
3. tRNKning vazifasini ayting.

7-amaliy mashg'ulot. PROTSESSING JARAYONI VA UNING AHAMIYATI

Ishning maqsadi: Protsessing jarayonini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Pre - mRNK ning posttranskripsion o'zgarishi - yadroda RNK ning barcha turlari posttranskripsion yetilish yoki protsessing bosqichini o'taydilar. Protsessingda pre-RNK dagi axborot saqlamaydigan "ortiqcha" qismi olib tashlanadi va "yetilgan" – ma'lum bir vazifani bajaradigan RNK hosil bo'ladi. Protsessingda uchta jarayon bajariladi: 1. Gidroliz. Pre-RNK dagi axborot saqlaydigan qismlar kesib, ajratib olinadi; 2. Splaysing. Axborot saqlovchi "uzilgan" genlarning birikishi – splaysinggi kuzatiladi; 3. Modifikatsiya. RNK ning 5'- 3' -uchki qismlarining modifikatsiyasi amalga oshadi. Ushbu uchta jarayon protsessing deyiladi. Hosil bo'lan pre – RNK 5'-3' yo'nalishida bo'lib, 5' – tomoni har doim 3 ta fosfatdan (f – f – f) iborat, 3' – tomon oxiri esa erkin – OH guruhini saqlaydi. Protsessing -(ing. qayta ishlash - qayta ishlash, qayta ishlash, lot. procedo - o'taman, oldinga siljiyman), transkripsiya va translatsiyaning birlamchi mahsulotlarining ishlaydigan molekulalarga aylanishiga olib keladigan reaksiyalar to'plami. Elementlar funksional faol bo'lmagan prekursor molekulalarining parchalanishiga tobe bo'ladi. ribonuklein kislotasi (tRNK, rRNK, mRNK) va boshqalar. oqsillar. Eukariot hujayradagi faol bo'lmagan prekursor (preRNK) transport RNK (tRNK), messenjer RNK (mRNK), ribosoma RNK (rRNK) ning yetuk molekulalarini hosil qilish jarayoni protsessing yoki transkripsiyadan keyingi modifikatsiya deb ataladi. Qayta ishlash natijasida quyidagi harakatlar sodir bo'ladi: "qo'shimcha" oxirgi ketma-ketliklarni kesish; uzun birlamchi transkriptlarning parchalanishi; intronlardan transkripsiyalangan o'z hududlarini kesish; transkriptning 3' uchiga nukleozidlarni qo'shish; transkriptning 5' uchiga nukleotidlarni qo'shish; transkriptdagi asosiy o'zgartirish. Bunday holda, qayta ishlashning yakuniy bosqichi mRNK metilatsiyasi bo'lib, buning natijasida har 400 adenin qoldig'iga bittadan 6-metilladenin qoldig'i to'g'ri keladi. Protsessing-qayta ishlash nukleoprotein kompleksi shaklidagi funksional faol mRNK informofer oqsillar to'plamini o'z ichiga olgan hujayra yadrosini yadro membranasidagi teshiklar orqali tark etib, translatsiya uchun sitoplazmaga kirishi bilan yakunlanadi. Qayta ishlash transkriptni (transkripsiya natijasida hosil bo'lgan pre-mRNK) tarjima uchun mos bo'lgan etuk mRNKga aylantirish jarayonidir. Protsessing-qayta ishlash bosqichlari:

1) Qopqoqlash. Transkriptning 5' uchiga o'zgartirilgan guanindan iborat qopqoq qo'shiladi. Natijada, "qopqoq" (qopqoq) deb ataladigan narsa hosil bo'ladi. Qopqoqning vazifasi tarjimaning boshlanishi bilan bog'liq. Unga rahmat, mRNKning boshlang'ich joyi ribosomaga biriktirilgan. Qopqoq, shuningdek, transkriptni ribonukleazalarning halokatli ta'siridan himoya qiladi va birlashmada bir qator funktsiyalarni bajaradi. Qoplash va poliadenillanish transkripsiya bosqichida sodir bo'ladi. Qopqoq sintezlangan RNKning 5'-uchi RNK polimerazadan chiqarilgandan so'ng darhol hosil bo'ladi va poli-A transkripsiya tugagandan so'ng darhol hosil bo'ladi.

2) Poliadenizatsiya. Transkriptning 3' uchiga 100 dan 200 gacha adenin nukleotidlari biriktirilgan. Poliadenillanish natijasida RNKning 3' uchiga uzunligi taxminan 100-200 nukleotid (tarkibida adenin bor) bo'lgan poliadenil hududi (poli-A) qo'shiladi. Bu reaksiyalar poli-A-polimeraza fermenti tomonidan ta'minlanadi. Poliadenilatsiya uchun signal 3' oxiridagi AAUAAACA ketma-ketligidir. -CA joyida mRNK molekulasini kesiladi. Poly-A RNK molekulasini fermentativ degradatsiyadan himoya qiladi.

3) Birlashtirish-Splyasing. Bu transkriptdan kerakli bo'limlarni kesib, ularni bir-biriga yopishtirish jarayonidir. Eukariotlarda uzunlikning o'rtacha 5/6 qismi transkriptdan chiqariladi. Splicing - bu intronlarning kesilishi va ekzonlarning qo'shilishi. Eksonlar turli yo'llar bilan ulanishi mumkin. Shunday qilib, bitta transkriptdan turli mRNKlar hosil bo'lishi mumkin. Xabarchi RNKning birlashishi intronlarning uchlarini to'ldiruvchi va ular bilan bog'langan hududlarga ega bo'lgan kichik yadro RNKlarini o'z ichiga oladi. SnRNKga qo'shimcha ravishda turli xil oqsillar qo'shilishda ishtirok etadi. Hammasi birgalikda (oqsillar va snRNK) nukleoprotein kompleksini, spliceosomani hosil qiladi.

Nazorat savollar:

1. Protsessing nima?
2. Protsessingni ahamiyatini ayting.
3. Protsessingni qanday bosqichlari bor?

8-amaliy mashg'ulot. OQSILLARNING BIOSINTEZINING MOLEKULAR MEXANIZMI

Ishning maqsadi: Oqsil biosintezini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Biosintez - mRNK va tRNK molekulalari ishtirokida tirik organizmlar hujayralari ribosomalarida yuzaga keladigan aminokislotalar qoldiqlaridan polipeptid zanjirini sintez qilishning murakkab ko'p bosqichli jarayoni.

Oqsil biosintezida ishtirok etuvchi moddalar va hujayra tuzilmalari: DNK-Protein tuzilishi haqida ma'lumotni o'z ichiga oladi. Protein sintezi uchun shablon bo'lib xizmat qiladi. i-RNK-DNK dan oqsil molekulasining yig'ilish joyiga ma'lumot tashuvchisi. U genetik kodni o'z ichiga oladi. tRNK-Aminokislotalarni kodlash va ularni ribosomadagi biosintez joyiga olib borish Ribosomalar-Haqiqiy oqsil sintezi sodir bo'ladigan organella. Fermentlar-Protein biosintezini katalizlovchi. Aminokislotalar-Protein molekulasini qurish uchun qurilish materiali. ATP-barcha jarayonlarni energiya bilan ta'minlaydigan modda.

Proteinlar ko'p funksiyali biopolimerlar bo'lib, organizmlarning hayotiy jarayonlarining katta qismini tashkil qiladi. Shuning uchun tanada juda ko'p turdagi oqsillar mavjud. Masalan, ichak tayoqchasi bakteriyasi prokariotik organizmlar vakili hisoblanadi.

Biosintez - fermentlar yordamida sodir bo'ladigan biokimyoviy reaksiyalar jarayonida murakkab organik moddalarni yaratish jarayoni. Biosintez tirik qolish uchun zarurdir, busiz hujayra o'ladi.

Hujayradagi oqsil sintezi maxsus organellalar - ribosomalar ishtirokida davom etadi. Ular rRNK va ribosomalardan tashkil topgan membrana bo'lmagan organellalardir

Oqsillar. Har bir oqsildagi aminokislotalarning ketma-ketligi gendagi nukleotidlar ketma-ketligi - DNKning ushbu oqsilni kodlaydigan bo'limi bilan belgilanadi. Oqsildagi aminokislotalar ketma-ketligi va DNKdagi nukleotidlar ketma-ketligi va uni kodlovchi mRNK o'rtasidagi muvofiqlik universal qoida - genetik kod bilan belgilanadi. Oqsil haqidagi ma'lumot nuklein kislotada faqat bitta usulda - nukleotidlar ketma-ketligi shaklida yozilishi mumkin. DNK 4 turdagi nukleotidlardan iborat: adenin (A), timin (T), guanin (G), sitozin (C) va oqsillar - 20 turdagi aminokislotalardan. Shunday qilib, DNKdagi ma'lumotlarning to'rt harfli yozuvini yigirma harfli oqsil yozuviga aylantirish muammosi paydo bo'ladi. Genetik kod nukleotidlar ketma-ketligi va aminokislotalarning nisbati bo'lib, uning asosida bunday tarjima amalga oshiriladi.

Hujayradagi oqsil sintezi jarayonini ikki bosqichga bo'lish mumkin: transkripsiya va translatsiya.

Transkripsiya - bu DNK molekulasining segmentidan mRNK molekulasini sintez qilish jarayoni. Transkripsiya (lotincha transkripsiyadan - qayta yozish) hujayra yadrosida fermentlar ishtirokida sodir bo'ladi, uning asosiy ishi transkriptaza tomonidan amalga oshiriladi. Bu jarayonda DNK molekulasi shablon bo'ladi. Maxsus ferment genni topadi va DNK qo'sh spiraling bir qismini ochadi. Ferment DNK zanjiri bo'ylab harakatlanadi va komplementarlik printsiplig muvofiq xabarchi RNK zanjirini quradi. Ferment harakat qilganda, RNK shablonining o'sayotgan zanjiri molekuladan uzoqlashadi va DNKning qo'sh zanjiri tiklanadi. Ferment saytni nusxalash oxiriga yetganda, ya'ni to'xtash kodon deb ataladigan joyga etib borsa, RNK molekulasi shablondan, ya'ni DNK molekulasidan ajralib chiqadi. Shunday qilib, transkripsiya oqsil biosintezidagi birinchi qadamdir. Ushbu bosqichda ma'lumot messenjer RNK sintezi orqali o'qiladi. Axborotni nusxalash, garchi u allaqachon DNK molekulasida mavjud bo'lsa ham, quyidagi sabablarga ko'ra zarur: oqsil sintezi sitoplazmada sodir bo'ladi va DNK molekulasi juda katta va yadro teshiklari orqali sitoplazmaga o'tolmaydi. Va uning saytining kichik nusxasi - mRNK - sitoplazmaga o'tkazilishi mumkin. Transkripsiyadan so'ng katta hajmli DNK molekulasi yadroda qoladi, mRNK molekulasi esa "etilish" dan o'tadi - mRNKni qayta ishlash sodir bo'ladi. CEP mRNKning bu uchini RNK molekulalarini yo'q qiluvchi fermentlar bo'lgan RNazlardan himoya qilish uchun uning 5' uchida osilgan. 3' uchida poli(A) dumi tugallanadi, u ham molekulani himoya qilish uchun xizmat qiladi. Shundan so'ng, kesish amalga oshiriladi - kesish.

Translyatsiya-tarjima - ma'lumotni nukleotidlar tilidan aminokislotalar tiliga tarjima qilish. Tarjima aminokislotalardan oqsil molekulasini qurishning bevosita jarayonidir. Tarjima hujayra sitoplazmasida sodir bo'ladi. Tarjima ribosomalar, fermentlar va uch turdagi RNKni o'z ichiga oladi: mRNK, tRNK va rRNK. Tarjima paytida energiyaning asosiy manbai ATP molekulasi - adenozin trifosfor kislotasi.

Transkripsiya bosqichma-bosqich:

1. RNK polimeraza transkripsiyalangan DNK zanjirining 3' uchida joylashadi.

2. Cho'zilish boshlanadi - polimeraza DNK bo'ylab 5' uchi tomon "siljiydi" va DNKni to'ldiruvchi mRNK zanjirini hosil qiladi.

3. Polimeraza genning oxiriga etib boradi, DNKdan uchib ketadi va mRNKni chiqaradi.

4. Shundan so'ng RNKning yetilish jarayoni - qayta ishlash sodir bo'ladi.

Tarjima paytida messenjer RNKning nukleotidlar ketma-ketligi polipeptid zanjiri molekulasidagi aminokislotalar ketma-ketligiga aylantiriladi. Bu jarayon ribosomalarda sitoplazmada sodir bo'ladi. Olingan xabarchi RNKlar teshiklar orqali yadrodan chiqib, ribosomalarga yuboriladi. Ribosomalar noyob yig'ish apparatidir. Ribosoma mRNK bo'ylab siljiydi va ma'lum aminokislotalardan uzun polimerik oqsil zanjirini hosil qiladi. Aminokislotalar transfer RNKlari orqali ribosomalarga yetkaziladi. Har bir aminokislota trefoil shakliga ega bo'lgan o'ziga xos transfer RNKni talab qiladi. U aminokislota biriktirilgan joy va mRNK molekulasidagi komplementar kodon bilan bog'langan yana bir triplet antikodonga ega.

Xabarchi RNK zanjiri oqsil molekulasida zanjirida aminokislotalarning ma'lum bir ketma-ketligini ta'minlaydi.

Transkripsiya – genlar transkripsiyasi – RNK ning hosil bo'lishiga olib keladi. Transkripsiyada ayrim gen va genlarning guruhi ko'chirib yoziladi, bir sinf doirasidagi mexanizm ya'ni replikatsiyada esa ona DNK to'la kodlanadi. RNK ning barcha turlari ham yadroda sintezlanadi. DNK matritsasida kechadigan barcha sintez jarayonlar DNK da yozilgan axborot asosida amalga oshadi. RNK ning barcha turlari tRNK, rRNK va mRNK sintezlanishida asoslarning komplementar bo'lishiga binoan DNK asoslarining tartibi RNK asoslarining tartibini belgilaydi. Matritsa sifatida ikki zanjirli DNK dan foydalaniladi. Transkripsiya mexanizmi - DNKdan RNK hosil bo'lishi. Transkripsiyada xromosomalarda 95 % mRNK, 5% tRNK va rRNK to'g'ri keladi. Transkripsiya III bosqichdan iborat bo'ladi: 1. Initsiatsiya (boshlanishi); 2. Elongatsiya (davom etishi yoki cho'zilishi); 3. Terminatsiya (tugashi)

RNK sintezi ya'ni transkripsiya uchun quyidagi sharoit zarur: DNK matritsasida sintezlanayotgan RNK sintezida ishtirok etuvchi DNKga qaram RNK polimeraza fermenti, hamma 4 ta ribonukleozidtrifosfatlar (ATF, GTF, STF, UTF), Mg^{2+} ioni, yechilgan DNKning faol qismi, yani transkripsiyaga uchraydigan DNK bo'lagi. DNKdan RNKni hosil bo'lishida DNKning bir zanjiri olinadi va uni transkripton yoki operon deyiladi. Transkriptonning uzunligi 300 dan 10 00000000 tagacha ya'ni 10^8 nukleotidgacha bo'ladi. Transkriptonning transkripsiyalanadigan qismi promotor. Unga transkripsiyani yengillashtiradigan oqsillar va RNK-polimeraza birikadi. Transkripton promotor qismidan, akseptor zonasidan va intron - ekzonlar saqlagan struktur genlardan tuzilgan. Transkripton oxirida joylashgan nukleotidlar – terminator, transkripsiyani tamom bo'lgani haqida axborot beradi. Sintez $3' \rightarrow 5'$ yo'nalishida boradi.

Initsiatsiya DNK ga qaram RNK-polimeraza promotorga birikishi jarayonida sodir bo'ladi. RNK polimeraza fermenti olinadi, u 5 ta subbirlikdan tuzilgan, 1 tasi (sigma) σ -faktor, 4 tasi kor ferment (lot. cor – yurak) deyiladi. σ -faktor kor-fermentdan onsonlik bilan ajraladi. Bu σ -faktor promotor bilan bog'lanib, transkripsiyaning boshlang'ich nuqtasini belgilaydi. Sigma faktor promotor qismiga kelib joy tanlaydi, qolgan 4 ta kor- fermentlar shu joyga kelib joylashadi, sigma

faktor esa chiqib ketadi. Shu fermentlar DNK bo'ylab siljiydi (yuradi) ya'ni DNK ning nusxasini ko'chirib oladi. Demak, transkripsiyaning uzayishi - elongatsiyasi RNK-polimerazaning DNK matritsasi bo'ylab siljishi natijasida amalga oshadi. Navbat bilan keluvchi har bir nukleotid DNK-matritsadagi komplementar azot asosi bilan juftlashadi, RNK-polimeraza esa uni fosfodiefir bo'g'lari bilan RNK ning o'suvchi zanjiriga "biriktiradi". Nukleotid zanjir 5^1-3^1 yo'nalishida uzayadi.

Uzayish (elongatsiya) tezligi 1 soniyada 50-60 ta nukleotidni tashkil qiladi. DNK dan RNK nusxa olishi natijasida pre-mRNKga aylanadi. Bu jarayon davom etaveradi toki stop signal kelguncha. Bu transkripsiya deyiladi ya'ni DNKning 1ta zanjiridan pre-mRNK ning hosil bo'lishi deyiladi. Hosil bo'lgan pre-mRNK yetilmagan bo'ladi, u posttranskripsiya jarayoniga uchraydi. Pre - mRNK ning posttranskripsion o'zgarishi - yadroda RNK ning barcha turlari posttranskripsion yetilish yoki protsessing bosqichini o'taydilar. Protsessingda pre-RNK dagi axborot saqlamaydigan "ortiqcha" qismi olib tashlanadi va "yetilgan" – ma'lum bir vazifani bajaradigan RNK hosil bo'ladi. Protsessingda uchta jarayon bajariladi:

1. Hidroliz. Pre-RNK dagi axborot saqlaydigan qismlar kesib, ajratib olinadi;

2. Splyasing. Axborot saqlovchi "uzilgan" genlarning birikishi – splyasinggi kuzatiladi;

3. Modifikatsiya. RNK ning 5^1-3^1 -uchki qismlarining modifikatsiyasi amalga oshadi. Ushbu uchta jarayon protsessing deyiladi. Hosil bo'lan pre – RNK 5^1-3^1 yo'nalishida bo'lib, 5^1 – tomoni har doim 3 ta fosfatdan (f – f – f) iborat, 3^1 – tomon oxiri esa erkin – OH guruhini saqlaydi. Bundan tashqari pre – RNK da axborot saqlaydigan va saqlamaydigan qismlar bo'ladi. Bu qismlar ekzo va endonukleazalar ta'sirida gidrolizga uchrab ekzon va intronlarga bo'linadi. Hosil bo'lgan ekzon va intronlar splyasing jarayoniga uchraydi. Ya'ni intron va ekzonlar ajraladi. RNK ligaza fermenti ekzonlarni birlashtiradi, chunki ekzonlar faol gen saqlovchi qism bo'ladi. Ribonukleaza fermenti ekzonlarning parchalanmasligi uchun ular modifikatsiyaga uchraydi, mRNK ning molekulasini 7-metilguanozin qoldig'i trifosfat bog'i yordamida 5^1 - oxiriga "qalpoq" yoki "KEP" deb nomlanadigan oligonukleotid ulaniadi. Jarayon kepirlash deb ham yuritiladi. yshbu "qalpoq" 2 yoki 3 ta metillangan nukleotiddan iborat. Natijada metillangan "qalpoq" mRNK ni 5^1 -ekzonukleza ta'siridan himoya qiladi. 3^1 tomonida poli-A poliadenil fragmenti (200 nukliotiddan tuzilgan) bilan qoplanadi, bu yerda poliadenin polimeraza fermenti qatnashadi va RNK lar hosil bo'ladi. Transkripsiya oxirida sintezlangan RNK DNK dan ajraladi. Transkripsiyaning birlamchi mahsuloti RNK DNK transkriptonining komplementar holda to'liq nusxasi bo'lib hisoblanadi.

Hosil bo'lgan yetilgan RNK lar yadrodan informofer oqsili bilan qoplanib membrana yadrosidan kompleks holatda sitoplazmaga transportlanadi. Informofer oqsillar ularni parchalanishdan saqlaydi va o'tkazilishini yengillashtiradi. Bu yerda informofer oqsili matrisali RNK hosil bo'lib, 5 % ribosomal, transport RNK lar hosil qiladi. Transkripsiya va posttranskripsion o'zgarishlar asosan yadroda sodir bo'ladi, lekin ba'zi bir hollarda RNK yadrodan siroplazmaga o'tganda u yerda jarayon ma'lum darajada davom etishi mumkin. Yuqorida takidlab o'tilgandek, barcha yetilgan RNKlar yadrodan sitoplazmaga oqsillar bilan kompleks holatida

transportlanadi. Buning natijasida oqsillar ularni parchalanib ketishidan saqlaydi va (transportlanishini) o'tkazilishini yengillashtiradi.

Translyatsiya – yadrodan mRNK sitoplazmaga transportlanishi va ribosomalarda oqsil sintez bo'lishidir. Oqsil sintezida mRNK bilan bir qatorda kuzatuvchi informafer oqsilning ahamiyati katta. Translyatsiya ikki bosqichdan iborat. Ikkala bosqichi hujayrada turlicha yig'ilgan (hujayraning har hil qismida joylashgan) bo'ladi. 1. Bosqich: Rekognitsiya – aminokislotani tanish. Bu jarayon gialoplazmada amalga oshiriladi. Rekognitsiya, yoki aminokislotani tanish bosqichi. Aminokislotani tanishdan maqsad shundan iboratki, har bir aminokislotani o'zini tRNK si mavjud bo'lib, tRNK o'zining aktseptor qismidagi SSA–OH guruhi bilan aminokislotaning karboksil guruh tomoni bilan bog'lashdan iborat. Shunday ekan tRNK o'z o'zidan o'zining aminokislotasi bilan bog'lana olmaydi. Aminokislota faollanishi kerak bo'ladi. Shu maqsad uchun hujayra shirasida, tarjima qilishda “tarjimon” vazifasini bajaruvchi spetsifik fermentlar mavjud. Spetsifik fermentlar aminoatsil-tRNK-sintetazalar (qisqartirilgan ko'rinishi ARS azalar) deb ataladi. Proteinogen aminokislotalariga mos ravishda kamida 20 turdagi ARS azalar mavjud. ARS azalar – yuqori molekulali (molekulyar massasi 100.000-240.000), to'rtlamchi qurilishga ega. tRNK o'zining tanigan aminokislotasini tashiydi. Har bir aminokislotaning o'zining maxsus tRNKasi mavjud. tRNK o'zini aminokislotasini tanishi, tanlashida spetsifik (ARSazalarni) fermentlarni ahamiyati katta. tRNK o'ziga biriktirgan aminokislotani oddiy diffuziya yo'li orqali ribosomaga tashiydi. Aminoatsil – tRNK lar ko'rinishida ribosomaga kirgan aminokislotalar birin ketin bog'lanishi natijasida oqsil yig'ilishi amalga oshadi. 2. Bosqich: Oqsilning sintez bo'lishi – ribosomada sodir bo'ladi.

Oqsil sintez bo'lishi ya'ni translyatsiyaning amalga oshirilishi uchun quyidagilar zarur: mRNK – genetik matritsa sifatida. Aminoatsil tRNK – mRNK matnini o'qish va oqsil yig'ilishida aminokis-lotalar manbai sifatida. Ribosomalar – aminokislotalarni polipeptid zanjirida ketma-ket bog'lanishi uchun. GTF – Energiya manbai sifatida ribosomalarda oqsil sintezi uchun. F1, F2, F3 Oqsilli faktorlar – ribosomalarni m RNK ga birikishini yengillashtirish va ribosomalarda oqsil yig'ilishining turli bosqichlarida yordam berish sifatida. Mg^{2+} , K^{+} ionlari – Kofaktor sifatida kerak bo'ladi. Oqsil sintezida ishtirok etmaydigan ribosomalar bir zumda parchalanib ketadi. Hujayra shirasida ribosomalar erkin yoki endoplazmatik to'ring membranasi bilan bog'langan bo'ladi.

Translyatsiya – mRNK dan axborotni oqsil qurilishiga o'tkazishdir. Bu mexanizm transkripsiyaga o'xshash uch bosqichda amalga oshiriladi: 1. Bosqich. Initsiatsiya – boshlanish; 2. Bosqich. Elongatsiya – polipeptid zanjirining uzayishi; 3. Bosqich. Terminatsiya – tugashi; Initsiatsiya bosqichi. Translyatsiyaning boshlovchi - mRNK ning 5¹ oxiridagi birinchi kodoni AUG yoki GUG hisoblanadi. Bu kodonlar initsirlovchi – kodon hisoblanib, aynan shulardan ribosomalarda translyatsiya boshlanadi. Ushbu boshlovchi kodonlar metionin aminokislotasi bilan bog'langan tRNK ning antikodoni bilan bog'lanadi. Translyatsiyaning boshlanishi sekinlik bilan amalga oshadigan jarayon hisoblanadi. Yadrodan sitoplazmaga o'tgandan so'ng mRNK ribosomaning kichik subbirligi va katta subbirlikka birikadigan yuzasi bilan bog'lanadi. Subbirlikka birikuvchi nuqta RNK ning 5¹-uchi

bilan yonma-yon joylashgan. Doimo RNK dasturini “o’qish” $5' \rightarrow 3'$ yo’nalishida amalga oshiriladi. Subbirlklar yuzasida mRNK ning faqatgina ikkita kodoni joylashishi mumkin. AUG yoki GUG initsirlovchi kodonlarga metionin-tRNK ning antikodoni mos keladi. Eukariotlarda ikkita metionin-tRNK ning turi mavjud. Doimo ulardan bittasi har doim initsiatsiyada, ikkinchisi elongatsiya jarayonida qatnashadi. Prokariotlarda oqsil biosintezi formilmetionil-tRNK dan boshlanadi. Bu biosintezda NH_2 – guruh formil guruh bilan tormozlangan.

Initsiatsiyada kamida uchta oqsilli faktorlar (F1, F2, F3) ishtirok etib, ular ribosoma va GTF ni tashkil etuvchi komponentlariga ta’luqli emas. Oqsilli faktorlar mRNK ga ribosomaning kichik subbirligi va GTF bilan bog’lanishini yengillashtiradi. Bu birlamchi kompleks (initsiatsiya faktorlari – kichik subbirlik – mRNK – GTF) ga katta subbirlik birikadi va shundan so’ng initsiatsiya oqsil faktorlari ribosomadan ajraladi. Katta va kichik subbirlklarning birikishi uchun zarur energiya GTF ning gidrolizidan hosil bo’ladi. Shundan so’ng, hosil bo’lgan initsiator kompleks (mRNK, ribosoma va metionin – tRNK) elongatsiya jarayoniga tayyor. Metionin – tRNK ning antikodoni bilan mRNK ning boshlovchi kodoni – AUG bilan juftlashadi, tRNK ning aktseptor qismi esa ribosomaning katta subbirligiga birikkan bo’ladi.

Elongatsiya bosqichi. Elongatsiya – Polipeptid zanjirini bitta aminokislotaga uzayishi. Sintez doimo N – oxiridan boshlanib, C – oxirgi tomoni bilan tugaydi. Polipeptid zanjirini bitta aminokislotaga o’sish jarayoni elongatsiya hisoblanib, elongatsiya 3 qadamdan iborat: 1-qadam. Bog’lanish. Aminoatsil-tRNK ning bog’lanishi; 2- qadam. Transpeptidatsiya (yoki peptidning ko’chirilishi, tashilishi); 3-qadam. Translokatsiya (yoki mRNK ning bitta tripletga joylashishi);

Birinchi qadam. Ribosomaning chap qismida tRNK joylashgan bo’lib, u antikodoni bilan mRNK ning kodoniga, aktseptor qismi esa uzayuvchi peptidga bog’lanadi (rasmda dipeptid keltirilgan). Bu peptid peptidil-tRNK ga kirub, ribosomaning katta subbirligida joylashgan P-qism bilan bog’lanadi. Birinchi qadamda – mRNK ning ikkinchi kodoni erkin bo’ladi. Erkin kodon bilan ribosomaga kirgan aminoatsil-tRNK o’zining antikodoni bilan birikadi. Avval tRNK ning aminoatsil uchi ribosomaning katta subbirligidagi A-qismi bilan, kodon antikodonlar bilan bog’lanib, ribosomadan tRNK sitoplazmaga transport qilinadi. Bog’lanishda GTF ning fosfat bog’larini energiyasidan foydalaniladi. Elongatsiya mRNK tarkibidagi tekst o’qib bo’linmaguncha tugamaydi.

Ikkinchi qadam – Transpeptidatsiyada peptid bog’i hosil bo’ladi. Bu qadamda tRNK lar ribosomaning A qismidan aminokislotalar P qismiga ko’chirilib peptid bog’ini hosil qiladi. Jarayon initsirlovchi N-formilmetionin qoldig’ini tashib yurgan tRNK dan peptidiltransferaza yordamida A qismida joylashgan aminokislotaning aminoguruhiga ko’chirilishi tufayli dipeptidil tRNK hosil bo’ladi.

Uchinchi qadam – bunda GTF energiyasi kerak bo’ladi. Ribosomaga birikkan dipeptidil tRNK va mRNK bilan keyingi aminokislota qoldig’i ham huddi avvalgi aminokislota qoldig’i kabi birikadi. Har bir aminokislota o’suvchi polipeptid zanjiriga birikishi uchun ikki molekula GTF energiyasi sarflanadi. Elongatsiya mRNK tarkibidagi tekst o’qib bo’linmaguncha tugamaydi.

Terminatsiya bosqichi. Oqsil sintezi polinukleotid zanjirida maxsus to'xtovchi kodonlar – terminirlovchi kodonlar UAA, UAG, UGA ta'siri ostida bo'ladi. Ular terminatsiya kodonlari deyiladi. Bu 3 ta tripletlar ma'nosiz tripletlar deyilib, birorta ham aminokislotani kodlamaydilar. Terminatsiyaga uchragan kodonlar bilan birorta ham tRNK bog'lana olmaydilar. Hujayrada oqsil sintezlanishi uchun mRNK da ribosoma bir emas, bir nechta (4-20 tagacha) ribosomalar mavjud. Bu ribosomalar – poliribosomalar deyiladi. Poliribosomalar borligi hisobiga boshqa mRNK nusxa (kopiya) si kerak bo'lmaydi. Terminatsiyalovchi kodonlar ta'siri ostida stop signal kelib, oqsil sintez bo'lishi to'htaydi. Ribosomalar bir qadam oldinga siljiydi va mRNK ga boshqa yangi kichik so'ng katta ribosomalar birikib, yuqoridagi jarayon kabi oqsil sinezi amalga osha boshlaydi.

Elongatsiyada 1 soniyada polipeptid zanjirlar 1ta aminokislotalarga ko'payaveradi (tez ko'payadi). Agarda oqsil sintezi rilizing omillari hamda ribonukleaza fermenti ta'siriga uchrasa gidroliz amalga oshadi. Parchalangandan so'ng yana biosintez amalga oshishi uchun, qaytatdan mRNK hosil bo'lishi, katta – kichik ribosoma subbirliklari kerak. Lekin, qaysi oqsil mitoxondriyada qaysinisi sitoplazmada sintezlanishi aniq emas.

Oqsilning translyatsiyadan keyingi o'zgarishlari. Ba'zi polipeptid zanjirlarning translyatsiyadan keyingi o'zgarishi qator aminokislota qoldiqlarining fosforlanishi va atsetillanishidan iborat. Oqsilning translyatsiyadan keyingi o'zgarishi turli xil translyatsiya mahsulotlarining parchalanishidan iborat. Bu barcha oqsillarga xos. Keng tarqalgan jarayondir. Masalan oshqozon-ichakda fermentlarning faollanishi oqsilning parchalanish natijasidir. Translyatsiya borishi jarayonidayoq oqsillar uchlamchi qurilishga ega bo'la boshlaydilar va sintezlangan oqsil ribosomadan ajralib chiqqandan so'ng shakllanish oxirigacha yetadi. Bir qism oqsillar o'tmishdoshlari shaklida sintezlanadi. Ular hujayra sitoplazmasida proteazalar ta'siri ostida proteolizga uchraydilar.

Oqsil sintezi biosintez jarayonlari orasida eng murakkabi bo'lib, uning ayrim bosqichlarida polipeptid zanjir initsiatsiyasi (boshlanishi), uzayishi, tamomlanishi va oqsillarning hosil bo'lishida 100 ga yaqin fermentlar, maxsus oqsil faktorlar, umuman 200 ga yaqin makromolekulalar ishtirok etadi. Bu makromolekulalarning ko'plari ribosomalarning uch o'lchovli murakkab strukturasi tashkiliy qismlaridir.

Oqsil biosintezi apparati shu qadar murakkab bo'lishiga qaramay jarayon juda katta tezlikda o'tadi. Masalan: E. Coli da 100 aminokislotadan iborat oqsil zanjirining yaratilishi uchun hujayra ribosomalariga 5 sekundgina kifoya.

Oqsil biosintezi jarayonini 3 ta bosqichga bo'lish mumkin:

1-bosqichda transkripsiya, matriks DNKda iRNK sintezlanishi va uning ribosomaga o'tishi amalga oshadi. Bu yo'l bilan sintezlanadigan oqsilning tuzilishi to'g'risidagi informatsiya yadrodan ribosomalariga, ya'ni oqsil sintez bo'ladigan joyga o'zatiladi. 2-bosqichda oqsil sintezlanishi uchun zarur aminokislotalarning maxsus tRNK bilan birikishi va ularning shunday ko'rinishda ribosomaga o'tishi sodir bo'ladi. 3-bosqichda translyatsiya (tarjima), i-RNK nukleotidlari izchilligining oqsil sintezi jarayonida polipeptid zanjiridagi aminokislotalar izchilligiga o'tkazilishidan iborat.

1955 yilda M. Xoglend aminokislotalar ATF yordamida aktivlashishini ochgan. Aminokislotalarning aktivlanishi va ribosomaga tashilishida ishtirok etuvchi makromolekulalar bo'lib, ularning turi 100 ga yetadi. Bu gruppaga aminoatsil-t-RNK sintetaza va transport RNKlar kiradi. Bu aminokislotalarni aktivlashtiruvchi fermentlar (aminoatsil-t-RNK sintezalar) dastlab, 1956-yilda Lipman laboratoriyasida ajratib olingan. Bu fermentning normal faoliyati uchun reaksiya muhiti da Mg^{+2} ionlari bo'lishi shart.

Nazorat savollar:

1. Oqsil biosintezi nima?
2. Transkripsiya bosqichini ayting.
3. Translyasiya haqida ayting.

9-amaliy mashg'ulot. GEN FAOLIYATINING BOSHQARILISH MEXANIZMI

Ishning maqsadi: Gen faoliyatining boshqarilish mexanizmini o'rganish.

Kerakli materiallar: tirik organizmlar.

Ishning borishi. Prokariotlarda gen faolligini tartibga solish birligi operondir. Strukturaviy genlar guruhining transkripsiyasi ikki element - regulyator gen va operator tomonidan tartibga solinadi. Operator ko'pincha promotor va strukturaviy genlar o'rtasida joylashgan; regulyator geni operon yonida yoki undan bir oz masofada joylashgan bo'lishi mumkin.

Agar regulyator genining mahsuloti repressor oqsil bo'lsa, uning operatorga biriktirilishi strukturaviy genlarning transkripsiyasini bloklaydi, transkripsiyani boshlash uchun zarur bo'lgan ma'lum bir saytga, promotorga RNK polimeraza biriktirilishiga to'sqinlik qiladi. Aksincha, agar faol apoinduktor regulyator oqsil bo'lib xizmat qilsa, uning operatorga biriktirilishi transkripsiya boshlanishi uchun sharoit yaratadi. Operonlarning ishini tartibga solish, shuningdek, past molekulyar og'irlikdagi moddalarni - operonlarni tashkil etuvchi strukturaviy genlarning induktorlari yoki korepressorlari vazifasini bajaradigan effektorlarni ham o'z ichiga oladi.

Effektor molekulalarning ishiga ta'sir qilish turiga qarab induktsiyalangan (yoqilgan) va repressiya qilingan (o'chirilgan) operonlar mavjud.

Induksiyalanuvchi operonlarda effektor repressor oqsiliga birikadi va uning operator bilan bog'lanishini bloklaydi, strukturaviy genlarning transkripsiyasini oldini oladi. Operonni tartibga solishning bunday turi salbiy deb ataladi. Salbiy nazoratda korepressor effektor faol bo'lmagan repressorga biriktiriladi va uni faollashtiradi. Natijada, repressor operatorga ulanish qobiliyatiga ega bo'ladi va shu bilan operonning transkripsiyasini bloklaydi. Shunday qilib, salbiy nazorat ostida effektor repressor bilan bog'lanadi, bu uning inaktivatsiyasiga yoki faollashishiga olib keladi va shunga mos ravishda operonning transkripsiyasini induksiya qiladi yoki bostiradi.

Induksiyalanuvchi operonlar ijobiy tartibga soluvchi nazorat ostida bo'lishi mumkin, bunda effektor tartibga soluvchi oqsil bilan bog'lanadi va uni faollashtiradi.

Faol apoinduktor operatorga biriktiriladi, bu esa operonning transkripsiyasiga imkon beradi. Har ikkala tartibga solish nazorati ham repressiya qilingan operonlarga ta'sir qiladi. Repressiya qilingan operonning ishlashining ijobiy nazorati ostida, korepressor faol apoinduktor bilan bog'lanadi. Bunday kompleks operatorga qo'shila olmaydi va strukturaviy genlar transkripsiya qilinmaydi. Ijobiy nazoratda effektor repressorga emas, balki apoinduktorga bog'lanadi, bu esa transkripsiyaga imkon beradi yoki aksincha, blokirovka qiladi, bu esa effektor bilan bog'lanish natijasida apoinduktor qanday shaklga (faol yoki nafaol) ega bo'lishiga bog'liq. Bir nechta strukturaviy genlardan tashkil topgan operonning transkripsiyasi polikistronik mRNK molekulasi shaklida bitta umumiy transkriptni hosil qilganligi sababli, bu genlarning barchasi muvofiqlashtirilgan tarzda ifodalanadi.

Ko'pincha gen faolligi darajasi unda sintez qilingan mRNK miqdori, ya'ni RNK polimeraza fermenti faolligi bilan bog'liq. Strukturaviy gen boshlanishidan oldin joylashgan va RNK polimeraza faolligi darajasini aniqlaydigan DNK ketma-ketliklari tartibga soluvchi ketma-ketliklar deyiladi. Bunday ketma-ketliklardan biri RNK polimeraza bog'laydigan DNKning cho'zilishidir. Bu hudud promoter deb ataladi.

Promotorning asosiy ketma-ketligi mRNK sintezining boshlanishi chastotasini aniqlaydi va bu ketma-ketlikda bir bazani almashtirish boshlash chastotasining 1000 marta kamayishiga olib kelishi mumkin.

Promoter kuchli yoki kuchsiz bo'lishi mumkin. Kuchli promoter mRNK sintezini tez-tez boshlaydi, zaif promoter esa kamroq. Boshqa tomondan, promoter tartibga solinadigan yoki tartibga solinmagan bo'lishi mumkin. Masalan, b-laktamaza promotori tartibga solinmagan, ammo kuchli. Bunday promouterlardan foydalanish har doim ham qulay emas. Gap shundaki, ko'p miqdorda protein bakteriyalarning ko'payishiga to'sqinlik qilishi mumkin. Bundan tashqari, rekombinant DNKning og'ir transkripsiyasi plazmid replikatsiyasiga xalaqit berishi mumkin va u yo'qoladi. Shuning uchun, tartibga solinadigan kuchli promouterlardan foydalanish qulayroqdir (induksiya), ularning kiritilishi va shuning uchun begona oqsilning sintezi katta bakteriya massasi olinganda amalga oshirilishi mumkin.

Ba'zi plazmid vektorlari repressor genining haroratga sezgir oqsil mahsuloti bilan tartibga solinadigan promotorni o'z ichiga oladi. Repressor oqsili ma'lum haroratlarda faol bo'lib, promouterning ta'sirini bloklaydi.

Regulyator geni repressor hosil qiladi, bu esa operator genini bloklaydi va shu bilan strukturaviy genlarda g-RNK shakllanishiga to'sqinlik qiladi. Effektor (induktor) mavjud bo'lganda, repressor inaktivlanadi va gep-operator ish boshlash uchun struktura genlariga signal beradi. Repressor effektor bilan birlashganda faollashadi, bu holda effektor rolini strukturaviy genlar tomonidan hosil qilingan fermentlardan birining mahsuloti bajarishi mumkin.

Eukaryotik gen faolligini tartibga solish genetik ma'lumotni amalga oshirishning barcha bosqichlarida amalga oshiriladi: DNKning dekompektizatsiyasi (giston oqsillarining atsetilatsiyasi, metillanish); Transkripsiyalar; -RNKni qayta ishlash (alternativ birlashma); Yadrodan sitoplazmaga yetilgan RNKni ko'chirish; sitoplazmada mRNKning buzilishi; Translyatsiya; oqsillardagi posttranslyatsion o'zgarishlar (kimyoviy modifikatsiya va funksional faol polipeptidni yo'q qilish).

Bakteriyalar tarjima boshlanishini tartibga solishda ishtirok etadigan kamida uchta protein omiliga ega, ular IF-1, IF-2, IF-3 belgilari bilan belgilanadi (ingliz tilidan, boshlash omili - boshlash omili). Boshlanish kompleksini shakllantirish jarayonida IF-b omili ribosomaning 30S-kichik birligi bilan bog'lanib, kichik va katta bo'linmalarning erta birlashishini oldini oladi. IF-2 boshlang'ich omili formilmetioninni tashuvchi aminoatsil-tRNK bilan bog'lanadi va IF-1 ishtirokida uning ribosomaning kichik bo'linmasining 3'-joyiga to'g'ri biriktirilishini ta'minlaydi, boshlang'ich kompleksining shakllanishini yakunlaydi. Initiatsiya 30S va 50S ribosoma bo'linmalarining birlashishi bilan tugaydi, bu ribosomani tark etadigan barcha uchta boshlang'ich omilning chiqishi bilan birga keladi.

Nazorat savollar:

1. Gen nima?
2. Prokariotlarda gen faolligini tartibga solish birligi nima?
3. Gen faoliyatining boshqarilish mexanizmini ayting.

Mundarija

	Kirish.....	3-bet
1	Molekulyar biologiya fanini biotexnologiyaga tadbiq etish.....	4-bet
2	Nuklein kislotalarning strukturaviy tuzilishi va ularning o'zaro farqlanishi.....	5-bet
3	Nuklein kislotalarning kimyoviy tarkibi. Azot asoslarining o'zaro bog'lanishi.....	9-bet
4	Polinukleotidlarning tuzilishi va ularning ahamiyati.....	13-bet
5	DNK replikatsiyasining yarim konservativ mexanizmi. DNK ning segregatsiyasi.....	14-bet
6	RNK turlari va ularning vazifalari.....	18-bet
7	Protsessing jarayoni va uning ahamiyati.....	21-bet
8	Oqsillarning biosintezining molekulyar mexanizmi.....	22-bet
9	Gen faoliyatining boshqarilish mexanizmi.....	29-bet
	Foydalanilgan adabiyotlar.....	33-bet

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI

«MUXANDISLIK TEXNOLOGIYALARI» FAKULTETI

«BIOTEXNOLOGIYA» KAFEDRASI

«MOLEKULAR BIOLOGIYA»

FANIDAN BAKALAVRIAT TALABALARI

UCHUN LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR

BO'YICHA USLUBIY QO'LLANMA



TOSHKENT – 2022

Annotatsiya. Mazkur o'quv uslubiy qo'llanma 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) bakalavriatura yo'nalishlari bo'yicha bakalavrlar tayyorlash o'quv rejasiga ko'ra «Molekulyar biologiya» fani bo'yicha tuzilgan namunaviy dastur asosida tayyorlangan. Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma 5320500-biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) tahsil olayotgan bakalavriatura talabalari uchun mo'ljallangan.

Tuzuvchilar:

Mirxodjayeva D.D. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. t.f.f.d. PhD

Mirzayeva D.A. “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti. b.f.f.d. PhD

Taqrizchilar:

V.Z.Nurmuhamedova TKTİ “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

K.K.Nazarov TDTU “Biotexnologiya” kafedrası dotsenti

Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakulteti, “Biotexnologiya” kafedrası yig'ilishida muhokama qilingan va fakultet Kengashiga muxokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

Kafedra mudiri, dotsent

Nazarov K.K.

Ushbu o'quv uslubiy qo'llanma TDTU, “Muxandislik texnologiyalari” fakultetida Kengashida muhokama qilingan va Universitet Kengashiga muhokama uchun tavsiya etilgan. Bayonnoma №

**Fakultet Kengashi raisi,
professor**

Maxmudov N.N.

O'quv uslubiy qo'llanma Toshkent davlat texnika universiteti Ilmiy kengashida muhokama qilingan va tasdiqlangan («___» _____ 2022 yil, ___sonli bayonnoma).

KIRISH

Molekulyar biologiya fani hayotning paydo bo'lishini molekulyar darajada o'rganadi, ya'ni tirik organizmlarning asosiy xossalari, o'sishi va rivojlanishi, ko'payish va differensiyalanish, irsiyat va immunitet, harakatlanish va tashqi muhitga moslashish va boshqa juda ko'p biologik makromolekulalarning molekulyar asosini o'rganishga va tushuntirishga qaratilgan fan.

Molekulyar biologiyaning fan tariqasida dunyoga kelishi Jeyms Uotson bilan Frensis Krikning kashfiyotiga bog'liq. Bu olimlar tomonidan DNK dezoksiribonuklein kislotasining modeli kashf etilgan, ya'ni DNK molekulasi qo'sh spiral tuzilishga ega ekanligini isbot qildilar (1953). Bu kashfiyot irsiy belgilar qanday saqlanadi va avloddan-avlodga qanday o'tadi, degan muammolarni ham hal qilish imkoniyatini berdi. «Transkripsiya» va «Translyatsiya» mexanizmlar aniqlandi. So'ngra genetik kodlarni «molekulyar genetikadagi» muammolari hal qilindi. Genetik kod muammosini hal qilinishi avvalo qaysi nukleotid yoki nukleotidlar to'plami qanday aminokislotani ifodalashi mumkin, degan masalani hal qilishdan iborat.

1953 yilda Gamov (AQSH) genetik kod 3 ta nukleotid to'plamdan (tripletlikoddan) tashkil topgan bo'lishi kerak, degan g'oyani ilgari surdi. Haqiqatdan ham, bunda 4 xil nukleotid yordamida 64 ta kombinasiya hosil qilish mumkin. 1961 yil boshlarida ingliz olimi Krik genetik kod muammosining matematik analiziga asoslanib, kod haqiqatdan ham tripletli xarakterga ega, degan xulosaga kelgan. Triplet Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Molekulyar biologiya kompleks fan hisoblanadi, chunki u yuksak molekulyar organik birikmalarning tuzilishi haqidagi eng so'nggi ilmiy ma'lumotlariga asoslanadi. Molekulyar biologiya eng muhim biologik makromolekulalarning turli shakllari va ularning evolyutsiya formalarini o'rganadi. Bu fan eng avvalo nuklein kislotalarning, oqsillar va boshqa makromolekulalarning strukturasini, shuningdek, eng muhim hujayra komponentlari (xromosom) yadro, plazmatik membrana, mitohondriyalar, Goldji kompleksi, lizosomalar, ribosomalarning strukturaviy tuzilishi bilan ularning bajaradigan funksiyasi orasidagi bog'lanishni o'rganadi. Molekulyar biologiya evolyutsiya qanday borishini, uning mexanizmini ochib beradi, ya'ni jonli organizmlar uchun hos bo'lgan rivojlanish fenomenini ham molekulyar tekislikda oqsillar va nuklein kislotalarning o'zaro munosabati, reaksiyalari shaklida ifodalaydi.

1-laboratoriya ishi. MOLEKULYAR BIOLOGIYA FANIDAN LABORATORIYA ISHLARIDA FOYDALANILADIGAN ASBOB- USKUNALAR VA REAKTIVLAR BILAN TANISHTIRISH

Mashg'ulot o'tkazishdan maqsad: Molekulyar biologiya fanidan laboratoriya ishlarida foydalaniladigan asbob-uskunalarni o'rganish.

Apparat va asboblari: Sentrifuga, termostat, quritish shkafi, pH-metr, spektrofotometr, petri likobchasi, kolba.

Ishning borishi. Sentrifuga (rus. sentr — markaz va lot. fuga — qochish) — bir jinsli bo'lmagan birikmalar — suspenziyalar, emulsiyalar, shlamlar (kukunsimon tog' jinslari) va b. ni markazdan qochma kuch ta'sirida tarkibiy qismlarga ajratuvchi apparat. Asosiy qismi o'z o'qi atrofida katta tezlikda aylanib turuvchi rotor (baraban) hisoblanadi. Ish prinsipiga ko'ra, sentrifuga tindiruvchi va suzuvchi (filtrlovchi) turlarga bo'linadi. Tindiruvchi sentrifuga suyultirilgan suspenziyalardagi suyuq fazani tindirish va konsentratsiyalangan suspenziyalardagi qattiq fazani cho'ktirish uchun ishlatiladi. Suzuvchi sentrifuga tarkibida suyuq fazasi kam bolgan suspenziyalar va shamlardan qattiq fazani suzib (ajratib) olish uchun ishlatiladi. Tuzilishiga ko'ra, sentrifuganing yaxlit rotorli va teshik-teshik (perforatsiyalangan) rotorli turlari bo'ladi. Sentrifuga yana uzluksiz ishlaydigan va davriy ishlaydigan xillarga ham bo'linadi. Yuqori dispersli sistemalar va yuqori molekulyar birikmalar (mas, oqsillar) ni tadqiq qilishda ultratsentrifugalash apparatlaridan foydalaniladi.

Laboratoriyada foydalanish uchun sentrifugalarning rotorning aylanish tezligi yoki yuklangan namunalarning umumiy hajmi bo'yicha tasniflanadi. Hajmi bo'yicha: Mikrosentrifugalari (har biri 1,5-2,0 ml eppendorf tipidagi naychalarni qayta ishlash uchun); Umumiy laboratoriya sentrifugalari (jami namuna hajmi taxminan 0,5 L); Ixtisoslashgan yuqori hajmli sentrifugalari (odatda 6 l gacha). Ixtisoslashgan sentrifugalarga misol qilib qonni qayta ishlovchi sentrifugalarni keltirish mumkin. Bunday sentrifuganing qurilmasi bitta vazifaga ixtisoslashgan - polietilen idishlarni qon bilan aylantirish. Bunday sentrifuga yuqori quvvatli dvigatelga ega, ammo rotor tezligi energiya iste'moli jihatidan shunga o'xshash sentrifugadan ancha past.

Sentrifuga uchun namuna hajmi uning zichligi 1 g/sm^3 bo'lgan holda hisoblanadi, agar namuna zichligi $1,2 \text{ g/sm}^3$ dan yuqori bo'lsa, qayta ishlangan materialning hajmini kamaytirish kerak, aks holda sentrifuga sinishi mumkin.

Tezlik bo'yicha: Mikrosentrifugalari (eppendorf naychalarini qayta ishlash, odatda, yuqori tezlikni talab qilmaydi) - tezligi 13 400 rpm gacha; Umumiy laboratoriya sentrifugalari - sezilarli darajada ko'p qirrali bo'lib, eppendorf probirkalari va rotor tezligi 200 rpm dan 15 000 rpm gacha bo'lgan boshqa konteynerlar bilan ishlay oladi; Yuqori mahsuldorlikka ega sentrifugalari, ular ham yuqori tezlikda - ular barcha mumkin bo'lgan laboratoriya vazifalarini hal qilishadi (ultratsentrifugalashdan tashqari); rotor tezligi 1000 rpm dan 30 000 rpm gacha; ultratsentrifugalari - rotor tezligi 2000 rpm dan 150 000 rpm gacha.

Sentrifuga sentrifugalash prinsipi asosida ishlaydi. Sentrifugalash - burchak harakati yordamida idish ichida mavjud bo'lgan zarrachalarni (materiallarni)

(probirka, chelaklar va boshqalar) cho'ktirish jarayoni. U har xil o'lcham va shaklga ega bo'lgan zarralarni ajratishda yordam beradi.

Zarracha ma'lum bir burchak tezligi bilan harakatlanayotganda, zarracha aylanish markaziga qarab markazga tortuvchi kuchni boshdan kechiradi. Bizning holatda, markazga qo'yuvchi kuch suyuqlik muhitining yuqoriga ko'tarilishi va namuna zarralari sirtlarida mavjud bo'lgan zaryadlangan zarralar tufayli elektrostatik repulsiyaga bog'liq. Ichki markazlashtiruvchi kuchni muvozanatlash uchun psevdokuch (markazdan qochma kuch sifatida tanilgan) markazdan uzoqda harakat qiladi. Bu jarayon davomida zarracha markazdan uzoqlasha boshlaydi. Bu zarrachalarning inertsiasiga bog'liq. Turli zarralar turli xil cho'kish tezligiga ega bo'lishi mumkin. Cho'kish tezligi yuqori bo'lsa, zarracha tezda poydevorga joylashadi. Bu zarralarni ajratishga yordam beradi.

Sentrifuga suspenziya va aralashmalarning suyuq va qattiq fazalarini ajratish uchun xizmat qiladi. Sentrifuga ikkita rotor bilan jihozlangan bo'lib, ular elektr dvigatelinining valiga ketma-ket o'rnatiladi: to'rtta stakanli rotor-prestavina va shisha yoki polietilen probirkalar uchun uyachalari bo'lgan burchakli rotordan iborat. Rotorlarning aylanish tezligi – 2000 dan 6000 gacha aylanish/minutga teng bo'ladi.



Sentrifuga

Sentrifuganing tarkibiy qismlari: Dvigatel - Rotorning aylanishi uchun javobgar.

Rotor - namunani ushlab turadi va vosita tezligida aylanadi.

Tezlik regulyatori - Dvigatelning aylanish tezligini boshqaradi.

Tezlik sensori (ixtiyoriy)- Rotor tezligini aniqlaydi va uni ko'rsatadi. Agar tezlik belgilangan qiymatdan oshsa, mashina displeyda xato signalini beradi.

Eshik sensori (ixtiyoriy)- Eshikning ochiq yoki yopiqqligini aniqlaydi. Eshik ochiq bo'lsa, mashina displeyda xatoni ko'rsatadi.

Balanssizlik sensori (ixtiyoriy) - Agar rotor namunani noto'g'ri yuklash tufayli muvozanatsiz bo'lsa, mashina displeyda xatoni ko'rsatadi. Agar mashina moyil bo'lsa yoki maksimal tezlikda aylansa ham paydo bo'lishi mumkin. Shundan so'ng, mashina aylanishni to'xtatadi.

Rotor sensori (ixtiyoriy)- Rotor turini yoki modelini aniqlaydi. Agar rotor mos kelmasa, sentrifuga ishlamaydi.

Kompressor (ixtiyoriy) - Sovutish/muzlatish sentrifugasida kompressor ishlatiladi.

RPM - bu daqiqada aylanishni anglatadi. Rotor - bu vosita tomonidan aylanadigan santrifujning aylanadigan qismi. Rotorning bir daqiqada bajaradigan to'liq aylanishlar soni RPM deb nomlanishi mumkin. Sentrifuganing aylanish tezligi

300 dan 150 000 gacha bo'lishi mumkin. Zarurat (qo'llash) asosida turli xil sentrifuga mashinalari ishlab chiqilgan.

RCF nisbiy markazdan qochma kuch degan ma'noni anglatadi. Bu g-kuch sifatida ham tanilgan. Nomidan ko'rinib turibdiki, bu rotor aylanayotganda hosil bo'ladigan tortishish kuchining bir turi. Bu kuch har doim markazdan uzoqda harakat qiladi.

Termostat (termo... va yun. statos — qo'zg'almas) — trani doimiy saklash uchun mo'ljallangan asbob; atrofmuhitdan metall, shisha yoki boshqa materialdan qilingan issiqlik izolyatsiyasi bilan himoyalangan idish. Idishning ichida qizdirgich va termorostlagich bo'ladi. O'zgarmas trani ta'minlash uchun toza moddalar yoki barqaror aralashmalarning suyuqlanish va qaynash tralari, ya'ni fazaviy o'tishlar tralari barqarorligidan foydalaniladi yoki maxsus qurilmalar — termorostlagichlar qo'llanadi. T.da issiklik eltgichlar sifatida spirt, suv va moy (o'rtacha temperatura — 200 — 800K uchun), suyultirilgan tuz va metallar (800K dan yuqori temperatura uchun) ishlatiladi. Termostatlar har qanday qurilmada yoki tizimda belgilangan haroratgacha qiziydigan yoki sovigan holda ishlatiladi. Termostatlar bir nechta bo'limlardan tashkil topgan. Faqatgina maxsus termostat kamerasi har xil turdagi tadqiqotlar uchun zarur shart-sharoitlarni ta'minlashga qodir. Ishonchli va izolyatsiya qilingan kamera atrof-muhit bilan issiqlik almashinuvini oldini oladi va o'rganish uchun zarur bo'lgan shartlarni aniq olish imkonini beradi. Termostatlarning quvvati tashqi ta'sirlardan ehtiyotkorlik bilan izolyatsiya qilingan yuqori sifatli zanglamaydigan po'latdan yasalgan. Maxsus sensorlar va ko'rsatkichlar tadqiqot jarayonini boshqarishni osonlashtiradi.

Haroratni saqlash uchun zamonaviy qurilmalar yorug'lik va shisha eshik yoki deraza bilan jihozlangan, bu jarayonning borishini vizual ravishda kuzatish imkonini beradi. Qurilmaning ishlashida yuqori darajadagi xavfsizlik favqulodda vaziyatlar va nosozliklarni oldini olish uchun maxsus signalizatsiya tizimini o'z ichiga oladi.



Termostat

Mikroblarning o'sishi va rivojlanishi har bir tur uchun doimiy, optimal haroratni talab qilganligi sababli, laboratoriyada mikrob kulturalarini etishtirish uchun maxsus termostatlar (yunoncha therme - issiqlik, statos - doimiy, o'zgarmas) bo'lishi kerak. Termostatlar - oldindan belgilangan (yuqori yoki past) harorat doimiy ravishda avtomatik ravishda saqlanadigan qurilmalar.

Termostatlar metall qutilar - issiq havo (havo termostatlari) yoki suv (suv termostatlari) bilan isitiladigan ikki devorli shkaflardir.

Hozirgi vaqtda ko'pchilik termostatlar elektr isitish bilan ishlab chiqilgan. Tashqarida termostatlar issiqlik izolyatsiyalovchi material (asbest va boshqalar) bilan

qoplangan. Haroratni ma'lum darajada ushlab turish uchun termostatning yuqori qopqog'iga termometr va termostat o'rnatilgan. Qurilmaga biriktirilgan pasportda batafsil tavsiflangan turli xil termostatlar tizimlari (simob, bimetalik) mavjud.

Termoregulyatorli quritish shkafi laboratoriya idishlarini quritish va sterillash, turli materiallarni doimiy massasigacha quritish uchun mo'ljallangan. Quritish shkafi issiqlikka chidamli materiallardan (metall va asbest) tayyorlanadi va ishchi kamerasi 200°C gacha bo'lgan haroratga mo'ljallanadi. Shkafning ichi teshikli metall listlardan tayyorlangan polkalar bilan jihozlangan bo'lib, ularning ustiga quritiladigan idishlar yoki materiallar joylashtiriladi.



Termoregulyatorli quritish shkafi

Sovutkichlar ishlatiladigan yoki muzeyga oid mikroorganizmlar kulturasini, oziq muhitlari, ba'zi bir reaktivlar va aralashmalarni +4°C atrofidagi haroratda saqlash uchun ishlatiladi.

Laboratoriya pH-metri vodorod ionlarining (pH) faolligi va oksidlanish-qaytarilish potensialini o'lchash uchun mo'ljallangan.



pH-metr

pH o'lchagichning harakati elektrod tizimining EMF qiymatini o'lchashga asoslangan bo'lib, u eritmadagi vodorod ionlarining faolligi - pH (vodorod indeksi) bilan mutanosibdir. O'lchash davri, asosan, ma'lum bir elektrod tizimi uchun pH birliklarida to'g'ridan-to'g'ri sozlangan voltmetrdir (odatda o'lchash elektrodi shisha, yordamchi kumush xlorid).

Qurilmaning kirish qarshiligi juda yuqori bo'lishi kerak - kirish oqimi 10-10A dan oshmasligi kerak (yaxshi qurilmalar uchun u 10-12A dan kam), kirishlar orasidagi izolyatsiya qarshiligi kamida 1011 Ohm, chunki yuqori probning ichki qarshiligi - shisha elektrod.

Ko'pgina zamonaviy shisha elektrodlar kumush xlorid bilan bog'langanda, EMF pH = 7 da, ya'ni neytral muhitda taxminan nolga teng bo'lishi uchun ishlab chiqariladi.

Asosiy (ishqoriy) pH da (lekin odatda 14 dan oshmasligi kerak - shisha elektrod uchun chegara), sensorning chiqish kuchlanishi 0 dan -0,41V gacha $((14-7) \cdot -0,059 \approx -0,41)$ o'zgaradi. Masalan, pH 10 (neytraldan 3 birlik yuqori), $(10-7) \cdot -0,059 = -0,18V$. Kislotali pH da sensorning chiqish kuchlanishi 0 dan +0,41V gacha. Masalan, pH 4 (neytraldan 3 birlik past), $(3-7) \cdot -0,059 \approx +0,18V$.

To'liq ma'lum pH qiymatiga ega bo'lgan bufer eritmalariga nisbatan kalibrlashda ikkita asosiy sozlash amalga oshiriladi - daromad nishabi va nol ofset. Izopotensial nuqta (pH_i , E_i) ham o'rnatiladi - tizimning EMF haroratga bog'liq bo'lmagan pH qiymati va mos keladigan EMF. Zamonaviy elektrod tizimlari (kuchli kislotalar va ishqorlar uchun maxsus elektrodlar bundan mustasno) $pH = 7$ atrofida izopotensial nuqta va ± 50 mV ichida EMF bilan amalga oshiriladi. Bu xususiyatlar shisha elektrodning har bir turi uchun belgilanadi.

Refraktometr quruq moddalar, shakar, spirt, aminokislotalar, vitaminlar va ekstrativ moddalar miqdorini aniqlash uchun ishlatiladi. Shkala sindirish ko'rsatgichni va quruq moddalar miqdorining massasi foizini ko'rsatadi.

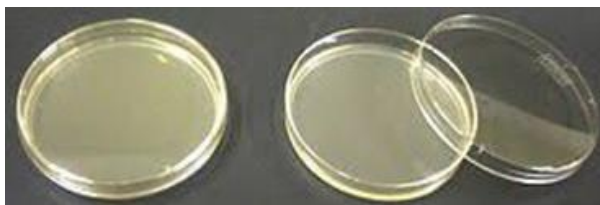
Spektrofotometr optik zichligini hamda suyuq va qattiq moddalarining o'tkazuvchanlik koeffitsientlarini o'lchash uchun ishlatiladi.



Spektrofotometr

Molekulyar biologik tadqiqotlar uchun har xil shisha idishlar talab etiladi. Petri likobchasi (diametri 10 sm, balandligi 1,5 sm) qattiq oziq muhitda mikroorganizmlarni o'stirish uchun, tebratgichga o'rnatiladigan kolbalar aerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun, probirkalar va naychali kolbalar bijg'ish jarayonlarini o'rganish uchun qo'llaniladi. Oddiy kimyoviy idishlardan ham keng foydalaniladi. Bular jumlasiga tubi yassi, konussimon, Erlenmeyer kolbasi, tubi dumaloq, o'lchov kolbalari; darajalangan (1, 2, 5, 10 ml li) pipetkalar, mor pipetkalari (1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100 ml li), kapillyarli Paster pipetkalari, 18x2,0, 18x1,5, 15x1,5 sm li agronomik probirkalari (rangsiz), byuretkalar, tomizg'ichlar, voronkalar, menzurka, silindr, byuks va boshqalar kiradi.

Petri idishi - bu xuddi shunday shakldagi shaffof qopqoq bilan yopilgan, lekin diametri biroz kattaroq bo'lgan past tekis silindr ko'rinishidagi shaffof laboratoriya idishidir.



Petri chashkasi

Mikroorganizmlarni miqdoriy aniqlash uchun ommaviy ishlab chiqarishda tayyor ozuqa muhiti bo'lgan bir martalik Petri idishlari keng qo'llaniladi. Qopqoq tarkibni changdan himoya qiladi, lekin ko'pincha o'rganilayotgan mikroorganizmlar uchun zarur bo'lgan havo aylanishiga to'sqinlik qilmaydi.

Nazorat savollari:

1. Sentrifuga vazifasini ayting.
2. Petri chashkasi nimaga ishlatiladi?
3. Molekulyar biologiya fanidan laboratoriya ishlarida foydalaniladigan asbob-uskunalarini ayting.
4. Spektrofotometr nima?
5. Termostat nima?

2-laboratoriya mashg'ulot. O'SIMLIK HUYAYRASI ORGANELLALARINI AJRATISH

Ishning maqsadi: O'simlik hujayrasi organellalarini ajratishni o'rganish.

Kerakli jihozlar va asbob-uskunalar: Mikroskop, sentrifuga, 5 ml 60% saxaroza eritmasi, UV-Vis spektrofotometri, blender, pipetka, 5 gramm 7 kunlik no'xat o'simtalarini, 5 ml 30% sukroz, 0,95 ml distillangan suv.

Ishning borishi: Differensial sentrifugalash va zichlik gradienti sentrifugalash ikkita o'simlik organellalarini, ya'ni xloroplastlar va mitoxondriyalarni ajratish uchun ishlatiladi. Fotosintez xloroplastlarda sodir bo'ladi, bu jarayon orqali yashil o'simliklar karbonat angidrid va suv yordamida uglevodlar va kislorod ishlab chiqarish orqali yorug'lik energiyasini kimyoviy energiyaga aylantiradi. Mikroskop ostida xloroplastlarni loviya shaklidagi, membrana bilan o'ralgan yashil organellalar sifatida ajratish mumkin. Bu usul zichlik gradienti sentrifugalash orqali hujayra gomogenatidan xloroplastni ajratib olish va tahlil qilishni tavsiflaydi. Barcha eritmalar va namunalar muzda saqlanishi kerak:

50 ml lik sentrifuga naychalarida ikkita sukroz gradientini tayyorlang: Har bir naychaning tubiga 5 ml 60% saxaroza eritmasidan pipetka soling. Har bir naychaga 5 ml 50% saxaroza, so'ngra 10 ml 40% saxaroza soling. Qatlamlar bir-biridan farq qilishi kerak. (Maslahat: har bir saxaroza qatlamini qo'shayotganda trubaning uchi va pipetka uchi trubadagi suyuqlik yuzasiga tegib tursin). Qatlamlarning yuzalarini Paster pipetkasining uchi bilan aralashtiring. Gradientning ustiga 5 ml 30% sukroz qatlami qo'shing. Namunani tayyorlashda gradientni muzda saqlang. O'tkir pichoq bilan 5 gramm 7 kunlik no'xat o'simtalarini kesing. Urug'larni ustara yoki qaychi bilan mayda bo'laklarga bo'ling va ularni 20 ml muzli gomogenlashtiruvchi buferni o'z ichiga olgan sovutilgan blenderga o'tkazing. Yuqori tezlikda blenderning besh marta 2-3 soniyali portlashi bilan gomogenlashtiring. Gomogenatni to'rtta qatlamli doka orqali (muz ustida) filtrlang, suyuqlikning ko'p qismini olib tashlash uchun matoni siqib qo'ying. Birinchi filtratni gravitatsiya bilan gomogenlash tamponi bilan namlangan Miracning bir qatlami orqali filtrlang. Har bir gradientning ustiga 10 ml filtrat qatlamini qo'llang. Ikki gradient bir-biriga nisbatan muvozanatlanganligiga ishonch hosil qiling. Agar kerak bo'lsa, trubkani muvozanatlash uchun gomogenlash tamponini qo'shing. 4°C va 4000 rpm 5 daqiqa davomida sentrifuga qiling, so'ngra 10 daqiqa davomida tezlikni 10 000 rpm ga oshiring. Sentrifuga to'xtab tursin. Rotordan gradientlarni ehtiyotkorlik bilan olib tashlang. Gradientda ikkita yashil chiziq paydo bo'ladi. Naychaning pastki qismidagi yashil chiziq buzilmagan

xloroplastlarni o'z ichiga olgan fraksiyani anglatadi. Pasteur pipetkasi bilan gradientning yuqori qismini ehtiyotkorlik bilan olib tashlang. Ikki xlorofill fraksiyasini muz ustida toza naychalarda alohida saqlang. Nam o'rnatilgan xlorofill o'z ichiga olgan fraksiyalar bilan slaydlar tayyorlang va ularni mikroskop ostida tekshiring. Ikki yashil chiziqdagi xlorofill tarkibini tahlil qiling. Har bir namuna uchun 50 µl gradient fraksiyasi va 0,95 ml distillangan suvni pipetka bilan toza sentrifuga trubasiga soling. 4 ml aseton qo'shing. Klinik sentrifugada (5 min) sentrifugalang. 652 nm da UV-Vis spektrofotometri yordamida eritmaning absorbsiyasini o'lchang. Xlorofill tarkibini formuladan foydalanib hisoblang: $A_{652} \times 29 = \text{xloroplast fraksiyasida 10 mkg xlorofill}$. DNK izolyatsiyasi uchun xloroplastlarning butun qismini muzlatib qo'ying va saqlang.

3-laboratoriya mashg'ulot. MIKROORGANIZMLARDAN NUKLEIN KISLOTALARNI AJRATISH

Ishning maqsadi: Mikroorganizmlardan nuklein kislotalarni ajratishni organish.

Kerakli jihozlar va asbob-uskunalar: PCR, suv hammomi, lizozim, natriy dodesil sulfat, EDTA, lizat, xloroform yoki fenol, xaotrop tuzi (6-8M guanidin xlorid yoki 4M guanidin tiosiyanat), yuvish vositasi (0,5% sarkosil) va disulfid bog'lanishini kamaytiradigan (10-100 mM merka), 4M guanidin tiosiyanat, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,1 M merkaptotanol, 0,5 mkl) yoki xuddi shu 0,5 mkl urolakoil, Xamirturush biomassasi (25-30 mkl) 50 mkl ekstraktsiya buferi III (6M guanidin xlorid, 30 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,5% lauroil sarkosin)da 1,5 ml eppendorf, 1000 mkl deionizatsiyalangan (distillangan) suv, 70% etanol, aseton, sentrifuga.

Ishning borishi: 1-ish. PCR uchun mos bo'lgan DNK preparatlarini ajratib olish. Buning uchun sinov namunasi (xamirturush, zamburug'lar va gram-musbat mikroblar hujayralari) tarkibida xaotrop tuzi (guanidin tiosiyanat yoki guanidin xlorid), disulfid bog'lanishni kamaytiradigan vosita (2-merkaptotanol) bo'lgan bufer eritmasida suspenziya qilinadi, Suspenziya suvning qaynash nuqtasida 3-7 daqiqa davomida isitiladi, so'ngra hujayralar sentrifugalash orqali cho'ktiriladi. Supernatant tashlanadi va mikroorganizmlarning hujayra membranalari bilan kuchli bog'langan genomik DNKni o'z ichiga olgan cho'kma ikki marta suv bilan yuviladi va distillangan suvda yoki TEda to'xtatiladi. Olingan suspenziya to'g'ridan-to'g'ri PCR uchun ishlatiladi.

2-ish. DNK ekstraktsiyasining ma'lum usuli lizozim, natriy dodesil sulfat, EDTA dan hujayra devori lizizining induktorlari sifatida foydalanishga, so'ngra lizatning xloroform yoki fenol bilan deproteinizatsiyasiga va izopropanol bilan DNKning cho'kishiga asoslangan. Litik fermentlar (zimoliaz, litikaza va boshqalar) ko'pincha yuqori molekulyar og'irlikdagi DNK namunalarini olish uchun xamirturush hujayralari devorlarini yo'q qilish uchun ishlatiladi. Xamirturush hujayralari muzlatish va eritish bilan birgalikda litik fermentlar bilan ishlov beriladi yoki qo'ziqorin mitseliyasini mexanik ravishda yo'q qilish va xamirturush xaotrop moddalar ishtirokida yuqori tezlikda parchalanuvchilar yordamida amalga oshiriladi.

DNK ajratilganda, xamirturush hujayralari ham kichik shisha boncuklar yordamida yo‘q qilinadi. Gram-musbat mikroorganizmlar va xamirturush hujayralarini yo‘q qilish usullari (va bu hujayralardan DNKni ajratish) oxirgi 3% SDSni davolash orqali ham tavsiflangan. DNKni olishning yuqoridagi usullari esa ancha mashaqqatli, qimmat va vaqt talab etadi. Ko‘pgina gram-manfiy mikroblarning qobig‘ini parchalash qobiliyatiga ega bo‘lgan guanidin tiosiyanat kabi yuqori konsentratsiyali xaotrop tuzlarni o‘z ichiga olgan bufer eritmalar DNK ekstraksiyasida foydalanishga asoslangan. Usul quyidagi tarzda amalga oshiriladi: Sinov namunasi (gram-manfiy mikroblar hujayralari, hayvon va odam hujayra kulturasi, qon namunalari, qon zardobi va boshqalarni o‘z ichiga olgan biologik material) guanidin tiosiyanat, EDTA, triton X100 va nuklein kislota sorbenti - SiO₂ bo‘lgan buferga kiritiladi. Suspenziya xona haroratida 10 daqiqa davomida inkubatsiya qilinadi va keyin santrifujlanadi. Supernatant tashlanadi va sorbentning NK bilan cho‘kmasi ikki marta guanidin tiosiyanat bo‘lgan yuvish buferi bilan, ikki marta 70% etanol va bir marta aseton bilan yuviladi. Aseton chiqarilgandan so‘ng, NC 56°C da 10 daqiqa davomida TE buferi bilan inkubatsiya qilish orqali sorbentdan chiqariladi. Shundan so‘ng, DNK bilan eluat (supernatant) PCR uchun mos keladi. Mikroorganizm hujayralaridan genomik DNKni ajratish usulida hujayralarni xaotrop tuzi bo‘lgan bufer eritmasi bilan davolashni o‘z ichiga olganligi sababli, DNKni izolyatsiya qilish uchun kuchli hujayra devoriga ega mikroorganizmlar qo‘llaniladi va hujayra suspenziyasini (reaktsiya aralashmasi) qaynoq suv hammomida 3-7 daqiqa qizdirish orqali amalga oshiriladi. Yuqori konsentratsiyali xaotrop tuzlarni o‘z ichiga olgan bufer eritmalar yordamida xamirturush hujayralaridan va kuchli hujayrali boshqa mikroorganizmlardan deyarli barcha oqsillar, lipidlar, polisaxaridlar, RNKning muhim qismi va barcha past molekulyar birikmalarni ajratib olish mumkinligi aniqlandi. Bundan tashqari, yuqoridagi komponentlarning ekstraksiyasi keng harorat oralig‘ida, shu jumladan DNKning erishi (denaturatsiyasi) bo‘lmagan harorat oralig‘ida amalga oshirilishi mumkin. Jarayonning tezligi kuchli haroratga bog‘liq. Shunday qilib, 100oC da jarayon bir necha daqiqada yakunlanadi (bu haroratda DNK denaturatsiyalanadi va qisman parchalanadi); 37-45 °C da jarayon bir necha soat ichida tugaydi va DNK buzilmagan holda ikki zanjirli bo‘lib qoladi.

Xaotrop tuzlarning yuqori konsentratsiyasi mavjud bo‘lganda, hujayra membranasining o‘tkazuvchanligi, membrana tuzilmalarining eruvchanligi, barcha hujayra oqsillarining (jumladan, RNaza va DNazalarning) to‘liq denaturatsiyasi va xromosoma DNKsining to‘liq deproteinizatsiyasi sodir bo‘ladi. Oqsillar, lipidlar va boshqa komponentlar hujayradan tarqalib ketse, xromosoma DNK katta uzunligi (xromosoma DNK uzunligi hujayraning chiziqli o‘lchamlaridan ko‘p marta katta) tufayli hujayra membranasini ichida qoladi. DNKning erish nuqtasidan yuqori haroratlarda xaotrop tuzlar bilan ekstraksiya qilish jarayonida olingan denaturatsiyalangan genomik DNK hujayra membranalari bilan kuchli bog‘langan. Denaturatsiyalangan DNKga ega hujayra membranalari litik fermentlar bilan oldindan ishlov berilmagan holda PCRda bevosita ishlatilishi mumkin. Usul quyidagi tarzda amalga oshiriladi. Mikroorganizmlarning hujayralari suyuqlikda yoki turli xil tarkibdagi agar ozuqa muhitida o‘stiriladi. Asosan boy ozuqaviy muhitlardan foydalaniladi. Hujayra biomassasi (logarifmik o‘sish fazasining oxiri) sentrifugalash

yo'li bilan yig'iladi va neytralga yaqin pH va tarkibida EDTA (10 dan 50 mM gacha) bo'lgan sovuq bufer bilan oziqa muhitidan yuviladi. Hujayralar xaotrop tuzi (6-8M guanidin xlorid yoki 4M guanidin tiosiyanat), yuvish vositasi (0,5% sarkosil) va disulfid bog'lanishini kamaytiradigan (10-100 mM merka) o'z ichiga olgan pH 8,0 ga yaqin ekstraksiya tamponida to'xtatiladi. Bunda ekstraksiya buferi hajmining hujayra cho'kmasi hajmiga nisbati 5:1 dan oshishi kerak. Xamirturush uchun optimal nisbat 5: 1; gram-musbat mikroorganizmlar uchun - 20:1.

PCRni kuchaytirish uchun denaturatsiyalangan DNK namunalarini olish uchun hosil bo'lgan hujayra suspenziyalari suv hammomida (100 ° C) 3-7 daqiqa (afzal 5 daqiqa) davomida inkubatsiya qilinadi. Hujayralar sentrifugalash orqali pelletlanadi va xona haroratida distillangan (yoki deionizatsiyalangan) suv bilan ikki marta yuviladi. Olingan DNKli hujayra membranalarini steril distillangan suvda to'xtatiladi (hujayra membranalarining yakuniy konsentratsiyasi 1 ml'da 1×10^8 - 1×10^9) va PCRda qo'llaniladi. Tajribada 50 µl PCR aralashmasi uchun 1-2 µl hujayra suspenziyasi olinadi.

3-ish. *Shizosaccharomyces pombe* xamirturushidan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini tayyorlash. Xamirturush hujayralari YPD suyuq muhitida (1,0% xamirturush ekstrakti, 2,0% baktopepton, 2,0% glyukoza, pH 5,3) yoki YPD agar plastinkalarida 30°C da yetishtiriladi. 25-30 µl hajmdagi xamirturush biomassasi 200 µl ekstraksiya tamponida I (4M guanidin tiosiyanat, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,1 M merkaptotanol, 0,5 ml) yoki xuddi shu 0,5 ml urolakoilda to'xtatiladi. bufer II miqdori (4M guanidin tiosiyanat, 25 mM natriy sitrat, 0,1 M merkaptotanol, 0,5% lauroilsarkosil) 1,5 ml Eppendorf sentrifuga naychalarida. Hujayra suspenziyasi suv hammomida 5 daqiqa qaynatiladi. Hujayralar eppendorf sentrifugasida 30-60 soniya davomida 12 ming rpm tezlikda santrifujlash orqali granulalanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra pelleti 1000 ml deionizatsiyalangan (distillangan) suvda to'xtatiladi va keyin xuddi shu sharoitda santrifujlanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra cho'kmasini 1000 µl deionizatsiyalangan suv bilan qayta yuving. Ikkinchi yuvishdan olingan hujayra pelleti 200 ml steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Tegishli tampon, 4 dNTP aralashmalari, primer oligonukleotidlar va termostabil DNK polimeraza (masalan, Taq polimeraza) ni o'z ichiga olgan 25-50 µl PCR aralashmasiga 1-2 ml hujayra suspenziyasi (ya'ni denaturatsiyalangan DNK hujayra devorlari) qo'shiladi. PCRni bajaring. PCR rejimi - kuchaytirilgan fragmentning o'lchamini va primerlarning tuzilishini hisobga olgan holda.

4-ish. *Pichia pastoris* xamirturushidan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini tayyorlash. *P. pastoris* xamirturush hujayralari yuqoridagi tarkibdagi suyuq YPD muhitida yoki YPD agar plastinkalarida 30°C da o'stiriladi. Xamirturush biomassasi (106-108 hujayra) 50 ml ekstraksiya tamponida Ia (4M guanidin tiosiyanat, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,5% lauroil sarkosin) 1,5 ml spondor trubkada to'xtatiladi. Tahlil qilish uchun minimal biomassa miqdori - sentrifuga paytida ko'zga ko'rinadigan cho'kindi hosil qilish. Hujayra suspenziyasi suv hammomida 3 daqiqa qaynatiladi. Hujayralar eppendorf sentrifugasida 30-60 soniya davomida 12 ming rpm tezlikda sentrifugalash orqali granulalanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra qobig'i 200 ml deionizatsiyalangan (distillangan)

suvda to'xtatiladi va keyin xuddi shu sharoitda santrifüj qilinadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra cho'kmasini 200 µl deionizatsiyalangan suv bilan qayta yuving. Ikkinchi yuvishdan keyin hujayra qobig'i 5-10 mkl steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Tegishli tampon, 4 dNTP aralashmalari, primer oligonukleotidlar va termostabil DNK polimeraza (masalan, Taq polimeraza) ni o'z ichiga olgan 25-50 µl PCR aralashmasiga 1-2 mkl hujayra suspenziyasi (ya'ni denaturatsiyalangan DNK hujayra devorlari) qo'shiladi. PCRni bajaring. PCR rejimi - kuchaytirilgan fragmentning o'lchamini va primerlarning tuzilishini hisobga olgan holda. Misol 3. *Pichia pastoris* xamirturushidan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini olish (tayyorlash versiyasi). *P. pastoris* xamirturush xujayralari yuqoridagi tarkibdagi suyuq YPD muhitida yoki YPD agar plastinkalarida 30°C da o'stiriladi. Xamirturush biomassasi (25-30 mkl) 50 mkl ekstraksiya buferi III (6M guanidin xlorid, 30 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,5% lauroil sarkosin)da 1,5 ml eppendorfga solinadi. Hujayra suspenziyasi suv hammomida 7 daqiqa qaynatiladi. Hujayralar eppendorf sentrifugasida 30-60 soniya davomida 12 ming rpm tezlikda sentrifugalash orqali granulalanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra pelleti 1000 mkl deionizatsiyalangan (distillangan) suvda to'xtatiladi va keyin xuddi shu sharoitda sentrifugalanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra cho'kmasini 1000 µl deionizatsiyalangan suv bilan qayta yuving. Ikkinchi yuvishdan keyin hujayra pelleti 100-200 mkl steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Tegishli bufer, 4xdNTP aralashmalari, primer oligonukleotidlar va Taq polimerazasini o'z ichiga olgan 25-50 mkl PCR aralashmasiga 1-2 mkl hujayra suspenziyasi (ya'ni denaturatsiyalangan DNK hujayra devorlari) qo'shiladi. PCR qilinadi. PCR uchun namunalar tayyorlashning butun jarayoni taxminan 15 daqiqa davom etadi. Bundan tashqari, bir vaqtning o'zida bir necha o'nlab namunalar (klonlar) tahlil qilinishi mumkin. O'tkazilgan tahlil ma'lumotlaridan kelib chiqqan holda, PCR amplifikatsiyasi jarayonida o'ziga xos DNK bo'laklari hosil bo'ladi, ular o'z hajmi va tuzilishi bo'yicha *P. pastoris* va *S. pombe* genlariga to'liq mos keladi, biz foydalanadigan primerlar bilan chegaralanadi. AOXI genini kuchaytirishda standart primerlardan foydalanilgan: 5' AOXI sekanslash primeri - 5' GACTGGTTCCAATTGACAAGC 3' va 3' AOXI sekanslash primeri - 5' GCAAATGGCATTCTGACATCC 3'. [o'n]. rpc 19+ Sz ni kuchaytirish vaqtida. *pombe* primerlari ishlatilgan: oldinga (oGVS324) - 5' CGGGATCCACTTTAGACATGGCGGC 3' va teskari (oGVS325) - 5' GGGAATTCATAACCAAATTTATCCATC 3'.

5-ish. *Staphylococcus aureus* hujayralaridan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini tayyorlash. Gram-musbat *Staphylococcus aureus* hujayralari to'liq suyuqlikda (masalan, L-bulyon, mol go'shti suvi) yoki agar muhitida (L-agar, mol go'shti agar) bir kechada 37°C da o'stiriladi. Suyuq suspenziyani santrifüjlash natijasida olingan yoki steril mikrobiologik halqali idishdan olingan 10-20 mkl hajmdagi hujayra biomassasi 200 mkl ekstraksiya tamponida 1 (4 M guanidin tiosiyanat, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, 0,1 M merkaptotanol, 0,5% lauroilsarkosin) yoki bir xil miqdorda bufer II (4M guanidin tiosiyanat, 25 mM natriy sitrat, 0,1M merkaptotanol, 0,1M merkaptotanol, 5 mM natriy sitrat). Hujayra suspenziyasi suv hammomida 5 daqiqa qaynatiladi. Hujayralar Eppendorf

sentrifugasida 30-60 soniya davomida 12 ming rpm tezlikda sentrifugalash orqali granulalanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra pelleti 500-1000 mkl deionizatsiyalangan (distillangan) suvda suspenziya qilinadi va keyin xuddi shu sharoitda santrifujlanadi. Supernatant chiqariladi. Hujayra cho'kmasini 1000 µl deionizatsiyalangan suv bilan qayta yuving. Ikkinchi yuvishdan olingan hujayra pelleti 200 mkl steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Hujayra devori suspenziyasi muzlatilgan holda (-20°C) saqlanadi. Tegishli tampon, 4 dNTP aralashmalari, primer oligonukleotidlar va termostabil DNK polimeraza (masalan, Taq polimeraza) ni o'z ichiga olgan 25-50 µl PCR aralashmasiga 1-2 mkl hujayra suspenziyasi (ya'ni denaturatsiyalangan DNK hujayra devorlari) qo'shiladi. Misol 5. Qo'ziqorin mitseliyasidan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini olish. Tajribalar uchun bozordan *Agaricus bisporus* o'stiriladigan shampignon qo'ziqorinlari sotib olindi. Mevali tanalarni hosil qiluvchi champignon qo'ziqorinlari mukammal qo'ziqorinlar bo'lib, basidiomitsetlarga tegishli. Biomassa (mitseliy) poya (Stipe), qalpoq (Pilius) va plastinkadan (Lamellae) qat'iy nazar olinadi. Biomassa (30-40 mkg mitseliy) 1,5 ml Eppendorf sentrifuga naychalari va 200 mkl ekstraksiya buferi I (4 M guanidin tiosiyanat, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA, mer0.0.0.0.) ga o'tkaziladi. unga qo'shiladi.% lauroilsarkozin) yoki bir xil miqdordagi bufer II (4M guanidin tiosiyanat, 25 mM natriy sitrat, 0,1M merkaptotanol, 0,5% lauroilsarkosin). Maxsus Eppendorf plastik pestle yordamida miselyum 1-2 daqiqa davomida yaxshilab triturasiya qilinadi va bir hil suspenziya olinadi. Olingan suspenziya 5 daqiqa davomida suv hammomida qaynatiladi. Mitseliy Eppendorf sentrifugasida 30-60 soniya davomida 12 ming aylanish tezligida sentrifugalash orqali cho'ktiriladi. Supernatant chiqariladi. Mitselium pelleti 1000 mkl deionizatsiyalangan (distillangan) suvda to'xtatiladi va keyin xuddi shu sharoitda santrifujlanadi. Supernatant chiqariladi. Mitseliya cho'kmasi yana 1000 mkm deionlangan suv bilan yuviladi. Ikkinchi yuvishdan olingan mitselial pellet 200 mkl steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Suspenziya -20 ° C da saqlanadi. Tegishli bufer, 4x dNTP aralashmalari, primer oligonukleotidlar va termostabil DNK polimeraza (masalan, Taq polimeraza) ni o'z ichiga olgan 25-50 µl PCR aralashmasiga 1-2 hujayra suspenziyalari (ya'ni denaturatsiyalangan DNK mitselial qobig'i) qo'shiladi. PCRni bajaring. PCR rejimi - kuchaytirilgan fragmentning o'lchamini va primerlarning tuzilishini hisobga olgan holda.

6-ish. *Acremonium strictum* W. Gams nomukammal zamburug'larining mitseliyasidan PCR amplifikatsiyasi uchun DNK namunalarini olish. *A. strictum* mitseliysi YPD agar plastinkalarida 29°C da yetti kun davomida yetishtiriladi. Boy muhitda (YPD) sporulyatsiya yo'q. Biomassa (mitseliy) agar qatlami bilan birgalikda ~1 sm² maydondan steril skalpel bilan chiqariladi va 200 µl ekstraksiya buferi I (4M guanidin tiosiyanat, 50mM Tris-HCl, pH 8,0, 5mM EDTA,) ga o'tkaziladi. 0,1M merkaptotanol, 0,5% lauroilsarkosin) yoki bir xil miqdorda bufer II (4M guanidin tiosiyanat, 25 mM natriy sitrat, 0,1M merkaptotanol, 0,5% lauroilsarkosil) 1,5 ml ft. Miselyum agar muhitining qoldiqlari bilan birgalikda Eppendorf plastik pestle bilan yaxshilab maydalanadi. Eritilgan agar bilan supernatant tashlanadi va pellet 200 mkl yangi I yoki II buferda to'xtatiladi. Olingan suspenziya 5 daqiqa davomida suv hammomida qaynatiladi. Hujayralar Eppendorf sentrifugasida 30-60 soniya

davomida 12 ming rpm tezlikda sentrifugalash orqali granulalanadi. Supernatant chiqariladi. Mitsellium pelleti 1000 mkl deionizatsiyalangan (distillangan) suvda to'xtatiladi va keyin xuddi shu sharoitda sentrifugalanadi. Supernatant chiqariladi. Miselyum pelleti yana 1000 mkl deionlangan suv bilan yuviladi. Ikkinchi yuvishdan keyin mitseliy qafas 200 mkl steril deionizatsiyalangan suvda to'xtatiladi. Suspenziya -20°C da saqlanadi. Olingan suspenziyadan 1-2 mkl (ya'ni denaturatsiyalangan DNK mitselial membranalari) tegishli bufer, 4 dNTP, primer oligonukleotidlar va termostabil DNK polimeraza (masalan, Taq polimeraza) aralashmalarini o'z ichiga olgan 25-50 μl PCR aralashmasiga qo'shiladi. PCRni bajaring. PCR rejimi - kuchaytirilgan fragmentning o'lchamini va primerlarning tuzilishini hisobga olgan holda. Shunday qilib, xaotrop tuzlardan foydalanish inert hujayra membranasi ichida DNKni deproteinizatsiya va tozalashni amalga oshirishga imkon beradi va litik fermentlar va organik erituvchilar bilan mexanik parchalanuvchilar, suyuq azot va boshqalarsiz va 15 daqiqada tarqatish imkonini beradi.

Bakteriya hujayralaridan genomik DNKni ajratib olish

- Ishni boshlashdan oldin yuvish eritmasi 2 ga 96% etanol qo'shing (50 ekstrakt uchun 35 ml, 250 ekstrakt uchun har bir flakon uchun 70 ml). Yaxshilab aralashtiramiz.

- Ishni boshlashdan oldin, sorbsion eritmada chokma mavjudligini tekshiring. Cho'kma bo'lsa, eritmani isitish kerak

- +55°C da 5-10 daqiqa va cho'kma eriguncha aralashtiriladi. Eritmani + 65 ° C dan yuqori qizdirmang.

- Lizozimning har bir qismini 1 ml deionlangan suvda eritib yuboring. Eritmani 100 mkl alikvotlarga bo'lish va -20°C haroratda saqlash tavsiya etiladi.

- Proteinaz K ni 100 μl deionizatsiyalangan suvda (2 mg uchun) yoki 500 μl deionlangan suvda (10 mg uchun) eritib yuboring. Eritmani 20 mkl alikvotlarga bo'lish va -20°C haroratda saqlash tavsiya etiladi.

- Aylanma tezligida sentrifugalash tezligi MiniSpin-Eppendorf dastgohli sentrifugaga asoslangan (rotor radiusi 6 sm). Boshqa turdagi sentrifugalar uchun g dan rpmga aylantirish jadvalidan foydalaning

- Har foydalanishdan keyin o'ramni aylantiruvchi ustunlar bilan mahkam yopish tavsiya etiladi.

1. 1-3 ml bakteriya madaniyatini mikrosentrifuga naychalariga o'tkazing. 5 daqiqa 5000 rpm (1500 g) da santrifuga qiling. Supernatantni tashlang.

2. Pelletni 100 mkl bufer 1da qayta suspenziya qiling. Gram-manfiy bakteriyalardan DNK izolyatsiyasi uchun 10 mkl lizozim yoki gramm-musbat bakteriyalardan DNK izolyatsiyasi uchun 20 mkl qo'shing. 4 μl RNase A qo'shing. Suspenziyani aralashtiring va $+37^{\circ}\text{C}$ da 20 daqiqa davomida inkubatsiya qiling.

3. Namunalarni 5 daqiqa davomida 13 000 aylanish tezligida (kamida 12 000 g) santrifuj qiling. Supernatantni tashlang.

4. Pelletni 180 μl 2 Buferga soling va 2 μl Proteinaz K qo'shing. Yaxshilab aralashtiring va $+56^{\circ}\text{C}$ da 10 daqiqa davomida inkubatsiya qiling. Agar inkubator termostatida aralashtirish funksiyasi bo'lmasa, namunalarni muntazam ravishda qo'lda aralashtirish kerak.

5. 400 μ l Sorbsion eritma qo'shing. Aralashtiring va 10 daqiqa davomida $+60^{\circ}$ C da inkubatsiya qiling.

6. Ustunni filtrat yig'ish trubasiga joylashtiring. 5-bosqichda olingan eritmani ustunga qo'llang. 1 daqiqa 13 000 rpm (kamida 12 000 g) da sentrifuga qiling. Filtrni olib tashlang.

E'tibor bering, ustunning hajmi 650 μ l. Namuna hajmi 650 mkl dan oshsa, namunani har safar filtrat yig'ish trubkasidan suyuqlikni olib, kolonkaga qismlarga bo'lib yuboring.

7. Ustunga 400 mkl 1 yuvish eritmasini qo'llang va 1 daqiqa davomida 13000 rpm (minimum 12000 g) da sentrifuga qiling. Filtrni olib tashlang.

8. Kolonkaga 600 mkl 2 yuvish eritmasini qo'llang va 1 daqiqa davomida 13000 aylanish tezligida (kamida 12000 g) sentrifuga qiling. Filtrni olib tashlang.

9. Ustunni bir xil trubkaga soling va qoldiq buferni olib tashlash uchun 1 minut 13000 rpm tezlikda sentrifuga qiling.

10. Ustunni yangi 1,5 ml trubkaga soling. Membrananing o'rtasiga 50 μ l deionlangan suv qo'llang va 1-3 daqiqa kuting. Elyusiya uchun suvning minimal hajmi 50 mkl, maksimali esa 150 mkl. 50 μ l elutsiya bilan DNKning maksimal konsentratsiyasiga erishiladi, 150 μ l elyusiya bilan maksimal rentabellikga erishiladi.

11. DNKni 1 minut davomida 13000 rpm tezlikda (kamida 12000 g) sentrifugalash orqali eluting. Eluatni yangi naychaga o'tkazish tavsiya etiladi. Olingan namunalar PCR, sekvensiya, cheklash, bog'lash va boshqa reaksiyalarga tayyor. Namunalar saqlash joyida -20°C da bir oy ichida ishlatilishi mumkin. Saqlash: xona haroratida ($+15 - +25^{\circ}\text{C}$). Proteinaz K va Lizozim eritmaguncha $+4^{\circ}\text{C}$ da saqlanishi kerak. RNase A, shuningdek proteinaz K va Lizozim eritilgandan keyin -20°C da saqlang.

4-laboratoriya mashg'ulot. O'SIMLIK HUYAYRASIDAN DNK AJRATISH

Ishning maqsadi: O'simlik hujayrasidan DNK ajratish

Kerakli materiallar: Yarim piyoz boshi, oshxona tuzi, spirt ($>95\%$ etanol) yoki izopropanol, idish yuvish suyuqligi, ohak, kichik voronka, qog'oz sochiq, tish cho'pi, suv, shisha yoki kichik banka, probirka yoki baland tor shisha, muz, pichoq, kesish taxtasi, qoshiq, zig'ir mato, bolg'a.

Ishning borishi: Taxminan 100 ml suvda (yarim stakandan bir oz kamroq) bir osh qoshiq osh tuzini (yaxshisi yodlanmagan) eritib yuboriladi. Bir necha muz kubini zig'ir matosiga o'rang, bolg'acha bilan mayda bo'laklarga urib, idish yoki kichik idishga quying. Piyoz boshining yarmining o'rta qismidan ildizlar o'sadigan qismini ushlamagan holda, 3 sm dan kattaroq bo'lakni kesib oling. Piyozning olib tashlangan bo'lagi kichik bo'laklarga bo'linib, ohak ichiga qo'yilishi kerak, 2 osh qoshiq tuzning suvli eritmasi qo'shiladi va bir xil massa olinmaguncha kuchli surtiladi. Olingan massani kichik stakanga o'tkazing, tuzning suvli eritmasini shunday miqdorda qo'shing, shunda umumiy hajm ikki-uch baravar ko'payadi, bir tomchi idish yuvish vositasini qo'shing va yaxshilab aralashtiring. Stakanni muzli idishga soling, shunda muz darajasi stakandagi suyuqlik darajasiga etadi. 5 daqiqa kuting, vaqti-vaqti bilan

aralashtiring. Biroz vaqt o'tgach, stakanga tish cho'pini botirsangiz, suyuqlik yopishqoq bo'lib qolganini sezasiz. Voronkani probirkaga tushiring (probirkani shisha idishga soling yoki uni shtativga mahkamlang). Voronkaning ichki yuzasini salfetka parchasi bilan yotqiziladi va suv bilan ozgina namlanadi. Stakanni muzdan olib tashlang va undan suyuqlikni voronkani ichiga quying. Naychada filtrat to'planishini kuting (suyuqlik ustuni taxminan 4-5 sm balandlikda bo'lsa kifoya). Shundan so'ng, voronkani probirkadan ehtiyotkorlik bilan olib tashlang, uni biroz egib oling. Voronkani olib tashlang, uni biroz egib, sovutilgan spirtni devor bo'ylab ehtiyotkorlik bilan quyishni boshlang, shunda spirt ustuni filtrat ustuni bilan bir xil balandlikda bo'ladi. Probirkani joylashtiring va taxminan 2-3 daqiqa kuting. Spirt yuqori qismida qoladi va fazalarning birlashmasida DNKning cho'kishi jarayonini ko'rish mumkin. Naycha bir oz egilib, vertikal o'q atrofida yumshoq tarzda aylantirilishi mumkin. DNK kichik, ipga o'xshash oq yoriqlar hosil qiladi. Eritmadan tish chopini olib tashlang va quritgandan so'ng, DNK ko'rinmas holga kelganini ko'rasiz. U suvda yaxshi eriydi.

Banan hujayrasidan DNK ajratish.

Ishning maqsadi: O'simlik hujayrasidan DNK ajratish

Kerakli material va asbob-uskunalar: Filtr qog'ozi, voronka, probirka, vilkalar, qoshiq, spirt, shisha (yoki plastmassa) tayoqcha, flakon, banan bo'lagi.

Ishning borishi: Kichkina banan bo'lagini (uzunligi 2-3 sm) vilkalar, qoshiq bilan yumshoq konsistensiyaga qadar maydalash kerak. Bunday hajmdagi material uchun siz ikki-uch osh qoshiq tuz eritmasini (sho'r eritma) qo'shishingiz kerak. Bir tekis maydalangan massaga yuvish vositasi qo'shilishi kerak. Uning vazifasi hujayralar va yadrolarning membranalarini eritishdir, ularning ichida DNK mavjud. Bu membranalar yog'lardan qurilgan, shuning uchun yuvish vositasi bu yog'larni kichik tomchilarga mukammal tarzda ajratadi va DNK tuz eritmasi bilan o'zaro ta'sir qiladi va suvda tugaydi. Filtr qog'ozi voronka ichiga solingan va suv bilan namlangan bo'lishi kerak. Keyin hosil bo'lgan aralashmani voronka ichiga quying va eritma filtrlanguncha kuting. Banan pyuresi voronka ichida qoladi va uni tashlab yuborish mumkin. Filtrni darhol probirkaga yig'ish yaxshidir. Bu shaffof suyuqlik bo'lishi kerak. Agar filtr qog'ozi bo'lmasa va siz bir necha qatlamli doka yoki bint orqali filtrlayotgan bo'lsangiz, suyuqlik loyqali bo'ladi. Keyingi ish uchun trubaning pastki qismidan 1 sm balandlikdagi filtrat qatlami yetarli. Filtrni yig'ish tugagandan so'ng, unga teng miqdorda distillangan suv qo'shish tavsiya etiladi. Probirkaga aralashmadan taxminan 2 baravar ko'p miqdorda sovuq spirt qo'shilishi kerak. Ammo probirkaning devori bo'ylab ehtiyotkorlik bilan qo'shish kerak. Keyin spirt suv yuzasidan alohida qatlamda to'planadi. Ammo DNK spirtida erimaydi va uning pastki qatlamida halqa yoki uning alohida iplarining chigal aralashmasi hosil qiladi. Probirkadagi fotosuratda siz chigallashgan iplarning ancha loyqali qatlamini ko'rishingiz mumkin. Bu DNK iplarini shisha (yoki plastmassa) tayoqcha yoki boshqa mos asbob bilan olish va probirkadan olib tashlash mumkin. DNKni kattalashtiruvchi oyna bilan tekshirishingiz mumkin. DNK spirtida saqlanishi kerak.

5-laboratoriya mashg'ulot. HAYVON HUYAYRASIDAN NUKLEIN KISLOTALARNI AJRATISH

DNKni chivinlardan ajratib olishning fenolik usuli

Ishning maqsadi: Hayvon hujayrasidan nuklein kislotalarni ajratish

Kerakli material va asbob-uskunalar: chivin, suyuq azot, fenol, muzlatilgan kukun, probirka

Ishning borishi: Pashshalardagi DNK tarkibi: erkak $\sim 0,75\mu\text{g}$, urg'ochi $\sim 1\mu\text{g}$.

1. 1 chivin og'irligi $\sim 1\text{ mg}$. chivinlar tutiladi;
2. sopol ohakda suyuq azotda chivinlarni muzlatib qo'yiladi, mayda kukunga maydalang;
3. suyuq azotni ohak ichiga quyiladi, 100 mg ga 1,2 ml miqdorida DB qo'shing, maydalang;
4. muzlatilgan kukunni probirkaga o'tkaziladi; 56°C , $> 3\text{h}$; teng hajmdagi fenol bilan chiqarib oling;
5. CF ikki bosqichda: (1) 1,5krpm, NT, 5', (2) 4,5krpm, NT, 10';
6. Ekstraksiyanadi P:X, X, (ZF 4,5krpm, NT, 10'); EtOH ning cho'kishi.
7. AcNH_4 10M 1/4V va EtOH (96%) 2V qo'shiladi.
8. DNK bo'lagi yuviladi, turini 70% EtOH ga o'tkaziladi;
9. Ortiqcha quritmag!, TE yoki H_2O da eritiladi ($\sim 1\mu\text{l}$ /flyus tezligida).
10. Dializ qilinadi. DNKni dializ qopiga joylashtiring; dializ: $\sim$ kun va bir nechta TE o'zgarishlari.
11. Ehtiyotkorlik bilan suyuq azotni ohak ichiga quying (kichik plastik idishdan), aks holda pyuresi chivinlari va pyuresi bo'lmagan chivinlar tarqaladi.
12. Yaxshi tortishish ostida ishlashingizga ishonch hosil qiling. Kukunli chivinlar sizni juda tez allergiyaga olib kelishi mumkin.
13. Chivinlarni JB bilan ishqalash nozik suspenziya hosil qiladi. Eritilganda u bir xil eritmaga aylanadi. Prot.K va SDS yadrolarga osonlik bilan kirib boradi va lizirlanadi.

6-laboratoriya mashg'ulot. AGAROZA GELIDA ELEKTROFOREZNI O'TKAZISH

Ishning maqsadi: Agaroz gelida elektroforezni o'tkazish

Kerakli material va asbob-uskunalar: elektroforez, flakon, suv hammomida yoki mikroto'lqinli pech, agarozli vanna, taroq

Ishning borishi: Agaroz geli va elektroforezni tayyorlash usuli.

1. Issiqlikka chidamli kolbadagi elektroforez buferining o'lchangan hajmiga hisoblangan agaroz kukunini qo'shing.
2. Agaroz eriguncha qaynab turgan suv hammomida yoki mikroto'lqinli pechda atala isitiladi. Agarozni qaynatishga keltiring va 30-60 dyuymni qaynatib oling mikroto'lqinli pechni ehtiyotkorlik bilan - u shiddat bilan qaynashi mumkin).

3. Eritmani 50-60°C gacha sovutib, etidiy bromidni (tarkibida 10 mg/ml bo'lgan va 4°C haroratda shaffof bo'lmagan flakonda saqlanadigan suvli eritmasidan) yakuniy konsentratsiyasi 0,5 mkg/ml bo'lguncha qo'shing.

4. Taroqni agarozli vannaga joylashtiring. Quduq tubi va gel asosi o'rtasida qalinligi 0,5-1,0 mm bo'lgan agaroz qatlami qolishi kerak

5. Gel to'liq qotib qolgandan so'ng (xona haroratida 30-45 daqiqadan so'ng) taroqni ehtiyotkorlik bilan olib tashlang va jelni elektroforez vannasiga qo'ying.

6. Yetarlicha elektroforez buferini qo'shing (agar kerak bo'lsa, 0,5 mkg/ml etidiy bromidni o'z ichiga olgan holda), gel 1 mm bufer qatlami bilan qoplanadi.

7. Namunalarni 5-10% glitserin, 7% saxaroza yoki 2,5% fikol va bo'yoq (0,025% bromofenol ko'k yoki ksilen siyanoli) bo'lgan namuna yuklash tamponi bilan aralashtirib, elektroforez buferi ostidagi gel quduqlariga joylashtiring. Odatda, dastur uchun bufer namunalari 6-10 marta konsentratsiyali eritma shaklida tayyorlanadi. U namuna bilan aralashtiriladi va keyin avtomatik mikropipet yordamida ehtiyotkorlik bilan quduqqa quyiladi.

8. Elektrodnlarni kuchlanish manbaiga ulang. Agaroz gellarida ajratish vaqtida kuchlanish 1-8 V/sm. Marker bo'yoq xuddi shunday harakat qiladi

9. Ajratish oxirida gel plitasini vannadan olib tashlang va gelni plastinka bilan birga binoni eritmasiga (1 mkg/ml etidiy bromid) soling. Ehtiyot bo'ling! Gel mo'rt va plastinkadan osongina siljiydi. 15 daqiqa davomida bo'yashdan keyin plitani gel bilan olib tashlang va 20 daqiqa davomida suvda yuving.

10. Filtr qog'ozi bilan plastinkadan suyuqlikni olib tashlang va plastinani ultrabinafsha nurlarini o'tkazuvchi transilluminator oynaga (UV-stol) qo'ying. Ogohlantirish! Ultraviolet nurlanish bilan ishlashda ko'z va terini kuyishdan himoya qilish kerak. Ko'zoynakni kiying!

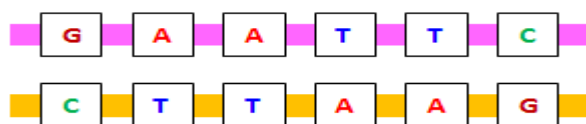
7-laboratoriya mashg'ulot. DNK RESTRIKSIYASINI O'TKAZISH USULI

Ishning maqsadi: DNK restriksiyasini o'tkazish usulini o'rganish

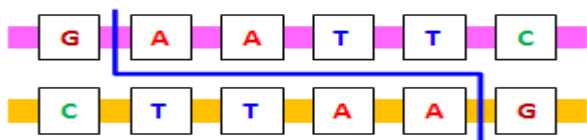
Kerakli material va asbob-uskunalar: suv, steril Eppendorf trubkasi,

Ishning borishi: Cheklovchi endonukleazlar (yoki cheklash fermentlari) ikki zanjirli DNKdagi ma'lum ketma-ketliklarni (cheklash joylarini) "tanib oladigan" va parchalanadigan fermentlardir. Bu joylarda DNK molekulasi. Ular asosan prokaryotik hujayralardan ajratilgan. Cheklovchi fermentlarni uch guruhga bo'lish mumkin. I va III turdagi fermentlar o'zgartirish (metillash) faolligiga va ATPga bog'liq bo'lgan cheklash faolligiga ega (tanaffuslarni kiritish), bir xil oqsil bilan namoyon bo'ladi. Ikkala turdagi fermentlar DNK substratidagi metillanmagan ketma-ketlikni taniydilar, ammo I turdagi fermentlar tasodifiy tanaffuslarni kiritadilar, III turdagi fermentlar esa ma'lum joylarda DNKni kesib tashlaydi. II turdagi cheklash-modifikatsion tizimlar ikkita alohida fermentni o'z ichiga oladi: cheklovchi endonukleaza va modifikatsiya qiluvchi metilaz. Ko'p sonli II turdagi cheklovchi fermentlar ajratilgan, ularning ko'pchiligi molekulyar klonlashda qo'llaniladi. Ushbu fermentlar DNKni o'z joylarida yoki yaqinida kesib tashlaydi, ular odatda 4-6

nukleotid uzunlikda va 2-tartibli simmetriya o'qiga ega. Masalan, EcoRI fermenti geksanukleotidlar ketma-ketligini taniydi.



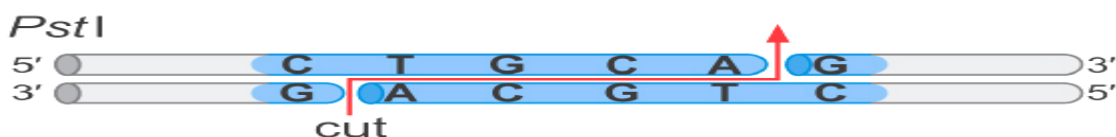
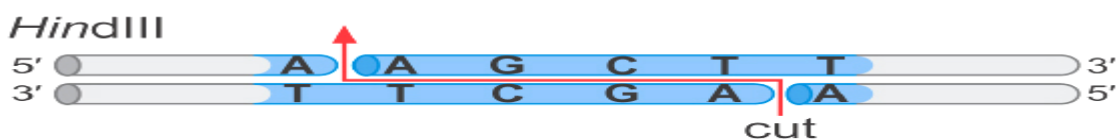
Boshqa ko'plab cheklovchi fermentlar singari, EcoRI ham simmetriyaning 2-tartibi o'qi bo'ylab emas, balki 4 nukleotid bilan ajratilgan ikkita DNK zanjiri nuqtalarida uzilishni kiritadi:



Bunday uzilish natijasida yopishqoq 5' uchlari chiqib turuvchi DNK bo'laklari hosil bo'ladi.



Har bir bunday uch uni to'ldiruvchi har qanday boshqa uchi bilan o'zaro ta'sir qilishi mumkin. Ko'pgina cheklovchi fermentlar, masalan, EcoRI, 5' uchlari osilgan DNK bo'laklariga olib keladigan buzilishlarni katalizlaydi; boshqalarning ta'siri ostida masalan, PstI) - chiqadigan 3'-yopishqoq uchlari bilan, boshqalari (masalan, HpaI) DNKni simmetriya o'qi bo'ylab kesilgan uchlari to'mtoq bo'laklar hosil qiladi.



Yopishqoq 3' va 5' va to'mtoq uchlari bo'lgan fermentlarni cheklash joylari tasviri

Har bir cheklash fermenti uchun ishlab chiqaruvchi tomonidan taqdim etilgan tavsifda berilgan optimal reaksiya sharoitlari mavjud. Asosiy o'zgaruvchilar - inkubatsiya harorati va buferning tarkibi. Harorat rejimiga juda qattiq talablar qo'yiladi, buferlar orasidagi farqlar ko'pincha ahamiyatsiz. Har bir ferment uchun alohida tampon tayyorlamaslik uchun fermentlarni uch guruhga bo'lish qulay: yuqori

ionlilikda eng yaxshi ishlaydigan fermentlar. uning oʻrtacha qiymatlari maqbul boʻlgan fermentlar; fermentlar past ionli quvvatli tamponlarda yaxshi ishlaydi.

DNKni cheklovchi fermentlar yordamida hazm qilish usuli.

Reaksiya aralashmasi odatda 20 μ l yoki undan kam hajmda 0,2-1 μ g DNKni oʻz ichiga oladi.

1. Steril Eppendorf trubkasidagi DNK eritmasiga 17 μ l hajmgacha suv qoʻshing va aralashtiring.

2. Tegishli 10x buferdan 2 mkl qoʻshing va barmogʻingiz bilan naychaga ozgina tegib aralashtiring.

3. 1 birlik qoʻshing. cheklash fermenti (taxminan 1 μ l) va barmogʻingiz bilan trubkaga ozgina tegizish orqali aralashtiring. (1 birlik ferment - toʻliq erishi uchun zarur boʻlgan ferment miqdori)

1 mkg DNKning 1 soat davomida maʼlum bir tamponda va maʼlum bir haroratda 20 μ l hajmda parchalanishi). Umuman olganda, ferment preparatining tarkibida DNaza yoki ekzonukleaza aralashmalari boʻlmasa, uzoq vaqt davomida yoki ortiqcha ferment bilan amalga oshiriladigan cheklovchi fermentni hazm qilish asoratlarni keltirib chiqarmaydi. Cheklovchi ferment preparatlarida bunday aralashmalar kamdan-kam uchraydi.

4. Aralashmani kerakli vaqtga mos haroratda inkubatsiya qiling.

5. 0,5 M EDTA, pH 7,5 ni 10 mM yakuniy konsentratsiyaga qoʻshib reaksiyani toʻxtating. Agar DNK toʻgʻridan-toʻgʻri jelda tahlil qilinsa, 6 μ l yuklash buferini qoʻshing, aralashtiring Aralashmani silkiting va hazm qilingan DNKni jelga qoʻllang. Agar cheklash fermenti bilan ishlov berilgan DNKni tozalash kerak boʻlsa, uni bir marta fenol-xloroform bilan, bir marta xloroform bilan ajratib oling va etanol bilan choʻktiring.

Eslatmalar: Cheklash fermentlari qimmat fermentlardir! Ular bilan bogʻliq xarajatlarni quyidagi qoidalarga rioya qilish orqali kamaytirish mumkin. a) Konsentrlangan cheklovchi ferment eritmasi paketidan oz miqdorda fermentni olib tashlash uchun bir marta ishlatiladigan shisha mikropipetka (5 mkl) uchini ferment eritmasi yuzasiga tezda tegizing. Shu tarzda, faqat 0,1 μ l ferment eritmasi toʻplanishi mumkin. b) 50% glitserinli buferda -20°C da saqlansa, cheklovchi fermentlar barqaror boʻladi. DNKni cheklash fermentlari bilan hazm qilishda reaksiya aralashmasini tayyorlang, Fermentdan tashqari barcha komponentlarni oʻz ichiga oladi. Fermentni muzlatgichdan olib tashlang va darhol muz ustiga qoʻying. Fermentni muzlatgichdan eng qisqa vaqt ichida ushlab turish uchun imkon qadar tezroq ishlang. Foydalanishdan keyin fermentni darhol muzlatgichga qoʻying. c) Reaksiya aralashmasining minimal hajmidan foydalaning, undagi suv miqdorini imkon qadar kamaytiring. Biroq, qoʻllaniladigan cheklash fermenti miqdorini tekshiring reaksiya aralashmasining yakuniy hajmining 1/10 qismidan kam edi, aks holda fermentning faolligi glitserin tomonidan ingibir qilinishi mumkin. d) DNKni ikki yoki undan ortiq cheklovchi fermentlar bilan hazm qilish kerak boʻlganda, ikkala ferment ham bir xil faoliyat koʻrsatsa, reaksiya bir vaqtning oʻzida amalga oshirilishi mumkin. Aks holda, avval pastroq ion quvvati buferida ishlaydigan fermentdan

foydalanish kerak. Shundan so'ng, reaksiya aralashmasiga kerakli miqdorda tuz va ikkinchi ferment (lar) qo'shilishi va inkubatsiyani davom ettirish mumkin.

8-laboratoriya mashg'ulot. POLIMER ZANJIR REAKSIYASINI AMALGA OSHIRISH

Ishning maqsadi: Polimer zanjir reaksiyasini amalga oshirish

Kerakli material va asbob-uskunalar: PCR.

Ishning borishi: Usul sun'iy sharoitda (in vitro) fermentlar yordamida ma'lum bir DNK mintaqasini ko'p tanlab nusxalashga asoslangan. Bunda faqat ko'rsatilgan shartlarni qanoatlantiradigan maydon ko'chiriladi va faqat u o'rganilayotgan namunada mavjud bo'lsa. Tirik organizmlarda DNK kuchaytirilishidan (replikatsiya) farqli o'laroq, DNKning nisbatan qisqa bo'limlari PCR yordamida kuchaytiriladi. An'anaviy PCR jarayonida replikatsiya qilingan DNK mintaqalarining uzunligi 3000 ta asosiy juftlikdan (3 kbp) oshmaydi. Turli polimerazalarning aralashmasi yordamida, qo'shimchalardan foydalangan holda va ma'lum sharoitlarda PCR bo'lagining uzunligi 20-40 ming tayanch juftiga yetishi mumkin. Bu hali eukariotik hujayraning xromosoma DNK uzunligidan ancha kichikdir. Misol uchun, inson genomi taxminan 3 milliard tayanch juft uzunlikda. Ushbu reaksiyani amalga oshirish uchun to'rtta asosiy komponent kerak. Birinchidan, shablon bo'lib xizmat qiladigan va o'rganilayotgan parchani o'z ichiga olgan DNK molekulasi. Ikkinchidan, DNK polimeraza (DNK nusxalarini yaratish uchun ferment). Uchinchidan, DNK sintezi uchun DNK polimeraza tomonidan ishlatiladigan dinukleotid trifosfatlar (dNTP). Va to'rtinchidan, ikkita astar - o'rganilayotgan DNK fragmentining boshlanishini to'ldiruvchi bir zanjirli nuklein kislotaning ikkita qisqa segmenti. DNK shabloniga ulanish orqali primerlar DNK sintezini boshlashga imkon beradi, chunki DNK polimeraza faqat havolalarni qo'shishi mumkin. Termotabil DNK polimeraza DNK polimerizatsiyasini katalizlovchi fermentdir. PCRda foydalanish uchun polimeraza uzoq vaqt davomida yuqori haroratda faol qolishi kerak, shuning uchun termofillardan ajratilgan fermentlar qo'llaniladi - *Thermus aquaticus* (Taq polimeraza), *Pyrococcus furiosus* (Pfu polimeraza), *Pyrococcus woesei* (Pwo polimeraza) va boshqalar. Deoksinukleozid trifosfatlar (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). Polimeraza ishlashi uchun zarur bo'lgan Mg^{2+} ionlari. Reaksiya aralashmasi bug'lanishiga yo'l qo'ymaslik uchun probirkaga yuqori qaynaydigan yog', masalan, vazelin qo'shiladi. Pirofosfataza fermenti ortofosfatga o'sib borayotgan DNK zanjiriga nukleotid trifosfatlarning qo'shilishi natijasida hosil bo'lgan pirofosfat gidrolizini katalizlaydi.

PCR o'tkazishda 20-35 sikl amalga oshiriladi, ularning har biri uch bosqichdan iborat.

1. Denaturatsiya. Ikki zanjirli DNK shablonini DNK zanjirlarini ajratish uchun 0,5-2 daqiqa davomida 94-96°C (yoki ayniqsa termotabil polimeraza ishlatilsa 98°C) ga qizdiriladi. Bu bosqich denaturatsiya deb ataladi, chunki DNKning ikkita zanjiri orasidagi vodorod aloqalari buziladi. Ba'zan, birinchi sikldan oldin (polimeraza qo'shmasdan oldin) reaksiya aralashmasi 2-5 daqiqa davomida oldindan qizdiriladi.

shablon va primerlarning to'liq denaturatsiyasi uchun. Ushbu texnika issiq start deb ataladi, bu sizga o'ziga xos bo'lmagan reaksiya mahsulotlarining miqdorini kamaytirishga imkon beradi. Ikki zanjirli DNK shablonini DNK zanjirlarini ajratish uchun 0,5-2 daqiqa davomida 94–96°C (yoki ayniqsa termostabil polimeraza ishlatilsa 98°C) gacha qizdiriladi. Bu bosqich eritish (denaturatsiya) deb ataladi, chunki ikkita DNK zanjiri orasidagi vodorod aloqalari uziladi. Odatda, birinchi sikldan oldin, shablon va primerlarning to'liq denaturatsiya uchun 2-5 daqiqa davomida reaksiya aralashmasini uzoq vaqt davomida isitish amalga oshiriladi.

2. Yuvish. Iplar ajratilganda, astarlarni bitta ipli shablonga bog'lash uchun harorat tushiriladi. Ushbu bosqich yumshatish deb ataladi. Yuvish harorati primerlarning tarkibiga bog'liq va odatda primerlarning erish haroratidan 5 daraja pastroq tanlanadi. Yuvish haroratini noto'g'ri tanlash astarlarning shablonga yomon bog'lanishiga (yuqori haroratda) yoki noto'g'ri joyda bog'lanishiga va o'ziga xos bo'lmagan mahsulotlarning paydo bo'lishiga (past haroratda) olib keladi. Yuvish bosqichining vaqti - 30 soniya, shu bilan birga, bu vaqt ichida polimeraza allaqachon bir necha yuz nukleotidlarni sintez qilish uchun vaqtga ega. Shuning uchun, 60°C dan yuqori erish nuqtasiga ega bo'lgan primerlarni tanlash va bir vaqtning o'zida 60-72°C da tavlanish va cho'zilishni amalga oshirish tavsiya etiladi.

3. Cho'zilish. DNK polimeraza primer sifatida primer yordamida shablon ipini takrorlaydi. Bu cho'zilish bosqichidir. Polimeraza qolipga bog'langan primerning 3' uchidan ikkinchi ipning sintezini boshlaydi va shablon bo'ylab harakatlanib, 5' uchidan 3' uchigacha bo'lgan yo'nalishda yangi ipni sintez qiladi. Cho'zilish harorati polimeraza bog'liq. Ko'p ishlatiladigan Taq va Pfu polimerazalari 72°C da eng faoldir. Cho'zilish vaqti ham DNK polimeraza turiga, ham kuchaytirilayotgan fragment uzunligiga bog'liq. Odatda, cho'zilish vaqti har ming tayanch jufti uchun bir daqiqaga teng olinadi. Barcha sikllar tugagandan so'ng, barcha bir ipli bo'laklarni bajarish uchun ko'pincha yakuniy cho'zilishning qo'shimcha bosqichi amalga oshiriladi. Bu bosqich 7-10 daqiqa davom etadi. Muayyan reaksiya mahsulotining miqdori (primerlar bilan cheklangan) nazariy jihatdan $2n - 2n$ ga mutanosib ravishda ortadi, bu yerda n - reaksiya davrlarining soni. Aslida, har bir siklning samaradorligi 100% dan kam bo'lishi mumkin, shuning uchun haqiqatda $P \sim (1+E)n$, bu yerda P - mahsulot miqdori, E - siklning o'rtacha samaradorligi. "Uzoq" DNK nusxalari soni ham o'sib boradi, lekin chiziqli, shuning uchun reaksiya mahsulotlarida ma'lum bir parcha ustunlik qiladi. Kerakli mahsulotning o'sishi reaktivlar miqdori, ingibitorlarning mavjudligi va qo'shimcha mahsulotlarning shakllanishi bilan eksponent ravishda cheklangan. Reaksiyaning so'nggi davrlarida o'sish sekinlashadi, bu "plato effekti" deb ataladi. Yuvish jarayoni tugagandan so'ng, polimeraza faolligi uchun reaksiya aralashmasida sharoitlar yaratiladi. Asl nuklein kislotalar o'rniga primerlarning molekulalariga e'tibor

qaratgan ferment DNK/RNKning yangi zanjirlarini sintez qilishni boshlaydi. Ular asl, kerakli nuklein kislota molekulalarining nusxalariga aylanadi. Bunday harorat aylanishi 30 yoki undan ortiq marta amalga oshiriladi. Natijada, kerakli genetik materialning dastlab kichik miqdori bo'lsa ham, reaksiya aralashmasida primerlar bilan "belgilangan" nuklein kislotalarning sezilarli miqdori to'planadi (u har bir tsikl bilan ikki baravar ko'payadi). DNK / RNK miqdori, buning natijasida yana bitta PCR ning afzalligi eng yuqori sezuvchanlikdir.

9-laboratoriya mashg'ulot. OQSILLARNI AJRATISH USULLARI

Ishning maqsadi: Oqsillarni ajratish usullarini o'rganish.

Kerakli material va asbob-uskunalar: Distillangan suv, elektroforez, xromatografik ustun, ammiak sulfat eritmalari, natriy dodesil sulfat, qog'oz, kraxmal geli, poliakrilamid geli.

Ishning borishi: Alohida oqsillarni ajratish va fraksiyalash uchun tuzlash, organik erituvchilar bilan cho'ktirish, gel filtrlash, elektroforez, ion almashinish xromatografiyasi va yaqinlik xromatografiyasi qo'llaniladi.

A.Dializ. Dializ past molekulyar og'irlikdagi aralashmalarni ajratish yoki muhit tarkibini o'zgartirish uchun ishlatiladi. Usul oqsil molekulalari kattaligi tufayli yarim o'tkazuvchan membranalaridan o'tolmasligiga, past molekulyar moddalar esa membrana va uning atrofidagi eritma bilan cheklangan hajm o'rtasida teng taqsimlanishiga asoslanadi. Tashqi eritmani qayta-qayta almashtirgandan so'ng, dializ qopidagi muhitning tarkibi (tuz konsentratsiyasi, pH qiymati va boshqalar) atrofdagi eritma bilan bir xil bo'ladi. Yuqori molekulyar birikmalarning kolloid eritmalarini past molekulyar moddalardan tozalash *dializ* deb ataladi. Kolloid zarrachalar yarim o'tkazgich parda (hayvon va o'simlik membranalari, kollodiy, sellofan) orqali o'tmaydi. Tuzlar, qand va boshqa quyi molekulyar birikmalar esa membrana orqali osongina o'ta oladi. Shunga asoslanib yuqori molekulyar moddalar, xususan oqsil eritmalari kollodiy yoki sellofan xaltachaga quyilib distillangan suvli idishga solinsa yoki vodoprovod suvi oqimiga joylashtirilsa, eritma tarkibidagi tuz va boshqa kichik molekulyar moddalar yuvilib chiqib ketadi, oqsil esa xaltacha ichida qoladi.

Kollodiy xaltacha tayyorlang. Toza quruq probirka (diametri 2,5-3 sm, uzunligi 4-5 sm) og'zigacha kollodiy eritmasi quyib, qaytadan idishga ag'darib oling. Agar kollodiy ozroq bo'lsa, probirkani 1/3 qismiga eritma qo'yib, probirkani asta-sekin aylantirib devorining hamma tomonini kollodiy xaltacha eritmasi bilan batamom ho'llang. Probirka devorida qolgan eritma kollodiy xaltacha tayyorlash uchun yetarli bo'ladi. Probirka og'zi kaft bilan berkitilib, asta-sekin aylantiriladi, bunda kollodiyning devor bo'ylab bir xilda tarqalishi ta'minlanadi. Probirka qo'lda isib, spirt



bug'lana boshlaydi, kollodiy quriydi. 5-10 minutdan keyin probirkaga to'ldrib suv quying. Kollodiy xaltacha devoridan ajralgandan keyin, pinset bilan asta-sekin probirka chekkasidan ajratib oling. Kollodiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quying.

Oqsilning tuzli eritmasini dializlang. Kollodiy yoki sellofan xaltacha (dializator) ning 1/3 hajmiga kadar tuxum oqsilining $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bilan aralashgan eritmasidan quying. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchadan rezina halqa yordamida tayyorlangan qisqichga mahkamlanib, distillangan suvli stakanga 1-2 soat davomida solib quying. 1-2 soatdan keyin dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar qilib ko'riladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qiling.

Proteinni tuzlash oqsilning eruvchanligi muhitning xususiyatlariga bog'liqligiga asoslanadi. Distillangan suvda oqsillarni kuchsiz tuz eritmalariga qaraganda eritish qiyinroq, chunki ionlarning past konsentratsiyasi gidratsion qobiqlarni saqlaydi. Ammo yuqori tuz konsentratsiyasida molekulyar oqsil hidratsiya qobiqlarini yo'qotadi, agregatlanadi va cho'kma hosil qiladi. Tuzni olib tashlangandan so'ng, u mahalliy xossalarini va konformatsiyasini saqlab, eritmaga o'tkazilishi mumkin. Turli xil tuz konsentratsiyalarida va o'rta pH darajasida eruvchanlikning o'zgarishi alohida oqsillarni ajratish uchun ishlatiladi. Ko'pincha oqsillarni tuzlash uchun turli konsentratsiyali ammiak sulfat eritmaları ishlatiladi. X-denaturatsiyasiz eritmalaridan oqsillarni cho'ktirish suvsizlantiruvchi moddalar - organik erituvchilar (etanol, aseton) kuchi bilan amalga oshiriladi.

Gel filtrlash zarrachalar hajmi va molekulyar shaklni ajratish uchun asosdir. Ajratish pH qiymatiga ega bufer eritmasida gel granulalari (sefadeks, agaroz) bilan to'ldirilgan xromatografik ustunlarda amalga oshiriladi. Donador gel teriga ma'lum o'rtacha diametrga ega bo'lgan ichki kanallar (porlar) orqali kiradi, ularning o'lchami gel turiga bog'liq (Sephadex G-25, G-200 va boshqalar). Protein aralashmalari ustunga yuklanadi va keyin ma'lum bir pH qiymatiga ega bufer eritmasi bilan yuviladi (elyutlanadi). Katta oqsil molekulalari gelning teshiklariga kirmaydi va erituvchi bilan birga yuqori tezlikda harakatlanadi. Past molekulyar og'irlikdagi primer (tuz) yoki boshqa oqsillarning kichik molekulalari gel tomonidan ushlanib, asta-sekin ustundan yuviladi. Ustunning chiqishida eritma (eluat) alohida fraksiyalar sifatida yig'iladi.

Elektroforez zaryadlangan oqsil molekulalarining elektr maydonida ularning umumiy zaryadiga mutanosib tezlikda harakat qilish xususiyatiga asoslanadi. Berilgan pHda umumiy manfiy zaryadga ega bo'lgan oqsillar anodga, musbat zaryad esa katodga qarab harakatlanadi. Elektroforez turli muhitlarda amalga oshiriladi: qog'oz, kraxmal geli, poliakrilamid geli va boshqalar. Harakat tezligi oqsil molekulalarining zaryadiga, massasiga va shakliga bog'liq. Elektroforez tugagandan so'ng, tashuvchidagi oqsil zonaları maxsus bo'yoqlar bilan bo'yalgan.

Geldagi elektroforezning ruxsati qog'ozga qaraganda yuqori, shuning uchun qon zardobidagi oqsillarni elektroforez qilishda qog'ozda 5 ta fraksiya (albuminlar, a1-, a2-, b-, g-globulinlar) va poliakrilamid gelida 18 tagacha fraksiyalar ajratiladi. Mahalliy oqsillarni (fazoviy tuzilmani o'zgartirmasdan) biologik eritmadan ajratish uchun quyidagi usullar qo'llaniladi: tuzlash: gidroksidi, gidroksidi tuproqli metallar

(natriy xlorid, magniy sulfat), ammoniy sulfat tuzlari bilan cho‘kish; shu bilan birga, oqsilning birlamchi tuzilishi buzilmaydi; cho‘ktirish: suvsizlantiruvchi vositalardan foydalanish: past haroratlarda (taxminan -20°C) spirt yoki aseton.

B. Tuzlash. Proteinlarning eruvchanligi ion kuchining tuz konsentratsiyasiga juda bog‘liq. Distillangan suvda oqsillar ko‘pincha yomon eriydi, ammo ion kuchi ortishi bilan ularning eruvchanligi ortadi. Shu bilan birga, gidratlangan noorganik ionlarning ortib borayotgan miqdori (ochiq ko‘k doiralari) Protein yuzasiga bog‘lanadi va shu bilan uning agregatsiya darajasi pasayadi. Yuqori ionli quvvatda oqsil molekulalari hidrations qobiqlarini yo‘qotadi, bu esa oqsilning to‘planishi va cho‘kishiga olib keladi. Eruvchanlikdagi farqdan foydalanib, oqsillar aralashmasini fraksiyalash uchun oddiy tuzlardan, masalan, NH_4SO_4 dan foydalanish mumkin.

C. Gel filtrlash Gel o‘tkazuvchanlik xromatografiyasi gel filtrlash oqsillarni molekulalarning hajmi va shakli bo‘yicha ajratish imkonini beradi. Ajratish 1a polimer materiallaridan 10-500 mkm o‘lchamdagi shishgan Gelning sharsimon zarralari bilan to‘ldirilgan xromatografik ustunlarda amalga oshiriladi. Gel zarralari ichki kanallar tufayli o‘tkazuvchan bo‘lib, ular ma’lum bir o‘rtacha diametr bilan tavsiflanadi. Gel ustuniga Proteinlar 1b aralashmasi qo‘shiladi va bufer eritmasi bilan tozalanadi. Gel granulariga kira olmaydigan oqsil molekulalari qizil rang bilan belgilangan, ular yuqori tezlikda harakat qilishadi. O‘rtacha yashil va kichik ko‘k oqsillar gel 1c granulari tomonidan ma’lum darajada saqlanadi. Kolonnadan chiqishda elyuat alohida fraksiyalar shaklida yig‘iladi 2. Muayyan oqsilning unumi asosan uning molekulyar og‘irligiga bog‘liq

D. Natriy dodesil sulfat ishtirokida poliakrilamid gelda elektroforez SDS-PAGE elektroforez. Hozirgi vaqtda natriy dodesil sulfat ishtirokida SDS-PAGE poliakrilamid gel elektroforezi [SDS-PAGE-elektroforez SDS-PAGE] oqsil preparatlarining bir xilligini aniqlashning umumiy qabul qilingan usuli hisoblanadi. Usul zaryadlangan zarralar xususiyatiga asoslanadi. Migratsiya tezligi tahlil qilinayotgan proteinlarning uchta parametriga bog‘liq: Molekulalar hajmi, Molekulalarning shakli va umumiy zaryad. Shuning uchun oqsillar migratsiya tezligi faqat molekulyar og‘irlikka bog‘liq bo‘lishi uchun oldindan denaturatsiya qilinadi. Buning uchun tahlil qilingan aralashma natriy dodesil sulfat [SDS SDS] $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3\text{Na}$ bilan ishlanadi, bu kuchli amfifil xususiyatlarga ega bo‘lgan yuvish vositasidir. SDS ta’sirida oligomer oqsillar subbirliklarga ajraladi va denaturatsiyalanadi. Ochilmagan polipeptid zanjirlari SDS ni taxminan 0,4 g/g oqsil bilan bog‘laydi va manfiy zaryad oladi. To‘liq denatürasyon uchun muhitga disulfid ko‘priklarini yorib yuboradigan tiollar qo‘shiladi 1. Poliakrilamid 2 ning yupqa qatlamida elektroforez amalga oshiriladi. Elektroforez tugagandan so‘ng, bo‘yoq yordamida oqsil zonolari aniqlanadi.

Mundarija

	Kirish.....	3-bet
1	Molekulyar biologiya laboratoriya ishlarini bajarishda foydalaniladigan asbob-uskunalar va reaktivlar bilan tanishish	4-bet
2	O'simlik hujayrasi organellalarini ajratish.....	8-bet
3	Mikroorganizmlardan nuklein kislotalarni ajratish.....	9-bet
4	O'simlik hujayralaridan nuklein kislotalarni ajratish	15-bet
5	Hayvon hujayralaridan nuklein kislotalarni ajratish.....	16-bet
6	Agaroza gelida elektroforezni o'tkazish	17-bet
7	DNK restriksiyasini o'tkazish usuli	18-bet
8	Polimer zanjir reaksiyasini amalga oshirish	20-bet
9	Oqsillar ajratish usullari	22-bet
	Foydalanilgan adabiyotlar.....	26-bet

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. <https://studylib.ru/doc/2350750/vydelenie-dnk-iz-luka>
2. http://molbiol.ru/protocol/14_03.html
3. <http://makezilla.ru/vydelyaem-dnk-domashnyaya-laboratoriya>
4. http://DNK_ajratish
genomnaya_bakterialnye_kletki_instruktsiya_po_primeneniyu
5. [https://ru.wikipedia.org/wiki/ Полимеразная_цепная_реакция](https://ru.wikipedia.org/wiki/Полимеразная_цепная_реакция)
6. <https://ik-ptz.ru/dictations-on-the-russian-language--class-3/metody-vydeleniya-belkov-poluchenie-drozhzhevogo-belka.html>

II

MUSTAQIL TA'LIM MASHG'ULOTLARI

III

GLOSSARIY



GLOSSARY

Termin	O'zbek tilidagi sharxi	Termin	Ingliz tilidagi sharxi
Agaroza	dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.	Agarose	Polysaccharides which receive from algae; It is used as a gel medium in electrophoresis and chromatography
Agregatsiya-	ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi.	Aggregation	Education in a pile of some organisms and cells
Adaptatsiya	moslashish-organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi	Adaptation	the adaptation of organisms to a habitable environment in the process of evolution
Azotobakter	erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.	Azotobacter	a type of bacteria that live freely and gain nitrogen from the air
Anaerobioz	Organizmlarning erkin kislorod bo'lmagan muhitda hayot kechirishi	Anaerobiosis	Vital activity of organisms in the environment where there is no free oxygen
Antagonist	raqib- mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.	Antagonist	Rival – microorganisms which stop vital functions or kill other microorganisms
Antigenlar	immun tizimda antitelalar hosil bo'lishini indutsirlovchi, antitela paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi oqsillar.	Antigens	specific proteins that induce and influence the formation of antibodies in the immune system
Adsorbsiya	qattiq birikma – adsorbent bilan suyuqlik yoki gaz komponentlarning yutilish jarayonidir	Adsorption	Absorption process liquid and gas components into a solid compound - adsorbent
Bazal	asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo'tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.	Basal	Main; basal calves that help keep the flagella of eukaryotic animals (simple animals, algae) on the outer layer of cytoplasm
Bazipetal transport	o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.	Basipetal transport	Transport of plant substances to the root apical meristem
Bakteriofaglar	bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.	Bacteriophage	Viruses that infect bacteria

Binar	ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayralarning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.	Binary	consisting of two parts; binary nomenclature - the name of the micro-organisms with the name of generation and type; binary fission - the fission of cells during multiplication
Biogenez	tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.	Biogenesis	release of organic substances from living organisms
Biomassa	mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko'rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho'l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho'l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho'ktirish natijasida suyuq ozuqa muhitidan ajratib	Biomass	Biomass is organic matter derived from living, or recently living organisms. Biomass can be used as a source of energy and it most often refers to plants or plant-based materials which are not used for food or feed, and are specifically called lignocellulosic biomass. As an energy source, biomass can either be used directly via
Biofiltr	-oqava suvlarni biologik jihatdan tozalaydigan	Trickling filter	Biological wastewater treatment
Bioreaktor	biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.	Bioreactor	A bioreactor may refer to any manufactured or engineered device or system that supports a biologically active environment. In one case, a bioreactor is a vessel in which a chemical process is carried out which involves organisms or biochemically active substances derived from
Biosintez	fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.	Biosynthesis	Biosynthesis (also called biogenesis or anabolism) is a multi-step, enzyme-catalyzed process where substrates are converted into more complex products in living organisms. In biosynthesis, simple compounds are

Biotexnologiya	tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan vo'nalishi	Biotechnology	Biotechnology is the use of living systems and organisms to develop or make products
Biorekultivatsiya	qazilma boyliklar olinganidan so'ng joylarni tekislab o'simlik o'stirish	Reclamation	Plant cultivation after the excavation of minerals
Vektor	genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar- kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi; o'rmini olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o'simliklarda klonlash vektori-o'simlik hujayrasiga begona DNKni o'tkazish va joylashtirish bilan shug'ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmida vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo'lmagan organizmga o'tkazib qo'yishida qatnashadigan plazmida.	Vector	In molecular cloning, a vector is a DNA molecule used as a vehicle to artificially carry foreign genetic material into another cell, where it can be replicated and/or expressed. A vector containing foreign DNA is termed recombinant DNA. The four major types of vectors are plasmids, viral vectors, cosmids, and artificial chromosomes. Of these, the most commonly used vectors are plasmids. Common to all engineered vectors are an origin of replication, a multicloning site, and a selectable marker.
Genoterapiya	retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob'ekt to'qimalarida genetik sog'lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.	Gene therapy	Gene therapy is the therapeutic delivery of nucleic acid polymers into a patient's cells as a drug to treat disease.
Genotip	asos genlarining to'plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.	Genotype	The genotype is the part (DNA sequence) of the genetic make up of a cell, and therefore of an organism or individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/individual.

Genofond	organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.	The gene pool	The gene pool is the set of all genes, or genetic information, in any population, usually of a particular species.
Geterozis	bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.	Heterosis	Heterosis, hybrid vigor, or outbreeding enhancement, is the improved or increased function of any biological quality in a hybrid offspring. The adjective derived from heterosis is heterotic.
Gibrid	duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.	Hybrid	In biology a hybrid, also known as cross breed, is the result of mixing, through sexual reproduction, two animals or plants of different breeds, varieties, species or genera.[1] Using genetic terminology, it may be defined as follows.
Ginogenez	murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.	Gynogenesis	Offspring are produced by the same mechanism as in parthenogenesis, but with the requirement that the egg merely be stimulated by the presence of sperm in order to develop.
Giflar	ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.	Gifral	A threads – of molds
Gormon retseptor kompleks	gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshirishining birinchi bosqichi.	Hormone receptor complex	Connect hormone and protein receptors, the first degree of the influence of the hormone
Gormon statusi	– ontogenezda o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati,	Hormone status	The general condition of the animal and plant structure in ontogenesis
Destruksiya	moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.	Destruction	Loss of physical activity by splitting substances

Diploid –	mazkur turga xos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.	Diploid	Diploid cells have two homologous copies of each chromosome, usually one from the mother and one from the father.
DNK –	dezoksiribonuklein kislotalar molekulasi, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.	DNA	Deoxyribonucleic acid is a molecule that carries most of the genetic instructions used in the development, functioning and reproduction of all known living organisms and many viruses.
DNK replikatsiyasi –	fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekulalarini ikkilanishi (ikki marta ko'payishi).	DNA replication	Cell division is essential for an organism to grow, but, when a cell divides, it must replicate the DNA in its genome so that the two daughter cells have the same genetic information as their parent.
YOpiq tizim –	tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.	Closed system	A closed system is a physical system that does not allow certain types of transfers (such as transfer of mass) in or out of the system.
YOpihqoq uchlar -	komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.	sticky ends	DNA end or sticky end refers to the properties of the end of a molecule of DNA or a recombinant DNA molecule.
Identifikatsiya	aynan o'xshatish, tenglashtirish-modda yoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.	Identification	Identification in biology is the process of assigning a pre-existing taxon name to an individual organism.
Immobilizatsiya (to'plash)	membranalarda hujayra, fermentlarni to'plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.	immobilization	An immobilized enzyme is an enzyme that is attached to an inert, insoluble material such as calcium alginate
Inhibitor-	to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).	Inhibitor	Enzyme inhibitor, a substance that binds to an enzyme and decreases the enzyme's activity
Induktor	nofaol holatga o'tkazadigan past molekulyar modda.	Inductor	inactive state of low molecular weight substances.

Induksiya	ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.	Induction	Enzyme induction is a process in which a molecule induces the expression of an enzyme.
Initsiatsiya	molekulyar biologiyadagi translyasiya jarayonining birinchi bosqichi.	Initiation	The initial stage of the translation process in molecular biology
Inkubatsiya	o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.	Incubation	Cultivation. microbial exposure at a specific temperature
Inokulyat	ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi ozuqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.	The inoculum	method of reproduction of organisms, microorganisms
Intron	genning transkripsiyalanayotgan "sukunat saqlovchi" protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.	Intron	An intron is any nucleotide sequence within a gene that is removed by RNA splicing during maturation of the final RNA product.
Kompetensiya	hujayra, to'qima, organ va organizmning indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.	Competence	In microbiology, genetics, cell biology, and molecular biology, competence is the ability of a cell to take up extracellular DNA from its environment.
Komplementar zanjir	RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.	complementary chain	The two base-pair complementary chains of the DNA molecule allow for replication of the genetic instructions.
Kataliz	ozonlangan havo tarkibida ishtirok etadigan kislorodning oksidlovchilik hususiyatini oshirish	Catalysis	Catalysis is the increase in the rate of a chemical reaction due to the participation of an additional substance called a catalyst
Ligaza-DNK	zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.	DNA ligase	DNA ligase is a specific type of enzyme, a ligase, that facilitates the joining of DNA strands together by catalyzing the formation of a phosphodiester bond.

Ligirlash –	DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog'larining hosil bo'lishi. Bu ibora to'g'ri uchlarini biriktirish hollarida va RNK bog'lar hosil bo'lishida ham qo'llaniladi.	Ligation	the covalent linking of two ends of DNA or RNA molecules, most commonly done using DNA ligase, RNA ligase (ATP) or other enzymes.
Lizis-	erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarining ko'payishi natijasida uning erib ketishi.	Lysis	Lysis refers to the breaking down of the membrane of a cell, often by viral, enzymic, or osmotic mechanisms that compromise its integrity.
Marker (DNK)	elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.	Marker (DNA)	Genetic marker, a DNA sequence with a known location associated with a particular gene or trait
Marker gen –	joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.	Marker gene	A marker gene is a gene used in nuclear biology and molecular biology to determine if a nucleic acid sequence has been successfully inserted into an organism's DNA.
Matritsa.	1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) (molekulali biologiyada) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketligi.	Matrix	Matrix, the material or tissue between cells in which more specialized structures are embedded
Metabolizm-	oraliq almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtidan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolizm-mikroorganizmlarning (qirmizi bakteriyalar Rhodospirillum) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Bu xususiyat	Metabolism	Metabolism is the set of life-sustaining chemical transformations within the cells of living organisms.

	bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi.		
Metabolitlar	metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.	Metabolites	Metabolites are the intermediates and products of metabolism.
Mikroorganizmlar uyushmasi-	har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.	microbial colony	A microbial colony is defined as a visible cluster of microorganisms growing on the surface of or within a solid medium, presumably cultured from a single cell.
Mikroflora-	har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikroflorasi; havo mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo'shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi; rizosfera mikroflorasi.	Microorganisms	a collection of different species of microorganisms living environment; avtoxonon mikroflora; mikroflora; mikroflora; mud mikroflora; normal mikroflora; mikroorganism; mikroflora; soil mikroflora; rizosfera mikroflora.
Mitselli-	zamburug' tana-zamburug', jumladan sho''lasimon zamburug'larning o'sadigan tanasi bo'lib, bir va ko'p hujayrali ipchalar (gif)dan iborat.	Mycelium	Mycelium is the vegetative part of a fungus, consisting of a mass of branching, thread-like hyphae.
Modifikatsiya	mikroorganizmlarning fenotipik o'zgarishi, ya'ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo'lmagan o'zgarishlar.	Modification	A modification is a change in the physical appearance of an organism (phenotype) caused by environmental factors.
Morfogenez	organ (organogenez), to'qima(gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.	Morphogenesis	Morphogenesis is the biological process that causes an organism to develop its shape.
Mutageniz	mutageniz o'zgarishning (mutagenizning) ro'y berishi-organizmda irsiy o'zgarishlar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon	Mutagenesis	Mutagenesis is a process by which the genetic information of an organism is changed in a stable manner, resulting in a mutation.

	asosida irsiy axborotni saqlovchi va naslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasi o'zgarishi yotadi.		
Mutagenlar	DNK molekulasi mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;	Mutagens	A mutagen is a physical or chemical agent that changes the genetic material, usually DNA, of an organism and thus increases the frequency of mutations above the natural background level.
Mutatsiya	gen, xromosomadagi nukleotid izchilik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.	Mutation	A mutation is a permanent alteration of the nucleotide sequence of the genome of an organism, virus, or extrachromosomal DNA or other genetic elements.
Nishon-hujayra	u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.	Target cell	target cells are red blood cells that have the appearance of a shooting target with a bullseye.
Nuklein kislotalar	turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekulyar tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.	Nucleic acids	Nucleic acids are biopolymers, or large biomolecules, essential for all known forms of life. Nucleic acids, which include DNA (deoxyribonucleic acid) and RNA (ribonucleic acid), are made from monomers known as nucleotides.
Noosfera	biosferani tabiat qonunlari asosida boshqarish, inson ongining yuqori taraqqiy etishi	Noosphere	The noosphere is the sphere of human thought
Organogenez	uyushmasdan o'sayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.	Organogenesis	In animal development, organogenesis is the process by which the ectoderm, endoderm, and mesoderm develop into the internal organs of the organism.

Ochiq tizim	tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.	Open systems	the external environment and the energy and material exchange with the system.
Oziq zanjiri	moddalarning aylanma harakati	food chain	A food chain is a linear network of links in a food web starting from producer organisms and ending at apex predator species, detritivores, or decomposer species.
Ozonoliz	Ozonning ikkilamchi va birlamchi uglerod bog'lariga fiksatsiya jarayoni	Oxonolysis	The process of fixing the first and second carbon ozone connection
Partenogenez	asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.	Parthenogenesis	Parthenogenesis is a natural form of asexual reproduction in which growth and development of embryos occur without fertilization.
Plazmida	avtonom replikatsiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.	Plasmid	A plasmid is a small DNA molecule within a cell that is physically separated from a chromosomal DNA and can replicate independently.
Poliadenillash	poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.	Polyadenylation	Polyadenylation is the addition of a poly(A) tail to a messenger RNA.
Poliploidiya	organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.	Polyploid	Polyploid cells and organisms are those containing more than two paired (homologous) sets of chromosomes.
Proliferatsiya	hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.	Proliferation	The term cell growth is used in the contexts of cell development and cell division (reproduction).
Promotor	genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.	promoter	In genetics, a promoter is a region of DNA that initiates transcription of a particular gene.
Pronukleus	urug'langan tuxum hujayra yadrosi.	Pronucleus	A pronucleus is the nucleus of a sperm or an egg cell during the process of fertilization, after the sperm enters the ovum, but before they fuse.

Proton pompasi	maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.	Proton pump	A proton pump is an integral membrane protein that is capable of moving protons across a biological membrane.
Protoplast	mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.	Protoplast	Protoplast, initially referred to the first human[citation needed] or, more generally, to the first organized body of a species. In modern biology.
Profag	bakteriya xromosomasiga o'rnashgan fag genomi. Lizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi mo''tadil bakteriofag.	Prophage	A prophage is a bacteriophage genome inserted and integrated into the circular bacterial DNA chromosome or existing as an extrachromosomal plasmid.
Protsessing	etilish jarayoni	Processing	maturation
Regeneratsiya	hujayralar tiklanishi.	Regeneration	cell recovery
Rekombinant gen	turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.	Chimeric gene	Chimeric genes form through the combination of portions of one or more coding sequences to produce new genes. These mutations are distinct from fusion genes which merge whole gene sequences into a single reading frame and often retain their original functions.
Rekombinant DNK	turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.	Recombinant DNA	Recombinant DNA (rDNA) molecules are DNA molecules formed by laboratory methods of genetic recombination to bring together genetic material from multiple sources, creating sequences that would not otherwise be found in the genome.
Rekombinatsiya	krossingover natijasida otalar genlarining qayta guruhlanishi (tabaqlanishi).	Recombination	

Reparatsiya	DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK molekulasi uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulalarni tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.	Repair	DNA repair is a collection of processes by which a cell identifies and corrects damage to the DNA molecules that encode its genome.
Repressiya	gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.	Repression	Expression of the gene and the mechanism of recovery of enzymatic synthesis
Repressor	ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.	Repressor	A repressor is a DNA- or RNA-binding protein that inhibits the expression of one or more genes by binding to the operator or associated silencers.
Restriktazalar	kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.	Restriction enzymes	A restriction enzyme or restriction endonuclease is an enzyme that cuts DNA at or near specific recognition nucleotide sequences known as restriction sites.
Sayt	o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'ri.	Site-	Location, location of a point mutation in the gene map
Segment	karj, bo'lak.	Segment-	snippet
Seleksiya	tanlash-hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.	Selection-	new strains of microorganisms
Skrining	bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.	Screening	Before switching on the contents of a clone of the candidate chart smeshannye population of microorganisms po points.
Substrat	ozuqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan ozuqa muhiti.	Substrat-	Pitatlnaya consistently dlya microorganisms kultivirovanie
Termodinamik tizim	qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.	thermodynamic system	I Properties sobratat complex elementnye
Transduksiya	bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.	Transduktsiya-	Perevesti retsipientnyx candidate trace donornyx candidate s pomoshchyu bacteriophage
Ultrafiltratsiya	kolloid zarrachalarni ajratish	Ultrafiltratsiya	The process of selection of

	jarayonidir		the colloidal particles
Faglar	viruslar.	Fag-	virus
Fenotip	organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.	Phenotype	Sum Properties signs during development of the organism processes
Fermenter	ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk asbob.	Fermenter-	Apparatus for fermentation of certain raw materials using microorganisms
Fermentlar	Biologik katalizator	Enzymes	biocatalyst
Fitoaleksinlar	genotipik va real komponentlari.	phytoalexins	Genotype and the actual components
Fotosintez	yorug'lik energiyasi ishtirokida o'simliklar, suvo'tlari va ayrim bakteriyalar hujayralarida SO ₂ dan organik moddalar hosil bo'lish jarayoni.		Identification of the organic substances CO ₂ in bacteria, some algae with light energy
Fragmentlar	parchalar, qismlar.	Fragments	Part
Xemosintez	ayrim mikroorganizmlarga xos bo'lgan oziqlanish turi.	xemosintez	Class pitaniya spetsificheskimi dlya microorganisms opredelennyx
Xromosomalar	DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi	Chromosomes	The genetic structure of the core protein and DNA
Sentrifuga	ajratkich, analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontaj ajratkich; bug'lantiruvchi ajratkich; cho'ktiruvchi ajratkich; tindiruvchi ajratkich; preparativ ajratkich; o'z-o'zini bo'shatadigan ajratkich; suzish yo'li bilan ishlaydigan ajratkich; ko'p bo'limli ajratkich; o'ta tez aylanadigan ajratkich; tabaqalashtiruvchi, tafovutli ajratkich.	Tsentrifuga-	Separator, analytical (laboratory) Separator; vibration Separator; horizontal Separator; and evaporating Separator; Mazur Separator; Stir Separator; Preparation Separator; self-released Separator; swimming, working through the Separator; Separator for the most part; very quickly turn into Separator; differentiated divergent Separator.
Sitozin	DNK va RNK tarkibida bo'lgan pirimidin asosi.	Stosine	he Fundamental pyrimidine in DNA and RNA
Elektroforez	elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga o'tishi, bo'laklarga ajratish.	Electrophoresis	Allocate particles move mixtures from one place to another using an electric field

**ISHCHI O'QUV FAN
SILLABUSI**

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA MAXSUS
TA'LIM VAZIRLIGI**

TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI



O'quv-uslubiy boshqarma
tomonidan ro'yxatga olindi
№ BD-5320500 - 2.17.1
« » 2022 yil

**«MOLEKULYAR BIOLOGIYA»
ISHCHI FAN DASTURI**

Bilim sohasi: 300000-Ishlab chiqarish texnik soha
Ta'lim sohasi: 320000-Ishlab chiqarish texnologiyalar
Ta'lim yo'nalishi: 5320500-Biotexnologiya (ozuq-ovqat, ozuqa, kimyo va qishloq xo'jaligi)

Ta'lim yo'nalishi va (mutavassslik) kodi va rangi	Talabani o'quv yuklamasi, soat							Semestrlar / soat	
	Umumiy yuklama hajmi	Jami	Auditoriya mashg'ulotlari Jumladan						Mustaqil ta'lim
			Ma'ruza	Amaliy mashg'ulot	Lab ishi	Seminar	Kurs ishi (loyiha ishi)		
5320500-Biotexnologiya (ozuq-ovqat, ozuqa, kimyo va qishloq xo'jaligi)	130	72	24	24	24	-	-	58	6

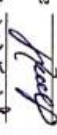
Toshkent – 2022

Ushbu ishchi fan dasturi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 20__ yil "___" _____dagi "___" _____sonli buyrug'i bilan tasdiqlangan fan dasturi asosida tuzilgan.

Ishchi fan dasturi Toshkent davlat Texnika universiteti "Biotexnologiya" kafedrasida tuzilgan.

Tuzuvchilar: b.f.n., dots. Abdullayeva G.T. – ToshDTU
ass. Soatov A.M. – ToshDTU

Ishchi o'quv dasturi Muhandislik texnologiyalari fakultetining «Biotexnologiya» kafedrasida muhokama etildi va fakultetning o'quv-uslubiy kengashiga tavsiya etildi. (2022 yil "___" _____dagi "___" _____sonli bayonnom)

Kafedra mudiri  b.f.n., dots. Nazarov K.K.
Kotiba  ass Toshmurova M.J.

Ishchi o'quv dasturi Muhandislik texnologiyalari fakultetining O'quv-uslubiy kengashidagi majlisida muhokama etildi va universitetning Ilmiy-uslubiy kengashiga tavsiya etildi. (2022 yil "___" _____dagi "___" _____sonli bayonnom)

Fakultet dekani  N.N. Maxmudov
Kotib(a)  D.B. Elmurotova

Ishchi fan dasturi Toshkent davlat texnika universiteti Ilmiy-uslubiy kengashida ko'rib chiqildi va tasdiqlandi (2022 yil "28" 02 dagi 10-sonli bayonnom).

Kotib  N.N. Mambetov

1. O'quv fanining dolzarbligi va oliy kasbiy ta'limdagi o'rni

"Molekulyar biologiya" fan dasturi molekulyar biologiya va uning amaliyot bilan aloqasini rivojlantirish va ahamiyatini, hujayra tuzilish va hujayra organelalari ahamiyatini, nuklein kislotalar va ularning fizik-kimyoviy xossalari, RNK strukturalari va uning sintezi, transkripsiya jarayonlari, Genetik kod, oqsillarning biosintezi, translyatsiya, genetik axborotni tadbiiq etish jarayonlarning prokariot va eukariotlarda o'xshash va farqlanuvchi tomonlarini hamda o'zgaruvchanlik va nasl tashuvchi molekulalarning evolyutsiyasi va boshqa ma'lumotlarni to'la qamrab oladi.

2. O'quv fanining maqsadi va vazifasi

Fanni o'qitilishidan maqsad – tirik organizmlar asosini tashkil qiluvchi asosiy jarayonlar – replikasiya, transkripsiya, Translyatsiya va molekulalar, ularning biosintezi, nuklein kislotalar, ularning turlari va strukturalari, fermentlar, ularning turlari va aktiv markazlari, biologik membranalar kabi moddalar xususiyatlari va biologik funksiyalari, hamda tirik organizmlar hayot faoliyatini ta'minlovchi modda almashinish jarayonlari va mexanizmlari haqida molekulyar darajada bilim berishdir. Olingan bilimlar asosida oziq-ovqat mahsulotlari va ularning xom-ashyolari bo'lgan biologik materiallarni tashkil qiluvchi asosiy moddalarni aniqlash, o'zgartirish asoslarini va zamonaviy biotexnologiya sohasida qo'llanadigan usullarni o'rgatishdir.

Fanning vazifasi – talabalarda odam, xayvon, o'simlik va mikroorganizmlar xujayralarida sodir bo'ladigan biokimyoviy reaksiyalarni molekulyar darajada o'qitishning umumiy mexanizmlari, yuqori va quyi molekulyar bioregulyatorlarning uch o'leovli fazoviy tuzilishi va biologik funksiyalari, xujayra tuzilishi nazariyasi, nuklein kislotalar, oqsillar, genlarning nozik tuzilishi, DNK ning replikasiya mexanizmi, DNK transkripsiyasi, RNK Translyatsiyasi jarayonlarining mexanizmlari, Transduksiya jarayoni, Transport RNK si tuzilishi va funksiyasi, Genetik kod, uning ahamiyati, oqsillarning birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi tuzilishi, oqsillar tuzilishini ularning biologik funksiyalariga mutanosibligi va tirik organizmlarda oqsillar biosintezini molekulyar darajada ketishi mexanizmlarini o'rgatishdan iborat.

3. Fan bo'yicha umumiy yuklama xajmining o'quv jarayoni turlari bo'yicha taqsimlanishi

T/	F	Mavzu nomi	O'qitish shakllari bo'yicha ajratilgan soat					
			Umu-miy yuk-lama	Jami	Ma'ruza	Amaliy mas-lahalar	Labo-rato-riyalari	Kursatib-i (loyihasi)
1		Molekulyar biologiya fanining axamiyati va vazifalari	10	6	2	2	2	4
2		Nuklein kislotalar va ularning turlari. Nuklein kislotalar va ularning fizik-kimyoviy xossalari	12	6	2	2	2	6
3		Nuklein kislotalar birlamchi strukturasi DNK replikasiyasi.	10	6	2	2	2	4
4		RNK strukturasi va uning sintezi	12	6	2	2	2	6
5		Transkripsiya jarayoni	10	6	2	2	2	4
6		Genetik axborotni tadqiq etish jarayonlarning prokariot va eukariotlarda o'xshash va farqlanuvchi tomonlari	10	6	2	2	2	4
7		O'zgaruvchanlik va nasl tashuvchi molekulalarning evolyutsiyasi	10	6	2	2	2	4
8		Nasl tashuvchi elementlarning almashishi va ko'chirish jarayonlarning mexanizmlari	12	6	2	2	2	6
9		Xromosoma tarkibiga kirmaydigan genetik elementlar	10	6	2	2	2	4
10		Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari	12	6	2	2	2	6
11		Kerakli aktiv genlar ajratib olish usullari sxemasi	10	6	2	2	2	4
12		O'simliklar va mikroorganizmlar geninjeneriyasi	12	6	2	2	2	6
6-semestr uchun hammasi			130	72	24	24	24	58
Fan bo'yicha hammasi			130	72	24	24	24	58

3. Asosiy nazariy qism (sa'ruza mashg'ulotlari)

Modul-1. Mavzu: Molekulyar biologiya fanining axamiyati va vazifalari

1-mavzu. Molekulyar biologiya va uning amaliyot bilan aloqasini rivojlantirish va ahamiyati. Hayotda xujayra tuzilish ahamiyati. Xujayra organelalari. Prokariotlar va eukariotlarning hujayra tuzilishi. Metabolik protsesslarning umumiy sxemasi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-2. Mavzu: Nuklein kislotalar va ularning turlari. Nuklein kislotalar va ularning fizik-kimyoviy xossalari

2-mavzu. Nuklein kislotalar to'g'risida birinchi bosqichli axborot va ularning o'rganish tarixi. Nukleotidlar va ularning turlari. Genetik axborot vazifasi va xujayrada joylashishi. Xromosoma. Xromatin. DNKning boshqa turlari: satelit DNK, mitoxondrial DNK, yadroli DNK, sitoplazmatik DNK. DNK va RNK molekulalarni tashqi ko'rinishi va shakllanishi. Xromosoma. Xromatin. Denaturatsiya, renaturatsiya va molekulyar gibridizatsiya. Chargaff qoidalari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-3. Mavzu: Nuklein kislotalar birlamchi strukturasi DNK replikasiyasi

3-mavzu. Tirik organizmlarda nuklein kislotalarning turlari va ahamiyati. DNK va RNK. Purin va pirimidin asoslari. Nukleozidlar. Nukleotidlar. Polinukleotidlar. Komplementarlik qoidalari. DNKning tuzilishi va uchlamchi strukturasi, Uotson va Krik aniqlangan DNK modeli to'g'risida ma'lumot. Replikatsiya. Uning mexanizmi va ahamiyati. Genotip. Fenotip. Genom. Gen. Replikon. Replikatsiya bosqichlari va uning mexanizmi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-4. Mavzu: RNK strukturasi va uning sintezi. Transkripsiya jarayoni

4-mavzu. Ribonuklein kislotaning tuzilishi va uning hosil bo'lishida azotli asoslarning bir-biriga juft asoslari. RNK ning turlari. Transkripsiya va uning genetik abhorotni tadbiq qilishda ahamiyati. Informatsion RNK, DNK-dan ribosomaga xabar tashuvchi vosita sifatida. Transkripsiya jarayonining bosqichlari va fermentlari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-5. Mavzu: Genetik kod. Oqsillarning biosintezi. Translyatsiya.

5-mavzu. Genetik kod. Uning tarixi va axamiyati. Triplet. Kodon. Antikodon tushunchalari. Terminatsiya. Genetik kodni universalligi. Oqsillar biosintezi da nuklein kislotalarning vazifasi. Aminoatsilsintetaza. Ribosoma. Translyatsiya jarayonining bosqichlari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-6. Mavzu: Genetik axborotni tadbiq etish jarayonlarning prokariot va eukariotlarda o'xshash va farqlanuvchi tomonlari.

6-mavzu. Har xil organizmlarning genom tuzilish turlari. Eukariotik va prokariotik genomlarning tuzilishi. Replikatsiya, transkripsiya va Translyatsiya jarayonlarning o'xshash va farqlanuvchi tomonlari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-7. Mavzu: O'zgaruvchanlik va nasl tashuvchi molekulalarning evolyutsiyasi.

7-mavzu. Mutatsiya. Mutagenlar va ularning ta'siri mexanizmlari. Mutatsiyaning foydali va zararli tomonlari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-8. Mavzu: Nasl tashuvchi elementlarning almashishi va ko'chirish jarayonlarning mexanizmlari.

8-mavzu. Genetik rekombinatsiya. Transduksiya. Transformatsiya. Transfeksiya Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-9. Mavzu: Xromosoma tarkibiga kirmaydigan genetik elementlar.

9-mavzu. Transpozonlar. Inersiyalar. Palindromlar. MDG U ALU va boshqa takrorlanuvchilar

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-10. Mavzu: Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari.

10-mavzu. Umumiy reja. Vektorlar. Rekombinantlar. Endonukleazalar. Markyorlar. Restriktaza. DNK – polimeraza. DNK ligaza.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-11. Mavzu: Kerakli aktiv genlar ajratib olish usullari sxemasi.

1-mavzu. Genlar bankini yaratish va ular bilan ishlash metodlari. Gibrizatsiya. Genetik transformatsiya usullari. Transgen hayvonlarni yaratish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

Modul-12. Mavzu: O'simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi.

14-mavzu. O'simliklarda genetik transformatsiya o'tkazish usullari. Transgen o'simliklar. Bakteriyalar va achiqlar genetik injeneriyasi. Vektorlar. Markerlar. Kallus tukimalari. Protoplastlar selektiv markerlar vektorlari. O'simliklarda genetik transformatsiya o'tkazish usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *diologik yondoshuv, muammoli ta'lim, munozara, o'z-o'zini nazorat*

4. Amaliy mashg'ulotlar bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar

«Molekulyar biologiya» fani bo'yicha amaliy mashg'ulotlari reaktivlar va zarur jihozlar bilan ta'minlangan laboratoriya xonasida o'qituvchi nazorati ostida o'tkaziladi. Amaliy ishlarning nazariy va amaliy ma'lumotlarini to'la o'zlashtirgan talabalargagina tajriba o'tkazish ruxsat etiladi. Mashg'ulotning nazariy va amaliy

qismlari hamda o'tkazilgan tajriba natijalari laboratoriya daftoriga qayd etiladi va olingan hulosalar keltirilib, o'qituvchi tomonidan reyting tizimi asosida baholanadi.

Amaliy mashg'ulotlarning taxminiy ro'yxati

1. Molekulyar biologiya fani yutuqlarining sanoatga tadbiiq etilishi.
2. Nuklein kislotalarning strukturaviy tuzilishi va ularning o'zaro farqlanishi.
3. Nuklein kislotalarning kimyoviy tarkibi. Azot asoslarining o'zaro bog'lanishi.
4. Polinukleotidlarning tuzilishi va ularning ahamiyati.
5. DNK replikasiyasining yarim konservativ mexanizmi. DNK ning segregatsiyasi
6. RNK turlari va ularning vazifalari
7. Protessing jarayoni va uning ahamiyati
8. Oqsillarning biosintezining molekulyar mexanizmi
9. Gen faoliyatining boshqarilish mexanizmi

5. Laboratoriya ishlari bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar

«Molekulyar biologiya» fani bo'yicha laboratoriya mashg'ulotlari reaktivlar va zarur jihozlar bilan ta'minlangan laboratoriya xonasida o'qituvchi nazorati ostida o'tkaziladi. Laboratoriya mashg'ulotini o'tkazishdan avval talabalar texnika havfzligi qoidalarini bilan tanishadilar. Uslubiy-metodik qo'llanmadan foydalanib, ma'ruza darslarida olgan bilimlariga tayangan holda laboratoriya ishi amalga oshiriladi. Laboratoriya ishinin nazarini va amaliy ma'lumotlarini to'la o'zlashtirgan talabalargina tajriba o'tkazish ruxsat etiladi. Mashg'ulotning nazariy va amaliy qismlari hamda o'tkazilgan tajriba natijalari laboratoriya daftoriga qayd etiladi va olingan hulosalar keltirilib, o'qituvchi tomonidan reyting tizimi asosida baholanadi.

Laboratoriya mashg'ulotlar uchun quyidagi mavzular tavsiya etiladi:

1. Molekulyar biologiya laboratoriya ishlarini bajarishda foydalaniladigan asbob-uskunalar va reaktivlar bilan tanishish.
2. O'simlik xujayrasi organelalarini ajratish
3. Mikroorganizmlardan nuklein kislotalarni ajratish
4. O'simlik xujayralaridan nuklein kislotalarni ajratish
5. Xayvon xujayralaridan nuklein kislotalarni ajratish.
6. Agarozda gelida elektroforezni o'tkazish

7. DNK restriksiyasini o'tkazish usuli
8. Polimer zanjir reaksiyasini amalga oshirish
9. Oqsillar ajratish usullari

7. Mustaqil ta'lim va mustaqil ishlar bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar

Talaba mustaqil ishini tayyorlashda muayyan fanning xususiyatlarini hisobga olgan holda quyidagi shakllardan foydalanish tavsiya etiladi:

- darslik va o'quv qo'llanmalar bo'yicha fan boblari va mavzularini o'rganish;
- tarqatmali materiallar bo'yicha ruzalar qismini o'zlashtirish;
- avtomatlashtirilgan o'rgatuvchi va nazorat qiluvchi tizimlar bilan ishlash;
- talabani o'quv-ilmiy-tadqiqot ishlarini bajarish bilan bog'liq bo'lgan fanlar bo'limlari va mavzularni chuqur o'rganish;
- masofaviy (distanston) ta'lim.

Mustaqil ta'lim uchun tavsiya etiladigan mavzular:

- Transkripsiya jarayoni, prokariot va eukariot xujaraysidagi farqi
- Universal va noyob genlar
- Oqsil biosintezining asosiy bosqichlari
- Genetik kodning universalligi
- Mutatsiyaning foydali va zararli tomonlari
- Mutatsiya chaqiruvchi omillar, kanserogenlar
- Molekulyar biologiya fanining rivojiga o'z sarmoyasini kushgan olimlar
- Genetik transformatsiya turlari. O'simliklarga qullanishi
- Stvolli xujayralar
- Polimeraz zanjirli reaksiya

8. Asosiy va qo'shimcha o'quv adabiyotlari va axborot manbalari

Asosiy adabiyotlar:

1. Zikriyev A., Mirxamidova A. "Biologik kimyo va molekulyar biologiya "Toshkent "Tafakkur bo'stoni" 2013 y. 223 b.
2. Artikova R.M. Molekulyar biologiya. Amaliy mashg'ulotlar uchun o'quv-uslubiy qo'llanma. Toshkent.: TKTU. 2013. -35 b.
3. Русь Е., Стенберг М. Введение в молекулярную биологию. От клеток к атомам. Мир. 2002. 142 стр.

4. Mahesh S. Plant Molecular Biotechnology. New Age Science. United Kingdom, 2013.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Мирзиёев Ш.М. Эркин ва фаровон, демократик Ўзбекистон давлатини биргаликда барпо этимиз. Ўзбекистон Республикаси Президентининг лавозимига киришиш тантанали маросимига бағишланган Олий Мажлис палаталарининг қўшма мажлисидаги нутқи. –Т.: “Ўзбекистон” НМИУ, 2016. – 56 б.
2. Мирзиёев Ш.М. Қонун устуворлиги ва инсон манфаатларини таъминлаш – юрт тараққиёти ва халқ фаровонлигининг гарови. Ўзбекистон Республикаси Конституцияси қабул қилинганнинг 24 йиллигига бағишланган тантанали маросимдаги маъруза 2016 йил 7 декабрь. – Т.: “Ўзбекистон” НМИУ, 2016. – 48 б.
3. Мирзиёев Ш.М. Буюк келажатимизни мард ва олижаноб халқимиз билан бирга қураимиз. - Т.: “Ўзбекистон” НМИУ, 2017. – 488 б.
4. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида. - Т.:2017 йил 7 февраль, ПФ-4947-сонли Фармони.
5. Artikova R.M. Gen va hujayra muxandisligi.ma'ruzalar matni. Toshkent.: TKTI. 2013. – 75 b.
6. Xo'jamshukurov N.A. Artikova R.M. Molekulyar biologiya. Ma'ruzalar matni. Toshkent.:TKTI. 2013. –65 bet.
7. Alimuxamedov M. Yuqori molekulari birikmalarning kimyosi va fizikasi. T.: TKTI. 2000. – 125 b.
8. Musaev X.N., Axmedova N.X., Darslik. Kimyoviy mikrobiologiya –T.:2012. 428 bet.

Internet saytlari

1. www.molbiol.ru
2. www.biotex.com
3. www.ziyounet.uz

NAZORAT SAVOLLARI

1 – ON savollari

1. Molekulyar biologiya fani nimani o'rganadi?.
2. Oqsil sintezining bosqichlari.
3. Elongatsiya jarayoni va unda qatnashadigan fermentlar.
4. Xujayraning umumiy tuzilishi.
5. Genetik kod universaldir.
6. Molekulyar biologiya fanining rivojlanish tarixi.
7. Hujayra organellalari.
8. Genetik kod lug'ati haqida tushuncha.
9. Transport va ribosoma RNK lar.
10. Prokariot va eukariot xujayralarining tuzilishidagi farqi nimadan iborat.
11. Ma'noli va ma'nosiz tripletlar
12. Xujayra yadrosini tuzilishi va vzifasi xaqida ma'lumot bering
13. Mitoxondriyalar va ribosomalarning xujayradagi vazifasi nimadan iborat?
14. Peptid bog'i qanday hosil bo'ladi?
15. Terminator va uning axamiyati
16. Hujayra komponentlarini ajratib olish qanday amalga oshiriladi?
17. Ribosomalar xujayrada qanday vazifani bajaradi?
18. DNK denaturatsiyasi.DNK ajratish usullari
19. Griffit tajribasi nimaga asoslanadi?
20. Transkripsiya mexanizmi.
21. Translyasiya bosqichlari
22. Transformatsiya nima?
23. Replikatsiya mexanizmi.
24. Translyasiya jarayoni qanday kechadi?
25. Qanday xolatda RNK genetik axborot tashuvchisi bo'lib xizmat qiladi
26. Replikatsiyada qanday fermentlar ishtirok etadi?
27. DNK biosintezi
28. CHargoff qoidasining ma'nosi nima?
29. DNK va RNK larning strukturaviy tuzilish darajalari
30. Nuklein kislotalar qachon va kim tomonidan kashf etilgan?
31. Nuklein kislotalarning tuzilishi va fizik-kimyoviy xossalari
32. Genetik kod xususiyatlari
33. Informatsion RNKning xujayradagi vazifalari nimadan iborat?
34. Genetik kod nima ? Jadvalni chizib bering
35. RNK xujayraning qaysi qismida sintezlanadi?
36. DNKning spirallanishi nima uchun kerak va nima beradi?
37. Xujayraning qaysi qismida transkripsiya sodir bo'ladi
38. Nuklein kislotalarning birlamchi strukturasi qanday xosil bo'ladi?
39. Transkripsiya bosqichlari.
40. DNK va RNKning farqi.
41. Nukleotid, nukleozidlar xaqida ma'lumot bering
42. Eukario va prokariot xujayralardagi transkripsiya farqi nimadan iborat?.
43. Ribosomal RNK ning tuzilishi va funksiyasi
44. DNK ni tuzilishi xaqida ma'lumot bering

Modullar bo'yicha nazorat qilish uchun savollar

2 – ON savollari

1. Klon va shtammlar qanday olinadi?
2. Trasformatsiya nima?

3. DNK polimerazalar xaqida ma'lumot bering
4. Gen muxandisligining moddiy asoslariga nimalar kiradi?
5. Ti plazmidalar xaqida ma'lumot bering
6. Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish
7. Transgen o'simliklarni haqiqiyligini tekshirishning qanday usullari mavjud?
8. O'simliklar xujayrasiga genlarni kiritish usullari
9. Vektorlar tiplari
10. Klonlash uchun qo'llaniladigan vektorning transformatsiyaga ishlatiladigan vektordan asosiy farqlari nimalardan iborat?
11. Restriktazalar va ularning funksiyasi
12. Vektorlarga qo'yiladigan asosiy talablar
13. Vektor nima va uning qanday asosiy tiplari mavjud?
14. Ligaza fermenti qanday maqsadda foydalaniladi?
15. Rekombinant molekulalar konstruksiyasi qachon va kim tomonidan amalga oshirilgan?
16. Qanday usullar bilan turli nomdagi nukleotid ketma-ketliklar uchlarining fragmentlarini birlashtirish mumkin?
17. Ekspressiya tushunchasi
18. DNKning nukleotid ketliklarini aniqlash usullari xaqida ma'lumot bering.
19. Avtonom xolda replikasiyalanuvchi plazmidalar xaqida ma'lumot bering
20. Genom deganda nimani tushunasiz?
21. Restriktazalar xaqida ma'lumot bering.
22. Rekombinatsiyalanuvchi yoki transmissibl plazmidlar xaqida ma'lumot bering
23. Axborot RNKsining vazifasi nimadan iborat?
24. Issiqlik o'tkazuvchanlik hodisasi.
25. Genlar bibliotekasi qanday olinadi?
26. Transpozonlarning hujayra DNKsiga integratsiyasi qanday amalga oshadi?
27. Qanday genom kasalliklarini bilasiz?
28. O'simliklar gen muxandisligida vektor sifatida nimalardan foydalaniladi?
29. Transpozonlarning kashf etilishida xissa qo'shgan olimlar
30. DNKning nukleotid ketma-ketligi qanday aniqlanadi?
31. Rekombinant DNKni olish usullari
32. As elementlar xaqida ma'lumot bering
33. Molekulyar biologiyaning kasalliklarni davolashdagi o'rni
34. Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi
35. Genom kasalliklari.
36. Viruslar, faglar
37. Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi.
38. Eukariot xujayra genomining tuzilishi
39. Xujayrada DNK qaerlarda joylashadi?
40. Transgen o'simliklar olish bosqichlari .

Oraliq attestatsiya (imtihonga) tayorgarlik ko'rish uchun savollar:

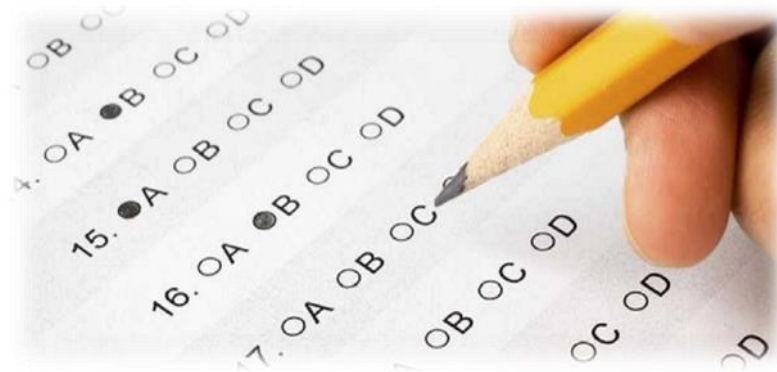
Yakuniy nazorat savollari

1	Nuklein kislotlarning turlari xaqida ma'lumot bering
2	Transgen o'simliklar olish bosqichlari
3	DNK ning nukleotid ketma-ketligini aniqlash usullari
4	Xujayra organellalari xaqida ma'lumot bering
5	Xujayralar kriokonservatsiyasi qanday amalga oshiriladi?
6	Genetik kod universaldir
7	Nuklein kislotalar qachon va kim tomonidan kashf etilgan?
8	Rekombinant molekulalar konstruksiyasi qachon va kim tomonidan amalga oshirilgan?

9	Rekombinatsiyalanuvchi yoki transmissibl plazmidlar xaqida ma'lumot bering
10	Transgen o'simliklar qanday olinadi?
11	Xujayraning umumiy tuzilishi
12	DNK va RNK larning strukturaviy tuzilish darajalari
13	Ligaza fermenti qanday maqsadda foydalaniladi?
14	Genom deganda nimani tushunasiz?
15	As elementlar xaqida ma'lumot bering
16	Elongatsiya jarayoni va unda qatnashadigan fermentlar
17	CHargoff qoidasining ma'nosi nima?
18	Vektor nima va uning qanday asosiy tiplari mavjud?
19	Restriktazalar xaqida ma'lumot bering
20	DNKning nukleotid ketma-ketligi qanday aniqlanadi?
21	Oqsil sintezining bosqichlari
22	DNK biosintezi
23	Vektorlarga qo'yiladigan asosiy talablar
24	Ekspressiya tushunchasi
25	Molekulyar biologiya fani nimani o'rganadi?
26	Replikatsiyada qanday fermentlar ishtirok etadi?
27	Restriktazalar va ularning funksiyasi
28	DNKning nukleotid ketliklarini aniqlash usullari xaqida ma'lumot bering
29	Klon va shtammlar qanday olinadi?
30	Translyasiya jarayoni qanday kechadi?
31	Vektorlar tiplari
32	Rekombinant DNKlar texnologiyasi
33	DNK polimerazalar xaqida ma'lumot bering
34	Replikatsiya mexanizmi
35	Nuklein kislotalarning nukleotid tarkibi
36	O'simliklar xujayrasiga genlarni kiritish usullari
37	Klon deb nimaga ataladi?
38	Kon'yugatsiya
39	Transformatsiya nima?
40	Transkripsiya jarayoni nimalar uchun zarur?
41	Transgen o'simliklarni haqiqiyligini tekshirishning qanday usullari mavjud?
42	Vektorlarga qo'yiladigan asosiy talablar
43	Lizogeniya
44	Translyasiya bosqichlari
45	DNK ni tuzilishi xaqida ma'lumot bering
46	Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish
47	Prokariot hujayralar genomi.
48	Fagning bakteriya hujayrasida ko'payishi.
49	Transkripsiya mexanizmi.
50	Ribosomal RNK ning tuzilishi va funksiyasi
51	Ti plazmidalar xaqida ma'lumot bering
52	Transgen o'simliklar olish bosqichlari

53	Gen muxandisligi fermentlari
54	Grifft tajribasi nimaga asoslanadi?
55	Eukario va prokariot xujayralardagi transkripsiya farqi nimadan iborat?
56	Gen muxandisligining moddiy asoslariga nimalar kiradi?
57	Plazmidalarning xujayralardagi ahamiyati
58	Genomning tashkil etilishi
59	DNK denaturatsiyasi.DNK ajratish usullari
60	Nukleotid, nukleozidlar xaqida ma'lumot bering

TESTLAR



TALABALAR BILIMINI BAXOLASH TIZIMI

Talabalarning fanni o'zlashtirish boyicha baholanishi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirining 2018 yil 9-avgustdagi 19-2018-sonli buyrug'iga ilova qilingan "Oliy ta'lim muassasalarida talabalar bilimini nazorat qilish baholash tizimi to'g'risidagi nizom"ga muvofiq amalga oshiriladi.

Oraliq nazoratlar. Oraliq nazoratlar semestr davomida 2 marta o'quv mashg'ulotlari davomida o'tkaziladi va modullar bo'yicha talabalarining bajargan ishlari portfolio shaklida jamlanib tahlil qilib baholanadi.

Joriy nazoratlar. Joriy nazoratlar talabaning amaliy va laboratoriya mashg'ulotlarida bajargan ishlari bo'yicha baholanadi. Joriy nazoratlar semestr davomida 2 marta o'quv mashg'ulotlari davomida o'tkaziladi va modullar bo'yicha talabalarining bajargan ishlari portfolio shaklida jamlanib tahlil qilib baholanadi.

Barcha 8 ta laboratoriya mashg'ulotining har biri bo'yicha o'zlashtirish natijalari ballik tizimda baholanadi va jami 92 ballgacha to'planadi, talabaning darslardagi faolligi va ishtirokiga umumiy 8 ballgacha qo'yiladi. Umumiy hisobda joriy nazorat topshiriqlari 100 ballik tizimda baholanadi.

Barcha 10 ta amaliy mashg'ulotning har biri bo'yicha o'zlashtirish natijalari ballik tizimda baholanadi va jami 90 ballgacha to'planadi, talabaning darslardagi faolligi va ishtirokiga umumiy 10 ballgacha qo'yiladi. Umumiy hisobda joriy nazorat topshiriqlari 100 ballik tizimda baholanadi.

Joriy baholashlar quyidagicha amalga oshiriladi:

Mashg'ulot turlari	Soni	Maksimal ball	Jami
Laboratoriya mashg'ulotlari	8	11,5	92
Talabaning darslardagi faolligi (davomati)	8	1	8
Jami			100
Amaliy mashg'ulotlari	10	9	90
Talabaning darslardagi faolligi (davomati)	10	1	10
Jami			100

Laboratoriya va amaliy mashg'ulotlarining har biri alohida 100 ballik tizimda baholanadi. So'ng ularning jamlanmasidan o'rta arifmetik qiymati olinadi va talabaning joriy nazorat bo'yicha o'zlashtirgan ballari quyidagi jadval asosida besh ballik va harfli tizimlarga o'giriladi.

Harfli tizimdagi baho	Ballarning raqamli ekvivalenti	Foiz ko'rsatkichi	An'anaviy usuldagi baho
A+	4,86-5,00	98-100	
A	4,71-4,85	95-97	A'lo
A-	4,46-4,70	90-94	
B+	4,21-4,45	85-89	Yaxshi
B	3,96-4,20	80-84	
B-	3,50-3,95	70-79	
C+	3,36-3,41	68-69	Qoniqarli
C	3,26-3,35	66-67	
C-	3,16-3,25	64-65	
D+	3,06-3,15	62-63	
D	3,01-3,05	60-61	
D-	3,00	60	
F	0-2,99	0-59	Qoniqarsiz

O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirining 2018 yil 9-avgustdagi 19-2018-sonli buyrug'iga ilova qilingan "Oliy ta'lim muassasalarida talabalar bilimini nazorat qilish baholash tizimi to'g'risidagi nizom"ga muvofiq oraliq nazoratda fan bo'yicha A-C darajasiga erishgan talabalar yakuniy nazoratga qo'yiladi.

Yakuniy nazorat (chiqish nazorati).

Yakuniy nazorat og'zaki, yozma yoki test shaklida o'tkaziladi. Talabaning yakuniy nazoratdagi o'zlashtirishi ham xuddi oraliq nazoratdagi kabi 100 ballik tizimda baholanadi va yuqoridagi jadval asosida uning baholash ko'rsatkichi aniqlanadi. Yakuniy nazorat bahosi fan bo'yicha o'zlashtirish ko'rsatkichini belgilaydi.

Asosiy adabiyotlar

№.	Nomi	ARM dagi soni	Elektron shakli
1.	A.Zikryaev, P.Mirxamidova Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.: Tafakkur bo‘stoni. 2013.- 224b	16	.pdf
2.	О.В.Добрыниной Учебная пособия Биохимия и молекулярная биология ISBN:5-7846-0036-2 стр.446 2022 г	1	.pdf
3.	Ашмарин И. П. Молекулярная биология Учебная пособия 1997 г. Стр 366	2	.pdf

4.1.2. Qo'shimcha adabiyotlar

5	O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 12.08.2020 yildagi Kimyo va biologiya yo‘nalishlarida uzluksiz ta’lim sifatini va ilm-fan natijadorligini oshirish chora-tadbirlari to‘g‘risida 4805-sonli qarori.	-	.pdf
6	Genetika va biotexnologiya, darslik, P.S. Sobirov, A.K. Kaxarov, A.A. Xushvaqtoov, E.S. Shatakov. Toshkent. “O‘zbekiston faylasuflari milliy jamiyati” . 2019. 328 bet.		.pdf
7	А.А. Нейфах Молекулярная биология процессов развития Учебная пособия 1997 г. Стр 312	1	.pdf

Internet saytlari

1. www.texhologiy.ru
2. <https://goaravetisyan.ru/uz/predmet-zadachi-i-celi-molekulyarnoi-biologii-molekulyarnaya-biologiya/>
- 2.www.ziyo-net.uz
- 3.www.bilimdon.uz
- 4.www.ref.uz