

Фарғона Давлат Университети

Табиийёт –география факультети

Биология йўналиши

328-гуруҳ талабаси

Фан : Молекуляр биология

Мавзу: Оксил биосинтези босқичлари ва регуляцияси

Фарғона -2012

Мавзу: ДНК нинг комплементарлик хоссаси. Чаргоф конуни

1. Нуклеин кислота структураси ҳақида умумий тушунча.
2. Нуклеин кислоталарнинг 2, 3 ламчи структураси.
3. Нуклеин кислоталарнинг денатурацияси.
4. Нуклеин кислоталар биосинтезида иштирок этувчи ферментлар
5. ДНК биосинтези
6. Репликация ва унинг асосий босқичлари
7. Транскрипция жараёни

Нуклеин кислоталарнинг асосий вакиллари бу ДНК ва РНК молекулари бўлиб, улар ўзига хос тузилишга эга. Нуклеазалар (РНК азалар, ДНК азалар) таъсирида нуклеин кислоталар гидролитик йул билан нуклеозидмонофосфотларга парчаланади.

РНК таркибида	ДНК таркибида
АМФ (5^1)	дАМФ (5^1)
ГМФ (5^1)	дГМФ (5^1)
ЦМФ (5^1)	дЦМФ (5^1)
УМФ (5^1)	дУМФ (5^1)

Нуклеин кислоталар молекуласидаги нуклеотидлар эфир боғи билан бириккан, бу боғ бир моонуклеотиднинг фосфат қолдиғи билан бошқа моонуклеотид пентоза қолдиғининг гидроксил группасидан ҳосил бўлади (3^1 , 5^1 – фосфодиэфир боғ).

Шундай қилиб, нуклеин кислоталар нуклеозидмонофосфатларнинг полимериدير. Полинуклеотиднинг бир учида эркин 5^1 -фосфат группаси (5^1 - учи) бўлса, 2-нчи учида эркин 3^1 -ОН группа (3^1 -учи) бўлади.

Нуклеин кислоталарнинг бирламчи структурасини қисқача тасвирлаш учун бир ҳарфли нуклеозидлар символларидан фойдаланилади:

А - аденозинин, Г – гуанозин, Ц – цитидин, У – уридин, Т – тимидин. Масалан, РНКнинг I-ламчи структурасини куйидагича ифодалаш мумкин:

А – У – А – А – У – Г – Ц – Ц – Г – А – ...

ДНК структурасининг “д” (дезоксид) қўшимчаси билан белгиланади:

Д (Г – Г – Ц – А – Т – А – Т – Т – Г – А – ...)

Агарда ёзувда чап томонда 5^1 - учи, ўнг томонда 5^1 - учи бўлади.

($5^1 \longrightarrow 3^1$) А – Г – А – А – Т – Ц ...

($3^1 \longrightarrow 5^1$) Т – Ц – Т – Т – А – Г ...

Шундай қилиб, тўртта ҳар хил нуклеотиддан бирламчи структураси жиҳатдан фарқ қиладиган қанчадан - қанча нуклеин кислоталарни тузиш мумкин.

Нуклеин кислоталарнинг структураси

ДНК ва РНК макромолекуласининг фазовий тузилишида нуклеотидларнинг кетма – кет жойлашиши I – ламчи структурани ҳосил қилади. Уларнинг спирал ҳосил қилиши 2 – ламчи ва 3- ламчи структурасига боғлиқ.

ДНК таркибидаги нуклеотидларнинг ўзаро муносабати маълум қонуниятларга бўйсунди. Бу қонуниятларни дастлаб америкалик олим Чаргафф аниқлаган бўлиб, Чаргафф қоидаси деб аталади. Бу қоида қуйидагича:

1. Адениннинг моляр миқдори тиминнинг моляр миқдorigа ёки уларнинг нисбати 1 га тенг: $A = T$ ёки $A/T = 1$

2. ДНК таркибидаги гуаниннинг моляр миқдори цитозиннинг моляр миқдorigа ёки уларнинг нисбати 1 га тенг:

$$G = C \text{ ёки } G/C = 1$$

3. ДНКдаги пурин асосларининг йиғиндисиди пиримидин асослари йиғиндисига тенг:

$$A + G = T + C \text{ ёки } A + G / T + C = 1$$

4. Пурин ва пиримидин асосларининг олтинчи углерод атомидаги амин ва кето группалари бир-бирига тенг:

$$G + C = A + T \text{ ёки } G + C / A + T = 1$$

5. ДНК таркибидаги гуанин ва цитозиннинг моляр концентрацияси йиғиндисининг аденин ва тиминнинг моляр концентрацияси йиғиндисига нисбатан $G + C / A + T$ ўзгарувчан бўлади. ҳайвонлар, ўсимликлар ва микроорганизмлар ДНКсидаги бу нисбат ҳар хил бўлганлиги учун у тур спецификлиги коэффиценти деб аталади.

Баъзи турлар ДНКсидаги аденин билан тиминнинг йиғиндисиди гуанин ва цитозиннинг йиғиндисидан ортиқ ёки спецификлик коэффиценти 1 дан кичик бўлади. Бундай ДНК АТ типга киради. Бошқа

турга кирадиган организмларда эса аксинча гуанин ва цитозиннинг йиғиндиси аденин билан тиминнинг йиғиндисидан ортиқ ёки спецификлик коэффициенти 1 дан катта бўлади. ундай ДНК ГЦ типга мансуб бўлади. Баъзида нуклеотидлар сони тенг бўлган ДНКлар ҳам учрайди.

АТ типдаги ДНК барча ҳайвонларга, ўсимликлар ва кўпчилик микроорганизмларга хос. ГЦ типдаги ДНК ҳайвонлар билан юксак ўсимликларда бутунлай учрамайди, аммо микроорганизмларда, айниқса, бактерияларда кенг тарқалган.

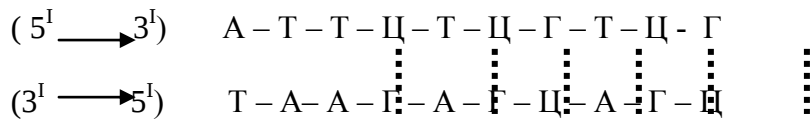
Турли систематик группаларга мансуб бўлган организмлар ДНКсининг нуклеотидли таркиби ўзгариб туради. Сув ўтлар, замбуруғлар, айниқса бактерияларда спецификлик коэффициенти 0,45 дан 1,80 гача ўзгаради. ДНКнинг спецификлик коэффициенти систематик белгилардан бўлиб хизмат қилади.

Чаргафф қоидаcига кўра, $A=T$, $G=C$, демак $A+G=T+C$, яъни пуринли нуклеотидлар сони пиримидинли нуклеотидлар сонига тенг. ДНК нуклеотид таркибида шундай хусусиятга эга, бундай муносабатлар РНК га хос эмас. Мана шу қоидага асосланиб, 1953 йилда Уотсон ва Крик ДНК нинг тузилиши моделини яратди. Бу моделнинг асосий хусусиятлари қуйидагилардан иборат:

1. ДНК молекуласи антипаралель равишда йўналган ва бошидан охиригача водород боғлари билан бир – бирига боғланган иккита полинуклеотид занжирларидан тузилган (мононуклеотидларнинг ҳар бири водород боғлари ҳосил қилишда қатнашади.).
2. Занжирлар орасидаги водород боғлари бир занжир аденин қолдиғининг иккинчи занжир тимин қолдиғи билан ($A...T$ жуфти билан) ва бир занжирнинг гуанин қолдиғи иккинчи занжир цитиозин

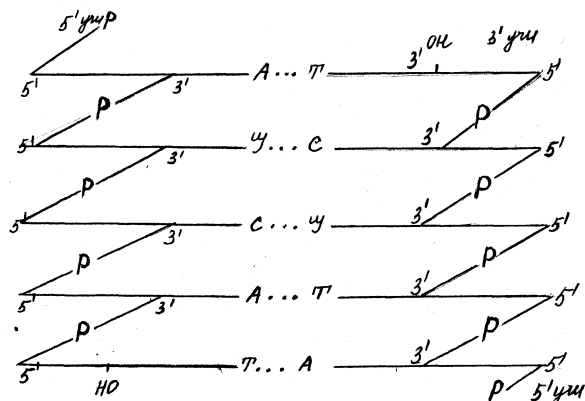
қолдиғи (Г...Ц жуфти) нинг ўзига хос тарзда ўзаро таъсир қилиши ҳисобига ҳосил бўлади.

3. ДНК молекуласи бир занжирнинг I – ламчи структурани 2 – ламчи занжир I- ламчи структурасига комлементардир.

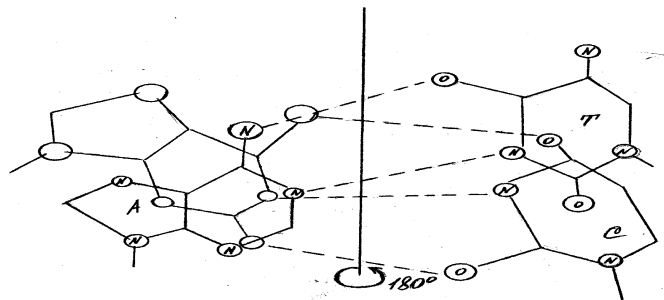


4. Иккала занжир умумий ўққа эга бўлган спираль ҳолида ўралган;
Пурин ва пиримидин асослари спираль ичига қараган;

Уларнинг текисликлари спираль ўқиға тик ва бир – бирига параллелдир, шунга кўра асослар даста бўлиб туради. Асослар ўртасида гидрофоб ўзаро таъсирлар юзага чиқиб, улар кўш спиралнинг турғун ҳолатда бўлишига занжирлар орасидаги водород боғларидан кўпроқ асосий ҳиссани кўшади. Пентоза фосфат қисмлари четки томонларда жойлашиб, спиралнинг ковалент ўзагини ҳосил қилади.



Бунга қарама қарши ДНК молекуласининг фрагментининг схемаси. Горизонтал чизиқлар дезоксирибоза қолдиқларидир.



Комплементар азот азотларини ДНК қўш занжирида водород боғ ҳосил қилиб жойлашиши.

Маълумки, ферментлар оқсил табиатига эга. Фаол бирикмалар ҳисобланиб, улар ҳар бир тирик хужайранинг барча жараёнларида каталик фаоллигини намоён қилади. Қуйида нуклиен кислоталар биосинтезида иштирок этувчи ферментлар ҳақида сўз юритилади.

ДНК-полимеразалар. ДНК репликацияси жуда мураккаб процесс бўлиб, бунда қатор ферментлар иштирок этади. 1956 йил А. Корнберг ДНК-полимеразани кашф этди, ҳозирда буни ДНК-полимераза I деб аталади. бу фермент битта полипептид занжиридан тузилган бўлиб, молекуляр оғирлиги 110000 га тенг. ДНК-полимераза I ферменти полимеризацияланиш реакцияларини катализлайди. бундан ташқари бу фермент 2хил энзеклеаза активлигини намоён қилади. ($3' - 5'$ экзонуклеаза), иккинчи хили $5'$ охири ($5' - 3'$ экзонуклеаза) томонидан дегразация қилади. бу иккала активлик молекуланинг турли ерларига жойлашган. шундай қилиб, полипептид занжири бир неча ферментатив активликка эга.

Полимеризация. $5'$ - охиридан $3'$ - охири томон боради. Ферментнинг полимеризация реакциясини катализлаш учун қуйидагилар бўлиши шарт:

4 хил нуклеозидтрифосфатлар, Mg - иони, матрица (қолип) ва затравка (наледна РНК). Фермент полинуклеотид занжирини узайтиради, у ҳеч қачон янги занжир ҳосил бўлишини инкор қила олмайди. Хужайрада асосий полимераза I ферменти репаратив (қайта тиклаш) ва корректорлик функциясини бажаради. Полимераза I ферменти нотўғри тикилиб қолган асосларни парчалайди ва молекулани лигазани тайёрлайди. Бунда ҳар бир репликация циклининг инициациясида затравка сифатида фойдаланилган РНК ва ДНК га боғлиқ бўлган РНК – полимераза ёрдамида синтезланган РНК ажратилиб чиқарилади.

ДНК репликацияси даврининг тугаши олдида, рибонуклеотидлардан ажратиб чиқариш ҳам ДНК-полимераза I нинг фаолиятига боғлиқдир, яъни бу вазифани ҳам шу фермент бажаради.

Эукариотларда ДНК-полимеразаларнинг 3 хили аниқланган. Улар молекулаларнинг катталиги, структураси ва матрица, затравкага нисбатан спецификлиги билан бир-биридан фарқ қилади.

1. ДНК – полимераза б 6-8 седментация константасига эга. Молекула массаси 80000-90000. ферментнинг активлиги аминокарбоксил группаларга боғлиқдир. Ўсаётган ҳужайраларда ферментнинг активлиги жуда юқоридир.

2. ДНК – полимераза в. Молекуляр массаси 40000. SH-группалари ниҳоятда ката аҳамиятга эга. Ҳужайра цикли турли стадияларида унинг активлиги ўзгариб туради. ДНК репарациясида, бу фермент ката аҳамиятга эга.

3. ДНК – полимераза г. Бир неча бир-бирига ўхшаш суббирликлардан ташкил топган. Молекуляр массаси 50000. бу фермент митохондрияларда учрайди, митохондриал ДНК синтезини бошқариб туради.

ДНКга боғлиқ РНК полимеразалар (эукариотлар)

Сутэмизувчилар ҳужайра ядросида РНК полимеразанинг 3 хил синфи учрайди. Улар бир-бирларидан ўлчамларининг катталиги, спецификлиги ва аманига нисбатан сезгирлиги билан фарқ қилади.

II синф ферментлари - б аманининг жуда ҳамкичик дозаси таъсирида активлиги камаяди.

III синф ферментлари – жуда ката дозалар таъсирида ингибранади.

I синф ферментларига ҳатто захарлар ҳам таъсир қилмайди.

б - алманин фақат оксил билан боғланади, ДНК билан боғланмайди. Бундай ҳолатда РНКнинг синтези инициация стадиясида тўхтамайди, фақат элонгациясида синтез тўхтади.

I синф ферментлари рРНКнинг транскрипциясини бошқариб туради. III синф ферментлари тРНК ва 58-рРНКни синтезлайди. II синф ферментлари мРНКни синтезлайди. Учта полимеразалар мураккаб оксиллардан тузилган, улар бир неча юқори молекуляр суббирликлардан тузилган мураккаб функцияларни бажаради. Полимераза I ва IIда Mg^{2+} иони кофактор ролини ўйнайди.

Қайтар транскриптаза

То 1970 йилгача, генетик информация фақат бир йўналишда берилади деб келинди: ДНК

Қайтар транскриптаза ферментининг кашф этилиши информацияни қуйидаги йўналишли узатилишини кўрсатди:

Қайтар транскриптаза ўсма вируслари РНК геномларини кодлайди. Одам ўсма касаллиги ҳужайралари карцинома, рак билан касалланган аёл сутидан бу фермент ажратиб олиб ўрганилган.

Лигазалар. Лигаза ДНК занжирини бир-бири билан бириктиради. Лигаза ДНКни репарацияси, репликацияси ва рекомбинациясида иштирок этади. Лигаза 3'-гидроксил ва 5'-фосфатли фосфодиэфирли боғларни катализлайди. Сутэмизувчилар ҳужайраларида лигазанинг 2 та типии аниқланган. Лигаза I цитоплазмада жойлашган, лигаза II ядрода, митохондрияда учрайди. Лигаза I молекуляр массаси 75000-220000. Лигаза II молекуляр массаси 85000.

Метилаза. Метилланиш реакцияларини метилаза (метилтрансфераза) катализлайди. Метил группанинг манбаи метионин бўлиб, аввал у энергияга бой бўлган аденозин – метионин формасига ўтади. Сут эмизувчиларда ДНКни метилланиши 1-1,5%, ўсимликларда 5-6% ташкил қилади. ДНКдаги метилланган специфик участкалари рестрикцион эндонуклеазалар таъсиридан бузилишини (ўзгаришини)ҳимоя қилади. Шунинг учун бу участкалар регулятор оксилларни танишда ҳам катта аҳамиятга эга.

Нуклеин кислоталарни парчаловчи ферментлар

Нуклеазалар таъсиридан нуклеин кислоталар таркибидаги фосфодиэфир боғлари узилади ва натижада уларнинг структураси бузилади. Парчаланиш 2 та усулда боради.

1-усулда фосфорланиш 5' - охиридан, иккинчи усулда фосфорланиш 3' - охиридан боради.

Рибонуклеазалар. Бу фермент РНКдаги фосфодиэфир боғларни узади. Унинг полипептид занжири 124 та аминокислотадан ташкил топган. Ҳозирги вақтда қатор РНКазалар аниқланган: РНКаза I, РНКаза II, РНКаза III, РНКаза IV ва бошқалар. Рибонуклеазалар ҳужайраларда турли функцияларни бажаради. Масалан: Жуда кўп РНКазалар нуклеотидларнинг кетма-кетлигини аниқлайди ва унинг шу участкаларини парчалайди.

Эндодезоксирибонуклеазалар ДНКни маълум участкаларини фосфодиэфир боғларни узади.

Рестрикция қирувчи фермент. Бу группага ДНКаза I ва ДНКаза II киради. Улар рестрикция эндонуклеазалар деб ҳам аталади ва нуклеотидларнинг тегишли тартибига нисбатан специфик ва фақат маълум боғгагина таъсир этади. Ҳозирги вақтда турли бактериялар ҳужайрасидан бир неча юз рестрикцияловчи эндонуклеазалар топилган.

ДНК БИОСИНТЕЗИ.

1956 йили Америка олими Артур Корнберг бир занжирли ДНК дан матрица сифатида фойдаланиб, унинг қўш занжирини синтез қиладиган ДНК-полимераза ферментини очди. 1950 йиллар охирида М.Мезельсон ва Ф.В.Шталь оқилона экспериментлар қилиб, ҳар бир янги ДНК молекуласининг ҳар бир занжири олдиндан мавжуд (тайёр) молекуладан, иккинчиси эса янгидан синтез қилинган эканлигини очиқ-ойдин тасдиқлаб берди. Бундай механизм *ярим консерватив* синтез деб аталади, чунки ҳар

бир бола ДНК да фақат битта она занжир сақланади. Олинган натижалар *репликациянинг консерватив усулини* тўла инкор қилади, чунки акс ҳолда, бир бола ДНК си иккала бошланғич занжирни тутиши, бошқаси эса иккита янги синтезланган занжирдан иборат бўлиши керак эди.

Кейрнс ДНК репликациясининг моделини таклиф қилди. Бу моделнинг асосий хусусияти шундан иборатки, ДНК молекуласи репликация бошланишининг нуқтаси деб аталадиган специфик участкага эга. Мана шу ерда ДНК структурасини қатъий аниқ жойда ёядиган махсус шарнир механизми борки, у бир вақтда репликация қилиш учун икки занжирни ҳам очади. Ҳосил бўлган репликация “айириси” кўш занжир бўйлаб икки занжирнинг нусхаси олинмагунча ҳаракат қилади.

Сўнгра эукариот ДНК репликацияси бир вақтда жуда кўп (уларнинг сони мингдан ҳам ортиқ) нуқталарда бошланиши тасдиқланди. Бундай нуқталарнинг ҳар биридан бир вақтда қарама-қарши томонларга қараб иккита репликатив айри ҳаркатда бўлади. Натижада бутун эукариот хромасоманинг репликацияси жуда тез ўтади.

ДНК репликацияси асосан А.Корнберг кашф этган 1 ДНК-полимераза ферменти таъсирида ўтади.

ДНК полимераза янги дезоксирибонуклеотидларнинг б-фосфатини ДНК нинг тайёр занжирининг эркин 3' –гидроксил группасига боғланишини катализлайди, бинобарин, ДНК синтези 5'- 3' йўналишида боради. ДНК таркибида ҳар бир янги фосфодиэфир боғ ҳосил бўлиши учун зарур энергия олдмоддалар-дезоксирибонуклеозид 5'- трифосфатларнинг б- ва в- фосфат группалари орасидаги пирфосфат боғларнинг узилиши билан таъминланади.

ДНК репликацияси учун фақат ДНК-полимераза ферментининг ўзи етарли эмас. Бугунги кунда ҳам репликация жараёнининг тўла ва аниқ тасвири йўқ, бу жараёнда маълум функцияни бажарадиган йигирмадан ортиқ фермент ва оқсиллар иштирок этса керак. Репликациянинг ўзи бирин-

кетин кечадиган бир қанча босқичлардан иборат. Бу босқичларнинг хаммаси жуда катта тезликда, олий даражада аниқ ўтади.

ДНК нинг қўш спирали зич ўралган тузилма ва кодлайдиган асослар бураманинг ичида бўлганидан репликация қиладиган ферментлар матрицанинг нуклеотидлар қаторини “ўқиши” учун она ДНК сининг занжирлари ҳеч бўлмаса калта бил бўлимида ечилган бўлиши лозим.

Қўш занжир ўрамининг ёзилиши-ечилиши ва иккала занжир янгидан қўшилиб кетмаслиги учун уларни бир-биридан маълум масофада тутиб туриш вазифасини бир нечта махсус оқсиллар бажаради. *Хеликаза (helix-бурама* сўзидан олинган) номли ферментлар ДНК нинг калта участкаларини ёзади, ажралган занжирлар қайтадан қўшилиб кетмаслиги учун ДНК-боғловчи оқсиллар: репликация жараёнида занжирлар жуда тез ечилишидан узилиб кетмаслиги учун *топоизомераза* (прокариотларда *гираза*, *hiras*-айланиш сўзидан) ва яна бир катор фермент ва оқсиллар, матрицалар ва инициаторлар иштирок этади. Занжирларнинг ёйилишида ҳар бир қўш асослар ажралиши учун икки молекула АТФ нинг гидролиз энергияси сарф бўлади. Умуман, ДНК нинг ёйилиши ДНК репликациясининг энг қизиқарли ва энг мураккаб муаммоларидан биридир.

Йигирмадан ортиқ репликатив ферментлар ва факторлардан иборат тўла комплекс ДНК – репликаза системаси ва қисқача реписома деб аталади. *E.coli* ҳужайраларда маълум даражада бир-биридан фарқ қиладиган учта ДНК-полимеразамавжуд. Улар I, II, III полимеразалар деб белгиланади. I ва II полимеразалар бола занжирининг узайишини таъминлашидан ташқари, экзонуклеазалик активлигига ҳам эга, яъни ДНК молекуласининг ҳар икки учидан ҳам охириги нуклеотидларни ажрата олади. *E.coli* ҳужайрасида ДНК занжири элонгациясига асосан III ДНК – полимераза жавоб беради. II ДНК полимеразанинг функцияси ҳозирча аниқланмаган.

ДНК молекуласининг ҳар иккала занжирининг бир вақтда репликация қилиниши бир қатор янги муаммоларни келтириб чиқаради. Улардан бири ДНК – полимеразалар янги мономерларни фақат ДНКнинг 3' учига боғланишини таъминлашлари аниқланди. 1969 йилда япон олими Р.Оказаки ҳар иккала занжир бир вақтда репликация қилинганда, бир занжир узлуксиз, иккинчи янги занжир эса калта фрагментлар шаклида синтезланишини кашф этди.

Узлуксиз синтезланадиган занжир “бошловчи”, узилиб синтезланадиган “колок” занжир деб аталади. Сўнгра Оказаки фрагментларининг синтези учун томизги (затравка) сифатида РНК нинг кичик бўлакчалари керак эканлиги ҳам маълум бўлди, чунки ДНК-полимеразнинг ўзи занжирни инициирлай олмайди. Рибонуклеазид трифосфатлардан 5'- 3' йўналишидаги боғланиш *примаза* деб аталадиган фермент ёрдамида тузилади. РНК затравка калта бир занжирли РНК бўлиб, унинг 3' учига изчиллик билан дезоксирибонуклеотид қолдиқлари бирикади.

Репликация бир неча инициация нуқталарида бошланади ва ҳар бир репликация айириси иккала томонга ҳаракат қилади. Қўш спиралнинг айирилиши занжирнинг биттасини танлаб, унга уланадиган “айирувчи оқсиллар таъсири” туфайли боради.

Ҳосил бўлган 1000-2000 та нулеотиддан тузилган Оказаки фрагментлари, сўнгра *лигаза* ферменти ёрдамида бир-бирига уланади.

Транскрипция

Генлар транскрипцияси РНК ҳосил бўлишига олиб келади. РНК нинг ҳамма турлари ядрога синтезланади. ДНК матрициасида кечадиган ҳамма синтезлар ДНК да ёзилган ахборотга мувофиқ амалга ошади. РНК нинг барча турлари тРНК, рРНК ва мРНК синтезланишида, асосларнинг комплементар бўлиши принципига биноан, ДНК асосларининг тартиби РНК асослари тартибини белгилайди.

Полинуклеотид занжир фақат рибозонуклеотид трифосфатлардан синтезланади ва бу жараёнда анорганик пирофосфат молкулалари ажралиб чиқади. РНК синтези бир неча босқичда: а) инициация (бошланғич), в) полимеразация ва з) терминация (тугаш).

Репликация ва унинг асосий босқичлари.

Хужайра бўлиниш даврида ДНК миқдорининг ўз-ўзидан икки баравар кўпайиш процесси репликация деб аталади. Бу процесс жуда мураккаб бўлиб, бунда ДНК-полимераза ферменти иштирок этади. Репликация процесси ярим консерватив характерга эга, яъни янгидан ҳосил бўлган ДНК молекуласидаги полипептид занжирнинг фақат биттаси синтезланади, иккинчиси эса тайёр ҳолда дастлабки ДНКдан ўтади, бу ҳолатни тажрибаларда нишонланган атомларни қўллаш йўли билан исботланган.

ДНК-полимераза иштирокида катализланадиган реакция бир қанча ўзига хос хусусиятларга эга:

1. Реакция нуклеозидтрифосфатлар иштирокида боради.

4 хил нуклеозидтрифосфат (dATФ, dГТФ, dТТФ, dЦТФ) бўлиши шарт. Бирорта нуклеозидтрифосфат етишмаса реакция бормайди. Дифосфатлар ёки монофосфатлар иштирокида ДНК синтези реакцияси амалга ошмайди.

2. Бу реакция, албатта оз миқдорда тайёр ҳолдаги намуна (затравка) иштирок этишни талаб қилади. Бу реакцияда ДНК «нусха» вазифасини бажаради. Янги синтезланаётган ДНК таркибидаги нуклеотидларнинг кетма-кет жойлашиши – нусха ДНК томонидан белгиланади. ДНК синтезида ионлар ҳам иштирок этади. Намуна билан матрица занжирининг йўналиши антипараллелдир.

Навбатдаги, нуклеотид ДНК-полимераза учун субстратдир, реакцияга юқори энергетик активланган формада киришади. Полимеризация намунанинг 3' - томонидан ўсиб боради, яъни синтез 3' 5' йўналишда боради. 3' – ОН – группаси навбатдаги дезоксирибонуклеозидтрифосфатнинг комплементар бўлгандаги – фосфат билан реакцияга киришиб, трифосфатни ҳосил қилади. Трифосфатни хужайрадаги трифосфатаза ферменти парчалаб юборади.

Шундай қилиб, ДНК – полимераза ферменти иштирокида, намуна матрицага антипараллел ҳолатда ўсиб боради ва маълум вақтдан сўнг қўш спирали структура ҳосил қилади.

Эукариот хужайраларда ДНК – полимеразаларни 3 та типии маълум: б, в, г. Хужайрадаги ДНКнинг репликацияси асосан полимераза - б иштирокида боради, репарация – полимераза – в, митохондрияда ДНКнинг репликацияси полимераза – г иштирокида боради.

ДНК репликацияси учун фақат ДНК – полимераза ферментининг ўзи етарли эмас, бу жараёнда маълум функцияни бажарадиган 20 дан ортиқ фермент ва оқсиллар иштирок этади. Репликация процесси бир неча босқичлардан иборат. Бу босқичларнинг ҳаммаси жуда ката тезликда, олий даражада аниқ ўтади.

Табиий ДНКнинг қўш спирали, яъни она ДНКсининг занжирлари (репликацияланиш олдидан) калта бир бўлимида ечилган бўлиши керак. ДНКнинг қўш занжири ечилаётганда лотинча г ҳарфига ўхшаган структурани ҳосил қилади, яъни айрисимон.

Мана шу структурани *репликация айриси* деб аталади. Шу реакция икки типдаги оқсиллар иштирокида боради:

1) Хеликазалар (helix – бурама) – бу ферментлар ДНКнинг калта участкаларини ёзади. 2) SSB – оксиллар, яъни ажралган занжирлар қайтадан қўшилиб кетмаслиги учун ДНК боғловчи оксиллар.

Хеликазаларни – ДНКга боғлиқ АТФазалар деб аталади, яъни ДНКнинг қўш занжирининг ёзилиши АТРнинг гидролизланиши энергияси ҳисобига боради. Шу ферментнинг ДНКнинг қўш спирал участкаларида ҳаракатланиши натижасида, иккита бир занжирли шохчалар пайдо бўлади. мана шу бир занжирли ДНКнинг участкалари SSB – оксиллар (ДНК – боғловчи оксиллар) билан боғланади. Бу оксилларни репликациядаги роли шундан иборатки, бир занжирли шохчаларни тўғирлайди, уларнинг иккиламчи структурасидаги баъзи бир элементларни олиб ташлайди, ДНКнинг комплементар участкалари ҳосил бўлишини таъминлайди ва ДНК – полимеразанинг активлигини оширади.

ДНК қўш спиралининг хеликаза ва SSB – оксиллар иштирокидаги ёзилиши

ДНК молекуласининг ҳар икала занжирининг бир вақтда репликация қилиниши жуда ҳам мураккаб процессдир. Бунда, 20 дан ортиқ репликатив ферментлар ва факторлардан иборат тўла комплекс ДНК – репликаза системаси ёки реписома деб аталади. 1969 йилда Япон олими Оказаки ҳар икала занжир бир вақтда репликация қилинганда, бир занжир узлуксиз, иккинчи Янги занжир эса калта фрагментлар шаклида синтезланишини кашф этди.

Сўнгра Оказаки фрагментларининг синтези учун томизги (затравка) сифатида РНКнинг кичик бўлакчалари керак эканлиги маълум бўлди, чунки ДНК – полимеразанинг ўзи занжирни иницирлай олмайди. Рибонуклеозид трифосфатлардан 5' - 3' йўналишдаги

боғланиш праймаза иштирокида тузилади. РНК затравка калта бир занжирли РНК бўлиб, унинг - учига изчиллик билан дезоксирибонералеотид қолдиқлари бирикади. Ҳосил бўлган нуклеотидлардан тузилган Оказаки фрагментлари, ДНК – лигаза ферменти ёрдамида бир-бирига уланади. Бу процессда НАД⁺, АТР иштирок этади. Бир минутда бита репликатив айри 4500 қўш нуклеотидни боғлайди.

Репликацияда қатнашадиган асосий ферментлар ва уларнинг функцияси билан танишиб чиқдик, энди репликация жараёни қандай қилиб амалга оширилиши билан бир чеккадан танишиб чиқайлик.

Репликация жараёни бир неча тирпларга бўлинади. Яқин кунларга репликацияни асосан халқали молекулаларда ўрганилди, чунки тўғри ДНК ни иштаишда кўп қийинчиликлар туғилар эди. Радиография ва электрон микроскопия ёрдамида бир қанча репликация типларини кўриш мумкин.

а. Кернс модели (икки йўналишли репликация).

1963 йилда Кернс радиография методи ёрдамида *E.coli* нинг халқали ДНК сени репликациясини қуйидагича амалга оширилишини аниқланди. Репликация ҳар доим бактериал хромасоманинг битта нуқтасида бошланади. Ҳозирги вақтда маълум бўлишича, бу нуқта *E.coli*нинг генетик картасида 74 минг га мосдир. Репликация иккала йўналишда кетади, бунинг натижасида иккита репликатив айри ҳосил бўлади. ДНКнинг халқали молекулалари суперспиралли бўлганлиги учун, репликация жараёнида у ўз ўқи атрофида айланади. Айланиш нуқтаси “шарнир” деган ном олган бурманинг ёйилиши натижасида торсимон таранглашиши пайдо бўлади, у эса ўз навбатида битта занжирнинг узилиши натижасида чеклаштирилиши мумкин. Кейин иккита уч бирданига бир бири билан жипслашади. Бу функцияни бажарадиган фермент релаксациялий деган фермент деб аталади.

Репликация тугалланиши натижасида иккита икки занжирли халқали молекулалар ҳосил бўлиб, улар бир-бири билан боғланган бўлади. Уларнинг ажралиш вақтида иккита ҳалқадан биттаси узилади. Бу ерда кўрсатилган механизм фақатгина *E.coli* да эмас балки баъзи вирусларда масалан SV40, фагда ва кўп плазмидларда вап ҳаказоларда учрайди. Ҳамма бўлинишида маълум бир инициация ёки старт нуқтаси кортирланади.

б. Керс модели (бир йўналишли репликация).

Бу механизм биринчисига ўхшаш бўлиб, бунда репликацион айри битта йўналиш билан ҳаракат қилади. Бундай механизм баъзи плазмидларда аниқланган.

в. D- илмоқни ҳосил бўлиши билан борадиган репликация.

Бу механизмга биноан, занжирлардан биттаси репликация бораётган даврда иккинчи занжир **D- илмоқ** ҳосил қилиб туради. (D-инг. Displacement loop, D - loop). Иккинчи занжирни репликацияси бошқа занжир репликацияси занжирининг ярмидан ўтиши керак. Бундай механизм митохондриял ДНК ларда кўрилган.

г. Юмалаётган узук модели.

Ҳалқали ДНКнинг занжирларидан бири узилади ва ата секин ёйилади. Ёйилиши узилмаган занжирга боғланган учи ҳисобига кетади. Шу тариқа ёйилаётган занжир узлуксиз узаяди. Унда бир хил узунликдаги фрагментларга бўлинган иккинчи занжир синтезланади. Бу механизмнинг афзаллиги шундаки. Қисқа вақт ичида кўп миқдорда ДНК ҳосил бўлади. Бундай механизм баъзи фагларда ва эукариотик ҳужайраларда учрайди.

д. Чизиқли ДНК молекулаларини репликацияси.

Кўпчилик чизиқли ДНК молекулалари ўзларининг бўш учларида ортиқча миқдорда қайтарилаётган кетма кетликларни сақлаши билан фарқланади. Шундай қилиб, молекуланинг бир учидаги кетма кетлик унинг иккинчи учида қайтарилади. Бундай типдаги ДНК Т5 фагларда учрайди. Улар репликация жараёнида оралиқ маҳсулотлар ҳосил бўлади. Уларни Уотсон конкатемирлар деб атаган. Бу босқичда геном (фагники) қайтариладиган кетма-кетликларнинг бир қанча сериясидан ташкил топади. Уларнинг ковалент боғланишлари ДНК-полимераза I ва лигаза ёрдамида амалга ошади. Продуктнинг кейинги қисмларига бўлиниши рестриктазалар ёрдамида амалга оширилади.

Репликация молекуланинг учки қисмларида эмас. Балки унинг ўртароқ қисмларида бошланади. Т 7 фагда бу жой бир учдан узокроқда жойлашиб, бу масофа молекуланинг 17% га тенг бўлган узунликдаги масофага тенг. Старт нуқтасини репликация бошланганидан кейин ажратиб олиш мумкин, у пуфак ёки кўзсимон шаклни ҳосил қилади. Бу шакл ўз навбатида катталашиб, икки йўналишда репликацияни амалга оширади. Бу пуфакнинг учи молекуланинг битта учигача тез етиб бориб Y-симон структура ҳосил бўлади, бу структура тез орада V-симон структурага айланади. Конкатемирларнинг ҳосил бўлиши мураккаб жараёндир, лекин бу жараён зарурдир, чунки, ДНК полимеразацияси матрицани 3' учига етмасдан туриб тугалланади, бошқа тарафдан ДНК полимераза янги занжирни синтезини эркин учларида бошлай олмайди.

1974 йилда Савалиер-Смит чизиқли ДНК нинг репликациясини учинчи механизмини таклиф қилди. Бунда асосан икиб ДНК нинг 5'-учида мавжуд бўлган айланган қайтаришларнинг ўз ўзига ёпилиши натижасида ҳосил бўладиган палиндромлар

олинган. Бундай структуралар ДНК нинг репликациясида затравка сифатида ишлатилиши мумкин.

Энди репликация жараёнининг молекуляр асосларини кенгрок ёритиб ўтайлик.

Репликация жараёни учун ДНК-полмераза қандай муҳим бўлса, РНК-полимераза ҳам шундай муҳимдир. Иккала фермент ҳам матрица бир занжирли ДНК ни ишлатади, лекин улар бир-биридан янги занжирни синтезини инициация қила олиши қобиляятлари билан фарқланади. РНК синтезини бошлаш учун, РНК полимеразаларга промотор, яъни бир нуклеотидли кетма-кетликлар керак. физиологик шароитга тўғри келмаган шароитларда, синтез промоторда эмас, балки бошқа участкада ҳам бошланиб кетиши мумкин.

ДНК-полимеразаларнинг биттаси ҳам синтезини иницирлай олмайди, улар фақатгина занжирни узайтиришади. Затравка сифатида полирибонуклеотидларга тенг келадигани йўқ, шунинг учун РНК-полимераза репликация инициациясида муҳим рол ўйнайди.

Юқорида айтиб ўтилганимдек майда фаглар, масалан Φ X 174 фаги, репликацияни ўрганиш учун қулай модел. Синтез учун бу фагларга, ўзининг оксилларидан ташқари хўжайиннинг специфик оксиллари ҳам керак. Φ X 174фагнинг геноми кетма кетликлари маълум бўлган бир занжирли ДНК дан ташкил топган.

Фагнинг ДНК сини репликация жараёнида биринчи унга комплементор бўлган (-)- занжир синтезланади. Бунинг натижасида оралик продукт бўлган 2 занжирли ДНК ҳосил бўлади. У репликатив форма деб аталади (RF- Replicativa form). Асосан иккита типдаги RFлар ажратилади. Биринчиси бир занжирли узилишга эга бўлган ҳалқали релаксирланган форма – RF 1. Иккинчиси узлуксиз ҳалқали ёпиқ форма RF 2. охиргиси суперспирал ҳолатида бўлади.

Бир занжирли ДНК га эга бўлган М 13 фагига нисбатан Φ Х 174 фаги рифампицинга таъсирчан эмас. Бу эса бу ерда репликацияда РНК полимераза қатнашмаслигини кўрсатиб, унинг ўрнига Φ Х 174 фагининг ДНК сидаги dna В; dna С; dna Е; dna G генларнинг махсулотлари затравкани ҳосил қилиб узайтиради ва инициацияни бошлаб беради деган хулосага олиб келади.

(-) – занжир (+)-занжирга нисбатан матрица вазифасини яхши ўтайди. Шунинг учун охирида (+)-занжирлар (-)-занжирларга қараганда кўпроқ синтезланади. (+)-занжирлар юмалаётган узук модели бўйича синтезланиб, вируснинг етилган қисмларига киради.

Е coli да синтез инициацияси ўхшаб кетади, лекин бу ерда РНК – полимераза қатнашиб, инициация қисқа РНК фрагментларининг ҳосил бўлиши билан бошланади.

Икки занжирли спиралли ДНК ни бурмаларини дестабиллаш учун “ёйиладиган” оқсиллар ишлатилади. Ёйилган бурмани жипслашиб қолмаслигига оқсиллар халақит бериб туради. Асосалри орасидаги водород боғларни махсус фермент холиказа узиб беради. Бир биридан ажралган занжирларда синтез бошланади. Синтез пайтида бошловчи ва қолоқ занжирлар ҳосил бўла бошлайди. Ҳар бирини алоҳида кўриб ўтайлик.

Бошловчи занжир ДНК нинг 3-5 йўналган занжирида амалга ошади. Бунда РНК полимераза ёрдамида РНК затравка синтезланиб 3-5 йўналган занжирга 5-3 йўналган комплиментар затравка қўшилади. Кейинги нуклеотидларнинг жипслашиши ДНК- полимераза амалга оширади. Бу занжир узлуксиз синтезланиб коррекция қилинади.

Энди 5-3 йўналтирилган занжирдаги синтезни кўриб ўтайлик бу занжирдаги синтез қолоқ занжирни ҳосил қилади. ДНК- полимераза

3- учисиз ишлай олмаслиги сабабли, бу занжир қисқа – қисқа фрагментлардан ташкил топиб синтезланади.

Қисқа фрагментлар ҳосил бўлиши учун 5-36 йўналтирилган занжирнинг юқорироқ қисмида 3-5 йўналтирилган РНК затравка қўшилади улардан кейин ишни ва В ДНК полимеразалар давом этади (эукариотларда). Ўз навбатида қисқа фрагментнинг синтези тугалланганидан сўнг, тикилиб қолган рибонуклеотидларни, занжирдан РНКаз Н ферменти тозалаб ташлайди ва Оказики фрагментларини лигаза ферменти таъсирига тайёрлайди. Шу тариқа иккита занжир синтезланади. Синтез пайтида репликация айириси ҳосил бўлади. Бу комплекда кўплаб фермент ва оқсиллар қатнаши, жараёни ўйланганидек содда эмас балки жуда ҳам мураккаблигини исботлайди.

Полинуклеотиднинг синтезида жипслашадиган нуклеотидлар, ҳосил бўлган ДНК нинг репарация жараёнида ҳам қўшилади. Репарация деганда нотўғри тикилиб қолган ёки мутацияга учраган полинуклеотидларнинг қирқилиб олиб ташланиши ва у ерни тўғри тикланишини тушунишимиз керак. Репарация жараёнини репаратив ферментлар бажаради. Бу жараён нурланишига таъсирчан бўлган мутантлар яхши ўрганишди. Кейинги биохимик анализлар бу мутантларда маълум бир репарация жараёнининг йўқлиги аниқланди.

Нормал ҳужайраларда нурланиш билан содир бўлган мутациялар тезда репарацион аппарат билан тўғирланади.

Мутациялар ичида энг яхши УФ-нурлари билан ҳосил бўладиган мутациялар ўрганиладиган ДНК га УФ нурлари таъсир қилганда таркибидаги тимидин нурини ютиб тиминли димер ҳосил қилади. Бу димер репликация, транскрипция жараёнларида ДНК дан тўғри копия олишга, ёки иккиланиб синтезланишига ҳалақит беради.

Нормал репликация димерларни олиб ташланганидан, яъни репарация қилинганидан кейинги босқичда бўлиб ўтиши мумкин. Репарация бир нечта босқичлар билан боради ва бу босқичлар ўзларининг махсус ферментлари билан катализнади. Биринчи босқичда, эндонуклеаза бузилган жойни топиб уни бир томондан кесиб олади. Кейинги босқичда, ДНК – полимераза 1 5'-3' экзонуклеазаси қирқиб ташланган жойнинг қўшни жойида қирқади ва зарарланган участка олиб ташланади. Кейинги этапда ДНК – полимераза 1 ҳосил бўлган бўшлиқни иккинчи занжирга комплиментар равишда тўлғазади. Кейин полинуклеотидлигаза иккита учини бирлаштириб репарацияни тугаллайди.

Транскрипция жараёни

Оқсил тўғрисидаги информация, яъни ахборот хужайра ядросидаги ДНКда мужассамлашган бўлади. оқсил биосинтезининг муҳим томонларидан бири ДНКдаги анна шу информациянинг оқсил синтезланадиган жойга – рибосомаларга кўчиришдир. ДНК оқсил синтезида бевосита иштирок этмайди ва ўзидаги информацияни информацион ёки матрицали РНК воситасида узатади.

и – РНК тез синтезланиб, тез парчаланади, у хужайрада кўп тўпланмайди, жуда кам миқдорда бўлади.

РНКнинг барча турлари т-РНК, р-РНК ва м-РНК синтезланишида, ДНК асосларининг тартиби РНК асослари тартибини белгилайди.

Полинуклеотид занжири фақат рибозонуклеозид трифосфатлардан синтезланади ва iPP(пирофосфатлар) ажралиб чиқади. Бу процессда РНК-полимераза иштирок этади.

РНК синтези бир неча босқичда бажарилади:

а) Инициация; б) Полимеризация; в) Терминация;

Реакциянинг бошланиши учун махсус жойи ДНКни промоторларда, реакциянинг тугаши терминаторлардир. Транскрипция ДНК қўшспиралининг бир занжирида амалга ошади. Бунинг учун аввало полимераза ферменти ДНК молекуласининг инициация сигнали берадиган нуктасига бирикади. Бу ерда қўш боғ ечилиб, қўш занжирнинг фақат биттаси ўқилади.

Нусхаси олинади, шу занжир бўйича полимераза 5' дан 3' томон йўналиб 3' 5' шаклда борадиган РНК занжирини ҳосил қилади. ДНК матрицасида Янги синтез қилинган РНК молекулалари транскрипт деб аталади

Полинуклеотид занжири ката тезликда синтезланади:

ДНКнинг икки занжиридан фақат биттаси транскрибirlанади. Эукариот ҳужайра ядросида 3 хил РНК – полимераза мавжуд. РНК полимераза – I, II, III.

РНК-полимераза жуда юксак константа билан ДНК матрицанинг икки занжиридан бирида матрицали ДНКнинг айрим қаторлари-промотор қисмлари билан боғланади. Бир неча нуклеотидлар қаторидан ташкил топган промотор синтезининг йўналишини ва ДНКдан РНКга кўчириб ёзилиши лозим бўлган биринчи асосни белгилайди. Реакциянинг бориши учун рибозонуклеотид трифосфатларнинг ҳамма хиллари: РНК затравка, ДНК матрица, РНК-полимераза, оксил факторлар, Mg^{2+} зарур.

Уларнинг кўпчилигида процессинг уч босқичда ўтади:

1. 5' - учини кэпирлаш ва метимерлаш; 3' – учини полиадениллаш;
2. Генни кодирламайдиган қисмлар (интронлар) ни кесиб ташлаб экзонларни улаш. Процессинг ферментатив жараёнларда боради.

Манна шу процессинг процессидан сўнг РНК функционал актив молекулага айланади.

Кэпирлаш – (бошга қалпоқ кийдириш)

мРНК нинг – учигаги rrrAr қолдигига Гр қолдиги қўшиб – учфосфат ҳосил қилишдан иборат. – учига эса поли (А) сегменти уланади. 10-25 нуклеотиддан иборат бўлиб учига АА И ААА дан иборат консерватив кетма-кетлик уланади, унда эса сигнал вазифаси ёзилган.

Транскрипцияда узилган геннинг тўла нусхаси, яъни РНКнинг бошланғич транскрипти олинади. Кейин торспецифик ферментлар ёрдамида кодирланмайдиган участкалар (улар интронлар деб аталади) кесиб олиниб, кодирловчи сегментлар (экзонлар) бир-бирига уланади, уланиш бошланғич транспритда интрон-экзонлар қандай жойлашган бўлса, худди шу тартибда бажарилади. Кесувчи ферментлар эндонуклеазалар, уловчилари эса лигазалардир.

Транскрипция давомида м-ДНК Билан РНК траскрипция орасидаги боғланиш вақтинча, транскрипция тугаши билан РНК матрица асослари қайтадан ўзининг занжирига қўшилади, яъни ДНКнинг бир-биридан ажрам спираллари Яна қайтадан бир-бири билан ўралиб қолади.

Шундай қилиб, транскрипция тўла консерватив бўлиши билан репликация жараёнидан фарқ қилади.

РНК полимераза ишлаганда, матрица тўла бошланғич ҳолда сақланади ва қайтадан фойдаланиши мумкин. Эукариот хужайраларда РНК-полимеразанинг (4 та) тўрт хил типии аниқланган, уларнинг 3 таси – РНК полимеразалар I, II, III – ядрога ва биттаси митохондрияда жойлашган. РНК полимераза I ядрочада учрайди ва рибосомал РНК (18 S, 28S, ва 5,8S РНК)нинг синтезида иштирок этади. РНК полимераза II ва III – нуклеоплазмада учрайди. Рибосомал 5S РНК ва транспорт РНК. РНК полимераза III иштирокида синтезланади. РНК-полимераза II иштирокида мРНК синтезланади.