

28

T97

Е. Х. ТЎРАҚУЛОВ

Ж

# МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИЯ

Умумий ўрта таълим мактабларининг юқори синфларида  
биологияни чуқур ўрганиш учун қўлланма

~~430476~~

ADIB SULTON, TOSKENT MOKHTABOKI  
BARDIYONCHASI, OYAT, AXB. ROT.  
Kell No ~~14707~~  
430476 2006

Молекуляр биологиядан ушбу қўлланма умумий ўрта таълим мактабларининг биологияни чуқур ўрганувчи юқори синф ўқувчилари учун мулжалланган. Ҳозиргача ўзбек тилида фаннинг бу соҳасига бағишланган дарслик ёки қўлланма деярли нашр этилмаган. Лекин XX асрнинг энг буюк, истиқболли ютуғи бўлган молекуляр биологиянинг асосларини маълум программа бўйича ёшларга мунтазам ўқитмасдан, улардан малакали мутахассис етиштириб бўлмайди.

Қитобчада молекуляр биологиянинг пайдо бўлиш тарихи, усуллари ва объекти, ҳужайра компонентлари, оқсиллар ва нуклеин кислоталарнинг тузилиши, функцияси ҳақида етарли маълумот берилган. Шунингдек, ирсият қонуनларини тушуниш, уларни ўзгартириш, организмларнинг янги турларини яратиш даражасига кўтарган молекуляр генетика ғоялари ва генетик инженерликнинг буюк кашфиётлари тасвирланган. Қитобчанинг ҳамма бўлимларида молекуляр биологиянинг асосий постулати — биополимерлар ва субҳужайра компонентларининг структураси билан уларнинг функцияси орасидаги узвий боғланиш изчил равишда тегишли ҳажмда ёзилган.

*Муаллиф*

## КИРИШ

### ЖОНЛИ ТАБИАТНИ УРГАНИШДАГИ ЯНГИ БОСҚИЧ

*Молекуляр биология* тирик организмларнинг асосий хоссалари, ўсиш ва ривожланиш, кўпайиш ва дифференцияланиш, ирсият ва иммунитет, ҳаракатланиш ва ташқи муҳитга мослашиш ва шу каби бошқа кўп биологик феноменларнинг молекуляр асосини тадқиқ қилишга ва тушунтиришга қаратилган фан. У ХХ асрнинг ўрталарида барча ҳаёт шаклларининг тузилиш бирлиги бўлган ҳужайрани ўрганишга физик ва химиявий усуллар, биологиянинг айрим соҳаларида тўпланган маълумотлар ва ғояларнинг татбиқ қилиниши асосида пайдо бўлди. Унинг асосини ҳаётий жараёнлар химиясини ўрганадиган фан — биологик химия ёки қисқача қилиб айтганда, *биохимия* ташкил қилади.

Лекин молекуляр биологиянинг ғоялари, тадқиқот усуллари юксак молекуляр органик бирикмаларнинг тузилиши ҳақидаги энг сўнгги таълимотларга, генетика, микробиология, вирусология, цитология каби биология фанларининг ҳужайра ва унинг компонентлари ҳақидаги тадқиқот яқунларига асосланади. Шунинг учун ҳам молекуляр биология комплекс фан ҳисобланади.

Молекуляр биология текширадиган асосий объект ҳужайрани ташкил қиладиган йirik полимер молекулалар — *биополимерлар* — *оқсиллар* ва *нуклеин кислоталар* ҳужайранинг майда морфологик структуралари, *органеллалари* (азъочалари) дир. Улар ҳужайра компонентлари, яъни ҳужайрадан кичик (субҳужайра) тузилмалар деб ҳам аталади. Ҳужайра органеллалари қаторига ҳужайра ядроси, уни ўраб турган *плазматик мембрана* ва мембрана тузилишига эга бўлган органеллалар — *митохондриялар*, *Гольжи комплекси*, лизосомалар ва цитоплазмада оқсил синтезини бажарадиган майда таначалар — *рибосомалар* киради.

Шу билан бирга молекуляр биология оқсил ва нуклеин кислоталарнинг ўзаро боғланишлари ва бошқа биополимерлар — мураккаб липидлар ва углеводлар билан ҳосил қилган молекулалардан устун структуралар — *хромосомалар*, *вируслар*, *миофибриллалар*, *хлоропласт*, кўриш пигменти — *родопсин* ва бошқа шу каби комплексларни ҳам синчиклаб тадқиқ қилади. Молекуляр биология ўз диққат марказидаги объектларни, биринчи навбатда оқсиллар ва нуклеин кислоталарни, тадқиқ қилар экан, у аввало бу молекулаларнинг турли шакллари, бу шаклларнинг эволюцияси, функцияси, улар юксакроқ ташкилий да-

ражага ўтганда ўзгаришларнинг турли вариантлари билан шуғулланади.

Молекуляр биология аксари уч улчовли фан, яъни объектни бир сатҳда эмас, фазода тадқиқ қилади, марказий ўринга структурани қўяди. Лекин у морфологиянинг нафис бир варианты эмас, молекуляр биология морфологик структурани функция билан боғланган шаклда ифодалайди. Молекуляр биологик тадқиқотларнинг асосий мазмуни биомолекулаларнинг ва бошқа компонентларнинг тузилиши билан бажарадиган иши (функцияси) орасидаги боғланишни аниқлашдир.

Молекуляр биологиянинг фан тариқасида дунёга келиши 1953 йилда Англиянинг Кембриж университетиде икки ёш олим — америкалик генетик Жеймс Уотсон билан инглиз физиги Френсис Крик томонидан нуклеин кислоталарнинг бир тури — дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) молекуласининг қўш спираль тузилишга эга эканлигининг кашф этилиши билан боғлиқ. Мана шу кашфиёт айни вақтда, олимлар олдида кўп асрлар давомида ечилмас жумбоқ бўлиб келган ирсий белгилар қандай сақланади ва авлоддан-авлодга қандай ўтади, деган саволни ҳам ҳал қилиш имкониятини берди. Шу билан бирга жонли табиатнинг келиб чиқиши ва эволюциясини, ҳаётнинг моҳияти ва қонуниятларини тадқиқ этишнинг янги йўллари, эксперимент турлари, таъриф этиш тили дунёга келди.

Организмлар ҳаётининг фундаментал феномени булган ирсият ва ўзгарувчанликнинг қисқа давр ичида ҳайратда қолдирадиган даражада содда, аммо чуқур мантиқи ҳал бўлиши, генетик ахборот билан унинг фенотипик ифодаси, яъни организмнинг барча белгилари йиғиндиси орасидаги энг қоронғи ва чигал муаммонинг ечилиши, ДНК молекуласининг қўш спиралида тайинланган экан. Ҳамма гап шундаки, ДНК молекуласида организмларнинг ирсий белгиларини ифодалайдиган ахборот махсус химиявий тилда код белгилари билан шифрланган. Мана шу шифр асосида ҳужайрада минглаб специфик оқсил молекулалари синтезланади. Ҳар бир оқсил молекуласини таъминлайдиган шифр *ген* деб аталади. Генлар ДНК молекуласида қатор бўлиб узунасига жойлашган. Ҳужайрада синтезланадиган оқсил молекулаларининг турлари, сифати, миқдори ДНК даги генларнинг ўқилишига, реализация қилинишига боғлиқ. Ўз навбатида, доимо синтез қилиниб турадиган ҳар бир ҳужайра учун ўзига хос оқсиллар унинг шаклини ва функциясини белгилайди.

Молекуляр биологиянинг ғоялари биологиянинг ҳамма соҳаларига тегишли, бу комплексда у бир шохобча бўлиб қолмай, балки жонли табиатни ўрганишнинг янги юксак поғонасидир. Унинг табиатшуносликнинг ривожланишидаги ўрнини XIX асрнинг 60-йилларида улуг инглиз олими Чарлз Дарвин яратган эволюцион таълимот билан таққослаш мумкин. Дарвин табиатда турлар эволюция, табиий танланиш йўли билан

пайдо бўлганини тасдиқлаган бўлса, молекуляр биология эволюция қандай боришини, унинг механизмини очиб беришга даъват қилади: жонли организмлар учун хос бўлган ривожланиш феноменини ҳам молекуляр текисликда, оқсиллар ва нуклеин кислоталарнинг ўзаро муносабати, реакциялари шаклида ифодалайди.

## МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИЯНИНГ ПАЙДО БУЛИШИ ВА РИВОЖЛАНИШ ТАРИХИ

Молекуляр биология асримизнинг 40-йилларида ҳужайра ва унинг компонентлари ҳақида кўплаб янги маълумотлар тўпланиши, биомолекулаларни ажратиб олиш ва функциясини тадқиқ қилиш имкониятини берадиган принципиал янги усуллар яратилиши туфайли дунёга келди.

Биологик жараёнларнинг молекуляр асосларини тадқиқ этиш ғояси олимлар олдида турган долзарб муаммо эканлигини табиатшунослар яхши тушунар ва унга ёндашиш йўлларини истар эдилар. Бу ғоянинг реализация қилинишида дастлабки далиллар биохимиклардан эмас, балки бошқа соҳа мутахассислари томонидан етказилди. Бир қатор машҳур физик ва химик олимлар фундаментал биологик жараёнларда ҳал қилувчи роль ўйнайдиган оқсил молекуласини тадқиқ этишга киришадилар. Шу мақсадда анчагина принципиал янги усуллар яратилади.

«Молекуляр биология» номининг ўзи Америкадаги Рокфеллер фонди табиат фанлари бўлимининг бошлиғи Уоррен Уивер томонидан биринчи бўлиб қўлланган бўлса керак. У ўзининг 1938 йилги ҳисоботида қўйидагиларни ёзган эди: «Физика ва химия биология билан кесишадиган чегаравий соҳаларда тирик ҳужайранинг асосий элементларини кўп сирлар билан ўраб турган пардани очишни бошлаган фаннинг янги бўлими — молекуляр биология аста-секин пайдо бўлмоқда». Бу янги бўлимининг шаклланиши биохимия муаммоларининг ҳал қилинишига икки томондан ёндашган, асосан физик ва химиклар кашфиёти ва ғояларига боғлиқ эди. Булардан бири биологик жиҳатдан энг муҳим аҳамиятга эга молекулаларнинг уч ўлчовли структурасини белгилашга физик усуллар, айниқса рентген-структура анализини қўллашга интиланган. Бу йўналишнинг асосчилари Бернал ва Крафт оқсилларнинг монокристалларида рентген нурларининг диффракцияси асосида уларнинг структураларини ўрганиш мумкин эканлигини тасдиқладилар. Иккинчи мактаб ўз диққатини ирсий жараёнларнинг молекуляр механизмини аниқлашга қаратган эди. «Фаг мактаби» аталган бу йўналиш Дельбрюк ва Луриялар номи билан боғлиқ. Лекин бу соҳадаги асосий кашфиёт — 1944 йилда Эвери, Мак-Леод ва Мак-Карти томонидан генетик ахборотни ташувчи молекула оқсил эмас, балки ДНК эканлиги исботланиши «Фаг мактаби» билан боғлиқ бўлмади. Бу йиллар давомида ўтказилган тадқиқотлар ҳужайра струк-

тураси ва функциясини органеллалар даражасида тасвир қилиш билан чегараланмай, уларда кечадиган жараёнларнинг молекуляр механизмини аниқлаш имкониятини берди. Масалан, генетик материални сақлаш, унинг репликацияси (нусхасини кўпайтириш) ва экспрессияси (тасвирланиши, реализация қилиниши) да ядро ролининг ҳар қандай муҳокамаси, ДНК, РНК ва тегишли оқсилнинг структураси ва хоссаларини талқин қилинишига бориб тақалади. Шунинг учун бу соҳани тушуниш фақат ҳужайра ва молекуляр биологиянинг асосий компонентларини ўрганиш билан чегараланиб қолмай, уларнинг ўзаро муносабатларини аниқлашни талаб қилади. 40-йилларда яратилган қудратли асбоблар ва усуллар — электрон микроскоп, ультрацентрифуга, рентген-структура анализининг такомиллаштирилиши, хроматография, электрофорез, нишонланган атомлар каби янги усуллар кашф этилиши биомолекулалар ва ҳужайра компонентларини чуқур ўрганиш учун кенг имкониятлар очиб берди. Ҳужайрада илгари маълум бўлган органоидлар (мембрана, ядро, хромосома, митохондриялар, пластидалар, Гольжи аппарати)нинг нозик тузилиши аниқланди; янги компонентлар (рибосомалар, лизосомалар, эндоплазматик тўр ва бошқалар) кашф этилди ва функциялари ёритилди. Янги текисликда олинган маълумотларни физика, химия ва биологиянинг айрим соҳаларида эришилган назарий тушунчалар асосида талқин қилиш ҳаётнинг моддий субстрати ва унинг ташкил қилиниши ҳақида фундаментал хулосаларга олиб келди. Тез орада ҳужайранинг тузилишида ва унинг барча функцияларини таъминлашда асосий ўринни биомолекулаларнинг юксак полимерли икки синфи — *оқсиллар* ва *нуклеин кислоталар* эгаллаши узил-кесил тасдиқланди. Энди олимлар олдида мана шу биополимерларнинг структураси билан ҳужайрадаги функцияси орасидаги боғланишни очиб бериш, фундаментал биологик жараёнларни химиявий реакциялар тарзида тушунтириш масаласи кўндаланг турар эди. Бу муаммоларни ечишда ХХ асрнинг иккинчи ярмидан бошлаб асосан оқсиллар, нуклеин кислоталар молекуляр генетика соҳаларида эришилган буюк кашфиётлар табиатшуносликда революцион ўзгаришларга сабаб бўлди.

## 1 БОБ. ХУЖАЙРАНИНГ ТУЗИЛИШИ ВА ТАРКИБИ

### 1.1 Хужайранинг умумий тузилиши

Утган асрнинг охириги чорагидаёқ ҳар қандай биологик муаммони ечиш калитини охирида хужайрадан қидириш кераклиги олимлар учун аён бўлган эди. Бинобарин, хужайранинг химиявий таркибини, ички тузилишини чуқурроқ ўрганиш биология ривожланишининг асосий йўналиши бўлиб қолди. Лекин хужайрада тўхтовсиз борадиган ҳаётий жараёнларнинг асоси моддалар алмашинуви эканлиги маълум бўлса ҳам уларнинг вақт ва масофада ташкил топиши, тўла мослашган ҳолда ўтишининг идора қилиниши ва бунда айрим хужайра компонентлари, органеллаларининг иштироки эндигина ўрганила бошланган эди. Бу структураларни ва ҳодисаларни чуқур тадқиқ этиш, цитоплазмада жойлашган ядро, митохондрилар ва бошқа киритмаларни, хужайра мембранасини яхшироқ кўрсатадиган электрон микроскоп ёрдамида тадқиқ этиш олимлар кўз олдида хужайра ва органеллаларнинг бутунлай янги қиёфасини тасвирлаб берди.

Хужайра (юнонча — *цитос*, латинча *целла* — бўшлиқ) атамаси биринчи марта инглиз микроскопчиси Роберт Гук томонидан таклиф қилинган. Юнонча атама энди хужайрага тааллуқли ҳамма сўзлар таркибига киради: *цитология* (хужайра ҳақидаги фан), *цитоплазма* (хужайра плазмаси) ва ҳоказолар.

Хужайра элементар тирик система, у мустақил яшаш, кўпайиш ва ривожланиш қобилиятига эга. Тўла-тўқис хужайра кўпинча унинг марказида жойлашган юмалоқ қаттиқ масса — *ядродан* ва ўз ичида майда органеллалар ёки *органюидларни* тутувчи тиниқ ярим суюқ масса — *цитоплазмадан* тузилган система.

Илмий далиллар асосида биринчи жонли организмлар — бир хужайрали майда бактериялар Ерда бундан тахминан 3,5 млрд йил илгари пайдо бўлган деб гумон қилинади. Бактериялар оламида хужайралар содда структурага эга — улар цитоплазма, уни ўраб турадиган юмшоқ хужайра мембранаси ва қаттиқ хужайра деворидан, баъзан яна иккинчи ташқи мембранадан тузилган. *Прокариотлар* деб аталадиган содда хужайраларнинг бундай типни жуда майда, узунлиги 1—2 мкм, диаметри 0,5—1,0 мкм келади, уларнинг ажралган ядролари, ихтисослашган мембранали тузилмалари бўлмайди. Прокариотларнинг энг яхши ўрганилган вакили ичак таёқчаси — *E. coli* молекуляр биологиядаги жуда кўп тадқиқотларда асосий объект сифатида маълум.

Юксак организмлар хужайраси *эукариот хужайралар* деб аталади. Улар прокариотларга қараганда анча йирик, цито-

плазмада ядродан ташқари, ҳужайра ичидаги мембраналар билан боғлиқ структураларга эга. Типик эукариот ҳужайра реал мавжуд бўлмаса ҳам уларнинг кўпчилиги учун умумий бўлган структура таърифи қабул қилинган.

## 1.2. Ҳужайрани электрон микроскопда кузатиш

Молекуляр биологиянинг объектлари жуда майда бўлади, уларнинг катталиги миллиметрнинг мингдан, миллиондан кичик улушлари билан ўлчанади. Морфологик объектларнинг катталигини кўз олдига келтириш учун бу катталикларнинг аниқ ўлчовини келтирайлик. Метрик система буйича 1 мм 1 метр (м) нинг мингдан бири ( $10^{-3}$  м), 1 миллиметр (мм) нинг мингдан бири — микрон, микрометр (мкм,  $10^{-6}$  м), 1 микрометр (мкм) нинг мингдан бири 1 нанометр (нм,  $10^{-9}$  м) шаклида ифодаланади. Жуда кичик объектлар, атом ва молекулалар, улар орасидаги масофалар янада кичикроқ ўлчов бирликлари — Ангс-



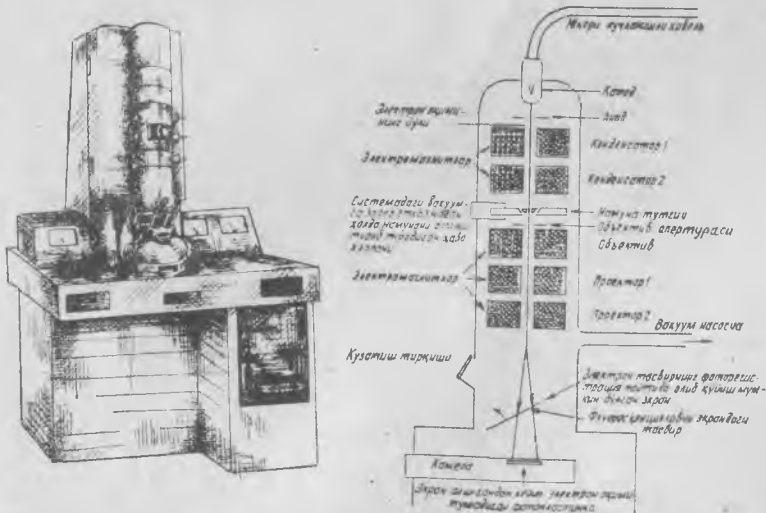
1-расм. Катталикларнинг нисбий ўлчови.



трем ( $\text{Å}$ ) белгиси билан ифодаланади.  $1 \text{ Å}$   $1 \text{ мм}$  нинг  $10$  миллиондан,  $1 \text{ мкм}$  нинг  $10$  мингдан бири ёки  $1$  нанометрнинг  $0,1$  ( $10^{-10} \text{ м}$ ) га тенг. Баъзи хужайра компонентлари ва молекулаларни таққослаш учун қўйидаги маълумотларни келтириш мумкин: атомнинг катталиги  $1 \text{ Å}$  ёки  $0,1 \text{ нм}$ , аминокислота  $1 \text{ нм}$ , оқсил молекуласи  $5\text{—}10 \text{ нм}$ , вируслар  $10\text{—}100 \text{ нм}$ , бактериялар хужайраси  $0,3\text{—}0,9 \text{ мкм}$ , эритроцитларники  $10 \text{ мкм}$ .

Хужайра ва унинг органелларининг тузилишини фақат катталаштириб кўрсатадиган шиша линзалар ўрнатилган ёруғлик микроскопида ва электрон оқими билан нурлатадиган электрон микроскопда текшириш мумкин. Электрон микроскопнинг принципал схемаси ёруғлик микроскопникидан фарқ қилмайди, фақат электрон микроскопда объект тўлқин узунлиги тахминан  $0,5 \text{ мкм}$ , яъни  $500 \text{ нм}$  га тенг ёруғлик нурлари ўрнига, тўлқин узунлиги жуда калта электрон оқими билан ёритилади.

Электронларнинг тўлқин узунлиги уларнинг тезлигига боғлиқ. Луи де Бройль принципига мувофиқ, электронлар тезлиги қанча катта бўлса, тўлқин узунлиги шунча қисқа бўлади. Ҳозирги вақтда электронлар тезлигини ошириш қийин эмас: электр кучланиши  $40000\text{—}100000$  вольт бўлганда электронлар тезлиги бир секундда  $200000 \text{ км}$  га етади. Де Бройль формуласи бўйича бундай тезликда тўлқин узунлиги деярли  $0,05 \text{ Å}$  га етади. Бу эса атомлар орасидаги масофанинг  $1/20$  га тенг. Аммо бундай қисқа тўлқинли электронларни линзалар системаси ёрдамида тўплаб, электрон микроскопда фойдаланиш имконияти йўқ. Электрон микроскопда электронлар учраган атом ва молекулалар билан тўқнашиб, ўз йўлидан оғмасин



2-расм. Электрон микроскоп ва унинг тузилиш схемаси.

учун албатта вакуум бўлиши керак; электронлар оқимининг йўналишини кучли электр майдонлари ёки магнит майдонлари ёрдамида эҳтиёжга қараб ўзгартириш мумкин.

Шундай қилиб, электрон микроскопда ҳам ёруғлик микроскопига ўхшаш икки нуқта орасидаги масофани катталаштирадиган линзалар — объектив, окуляр, нурни йиғувчи конденсор бор. Фақат ёруғлик линзалари ўрнига магнит линзалари қўлланади. Улар ёрдамида тезлаштирилган электронлар оқими конденсор орқали тўқиманинг махсус тайёрланган жуда юққа кесигига фокусланади.

Кўриш асбобларининг рухсат этиладиган кучи (кўриш қуввати) яқин турган, алоҳида-алоҳида кўриладиган иккита нуқта орасидаги масофа билан белгиланади. Иккита нуқта орасидаги масофа 0,1 мм дан кичик бўлса, одам кўзи уларни айрим нуқталар шаклида кўра олмайди. Кўриш асбобларининг кўриш қуввати объектга йўналтирилган нур тўлқини узунлигига боғлиқ — унинг ярмига тенг. Ёруғлик микроскопининг *кўрсатиш қуввати* (у тўлқин узунлиги 5000 Å тенг юддий рангсиз нур билан ёритилганда) 2500 Å (0,25 мкм) га тенг. Одатда, у одам кўзиникидан тахминан 500 марта ортиқ. Электрон микроскопда қўлланадиган электронлар оқимининг тўлқин узунлиги жуда қисқа бўлса ҳам ҳозирги замонда унинг кўрсатиш қуввати 2Å (0,0002 мкм) га етказилган. Бу эса ёруғлик микроскопининг кўрсатиш қувватидан анча юқори.

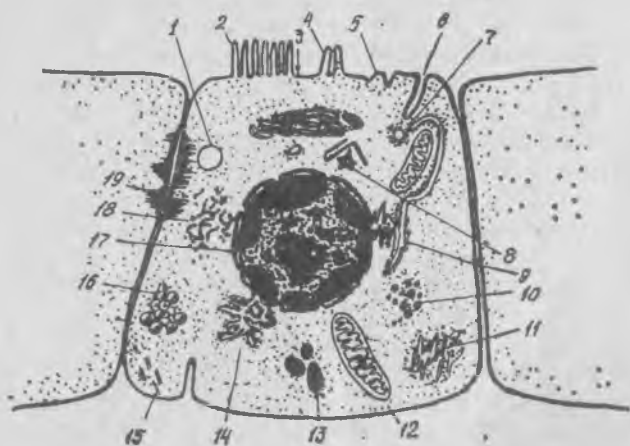
Электрон микроскоп фақат жуда нозик, қалинлиги диаметрининг мингдан бир улушига тенг бўлган кесикларни текшириш имконини беради. Махсус ультрамикротомлар ёрдамида ҳужайрагина эмас, балки унинг органеллалари ҳам майда-майда кесикларга бўлинади. 1940 йилдан бошлаб такомиллаштириб борилган, ҳозирги кунда кўриш кучи 2 Å га етказилган электрон микроскоп ёрдамида ҳужайра ва унинг компонентларини мукамал текшириш, органеллаларини ультрацентрифуга ёрдамида ажратиб олиш, ҳужайрадан ташқари муҳитда функцияларини текшириб кўриш, тоза ҳолдаги оқсил, нуклеин кислоталарни рентгенструктура анализи йўли билан тадқиқ қилиш бу компонентларнинг структураси билан бажарадиган иши ўртасида тўла уйғунлик борлигини кўрсатди.

Бундай структура-функционал муносабатлар барча ҳужайралар учун хос универсал хусусиятдир, ҳужайранинг ҳаёти, ўз-ўзидан кўпайиши, моддалар алмашинувининг асосий йўллари, оқсил синтези, ирсий белгиларнинг сақланиши ва наслдан-наслга ўтиши каби фундаментал реакциялар механизми бир ҳужайрали бактерияларда, ўсимликлар ва ҳайвонлар ҳужайрасида ҳам умумийдир.

Бу қоида тирик организмларнинг бирлигини, уларнинг ягона умумий аждоддан келиб чиққанлигини тасдиқлайдиган энг ишончли далилдир.

### 1.3. Ҳужайра органеллалари

Ҳужайра аъзочалари, яъни органеллалари (органойдлари) — бир бутун системанинг айрим таркибий қисмлари ҳужайрадан кичик тузилиш ва функцияга эга структура бўлганидан улар *субҳужайра компонентлари* деб ҳам юритилади. Улар қаторига ҳужайра мембранаси ва ядросидан ташқари, ҳужайранинг нафас олиш ва унда энергиянинг шаклини ўзгартириш (трансформация қилиш) органлари — *митохондриялар*, турли синтетик жараёнларда иштирок этадиган *эндоплазматик ретикулум* (ҳужайра ичидаги тўр), оқсил синтезловчи машина сифатида ишлайдиган *рибосомалар*, уларнинг рибонуклеин кислота (РНК) занжирига тизилган қатори *полисомалар*, ўсимликлар-



3- расм. Эукариот ҳужайранинг соддалаштирилган схемаси:

1 — вакуоли; 2 — микроворсинкаси; 3 — Гольжи комплекси; 4 — пиноцитоз буртиклари; 5 — пиноцитоз пуфакчалари; 6 — пиноцитоз канал; 7 — пиноцитоз вакуола; 8 — центриоль; 9 — эндоплазматик тўр (радири-будур); 10 — гликоген доначалари; 11 — ипчалар (фламентлар); 12 — митохондрия; 13 — лизосомалар; 14 — эндоплазматик тўр (ясси); 15 — микронайчалар; 16 — ёр томчилари; 17 — ядро пардаси; 18 — рибосомалар ва полисомалар; 19 — десмосома.

да фотосинтезни бажарувчи *хлоропластлар*, синтезланган оқсил молекулаларини қабул қилиб тахт қиладиган, мембрана билан ўралган ясси пуфакчалар, Гольжи комплекси киради. Бу асосий органойдлардан ташқари, ҳужайра ичида яна мембрана тузилишига эга бўлган бир қатор аъзочалар — ўзида турли ферментлар тутувчи оқсил, пероксид, липид табиатли бирикмалар парчаланишида, баъзи синтетик жараёнларда иштирок этадиган алоҳида найчалар, халтачалар шаклидаги *лизосомалар*, *микротаначалар*, *пероксисомалар*, *гликосомалар* ва ниҳоят *вакуоалар*, баъзи эҳтиёт моддалар доначалари мавжуд.

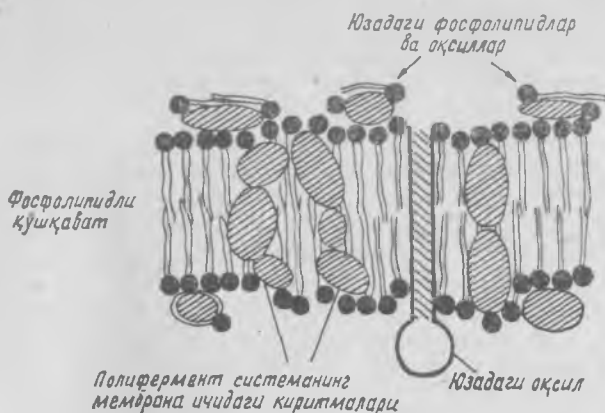
Ҳужайра таркибидаги бу компонентлар ўз функциясини маълум даражада мустақил равишда тегишли суратда бажарса ҳам, ҳужайра фаолиятида улар минглаб хилма-хил реакциялар бехато кечишида тўла уйғунликда автоматик тарзда иштирок этади.

### Плазматик мембрана

Ҳар бир ҳужайра плазматик мембрана, яъни одатда *ҳужайра мембранаси* деб аталадиган, липид ва оқсиллардан иборат юпқа қават билан ўралган бўлади. Плазматик мембрана ҳужайрани ташқи муҳитдан ажратиб, цитоплазмадаги турли моддалар ҳужайралар орасидаги суюқликда эриган моддалар билан аралашиб кетмаслигини, уларнинг ҳар икки томонида концентрация фарқини таъминлаб туради. Мембрана молекулаларни ва ҳатто ионларни ҳам танлаб ўтказиш хусусиятига эга.

Плазматик мембрана ўсимликлар ҳужайрасининг ёруғлик микроскопида яхши кўринадиган ва ҳужайра деворини ташкил қиладиган қаттиқ эгилмас целлюлоза пардаси эмас. Ўсимликларда бу пардадан ташқари, ҳайвонлар ва бактериялар ҳужайрасидаги каби ҳаракатчан, мураккаб, цитоплазмадан ажралиб турадиган юпқа ҳужайра пардаси мавжуд, бу ўша плазматик мембранадир. Ўсимликлар ҳужайрасида у бевосита целлюлоза парда тагида жойлашган. Асосий плазматик мембрана фақат ядро мембранаси билан эмас, балки ҳужайра ичидаги бошқа мембраналар билан ҳам боғлиқдир. Шунинг учун эукариот ҳужайрада ҳар бир айрим мембранани умумий мембрана системасининг ихтисослашган сегменти деб қараш мумкин. Бу сегментлардан бири плазматик мембрана бўлса, иккинчиси ядро, бошқаси митохондрия, эндоплазматик тўр мембраналаридир. Баъзан ҳужайра қуруқ қисмининг 80% ни ташкил қиладиган катта мембрана системаси узлуксиз тузилма бўлса ҳам, химиявий таркиби бир хил эмас. Ҳар бир сегмент ўзига хос ажойиб таркиб ва структурага эга бўлади.

Мембрананинг химиявий таркиби ва архитектураси, яъни таркибий қисмларининг бир-бирига нисбатан жойлашиши унинг типи ва функциясига боғлиқ. Ҳужайра мембранасининг қалинлиги 75—95 А° га тенг. Махсус бўялган мембрана электрон микроскопда қаралганда у иккита жуда юпқа қават (тахминан 20 А°) ва улар орасидаги бўялмаган қалинроқ (35 А°) қаватдан тузилганлигини кўриш мумкин. Бу структуранинг икки четидagi (ташқи ва ички) қаватлар оқсилдан, ўртасидаги ғовақроқ қават эса икки қатор липид молекулалардан ташкил топган. Шунинг учун ҳам уни икки бурда нон орасига сарийё суртилган бутербродга ўхшатиш мумкин. Ташқи ва ички томондаги оқсил қаватлар яхлит қатлам ҳосил қилмаганидан липид қавати муҳитдаги ёғ моддалар билан бевосита тўқнаша олади. Сувда эримайдиган (гидрофоб) мойсимон моддалар шу йўл билан ҳужайра ичига осонликча ўтади.



4-расм. Ҳужайра мембранасининг тузилиши.

Электрон микроскопик текширишда плазматик мембрана учун хос тузилиш ҳужайранинг бошқа компонентлари — ядро, митохондриялар, эндоплазматик тўр, Гольжи комплекси мембраналари учун ҳам хос эканлиги тасдиқланди. Фақат мембранани ташкил қиладиган липидлар ва оқсиллар таркиби, уларнинг жойланиш тартибида фарқ бўлади.

Ҳужайра пардаси фақат унинг ярим суяқ цитоплазмасини сақлаб турадиган халта эмас. У молекулалар ва ионларнинг ташқи муҳитдан цитоплазмага ва аксинча, цитоплазмадан ташқарига чиқишини ростлаб туради, ташқи муҳитдан химиявий моддалар шаклида келадиган сигналларни қабул қилиб, ҳужайра ичига ўзгартирилган (трансформирланган) шаклда ўтказди. Мембрананинг ички ва ташқи қаватларида жойлашган ферментлар, каналчалар, биологик актив моддалар билан танлаб реакцияга кирадиган *рецептор* деб аталувчи махсус молекуляр тузилмалар ҳужайранинг ҳамма функциялари ташқи муҳит билан уйғунликда ўтишини таъминлайди.

### Ядро

Ядро — ҳужайра ҳаётини идора қилиб турадиган асосий органелла. Ядродан ҳужайранинг иш бажарадиган қисми — цитоплазма компонентларига информация (ахборот) узатилиб туради. Мана шу ахборот ҳужайранинг типини аниқлайди, цитоплазмада қандай оқсиллар, ферментлар қай миқдорда синтезланишини таъминлайди.

Ядро ҳужайра ичидаги энг йирик органелла, типик ҳайвон ҳужайраси ядросининг диаметри 5 мкм, ҳажми 65 мкм<sup>3</sup> га тенг. Ядро морфологик пишиқ юмалоқ масса шаклида бўлиб, цитоплазмадан икки қаватли мембрана билан ажралиб туради. Электрон микроскопда кузатилганда ядро мембранасида анчагина ғовакчаларни кўриш мумкин. Ғовакчаларнинг катта-

лиги ҳужайраларнинг типига қараб 30 нм дан 100 нм гача бўлганидан, макромолекулалар, хусусан, оқсил ва нуклеин кислота фрагментларининг катта парчалари улар орқали ўтиб туриши мумкин.

Ядронинг ички бўшлиғи *нуклеоплазма* деб аталади. Унинг учун ҳам нозик структура хос. Электрон микрофотографияда унинг танасида жуда ҳам тигиз РНК молекулаларига бой доира — *ядроча* кўринади. Кейинги маълумотларга кўра, ядроча рибосомалар РНК си синтезланадиган жой ҳисобланади. Нуклеоплазмада ядрочага қараганда электрон оқимида унча зич бўлмаган яна бошқа зона ҳам мавжуд. Бу зона *хроматин* деб аталади. Мана шу зоналарда (ядролу) ҳужайра ДНК сининг 95% ишқорий табиатга эга оқсил — *гистон* билан боғланган ҳолда бўлади.



5- расм. Ҳужайра ядросининг тузилиши.

*Хроматин* ҳужайранинг тинч, бўлинмаётган даври — *интерфазада* нуклеоплазмада озми-кўпми текис тақсимланган, турли узунликдаги тўғри, баъзан букилган таёқчалар шаклида кўринади. Ҳужайранинг бўлиниш даврида ядрода қатор ажойиб ҳодисалар юз берадики, уларнинг марказида хроматин доначаларидан ҳосил бўлган *хромосомалар* — рангли (ишқорий бўёқлар билан бўяладиган) таначалар бўлади. Ҳужайра бўлинишидан олдин хроматин аввал тигизлашади ва характерли таёқча шаклини олади. Ҳужайранинг бўлиниш даври — *митозда* улар турли шаклга киради. Ҳар бир хромосома узунасига иккига бўлинади. Ҳужайрада мураккаб иплар системаси пайдо бўлиб, улар хромосомаларнинг иккала яримта бўлакларини бир-биридан ажратиб, ҳужайранинг қарама-қарши томонларига тартади. Мана шундай ажойиб механизм туфайли она ҳужайра билан ундан ҳосил бўлган иккита бола ҳужайралар хромосомалари тўла идентик (бир хил) бўлиб чиқади. Ҳужайра ядросидаги информация материали хромосомаларда жойлашган ДНК молекулалари бўлиб, унинг геномини ташкил қилади. Бинобарин, ҳужайра бўлинишида хромосомаларнинг иккита бола ҳужайраларга бир текис тақсимланиши туфайли улар тенг ва бир хил информация билан таъминланади.



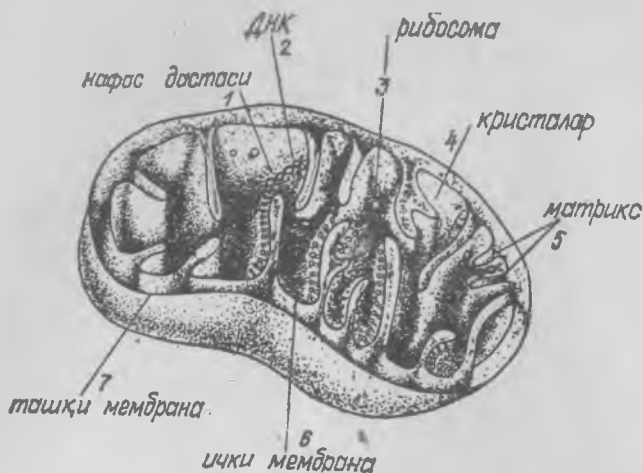
6-расм. Иккита хромосомали гипотетик ҳужайра митозининг схемаси. Ҳужайра ва центриолларнинг ўзгариши кўрсатилган:

1 — 3 профаза; 4 — прометафаза; 5 — метафаза;  
6 — анафаза; 7—8 телофаза.

### Митохондриялар

Митохондриялар химиявий молекулаларда сақланадиган потенциал энергия турини ўзгартириб ҳужайра эҳтиёжи учун фойдаланиш қулай бўлган шаклга келтиради. Шунинг учун ҳам улар энергия трансформаторлари, ҳужайра электростанцияси деб ҳам юритилади. Митохондриялар ёруғлик микроскопида майда таёқчалар шаклида кўринса ҳам, уларнинг ички тузилиши фақат электрон микроскопда тўла таърифланиди. Митохондриялар 0,2—5—7 мкм катталиқда, уларнинг сони, шакли ва тузилиши анча ўзгариб турса ҳам ҳамма ҳужайралардаги митохондриялар электрон микроскопда икки қават мембрана билан ўралган ички бўшлиқ — *матриксга* эга тузилма ҳолида кўринади. Митохондриялар ҳайвон ва усимлик ҳужайраларида мавжуд, лекин бактериялар ҳужайрасида бўлмайди.

Митохондрияларда моддалар алмашинувининг оралиқ маҳсулотлари — метаболитлар тўла оксидланиб, сув ва карбонат ангидридга айланади. Бу жараёнда ажраладиган энергиядан ҳужайранинг эҳтиёжлари учун фойдаланиладиган аденозин трифосфат (АТФ) нинг энергияга бой фосфат боғлари тузилади.



7-расм. Митохондриянинг тузилиши.

### Рибосомалар

*Рибосомалар, полисомалар* — цитоплазма ичидаги майда, юмалоқ тузилмадир. Улар ё эркин ҳолда ёки эндоплазматик тўрға тизилган гадиур-будур ретикулум ҳолида бўлади. Рибосомалар иккита кичикроқ бўлакчалар (субединица — кичик бирликлар) дан ташкил топган. Бу бўлакчаларнинг катта-кичиклиги ультрацентрифугада чуқиш тезлиги — седиментация коэффициенти (S) билан таърифланади. Бактерия рибосомаси 70 S га, унинг кичик бирлиги 30 S ва катта бирлиги 50 S га тенг.

Рибосомалар ҳужайрада жуда зарур функция — оқсил синтезини бажаришга мослашган маҳсус машинадир. Бу вазифани амалга ошириш жараёнида улар РНК нинг бир тури — матрица РНК сига қатор тизилиб, *полисомалар* ташкил қилади ва оқсил синтезловчи фабрика шаклида ҳам механик, ҳам химиявий ҳаракатларни бажаради. Битта ҳужайрадаги рибосомалар сони 10—100 минг атрофида бўлади.

Рибосома химиявий таркибига кура нуклеопротеид парчадир. Унинг ҳар иккала кичик бирлигига ҳам уч хил РНК ва бир неча ўнлаб турли хил оқсил молекулалари бир нусхада киради.

Молекуляр биология ўрғанадиган объектлар қаторига тирик организм шаклида мустақил ҳаёт кечираоладиган, аммо бунинг учун бошқа жонли ҳужайрадан фойдаланадиган жуда майда заррачалар — *вируслар ва бактериофаглар* ҳам киради. Ҳужайрадан ташқарида уларнинг ҳаётий белгилари сезилмайди, улар жонсиз бир кристалл шаклида намоён бўлади. Шунинг учун ҳам улар жонсиз ва жонли табиат чегарасидаги нуклеин кислота ва оқсилдан ташкил топган нуклеопротеид танача деб





8- расм. Рибосомалар ва полисомалар.

Цитоплазмани тўлатиб турадиган тур тузилишига эга бўлган яна бир қатор структуралар—лизосомалар, Гольжи комплекси, эндоплазматик ретикулум ва бошқалар алмашинув маҳсулотларининг синтези, транспорти, тахланиши, парчалаш вазифаларини бажаради.

қаралади. Вирус ўсимликлар ва ҳайвонларда, одамда турли касалликларни қўзғатади, бактериофаг (бактерияни емирувчи) бактериялар ҳужайрасида кўпаяувчи мавжудот.

Ҳужайра ва органоидларининг тузилиши ва функцияси унинг таркибига кирадиган оқсил ва нуклеин кислоталарнинг химиявий муносабати ва реакциялари узлуксиз ўзгариб туришига боғлиқ.

#### 1.4. Ҳужайра компонентларини ажратиб олиш

Ҳужайрада кечадиган жараёнлар механизмини ва айрим органеллаларнинг бу жараёнларда иштирок этишини аниқлаш учун молекуляр биология ҳам биохимия каби ҳужайра компонентларини тоза ҳолда ажратиб олиб, уларни ҳужайрасиз системада тадқиқ этади. Ҳужайра ичидаги киритмаларни шикастламай, уларни алоҳида-алоҳида тўплаш учун барча ишлар эҳтиётлик билан, совуқ хоналарда бажарилади.

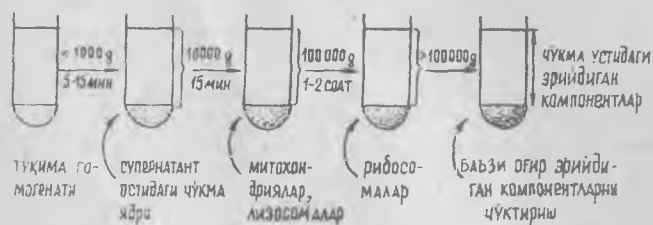
Биринчи босқичда ҳужайра *гомогенизатор* деб аталадиган махсус шиша ҳовончаларда электр мотор ёрдамида айлантириладиган сопи ёрдамида ишқаланиб, янчилик майин бир хил масса — *гомогенатга* айлантирилади. Сўнгра гомогенатни катта тезликда айланадиган ультрацентрифуга пробиркаларида айлантириб алоҳида-алоҳида фракцияларга бўлинади. Бу босқични дифференциал *центрифугалаш* дейилади. Ультрацентрифуга ёрдамида йирик молекулалар ва ҳужайра органоидларини ажратиш компонентларининг бир-биридан тигизлиги (массасининг ҳажмига нисбатига қараб фарқ қилишига асосланган).

Гомогенат ультрацентрифуга кюветасида ёки пробиркада катта тезликда айлантирилганда, оғирроқ заррачалар камроқ тезликда, кичикроқ марказдан қочиш кучида, қисқароқ вақт ичида чўкади, енгилроқ заррачалар чўкиши учун каттароқ

тезлик, кучлироқ марказдан қочиш кучи, кўпроқ вақт керак бўлади. Центрифугалаш пробиркасида заррачаларнинг марказдан қочиш кучи таъсирида чўкиши аввало мана шу кучнинг катталигига, заррачаларнинг ўлчами, шакли ва тигизлигига боғлиқ. Ҳозирги ультрацентрифугалар юксак вакуумда тез айлантирадиган электрик двигателлардан фойдаланиб, 1 мин да 75000 марта айлантириш ва марказдан қочиш кучи — Ерни тортиш кучи ( $g$ ) ни 400000 гача етказиш мумкин. Заррачаларнинг ана шундай куч таъсирида чўкиши *седиментация* дейилади.

Ультрацентрифугалашда компонентларнинг чўкиш тезлиги *седиментация коэффициенти* деб аталиб, у заррачаларнинг муҳим харақтеристикасидир ва марказдан қочиш кучининг бир бирлигига нисбатан ифодаланади. Бу бирлик швед олими Сведберг номи билан аталиб,  $S$  ҳарфи билан ифодаланади. 1  $S$  энг кичик бирлик, у вақт ўлчовида (секундларда) ифодаланади ва  $1 \cdot 10^{-13} c$  га тенг; унга мос келадиган марказдан қочиш кучи  $\frac{dx}{dt} \cdot \frac{1}{\omega^2 x}$  бўлиб,  $\omega$  — ротор айланишининг бурчак тезлиги ва  $x$  — ротор марказидан эритма солинган пробирканинг ўртасигача бўлган масофа.

Молекуляр биология доирасида текшириладиган заррачаларнинг седиментация коэффициенти 1—200  $S$  орасида. Седиментация коэффициенти айниқса химиявий таркиби аниқланмаган, кўпинча бир неча хил молекулалар ассоциациясидан ташкил топган йirik молекулалар, ҳужайра компонентлари ва уларнинг фрагментларини таъриф этишда кенг қўлланади. Текшириладиган молекула, субҳужайра компоненти қанча зич ва катта бўлса, унинг седиментация коэффициенти ҳам шунча юқори бўлади.



9-расм. Ультрацентрифугалаш йўли билан ҳужайра компонентларини фракцияларга ажратиш.

## II БОБ. ОҚСИЛЛАР

*Оқсиллар*, яъни *протеинлар* барча организмлар таркибига кирадиган энг муҳим биополимерлардан бири. Уларнинг «протеин» (юнонча *proteios* — биринчи, энг муҳим) деб аталиши ҳақиқатан ҳам оқсилларнинг ҳаётдаги ўрнини расмона аниқ

ифодалайди. Оқсил номи эса тухум оқлиги сўзидан келиб чиққан содда атамдир. Адабиётларда, мазкур китобда бу иккала сўз ҳам бир хил маънода, синонимлар сифатида ишлатилади.

Оқсиллар ҳужайра таркибидаги органик моддаларнинг тахминан 50% ини ташкил қилади. Тирик организмларнинг тўқималари, ҳужайралари, ҳужайра компонентлари асосан протеин молекулаларидан ташкил топган.

Оқсилларнинг хиллари ниҳоятда кўп. Организмларнинг ҳар бир тури ўзига хос оқсилларга эга. Энг содда организмлардан бўлган, биохимиявий томондан яхши ўрганилган бактерия — ичак таёқчаси (*E. coli*) ҳужайрасида 3000 га яқин айрим оқсил молекулалари мавжуд. Одам организмдаги оқсилларнинг хиллари 50000 га етади, лекин ҳозиргача уларнинг жуда кам қисми, тахминан 2000 га яқини кашф этилган ва яхши текширилган.

Оқсиллар асосан пептид боғлар орқали бириккан аминокислоталардан ташкил топган юқори молекуляр полимердир. Улар таркибига кирадиган аминокислоталар бир-бири билан ковалент боғ орқали бириккан, улар орасидаги боғ *пептид боғ*, ҳосил бўлган маҳсулот *пептид* деб аталади. Полимер таркибидаги аминокислоталарни сонига қараб, улар 50 дан кам бўлса *пептидлар* (*полипептидлар*), ортиқ бўлса *оқсиллар* деб аталади.

## 2.1. Оқсиллар классификацияси

Оқсиллар ҳужайрада бошқа ҳамма бирикмаларга (химиявий компонентларга) қараганда анча кўп жараёнларда хилма-хил функцияларни бажаради. Ҳамма протеинларнинг структура элементлари бир хил аминокислоталар бўлса ҳам, оқсил молекуласида нисбий миқдори ва жойлашиш ўрни турлича. Кўп минглаб оқсилларнинг систематик ва мантиқий классификацияси уларнинг химиявий структурасига асосланиши керак. Аммо бу вазифа жуда мушкул ва ҳозирча бажарилиши мумкин бўлмаганидан классификация соддароқ принциплар — уларнинг функцияси, келиб чиқиши, жойлашиши, эриш хусусияти, содда ёки мураккаблиги асосида тузилган.

### Оқсилларнинг функцияси

Протеинлар бажарадиган функциялар фақат оқсил молекулалари учун хос, аксари ажойиб ягона вазифалардир. Энг муҳими қуйидагилар:

1. **Каталитик функцияси.** Шу вақтгача кашф этилган барча биологик катализаторлар — *ферментлар* оқсилдир. Битта ҳужайрада уларнинг сони 2000 дан ортиқ бўлади. Бу функция фақат оқсиллар учун хос.

2. **Эҳтиёт озиқ моддаси сифатида** оқсиллар чегараланган миқдорда қонда, баъзи тўқималарда, кўп миқдорда ўсаётган

ҳомилада, ўсимликлар донида, тухумда ва сутда бўлиб, зарур бўлган шароитда сарфланади.

**3. Транспорт функцияси.** Қонда кислородни ташиш тамомила оқсил — *гемоглобин* томонидан бажарилади. Протеинлар қонда липидлар, баъзи гормонлар, витаминлар, металл ионлари билан комплекс ҳосил қилиб, уларни тегишли тўқималарга етказишади.

**4. Қўриқлаш функцияси.** Барча иммун таналар оқсиллардир. Улар организмга кирган бактерияларни, ёт оқсилларни ўзига ҳос равишда боғлайди, парчалайди, зарарсизлантиради.

**5. Қисқариш функцияси.** Мускуллар жуда кўп оқсиллар иштирокида қисқаради. Уларнинг энг муҳимлари *актин* ва *миозин* қисқарувчи мускул толаларини ташкил қилади. Миозин яна ферментлик фаолиятга ҳам эга.

**6. Оқсил гормонлар.** Бир қатор ички секреция безларининг маҳсулотлари пептид ва оқсил табиатига эга. Масалан, *инсулин*, *ўшиш гормони* ва бошқалар. Улар организмда моддалар алмашинувини ростлаб туради.

**7. Структура функцияси.** Оқсиллар бириктирувчи тўқиманинг асосий қурилиш материали: кератин, коллаген, эластин шулар қаторига киради. Лекин оқсиллар ҳужайра скелети, хромосомалар, мембрана, рибосомалар, рецепторлар таркибида бошқа моддалар билан биргаликда учрайди.

Бу айтиб ўтилган асосий функциялардан ташқари, оқсиллар яна жуда кўп биологик актив структураларнинг тузилишида ва функциясида ҳам иштирок этади. Масалан, ҳайвон заҳарлари ҳам аксари оқсил табиатига эга, кўриш пигменти *родопсин*, ахборотни ҳужайра ичига ўтказадиган мембрана юзасидаги махсус тузилма *рецепторлар* оқсилларнинг бошқа молекулалар билан комплексида; қон оқсили фибриноген қон ивишида иштирок этади.

**Оқсилларни таркибига қараб** икки категорияга: *оддий оқсиллар (протеинлар)* ва *мураккаб (конъюгирланган) оқсиллар (протеидлар)* га бўлиш мумкин. Биринчи категорияга мансуб оқсиллар фақат протеин молекуласидан иборат бўлиб, бошқа қўшимча компонент тутмайди.

**Мураккаб оқсиллар** полипептид занжирдан ташқари, унга боғланган, пептид бўлмаган органик ёки анорганик туркум сақлайди. *Протетик группа* деб аталадиган бу компонент ҳар хил табиатга эга ва унинг типига қараб, конъюгирланган оқсиллар қуйидаги туркумларга бўлинади: *гликопротеинлар* — углевод, *металлопротеинлар* — металл иони, *гемопро­теинлар* — гем, *флавопротеинлар* — флави­нлар, *фосфопротеинлар* — фосфат кислота қолдиғи ва *липопротеинлар* — липид туркум ту­тади.

**Эриш қобилияти ва молекуласининг шаклига қараб** оқсилларни сувда эрийдиган *глобуляр* (юмалоқ) ва сувда эримайдиган *фибриллар* (ипсимон) протеинларга, келиб чиқиши ва

тарқалишига кўра ҳайвон ва ўсимлик, қон, сут, мускул оқсилларига бўлиш мумкин.

## 2.2. Оқсилларни ажратиб олиш ва тозалаш усуллари

Оқсилларнинг физик-химиявий хоссаларини тўла текшириш, таркиби ва тузилишини ўрганиш учун уларнинг химиявий соф, индивидуал препаратини ажратиб олиш зарур. Бунинг учун биологик материал майдаланади, оқсиллар экстракция қилинади, яъни эритма ҳолига келтирилади ва турли оқсиллар аралашмасидан тегишли оқсил ажратиб олинади.

Оқсиллар юқори температура ва кучли химиявий реагентларга жуда сезгир ва кўпинча мураккаб аралашмалар таркибида жуда кам миқдорда бўлганидан, уларни ажратиш, тозалаш, текшириш учун жуда ҳам такомиллашган ва ихтисослашган махсус усуллар ишлаб чиқилган. Бу усулларнинг имконияти, рухсат этган чегарасини тасаввур қилиш учун қуйидаги мисолни келтириш мумкин. Битта ҳужайра намунасида бир марта ўтказилган текшириш давомида 2000 га яқин индивидуал оқсилларни аниқлашга эришилган. Бу ажойиб усуллар билан фақат иш давомида яқиндан танишиш ва уларни қунт билан текшириб, машқ қилиб ўрганиш мумкин.

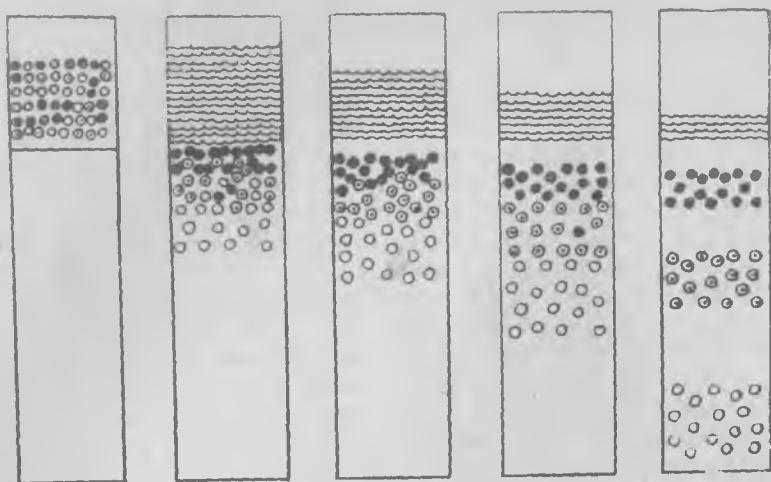
Оқсиллар билан ишлашнинг биринчи шарты уларни юмшоқ шароитда, паст (+4°C дан юқори бўлмаган) температурада *гомоген* (бир хил) компонент шаклида ажратиб олишдир.

Мазкур китобда оқсиллар химиясининг усуллари билан танишиш имконияти йўқ, бунинг учун алоҳида қўлланмалар, амалий машғулот — дарсликлар ёзилган, махсус вақт ажратилади. Қуйида асосий усулларни бирин-кетин қўлланиш тартиби ва улар қайси мақсадда ишлатилиши устида қисқача тўхталиб ўтамиз.

**Оқсилларни экстракция қилиш** учун тўқимани майдалаш (*гомогенлаш*) давомида уларни эритадиган маълум рН ли тузли эритмалар, органик эритмалардан фойдаланилади. Эритмага тўқимада бўлган барча оқсиллар ўтади. Иккинчи босқичда бу мураккаб аралашмани фракцияларга ажратиб тоза оқсил олинади. Ҳозирги вақтда бу мақсадда жуда кўп усуллар қўлланади, булар: аралашмани турли концентрациядаги тузлар эритмаси билан ишлаб, тегишли оқсилни чўктириш, иситиш билан денатурациялаш, органик эритмалар билан чўктириш, хроматография, гелфилтрлаш, электрофорез, ультрацентрифугалаш, икки фазали системада тақсимлаш, кристаллаш ва ҳоказолар.

Бу усуллардан ҳар бирининг рухсат этилган чегараси бор. Уларнинг ҳар бири алоҳида ёки бирга маълум аниқ мақсад учун қўлланади.

Оқсилларни фракциялашдаги энг самарали усуллардан бири *хроматография*дир. Бу усул биринчи марта 1906 йилда



10-расм. Гельфилтрация усулида оқсил молекулаларини йирик-майда-  
лигига қараб ажратиш.

рус олими Цвет томонидан хлорофилл ва ўсимликларнинг бошқа пигментларини ажратиш учун қўлланган эди. У аралашма компонентларининг икки фаза, тургун ва ҳаракатчан фазалар ўртасида тақсимланишига асосланган. Ҳаракатчан фаза кўпинча суюқлик ёки газ (газ хроматографияси) шаклида, тургун фазанинг хоссаларига қараб адсорбцион, тақсимловчи, ион алмашинувчи, молекуляр элак (гель ичига кирувчи), аффин (яқинлик асосида), биоспецифик хроматографиялар фарқ қилинади.

Оқсилларни тозалашда препаратив мақсадлар учун айниқса молекуляр элак ёки *гельфилтрация* усули жуда қулай келди. Моддаларни бу усулда ажратиш сефадекс деб аталадиган декстрандан тайёрланган турли катталиқдаги сувда шишадиган доначалар орқали аралашмани ўтказишга асосланган.

Сефадекс доначаларига катта молекулали моддалар кира олмайди ва шунинг учун улар колонкадан тезроқ ўтади, кичик молекулалар эса сефадекс ичига кириб қолади ва кейин ундан чиқади.

**Электрофорез** усуллари ҳам оқсилларни ажратиш ва тозалашда кенг қўлланади. Бу усул оқсилларнинг ўз зарядларининг катталигига қараб электр майдонида турлича ҳаракат тезлиги бўйича бўлинишига асосланган.

Кейинги вақтда қаттиқ тутувчи муҳитда: крахмал ва полиакриламид геллари ва целлюлозада электрофорез кенг қўлланади. Бу усулларнинг ҳам бир қанча вариантлари мавжуд.

Ана шу ва бошқа (эриш қобилияти, ультрацентрифугалаш) усулларидан фойдаланиб олинган оқсилнинг тоза ва гомоген

эканлиги тасдиқланади. Энди бу индивидуал модданинг физик-химиявий хоссалари, таркиби ва тузилишини ўрганишга ўтиш мумкин.

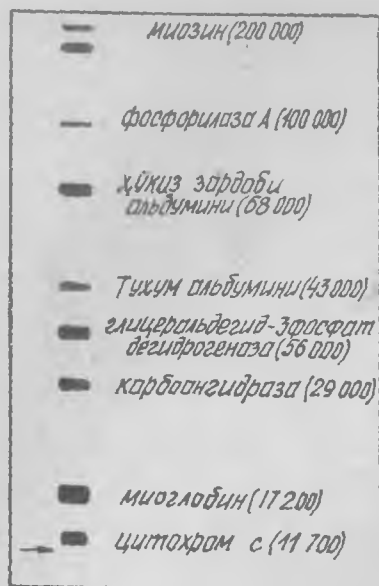
### 2.3. Оқсилларнинг умумий хоссалари

Оқсилларнинг асосий физик-химиявий хоссалари уларнинг юқори молекуляр полимер бирикма эканлигидан келиб чиқади. Протеинларнинг эритмалари жуда ёпишқоқ, кам диффузияланадиган, шунингдек, кенг миқёсда шишиш қобилиятига, оптик фаолият, электр майдонида ҳаракатланиш, паст осмотик босимга эга. Уларнинг ультрабинафша нурларни 280 нм да ютиш қобилияти, оқсил молекуласи таркибида ароматик аминокислоталар борлигига боғлиқ бўлиб, оқсиллар миқдорини аниқлашда қўлланади.

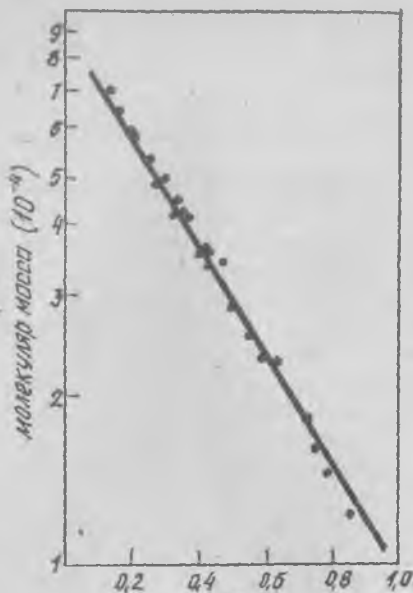
Оқсиллар, аминокислоталар каби, таркибида  $-\text{NH}_2$  ва  $-\text{COOH}$  группа тугганидан амфотер, яъни ҳам кислота, ҳам ишқор хоссасига эга. Муҳитнинг реакциясига ва таркибидаги кислотали ва ишқорий аминокислоталар нисбатига қараб, оқсиллар эритмада мусбат ва манфий зарядланган бўлади ва электр майдонида (электрофорезда) катод ёки анод томон силжийди. Эритмада оқсил молекуласининг манфий ва мусбат зарядларининг жами тенг бўлган рН катталиги унинг *изоэлектрик нуқтаси* дейилади. Изоэлектрик нуқта оқсилнинг аминокислота таркибига, молекула зарядлари жамига боғлиқ бўлиб, унинг характерли константаси ҳисобланади. Изоэлектрик нуқтада оқсиллар жуда беқарор бўлиб кам эриганидан улар осонлик билан чўқади.

#### 2.3.1. Оқсилларнинг молекуляр массаси

Оқсиллар юқори молекуляр бирикмалар қаторига киради; уларнинг макромолекуляр структурасига юзлаб, ҳатто минглаб аминокислоталар қолдиги киради. Оқсил молекуляр оғирлигининг пастки чегараси 6000 дальтон, юқориги чегараси 1000000 ва ундан ҳам катта. Оқсилларнинг аксарияти 30000—50000 дальтон молекуляр массага эга бўлиб, кўпинча битта полипептид занжирдан тузилган бўлади; лекин бундан йирик оқсиллар кўпинча бир макромолекуляр структурада йиғилган бир неча полипептид занжирдан ташкил топган бўлади. Бундай оқсиллар *олигомерлар* деб аталади, таркибидаги айрим занжирлар уларнинг кичик бирликлари (яъни тўла бирликдан кичик қисмлари) ҳисобланади. Ана шунинг учун оқсилларнинг молекуляр массасини аниқлаш шубҳасиз энг муҳим вазифа. Юқори молекуляр полимер моддаларнинг молекуляр массасини аниқлаш махсус усуллар ишлаб чиқилишини талаб қилди. Бу мақсад учун седиментация анализи, махсус гелларда хроматография (гельфилтрация) ва электрофорез усуллари қўлланади.



а



б

11-расм. Гель электрофорезда оқсилларнинг молекуляр массасини аниқлаш:  
 а — оқсиллар аралашмасининг электрофорези; оқсиллар юқоридан пастга силжиган, электрофорездан сўнг оқсилларни топиш учун бўялган. Оқсилнинг номи ва молекуляр массаси тегишли зона ёнида кўрсатилмаган; б — полиакриламид гелида НДДС— электрофорезида 24 оқсилнинг силжиши (силжиши 1 деб қабул қилинган бўёқнинг ҳаракатига нисбатан кўрсатилган).

Оқсилларнинг молекуляр массасини седиментация анализи усулида аниқлаш энг аниқ усул ҳисобланади. Бунинг учун текшириляётган оқсилнинг седиментация коэффиценти тез айлантирадиган аналитик ультрацентрифугада аниқланади.

Модданинг молекуляр массаси қанча катта бўлса, у шунча тез чўкади, яъни S шунча катта бўлади. Лекин седиментация тезлиги молекуланинг шакли ва тифизлигига ҳам боғлиқ. Кўпчилик оқсилларнинг седиментация коэффиценти 1—50 S ора-сида.

Молекуляр массани ультрацентрифугалаш усулида аниқлаш сермашаққат иш; кўп вақт ва қимматбаҳо аппаратура талаб қилганидан кейинги вақтларда бошқа қулай ва арзон иккита: гельфилтрация ва гель электрофорез усуллари ишлаб чиқилган.

**Натрий додецил сульфат (НДДС) гель электрофорезида** молекуляр массани аниқлашда бу телнинг махсус хусусияти (амфипатик — гидрофоб қисми билан оқсил молекуласига боғланиши ва манфий зарядга эга бўлиши) дан фойдаланилади. Додецил сульфат таъсирида оқсиллар денатурацияланади ва



кичик бирликларга диссоциланади. Оқсилнинг додецил сульфат билан шундай комплекси ҳосил бўладики, алифатик додецил туркумлар комплексининг ичида, сульфокислота туркуми эса ташқи юзасида жойлашади. Бундай комплексларнинг жами электр ўқи манфий бўлиб, бир хил ғовак гелларда молекуляр массасига тескари мутаносиб тезликда силжийди. Бу гел орқали кичик молекулалар йирик молекулаларга қараганда тезроқ ўтади. Текширилаётган оқсилнинг молекуляр массаси унинг НДДС гелидан ўтиш тезлигини молекуляр массаларни маълум оқсиллар билан олдиндан калибрланган чизиққа солиштириб аниқланади.

**Молекуляр элак орқали гельфилтрацияда оқсилнинг молекуляр массасини аниқлаш** ўзаро тикилган полимер (агароза, декстран ёки полиакриламид, ПАА) гели дончалари тўлдирилган колонкага эритма шаклида киритилган оқсилни ювиб чиқариш учун сарф бўладиган суюқлик ҳажми билан белгиланади. Колонкадаги гел дончалари сувни шимиб шишади ва кичик молекулалар унинг ғовакларига кириб тўхтаб қолади ёки колонкадан ўтиши секинлашади. Йирик молекулалар эса тез ўтаверади ва уларни ювиб чиқариш учун кам суюқлик етарли. Бинобарин, молекула қанча йирик бўлса, бу элакдан шунча кам ҳажм, қанча кичик бўлса, мутаносиб равишда кўп ҳажмда суюқлик билан ювилади. Молекуляр массанинг логарифми билан элюирлаш (ювиш) ҳажми  $V_e$  орасида тўғри мутаносиблик бор. Буни молекуляр массалари маълум бир нечта



12-расм. Гельфилтрация усулида молекуляр массани аниқлаш.

Чатиштирилган декстран (сефадекс G—200) колонкасида фракцияланганда элюирлаш ҳажми ( $V_e$ )нинг молекуляр массага боғлиқлиги.

оқсилнинг колонкадан ўтишини текшириб олинган калибрловчи чизиқдан аниқланади.

### 2.3.2. Оқсиллар денатурацияси

Табий оқсиллар ўзига хос, қатъий белгиланган фазовий тузилишга (конфигурацияга), муҳитнинг физиологик шароитида маълум физик-химиявий ва биологик хоссаларга эга. Бу уларнинг натив (табий) ҳолати бўлиб, у турли таъсир остида ўзгаради, оқсил заррачалари ивийди, чўкади. Бундай натив ҳолатнинг йўқолиши *денатурация* дейилади. Натижада оқсил молекуласининг шакли, биологик функциялари ўзгаради, эриш хусусияти йўқолади. Денатурация юқори температура, оғир металл (симоб, қўрғошин, кумуш, висмут) тузлари, бир қатор органик реактивлар (учхлорацетат кислота, пикрат кислота, таннин ва бошқалар) таъсирида кузатилади. Бу жараёнда оқсил молекулаларининг пептид боғлари узилмайди, асосан дисульфид — S — S — ва бошқа кучсиз боғланишлар очилади, натив оқсилнинг юмалоқ шакли ёйилади. Денатурация маълум чегарада қайталамадир (ренатурация), денатурловчи агент йўқолгандан сўнг узилган боғлар қайтадан тикланиши мумкин.

### 2.4. Оқсилларнинг таркиби

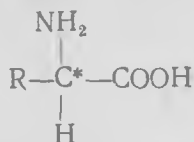
Барча оқсилларнинг асосий қурилиш элементи *аминокислоталар* эканлиги кўпдан бери маълум бўлса ҳам, уларнинг тўла аминокислота таркиби фақат XX асрнинг 30-йилларида узилкесил аниқланди. Бунинг сабаби, бир томондан, ҳали аминокислоталарнинг ўзи яхши ўрганилмаган, оқсил таркибига қайси аминокислоталар кириши тўла маълум бўлмаганлигидан бўлса, иккинчидан, улардан айрим вакилларининг сифатий ва миқдорий анализ усуллари ҳам мукамал бўлмаганлигида эди. Бу муаммо фақат 40-йиллар бошида қоғоз хроматографияси қўлланилиши билан олий даражада ҳал бўлди.

Оқсил молекуласи мураккаб полимер бўлганидан унинг таркибига кирадиган аминокислоталарни аниқлаш учун оқсилни тўла гидролизлаш керак.

Табиатда 300 га яқин аминокислота учрайди. Уларнинг ярмидан ортиғи умуман оқсил таркибига кирмайди, қолган ярмисининг кўп қисми ҳам фақат айрим организмларда, баъзилари алоҳида оқсиллар ва пептидлар таркибига бўлади. Ҳамма организмларда ҳам барча оқсиллар таркибига кирадиган аминокислоталар сони 20 га тенг. Улар протеиноген аминокислоталар деб аталади.

Химиявий тузилишига кўра аминокислоталар аминокарбон кислоталар бўлиб, улар таркибиде карбоксил —COOH ва аминокислота —NH<sub>2</sub> мавжуд. Бу группа протеиноген аминокислота-

ларда  $\alpha$ -углерод атомида жойлашганлигидан, улар  $\alpha$ -аминокислоталар қаторини ташкил қилади ва қуйидаги умумий формулага эга:



Демак, барча аминокислоталар бир-биридан фақат таркибидаги

радикали (R) билан фарқ қилади;  $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ | \\ -\text{C}-\text{COOH} \\ | \\ \text{H} \end{array}$  қисми эса ҳамма ами-

нокислогаларда бир хил.

Пептидлар ва умуман оқсил молекулаларининг аминокислота таркиби ёзилганда уларнинг номини бошланғич уч ҳарфдан тузилган қисқартмалардан фойдаланилади. Масалан: аланин — ала, фенилаланин — фен ва ҳоказо.

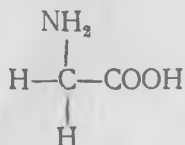
#### Аминокислоталар классификацияси

R нинг табиати, унда қўшимча амина-, карбоксил- ва бошқа функционал группалар бўлишига қараб аминокислоталар қуйидагича бўлинади:

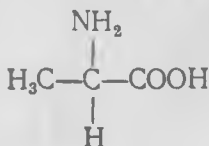
1. Очiq̄ занжирли (ациклик) алифатик аминокислоталар:

1. **Моноаминомонокарбон кислоталар** — молекуласида битта  $-\text{NH}_2$  ва битта  $-\text{COOH}$  группа тутади. Булар:

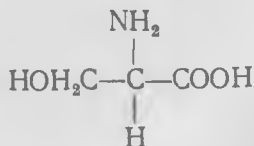
**Глицин** (гликокол, аминаоцетат кислота) — Гли, Gly



**Аланин** ( $\alpha$ -аминопропионат кислота) — Ала, Ala

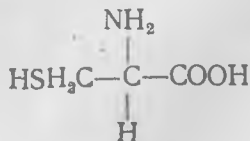


**Серин** ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -оксипропионат кислота) — Сер, Ser



таркиби HO туркумга эга

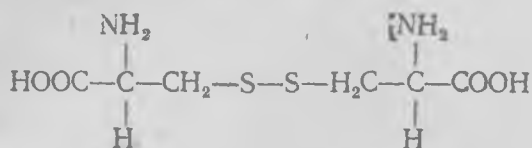
**Цистеин** ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -меркаптопропионат кислота) — 1/2 Цис, Cys



таркиби HS сульфгидрил туркумга эга

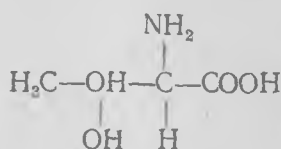
Иккита цистеин молекуласи сульфгидрил туркумлари оксидланишидан ҳосил бўлган *дисульфид кўприги* — S — S — орқали боғланиб, аминокислота—цистинни ҳосил қилади ва оқсил молекуласида шу тарзда битта аминокислота шаклида кўрсатилади:

**Цистин** — Цис, Cys



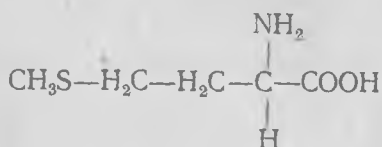
Шунинг учун цистеин полипептид занжирда 1/2 цистин шаклида кўрсатилади:

**Треонин** ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -оксимой кислота) — Тре, Tre

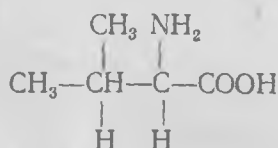


Таркиби OH туркумга эга

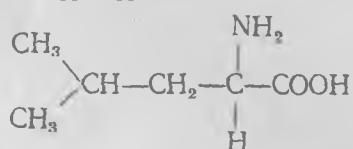
**Метионин** ( $\alpha$ -амино- $\gamma$ -тиометилмой кислота) — Мет, Met



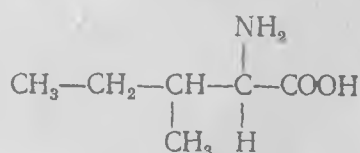
**Валин** ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -валерианат кислота) — Вал, Val



**Лейцин** ( $\alpha$ -аминокапронат кислота) — Лей, Leu

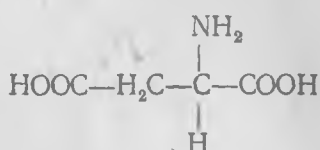


**Изолейцин** ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -этил- $\beta$ -метилпропионат кислота) — Иле, Ile

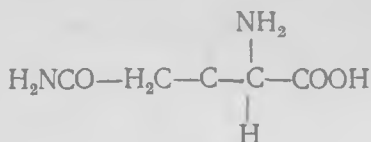


2. **Моноаминодикарбон кислоталар** — молекуласида битта  $\text{NH}_2$  ва иккита —  $\text{COOH}$  туркуми тутади. Булар:

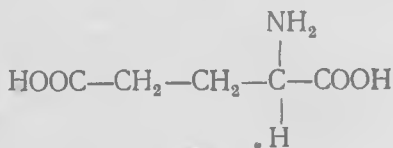
**Аспарат кислота** ( $\alpha$ -аминокахрабо кислота) — Асп, Asp



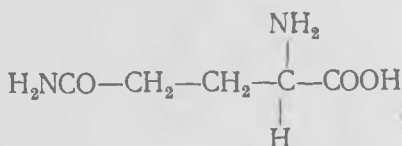
Аспарагин (аспартат  
кислота амиди) —  
Асп, Asp



Глутамат кислота  
( $\alpha$ -аминоглутамат  
кислота) — Глу, Glu

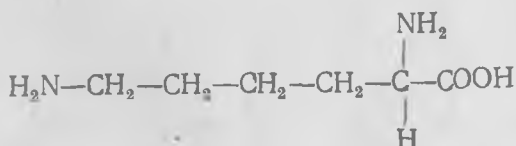


Глутамин (глутамат  
кислота амиди) —  
Глн, Gln

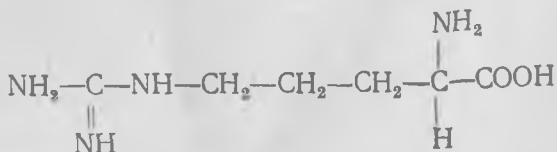


3. **Диаминокислоталар**—молекуласида битта—COOH ва иккита—NH<sub>2</sub> ёки—NH<sub>2</sub> ва гуанидин туркуми тутади. Булар:

Лизин ( $\alpha$ ,  $\epsilon$ -диамино-  
капронат кислота) —  
Лиз, Lys



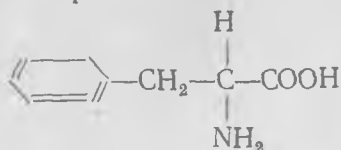
Аргинин ( $\alpha$ -амино- $\delta$ -  
гуанидин кислота) —  
Арг, Arg



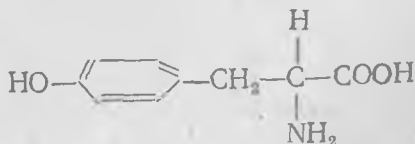
II. Циклик (ҳалқали) аминокислоталар:

### 1. Ароматик аминокислоталар:

Фенилаланин ( $\alpha$ -ами-  
но- $\beta$ -фенилпропио-  
нат кислота) —  
Фен, Phe



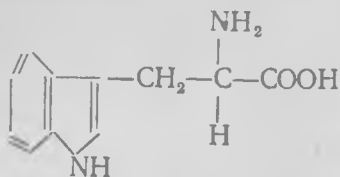
Тирозин ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -  
гидроксифенилпропио-  
нат кислота) —  
Тир, Tyr



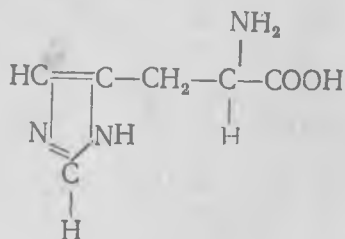
Гидроксил туркум тутади

## 2. Гетероциклик аминокислоталар:

Триптофан ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -индолилпропионат кислота) — Трп, Тгр

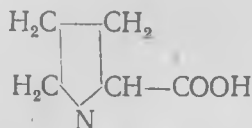


Гистидин ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -имидазолпропионат кислота) — Гис, His



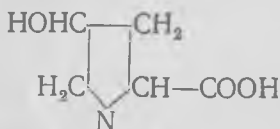
### III. Аминокислоталар:

Пролин (пирролидин- $\alpha$ -карбон кислота) — Про, Pго



Антибиотиклар таркибига киради

Оксипролин оқсил молекуласи таркибига учрамайди



Пролин унуми. Гидроксил группа тутади.

Аминокислоталарнинг бошқа асосдаги классификацияси ҳам бор; улар таркибидаги ишқорий ва кислотали группаларнинг нисбати, қутбли группалар мавжудлигига қараб нейтрал, ишқорий ва кислотали, қутбли ва қутбланмаган аминокислоталар группаларига бўлиш ҳам мумкин:

### Нейтрал аминокислоталар (R — группа зарядланмаган)

Глицин

Серин

Аланин

Треонин

Валин

Аспарагин

Лейцин

Глутамин

Изолейцин

Пролин

Метионин

Гистидин

Фенилаланин

### Кислотали аминокислоталар

### Ишқорий аминокислоталар

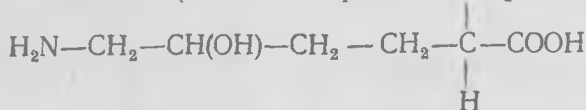
(R — группа манфий зарядли бўлиши мумкин)

(R — группа мусбат зарядли бўлиши мумкин)

Аспаратат кислота  
Глутамат кислота  
Цистеин  
Тирозин

Аргинин  
Лизин  
Гистидин

Оқсиллар таркибида камроқ учрайдиган аминокислоталар қаторига оксилизин (коллаген таркибида  $\text{NH}_2$



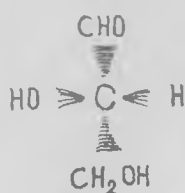
кўп учрайди), йодтирозинлар, йодтиронинлар (тиреоглобулин таркибида бўлади) киради.  $\beta$ -аланин ( $\beta$ -аминопропионат кислота)  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$  бир қатор пептидлар таркибида учрайди; орнитин, цитруллин,  $\gamma$ -аминомой кислота ва бошқалар ҳужайра метаболизмида иштирок этади.

### 2.5.2. Аминокислоталарнинг оптик хоссалари

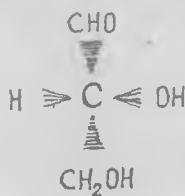
Даярли ҳамма аминокислоталар оптик фаолиятга — қутбланган нур сатҳини буриш хоссасига эга (фақат глицин бу қаторга кирмайди); уларнинг бу хоссаси  $\alpha$ -углерод атоми тўрт валенти билан тўрт хил группага боғланганидан келиб чиқади. Бундай тузилишда молекула хираллик хусусиятига эга, яъни унда симметрия маркази ва симметрик сатҳ бўлмайди. Хиралликка эга бўлган бирикма тузилишига кўра бир-бирининг ойнадаги аксини ифодалайдиган қўш изомерлар шаклида бўлади. Улар  $\alpha$  атомга боғланган группаларининг фазода йўналиши билан бир-биридан фарқ қилади. Бунинг натижасида ҳосил бўладиган иккита конфигурация — D ва L *стереоизомерлар* деб аталади. Бу изомерлар бири иккинчисининг устига қўйилса улар ўнг ва чап кафт каби бир-бирини қопламайди. Улар *энантиомерлар* деб аталади. Хираль бирикмалар бир хил химиявий ва физик хоссага эга бўлиб, фақат қутбланган нур сатҳини чапга ёки ўнгга буриш белгиси билан фарқ қилади, буриш бурчаклари ҳам бир-бирига тенг. Бу хоссаси + ёки — белгиси билан кўрсатилади, лекин нур сатҳини буриш белгиси молекуланинг D ёки L конфигурациясига мувофиқ келиши шарт эмас. L (leve, чап) ва D (dexter, ўнг) белгилар энантиомерлар тузилишига кўра, қайси қаторга киришини кўрсатади.

Бирикма қайси қаторга мансублигини аниқлашда ориентир учун глицератальдегиднинг икки энантиомери қабул қилинган. Агар —CHO группа фазода юқорида ва тасвир орқасида, —CH<sub>2</sub>OH пастда ва тасвир орқасида кўрсатилса, L шакл — OH чапда ва D шакл — OH ўнгда бўлган ҳолатга мувофиқ келади.

Формулаларда группа юқорига йўналтирилган ва пастга қаратилган ишоралар билан белгиланади.

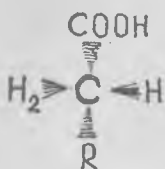


*L*-глицератальдегид

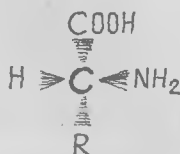


*D*-глицератальдегид

Бу шартга мувофиқ, D ва L-аминокислоталар қуйидагича ёзилади:



*L* = аминокислота

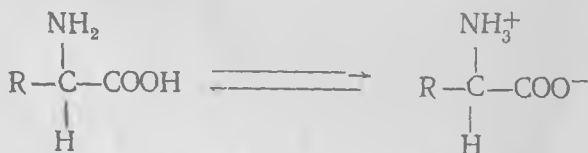


*D* = аминокислота

Аминокислоталарнинг фазодаги структураси асосида уларни икки қаторга ажратиш биологик аҳамиятга эга. Оқсиллар таркибига фақат L аминокислоталар қиради. Лекин организмдан баъзи бир D аминокислоталар ҳам ажратиб олинган. Айрим D аминокислоталар эркин ҳолда ва бактерия ҳужайрасининг пардасида ва пептид антибиотикларда учрайди.

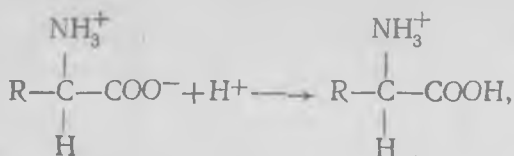
### 2.5.3. Аминокислоталарнинг ионлик хусусиятлари

Барча аминокислоталар сувли эритмаларида икки қутбли ионлар ёки *цвиттер ионлар* шаклида, яъни аминокислоталарнинг карбоксил туркуми диссоциланган, аминогруппа протонирланган ҳолатда бўлади:

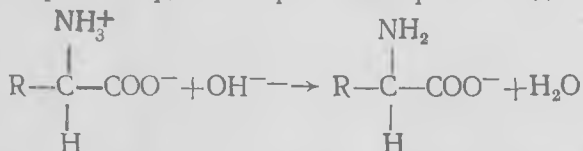


Аминокислоталарнинг қуш қутбли бўлиши уларнинг физик-химиявий хоссаларига таъсир қилади, хусусан, аксари аминокислоталар сувда яхши эриб, органик эритмаларда кам эриши уларнинг мана шундай ионланишига боғлиқ. Аминокислоталар амфотерлик хоссасига кўра муҳит рН ига қараб анион, катион ёки электронейтрал биполяр ионлар шаклида бўлади. Кучли кислотали эритмаларда мусбат ионлар:





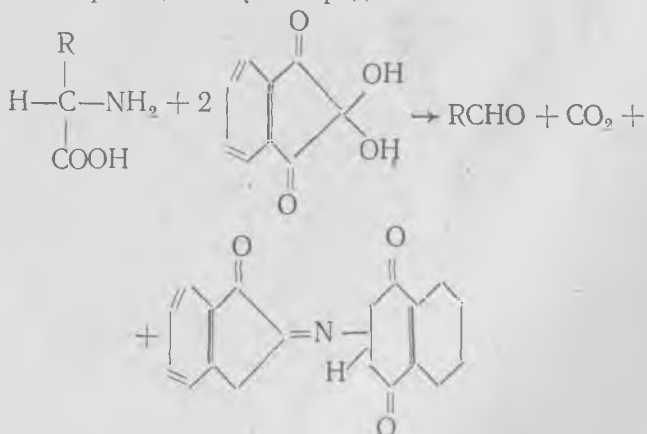
ишқорий эритмаларда манфий ионлар шаклида бўлади:



**Аминокислоталарнинг ютиш спектрлари.** Бир қанча аминокислоталар ультрабинафша нурларни ютиш хусусиятига эга. Фенилаланин, тирозин (ароматик аминокислоталар) ва айиқса триптофан эркин ҳолда бўлади ва оқсил молекуласи таркибида ҳам ультрабинафша нурларни 260—280 нм соҳасида ютади. Бу хусусиятидан миқдорий анализ учун фойдаланилади.

#### 2.5.4. Аминокислоталарнинг химиявий реакциялари

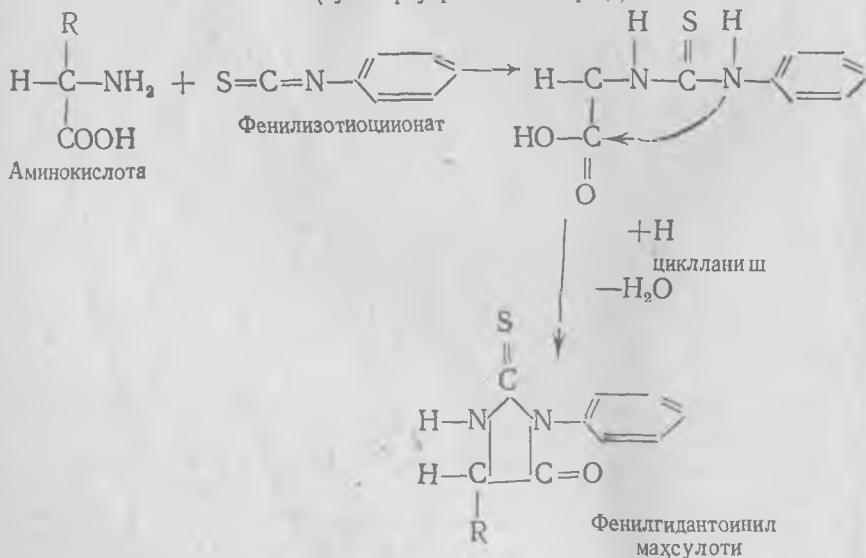
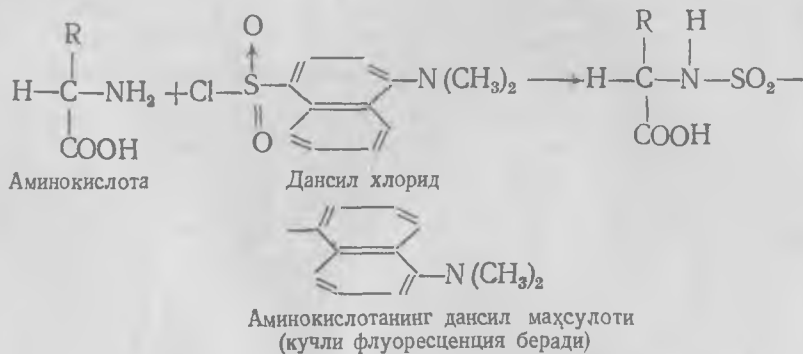
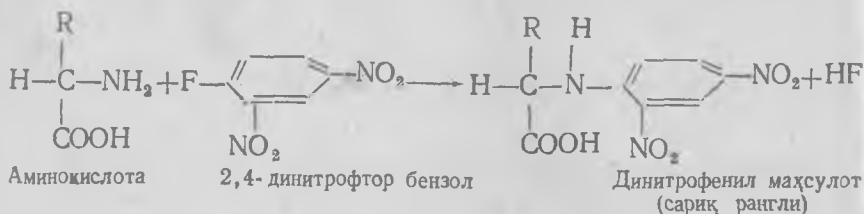
Айрим аминокислоталар эркин ҳолда ва протеинлар таркибида боғланган шаклда ҳам бир қатор реактивлар билан рангли реакцияга киришади. Булар орасида энг муҳими нингидрин реакциясидир. Бу реакция аминокислоталарни очиш ва миқдорини аниқлашда кенг қўлланади. Нингидрин аминокислотанинг  $\alpha$ -аминогруппасини ажратади, айнан шу вақтда декарбоксилланиш реакцияси ҳам боради:



Ҳосил бўлган рангли маҳсулот 440 нм да спектрофотометрда аниқланади.

Аминокислоталарни очиш учун ишлатиладиган бошқа рангли реакциялар: Миллон ва ксантопротеин реакциялари (тирозин ва фенилаланин учун), Фолин-Чиокалтеу реакцияси (тирозин учун) ва бошқалар биохимия практикумларида келтирилади.

Пептид занжирининг N учигади аминокислотани аниқлаш учун 2,4-динитрофторбензол, 5-диметиламинонафталин сульфохлорид (дансил хлорид) ва фенилизотиоцианатнинг аминокислота билан берадиган реакциялари жуда қулай келади. Ҳосил бўладиган маҳсулотни хроматографик ажратиш, рангидан, флуоресценциядан, УВ нурларни ютишдан идентификация қилинади:

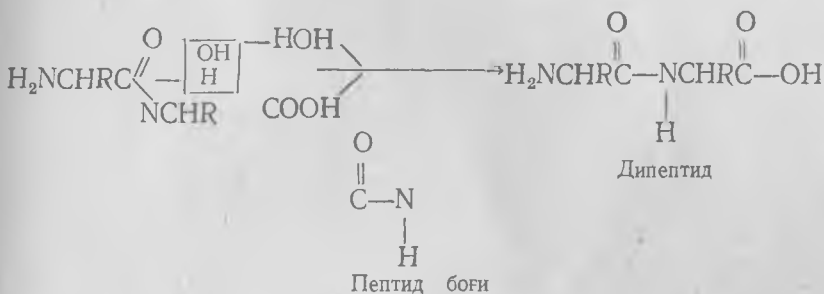


## 2.6. Оқсил молекуласининг тузилиши

Оқсиллар аминокислоталарнинг ўзаро бирикишидан ҳосил бўлганлиги аниқлангандан сўнг, ўтган асрнинг охири ва XX асрнинг бошларида уларнинг боғланиш тартибини ўрганиш устида катта тадқиқотлар ўтказилди. Бу соҳада биринчилар қаторида машҳур рус олими А. Я. Данилевский ўтган асрнинг 80-йилларида чуқур маъноли тадқиқотлар ўтказиб, оқсил молекуласи полимер табиатига эга эканлигини, унинг парчаланishi сув бириктириш билан кечишини таъкидлади. Аммо бу фикрлар оқсил структураси ҳақидаги ҳозирги тушунчалардан анча узоқ эди.

Буюк немис химиги Эмиль Фишер XX асрнинг бошларида оқсил тузилишининг полипептид назариясини ишлаб чиқди. У яратган тушунчалар оқсил структураси ҳақидаги ҳозирги таълимотнинг асоси бўлиб қолди.

Оқсиллар, умуман пептидларда, аминокислоталар қолдиғи бир аминокислотанинг  $\alpha$  карбоксил ва иккинчисининг  $\alpha$  аминокислоталаридан сув ажралиб, бирин-кетин ўзаро боғланган. Ҳосил бўлган боғ *пептид боғи*, маҳсулот эса *пептид* деб аталади.

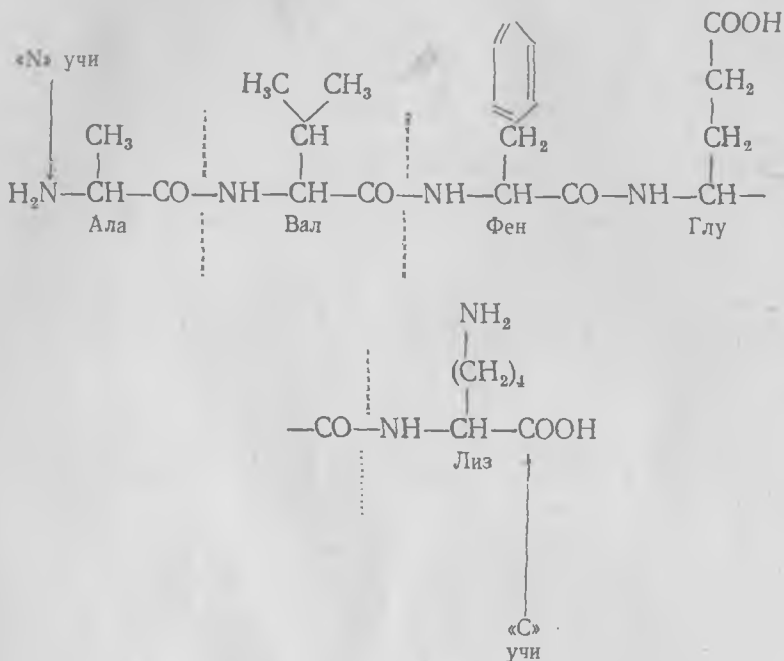


Пептид таркибидаги ҳар бир бўғин аминокислота қолдиғи деб аталади. Пептид, уни ташкил қилувчи аминокислоталар сонига қараб, улар *иккита бўлса, дипептид, учта бўлса трипептид, сўнгра тетра, пента, гекса ... пептид, умуман, улар сони 10 дан кам бўлса олигопептид, 50 дан кам бўлса полипептид* деб аталади. Полипептидлар асосан тўғри чизиқ шаклида, уларнинг ҳалқалари тизилиб, узун занжир ҳосил қилади ва бу структурага *полипептид занжири* дейилади. Занжирдаги аминокислоталар қолдиғининг сони 50 дан ортиқ бўлса, шартли равишда, улар *оқсиллар* қаторига киритилади.

### 2.6.1. Оқсил молекуласининг структура даражалари

Оқсил молекуласида аминокислоталарнинг изчил тартиби оқсилнинг *бирламчи структураси* деб аталади. Бу тартиб ирсий белгиланган ва ўзгармасдан наслдан-наслга ўтади.

Полипептид занжирда пептид боғлар —CO—NH— шаклида бўлганидан занжирдаги биринчи аминокислотанинг —NH<sub>2</sub> группаси, охири аминокислотанинг —COOH группаси эркин ҳолда қолади, қолган ҳамма α-амино ва α-COOH группалар пептид боғ ҳосил қилиш учун сарфланган. Бинобарин, занжирнинг —NH<sub>2</sub> ва —COOH учлари «С» ва «N» учлари бўлади:



Ҳозиргача 2000 га яқин оқсилнинг бирламчи структураси аниқланган. Ҳосил бўлган пептиднинг номи аминокислоталар қолдиғи номидан тузилади: бунда охири аминокислотадан бошқа ҳамма аминокислота номларининг охири «ил»га алмаштирилади. Масалан, юқоридаги пентапептиднинг номи Аланил-Валил-Фенилаланил-Глутамил-Лизин бўлади.

Бирламчи структура оқсил молекуласининг турғун структураси, оқсил барча хусусиятларининг асоси, унинг устуни дейилса бўлади. Молекуланинг гидролитик парчаланиши (протеолиз) билан боғлиқ бўлмаган ҳамма метаболик (моддалар алмашишуви) жараёнларда бирламчи структура ўзгармай сақланади. Оқсил шу тузилишида хилма-хил функцияларни бажаради. Ҳозирги кунда аниқ маълумки, оқсилнинг юқори ташкилий шакллари, биологик фаолияти ҳам молекулада аминокислotalарнинг изчил жойланишидан келиб чиқади.

## 2.6.2. Бирламчи структурани аниқлаш

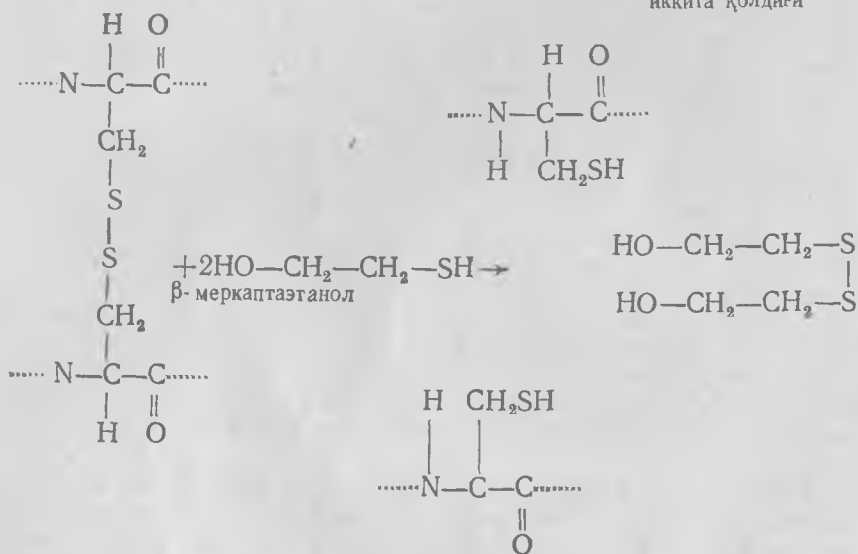
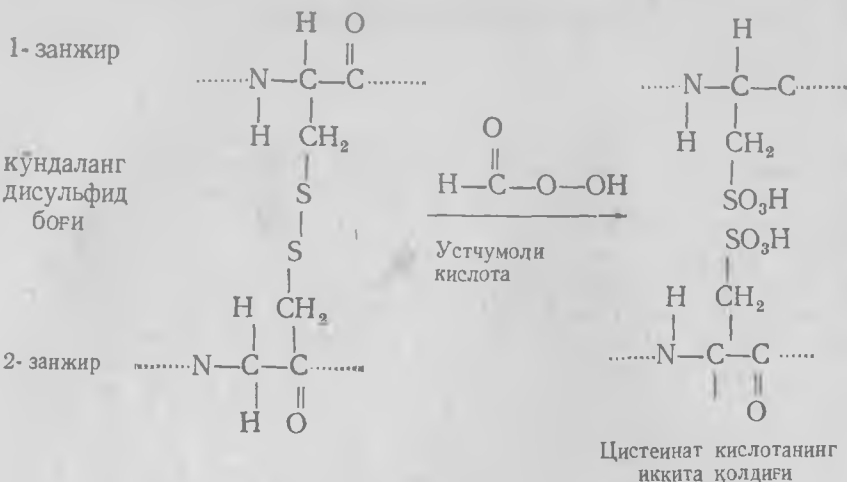
Авалло оқсил таркибига кирган аминокислоталарнинг сифат таркибини ва ҳар бирининг миқдорини аниқлаш зарур. Бунинг учун оқсил молекуласи тўла гидролизланади ва ҳосил бўлган аминокислоталарни турли усуллар (қоғоз хроматографияси, юқори вольтли электрофорез, газ-суюқлик хроматографияси, Дауэкс смоласи тўлдирилган колонкадан ўтказиш)дан фойдаланиб ажратилади ва миқдори аниқланади. Гидролиздан кейин ҳосил бўлган аминокислоталар аралашмасининг таркибини белгилаш ана шу принцип асосида автоматик ишлайдиган аминокислота анализаторида тез ва аниқ бажарилади. Лекин оқсилнинг умумий аминокислота таркибидан унинг тузилиши ҳақида етарли ахборот олинмайди. Биз оқсилнинг аминокислота таркибига қараб, асосан унинг овқатланишдаги қимматини, таркибида алмашинмайдиган, ҳайвон ва одам организмига ташқаридан киритилиши лозим бўлган аминокислоталар миқдорини аниқлаймиз. Аммо оқсилнинг тузилишини аниқлашда унинг бирламчи структурасини белгилаш асосий вазифадир.

Анализ полипептид занжирининг амина ва карбоксил группаларини аниқлашдан бошланади ва шу йўл билан оқсил молекуласи нечта занжирдан тузилганлиги аниқланади. Агар оқсил молекуласида фақат битта амина ва битта карбоксил группа (N ва C учлари) топилса, у битта занжирдан тузилганлиги маълум бўлади. Полипептид занжирининг N учини аниқлаш учун 34-бетда келтирилган  $\text{NH}_2$  группанинг динитрофторбензол ёки фенилизотианат билан реакциясидан фойдаланамиз. Молекуланинг C учидagi аминокислотани аниқлаш учун оқсилнинг эркин карбоксил туркуми томонидан аминокислота ажратадиган карбоксипептидаза ферментидан фойдаланилади.

Бирламчи структурани ўрганишдаги кейинги босқичлар тартиби қуйидагича: 1) полипептид занжирини маълум жойларидан гидролиз қилиб, калтароқ бўлакчалар (фрагментлар)га парчалаш; б) олинган бўлакчалардаги аминокислоталар тартибини аниқлаш; в) аминокислоталар тартиби аниқланган пептид бўлакчаларининг умумий занжирдаги ўрнини топиш.

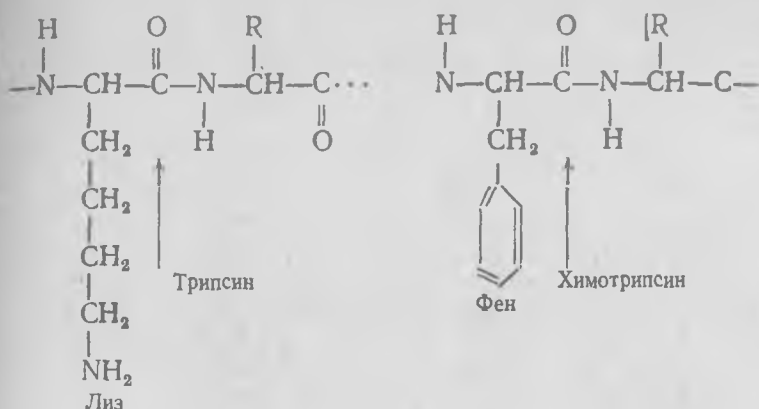
Полипептид занжирини фрагментларга парчалашдан олдин унинг таркибидаги дисульфид боғлар узилиши керак. Бунинг

учун цистиннинг  $-\text{S}-\text{S}-$  боғи устчумоли кислота  $\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{COOH}$  билан оксидланиб,  $-\text{SO}_2\text{OH}$  группаларга ўтказилади ёки қайтариш йўли билан HS группаса айлантирилади:



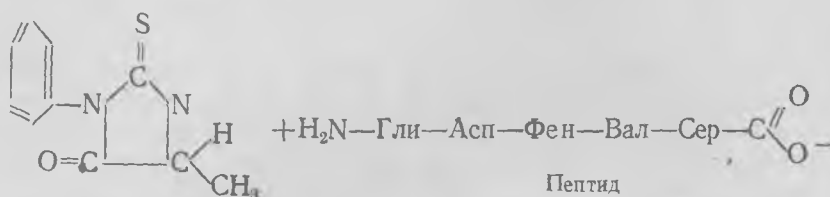
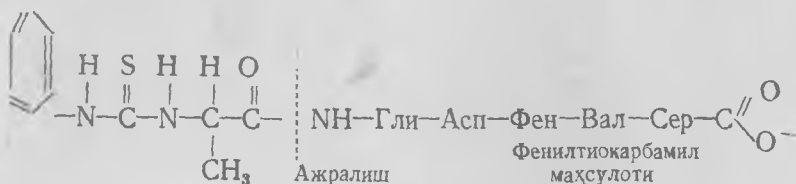
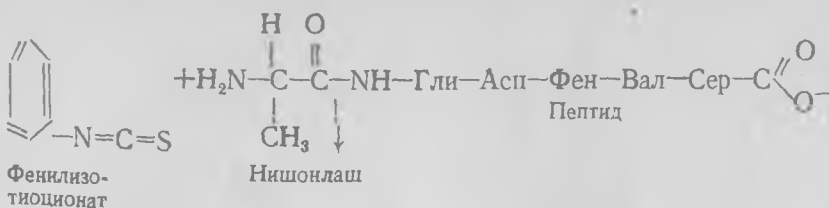
Оқсил протеолитик ферментлар (трипсин, химотрипсин ва бошқалар) ёрдамида танланган жойидан бўлакчаларга бўли-  
нади. Оқсилларни парчалайдиган бу ферментлар алоҳида ами-  
нокислоталар ҳосил қилган пептид боғларни танлаб узиш қо-  
билиятига эга.

Трипсин Лиз ва Арг, химотрипсин эса ароматик аминокисло-  
талар (Тир, Фен ва Трп) нинг карбоксил группалари ташкил  
қилган пептид боғларни узади.



Бир неча ферментлар билан гидролизланиб, қатор пептидлар олинади. Бу пептидларни бир-биридан ажратиш учун юқори вольтли электрофорез ва хроматографиядан фойдаланилади. Сўнгра ҳар бир пептидни алоҳида-алоҳида анализ қилиб, ундаги аминокислоталар тартиби аниқланади.

Бу мақсадга эришиш учун пептид бўлакчаси N — учи томонидан гидролизланиб, аминокислоталар бирин-кетин ажратилиб текширилади. N — учидagi аминокислоталарни динитрофенол (ДНФ) ёки дансил хлорид билан текширишнинг анча афзаллиги бўлса ҳам, бу усулларни бир пептид занжирда икки марта қўллаб бўлмайди, чунки улар пептиднинг N — учидagi аминокислотага боғланганидан сўнг гидролизланганда пептид молекуласи тўла парчаланиб, фақат N — учидagi аминокислота ДНФ ёки дансил унуми шаклида ажралиб чиқади. Бунда фақат оқсил (пептид)нинг N — учидagi аминокислотани аниқланади. Пептид молекуласидаги ички аминокислоталар тартибини аниқлаш учун Пер Эдман ишлаб чиққан фенилизоцианат билан N учдаги аминокислотани нишонлаш ва уни гидролизлаш усулидан фойдаланилади. *Эдман бўйича деградация* деб аталадиган бу усул аминокислоталарни учи томонидан қадам-бақадам ажратиш ва уларни идентификация қилишдан иборат. Пептид фенилизоцианат билан ишланганда ҳалқали фенилтиокарбомил ҳосил бўлади. Сўнгра кучсиз кислотали шароитда N учидagi аминокислотанинг ҳалқали унумигина ажралиб, бузилмасдан қолган пептид фақат битта аминокислотага қисқаради. Ажралиб чиққан ҳалқали маҳсулот пептиднинг учидagi аминокислотанинг фенилгидантоинидир. Пептиднинг парчаланмаган қолдиғи билан бу операция такрорланиб, унинг N учидан 2-, 3- ... ва ҳоказо бошқа аминокислоталар қатори бирин-кетин белгиланади:



\* N— учдаги амин окислотанинг  
фенилгидантони

Энг охирида бирламчи структураси аниқланган барча пептид бўлакчаларидан бутун оқсил молекуласини тиклаш, яъни ҳар бир пептидни занжирдаги ўрнига қўйиш керак. Бу иш катта маҳорат, тажриба талаб қилади, пептидларнинг учларини бир-бирига тўғри қўйишда оқсилни бир нечта протеолитик ферментлар ва бошқа реактивлар ёрдамида танланган боғларидан узиш, олдиндан мўлжалланган бўлакчаларга бўлиш асосий усул ҳисобланади. Пептидларнинг изчил жойлашув тартиби бир-бирларини қопловчи бўлакчалари бўйича аниқланади. Масалан:

Триптик пептидлар Сер—Фен—Гли—Лиз; Цис—Ала—Трп—Арг;

Лей—Глу—Асп—Гис; (a, б, в);

Химотриптик пептидлар Сер—Фен; Гли—Лиз—Цис—Ала—Трп;

Арг—Лей—Глу—Асп—Гли

(г, д, е) бўлса, a пептид химотриптик гидролизатнинг г пептидини тўла ва д пептидининг бир қисмини тутади. Демак, оқсил молекуласида д пептид бевосита г пептиддан кейин келиши керак ва ҳоказо.

Бирламчи структурани аниқлаш давомида оқсил молекуласининг таркиби ҳақида ҳам тўла маълумот олинади, дисульфид боғларнинг жойлари ҳам белгиланади.

Бирламчи структура оқсил физик-химиявий хоссаларининг



келиб чиқиши асосидир, унинг олий структура даражалари ва биологик функциясини тушуниш учун керакли ахборот беради.

Оқсиллар ичида биринчи бўлиб ошқозон ости бези бета ( $\beta$ ) ҳужайралари ишлаб чиқарадиган гормон — *инсулиннинг* бирламчи структураси 1953 йил инглиз олими Сенгер томонидан аниқланди. Бу тарихий воқеа оқсиллар биохимияси ва молекуляр биология шаклланишида муҳим қадам бўлди. Инсулиннинг ўзи ҳам биологлар ва шифокорларнинг диққат марказида эди, чунки инсулин етишмаганда одамда қандли диабет деган кенг тарқалган хавфли касаллик келиб чиқади. Унинг ривожланиши ва даволаш усулларини тушуниш учун инсулиннинг химиявий табиатини тўла ўрганиш ҳал қилувчи аҳамиятга эга. Ҳозирги кунларда ҳам бу гормон диққат марказида, унга йил сайин эҳтиёж ортиб бормоқда, унинг табиий манбаи (ҳайвонларнинг ошқозон ости безлари) талабни тўла қондирмайди, касал одамларни даволаш учун тўлиқ мос эмас, чунки ҳайвонлар инсулини бирламчи структураси бўйича одам инсулинидан анча фарқ қилади. Буни кейинроқ ўрганамиз.



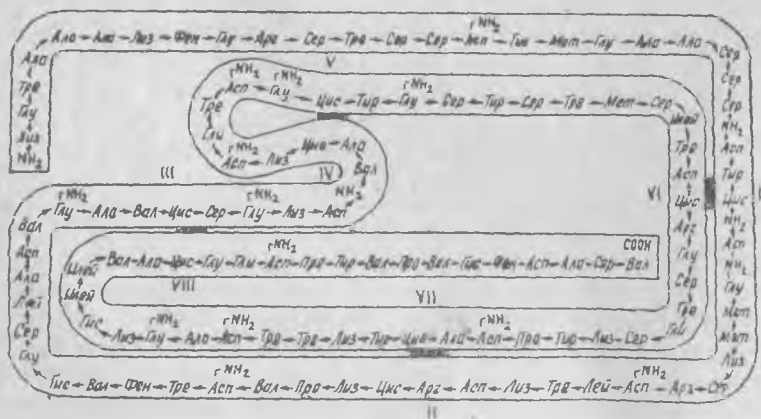
13-расм. Инсулин.

Сенгер инсулин структурасини кашф этиш давомида умуман оқсилларнинг бирламчи структурасини аниқлаш методологиясини ишлаб чиқди. Инсулиннинг тузилишини ва бирламчи структурасини аниқлаш оқсил молекуласини ўрганиш учун классик мисол бўлганидан бу тадқиқот устида тўлароқ тўхташ маъқул.

Инсулин молекуласининг учларидаги аминокислоталар ўрганилганда N учида иккита аминокислота — Гли ва Фен, C учида ҳам иккита аминокислота — Асп ва Ала топилган. Бинобарин, у иккита полипептид занжирдан тузилган экан. Биринчи занжир A занжир деб белгиланиб, у 21 аминокислота қолдиғидан, иккинчи занжир B занжир — 30 аминокислота қолдиғидан тузилганлиги аниқланган. Маълумки, бундай занжирлар дисульфид кўприк орқали боғланган бўлади. Инсулин молекуласида учта дисульфид кўприк мавжуд, улардан иккитаси A ва B занжирлар орасида, биттаси A занжирнинг ичида эканлиги ва уларнинг жойлари белгиланади.

Турли ҳайвонлар инсулинининг бирламчи структурасидаги фарқ А ва В занжирларнинг маълум қисмларида бир аминокислота ўрнига бошқа аминокислота жойлашганлигидан келиб чиқади. Бу оқсилнинг тур спецификлигига мисолдир. Лекин бундай алмашинувлар кўп эмас. Барча ҳайвонларнинг инсулини икки занжир ва 51 аминокислоталар қолдигидан ташкил топган ва деярли бир хил биологик таъсирга эга.

Сенгернинг биринчи кашфиётидан кейин тезда бошқа оқсилларнинг бирламчи структураси ҳам кенг миқёсда ўрганила бошланди. Тез вақт ичида бир қатор биологик муҳим оқсиллар — гилофиз гормони — кортикотропин, тамаки мозаикаси вирусининг оқсили, рибонуклеаза ферменти, кислород боғловчи, темир тутувчи оқсиллар миоглобин, гемоглобинлар ва цитохромларнинг тузилиши аниқланди. Бу кашфиётлар оқсил молекуласида аминокислоталарнинг изчил келишининг биологик аҳамиятини, филогенетик турли муносабатда бўлган организмлардан олинган бир хил оқсилларнинг структураси орасидаги муносабатларни яққол очиб берди, кенг аҳамиятга молик умумий хулосалар шаклланди. Турли организмлардан ажратиб олинган бир хил функцияни бажарадиган бир хил оқсилларда аминокислоталар тартиби ўхшаш бўлади. Бунга 38 тур вакиллари (ачитқилардан приматларгача) дан олиниб ягона занжирида аминокислоталарнинг изчил келиши ўрганилган ситохром аjoyиб мисолдир. Мана шу 38 та организмнинг цитохромлари молекуласи 104 дан 112 тагача аминокислота қолдигидан иборат, ҳаммасида ҳам 35 та аминокислота бир хил (идентик), уларнинг 70 билан 80 орасидаги 11 таси барча организмларда идентик фрагмент ҳосил қилади. Ҳар хил организмлар ситохромлари орасидаги ўхшашлик даражаси уларнинг филогенетик яқинлигига мувофиқ келади. Масалан, от билан ачитқи цитохромлари 48 позицияда, ўрдак билан товуқ 1



14- расм. Рибонуклеаза.

позицияда фарқ қилади, одам билан шимпанзе (иккови ҳам приматлар туркумига тааллуқли) цитохромлари орасида умуман фарқ йўқ.

Қуйида рибонуклеазадаги аминокислоталар тартиби келтирилган.

Меррифилд синтез қилган 124 та аминокислотадан тузилган *рибонуклеаза* ферменти табиий рибонуклеаза каби биологик актив бўлиб чиқди. Бу факт табиий ферментга хос барча хусусиятлар синтез қилинган полипептиднинг структурасида мужассамлашганини тасдиқлайди.

Оқсил молекуласида аминокислоталар тартиби маълум даражада, унинг биологик функциясини бузмасдан алмашинишга имкон беради. Бунга инсулин занжирларида, цитохромларда анчагина аминокислоталар алмашинганда ҳам оқсил ўз вазифасини бажариши мисол бўлади. Қонда кислород ташиш функциясини бажарадиган оқсил гемоглобин (Hb) ни чуқур тадқиқ этишда яна ҳам аниқ намуналар олинган. Нормал функционирланадиган гемоглобинларнинг кўп вариантлари очилган. Демак, бу ўзгаришлар имкон берилган алмашинувларга киради. Аммо *ўроқсимон ҳужайрали камқонлик* деган касалликда гемоглобинни текшириш тамомилан бошқа воқеанинг очилишига сабаб бўлди. Барвақт ўлимга сабаб бўладиган бу касаллик гемоглобин молекуласини ва қизилқон таначалари (эритроцитлар) нинг ўзгариши туфайли уларнинг кислород боғлаш қобилияти камайишига боғлиқ. Бу бузилишлар гемоглобинни ташкил қиладиган 514 та аминокислота қолдигидан тузилган икки хил ( $\alpha$  ва  $\beta$ ) оқсил занжирларидан бирида фақатгина битта аминокислотанинг алмашинувидан келиб чиқади: нормал гемоглобин (HbA) нинг  $\beta$ -занжирида 6-ўринда турган глутамат кислота *ўроқсимон ҳужайра* гемоглобини (Hb) да валин билан алмашинган. Бу патологик гемоглобиндан ташқари, яна бир қанча бошқа нормал гемоглобинлар ҳам мавжуд:

A гемоглобин Вал—Гис—Лей—Тре—Про—Глу—Глу—Лиз—

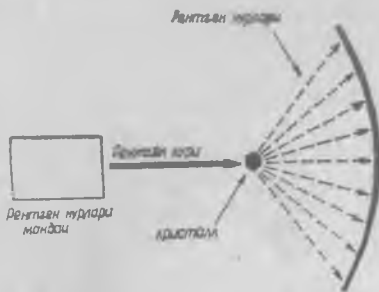
S гемоглобин Вал—Гис—Лей—Тре—Про—Вал—Глу—Лиз

$\beta$  1 2 3 4 5 6 7 8

### 2.6.3. Иккиламчи ва учламчи структура

Оқсил молекуласи тузилиш структурасининг бу даражаси унинг фазодаги шакли, айрим қисмларининг бир-бирига нисбатан жойлашиши ва пептид занжирнинг тўғри тортилган бўлма, балки эгилган ҳолатини таърифлайди. Оқсилнинг бундай конфигурацияси тасодифий кўриниш бўлмай, балки унинг бирламчи структураси томонидан таъминланади ва ундаги қўшимча ковалент дисульфид боғлар ва кучсиз водород боғлар билан мустаҳкамланади.

Полипептид занжирининг фазодаги ориентацияси пептид боғининг структура хусусиятидан келиб чиқади. Пептид бо-



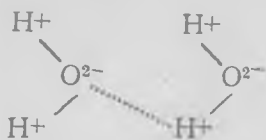
15-расм. Рентгенструктура анализи ўтказиладиган қурилма.

ва экранга ёки рентген плёнкага тушиб, оқсил кристаллининг дифрактограммасини беради. Бу суратда минглаб турли тифизликдаги нуқта чизиқлар (рефлекслар) кўринади. Уларни электрон ҳисоблаш машиналарида махсус тизилган программалар бўйича ҳисобланиб олинган ахборот асосида молекуланинг фазодаги уч ўлчовли тасвири чизилади.

Ипсимон оқсиллар (соч, жун, ипак)ни рентген нурлари билан дастлабки текширишдаёқ рентгенограммаларда мунтазам такрорланадиган элементлар аниқланган эди. Бундай кўришни молекула қандайдир буралган шаклда бўлиши билангина тушунтириш мумкин. Рентгенограммалар ва бошқа мулоҳазалар асосида оқсил молекуласи айрим участкаларида буралган (спираль) шаклда эканлиги тасдиқланиб, унга  $\alpha$ -спираль номи берилди. Структура аминокислоталар қолдиғининг СО ва NH группалари орасидаги водород боғлар орқали стабилъ (турғун)ликка эришилди.

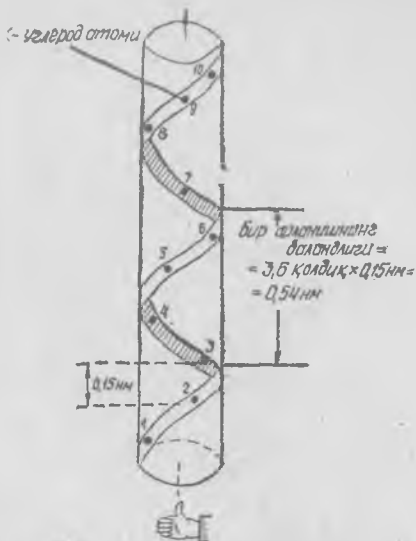
Полинг ва Кори пептид группа таркибидаги тўрт атом бир сатҳда жойлашгани, С—N орасидаги алоқа бошқа бундай якка боғларга қараганда қисқароқ ва қисман қўш боғ характериға эга бўлишини рентгенограмма асосида тушунтириб, оқсилнинг спираль назариясини яратдилар. Бу структурани спиралнинг бир айланиши 3,6 аминокислота қолдиғига тўғри келадиган айланма нарвонга ўхшатиш мумкин, унинг ҳар бир зинаси битта аминокислота қолдиғи бўлиб, баландлиги 1,5 Å га, бинобарин, спиралнинг бир қадами 5,4 Å га тенг бўлади.  $\alpha$ -спиралдаги ҳар бир аминокислота қолдиғидаги СО ва NH группалар занжирдаги бошқа аминокислотанинг амина ва карбонил водород группалари билан иккита водород боғ ҳосил қилади. Умуман, водород боғлар электр манфий атом (N, O, Cl) га боғланган водороднинг иккинчи манфий зарядли атомга тортилиши туфайли ҳосил бўлган кучсиз боғланишдир. У ковалент боғдан деярли 20 марта кучсиз бўлиб, нуқтали чизиқ билан кўрсатилади. Масалан, сув молекулаларида бундай боғлар қуйидагича ифодаланади:

фининг ўлчовлари 50-йилларда рентгенструктура анализи усулида машҳур америка олимлари Л. Полинг ва К. Корилар томонидан аниқланган. Оқсил молекуласи орқали рентген нурлари (жуда кичик тўлқинли юқори энергияли нурлар) ўтганда уларнинг бир қисми атомлар атрофидаги электронлар томонидан қайтарилади ёки тарқатилади (дифракция)



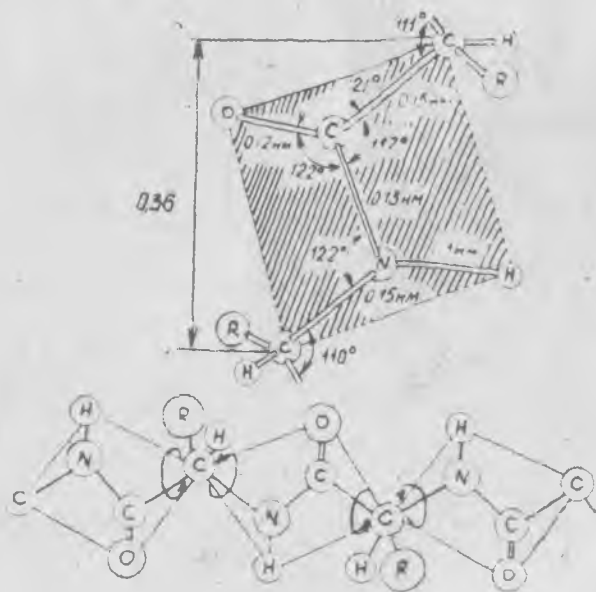
Оқсил молекуласида асосий водород боғлар қисман мусбат зарядланган водород билан ковалент боғланган N ва манфий заряд ташувчи ковалент боғланган кислород орасида ҳосил бўлади.  $\alpha$ -спиралда бу боғлар ҳар бир карбонил ва тўртинчи NH группа орасида тузилади.

$\alpha$ -спираль оқсил молекуласининг иккиламчи структурасининг асосидир. Унинг 0,54 нм га тенг бир айланмаси (кичик қадами) дан ташқари 5 айланмасидан иборат катта қадами ҳам бор. У 18 аминокислота қолдиғига, 2,7 нм узунликка тенг.



$\alpha$ -спиралнинг схематик тасвири

16-расм.  $\alpha$ -спиралнинг схематик тузилиши



17-расм. Пептид группа ва уз ўқида айланадиган углерод атомидаги H ва R  $\alpha$ -спираль; пептид группани ташкил қиладиган атомлар бир сатҳда жойлашган.

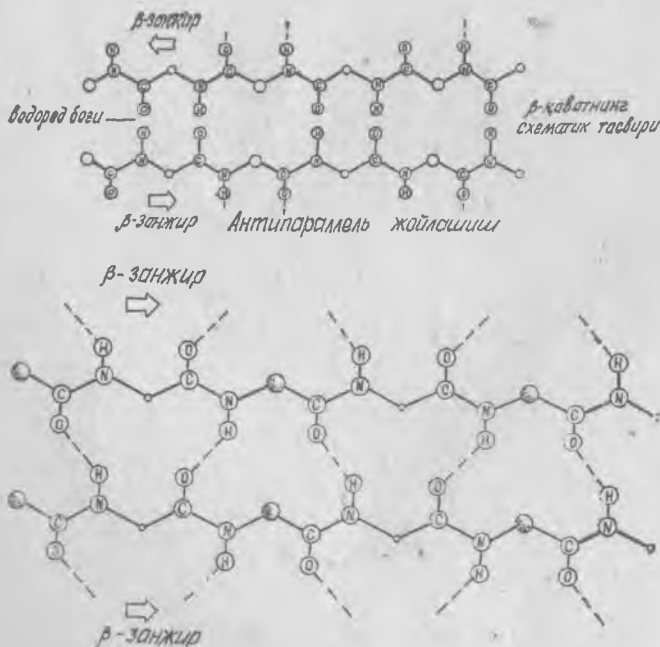


18-расм. Полипептид занжирнинг  $\alpha$ -спирали.

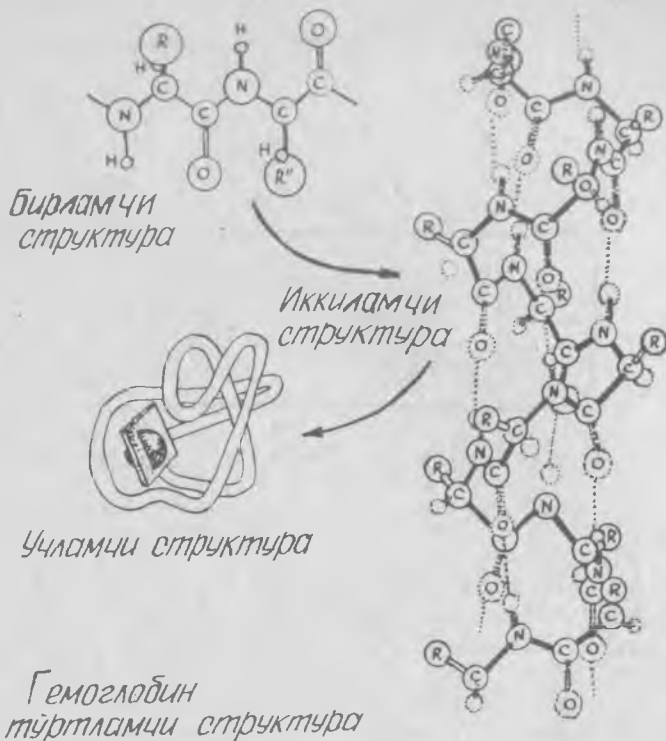
$\alpha$ -спираль маълум омил таъсирида (сувда ишқор иштирокида иситилганда) чўзилиб, занжир ичидаги водород боғлар узилиб кетади ва бета-структурага ўтади. Умуман,  $\beta$ -структура баъзи фибрилляр (ипсимон) оқсилларнинг табиий шакли. Бунда спиралнинг бир айланмаси 7 Å га тенг бўлади.

Водород боғлари молекулалар орасида, полипептид занжирининг ҳар хил участкалари орасида бўлади, занжирлар чўзилиб бир-бирига параллель, узунасига ёнма-ён жойлашади.  $\beta$ -структурада ён шоҳлар (R)

қоғоз сатҳига нисбатан перпендикуляр жойлашади.  $\beta$ -структура қатлам варақча деб аталади. Улар икки турда — параллель ва антипараллел бўлиши мумкин: агар ҳар иккала занжир ҳам бир томонга йўналган бўлса, бундай жойлашиш параллель, агар занжирлар қарама-қарши йўналишга эга бўлса *антипараллель* деб аталади.



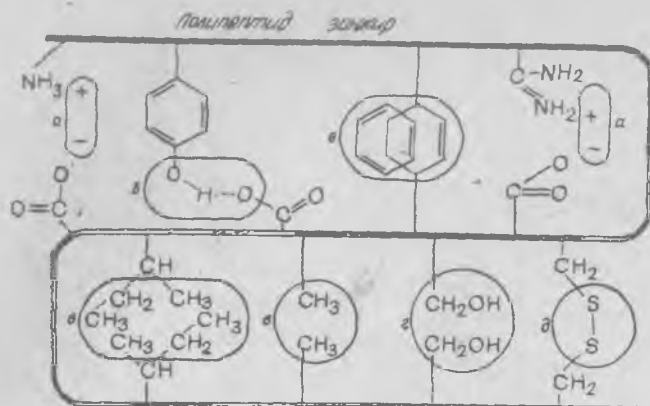
19-расм. Бета структура.



20-расм. Оқсил молекуласининг структура даражалари.

Полипептид спиралининг фазодаги ориентацияси ёки унинг тахланиши *учламчи структура* дейилади. Бу тушунча бутун молекуланинг шакли, ҳажми ҳақида маълумот беради. Учламчи структура рентген структура анализи ёрдамида олинган тасвирни ишлаш йўли билан чизилади. Учламчи структурани қандай кучлар барқарор қилади? Ҳозирги вақтда маълумки, оқсил молекуласининг фазодаги шаклини мустаҳкамлашда унинг полипептид занжирини ташкил қиладиган ковалент (пептид ва дисульфид) боғлардан ташқари, ковалент бўлмаган боғлар ҳам иштирок этади. Бўш боғлар деб аталадиган бу ўзаро кучсиз алоқалар қаторига водород боғлари, зарядланган группаларнинг электростатик муносабатлари, қутбланмаган, гидрофоб группаларнинг ўзаро таъсири ва бошқа кучлар киради. Оқсилнинг барча биологик хоссалари *табiiй конформация* деб аталадиган мана шу структуранинг сақланишига боғлиқ. Унинг ўзи рибосомада оқсил синтези тугаб полипептид занжир рибосомадан ажралиши билан автоматик пайдо бўлади, у батамом бирламчи структурадаги информациядан келиб чиқади.

Оқсил молекуласининг учламчи структурасини мустаҳкам-



21-расм. Оқсил молекуласининг учламчи структурасини мустаҳкамловчи боғланишлар:

а) ионли боғлар; б) водород боғлари; в) гидрофоб боғланиш; г) гидрофиль боғланиш; д) ковалент боғлар.

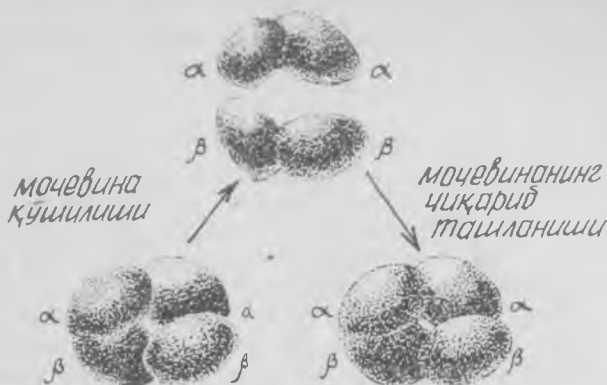
лаб турадиган алоқалар юқоридаги расмда келтирилган.

Қўпчилик оқсиллар тўртламчи структурага ҳам эга. Бу олий тузилиш даражаси айрим полипептид занжирларнинг фазода тахланиш шаклини тасвирлайди. Молекуласининг массаси 30—50 мингдан ортиқ бўлган оқсиллар аксари бир нечта бир хил (ёки ҳар хил) занжирдан тузилган. Улар *промомер* деб аталади, бутун молекуланинг бир қисми (кичик бирлиги)ни ташкил қилиб, тўла биологик фаолиятга эга бўлмайди. Мана шундай кичик бирликлар тегишли равишда тўпланиб, тўла функционал актив оқсил бирлиги (олигомер) ни ҳосил қилади. Ковалент боғ билан эмас, балки ноковалент боғланишлар орқали анча барқарор сақланадиган бундай бутун тузилма, олигомер оқсилнинг тўртламчи структурасини ташкил қилади.

Бундай тузилишни гемоглобин мисолида яққол кўриш мумкин. Қонда кислородни ташувчи бу мураккаб оқсил тўртта кичик бирликдан иборат. Улар  $\alpha$ - ва  $\beta$ -полипептид занжирлар (глобин) дан ва оқсил бўлмаган темир тутувчи гемдан ташкил топган. Иккита  $\alpha$ - ва иккита  $\beta$ - кичик бирликлар тўпланиб, биологик актив гемоглобин молекуласи ( $\alpha_2 \beta_2$ ) ни ҳосил қилади. Бу тўла молекула маълум шароитда тузлар, мочевина (сийдикчил) иштирокида ёки рН кескин ўзгарганда  $\alpha$ - ва  $\beta$ - кичик бирликларга диссоциланади. Улар орасидаги водород боғлар узилади. Муҳитдан тузлар ва сийдикчил четлатилгач, қайтадан тўла молекула синтезланади.

Гемоглобин молекуласининг тўрт субъединицаси кислородни боғлаш функциясини бажаришида мусбат кооперативлик эффекти амалга ошади. Унинг маъноси шундан иборатки, гемоглобин молекуласидаги тўртта гемнинг ҳар бири кислород





22-расм. Гемоглобин кичик бирликларининг ассоциацияси ва диссоциацияси.

молекуласи билан боғлангн экан, биринчи боғланган  $O_2$  иккинчи  $O_2$  молекуласининг боғланишини, у эса, ўз навбатида, учинчи  $O_2$  билан қўшилишини ва ниҳоят унинг ўзи охириги  $O_2$  нинг уланишини енгиллаштиради. Хужайра таркибида бундай кооперативлик муҳим аҳамиятга эга.

### Гибридолигомер оқсиллар

Кўпчилик олигомер оқсиллар бир нечта гибрид шаклларда учрайди, чунки уларни ташкил қиладиган айрим полипептид занжирлар турли нисбатда комплекс ҳосил қилиши мумкин. Бундай воқеа 1957 йил биринчи марта *лактатдегидрогеназа* ферментига нисбатан кашф этилган эди. Бу фермент икки хил — Н ва L полипептид занжирининг турли комбинацияда ташкил қилинган тетрамери бўлганидан, у бешта вариантда мавжуд:  $H_4$ ;  $H_3L$ ;  $H_2L_2$ ;  $HL_3$ ;  $L_4$ . Лактатдегидразанинг бундай изомерлари *изоэнзимлар* ёки *изоферментлар* деб аталади; L компоненти асосан жигарда, Н компоненти эса юракда бўлади. Қонда бундай изомерларнинг қайси шакли кўпайишига қараб бу аъзолардан қайси бири касалланганлигини аниқлаш мумкин. Олигомер тузилишга эга оқсиллар таркибидаги полипептид занжирларининг турли комбинацияда бирикиб изомерлар ҳосил қилиши бошқа бир қанча ферментлар учун ҳам тааллуқли.

### Протеинлар ва протеидлар

Оқсилларнинг қатъий илмий классификацияси ҳали яратилмаганлигидан энг кўп тарқалган ва махсус функцияларни бажарадиган айрим оқсилларни таърифлашда уларнинг мураккаблиги, молекуласининг шаклига, эрувчанлик хоссасига кўпроқ эътибор берилади. Чунки кўпинча уларни ажратиш ва тозалаш, биологик фаолиятини тушуниш учун бу хусусият ҳал қи-

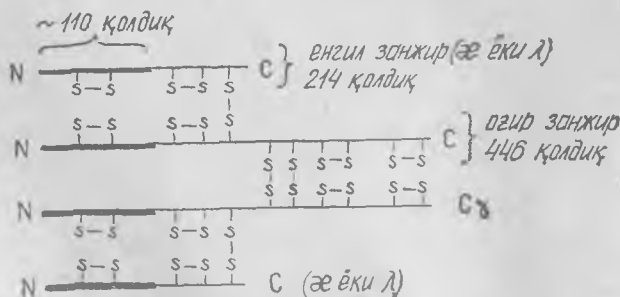
лувчи аҳамиятга эга. Молекуляр биологияда оқсиллар устида гап борганда деярли ҳамиша оддий оқсиллар, протейнлар кўзда тутилади. Протейнларнинг ўзига хос тузилиши, алмашинуви, биосинтези ва функциясини ўрганиш асосан биохимиянинг вазифаси.

Юқорида биологик функцияси яхши ўрганилган бир нечта энг муҳим оқсиллар — инсулин, цитохром с, гемоглобинлар устида тўхталиб ўтган эдик. Ўзига хос тузилишга ва ажойиб функцияга эга бўлган оқсилларнинг бир группаси *антителолар* (зид жисмлар) *дир*. Улар организмга зарарли таъсир кўрсатадиган моддалар, микроорганизмларга қарши курашадиган иммун системанинг маҳсулоти — оқсилли бирикмалардир.

Антителолар организм учун ёт бўлган, асосан оқсил табиатли моддалар ёки микроорганизмлар — *антигенга* жавобан қон ҳужайралари — етилган В — лимфоцитлар (В-ҳужайралар) томонидан синтез қилинади. Улар қон плазмаси оқсилли — глобулинларнинг гамма фракциясини — гамма глобулинларни ташкил қилади ва *иммуноглобулинлар* деб аталади. Иммуноглобулинларнинг беш типи маълум:  $\gamma G$ ,  $\gamma A$ ,  $\gamma I$ ,  $\gamma A$ ,  $\gamma E$ . Антителолар антигенни боғлаб чўктиради, эритади ва умуман зарарсизлантиради.

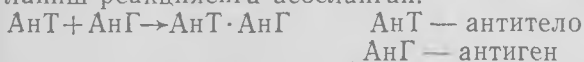
Энг яхши ўрганилган ва иммуноглобулинларнинг кўп қисмини ташкил қиладиган  $\gamma G$  фракция иккита бир хил полипептид занжирдан тузилган, ҳар бир қўш занжирнинг ўзи бир-бирдан фарқ қиладиган иккита занжирдан иборат. Тўртта занжир — S—S— кўприги орқали боғланган.  $\gamma G$  ни  $\chi$  ва  $\psi$  формула билан ифодаланади. Бунда:  $\chi$  — молекула массаси 25000 га тенг енгил занжирни,  $\psi$  — молекуляр массаси 50000 га тенг оғир занжирни ифодалайди.  $\chi$  ва  $\psi$  занжирларнинг аминокислота тартибиде ажойиб тузилиш хусусияти аниқланган:  $\gamma G$  антителолар ҳар бир занжирда ниҳоятда барқарор (турғун) С қисм ва жуда ўзгарувчан (вариабель) V қисм тутади. Улар антигенни боғлайдиган участкаларни ташкил қилишда иштирок этади.

### 86 Иммуноглобулин структураси



— *вариабель қисм (ўзгарувчан)*  
 — *константа қисм (турғун)*

Антителолар биологик функциясидан ташқари, тадқиқот ишларида жуда ҳам муҳим қуролдир. Улар ёрдамида турли биологик муҳим моддалар (антиген, оқсиллар)нинг жуда кам миқдорларини радиоиммун (РИА) ва иммунфермент анализ (ИФА) усулларида аниқлаш мумкин. Бу усуллар текшириладиган модда (антиген, оқсил) нинг антитело билан ўзига хос боғланиш реакциясига асосланган.



Молекулаларни ажратишда ҳам *антителолардан* фойдаланиш тобора кенг қўлланмоқда. Антиген (микроб компонентлари, оқсил) ни кўп марталаб организмга киритиш йўли билан олинган антизардоб, одатда, антителоларнинг гетероген аралашмасини тутади, уларнинг ҳар биттаси антитело ажратадиган турли ҳужайралар (В-лимфоцитлардан) олинган. Илмий тадқиқот ва амалиёт учун антителоларнинг бир хил турини олиш ҳал қилувчи аҳамиятга эга. Антителоларнинг гетерогенлиги муаммоси 1976 йил Келер ва Мильштейн кашф этган янги усул эвазига ҳал қилинди ва ҳужайра ичидаги жараёнларни антителолар ёрдамида текширишда янги уфқ очилди. Мазкур усул фақат бир типдаги антителоларни ишлаб чиқарувчи В-лимфоцитларни клонирлашни ўз ичига олади. Бу ҳужайраларнинг умри чегараланган бўлганидан уларни В-лимфоцитлардан келиб чиққан ўлмайдиган ўсмадан олинган ҳужайра билан қўшилади. Гибрид ҳужайранинг ҳосил бўлган гетероген аралашмасидан культурада кўпайиш ва антителоларнинг маълум типини синтез қилиш хоссасига эга бўлган ҳужайралар танлаб олинади. *Гибридомалар* деб аталган бу ҳужайраларни алоҳида-алоҳида клонирлаб, ҳар бир типдаги *моноклонал антителоларнинг* манбаи бўлган клонлар олинади. Бу усулдан фойдаланиб, антителоларни керакли миқдорда кўпайтириш мумкин. Иммунологик реакциянинг фундаменти антиген — антитело муносабатлари ниҳоятда ўзига хос бўлганидан бу принцип асосида биологик материалда мавжуд бўлган турли оқсиллар (антигенлар), масалан, гормонлар, ферментлар, рецепторларнинг жуда ҳам кам миқдорини аниқлаш усуллари ишлаб чиқилган.

### III БОБ. ФЕРМЕНТЛАР

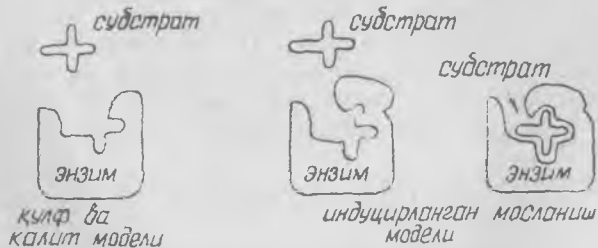
#### 3.1. Ферментатив реакцияларнинг характеристикаси

Мазкур қўлланма молекуляр биологияга бағишлангани сабабли ферментларни каталитик хусусиятга эга оқсиллар сифатида талқин қилинади ва асосан уларнинг структураси билан ферментатив фаолияти орасидаги боғланишни тушунтирилади. Аввало ферментлар ҳақида қисқача умумий маълумот билан танишамиз.

Фермент ёки энзим каталитик оқсилдир. Хужайра оқсилларининг қарийб 90% ни ферментлар ташкил қилади, лекин баъзи структура оқсиллари, масалан, миофибриллар қисқариш хусусиятига эга бўлган *актин* ва *миозин* ҳам реакцияларда катализаторлик қилади.

Ҳозирги кунда кашф этилган фермент — оқсилларнинг сони 2000 дан ортиқ. Шунини айтиб ўтиш керакки, оқсилнинг каталитик хусусияти аниқланган бўлса, у ферментлар қаторига кирди, аммо хужайралардаги бошқа оқсиллар ҳали аниқланмаган реакцияларни катализ қилиши ҳам ҳақиқатдан узоқ эмас. Ферментлар ҳам бошқа оқсиллар каби, иситилганда химиявий агентлар ва бошқа таъсир остида денатурацияга учрайди, улар ёт организмларга киритилганда уларга қарши иммунбиологик реакциялар қўзғалади.

Ферментлар ҳам оқсиллар каби, молекуласида жуда кўп мусбат ва манфий заряд ташувчи группаларга, табиий ҳолда маълум изоэлектрик нуқтага эга, электр майдонида ҳаракатланади. Ферментлар таъсири максимал бўлган рН оптимуми ва температура оптимуми бор. Аммо уларнинг энг ажойиб хосаси спецификлигидир. Ана шу хосаси билан ферментлар бошқа катализаторлардан кескин фарқ қилади. Улар битта ёки жуда яқин бир нечта бирикмаларнинг стероизомерларига нисбатан мутлақ фарқли реакцияларни катализлайди. Ферментатив реакцияларнинг спецификлигини кўпдан бери қулф-калит модели шаклида тасвирланади. Бу моделга кўра, фермент қулфга ўхшаш фақат аниқ шаклга эга калитга (субстратга) мос келади. Ҳозирги тушунчаларга кўра, эски қулф-калит муносабати бирмунча такомиллаштирилиб индуцирланган қулф-калит модели сифатига айланди. Унинг маъноси шуки, қулф субстрат билан боғлангандан кейин ўзининг конформациясини ўзгартириб калитга муқаммал мос келадиган шаклга ўтади.



23-расм. Фермент спецификлигининг қулф-калит модели.

Ферментатив реакция давомида аввало фермент (*E*) субстрат (*S*) ўзаро контактга кириб *энзим субстрат комплекси* (*ЕС*)ни ҳосил қилади. Ферментнинг субстратни боғлайдиган ва унинг химиявий ўзгаришини таъминлайдиган чегарали қисми *актив маркази* деб аталади. Бу марказнинг ўзида субстратни

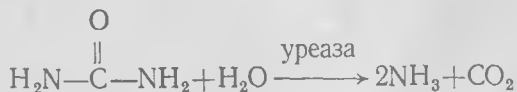
вақтинча боғлаб турадиган бўлаги *боғловчи зона*, молекула-нинг химиявий ўзгаришида иштирок этадиган группалари *каталитик зонани* ташкил қилади. Актив марказ фермент молекуласидаги айрим аминокислоталарнинг ён шохларидаги ради-каллар иштирокида шаклланади. Бу аминокислоталар оқсил занжирининг бир-биридан узоқ қисмларида жойлашган бўли-ши мумкин, лекин молекуланинг конформациясида улар ўзаро яқинлашган. Актив марказ реакцияга қатнашадиган кофермент иштирокида ва фермент-субстрат комплекси ҳосил бўлиш жа-раёнида батамом шаклланади.

Актив марказ таркибига энг кўп кирадиган аминокислота-лар: сер, гис, тре, цис, глу, асп, арг. Жуда кўп ферментлар учун уларнинг актив марказларини ташкил қиладиган амина-кислоталар ва катализ жараёнида улар бажарадиган функция-лар яхши ўрганилган.

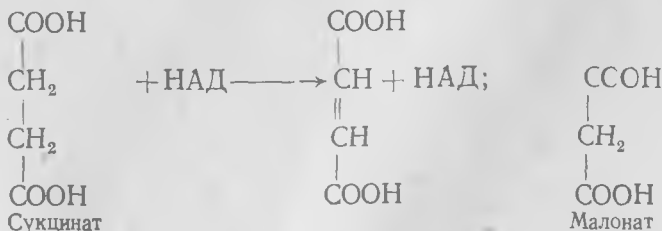
### 3.2. Ферментларнинг спецификлиги

Ферментларнинг спецификлиги уларнинг актив марказлари тузилишига, субстрат боғланишининг стереоспецифик бўлиши-га, унинг уч ўлчовли табиатига боғлиқ. Бирикманинг D ёки L шакли ўнг ва чап кафт каби фарқли бўлганидан, ферментнинг D шаклга мос ғовагига, ўнг кафт чап қўлқопга қанчалик мос келса, субстратнинг L шакли ҳам шу тарзда тўғри келади.

Ферментнинг спецификлиги мутлақ ва нисбий бўлиши мум-кин. *Мутлақ спецификликда* фермент фақат биргина модда ўзгаришини катализлайди. Масалан, уреаза фақат сийдикчил парчаланишини тезлатади, молекулада озгина ўзгариш бўлса ҳам фермент таъсир қилмайди.



Шунингдек, сукцинатдегидрогеназа қаҳрабо кислота (сук-цинат)ни дегидрирлайди, малонатга эса таъсир қилмайди ва ҳоказо.

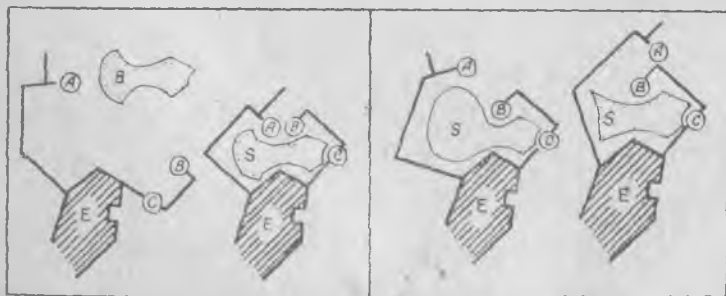


*Нисбий спецификлик* ёки *группа спецификлиги* фермент маълум химиявий боғ ёки химиявий реакция типига нисбатан специфик таъсирга эга эканлигини кўрсатади. Бундай специ-

фиклик айниқса гидролизловчи ферментлар — протеазалар, липазалар, карбогидразаларга тааллуқли. Бу ферментлар битта бирикмага эмас, балки бир хил боғга эга бир гуруҳ бирикмаларга таъсир қилади, масалан, трипсин, химоотрипсин, пептидазалар пептид боғига эга ҳар хил оқсилларни парчалайди, амилаза крахмални, гликоген ва уларнинг чала парчаланиш маҳсулотларини, гликозид боғларини, липазалар турли ёғлардаги мураккаб эфир боғларини гидролитик йул билан узади. Нуклеазалар, фосфатазалар, гексокиназа ҳам бир типдаги бирикмаларнинг кўп вакилларига таъсир қилади. Лекин бир гурпуага кирадиган ҳамма бирикмаларга нисбатан фермент бир хил фаолият кўрсатмайди, гурпуа ичидаги бирикмаларнинг структура фарқлари фермент таъсирини чегаралайди.

### 3.3. Ферментларнинг тузилиши

Ферментлар содда оқсил ёки мураккаб оқсил бўлади. Содда оқсил фақат аминокислоталардан ташкил топганидан бундай фермент *бир компонентли* фермент деб аталади. Гидролитик ферментлар — пепсин, трипсин, амилаза, уреаза мана шу қаторга киради. Мураккаб оқсил-фермент хусусан оқсил молекуласи ва оқсил бўлмаган бошқа кичик молекуляр қўшимчадан ташкил топган. У *икки компонентли* фермент деб аталади. Кофактор деб аталадиган қўшимча молекула оқсил билан анча мустаҳкам бириккан бўлса, диализ қилинганда у полипептид занжирдан ажралмайди, фермент молекуласининг боғланган қисми *простетик гурпуа* деб аталади. Икки компонентли ферментнинг оқсил қисми *апофермент*, осонлик билан ундан ажраладиган диссоциладиган кичик молекуляр қўшимчаси *кофермент* деб аталади. Апофермент оқсил бўлгани учун у юқори молекуляр, қизитилганда бузиладиган термолябиль, диализланмайди-ган компонент, кофермент эса кичик молекуляр юқори ҳароратга чидамли — термостабиль ва диализладиган компонентдир.



24-расм. Фермент актив марказининг тузилиши.

Апофермент кофермент билан бириккан тақдирдагина актив тўла фермент — *холофермент* ҳосил бўлади.

Кофермент ферментнинг актив марказида субстратнинг химиявий ўзгаришини таъминлайдиган каталитик зонанинг асосий элементидир. Ферментатив реакциялар — оксидланиш ва қайтариллиш, группаларнинг кўчирилиш, синтезланиш реакцияларида кофермент водородни, кўчириладиган группаларни ўзига қабул қилиб, бошқа молекулага узатиш вазифасини бажаради.

Коферментларнинг кўпчилиги витаминлар ва уларнинг бир оз ўзгарган, кўпинча фосфорирланган шакллари, турли нуклеотидлардан иборат. Қўлланманинг тегишли жойларида улар билан бир неча марта учрашамиз. Қуйидаги жадвалда энг муҳим коферментлар ва улар кўчирадиган группалар келтирилган.

1-жадвал

Айрим коферментлар ва уларнинг функцияси

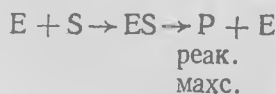
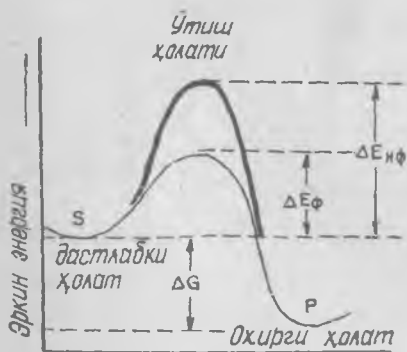
Номи	Каталыз қилинадиган реакция типи	Кўчириладиган группа	Олд бирикмаси (витамин)
Никотинамидадениндинуклеотид (НАД <sup>+</sup> )	Оксидланиш— қайтариллиш	Н (электронлар)	Никотинамидлар
Никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФ)	•	•	•
Флавинаденин— динуклеотид (ФАД)	•	•	Рибофлавин
Флавиномононуклеотид (ФМН)	•	•	
Кофермент А	•	•	
Гем (цитохромники)	•	•	
Кофермент А	Группаларни активлаш ва кўчириш	Электронлар	Пантотенат кислота
Липоат кислота	Ацил группани кўчириш		Липоат кислота
Тиаминпирифосфат			Тиамин
Биотин	СО <sub>2</sub> ни боғлаш	СО <sub>2</sub>	Биотин
Пиридоксальфосфат	Аминокислоталарни қайта аминлаш ва бошқа реакциялар		Пиридоксин
Тетрагидрофолат кислота	Бир углеродли фрагментлар метаболизми		Фолат кислота
Кобамид коферментлар	Махсус реакциялар		В <sub>12</sub> витамин

Фермент молекуласида актив марказдан ташқари *аллостерик* (алло — бошқа, ёт ва стерос — фазовий, структурага оид) марказ ҳам мавжуд эканлиги аниқланган. Бу марказ фермент молекуласининг маълум бир қисми бўлиб, у алоҳида аксари паст молекуляр, *эффектор* ёки *модификатор* деб аталадиган, субстратдан бошқа, унга ўхшамаган моддаларни бириктиради. Эффекторнинг аллостерик марказга бирикиши ферментнинг уч-

ламчи ва аксарият тўртламчи структурасини, биобарин, актив марказининг конформациясини ўзгартириб, ферментатив хусусиятининг кучайиши ёки пасайишига сабаб бўлади. Активлиги актив ва аллостерик марказларнинг ҳолати орқали идора қилинадиган ферментлар *аллостерик ферментлар* деб аталади.

### 3.4. Ферментларнинг таъсир механизми

Ферментларнинг реакцияни катализ қилиш механизми, одатда, анча содда. Ҳар қандай катализатор реакция бориши учун зарур бўлган энергия миқдорини камайтириш йўли билан реакцияни тезлатади. Умуман молекула активланиб, ўтиш ҳолати деб аталадиган актив шаклга кўтарилмагунча ўзича парчаланиб кетмайди ёки бошқа молекула билан реакцияга кирмайди. Ферментлар бошқа катализаторлар каби химиявий реакциянинг бошланиши учун зарур энергия миқдорини камайтиради. Реакция *энергетик тўсиқни* босиб ўтиши учун зарур энергия миқдори *активланиш энергияси* деб аталади. У модданинг 1 молидаги барча молекулаларни актив ҳолатга ўтказишга сарфланадиган энергияга тенг. Фермент активланган молекулалар сонини кўпайтириш йўли билан активланиш энергиясини пасайтиради, яъни реакция энергетик тўсиқ кам бўлган бошқа йўл билан боришини таъминлайди. Реакция жараёнида фермент (энзим, E) ўзгарадиган модда (субстрат, S) билан оралиқ реакцияга киришади, ҳосил бўлган комплекс парчаланиб фермент ўз ҳолича реакциядан чиқади:



Энзим-субстрат комплекси молекуланинг жуда қисқа умрли, активлаштирилган шаклидир, у турли йўл билан ўзгариши мумкин. Демак, ферментатив реакция фермент иштирокисиз ўтадиган реакцияга қараганда анча паст активланиш энергиясида амалга ошади. Қуйидаги расмда ферментатив ва ноферментатив реакциянинг энергетик схемаси келтирилган.

Реакциянинг суръати маълум

25-расм. Ферментатив ва ноферментатив реакциянинг энергетик схемаси:

S — бошланғич субстрат; P — реакция маҳсулоти;  $E_{нф}$  — ноферментатив реакциянинг активланиш энергияси;  $E_ф$  — ферментатив реакциянинг активланиш энергияси;  $\Delta G$  — эркин энергиянинг стандарт ўзгариши.

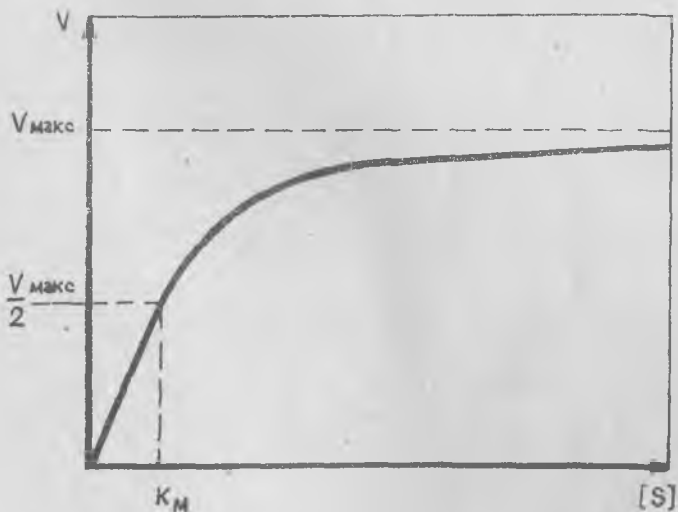


вақт оралиғида реакцияга киришган модданинг миқдорига қараб аниқланади. Ферментатив реакция кинетикаси реакция суръатига турли агентларнинг таъсирини математик ифодалайди.

**3.5. Ферментатив реакция тезлигига таъсир этадиган омиллар**

Ферментатив реакциянинг тезлиги фермент ва субстратнинг концентрациясига боғлиқ. Реакция тезлиги фермент миқдорига тўғри мутаносибликда ортиб боради. Реакциянинг бошида унинг тезлиги субстрат концентрациясига ҳам тўғри мутаносиб бўлади. Аммо субстрат концентрацияси ортиб бориши билан тезликни ифодалагандан эгри чизиқ энг юксак баландликка —  $V_{\max}$  (максимум) га етиб текис чизиққа чиқади.

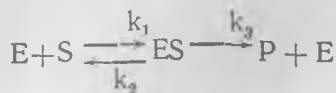
Бу ҳолат ферментнинг ҳамма молекулалари субстрат билан батамом тўйинганини кўрсатади. Фермент субстратга тўйингандан кейин унинг концентрацияси реакция тезлигига таъсир қилмайди.



26- расм. Ферментатив реакция тезлиги ( $v$ ) нинг субстрат к онцентрацияси ( $s$ ) га боғлиқлиги:

$\frac{V_{\max}}{2}$  — максимал тезликнинг ярми;  $K_M$  — Михаэлис константася ;

Юқорида келтирилган эгри чизиқ ферментатив реакцияни тажрибада текшириш орқали олинган, реакциянинг қайталама бўлишидан келиб чиқади:



Ферментнинг тўйиниш эффектини ўрганиш асосида Михаэлис ва Ментен 1913 йилда ферментлар таъсирини ва ферментив катализнинг умумий назариясини яратдилар. Бу назарияга мувофиқ, қайталама реакцияларнинг тезлик константалари қуйидаги муносабатда бўлади: бу ерда  $\kappa_1$  — тўғри реакциянинг тезлик константаси;  $\kappa_2$  — тесқари реакция константаси;  $\kappa_3$  — фермент-субстрат комплексининг парчаланиш константаси. Е ва S нинг квадрат қовус ичига олиниши уларнинг концентрациясини кўрсатади, реакция тезлиги константаси  $\kappa_1$ ,  $\kappa_2$ ,  $\kappa_3$  турғун температурада учта реакциянинг тезлигини кўрсатади. Тезлик — тезлик константаси, ҳамма реагентлар концентрациясининг зарб ҳосили. ES нинг ҳосил бўлиш тезлиги:

$$ES = \kappa_1 [E] [S]$$

$$ES \text{ нинг йўқолиш тезлиги } [ES] = K_3 [ES] + K_2 [ES]$$

Биобарин, ES комплексининг ҳосил бўлиш ва парчalaniш тезлиги қуйидагича ифодаланади:

$$\frac{d[ES]}{dt} = \kappa_1([E] - [ES]) - \frac{d[ES]}{dt} = \kappa_2[ES] + \kappa_3[ES].$$

Агар ES нинг ҳосил бўлиш суръати унинг йўқолиш тезлигига тенг бўлса, реакция мувозанат ҳолатда (стационар ҳолатда) бўлади:

$$\kappa_1 ([E] - [ES] [S]) = K_2 [ES] + K_3 [ES]$$

Мана шу ифодани ўзгартириш орқали қуйидаги формула олинади:

$$\frac{[S] [E] - [ES]}{[ES]} = \frac{K_2 + K_3}{\kappa_1} = K_m \text{ Михаэлис константаси}$$

Михаэлис константаси ( $K_m$ ) — ферментнинг муҳим характеристикаси, унга қараб ферментнинг субстратга яқинлиги ҳақида ва унинг реакция маҳсулотлари ҳосил қилиш қобилияти ҳақида ҳукм чиқариш мумкин.  $K_m$  моль/л билан ифодаланади. Агар  $K_m$  катта бўлса, ES комплекси осонлик билан бошланғич моддаларга парчаланади ва реакция секин ўтади.  $K_m$  паст бўлганда ( $K+1$  катта), реакция тез ўтади.

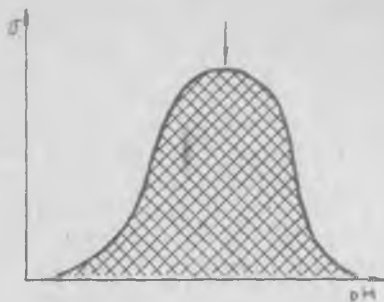
Реакциянинг бошланғич тезлиги учун ( $P=0$  бўлганда) Михаэлис-Ментен тенгламаси қуйидаги кўринишда бўлади:

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + K_m / [S]} = \frac{V_{\max}}{K_m [S]}$$

$K_m$  — максимал тезликнинг ярмига мувофиқ субстрат концентрацияси.

Ферментнинг активлигига юқорида кўриб чиқилган субстрат ва фермент концентрациясининг ўзгаришидан ташқари, яна бир қатор омиллар ҳам таъсир кўрсатади.

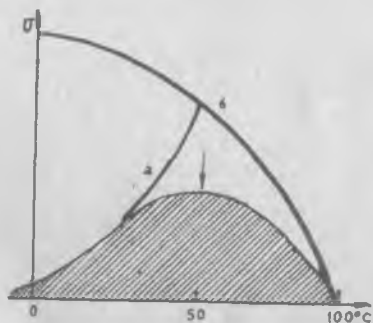
*Муҳит рН нинг таъсири.*  
 Фермент одатда водород ионлари концентрациясининг тор зонасида энг кучли активликка эга бўлади. Бу зонадан олдинга ёки орқага силжилганда активлик пасайиб, сўнгра бутунлай йўқолади. Бу аҳволни қуйидаги графикда кўриш мумкин.



27-расм. Ферментатив реакциялар тезлигига рН нинг таъсири.

Ферментатив реакцияларнинг рН га боғлиқ бўлиши улар таркибида ионланувчи группалар кўп бўлишига боғлиқ. Муҳит водород ионлари концентрациясининг ўзгариши фермент молекуласининг ионланиш даражасига таъсир қилиб, ферментни максимал активликка эга бўлган ҳолатдан четлатади.

Ферментатив реакция тезлигига температура ҳам кучли таъсир кўрсатади. Аксари ферментлар 40—60° орасида энг катта активликка эга. Температура ортган сари молекулада денатурацион ўзгаришлар ҳам кучайиб боради. Фермент субстрат билан бириккан ҳолда унинг юқори температурага чидамлилиги ортади. Лекин 80—100° гача қизитилганда аксари ферментлар бузилиб, активлигини тўла йўқотади.



28-расм. Ферментатив реакциялар тезлигига температура ўзгаришининг таъсири.

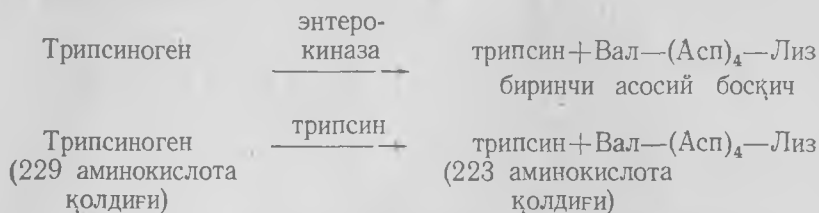
Паст температурада ферментатив реакция секинлашади, лекин фермент бузилмайди. Шунинг учун фермент препаратларини совуқ шароитда, музлаган ҳолда узоқ вақт сақлаш мумкин. Ҳар бир фермент учун у энг актив бўладиган оптимал температура бор.

### 3.6. Ферментларнинг активланиши ва тормозланиши (ингибирланиши)

Баъзи ферментлар аввало актив бўлмаган шаклда синтезланади ва фақат ҳужайрадан секреция қилингандан сўнг активлашади. Ноактив бошланғич модда *профермент* ёки *зимоген* деб аталади.

Овқат ҳазмланишида иштирок этадиган бир қанча протеолитик ферментлар: ошқозондаги пепсин, ингичка ичакдаги

трипсин ва химотрипсин ноактив пепсиноген, трипсиноген, химотрипсиноген шаклида синтезланади ва ўзига хос йўл билан активланади. Пепсиноген ошқозонда хлорид кислота таъсирида бир неча кичик пептидларни ажратиб, актив пепсинга айланади. Трипсиноген, химотрипсиноген ошқозон ости безида синтезланиб ўникки бармоқ ичакда бир неча босқичда кечадиган ферментатив реакциялар орқали актив шаклга ўтади. Бу ерда ҳам активланиш бирламчи структуранинг модификацияси орқали амалга ошади. Мисол учун трипсиногеннинг активланишини келтираемиз:



Реакция махсус энтеропептидаза (энтерокиназа) ферменти таъсирида бошланиб, сўнгра ҳосил бўлган трипсин иштирокида автокаталитик усулда давом этади. Бундай активланишга бошқа мисоллар ҳам бор. Масалан, қон ивишида иштирок этадиган ноактив протромбин  $\text{Ca}^{+2}$  ва баъзи оқсиллар иштирокида актив тромбинга ўтади.

Кўпгина ферментларнинг активлиги учун металл ионларнинг:  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , баъзи анионлар, органик бирикмалар ( $\text{HS}$  — группа тутувчи глутатион ва цистеин, витамин С, ўт кислоталар) иштироки зарур.

Фермент реакциясини тўла ёки қисман тормозлайдиган моддалар *ингибиторлар* деб аталади. Ферментлар оқсил моддалар бўлганидан уларни денатурирловчи барча таъсир ва агентлар (иситиш, кислота ва ишқорлар, оғир металллар тузлари) ферментни ноактив ҳолатга келтиради. Аммо бу таъсир специфик эмас, балки ҳамма ферментлар учун умумийдир. Булардан ташқари, айрим ферментларга таъсир этиб, алоҳида реакцияларни тормозловчи жуда кўп специфик ингибиторлар топилган ва махсус тайёрланган ҳам. Улар ферментларни ўрганишда тадқиқотчи қўлида кучли қуролдир, чунки специфик ингибирлаш ферментнинг актив маркази тузилишини, умуман реакция механизмини чуқур текшириш имконини беради.

### 3.7. Ферментлар номенклатураси ва классификацияси

Ферментларнинг рационал номи улар таъсир қиладиган субстрат ёки реакция номининг охирига *аза* қўшимчаси қўйиш билан тузилади. Масалан, крахмал (*amylum*) амилаза, ёғ (липид) липазалар, сийдикчил (*urea*) уреаза, оқсил (протеин) протеиназа; шунингдек, гидролиз — гидролаза, оксидланиш ва қайтари-

лиш — оксидоредуктаза, кўчириш (transfer) трансфераза, фосфоролит-фосфорилаза. Бир қанча ферментлар учун кўпдан бери амалда қўлланадиган тривиаль оддий, эски номлар ҳам сақланиб қолган, масалан пепсин, трипсин, катепсин ва ҳоказо.

Лекин ферментларнинг илмий номи уларнинг Жаҳон биохимия иттифоқи атамалар қўмитаси томонидан 1965 йил ишлаб чиқилган классификацияга асосланган. Мазкур классификацияга мувофиқ, катализ қилинадиган химиявий реакцияга асосланиб, барча ферментлар олти синфга бўлинган. Айрим ферментларнинг номи субстратнинг номини ҳам ўз ичига олади. Ферментларнинг номери (шифри) нуқталар билан ажратилган тўрт рақамни тутади.

I. Биринчи рақам айни фермент, рўйхатнинг бош олти синфидан қайси бирига киришини кўрсатади.

1. Оксидоредуктазалар
2. Трансферазалар
3. Гидролазалар
4. Лиазалар
5. Изомеразалар
6. Лигазалар (синтетазалар).

**Оксидоредуктазалар** — оксидланиш ва қайтарилиш реакцияларини катализ қиладиган катта ферментлар группаси. Улар водородни ажратиб олиб бошқа бирикма (акцептор)га узатиш ёки субстратга кислород бириктириш, электронларни кўчириш орқали оксидоредукцияда иштирок этади. Катализ қилинадиган реакция типига қараб, улар *дегидрогеназалар* ва *оксидазаларга* бўлинади.

**Трансферазалар** — турли атомлар группаси, кислоталар қолдиғи ва бошқа радикаллар бир молекуладан иккинчи молекулага узатилишини катализ қилади.

**Гидролазалар** — молекулалар сув бириктириб олиб, парчаланшини катализлайди.

**Лиазалар** — бирикмалардан группаларни сув иштирокисиз, қўш боғ ҳосил қилиш йўли билан ажратади ёки қўш боғли ўринга группаларни бириктиради.

**Изомеразалар** — изомерланиш реакцияларининг турли типларини катализлайди.

**Лигазалар** — АТФ молекуласидаги пирофосфат боғининг парчаланishi билан бирга ўтадиган икки молекуланинг бири-бирига боғланиш реакциясини катализлайди.

II. Иккинчи рақам паст синфни ифодалайди. Оксидоредуктазаларда оксидланадиган группа (1-СНОН, 2 альдегид ва кетон группа) ларни аниқлайди.

Трансферазаларда — кўчириладиган группанинг табиатини; гидролазаларда — парчаланадиган химиявий боғнинг типини; лиазаларда — ажраладиган группа билан молекула қолдиғи орасидаги узиладиган боғ типини; изомеразаларда — катализ

қилинадиган изомерланиш реакциясининг типини, лигазаларда эса янгидан ҳосил бўладиган боғлар типини кўрсатади.

III. Учинчи рақам янада паст синфни ифодалайди. Оксидоредуктазаларда реакцияда иштирок этадиган акцептор типини (1-НАД ёки НАДР, 2-цитохром, 3-молекуляр кислород ва бошқаларни) аниқлайди.

Шундай қилиб, биринчи уч рақам ферментнинг типини билдиради. Масалан, 1, 2, 3—оксидоредуктаза, у оксидланувчи (дегидрирланувчи) донор сифатида альдегидга ва акцептор сифатида  $O_2$  га таъсир қилади. Трансферазаларда учинчи рақам кўчириладиган группалар типини аниқлайди (масалан, кўчириладиган бир углеродли туркум метилми, формилми, карбоксилми ва ҳоказо).

Гидролазаларда — гидролизланадиган боғни, лиазаларда — ажраладиган группани, изомеразаларда — субстратнинг ўзгариш характерини, лигазаларда — ҳосил бўладиган бирикманинг табиатини аниқлайди.

IV. Тўртинчи рақам айни янада паст синфдаги ферментнинг тартиб номерини кўрсатади. Қуйида ҳар синфдан келтирилган мисолларда ферментларнинг номлари қандай ҳосил бўлиши кўрсатилган:

1. Оксидоредуктазалар  
донор : акцептор — оксидоредуктаза  
алкоголь : НАД — оксидоредуктаза алкогольдегидрогеназа 1.1.1.1
2. Трансферазалар  
донор-акцептор трансфераза  
АТР : ацетат-фосфотрансфераза 2.7.2.1
3. Гидролазалар  
субстрат — гидролаза  
аденозин-аминогидролаза 3.5.4.4
4. Лиазалар  
малат гидролиаза 4.2.1.2
5. Изомеразалар  
малеинат-цис-транс изомераза 5.2.1.1  
фенилпируват кето-енол изомераза 5.3.2.1

Молекула ичидаги кўчиш реакциялари мутаза, рацемаза, эпимераза — асимметрик группалар инверсияси.

6. Лигазалар  
 $x : y$  — лигаза  
аланин : РНК — синтетаза 6.1.1.7

Барча организмлар, кўп хужайрали организмларнинг айрим аъзолари ва туқималари метаболик жараёнларнинг характери, биобарин, метаболизмнинг айни типини таъминлайдиган ферментлар йиғиндиси билан фарқ қилади. Хужайраларнинг ҳамма типлари учун умумий бўлган асосий жараёнлар — хужайра оксидланиши ёки гликолиз, ачиш, оқсил синтези, ёғ кислоталар оксидланиши бир хил ферментлар томонидан катализланади.

Лекин яшил баргларда кечадиган фотосинтез учун махсус ферментлар йиғиндиси, фақат мана шу жараён кечадиган ўсимлик ҳужайраларидагина мавжуд ва ҳайвон ҳужайрасида бўлмайди, муқул қисқариши ферментлари ошқозон-ичак системасининг овқат ҳазм қилиш ферментларидан тамомила фарқ қилади.

Ҳужайра ичида ҳам ферментлар ҳужайра аъзочалари бажарадиган функцияга қараб фарқли равишда жойлашади. Масалан, гликолизни таъминлайдиган ферментлар цитоплазмада, оксидланиш йўли билан фосфориланиш ферментлари митохондрияларнинг ички мембранасида, нуклеин кислоталар синтезини таъминлайдиган ферментлар асосан ядрога жойлашган. Жуда кўп гидролитик ферментлар лизосомаларда жойлашган бўлиб, уларда кечадиган гидролитик жараёнларни таъминлайди.

Тоза кристаллик ферментлар, яъни фермент препаратлари, ферментга бой микроб ҳужайралари (аҳитқи) техникада биологик хомашёни ишлашда (нон ёпиш, вино тайёрлаш, тамаки, чой, тери етказишда), медицинада даволаш (чандиқларни эритиб йўқотиш)да, қишлоқ хўжалигида сомон, ғўзапояни юмшатиб силос тайёрлашда; илмий лабораторияларда аналитик мақсадлар учун тобора кенг қўлланилади.

#### IV БОБ. НУКЛЕИН КИСЛОТАЛАР

##### 4.1. Қисқача тарихи

Мелекуляри биологиянинг янги фан, табиатшуносликнинг юқори босқичи сифатида шаклланиши биринчи навбатда нуклеин кислоталарнинг структураси билан ҳужайрадаги функцияси орасидаги боғланишни тадқиқ этиш ва бу соҳадаги буюк кашфиётлар самарасидир.

Нуклеин кислоталар янги бир биологик модда сифатида 1868 йили швейцариялик биолог Фридрих Мишер томонидан кашф этилган. У йирингни ташкил қиладиган қон элементлари — лейкоцитлар («йиринг ҳужайралари») ядросидан фосфорга бой намаълум бирикма ажратиб олиб, унга *нуклеин* номи беради. Бу бирикма кислота хоссасига эга бўлганидан кейинроқ *нуклеин кислота* деб аталадиган бўлган. Лекин узоқ вақтгача бу бирикма биологлар эътиборини жалб қилмайди, ҳужайрадаги аҳамияти ўрганилмайди ва асосан химиявий объект сифатида тадқиқ қилиб келинади. 1891 йили немис олими Кёссель бу моддани гидролиз қилиб, у уч хил компонентдан: пурин ва пиримидинлар қаторига кирадиган гетероциклик азот асослари, углевод ва фосфат кислотадан ташкил топганлигини аниқлайди. Шу олимнинг ўзи нуклеин кислоталарнинг икки хили мавжуд эканлигини кўрсатди. Кейинроқ улар таркибига кирадиган углевод компоненти-пентозанинг рибоза ёки дезокси-

рибоза бўлишига қараб, *рибонуклеин кислота (РНК)* ва *дезоксирибонуклеин кислота (ДНК)* номини олди. Ундан илгари нуклеин кислоталарнинг биринчи хили олинган манбаига қараб ачитқи ёки цитоплазма нуклеин кислота, иккинчи хили буқоқ беzi (тимус) дан ажратиб олингани учун тимонуклеин кислота ёки ядро нуклеин кислотаси деб аталар эди.

Нуклеин кислоталарни гидролиз қилиб, улар полимер бирикма ва мономерлари азот асоси, углевод ва фосфат кислотадан ташкил топган нуклеотидлар, бинобарин, *РНК-рибозополинуклеотид* ва *ДНК-дезоксирибозополинуклеотид* эканлиги тасдиқланди. Аммо 1950-йилларгача нуклеин кислота молекуласи тўрт хил нуклеотидларнинг тартибли такрорланиши — тетра нуклеотидлардан иборат, деган фикр қабул қилинган эди. Бу тушунчанинг нотўғри эканлигини турли манбалардан ажратиб олинган ДНК молекулаларининг нуклеотид таркибини синчиклаб ўрганиб, улар орасида катта фарқ мавжуд эканлигини аниқлаган америка олими Э. Чаргафф исботлади. Нуклеин кислоталарнинг аниқ тузилиши 50-йиллардан кейин, уларнинг биологик функцияси, биосинтези ва бошқа хоссаларини тадқиқ этиш жараёнидагина тўла тушунила бошланди, ҳозирги кунда ҳам бу ишлар давом этади. Нуклеин кислоталарнинг хужайра ичида тарқалиши ва биологик роли ҳақида муҳим маълумотлар ҳам цитологиянинг айрим усули — *цитохимия* ёрдамида ва классик генетикада хромосома назарияси ўрнатилиши билан тўплана бориб, бу йўналишда 40-йилларда улуғ кашфиётга олиб келди.

Йигирманчи йилларнинг охирида хужайра ядросидаги хромосомада дезоксирибонуклеин кислота кўп миқдорда топилишига чуқур эътибор бера бошланди. Аввало гистохимиявий Фельген реакцияси (Фуксин сульфит кислота билан қизил ранг ҳосил қилиш) дан фойдаланиб, ДНК хромосомаларда, РНК цитоплазмада жойланиши аниқланди. Худди шу йиллар ирсий белгиларнинг наслдан-наслга ўтиши хромосомаларда жойлашган генларга боғлиқ эканлигини тасдиқловчи фактлар ирсиятнинг хромосома назарияси узил-кесил қабул қилинишига олиб келди. Шунинг билан бирга генлар ферментларни идора қилиши, яъни биохимиявий жараёнларни бошқариши ҳақида кўплаб маълумотлар тўплана бошланди. Мана шу йиллар инглиз олими Фрэд Гриффите пневмококкларнинг касаллик қўзғатмайдиган тури хужайраларини уларнинг касаллик қўзғатадиган, лекин қайнатиш йўли билан ўлдирилган, яъни касаллик қўзғатиш қобилиятини йўқотган хужайралари билан қўшиб каламуш танасига киргизилса, касаллик пайдо бўлишини кузатди. Бу тажриба бактериянинг бир турига хос хусусият (касалликни қўзғатиш) унинг нобуд қилинган хужайрасида иккинчи турга ўтиб, унинг тирик хужайраларини ўзгартиришини тасдиқлади. Бу ҳодиса *микроблар трансформацияси* деб аталиб, нобуд қилинган хужайрада тирик хужайрани ўзгартира оладиган қандайдир омил



(трансформация чақирувчи фактор) мавжуд, деган хулоса туғилишига сабаб бўлди.

Бу фараз кенг тадқиқот қилиниб келса ҳам, трансформирловчи агентнинг химиявий табиати деярли яна 10 йилгача номаълум бўлиб қолди. Фараз этилган факторни тозалаш ва унинг химиявий табиатини аниқлаш устида олиб борилган тадқиқотлар 1944 йил улуғ кашфиётга олиб келди. Мана шу йили америкалик олим Эвери ўзининг касбдошлари Мак Леод ва Мак Картилар билан 10 йиллик ишлари якунини эълон қилди. Бу машҳур мақолада пневмококкларнинг бир турини иккинчи турга айлантирадиган модда ДНК эканлиги ҳақида хабар берилди. Демак, ДНК белгини ташувчи молекула, чунки нобуд қилинган пневмококкларнинг касаллик қўзғатиш хусусияти ДНК молекуласига боғлиқ ва ДНК таъсирида бу хусусият тирик, лекин касаллик қўзғатиш хусусиятидан маҳрум бактерияларга узатилади ва ҳужайра кўпайганда наслдан-наслга ўтади. Шубҳасиз бу кашфиёт туфайли молекуляр биология пойдеворига салмоқли ҳисса қўшилди. Бу йиллар асосий тадқиқотлар бактериялар, вирусларда ўтказилиб, улар ирсий хоссасининг сақланиши, кўчирилиши, трансформациясининг молекуляр механизмини аниқлашда қатор-қатор муҳим кашфиётларга олиб келди. 1941 йилда «бир ген — бир оқсил» формуласи фанда умумий қоида сифатида қабул қилинади. Бидл ва Татум кашф этган бу қоиданинг маъноси генлар оқсил (фермент)лар синтезини идора қилиши принципини аниқлаб беришидир. Бактерияларни емирувчи, яъни *бактериофаг* деб аталувчи энг майда микроорганизмларнинг ирсий материали ҳам ДНК эканлиги исботланди.

ДНК молекуласининг химиявий таркибини ўрганиш ҳам янги муҳим босқичга кўтарилди. ДНК таркибига кирадиган тўрт хил нуклеотидни турли организмлардан ажратиб олинган ДНК молекулаларида текшириш азот асослари аденин (А), гуанин (Г, G), цитозин (Ц, C) ва тимин (Т) маълум нисбатда муайян бўлишини тасдиқлади. Кашфиёт америка олими Э. Чаргафф номи билан боғлиқ бўлганидан бу нисбий муносабатлар *Чаргафф қоидаси* деб аталади. Одатда, ДНК молекуласида пурин ва пиримидин асосларининг бир-бирига нисбати ҳамма организмларда ҳам қатъий ва 1 га тенг. Демак, молекулада пурин асослари (А, G) нинг жами пиримидин асослари (C, T) нинг жамига тенг, яъни уларнинг нисбати 1 га тенг:

$$\frac{A+G}{T+C} = 1; \text{ шунингдек, } A \text{ нинг } T \text{ га ва } G \text{ нинг } C \text{ га нисбати ҳам}$$

$$1 \text{ га тенг: } \frac{A}{T} = 1; \frac{G}{C} = 1.$$

Демак, ДНК нинг нуклеотид таркиби иккита нуклеотиднинг қўш: А билан Т, G билан C нинг бирга келиши билан белгиланади. Бу қўш нуклеотидлар молекулада турли нисбатда бўлганидан баъзан ДНК да АТ, бошқа ҳолда GC кўпроқ бўлиши мумкин. Бу муносабатларни аниқлаш ДНК нинг таркибига қараб турларни филогенетик характерлаш имкониятини беради.

Рус академиги А. Н. Белозерский жуда кўп бактериялар, сув-утлар, юксак ўсимликлар ва ҳайвонлар нуклеин кислоталарнинг нуклеотид таркибини текшириб ДНК нинг нуклеотид таркиби организмлар эволюцион системасининг характеристикасидан бири бўлиб хизмат қилиши мумкин эканлигини кўрсатди.

Тўпланган маълумотлар ДНК нинг полимер занжиридаги генетик ахборот тўрт мономерлар звеноларининг бирин-кетин келиш тартибидега ёзилган, деган концепцияни ифодалаш имконини берди. Бу вақтгача ДНК молекуласининг дастлабки рентгенограммалари инглиз олимлари М. Уилкинс ва Р. Франклин томонидан олинган эди. Жадаллик билан олиб борилган тадқиқотлар 1953 йили Дж. Уотсон ва Ф. Крик томонидан ДНК қўш спиралли моделининг яратилиши билан якунланди.

ДНК молекуласининг ўз-ўзидан кўпайиш ғояси унинг молекуласининг қўш спиралли моделидан келиб чиқиши табиий эди. Бу жараён *репликация*, яъни *нусха кўчириш* деб аталади ва табиий шароитда энг содда бажарилишини вирусларда кузатиш қулай. Репликацияни бажарувчи фермент ДНК — полимераза 1957 йили А. Корнберг томонидан кашф этилиб, кейинроқ у шу ферментдан фойдаланиб, ДНК молекуласини сақловчи тирик мавжудот — вирусни жаҳонда биринчи бўлиб сунъий равишда синтез қилишга муяссар бўлди.

50-йилларда оқсил синтези рибосомаларда бажарилиши тасдиқланди. Лекин ДНК дан ахборотни рибосомаларга кўчирадиган воситачи (информацион РНК) мавжуд деган тушунча фақат 1961 йили Ф. Жакоб ва Ж. Моно томонидан баён қилинган.

Нуклеин кислоталар функциясини ўрганишдаги асосий босқичлардан бири ахборотнинг ДНК да ёзилиш усули ва уни оқсил структурасига узатиш принципи, яъни *генетик кодни* расшифровка қилиш бўлди. Бу кашфиётгача РНК нинг уч хили: информацион, яъни матрица РНК си (м-РНК), рибосома РНКси (р-РНК) ва транспорт РНКси (т-РНК) мавжуд эканлиги, улар оқсил синтезида иштирок этиши аниқланган.

Генетик коднинг мазмуни шундан иборатки, оқсил молекуласидаги ҳар бир аминокислотага учта нуклеотиддан иборат триплет мувофиқ келади. Оқсил синтези рибосомаларда кечар экан, уларга бириккан матрица РНКси (м-РНК) да тегишли аминокислотага мувофиқ кодон рибосомага активланган аминокислотани ташувчи транспорт РНКси (т-РНК) нинг антикодони билан вақтинча боғланиб, ҳар бир аминокислотани ДНК да ёзилган ахборот асосида синтезланаётган оқсил занжирида қатъий ўз ўрнига қўяди. Мана шу механизм туфайли ДНК да ёзилган ахборот РНК воситасида оқсил молекуласида аминокислоталар тартиби сифатида реализация қилинади. Ахборот оқимининг ДНК→РНК→Оқсил йўналишида узатилиши молекуляр биологиянинг асосий постулатидир.

Генетик код кашф этилиши билан нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва функциясини ўрганишда янги босқич очилади:

ДНК молекуласи ҳужайрада специфик ферментлар—*эндонуклеазалар*, *рестриктазалар* томонидан махсус жойларида узилиши, уланиши, турли модификацияларга дучор бўлиши, РНК матрицасида ДНК синтезланиш феномени (*тескари транскрипция*) ва унинг ферменти аниқланади. Мана шундай механизмлардан фойдаланиб, 1972 йили П. Берг бир-биридан фарқ қиладиган иккита вируслар ДНКсини ҳужайрадан ташқарида улашга эришади. Шунинг билан турли организмларнинг генетик материали, яъни улар ДНК молекулаларининг маълум фрагментларини улаш, чаштириш (рекомбинация) орқали янги, сунъий организмларни яратиш имконини берадиган ажойиб соҳа—*генетика инженерлиги* пайдо бўлди. Генетика инженерлигининг асосий қуроли *рестриктазалар* жуда ҳам специфик ферментлардир. ДНК фрагментларини олиш учун рестрикцион эндонуклеазалардан, уларни улаш учун ДНК-*лигазалардан* фойдаланилади. Ирсий белгиларни ташувчи бундай рекомбинирланган ДНК ни ҳужайрага киритиб, ёт ахборотни амалга ошириш, репликация, транскрипция, оқсил синтезини таъминлаш усуллари ишлаб чиқилди. Ёт организмларда, масалан, бактерияларда ҳайвонлар тегишли генларининг ўқилиши (экспрессияси)ни таъминлайдиган системаларни тузиш, тайинланган белгиларга эга тирик организмлар яратиш имконини туғдирди. Тез орада бундай имкониятлар биотехнологияда амалга оширила бошланди. Одатда, ҳайвонлар организмда ва одамларда синтезланадиган хилма-хил оқсилларни биосинтез қилиш қобилиятига эга микроблар олинди, хусусан, рекомбинирланган генлардан фойдаланиб, одам учун зарур гормонлар ва ферментлар—инсулин, ўсиш гормони, интерферон ва бошқалар олина бошлади. Бу соҳа кенг миқёсда шиддатли ривожланмоқда.

#### 4.2. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва физик-химиявий хоссалари

Ҳар бир тирик организмда нуклеин кислоталарнинг ҳар икки тури—рибонуклеин кислота (РНК) ва дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) мавжуд. Фақат вируслар буларнинг бир турини, ё ДНК, ёки РНК ни тутади. Нуклеин кислоталар оқсиллар билан бирга ҳаётнинг моддий асосини ташкил қилади. Улар бири бири билан ҳар томонлама узвий боғлиқ, аммо уларнинг ҳужайрадаги ўрни ва функцияси тўздан фарқ қилади: оқсиллар асосан қурилиш ва ҳужайранинг ишчи органлари материали, нуклеин кислота эса информацион материал, у организмнинг тузилиши, ўсиши, ривожланишига тегишли ахборотнинг сақланиши, такрорланиши, алмашинуви ва наслдан-наслга ўтишини таъминлайди.

Узоқ аждодлардан миллиард йиллар давомида узилмай келган ахборот биополимерлар бу икки турининг ўзаро келишиб ишлаши жараёнида амалга ошади. Ҳаётнинг маъноси ҳам насли

сақлаш, ўз-ўзини такрорлаш бўлса, бу жараён нуклеин кислотада нуклеотидларнинг бирин-кетин келиши тартиби шаклида химиявий тилда ёзилган ахборотни оқсил молекуласида аминокислоталар тартибига ўтказишда амалга оширилади. Демак, нуклеин кислотадаги рамзий буйруқ организмнинг реал оқсилларида ифодаланади. Оқсил эса ҳар қандай ҳужайранинг морфологиясини ҳам, функциясини ҳам белгилайди.

Демак, нуклеин кислоталарнинг биологик роли чексиз буюқдир. Барча нуклеин кислоталар юксак молекуляр бирикмадир. Улар энг кичик вакиллариининг молекуляр массаси 25 минг атрофида бўлса, энг катталариники 1 млрд. га етади. ДНК молекулалари ҳужайрадаги энг катта молекулалар қаторига киради.

РНК ва ДНК нинг биохимиясини ўрганишда кейинги йилларда ажойиб муваффақиятларга эришилган, бу маълумотлар асосида организмлар генини ўзгартириш, тузатиш, янги генлар комплекси, яъни сунъий йўл билан янги организмлар яратиш даври ҳам келди.

#### 4.2.1. Нуклеотидлар — нуклеин кислоталарнинг структура элементлари

РНК ҳам, ДНК ҳам *нуклеотидлар* деб аталадиган мономерлардан тузилган, шунинг учун нуклеин кислоталар полинуклеотидлар дейилади. Ҳар бир мононуклеотид бир-биридан фарқ қиладиган учта химиявий компонентдан: аорганик фосфат, моносахарид рибоза ёки дезоксирибоза ва азот асоси: пурин ёки пиримидин асосидан ташкил топган. ДНК ва РНК молекулалари таркибига кирадиган моносахарид ва азот асослари бирмунча фарқ қилади. ДНК таркибидаги моносахарид *дезоксирибоза* бўлганидан унинг мононуклеотидлари ҳам дезоксирибоза мононуклеотидлар, ДНК нинг ўзи дезоксирибозо-полинуклеотид; РНК эса рибозомононуклеотидлардан ташкил топган *рибозополинуклеотидлар*. Азот асосларидан фарқи пиримидин асосларига оид бўлиб, РНК таркибига *урацил*, ДНК таркибига эса *тимин* киради. Бу фарқлар қуйидаги жадвалда кўрсатилган.

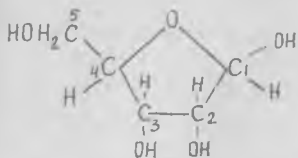
2-жадвал

Нуклеин кислоталарнинг таркиби

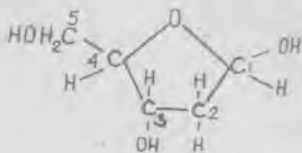
Компонентлар	РНК	ДНК
Фосфат кислота	Фосфат кислота	Фосфат кислота
Углевод- моносахарид пентоза	Рибоза	Дезоксирибоза
Азот асослари	Аденин, Гуанин	Аденин, Гуанин
Пурин асослари	Урацил, Цитозин	Цитозин, Тимин
Пиримидин асослари		

Қуйида бу компонентлар ва уларнинг бирикишидан ҳосил бўладиган *нуклеотидлар* билан танишамиз.

## Рибоза ва дезоксирибоза

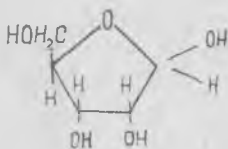


$\beta$  D - Рибоза



$\beta$  D - дезоксирибоза

Бу иккала моносахарид ҳам бешта углерод атоми тутадиган пентозалар бўлиб, альдегид группа сақлаганидан альдопентозалар қаторига киради ва фураноза структурасига эга. Улар орасидаги фарқ фақат иккинчи углерод атомига тегишли. Рибозада 2-углерод ОН билан боғланган, дезоксирибозада ОН группа ўрнида Н атоми туради, яъни 2-углерод О атомидан маҳрум, шунинг учун ҳам унинг номига «дезокси» префикси қўшилган.

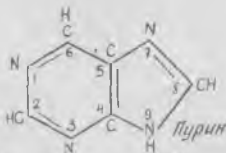


Пентоза  $\beta$ -D-рибоза

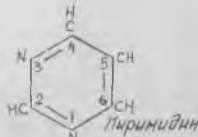
Қўпинча бу структуралар ёзилганда углерод атомлари ҳалқада кўрсатилмайди.

## Азот асослари — пуринлар ва пиримидинлар

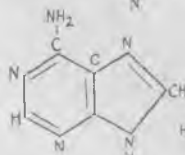
РНК ва ДНК таркибига кирадиган азот асослари — пуринлар — аденин (А) ва гуанин (Г, G) ва пиримидинлар — цитозин (Ц, C), тимин (Т) ва урацил (У, U) дир. Уларнинг структураси ва систематик номлари қуйида келтирилган:



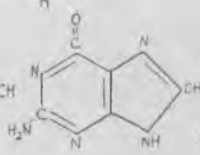
Пурин



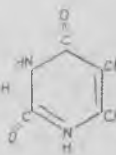
Пиримидин



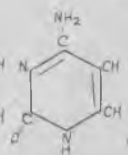
Аденин (А)  
6-аминопурин



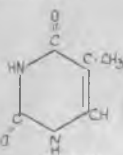
Гуанин (Г, G)  
2-амино-6-окси-  
пурин



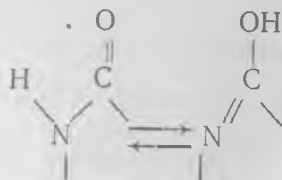
Урацил (У)  
2,4-диоксипиримидин



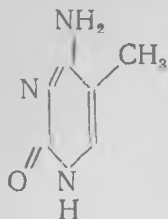
Цитозин (Ц, C)  
2-окси-4-амино-  
пиримидин



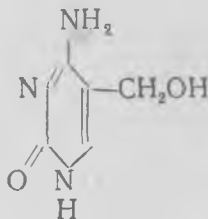
5-метил-  
2,4-диоксипиримидин



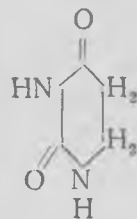
Улар учун кето-енол таутомерия (69- бет пастдаги) маълум. Асосий азот асосларидан ташқари, нуклеин кислоталар таркибида кам миқдорда бир нечта сийрак *минор асослар* ҳам учрайди. Улар қаторига ДНК таркибида топилган 5- метилцитозин, 6-метиладенин, 5-гидроксиметилцитозин, транспорт РНК да топилган тиоурацил, дегидроурацил, нуклеотид, псевдоуринлар киради:



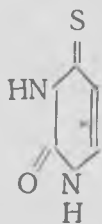
4- метилцитозин



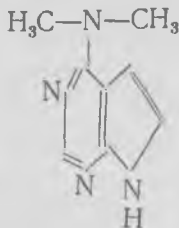
5- гидроксиметил-  
цитозин



Дигидроурацил



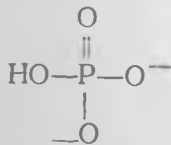
6- тиоурацил



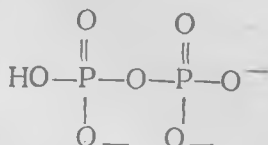
6- диметиладенин

### Фосфат группа

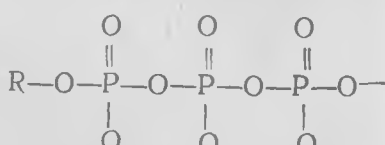
Нуклеотидлар таркибига ортофосфат киради. У молекулада битта (моно-), иккита (ди-) учта (три-) бўлиши мумкин.



анорганик  
фосфат (аР)



анорганик  
пирофосфат (pp)

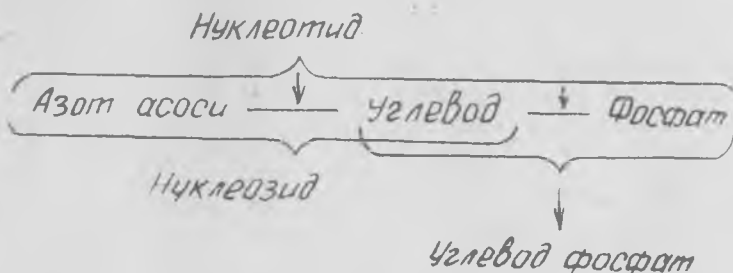


трифосфат

### Нуклеотидлар структураси

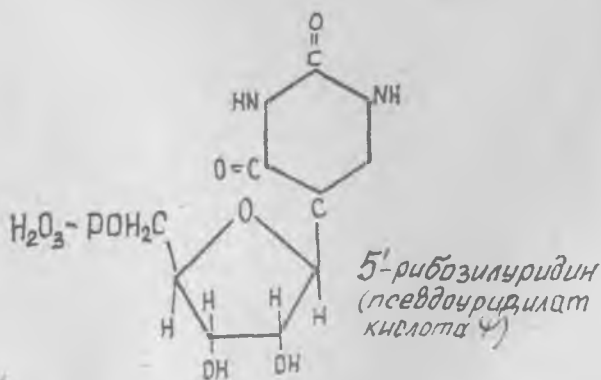
Нуклеотидлар структурасига азот асоси, углевод қолдиғи ва фосфат кислота киради. Учта компонент молекулада: А — У — Р тартибда жойлашган. Нуклеотидни икки хил гидролизлаш

йўли билан бу тартибни аниқ тасдиқлаш мумкин. Биринчи хил гидролизда углевод билан фосфат кислота орасидаги боғ узилиб, азот асоси ва углеводдан иборат гликозид ҳосил бўлади. Иккинчи хил гидролизда азот асоси эркин ҳолда ажралиб, углевод билан фосфат кислотадан иборат моносахарид фосфат ҳосил бўлади. Демак, нуклеотид молекуласида углевод ўртада жойлашган:



Нуклеотид таркибидаги азот асослари ва углевод компонентларидаги атомларни аниқ белгилаш мақсадида рибоза ва дезоксирибоза молекуласидаги углерод атомлари номерлари устига штрих қўйилади. Нуклеозидлар таркибидаги азот асоси номига қараб аденозин, гуанозин, уридин ва цитидин, ДНК да учрайдиган дезоксирибозонуклеотидлар дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин ва тимидин деб аталади. (Тимидин номида дезокси олд қўшимчаси йўқлигининг сабаби тимин рибоза билан ҳосил қилган нуклеотид деярли учрамайди.)

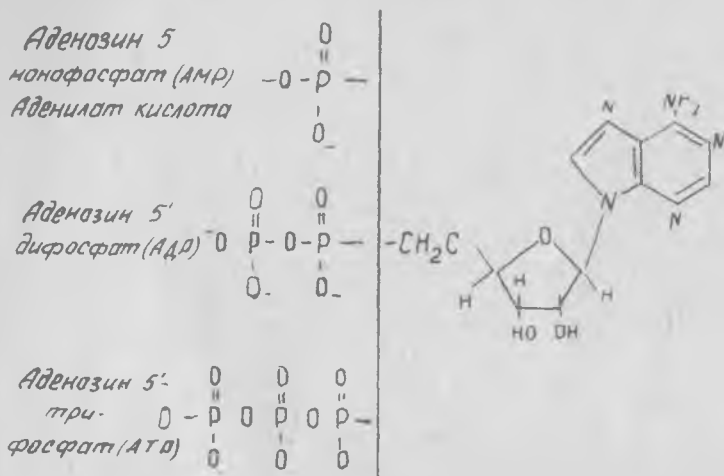
Нуклеотидлар молекуласидаги углевод (рибоза ёки дезоксирибоза) ўзининг 1-углерод атоми билан пурин асосларнинг 9-, пиримидин асосларнинг 1-азотига бириккан. Юқорида айtilган псевдоуридилат кислота бундан мустаснодир. Унинг молекуласида рибозанинг 1'-углероди урацилнинг 1-азоти билан эмас, балки 5-углерод атоми билан бириккан:



Нуклеозид нуклеотид молекуласининг фрагментири. Унга фосфат кислота бирикиши билан нуклеотид ҳосил бўлади. Фос-

фат кислота қолдиги нуклеозиднинг углевод компонентини 5-углеродига бирикади. Бириккан фосфат кислота қолдиқларининг сонига қараб нуклеозидмонофосфат, нуклеозиддифосфат, нуклеозидтрифосфатлар фарқ қилинади. Нуклеотидларнинг бу уч хили доим ҳужайрада мавжуд.

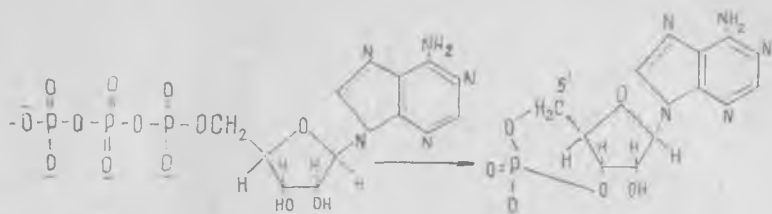
Нуклеотидлар номенклатураси икки хил асосда тузилиши мумкин, уларни нуклеотидларнинг фосфат эфири сифатида қаралганда, аденозин унумларини аденозин 5'-монофосфар (АМР), аденозин 5'-дифосфат (АДР), аденозин 5'-трифосфат (АТР) деб аталади. Ёки кислотали фосфат группаси бўлганидан уларни нуклеозидларнинг кислота унумлари сифатида аденилат дезоксиаденилат, уридилат, тимидилат кислоталар деб аталади.



#### 4.2.2. Аденозинтрифосфатнинг ҳужайра энергетикасидаги роли

Нуклеозид 5'-трифосфатлар биринчи навбатда нуклеин кислоталар синтези учун зарур. Улар полинуклеотид занжирининг ҳалқаларини ташкил қилади. Бундан ташқари, жуда кўп каталитик реакцияларда кофермент сифатида иштирок этади. Барча трифосфонуклеотидлар орасида аденозин 5'-трифосфат алоҳида аҳамиятга эга. Ундан аденилатциклаза ферменти таъсирида 3', 5'—циклик аденилат (3', 5'—циклик аденозин монофосфат) ҳосил бўлади. Бу циклик нуклеотид биологик актив моддалар, асосан гормонлар таъсирининг элчиси сифатида ҳужайра метаболизмини идора қилишда ҳал қилувчи роль ўйнайди. Циклик АМР дан ташқари, 3', 5' циклик гуанозин монофосфат (цГМР) ҳам гормон элчиси сифатида биохимиявий жараёнларни ростлаб туришда иштирок этади ва кўпинча цАМР га нисбатан тескари таъсир кўрсатади.



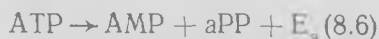


Аденозинтрифосфат (АТФ)

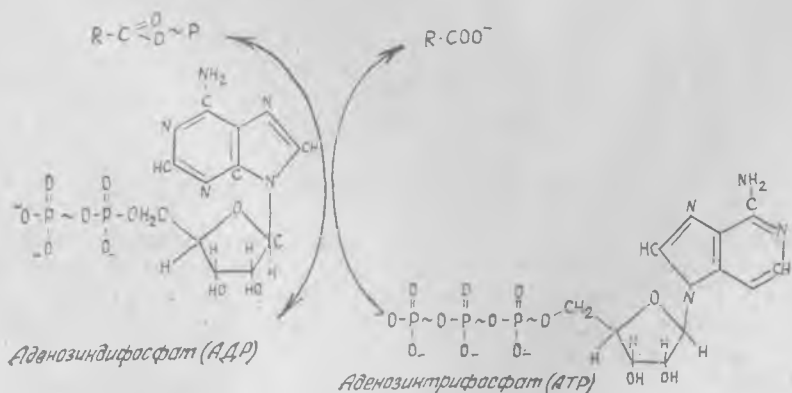
3'5'циклик аденозин  
монофосфат (цАМФ)

Лекин аденозинтрифосфатнинг биоэнергетик жараёнлардаги ўрни унинг барча функцияларидан бениҳоя юксак туради. АТФ барча тирик ҳужайраларда энергияни сақловчи ва ташувчи молекула вазифасини бажаради. АТФ нинг бундай ажойиб ўзига хос функцияси унинг таркибидаги фосфат кислота қолдиқлари орасидаги химиявий боғлар юксак энергияли боғ бўлиши, яъни улар узилганда оддий химиявий боғлар узилганига қараганда 4—5 марта ортиқ энергия ажралишига боғлиқ. АТФ молекуласида бундай боғлардан иккита, АДФ да битта бор. Бундай боғлар тўлқинли чизиқ билан кўрсатилади. АТФ нинг парчаланishi энергия ажратиш билан кузатилади, у синтезланиши учун энергия сарфланиши зарур:

Гидролиз  $ATP \rightarrow ADP + aP + E$  (7.0);  $E_0$  — эркин энергия (ккал ларда)



Синтез учун зарур энергияни энергияга бой бошқа молекула етказди, масалан, ацилфосфатлар.



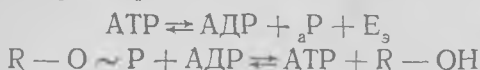
Аденозиндифосфат (АДФ)

Аденозинтрифосфат (АТФ)

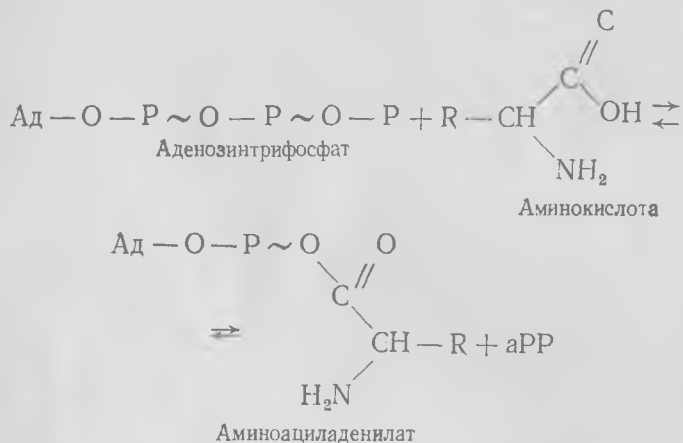
АТФнинг юксак потенциали группалар бир молекуладан иккинчисига кўчирилганда ортофосфат, пирофосфат қолдиқлари билан бирга узатилади; бундай кўчириш реакцияларида АТФ парчаланиб, эркин анорганик фосфат ёки пирофосфат ҳосил

булмайди ва энергия ажралиб иссиқлик шаклида ёйилмайди. Хужайрада энергияга бой булган бирикмалар (ёғ кислоталар, углеводлар) парчаланганда ажраладиган энергия макроэргик боғ шаклида оралиқ маҳсулотларда ушланади ва АДР фосфорирланиб (анорганик фосфат бириктириб) АТР ҳосил қилиши учун сарфланади. Шундай қилиб, хужайрада химиявий энергия алмашинувининг универсал йўли макроэргик фосфатни кўчириш ва анорганик фосфатни боғлашга асосланган.

Оксидланиш реакцияларининг энергияси ҳисобига анорганик фосфатнинг боғланиши фосфорловчи оксидланиш деб аталади, у митохондрияларда кечади:



АТР нинг юксак потенциали яна АМР қолдиғини кўчириш билан кечадиган турли синтетик реакцияларда сарфланади. Бу жараён синтетаза (фосфокиназа) ферментлари иштирокида пирозинкислота ажралиши билан боради:



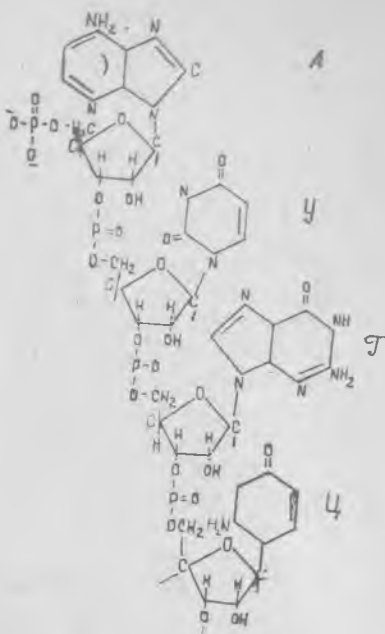
#### 4.2.3. Полинуклеотидларнинг тузилиши

Нуклеин кислоталар химиявий тузилиши бўйича молекуляр массаси 20000 дан бир неча миллионгача булган полинуклеотидлардир. РНК ДНКга нисбатан анча содда, молекуляр массаси ҳам кичикроқ, таркибига кирадиган мононуклеотидлар сони 70 дан 100 минггача, ДНК да эса 100 миллионгача етади.

Полинуклеотид молекуласида мононуклеотидлар ўзаро фосфат кислота орқали боғланган. Фосфат группа иккита қўшни нуклеотидларнинг углевод қолдиқларини 3'- ва 5'-атомлари билан эфир боғлари ҳосил қилганидан у 3'-5' фосфодиэфир боғ деб аталади. Полинуклеотид занжир шохланмаган узун тузилма ҳосил қилганидан унинг бир учиди эркин 5' ОН, иккинчи

учида эркин 3' OH бўлади. Полинуклеотидларда мононуклеотидларнинг бирин-кетин келиши (изчил жойлашуви) унинг бирламчи структурасини ташкил қилади. Уни аниқлаш жуда ҳам муҳим ва катта қизиқиш туғдиради, чунки нуклеотидларнинг нуклеин кислота молекуласидаги жойлашиш тартиби химиявий код бўлиб, уларнинг биологик функциясини ифодалайди.

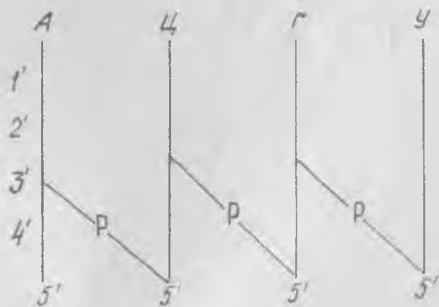
Бу схемада тетрануклеотид формуласи келтирилган, чапда 5'-учи фосфат группа тутати, ўнг учида 3'-углерод эркин OH группа тутати. Полинуклеотид занжири узун бўлганда унинг формуласини бундай тўла ёзиш анча машаққатли иш. Шунинг учун нуклеин кислотанинг формуласини қисқартирилган шаклда ёзиш қабул қилинган. Бунда ҳар бир нуклеотид битта бош ҳарф билан ифодаланади: N — умуман нуклеотид; A, Г, Ц, У, Т (A, G, C, U, C) — цитозин, У (U) — урацил, Т (T) — тимин. Бунда фосфат (P) — конкрет нуклеотидлар: A (A) — аденин, Г (G) — гуанин, Ц (C) — цитозин, У (U) — урацил, Т (T) — тимин. Бунда фосфат (P) — конкрет нуклеотидлар: A (A) — аденин, Г (G) — гуанин, Ц (C) — цитозин, У (U) — урацил, Т (T) — тимин. Бунда фосфат (P) — конкрет нуклеотидлар: A (A) — аденин, Г (G) — гуанин, Ц (C) — цитозин, У (U) — урацил, Т (T) — тимин.



Яна ҳам соддароқ ёзилганда у қуйидаги кўринишда бўлади:



Нуклеин кислоталарнинг бирламчи структурасини ўрганиш ҳозирги вақтда жуда ҳам такомиллаштирилган ва автоматлаштирилган. Аввало РНК ва ДНК ни ҳужайралардан, ҳужайрадан кичик фракциялардан ёки вируслардан ажратиб олиш, тозалаш усуллари ишлаб чиқилди. Нуклеин



кислоталар таркибида фосфат кислота бўлганидан улар кислота хоссасига эга ва физиологик шароитда манфий зарядланган бўлади. Ҳужайрада улар мусбат зарядга эга оқсиллар (асосан гистонлар) билан бирикиб, нуклеопротеид шаклида учраганидан биологик материал майдаланган (гомогенлаштирилган)дан сўнг нуклеин кислотанинг оқсил билан ҳосил қилган комплекси бузилади. Бунинг учун майдаланган материал NaCl нинг кучли эритмаси ёки фенол билан ишланиб, ажралиб чиққан нуклеин кислота этанол билан чўктирилади. Бу жараён оқсилни денатурлайдиган компонент (масалан, натрий додецил сульфат ёки натрий салицилат) иштирокида ўтказилса, центрифугалашда денатурланган оқсил фенол фазасида, нуклеин кислоталар эса сув муҳитида қолади. Сўнгра нуклеин кислоталар совуқда этанол билан чўктирилади.

Ҳозирги вақтда РНК билан ДНК аралашмасини компонентларга ажратиш учун ион алмашинувчи, адсорбцион, гел—ичига кирадиган ва аффин хроматография ва концентрация градиентида ультрацентрифугалаш усуллари қўлланилади. Бу ва бошқа (масалан, гибридизация) усуллар амалий қўлланмаларда батафсил келтирилади.

#### 4.2.4. Нуклеин кислоталарнинг нуклеотид таркиби

Нуклеин кислоталарда азот асослари — А, Г, Ц, У, Т ларнинг процент нисбатини ўрганиш бир қатор муҳим кашфиётларга олиб келди. Полинуклеотидлар таркибидаги нуклеотидларни аниқлаш учун нуклеин кислота тўла гидролиз қилиниб, ҳосил бўлган нуклеотидлар хроматографик усулда (одатда, ион алмашинувчи устунчада) анализ қилинади. Полимерни мономерларга парчалаш учун нуклеин кислоталар гидролизини катализловчи нуклеазалар деб аталадиган ферментлардан фойдаланилади.

Ҳар бир РНК ва ДНК молекуласи аёни нуклеотидлар таркибига эга бўлса ҳам, бу унинг структурасини ягона ўзига хос (уникал) характеристикаси эмас. Нуклеин кислотанинг ўзига хослигини фақат таркибидаги асосларнинг изчил жойлашуви ифодалайди. Аммо ДНК молекулалари нуклеотидлари таркиби учун уларнинг ажратиб олинган манбаидан қатъи назар муҳим умумий қонуниятлар маълум: уларнинг нуклеотид таркиби юқорида келтирилган Чаргафф қоидаларига бўйсунди, яъни ДНК молекулаларида:

1. Пурин асослари (А+Г) сони пиримидин асослари (Ц+Т) га тенг, яъни пуринларнинг пиримидинларга нисбати бирга тенг.

2. Аденин қолдиқларининг сони тимин қолдиқлари сонига тенг, яъни адениннинг тиминга нисбати бирга тенг ( $A/T=1$ ).

3. Гуанин қолдиқларининг сони цитозин қолдиқлари сонига тенг, яъни гуаниннинг цитозинга нисбати бирга тенг ( $G/C=1$ ).

Бу қоидалар ДНК молекуласининг фазодаги структурасини аниқлашда ҳал қилувчи аҳамиятга эга бўлади.

### 4.3. Нуклеазалар

Нуклеин кислоталардаги нуклеотидларнинг жойлашиш тартибини аниқлашда асосан полинуклеотидларни гидролитик парчалайдиган *нуклеаза* (ёки яна *фосфодиэстераза* деб аталадиган) ферментлардан фойдаланилади. Нуклеазалар тирик ҳужайраларда жуда муҳим функцияларни бажаради, илмий тадқиқотларда ДНК ва РНК нинг нозик тузилиши, уларни ўзгартиришда, хромосомаларнинг генетик харитасини тузишда ажойиб ускуна сифатида қўлланади. Нуклеазаларнинг жуда муҳим спецификлигидан фойдаланиб полинуклеотид занжирни деярли хоҳлаган жойидан кесиб, олдиндан белгиланган фрагментларини олиш мумкин. Бундай нозик ишни бажаришда нуклеазаларнинг *рестриказалар* деб аталадиган, кейинги йилларда кашф этилган бир гуруҳи жуда ҳам қулай келди. Рестриказалар бактерия ҳужайраларида уларни емирувчи вирусларга қарши курашида муҳим қуролдир. Улар *рестрикция эндонуклеазалар* деб ҳам аталади ва нуклеотидларнинг тегишли тартибига нисбатан специфик ва фақат маълум боғларгагина таъсир этади. Ҳозирги вақтда турли бактериялар ҳужайрасидан бир неча юз рестрикцияловчи эндонуклеазалар топилган.

Рестриказаларнинг бундай аниқ таъсир механизми лаборатория шароитида ДНК молекуласини маълум боғлар бўйича парчалаб специфик фрагментларни кичик йиғимини олиш имконини беради. Китобнинг 113—115-бетларида бу ажойиб ферментлар гуруҳи ҳақида қўшимча маълумот берилган.

Нуклеазалар фосфодиэфир боғни Р атомининг четигаги ёки ичкариги нуклеотид томонидан узишига қараб, эндо- ва экзонуклеазалар туркумига бўлинади. Нуклеин кислоталарни ўрганишда қўлланиладиган специфик нуклеазаларнинг кўпчилиги турли бактериялардан ажратиб олинган.

РНК нинг бирламчи структурасини аниқлашда асосан экзонуклеазалар ёрдамида полинуклеотид занжирининг бир учидан айрим нуклеотидларни бирин-кетин гидролизлаш йўли билан ажратиш ҳал қилувчи роль ўйнайди. 1965 йили Холли ходимлари билан биргаликда шу йўл билан биринчи бўлиб энг кичик нуклеин кислоталардан бири — 77 нуклеотиддан тузилган аланин транспорт РНК сининг бирламчи структурасини аниқлаган. Мана шу усулдан фойдаланиб, аввал 70—120 нуклеотиддан тузилган транспорт нуклеин кислоталар ва рибосома нуклеин кислоталардан бир тип  $5S$  РНК лар, сўнгра катта РНК молекулаларининг бирламчи структураси ҳам аниқланган. ДНК ва катта РНКлар структурасини аниқлашда аввало молекула танлаб олинади ва бир нечта рестриказалардан фойдаланиб, 100—200 нуклеотидлардан иборат кичик фрагментларга бўлинади.

Фрагментлар узунлигига қараб электрофарез ёрдамида ажратиб олинади ва улардаги нуклеотидлар тартиби аниқланади. Нуклеин кислоталарда асосларнинг изчил келишини аниқлаш усули Сенгер ва Гельберт томонидан мукамал ишлаб чиқилган. Бу усул РНК ва ДНК полипептид занжири қанча узун бўлмасин, унинг тузилишини батафсил ўрганиш имконини беради. Бу олимлар ўз кашфиётлари учун 1980 йили Нобель мукофотига сазовор бўлганлар.

#### 4.4. ДНК структураси

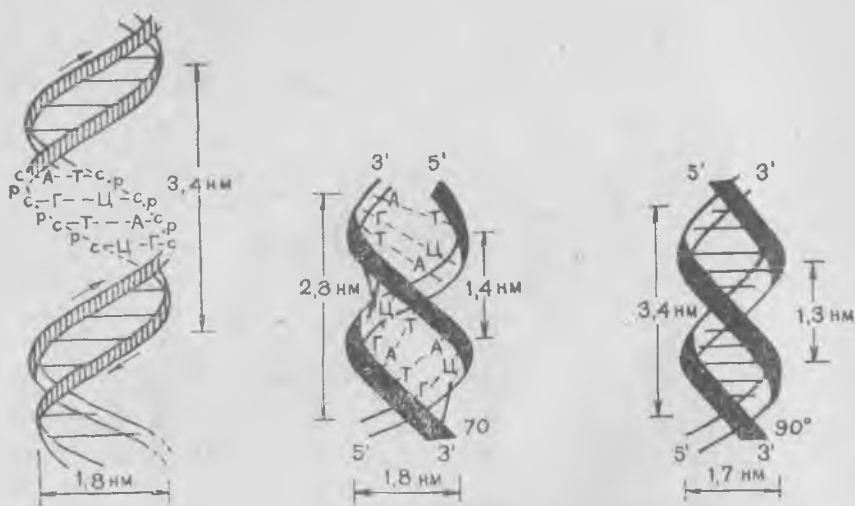
Дезоксирибонуклеин кислота барча тирик организмларда ва бир қанча вирусларда бўлади. У генетик (ирсий) ахборотни сақлайди ва наслдан-наслга ўтказилади. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши энг содда тирик организмлар — прокариотларда тўла-роқ ўрганилган. *Прокариотлар* қаторига бактериялар, кўк яшил сувўтлар, микроплазмалар киради. Уларда мембрана билан чегараланган ядро бўлмайди, бир донагина хромосомаси бўлиб, у ягона ДНК молекуласидир.

ДНК молекуласининг бирламчи структураси изчил жойлашган дезоксирибозонуклеотидлар қаторидан иборат. Юқорида айтилганидек, азот асосларидан ДНК таркибига А, Г, Ц ва Т киради, ДНК молекуласидаги нуклеотидлар нисбати Чаргафф қондасига мувофиқ бўлади. Лекин азот асослари миқдори фарқлари АТ ва ГЦ жуфтлари нисбатининг ўзгариши сифатида кенг миқёсда кузатилади. Винобарин, ДНК молекуласида АТ ёки ГЦ жуфтлари тенг эмас, уларнинг бири ортиқ, иккинчиси камроқ (АТ ёки ГЦ — типлари) бўлиши мумкин. Нуклеотиднинг молекуляр массаси ўртача 330 га, қўш нуклеотидники 660 га тенг бўлади.

1950 йилларгача ДНК нинг таркиби ҳақида мана шу жуда кам маълумотларгина тўпланган, уларнинг структураси ҳали бутунлай номаълум эди. 1953 йили ёш инглиз олимлари Уотсон ва Крик ДНК молекуласи қўш спиралли тузилишга эга эканлигини кашф этдилар ва шу кашфиёт билан молекуляр биологиянинг фундаментини яратдилар, чунки қўш спираль модели шу вақтгача номаълум бўлиб келган, биологиянинг энг муҳим муаммоси бўлган ирсий белгиларнинг наслдан-наслга ўтиш механизмини ҳам ечиб берди. ДНК молекуласининг қўш спираль шаклда бўлиши энди бизга табиий ва содда кўринса ҳам, бу ғоянинг туғилиши ДНК ҳақида маълум бўлган маълумотлар: нуклеотидларнинг таркиби ҳақида Чаргафф қондалари, Уилкинс ва Франклин томонидан ДНК нинг рентгенструктура анализ йўли билан олинган рентгенограммаларини синчиклаб ўрганиш ва ДНКнинг молекуляр моделларини кўн марталаб тадқиқ қилишга асосланган машаққатли ишлар яқунидир. Бу буюк ихтиро гениаллик—содалликда деган эски ҳақиқатнинг яққол мисолидир.

Уотсон ва Крик таклиф қилган ДНК нинг қўш спираль

моделига мувофиқ, ДНК фараз этиладиган ўқ атрофида бир-бирига ўралган комплементар, яъни бир-бирига мос келадиган, аммо идентик бўлмаган бурама шакл иккита жиякдан тузилган. Иккита бурама жияк, яъни углевод фосфат занжири ҳосил қилиб, улардан спираль ичига маълум доимий ораликда азот асослар тортилган. Икки жияк қарама-қарши занжирларидаги азот асослари орасида пайдо бўлган водород боғлар орқали бирга ушланиб туради. Занжирлар бир-бирига мос келиши учун бир жиякдаги пурин қаршисида иккинчи жиякда пиримидин бўлиши шарт. Водород боғлар фақат аденин билан тимин ва гуанин билан цитозин орасида ҳосил бўлади, шунинг учун бир жиякдаги асосларнинг тартиби иккинчи жиякда уларнинг изчил келишини белгилайди.

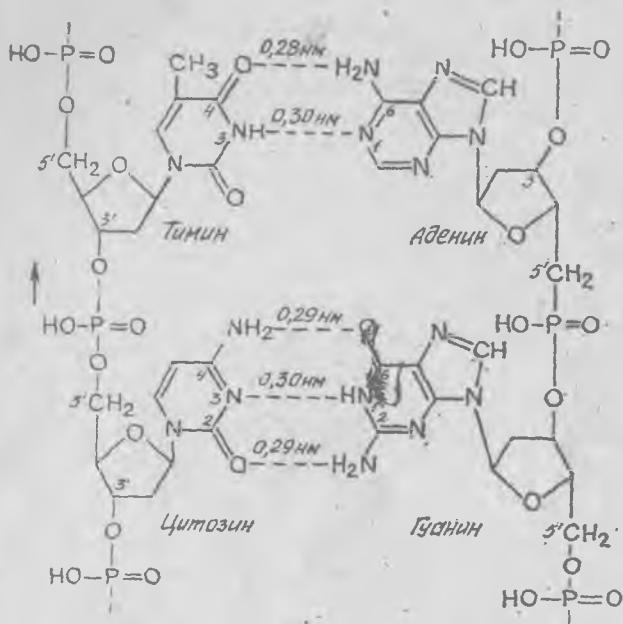


29-расм. ДНК қўш спиралининг схемаси.

Қўшни азот асосларининг ораси ўқ узунасида 0,34 нм га тенг ва уларнинг бири иккинчисига нисбатан 36°га айланган. Бинобарин, битта тўла спираль 10 та қўш асосни ўз ичига олади ва 3,4 нм узунликка тенг бўлади. Спиралнинг диаметри 2,0 нм га тенг. Иккита занжир бир-бирига антипараллель, демак, дезоксирибозалар орасидаги фосфатдиэфир боғ бир жиякда 3' дан 5' га қараб ўқилса, иккинчисида 5' дан 3' га қараб ўқилади.

ДНК молекуласининг бошқа вариантлари ҳам кашф этилган (А ва С шакллари), улар Уотсон ва Крик таклиф қилган шакл деб аталадиган структурадан ўрамадаги қўш асосларнинг фараз этиладиган ўққа эгилиш бурчаги ва уларнинг сони билан бирмунча фарқ қилади. Лекин уларнинг миқдори ва ДНК функциялари бажарилишида ҳиссаси катта эмас.

Юқорида ДНК нинг икки занжирли структураси бурама орасига қаратилган нуклеотидлар ўртасида пайдо бўладиган водород боғлар туфайли ушланиб туради, деб айтган эдик. Асослар орасидаги комплементарлик (мослик, бир-бирини тўлдириш) А ва Т, Г ва Ц ўртасида пайдо бўлиб, бутун занжирлар орасидаги комплементарликни таъминлайди. А ва Т қўш асослар иккита, Ц ва Г — учта водород боғлар туфайли турғунликка эга бўлади:



ДНК занжирида бундай комплементарлик қуйидагича ёзилади:

А	Т	Г	Ц	Г	Г	Ц	А	Г	Ц	Т	Т	А
Т	А	Ц	Г	Ц	Ц	Г	Т	Ц	Г	А	А	Т

Баъзи вируслар ДНК си якка занжирли тузилишга эга. Якка ва қўш занжирли ДНК молекулалари икки учи уланган ҳалқа шаклида ҳам бўлади. ДНК нинг бундай хили асосан бактерияларда ва митохондрияларда мавжуд.

ДНК нинг молекуляр массаси уни ажратиб олиш усулига боғлиқ, чунки экстракция қилиш жараёнида молекулалар осонлик билан парчаланиб кетади. Энг катта молекуляр масса тахминан  $10^9$  (тахминан  $2 \cdot 10^6$  қўш асослар) га тенг, чунки  $\frac{10^9}{2 \cdot 10^6} = 660$  (қўш асосларнинг ўртача молекуляр массаси), аммо ичак таёқчасининг ҳалқали хромосомасининг аниқланган молекуляр массаси  $2,8 \cdot 10^9$  (тах-



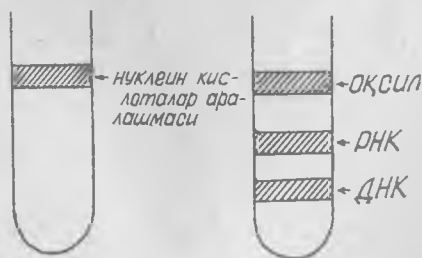
минан 3 дан 4 гача  $10^6$  қуш асослар) га тенг бўлиб чиқди. Сут эмизувчилар ДНКсининг молекуляр массаси анча кичик (тахминан  $10^6$ ); аммо бу уларни хромосома оқсилларидан ажратиш олиш қийинлигига боғлиқ бўлса керак. Якка хромосоманинг ДНК си якка гийант ДНК занжири ва ичак таёқчасиникидан 10—20 марта узун деб қабул қилишга генетик асослар бор. Ичак таёқчасининг узунлиги тахминан 1,5 — 2 мкм, митохондрияларники 0,5—2 мкм га тенг.

Эукариот ҳужайралар ДНК сининг 95% ядрога жойлашган бўлиб, у ерда оқсиллар билан боғланган шаклдаги хромосомалар ҳосил қилади. Митохондриялар ва хлоропластларда ҳам ДНК мавжуд (экстрахромосомал ДНК); митохондрия ДНК си умумий ДНК нинг 1—2%, хлоропластлар ДНК си эса 5% га яқинни ташкил қилади. Ҳужайралардаги ДНК миқдори турли организмларда кенг миқёсда фарқ қилади, аммо муайян организмнинг барча ҳужайраларида бир хил бўлади (фақат соматик ҳужайралардаги миқдорининг ярмини тутадиган гаплоид жинсий ҳужайраларгина бундан мустасно).

#### 4.4.1. ДНК нинг физик-химиявий хоссалари

ДНК молекуласи ядрога жуда зич жойлашган бўлади. Унинг турли аралашмаларини бир-биридан ва РНК дан ажратиш ва умуман тиғизлигини аниқлаш учун сахароза ёки цезий хлорид эритмаларининг тиғизлик градиенти (фарқи)да центрифугалашдан фойдаланилади. Бунинг учун сахароза эритмасини центрифуга пробиркасида катта тезликда айлантириб, пробирка бўйича концентрациялар фарқи ҳосил қилинади. Иккинчи вариантда градиент олдиндан яратилмайди. CsCl ни центрифугалаш жараёнида узлуксиз тиғизлик градиенти ўзи шаклланади. Энди пробиркадаги эритма устига нуклеин кислоталар аралашмаси солиниб центрифугалаш давом этилса, айрим фракциялар пробиркадаги эритманинг тегишли тиғизлик баландлигида тўхтайдилар. Центрифугалаш тугагандан сўнг ультрабинафша нурларнинг ютилишига қараб фракцияларнинг миқдори белгиланади.

Эритманинг маълум градиентда молекулалар сузиб юриши унинг *сузиш тиғизлиги* дейилади. ДНК молекулаларининг сузиш тиғизлиги 1,69—1,73 орасида ва физик ҳолати ва химиявий таркибига боғлиқ. Аввало маълумки, унинг буюклиги молекуладаги Г+Ц қуш асослар миқдорига мутаносиб. Бу тушунарли, чунки Г—Ц орасида учта водород боғлар бўлиши уларни икки водород боғлар билан бириккан А+Г қуш асосдан



30- расм. Нуклеин кислоталарни тиғизлик градиентда ажратиш.

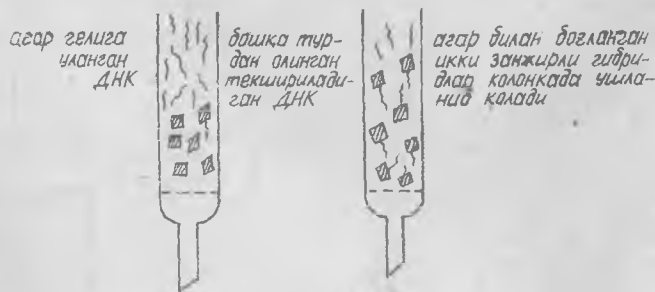
тиғизроқ қилади. Иккинчидан, табиий ДНК нинг тиғизлиги денатурланган, яъни иккита занжири тўла ёки қисман ажралиб кетган ДНК дан камроқ бўлади. Хуллас, ДНК нинг сузиш тиғизлигини турли шароитда текшириб, унинг таркиби, денатурация даражаси ҳақида муҳим маълумот олиш мумкин.

ДНК натив ҳолатдан денатурирланган ҳолатга ўтганлигини аниқлашда бир қанча усуллардан фойдаланиш мумкин. ДНК молекуласидаги азот асослари ультрабинафша нурлар зонасида 260 нм да интензив ютиш қобилиятига эга. ДНК занжири бузилганда ютиш кучи ортади. *Гиперхром эффект* деб аталадиган бу феномен денатурация жараёнида нур ютадиган асосларни тўсиб турган структураларнинг четланишига боғлиқ.

Молекуладаги водород боғларини узувчи барча таъсир ДНК ни денатурациялайди. Денатурирловчи агентлардан энг кучлиси иситишдир. ДНК иситилганда, унинг иккита занжири бир-биридан ажралади, ечилади. Бу ҳодиса тор температура доирасида содир бўлганидан уни *юмшаш* дейилади. ДНК нинг 50% денатурирланган температура *юмшаш температураси* деб аталади. ДНК нинг юмшаш температураси азот асосларининг нисбати (Г+Ц ва А+Т) га боғлиқ. Молекулада Г+Ц қўш асослар қанча кўп бўлса, юмшаш температураси ҳам А+Т никидан шунча юқорироқ бўлади, чунки Г+Ц қўш асосида учта иккиталик боғ бор.

Тез қизитиш билан денатурирланган, яъни иккита занжирга ажратилган ДНК секин совитилса, ажралган занжирлар қайтадан бирикиб, қўш занжирда ДНК ни ҳосил қилади. Бу ҳодиса *ренатурация* деб аталади. Турли занжирлар ўзаро комплементарлик асосида бирикиши мумкин, бирикиш даражаси уларнинг гомологиясига боғлиқ. Бир ДНК молекуласининг иккита занжири тўла бирикади, чунки улар 100% бир-биринга гомологдир.

ДНК нинг бир занжири билан унинг транскрипти (яъни унинг асосида транскрипция қилинган РНК) ҳам тўла бирикади. Бу жараён дурагайланиш (чатишиш) деб аталади. Демак, иккита занжир орасида гомология қанча яқин бўлса, дурагайла-



31-расм. Дурагайлаш (гибридлаш) усулида ДНК молекулаларининг бир хиллигини аниқлаш.

ниш ҳам шунча тўла бўлади. Буни дурагайлаш усули ёрдамида аниқлаш қабул қилинган. Бу усул бўйича нуклеин кислоталарнинг иккита занжири ўртасидаги гомологиянинг нисбати бу занжирлардаги нуклеотид асосларнинг комплементарлигини текшириш йўли билан белгиланади. Бунинг учун денатурирланган (бир занжирли) ДНК агар пластинкасига улашиб, колонкага киритилади. Энди шу колонкага бошқа турдан олинган нишонланган ДНК ёки матрица РНК эритмаси қўшилади. Комплементарлик асосида ҳосил бўлган дурагайлар агарли колонкада ушланиб қолади, боғланмаганлари ундан ўтиб кетади. Ушланиб қолган радиоактивликнинг миқдори гомология даражасини кўрсатади. Дурагайлаш усули илмий тадқиқот учун, практика учун ҳам катта аҳамиятга эга. Бу усулдан фойдаланиб, молекулаларнинг, улар олинган турларнинг генетик яқинлик даражасини аниқлаш мумкин.

#### 4.5. РНК нинг типлари ва учраши

Бажарадиган функциясига қараб, РНК лар асосан уч синфга бўлинади: мессенжер (элчи) — информацион РНК (м-РНК), рибосомал РНК (р-РНК) ва транспорт (ташувчи) РНК (т-РНК). Улар ҳам иккиламчи ва учламчи структурага эга. Вируслар РНК си м-РНК га жуда ўхшаш бўлади.

Эукариот ҳужайраларда РНК ядро, цитоплазмада ва цитоплазма органеллалари (рибосома, митохондрия, хлоропластлар)да бўлади. Ядро РНК синтезланадиган асосий жойдир. Барча РНК типларининг функцияси тирик ҳужайрада ДНК да ёзилган генетик информацияни маълум ўзгаришлар билан кўчириб олиб (дезоксирибоза ўрнига рибоза, тимин ўрнига урацил), алмаштириб оқсил синтез қиладиган жойга (рибосома-ларга) етказиш ва оқсил синтези жараёнида шу информацияни амалга ошириш (трансляция), таржима қилишга қаратилган.

Ичак таёқчасида РНК сининг типлари қуйидаги нисбатда бўлади: м-РНК ~ 2, т-РНК ~ 16% ва р-РНК ~ 82%.

3-жадвал

#### РНК нинг типлари

РНК ларнинг хоссалари				
Синф	Седиментация тезлиги	Молекуляр массаси	Нуклеотид қолдиқларининг тахминий сони	РНКнинг ҳужайрадаги умумий миқдори (%)
м-РНК	6—25 s	25000—1000000	75—3000	~2
т-РНК	4	23000—30000	73—93	~16
р-РНК	5	35000	100	~82
	16	550000	1500	
	23	1100000	3100	

РНК нинг ҳар уч типи ҳам оқсил синтезида иштирок этади, лекин уларнинг ҳар бирининг бу жараёнда махсус, такрорланмас функцияси бор.

Эукариот ҳужайраларда РНК нинг бошқа типлари ҳам топилган, лекин уларнинг функцияси ҳали аниқланган эмас, шунинг учун уларнинг белгилари ҳам йўқ. Уларнинг баъзилари ядрода, бошқалари цитоплазмада учрайди.

РНК турли типларининг функциясини қуйидагича тасвирлаш мумкин:



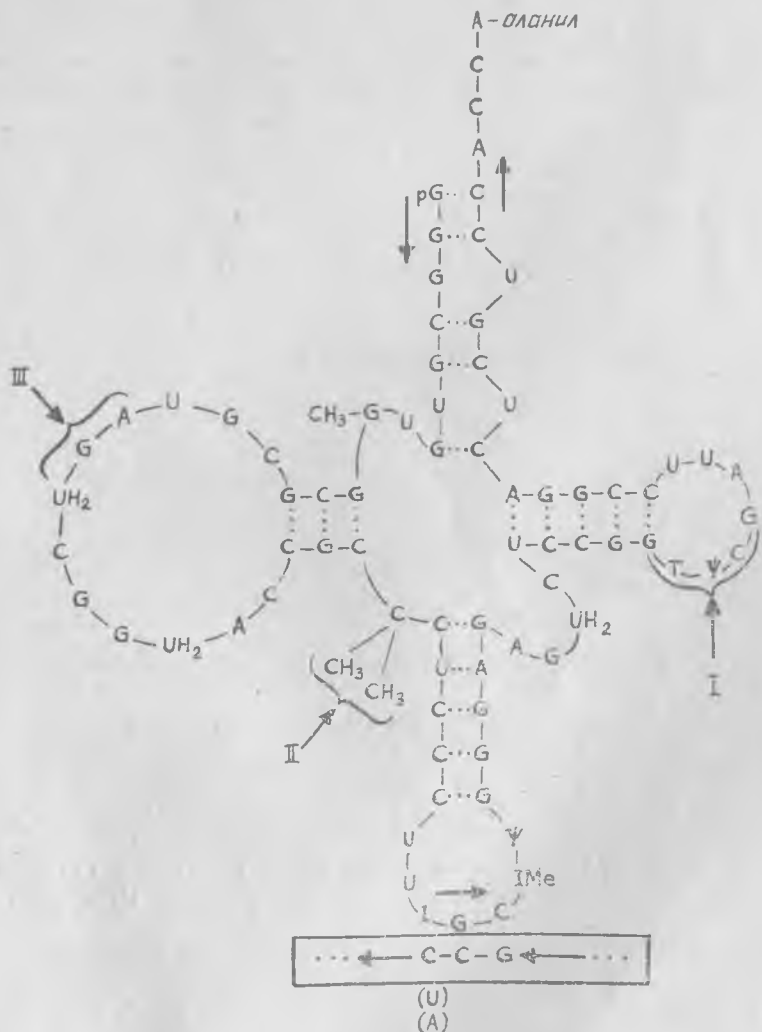
32-расм. РНК типларининг функцияси.

**Матрица РНК си.** РНК нинг бу типи информацион РНК деб ҳам аталади. У транскрипция жараёнида ДНК нинг занжирларидан бирида ҳосил бўлиб, унинг айрим бўлагининг аниқ нухасини ташкил қилади, фақат углевод компоненти бўйича фарқ қилади (дезоксирибоза ўрнига рибоза) ва тимин ўрнига урацил тутади. РНК нинг бу типи ДНК даги информацияни ташувчиси бўлгани учун информацион РНК (и-РНК) деб аталса, матрица РНК си м-РНК номи билан юритилиши оқсил синтезида матрица (қолип, андаза) сифатида хизмат қилгани учун берилган. Информацион РНК энг узун РНК ва унинг умри жуда қисқа: синтезланган жойи — ядродан цитоплазмага ўтиб рибосомага жойлашади ва полипептид занжир учун матрица бўлиб хизмат қилади.

**Транспорт ва рибосома РНК лар** — т-РНК лар энг кичик РНК бўлиб, барча тирик ҳужайраларда мавжуд ва оқсил синтези учун зарур компонентдир. Турли т-РНК лар 70 дан 85 гача мононуклеотидлар тутади, ўртача молекуляр оғирлиги 25 000. Ҳар бир ҳужайрада ҳар бир аминокислота учун камида битта т-РНК мавжуд. Битта ҳужайрада 50 дан 70 гача т-РНК бор, бинобарин, битта аминокислота учун иккита ёки кўпроқ, лекин специфик т-РНК тўғри келади. т-РНК кўп турларининг шакли органелларларга, келиб чиқиш манбаига боғлиқ. т-РНК нинг келиб чиқиши ва спецификлиги унинг ёзилишида кўрсатилади, масалан, т-РНК<sup>вал</sup> — валин т-РНК си, РНК<sup>вал</sup> ачитқи — унинг ачитқидан олинганини кўрсатади.

50 дан ортиқ турли т-РНК ларнинг бирламчи структураси

аниқланган. Энг биринчи бўлиб ачитқининг аланин т-РНҚ си 1965 йил Холлэй томонидан кашф этилган эди. Унинг таркибида бир нечта нодир нуклеотидлар мавжуд бўлиши улар изчил жойлашувини аниқлашни қулайлаштиради. Бирламчи структурада қўш асосларнинг максимал бўлиши, беда барги номи билан маълум иккиламчи структурани беради. Бу структуранинг бир қатор характерли белгилари бор. Уларда учта ҳалқа ва тўртта устунча мавжуд. Антикодон ҳалқаси махсус аминокислотага мос келадиган учта нуклеотид триплет тутади. т-РНҚ ўзининг антикодони билан матрицанинг кодониға бирикади.

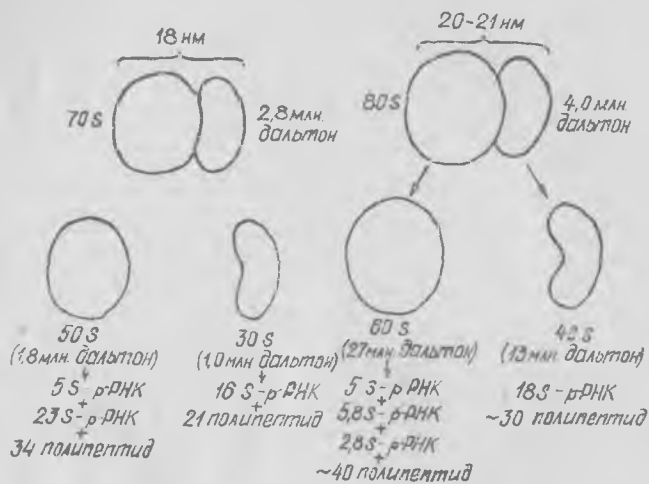


33- расм. т-РНҚ молекуласининг беда барги модели.

Иккинчи ҳалқада тимин-псевдоуринин ( $\Psi$ ) нуклеотидлар ва дигидроурининли ҳалқада дигидроуринин учрайди.

Оқсил синтезининг асосий ўрни бўлган рибосомалар иккита субъединица (кичик бўлақлар) дан тузилган. У жуда ихтисослашган мураккаб тузилма. Унинг диаметри тахминан 200 Å (20 нм), *E. coli* рибосомаси энг яхши ўрганилган, унинг массаси 2500кД, седиментация коэффиценти 70S.

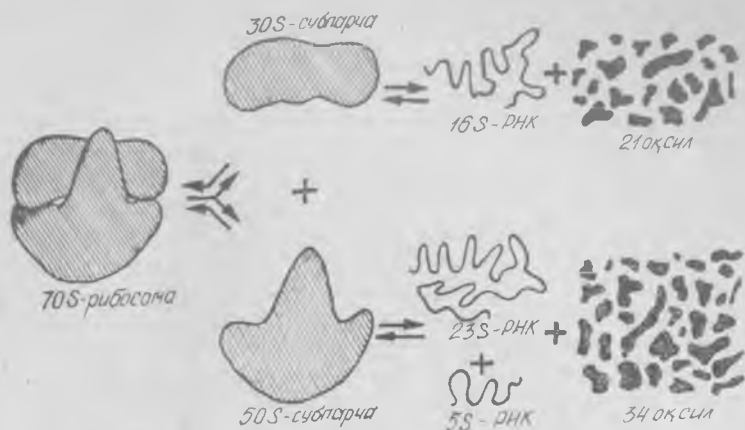
Эукариот ҳужайралар цитоплазмасининг рибосомалари бир оз йирик бўлади. Интакт эукариот рибосоманинг седиментация коэффиценти 80S, у диссоциланганда 60S ва 40S субъединицалар ҳосил қилади. Кичик бўлақча 18S РНК, катта бўлақча эса учта: 28S, 7,8S (анъанага кўра у 5,8S РНК деб белгиланиб келади) ва 5S РНК молекулалари тутади. 34-расмда прокариот ва эукариот рибосомаларнинг характеристикаси келтирилган.



34- расм. Прокариот ва эукариот рибосомаларнинг схем атик тузилиши.

Интакт комплекс кичик бўлак (субъединица) ларга диссоцилани, уларнинг ўзи эса РНК ва оқсил молекулаларига ажралади. Рибосомалар таркибига кирадиган барча оқсил ва рибосома молекулаларининг бирламчи структураси тўла ўрганилган: 5S р-РНК 120 мононуклеотид, 16S р-РНК 1542 та ва 23S р-РНК 2904 та нуклеотид тутади. Улар рибосома каркасини тузишдан ташқари, оқсил молекулалари билан специфик муносабатда бўлади.

Рибосома таркибидаги бу компонентлар, шу жумладан, оқсил молекулалари ҳам фақат биттадан нусхада мавжуд. Шубҳасиз, рибосомалар реконструкцияси ҳужайрада кечадиган табиий жараён, шунинг учун уни «тўплаш, йиғиштириш» ҳам дейилади. Агар тўла диссоциациядан сўнг компонентлар қайта-



дан йиғиштирилса, улар ўз-ўзидан саранжомланиб, интакт субъекдиницаларни ва сўнгра бутун рибосомани ҳосил қилади.

### ДНК нинг репликацияси ва транскрипцияси

ДНК биосинтези — генлар репликацияси, яъни организм белгиларининг юзага чиқишидир. Гетерополимер бўлган информация макромолекулалар генетик информацияни ўзининг бирламчи структураларида сақлайди ва таъшиди. ДНК молекуласида нуклеотидлар изчил жойлашган бу информация репликация ҳам транскрипцияда амалга ошади. Генетик информациянинг реализация қилиниши ДНК молекуласида нуклеотидлар тартиби шаклида ёзилган буйруқ (кўрсатма)ни оқсил молекуласи синтезида аминокислоталар тартибига айлантиришдан иборат. Информация оқими қуйидаги йўналишда кечади:

ДНК → РНК → оқсил → ҳужайра → организм

Ҳозирги замон биологиясининг асосий постулати ДНК РНК ни яратади, РНК оқсилни. ДНК нинг ўзи информация хазинаси, у оқсил синтезида бевосита иштирок этмайди. ДНК фақат ҳужайра циклида, бола ҳужайралар пайдо бўлишидагина иккита занжирга ажралади ва бунда ҳар бир занжирга мувофиқ етишмаган комплементар занжир синтезланиб, битта ДНК молекуласидан иккита молекула яратилади. Бу фундаментал жараён ҳужайралар бўлиниши, ирсий белгиларнинг наслдан-наслга ўзгармай ўтиши асосида бўлиб, репликация, нусха олиш деб аталади. Ирсий информация амалга ошишининг иккинчи босқичи оқсил синтезини бошқарадиган уч хил РНК молекулаларини синтез қилишидир. Бу жараён транскрипция (кўчириб

ёзиш) дейлади. Молекуляр биологиянинг «марказий догма» си  
ДНК ДНК РНК → оқсил принципига мувофиқ, информация оқсилга  
утар экан, унинг орқага қайтмаслиги қайд қилинади.

Кўп асрлар давомида номаълум бўлиб келган организм ирсий белгиларининг наслдан-наслга ўтиш муаммоси ДНК молекуласининг икки занжирли тузилиши ва бу занжирлар бир-бирига комплементар эканлиги кашф этилгандан сўнг, тез суръатлар билан ишланиб, қисқа вақт ичида ҳал бўлди.

Уотсон ва Крик гипотезасига мувофиқ, ДНК қўш спиралининг ҳар битта занжири комплементар бола занжирлар репликацияси учун матрица сифатида хизмат қилади. Шунга эслатиб ўтиш керакки, макромолекулаларнинг аниқ қайтадан яратилиши ва ирсий информацияни узатилиш ғояси биринчи бўлиб Россияда Н. К. Кольцов томонидан ишлаб чиқилган эди. 1927 йили Кольцов ҳужайралар кўпайишида хромосомалар («ирсий молекулалар») матрица асосида ўз-ўзидан кўпаяди, деган гипотезани эълон қилди. Лекин у йилларда ҳали оқсилларнинг функционал аҳамияти ҳақида маълумот етарли бўлмагандан, бу хусусият ДНК га эмас, оқсил молекуласига тааллуқли деб фараз қилинган эди. Шундай бўлса ҳам, макромолекулаларнинг автокаталитик йўл билан янгидан пайдо бўлиши ҳақидаги фикрнинг ўзи шубҳасиз, башоратдир.

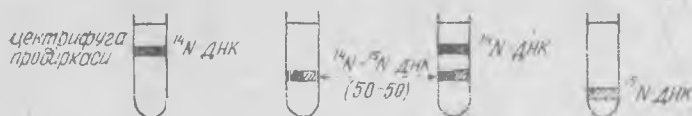
#### 4.6.1. ДНК биосинтези

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. Унинг исботи қуйидаги мисолдан осон кўрилади.

Мезельсон ва Шталь аввало ичак таёқчаларини азот манбаи ягона  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  бўлган озиқ муҳитида ўстириб, микроб танасидаги барча оддий азот  $^{14}\text{N}$  ни унинг стабил оғир изотопи ( $^{15}\text{N}$ ) билан алмаштирган. Бундай муҳитда ўстирилган ДНК нинг ҳамма азоти ҳам  $^{15}\text{N}$  билан алмашди. Бундай ДНК табиий контрол бактериялар ДНК сидан анча оғир, чунки уларнинг ДНК сидаги барча азот  $^{15}\text{N}$  дир. Бу иккала ДНК ни ультрацен-



трифугада осонлик билан ажратиш мумкин. Энди бу оғир азот тутувчи микробларни ювиб, озиғи  $^{14}\text{N}\text{H}_4\text{Cl}$  бўлган муҳитда ўстирилиб, ҳужайралар сони икки марта кўпайтирилганда улардан ДНК ни ажратиб центрифуга қилинса, бир генерациядан кейинги ДНКнинг ультрацентрифугадаги анализи 50% бошланғич  $^{15}\text{N}$  ДНК дан енгил ва 50%  $^{14}\text{N}$  ДНК дан оғир битта зона ни кўрсатди. Бошқа ҳеч қандай жияк йўқ эди. Демак, биринчи бўлинишдан кейин ДНК нинг барча молекулалари 50%  $^{15}\text{N}$  ва 50%  $^{14}\text{N}$  дурагай ДНК дан иборат эканини кўрсатди. Икки булиниш циклидан кейин олинган ДНК анализини кўрсак (ҳужайраларнинг иккинчи авлоди) фақат иккита зона топилади. Бир олдинги дурагайга тўғри келади: 50%  $^{14}\text{N}$  ДНК ва 50%  $^{15}\text{N}$  ДНК, иккинчисиди жияк 100%  $^{14}\text{N}$  ДНК дан.

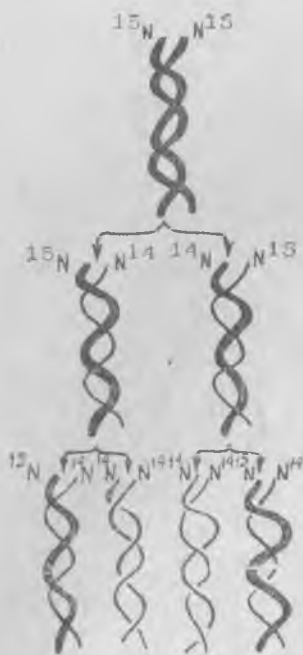


35-расм. Мезельсон ва Шталь тажрибаларида бошланғич ва ҳосил бўлган ДНК молекулаларини ультрацентрифугалаб тигизлик мувозанатида ажратиш.

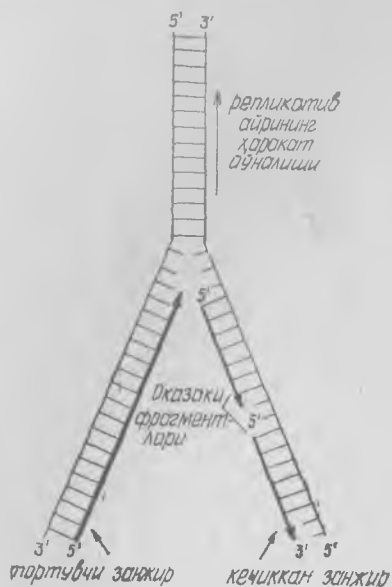
Бу маълумотлар шуни аниқ кўрсатадики, она ДНК нинг ҳар икки занжири янги комплементар занжирлар синтези учун матрица бўлиб хизмат қилади. Қуйидаги расм ҳам шу хулосани тасдиқлайди.

Транскрипция қилинадиган қисмининг узунлиги дурагайлаш усули билан аниқланади.

Хромосомалар репликациясини тушунишда иккинчи муҳим қадам репликация бошланган жойдан ҳар иккала занжир ҳам бир вақтда репликация қилинишини тасдиқлаш бўлди. Аввало ҳалқали ДНК тутадиган бактерияларда (*E. coli*), сунгра эукариот ҳужайраларда ҳам радиоактив тимидин билан ўтказилган тажрибалар репликация жараёнида ДНК нинг иккала занжири ҳам бир вақтда синтезланишини тасдиқлади. Гап шу ердаки, агар *E. coli* ўсаётган муҳитга  $^3\text{H}$  — тимидин қўшилса, у ҳужайрада dTTP га айланиб, репликация да-



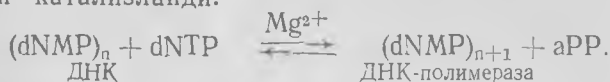
36-расм. ДНКнинг ярим консерватив репликацияси.



37-расм. Репликация айриси.

репликатив айри ҳаракатда бўлади. Натижада бутун эукариот хромосоманинг репликацияси жуда тез ўтади.

ДНК репликацияси асосан А. Корнберг кашф этган 1 ДНК-полимераза ферменти таъсирида ўтади. У субстрат сифатида дезоксирибонуклеотид трифосфатларни истеъмол қилиб, дезоксирибонуклеотид қолдиқлари ДНК занжирининг учига ула-нишини катализлайди.



Бу ерда: dNMP — дезоксирибонуклеозид 5'-монофосфат; dNTP — дезоксирибозонуклеозид-трифосфат.

Агар бу олдбирикмаларнинг тўрт хилидан биттаси бўлмаса ҳам ДНК синтезланмайди. Дезоксирибонуклеозид 5'-трифосфатларнинг биттаси ҳам тегишли 5'-ди ёки монофосфатлар билан алмаштирилиши ҳам мумкин эмас. ДНК-полимераза ишлаши учун  $\text{Mg}^{2+}$  ионларига муҳтож.

ДНК полимераза янги дезоксирибонуклеотидларнинг  $\alpha$ -фосфатини ДНК нинг тайёр занжирининг эркин 3'-гидроксил групасига 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  $\alpha$  ва  $\beta$ -фосфат группалари орасидаги пиродифосфат боғларнинг узилиши билан таъминланади.

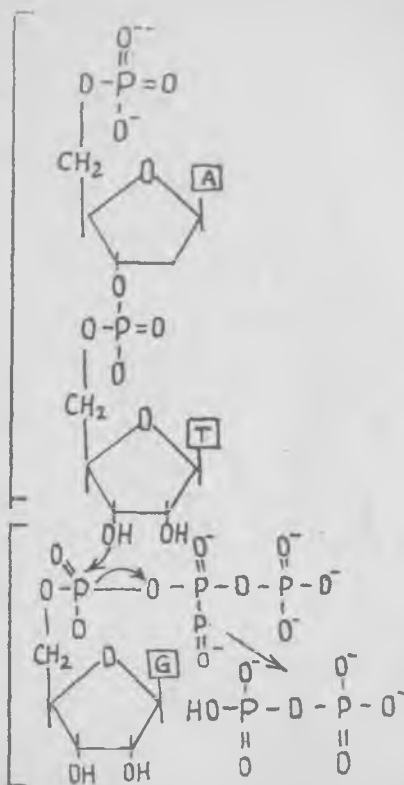
вомида истеъмол қилинади. Бу тажрибаларни ўтказган Кейрнс ДНК репликациясининг моделини таклиф қилди. Бу моделнинг асосий хусусияти шундан иборатки, ДНК молекуласи репликация бошланишининг нуқтаси деб аталадиган специфик участкага эга. Мана шу ерда ДНК структурасини қатъий аниқ жойда ёядиган махсус шарнир механизми борки, у бир вақтда репликация қилиш учун икки занжирни ҳам очади. Ҳосил бўлган репликация «айриси» қўш 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

ДНКнинг  
ўсаётган занжири

Ўсишнинг  
айналиши

Қўйиладиган дезо-  
кситрибануклеозид  
— 5' трифосфат



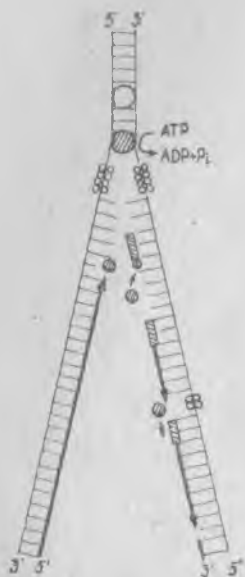
Корнберг ва унинг ходимлари ДНК молекуласининг тайёр намунаси ДНК-полимеразага нима учун лозим эканлигини текшириб, у ДНК-полимераза реакцияда иккита муҳим вазифа бажаришини аниқладилар: бири — намуна (затравка, томизги), иккинчиси — матрица сифатида. ДНК-полимеразанинг ўзи намуна бўлмаганда янги ДНК синтезини бошлай олмайди.

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 ҳаммаси жуда катта тезликда, олий даражада аниқ ўтади.

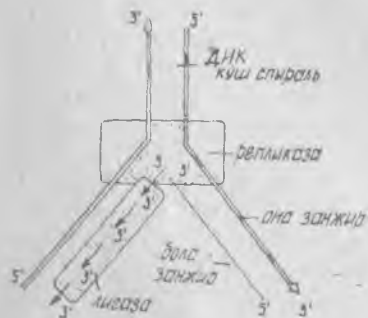
ДНК нинг қўш спирали зич ўралган тузилма ва кодлайдиган асослар бураманинг ичида бўлганидан репликация қиладиган ферментлар матрицанинг нуклеотидлар қаторини «уқиши» учун она ДНК сининг занжирлари ҳеч бўлмаса калта бир бўлимида ечилган бўлиши лозим.

Қўш занжир ўрмининг 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 ечилишида узилиб кетмаслиги учун *топоизомераза* (прокариотларда *гираза*, *hiras* — айланиш сўзидан) ва яна бир қатор фермент



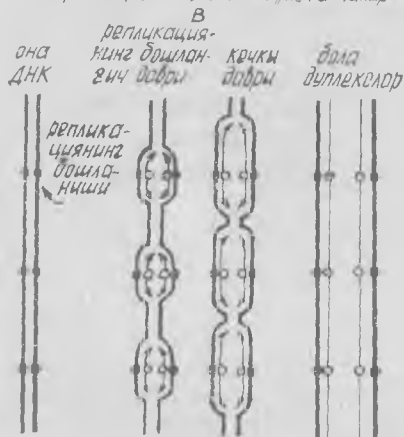
38-расм. ДНК бир занжирнинг узилиб, қисқа фрагментлар шаклида репликацияси.



40-расм. Репликациянинг умумий схемаси.



Репликация жараёнида ДНК қуш занжирда ҳосил бўладиган «пуфакчалар»



39-расм. Репликация жараёнида ДНК қуш занжирда ҳосил бўладиган «пуфакчалар».

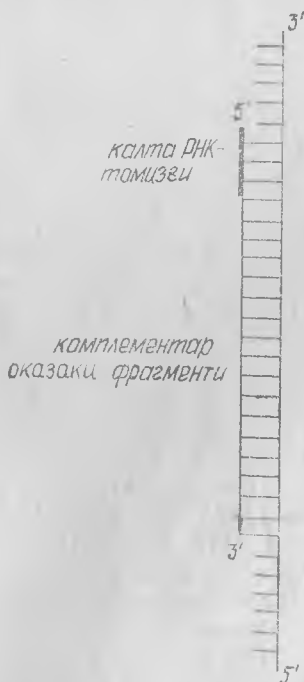
ва оқсиллар, матрицалар ва инициаторлар иштирок этади. Занжирларнинг ёйилишида ҳар бир қуш асослар ажралиши учун икки молекула АТР нинг гидролиз энергияси сарф бўлади. Умуман, ДНК нинг ёйилиши ДНК репликациясининг энг қизиқарли ва энг мураккаб муаммоларидан биридир.

Игирмадан ортиқ репликатив ферментлар ва факторлардан иборат тўла комплекс ДНК —

репликаса системаси ёки қисқача реписома деб аталади. *E. coli* ҳужайраларида маълум даражада бир-биридан фарқ қиладиган учта ДНК — полимераз мавжуд. Улар I, II, III полимеразлар деб белгиланади. I ва III полимеразлар бола занжирининг узайишини таъминлашдан ташқари, экзонуклеазлик 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 аниқланган эмас.

ДНК молекуласининг ҳар иккала занжирининг бир вақтда репликация қилиниши бир қатор янги муаммоларни келтириб чиқарди. Улардан бири ДНК-полимеразлар янги мономерларни фақат ДНК нинг 3'-учига боғлашгагина қобил эканлигидан келиб чиқади. Унда ДНК нинг 5'-учидан бошланадиган синтез қандай ўтади? Бунинг учун алоҳида механизм ва махсус фермент борми ёки битта ферментнинг ўзи занжирнинг 3'-учидан ҳам, 5'-учидан ҳам узайтира оладими? Бу саволларга япон олими Рейджи Оказакининг муҳим кузатишлари жавоб берди. 1969 йили бу олим 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 синтезланадигани «қолоқ» занжир деб аталади. Сўнгра Оказаки фрагментларининг синтези учун томизғи (затравка) сифатида РНК нинг кичик бўлакчалари керак эканлиги ҳам маълум бўлди, чунки ДНК-полимеразанинг ўзи занжирни инициирлай олмайди. Рибонуклеозид 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. Энг кейинги вақтда ҳар иккала занжир ҳам калта фрагментлар шаклида синтезланиши исботланди.

Репликация бир неча инициа-



41-расм. Оказаки фрагментининг ДНК-лигаза иштирокида кечиккан занжирга улавиши.

ция нуқталарида бошланади ва ҳар бир репликация айриси иккала томонга ҳаракат қилади. Қўш спиралнинг айрилиши занжирнинг биттасини танлаб, унга уланадиган «айирувчи оқсиллар таъсири» туфайли боради. Ҳосил булган 1000—2000 та нуклеотиддан тузилган Оказаки фрагментлари, сўнгра *лигаза* ферменти ёрдамида бир-бирига уланади.

Репликация ҳалқали ДНК молекулаларида ўзига хос механизм билан боради, бунда бошқа ферментлар қатнашади. Лекин жараён шу қадар мураккаб бўлишига қарамай жуда тез суръатда ўтади: 1 минутда битта репликатив айриқ 45000 қўш нуклеотидни боғлайди. Унинг барча нозик деталлари мукамал урганилганига ҳайратда қоласиз. Оказаки фрагментлари ДНК нинг кечиккан занжирига ДНК-лигаза ёрдамида 3'—5' дифосфоэфир боғлар орқали уланади. Дифосфоэфир боғини ҳосил бўлиши энергия сарф қилинишига муҳтож. Бу энергия НАД<sup>+</sup> ёки АТР нинг пирофосфат боғини бир вақтда узилиши билан уланган.

Репликация жараёнида хатолар, яъни бир нуклеотид ўрнига бошқасининг жойлашиши жуда кам учрайди. *E. coli* ДНК си учун 1 хато 10<sup>9</sup>—10<sup>10</sup> нуклеотидга тўғри келади.

#### 4.6.2. Транскрипция

Генлар транскрипцияси РНК ҳосил бўлишига олиб келади. РНК нинг ҳамма турлари ҳам ядрода синтезланади. ДНК матрицасида кечадиган ҳамма синтезлар ДНК да ёзилган ахборотга мувофиқ амалга ошади. РНК нинг барча турлари т-РНК, р-РНК ва м-РНК синтезланишида, асосларнинг комплементар бўлиши принципига биноан, ДНК асосларининг тартиби РНК асослари тартибини белгидайди.

Полинуклеотид занжири фақат рибозонуклеотид трифосфатлардан синтезланади ва бу жараёнда анорганик пирофосфат молекулалари ажралиб чиқади. РНК синтези бир неча босқичда бажарилади: а) инициация (бошланғич), в) полимеризация ва з) терминация (туғаш). Реакциянинг бошланиши учун махсус оқсил — сигма фактор тугаши учун тугатувчи терминатор — кодон иштирок этади. Транскрипция ДНК қўш спиралининг бир занжирида амалга ошади. Бунинг учун аввало полимераза ферменти ДНК молекуласининг инициация сигнали берадиган нуқтасига бирикади, бу ерда қўш боғ ечилиб, қўш занжирининг фақат биттаси ўқилади. Нухаси олинадиган шу занжир бўйича полимераза 5' дан 3' га томон йўналиб 3'→5' шаклда борадиган РНК занжирини ҳосил қилади. ДНК матрицасида янги синтез қилинган маҳсулот (РНК молекулалари) *транскрипт* деб аталади.

Полинуклеотид занжири катта тезликда синтезланади. Масалан, транскрипция қилинганда бир секундда 50 нуклеотид бирикади. Ичак таёқчаси хромосомаси транскрибирланишида 90—

95% матрица РНК си пайдо бўлиб, хромосоманинг қолган қисми т-РНК, р-РНК лар, ген ишлаши учун зарур бошқа полинуклеотидлар: лидерлар, спейсерлар ва занжирнинг думидаги нуклеотид қаторларини кодирлайди.

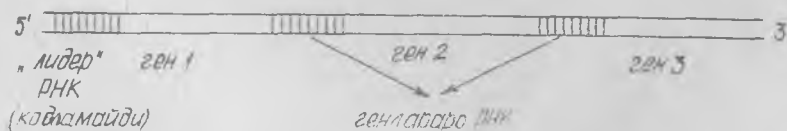
Матрица РНК лари полипептид занжирини кодлайди. Улар бир занжири турли узунликка эга полинуклеотид. У моногенли (бир цистронли), яъни битта оқсилнинг синтезини таъминлашга мўлжалланган ёки полигенли (полицистронли), бактерияларда асосан бир нечта оқсилларни кодирлайдиган бўлади.

Бактериал транскрипцияда ҳосил бўладиган м-РНК доимо полипептидни кодирлаш учун керак бўлганидан кўпроқ нуклеотид тутади. Бунинг сабаби шундаки, м-РНК 5'-учида кодирламайдиган полинуклеотид «лидер» гурпуага эга. Унинг узунлиги 25 дан 150 асосгача.

Полиген м-РНК транскрибирланмайдиган генлараро соҳаларни ёки спайсерларни ҳам сақлайди. Улар балки транскрипция суръатини тартибга солишда иштирок этса керак.



42-расм. Транскрипция жараёнида ДНК битта занжирининг ўқилиши. РНК—полимераза, ДНК—комплекси кичик жойда ечилгандан сўнг она занжир бўйича олдинга юради; РНК транскрипция аста-секин узунлашиб транскрипция терминация ўрнигача полимераза билан боғланган ҳолда қолади.



43-расм. Прокариот ҳужайра полиген м-РНК сининг схематик тасвири.

Матрица РНКси ДНКга муҳтож РНК-полимераза томонидан синтезланади. Фермент ДНКга муҳтож ДНК-полимеразага ўхшашдир.

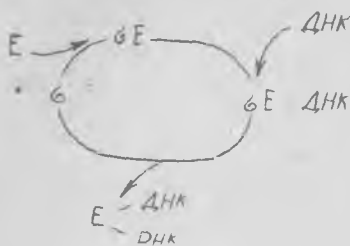
ДНКнинг икки занжиридан фақат биттаси транскрибирланади. Эукариот ҳужайра ядросида уч хил РНК-полимераза мавжуд.

Уларнинг маҳсулоти

- |     |                |                 |          |
|-----|----------------|-----------------|----------|
| I   | РНК-полимераза | 5,8s—18s ва 28s | р-РНК    |
| II  | —              | —               | м-РНК    |
| III | —              | —               | т-РНК 5s |

РНК нинг барча типлари ҳам мана шу полимераза ферменти томонидан бажарилади. Прокариотларда бу битта фермент — *E. coli* полимераза системасининг молекуляр массаси ~700 000. У янги синтезланаётган РНК занжирига оддий нуклеотидларнинг баъзи аналогларини ҳам киритиш қобилиятига эга (масалан, ЦТР, УТР, ГТР лар ўрнига 5Вг УТР, 5Вг, ЦТР, 5F—УТР).

РНК синтези учун иккита оқсил фактори керак, улардан бири сигма фактор  $\delta$  фақат РНК занжири синтезининг инициацияси учун зарур, иккинчиси нуклеотидлараро боғларни ҳосил қилади. РНК-полимераза реакциясининг инициацияси (сигма цикли) қуйидагича.



Бу ерда: E — фермент РНК-полимераза;  $\delta$  — сигма фактор.

РНК-полимераза жуда юксак константа билан ДНК матрицанинги икки занжирдан бирида матрицали ДНК нинг айрим қаторлари — промотор қисмлари билан боғланади. Бир неча нуклеотидлар қаторидан ташкил топган промотор синтезнинг йўна-

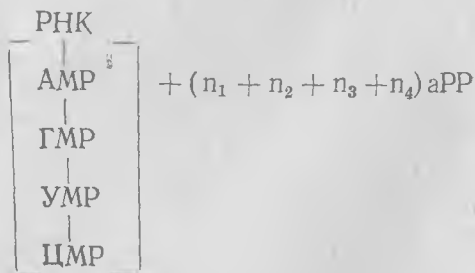
лишини ва ДНК дан РНК га кўчирилиб ёзилиши лозим бўлган биринчи асосни белгилайди. Реакциянинг бориши учун рибозонуклеотид трифосфатларнинг ҳамма хиллари, РНК затравка, ДНК матрица, РНК-полимераза, оқсил факторлар,  $Mg^{2+}$  зарур:

$n_1$  АТР

$n_2$  ГТР ДНК—матрица,  $Mg^{2+}$

$n_3$  УТР

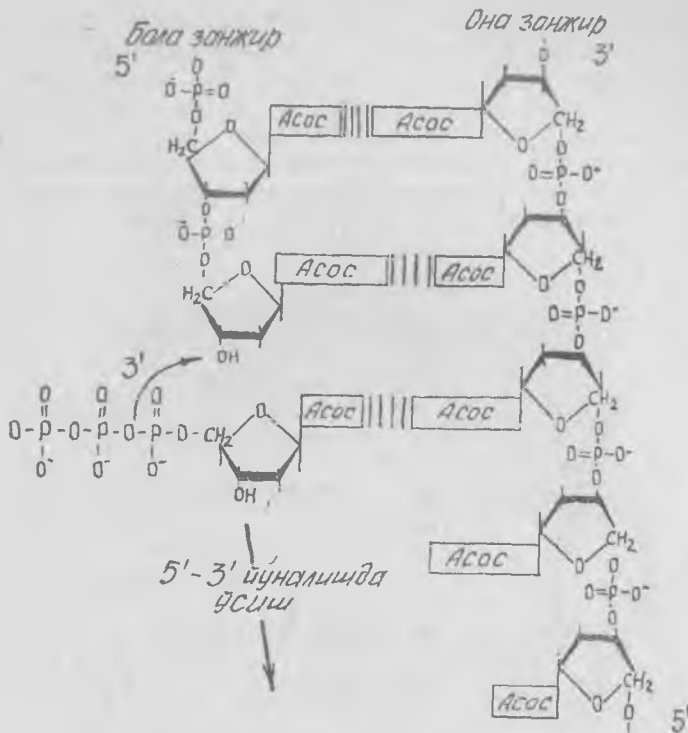
$n_4$  ЦТР



Ҳосил бўлган aPP тездан гидролизланади ва реакция РНК синтези томон боради. РНК-полимераза занжирни 5'→3' йўналишда узайтиради. РНК-полимераза икки занжирли ДНК билан энг актив бўлади. Транскрипция давомида занжирнинг ўсиши қўш асослар ДНК дуплексининг транскрипция қилинаётган жойидагина эрса (ечилса) керак. м-ДНК билан РНК транскрипт орасидаги боғланиш вақтинча, транскрипция тугаши билан ДНК матрица асослари қайтадан қўшилади. Шундай қилиб, транскрипция тўла консерватив бўлиши билан репликация жараёнидан фарқ қилади.

Шу билан бирга РНК-полимераза ишлаганда, ДНК-полимеразанинги аксича, матрица тўла бошланғич ҳолда сақланади



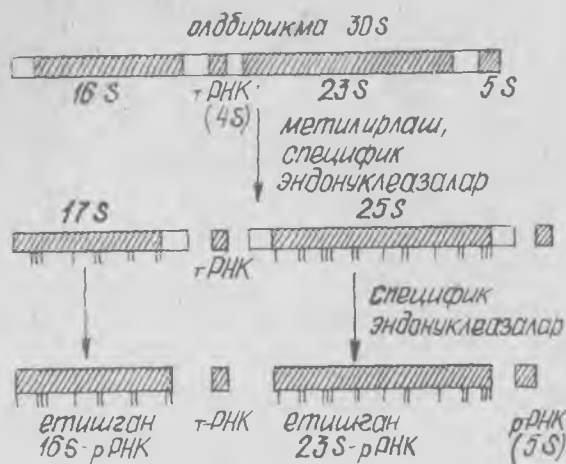


ва қайтадан фойдаланилиши мумкин, яъни соф каталитик вази-  
фани бажаради. Реакция схема равишда юқоридагича ёзилди:

РНК занжирлари элонгациясини антибиотик актиномицин  
специфик ингибирлайди. РНК бошланғич транскриптларининг  
кўпчилиги биологик актив эмас. Уларни м-РНК, т-РНК, р-РНК  
ларнинг олд маҳсулоти деб қараш мумкин. Улар кейинги ўзга-  
ришлар (посттранскрипцион модификациялар)га дучор бўлиб  
етишган шаклларга айланади. Бу ўзгаришлар: 1) узун зан-  
жирли олд маҳсулот (транскрипт) ни фрагментларга бўлиш;  
2) уларига нуклеотидларни улаш ва 3) нуклеотидларни спе-  
цифик модификация қилишдан иборат. Бу ўзгаришлар кичик  
РНК лар (т-РНК ва р-РНК лар) да бир хил, м-РНК да бошқа  
хил йўл билан ўтади, эукариот РНК нинг трансформацияси  
ҳам прокариотларникидан фарқ қилади. Албатта асосий транс-  
формацияларнинг маъноси ва принципи ҳамма организмларда  
ҳам умумий қонуниятга асосланган бўлади.

Транспорт РНК ва рибосома РНК лар бошланғич транс-  
криптларнинг маълум нуқталаридан специфик экзо- ва эндо-  
нуклеазалар томонидан фрагментация қилинишидан ҳосил  
бўлади. Бунда битта бош маҳсулотдан фақат битта т-РНК моле-  
куласи, баъзан эса иккита, ҳатто учта ҳам ҳосил бўлиши мум-  
кин. т-РНК ларнинг — ССА — 3' учи бир хил етишади.

Одатда, бош маҳсулот фрагментациясидан олдин т-РНК асослари модификацияга учрайди: метилланади, сульфурланади, дезаминланади, гидрилланади, рибоза ва урацил орасидаги нормал С—N боғ псевдоурацил (ψ) ҳосил қиладиган С—С боғга айланади. Бундай модификациялар аниқ нуклеотидларда, маълум ўринларда, специфик ферментлар таъсиридагина ўтади. Улар т-РНК молекулалари структураси ва функциясининг принципл хусусийлиги учун зарур бўлса керак.



44- расм. Рибосома ва транспорт РНК ларнинг бир транскриптдан ҳосил бўлиши.

Рибосома РНК лар фрагментациядан сўнг бошқа ҳеч қандай модификацияга учрамайди.

**Эукариот информация (матрица) РНК.** Эукариотлар ядро-сида синтез қилинган м-РНК ҳали етишган, ўз функциясини бажаришга тайёр шаклда эмас. Уларнинг кўпчилиги уч босқич-ни ўтади: 1) 5'-учини кэпирлаш ва матиллаш; 2) 3'-учини полиаденилирлаш ва 3) гени кодирламайдиган қисмлар (*интронлар*) ни кесиб ташлаб экзонларни улаш.

Кэпирлаш (бошига қалпоқ кийдириш) м-РНК нинг 5'-учи-даги ррр Ар қолдиғига Gr қолдиғи қўшиб 5'—5 учфосфат тур-кум ҳосил қилишдан иборат. G қолдиғи N — метилланган ва аденил қолдиғининг 2' OH ҳам метилланган, 3'-учига ҳам бир нечта АМР қолдиғи бирикиб, охириги полиаденил қаторни таш-кил қилади. Бу модификацияларнинг маъноси ҳали тула ёри-тилган эмас.

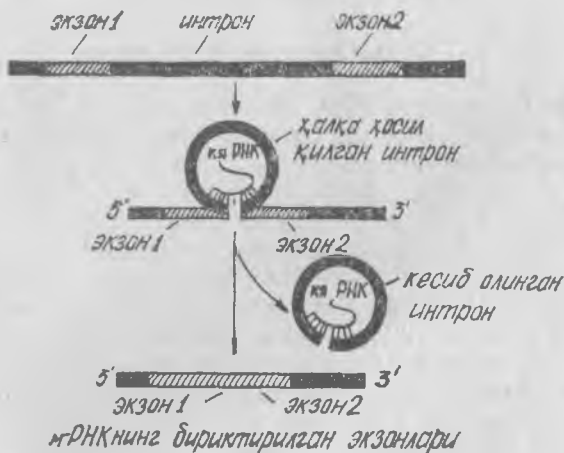
м-РНК процессингининг энг муҳим кутилмаган хусусияти 1977 йилда аминокислоталар қаторини кодловчи ахборотнинг узлуксиз бўлмай кодирламайдиган қаторлар билан узилганли-гини, яъни генлар узилган бўлишини кашф этилиши бўлди.



45- расм. Трансляциядан кейинги процессинг.

Транскрипцияда узилган геннинг тула нусхаси, яъни РНК нинг бошланғич транскрипти олинади. Кейин тор специфик ферментлар ёрдамида кодирламайдиган участкалар (улар интронлар деб аталади) кесиб олиниб, кодирловчи сегментлар (экзонлар) бир-бирига уланади. Уланиш бошланғич транскриптда интрон — экзонлар қандай жойлашган бўлса, худди шу тартибда бажарилади. Кесувчи ферментлар *эндонуклеазалар*, уловчилари эса *лигазалар*дир.

Прокариот матрица РНКси генларнинг тула нусхаси, уларда ҳеч қандай ўзгаришлар бўлмайди, ҳеч бир қисми кесиб олинмайди. Эукариот м-РНК процессинги давомида интронларнинг четлатилиши шундай ўтадики, бирин-кетин келадиган экзонлар ҳеч вақт жисмоний ажралмайди. Бу механизмда экзонларнинг уланидиган учларини яқинлаштирадиган махсус кичик ядро РНКси иштирок этади.



46- расм. Процессинг давомида интронлар четлатилиб, экзонларнинг уланиши.

Ҳайвонларнинг баъзи онкоген (рак қўзғатувчи) РНК тутувчи вируслари, масалан, Раус саркомаси вируси, ўзига хос бирдан-бир фермент — РНК га муҳтож ДНК полимераза — *тескари транскриптаза* ферментига эга эканлиги маълум бўлди. 1970

йилда Г. Темин ва сичқон лейкомиясида Балтимор томонидан кашф этилган бу фермент *ревертаза* деб ҳам аталади. Вирус эса ретровирус номини ҳам олди, чунки бу вирусдан ажратиб олинган фермент вируснинг бир занжирли РНК сидан матрица сифатида фойдаланиб, дезоксирибонуклеотидлардан РНК/ДНК дурагайини яратади, яъни РНК матрицасида рақни қўзғатувчи генларни тутувчи ДНК синтезланади. Бу ДНК кўпинча эукариот ҳужайра геномига уланиб олади ва кўп авлодларда тинч ётиши мумкин, лекин пайти келганда у экспрессия қилиниб (ўқилиб) рақка сабаб бўлади.

Тескари транскриптазининг комплементар ДНК яратиш хусусияти молекуляр биологиянинг асосий концепцияси: ДНК → →ДНК → РНК → оқсилни қайтадан қуриб чиқишга сабаб бўлади. Энди информация оқими фақат ДНК → РНК йўналишида бормай, тескари томонга ҳам ўтади:



#### 4.7. Оқсил синтези, трансляция

Оқсиллар биосинтези биохимия тарихида энг муҳим муаммолардан бири бўлиб келган. Бугунги кунда биз бу муаммо ҳақида кўп маълумотларга эгамиз, лекин ҳозиргача тўпланган ахборот бу соҳада билиш керак бўлган нарсаларнинг озгина қисмини қоплаши мумкин: оқсил синтези биосинтез жараёнлари орасида энг мураккаби бўлса керак, унинг айрим босқичларида полипептид занжир инициацияси, узайиши, тамомланиши ва оқсилларнинг ётишишида юзга яқин ферментлар, махсус оқсил факторлар, умуман 200 га яқин макромолекулалар иштирок этади. Бу макромолекулаларнинг кўпи рибосомалар уч ўлчовли мураккаб структурасининг ташкилий қисмларидир.

Оқсил биосинтези аппарати шу қадар мураккаб бўлишига қарамай, жараён жуда катта тезликда ўтади. Масалан, *E. coli* ва 100 та аминокислотадан иборат оқсил занжирининг яратилиши учун ҳужайра рибосомаларига 5 секундгина кифоя.

➤ Оқсил синтези ҳақидаги ҳозирги замон тушунчаси 50-йилларда қилинган учта муҳим кашфиётлар асосида шаклланган. Уларнинг биринчиси Пол Замечник томонидан оқсиллар синтез қилинадиган жой илгарироқ ҳужайра ичида топилган, сўнгра рибосомалар деб аталган рибонуклеопротеид парчалар эканлигининг кашф этилиши бўлди. Иккинчи кашфиёт Мэлон Хогленд

ва Пол Замечник томонидан аминокислоталарни, кейинроқ *транспорт РНК* деб аталган, РНК нинг эрувчан термостабиль махсус типига АТР иштирокида бирикишининг аниқланиши эди. Бу қаторда учинчи муҳим кашфиёт Френсис Крик номи билан боғлиқ. У оқсил синтезида т-РНКнинг *адапторлик* ролини белгилаб берди. т-РНК томонидан бундай функциянинг бажарилиши унинг молекуласини бир участкаси специфик аминокислота билан боғлана оладиган, иккинчиси эса м-РНК да мана шу аминокислотани кодлайдиган калта нуклеотидлар қаторини таний оладиган бўлишдан келиб чиқади. Айни шу учта кашфиёт тездан оқсил синтезининг асосий босқичларини аниқлашга ва ниҳоясида аминокислоталар учун генетик кодни таъминлашга олиб келди.

✓ Оқсил синтези м-РНК ни декодирлаш, яъни РНК молекуласида тўрт хил асосларнинг изчил келиши шаклида ёзилган ахборотнинг 20 хил аминокислоталарнинг оқсил молекуласида изчил келиш тилига ўтказилишидир. Шунинг учун ҳам бу жараён *трансляция* (таржима қилиш) дейилади.

Генетик ахборотнинг ДНК дан узатилиши РНК ёрдамида бажарилишини 1961 йилда икки машҳур француз олимлари Жакоб ва Моно кашф этдилар. Ундан кейинги йилларда Ниренберг, Корано ва Холли декодирлаш т-РНК антикодонининг м-РНК нинг тегишли кодони томонидан специфик боғланишида юзага чиқишини ва код (аминокислотанинг нуклеотидлар тилидаги шифри, рамзи) триплет табиатига эга эканлигини тасдиқладилар.

#### 4.7.1. Генетик код

**Биологик коднинг кашф этилиши.** т-РНКнинг адапторлик функциясини тадқиқ этиш натижасида бу юксак даражада оқилон механизмининг пойдевори бўлган биологик код (*аминокислота, оқсил коди*) тушунчаси, унинг ишлаш усули ҳақида жуда самарали янги бир соҳа дунёга келди. *Биологик код* таълимотига кўра нуклеин кислоталарда ҳар бир аминокислотани танийдиган ва танлаб ташишда воситачилик қиладиган нуклеотидлар комбинацияси мавжудки, аминокислота ўзининг коди билан бевосита боғланмаса ҳам, шу кодга комплементар, антикодон деб аталадиган нуклеотидлар комбинациясига эга нуклеин кислота билангина муносабатга киради. Ҳар бир аминокислотани ўзи учун махсус кодони мавжуд бўлиши шарт, шундагина адаштирамай улар билан боғланади. Оқсил молекуласига кирадиган аминокислоталар камида 20 хил бўлганидан кодонлар сони ҳам 20 дан кам бўлиши мумкин эмас. Демак 4 та нуклеотиднинг ўзи ёки иккита нуклеотиддан ҳосил бўладиган 16 ( $4^2$ ) комбинация ҳам етарли эмас. Турли тадқиқот ва мулоҳазалардан сўнг код уч нуклеотиддан иборат *триплет* табиатга эга эканлиги аниқланди. Албатта бунда ҳосил бўладиган комбинациялар сони 64 ( $4^3$ ), кодирланадиган аминокислоталар сонидан

анча кўп, лекин маълум бўлдики, 20 та аминокислотадан 18 таси биттадан ортиқ (2, 3, 4 ва 6) кодон билан кодирланар экан. Бу ҳолат *коднинг айниганлиги* деб аталади. У ахборотни тўғри ўқишга хилофлик қилмайди, балки репликация ёки транскрипция жараёнида пайдо бўлиши мумкин бўлган хатоларни четлаштишга ёрдам беради. 64 та триплетдан учтаси УАА, УАГ ва УГЦА аминокислоталарни кодирламайди ва полипептид занжир синтези тугаганидан хабар беради, улар *терминация* сигналини беради.

**Генетик код универсалдир.** Ҳамма организмларда — эукариотларда, прокариотларда ва вирусларда ҳам барча кодонлар учун бирдай белгилардан фойдаланилади. Бинобарин, генетик код дунёда ҳаёт пайдо бўлгандан бери ўзгармай ҳукмронлик қилмоқда. Бунга 3 млрд йил бўлди. Аммо энг кейинги йилларда бу догмага бир оз ўзгартириш киритишга тўғри келди. Митохондрияларнинг генетик системаси маълум биологик кодга тўла тўғри келмади. Унинг ДНКси (15669 нуклеотид) нинг айрим генлари нуклеотид тартиби полипептидларнинг аминокислота тартиби билан солиштирилганда коддан четлашишлар мавжуд эканлиги аниқланди. Лекин бу ажойиб феноменнинг келиб чиқиши ва маъноси ҳали тушунилгани йўқ.

4-жадвал

Генетик код  
Кодоннинг иккинчи нуклеотида

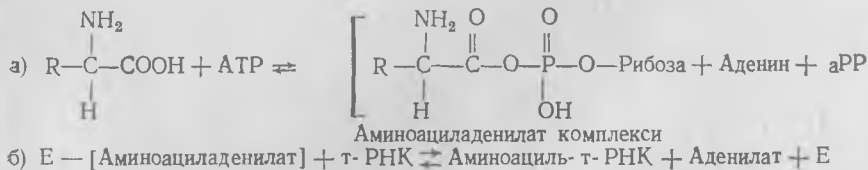
	У	Ц	А	Г		
Кодоннинг биринчи нуклеотида	У	УУУ } Фен УУЦ } УУА } Лей УУГ }	УЦУ } УЦЦ } Сер УЦА } УЦГ }	УАУ } Тир УАЦ } УАА } терминатор УАГ } терминатор	УГУ } УГЦ } Цис УГА } терминатор УГГ } Трп	У Ц А Г
	Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лей ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Про ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } ЦАЦ } Гис ЦАА } ЦАГ } Глу	ЦГУ } ЦГА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

Кодоннинг учинчи нуклеотида

Оқсил синтезининг босқичлари. Бу жараён асосан 5 босқичда ўтади.

Аминокислоталарнинг АТР ёрдамида активланиши ва тегишли транспорт РНК га кўчирилиши оқсил биосинтези учун энергетик асос яратади. Бу икки жараён узлуксиз боғланган бўлиб, битта энзим E—специфик аминоксил-т-РНК-синтетаза таъсирида кечади. Френсис Крик бу жараёнда т-РНК адапторлик ролини ўйнашини аниқлади.

Бу босқич учун барча (20) аминокислота, 20 ёки ортиқроқ т-РНК, аминоксил-т-РНК-синтетазалар (E), АТР ва  $Mg^{2+}$  мужассам бўлиши зарур. Мазкур босқич қуйидаги икки реакцияда боради:

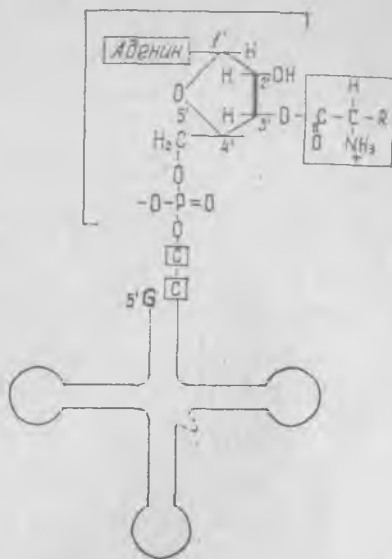


Охири реакцияда аминоксилли қолдиқ т-РНКнинг эркин А қолдиғидаги эркин 3-гидроксилга кўчирилади.

Аминоацил-т-РНК-синтетазалар специфик ферментлардир. Лекин *изоакцептор аминоксил т-РНК синтетазалар (АТС)* ҳам мавжуд, яъни битта аминокислотани бир нечта АТС ҳам ташиши мумкин. Шу билан бирга ферментнинг ўзи ҳам бир занжирли (масалан, Вал, Иле, Лей учун), бир хил бир нечта занжирли (Мет учун), учинчилар иккита ҳар хил занжирлардан тузилган (Гли, Трп учун) бўлади.

Полипептид занжирининг инициацияси. Инициация жуда мураккаб ва жуда муҳим босқич, бошлаб берувчи реакция. Бу босқичда оқсил синтези учун лозим бўлган аппарат айрим компонентлардан йиғилиб иш бошлашга тайёрланади.

Трансляция жараёнининг маркази рибосомалардир. Бунинг учун у м-РНК билан боғланиши керак, рибосомалар эркин ҳолда бўлса, дарҳол кичик бирликларга ажралиб кетади. Трансляция жараёнида рибосома кичик бирликларидан йиғилади. Оқсил синтези  $\text{NH}_2$  туркумдан бошланиб,  $\text{COOH}$  билан якунланади:  $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$ . Эукариот ҳужайраларда иницияловчи аминокислота сифатида N—формил



47-расм. Аминокислотанинг активланиши.

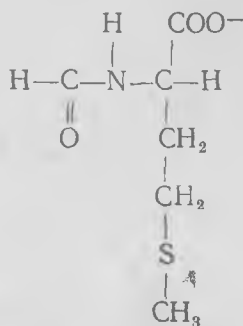
метионин (т-РНК  $\phi^{\text{Met}}$ ) майдонга чиқади, демак синтезланадиган полипептид занжирининг N—учида (биринчи аминокислота)  $\phi^{\text{Met}}$  бўлади, яъни  $\phi^{\text{Met}}$  юкланган т-РНК, м-РНКда тегишли код (AUG) топиб, ўзининг антикодони (UAC) билан боғланади. Реакция қуйидаги тартибда ўтади:



Иккинчи реакцияда формил группа трансформилаза ферменти ёрдамида N-формилтетрагидрофолат (ТГ-фолат кислота, витамин) га кўчирилади:



Трансформилаза эркин Met ни трансформиллаш хусусиятига эга эмас, у фақат Met-т-РНК таркибидаги Met нигина формиллайди:



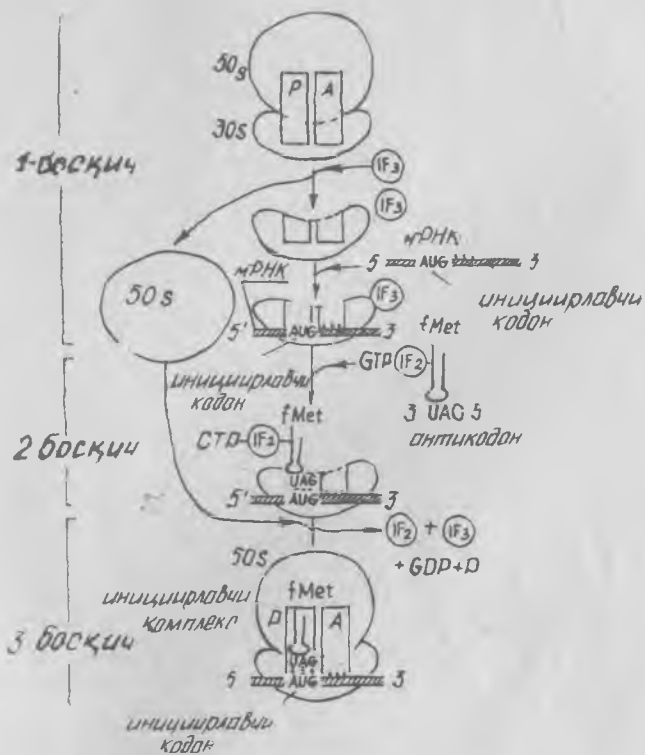
N — формилметионин

Метиониннинг аминокруппасини N-формил қолдиғи билан бокирлаш бундай аминокислотани полипептид занжирининг ички қисмларига киришига йўл қўймайди, лекин  $\phi^{\text{Met}}$  — т-РНК  $\phi^{\text{Met}}$  нинг рибосомада махсус инициация участкасига боғланишига имконият туғдиради, бу участка билан на Met т-РНК Met, на бошқа аминокислота боғлана олмайди. Трансляциянинг айрим босқичларида яна қўшимча бир қатор оқсил факторлар ( $F_1, F_2, F_3$ ) ва ГТР ҳам иштирок этади.

Полипептид занжири синтезининг инициацияси айнан бир неча даврларда ўтади. Биринчи даврда рибосоманинг 30S кичик парчаси инициация фактори 3 (IF-3) билан боғланади, бу фактор 30S кичик парчанинг 50S кичик парча билан боғланишига тўсқинлик қилиб туради. Сўнгра  $F_1$  фактор (IF-I нинг роли тўла аниқланган эмас) билан боғланган 30S кичик парча м-РНК билан шу тарзда боғланадики, м-РНК нинг инициация қилувчи кодони (5')  $\rightarrow \text{AUG} \leftarrow$  (3') 30S кичик парчанинг тайинли қисмига уланади. Унинг тўғри ўрнашиши м-РНКда AUG кодонига яқин жойлашган инициирловчи сигнал томонидан таъминланади. Ҳосил бўлган комплекс  $\phi^{\text{Met}} - \phi^{\text{РНК}}\text{-Met}$  қўшилади-



ган жойни кўрсатади. Инициация жараёнининг иккинчи даврида бу комплексга 1F-2 ёрдамида яна 1F-3, ГТР факторлар ва N-формил метионил т-РНК бирикади. Инициациянинг учинчи даврида бу катта комплекс 50 S рибосома парчаси билан боғланади; айнан шу вақтда ГТР молекуласи ГДР ва aP га гидролизланади. Инициация факторлари 1F-3 ва 1F-2 ҳам рибосомадан ажралади. Мана энди *иницирловчи комплекс деб аталадиган функционал актив 70 S рибосомага эга бўлинади.*



48- расм. Трансляция босқичлари.

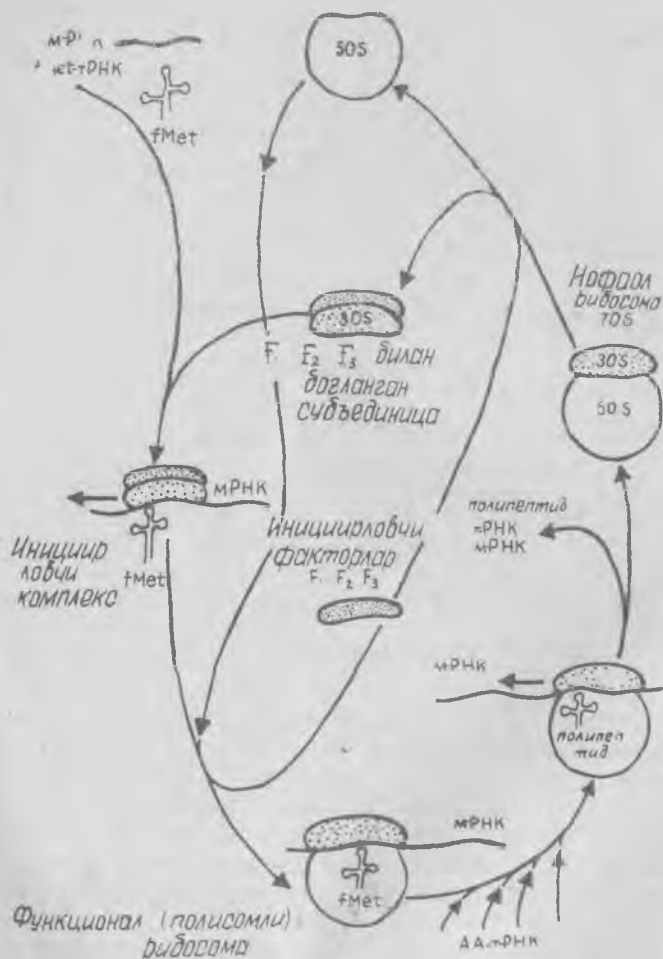
Рибосоманинг 50 S кичик бирлигида аминокислота ва ўсаётган полипептид занжирлар учун тегишли жойлар — *сайтлар* мавжуд. Улар аминоацил (A) ва пептидли (P) сайтлар деб аталади. Трансляция давомида аввало аминокислота (т-РНК<sub>мет</sub>) ўзига специфик транспорт РНК орқали ўз сайтига ўтиради. Мана шу шаклда тайёр бўлган *иницирловчи комплекс* энди полинуклеотид занжирининг узайишидан иборат *элонгация* даврига ўтади.

Трансляциянинг айрим босқичларида иштирок этадиган оқсил факторлари: F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> ва энергия манбаи вазифасини бажарадиган ГТР бу мураккаб механохимиявий жараёнларда куза-

тиладиган таниб олиш, ҳаракат ҳодисалари билан боғлиқ конформацион ўзгаришлар учун зарур.

Элонгация такрорланадиган қайталама жараён бўлиб, биринчи босқичда навбатдаги аминоксил-т-РНК (аа-т-РНК) элонгация фактори Tu (EF-Tu) ва ГТР билан боғланади. Ҳосил бўлган уч компонентли комплекс т-РНК-Tu-ГТР 70 S иницирловчи комплексга бирикади. Айни вақтда ГТР парчаланadi, Tu-ГДР рибосомадан четланади.

Кейин рибосоманинг А участкаси билан янги аа-т-РНК боғланади. Элонгациянинг иккинчи даврида II участкадан N-формилметионин қолдиқ уни ташиб юрган т-РНК дан пептидил-трансфераза ёрдамида кўчирилиши туфайли А участкада ди-



49- расм. Трансляциянинг тўла схемаси.

пептидил-т-РНК ҳосил бўлади. Бу жараёнларни 48, 49-расмларда кўриш мумкин.

Энди рибосоманинг А участкаси билан янги аа-т-РНК бирикади ва цикл такрорланаверади.

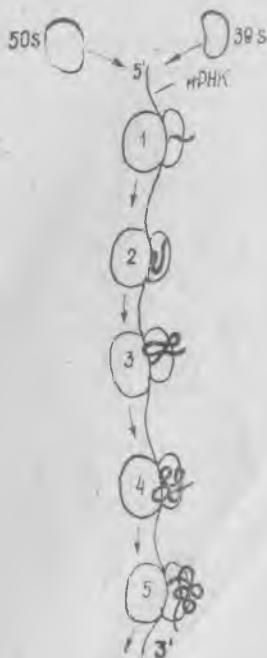
Элонгация циклининг учинчи даврида рибосома РНК бўйлаб 3'-учига қараб бир қадам масофага силжийди. Бунда дипептидил т-РНК ҳам А участкадан П участкага кўчиб, озод бўлган т-РНК цитозолга ўтади. Бу давр *транслокация* дейилади. Бу босқич учун транслокация фракцияси (транслоказа деб ҳам аталади) ва яна бир ГТР нинг гидролизи лозим.

Трансляциянинг охириги даври *терминация* (тугатиш) деб аталади. Оқсил синтези полинуклеотид занжирида махсус терминирловчи кодонлардан бири — УАА, УАГ, УГА трипетларидан бири томонидан узилади.

Полипептид занжирининг С учига охириги аминокислота бириккандан кейин ҳам синтезланган оқсил рибосома билан боғланган ҳолда қолади. Полипептид занжирининг т-РНК рибосомадан ажралиши специфик фактор — махсус ажратиш фактори (R) таъсирида амалга ошади.

#### 4.7.2. Полирибосомалар ва РНК нинг ўқилиши

Оқсил синтези жараёнида рибосома бир вақтда фақат матрица полинуклеотидларнинг чегараланган бўлаги билан боғланган бўлади. Айни вақтда улар РНК ни нуклеазалар томонидан парчаланишдан ҳам сақлайди. Бундай парчалар 20 дан 60 гача нуклеотид қолдиқларига тенг. м-РНК нинг кодирловчи тартибининг узунлиги 300 нуклеотид қолдиқларига тенг. Мана шу мулоҳазалар асосида анча вақтлардан бери м-РНК даги кодирловчи тартибни ўқиш учун рибосома матрица бўйича бирин-кетин 5' учдан 3'-учигача ўтиб бориши (ёки ўзи орқали тартиб ўтказиши) керак, деб ҳисобланади. Демак, рибосомалар м-РНК дан юриб, 5'-учи бўшаши билан янги рибосомалар унга тизилиб боради, бинобарин, бир қанча рибосомалар бир вақтда айни информацияни ўқийди, ҳар бир моментда улар турли шаклланиш даражасидаги полипептидни ташийди.



50-расм. Полисомаларда полипептид занжирининг синтезланиши.

Қўлланманинг олдинги қисмларида нуклеин кислоталарнинг структураси, физик-химиявий хоссалари ва биологик функциялари, генетик код, генлар ва оқсиллар орасидаги боғланишлар ҳақида етарлича маълумотга эга бўлдик. Нуклеин кислоталарнинг бир синфи ДНК ирсий информация ташувчи, унинг хазинаси эканлиги, иккинчи синфи — РНК асосида барча жонли организмларнинг қурилиш материали ва ҳаётий функцияларини бажарадиган, оқсил молекулаларини мана шу информация асосида яратиш қуроли эканлигини кўрдик. Молекулалар тузилишида химиявий тилда ёзилган бу информация хужайранинг морфологик ва функционал хоссаларини, бутун организмнинг ирсий белгиларини таъминлайди. Барча организмларнинг ажралмас фундаментал хоссаси бўлган ирсият чексиз ранг-баранг динамик ва шу билан бирга ҳар бир тур, ҳар бир индивид учун барқарордир. Мана шу маълумотлар асосида энди молекуляр биологиянинг асосини ташкил қиладиган ген ифодаси, унинг ўзгарувчанлиги, бошқарилиши ва шу муаммога ёндош бошқа масалалар устида мукамалроқ тўхталиб ўтамиз.

### 5.1. Геномнинг ташкил этилиши

Бир чизиқли, сўзлари учталаб нуклеотидлардан иборат, тўрт ҳарфли генетик код жуда кичкина ҳажмда бир олам информация сақлаш имконини беради. 1903 йилда Дания олими Йогансен фанга киритган *ген* атамаси бир қатор ўзгаришларга учради. Бу атама дастлабки вақтда ирсий белгининг пайдо бўлишига сабабчи, табиати номаълум қандайдир ушлаб бўлмайдиган бир кучни, факторни таърифлаган бўлса, энди ген дейилганда якка полипептид занжирини кодирлайдиган ДНК нинг бир қисми тушунилади (структурал ген); қатъий қаралганда бошқарувчи оқсиллар билан реакцияга киришиб, нуклеин кислоталар активлигини идора қиладиган регулятор генлар ҳам бор. Улар ҳам ДНК молекуласининг бир секциясидан иборат. Хужайранинг генетик материали асосан хромосомалардаги ДНК да ядрога, яна мембранада, митохондрияларда, хлоропластларда, бактерияларда, вирусларда ҳам мавжуд. Организмнинг, хужайранинг барча генлари йиғиндиси *геном* деб аталади. Турли организмларда ДНК нинг миқдори, бинобарин, хужайраларда генларнинг сони жиддий фарқ қилади, аммо бир организмнинг барча хужайраларидаги ДНК нинг миқдори бир хил бўлади.

#### 5.1.1. Вируслар, фаглар

Молекуляр генетиканинг асосий концепциялари прокариотлар — бир хужайрали, мембрана билан ўралган ядроси йўқ

организмлар (бактериялар), вируслар бактериофагларда олинган. *Вируслар* уларни ташқи таъсирлар, ферментлардан сақлаб турадиган пардага ўралган инфицирловчи (юқумли) нуклеин кислоталардир.

Қуйида баъзи вируслар геномининг тузилиши бошқа манбалардан олинган бир нечта ДНК билан таққосланган.

5-жадвал

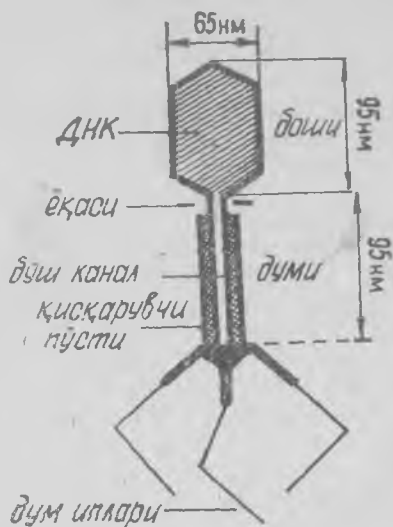
ДНКнинг ўлчами ва конформацияси

Манба	Молекуляр массаси	Узунлиги	Қўш нуклеотидлар сони	Конформация
<i>Escherichia coli</i>	$2,8 \cdot 10^9$	1,36	$4 \cdot 10^6$	Ҳалқали икки занжирли
<i>Haemophilus influenzae</i>	$8 \cdot 10^8$	300 мкм	$1,2 \cdot 10^9$	Ҳалқали икки занжирли
Бактериофаг Т4	$1,3 \cdot 10^9$	50 мкм	$2 \cdot 10^9$	Бир қизиқли икки занжирли
Бактериофаг $\lambda$	$3,3 \cdot 10^7$	13 мкм	$5 \cdot 10^4$	Бир қизиқли занжирли
Бактериофаг $\phi \times 174$	$1,6 \cdot 10^6$	0,6 мкм	5386 қўш нуклеотидлар	Ҳалқали бир занжирли
Митохондрия ДНКси (сичқонники)	$9,5 \cdot 10^6$	5 мкм	$1,4 \cdot 10^4$	Ҳалқали икки занжирли
<i>Drosophila melanogaster</i>	$4,3 \cdot 10^{10}$	2 см	$6,5 \cdot 10^7$	Бир қизиқли икки занжирли

Қўш асоснинг молекуляр массаси = 650  
 ДНК нинг 1 мкм = 3000; қўш асосларнинг молекуляр массаси =  $1,3 \cdot 10^6$

Вируслар, ҳужайранинг аксича, метаболик жараёнларда энергия ҳосил қилиш ва оқсилларни синтезлаш хусусиятига эга эмас. Вирусларни ўрганиш молекуляр биологиянинг ривожланишига чуқур таъсир этди. Вирусларнинг кўпайиш механизми кўп йиллар давомида ҳужайра ривожланиши ва биологияда ҳужайрини — текинхўр муносабатининг модели ҳамда эволюцион жараён ҳақидаги тушунчалар молекуляр аспектининг манбаи бўлиб келмоқда.

Улар таркибида ДНК ёки РНК сақлаши, бир вақтда уларнинг икковини ҳам сақламаслиги билан ҳужайралардан фарқ қилади. Бактерияларда репликация қилинадиган вируслар *бактериофаглар, фаглар* (юнонча — бактерияларни емирувчилар демак) деб аталади. Вирусларнинг баъзилари бир занжирли, иккинчилари икки занжирли нуклеин кислоталар сақлайди. Тузилишининг мураккаблигига қараб, вируслар жуда кенг миқёсда фарқ қилади: фақат 4 та ген тутувчи РНК сақловчи  $\phi \times 174$  — фагдан геноми 250 гендан иборат чечак вирусигача. Уларнинг шакли ва ўлчами ҳам фарқ қилади. Вируснинг ҳужайрадан ташқаридаги тайёр маҳсулоти *вирион* (ёки вирус



51-расм. Вируснинг тuzилиши.

парчаси) деб аталади. Вирус таркибига кирган нуклеин кислоталар, уни ферментлар таъсирида парчалангандан сақлаб турадиган, оқсил қобилият билан ўралган. Худди шу капсид нуклеин кислотанинг ҳужайра ичига киришини таъминлайди.

Вируслар нуклеин кислоталарининг ўлчами бактериялар ДНКсиникига нисбатан кичик, улар вирус парчаларида учрайдиган оқсилларни ва ҳужайра ҳужайрада вируснинг репликацияси учун зарур баъзи ферментларни специфик кодирлайди. Қуйидаги жадвалда вирусларнинг энг машҳур баъзи вакиллари келтирилган:

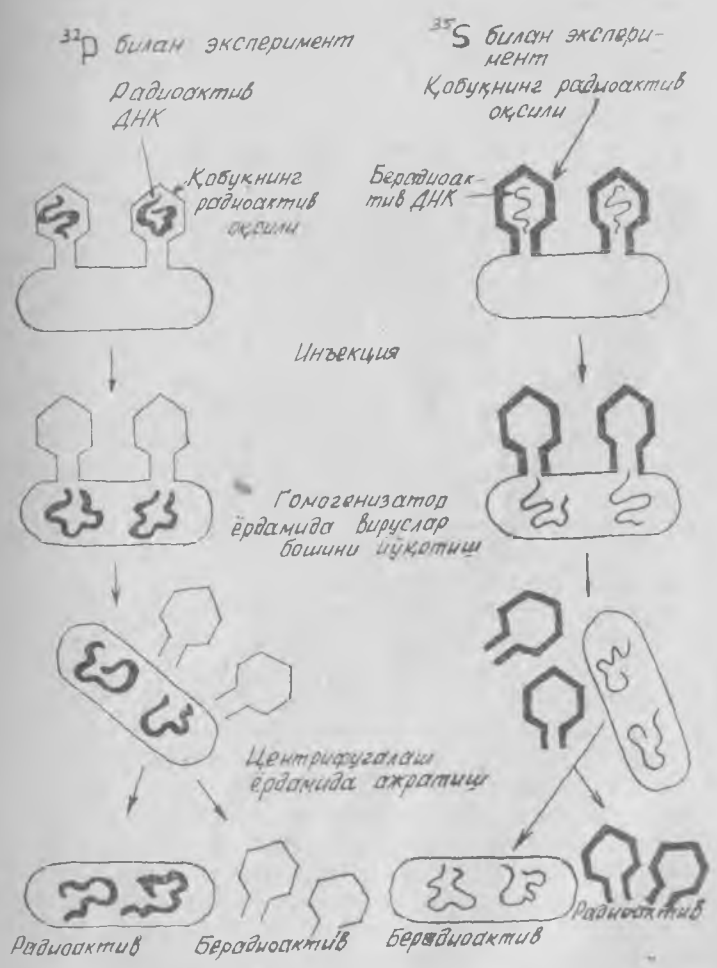
Баъзи энг машҳур вируслар

6-жадвал

Вирус турлари	Вакиллари
Бактериал вируслар ДНК тутувчилар	(бактериофаглар) Φ × 174 λ (лямбда) T2 T4
РНК тутувчилар	f2 MS2 R17
Юқорида келтирилган бактериофагларнинг ҳужайрани Ҳайвон вируслари	E. coli дир Маймун вирусини 40 (SV 40) Сичқон полиомасини вирусини Қуён полиомасини вирусини Содда герпес вирусини (одамники) Аденовирус одамники Раус саркомасини вирусини (паррандаларда) Полиомиелит вирусини Грипп вирусини
РНК тутувчилар	

Фаглар бактерияларни инфекциялаганда вируснинг думидаги толалари бактерия сатҳининг молекуляр структураси билан реакцияга киришади. Бинобарин, фаг билан бактерия орасида юксак спецификлик мавжуд. Фаг думидаги толалар билан бактерияга етишгач, асос пластинкасидаги лизозимлар

(эритувчи ферментлар) бактерия ҳужайраси деворини бузди ва ДНК бактерия ҳужайраси ичига юборилади. Фаг ДНК (ёки РНК) си ҳужайрини ҳужайрасига киргач, фагларнинг янги авлодини ҳосил қиладиган уч фазада ўтадиган қатор жараёнларни бошлаб юборади: 1) илк фаг РНК си ва илк оқсил синтези; ҳужайрининг барча нуклеин кислоталари ва оқсиллари синтезини тўхтатиш; 2) кечки РНК ва кечки оқсиллар синтези ва 3) янги фаглар морфогенези. Сўнгра тайёр фаглар ҳужайра деворини бузиб, ташқарига чиқади ва ҳосил бўлган бола вируслар ўз инфекциясининг янги циклини бошлайди. Вирус бактерияни инфицирлаганда ҳужайра ичига унинг ДНК молекула-



52-расм. Фагнинг бактерия ҳужайрасида кўпайиши.

си киритилиши ДНК ирсиятни ташувчи молекула эканлигини тасдиқлашда муҳим далил бўлган эди. 1952 йил Альфред Д. Херши ва Марта Чейз E. coli ни T2 бактериофаг билан инфекциялаб ўтказган тажрибаларида бактерия ҳужайрасига фагнинг оқсили эмас, балки ДНК си киритилишини нишондан фойдаланиб кўрсатдилар. 111-бетдаги расмда мана шу тажрибанинг умумий схемаси келтирилган:

Тажрибада бактериофагнинг икки хил нишонланган препаратлари қўлланган. Улардан бирида фагнинг ДНК си  $^{32}\text{P}$  билан, иккинчисида фагнинг оқсили  $^{35}\text{S}$  билан нишонланган. Препаратларнинг ҳар бири алоҳида радиоактив нишон тутмаган бактериялар суспензиясига қўшилиб чайқатилган. Фаглар бактериялардан ажратилгандан сўнг нишонланган ДНК билан ишланган бактерияларда радиоактив нишон топилган.  $^{35}\text{S}$  билан нишонланган фаг оқсили бактерияда топилмаган, лекин радиоактив нишон фагнинг «соясига» (ДНК сидан ажралган қобида) топилган.

## 5.2. Прокариот ҳужайралар геноми

Прокариот ҳужайралар геноми икки занжирли ягона ДНК нинг ёпиқ ҳалқасидан иборат бўлиб, ҳужайранинг катталигига нисбатан у жуда улкан. Генетик экспериментлар ва бевосита микроскопик тадқиқотлар E. coli ДНК си жуда узун молекула эканлигини кўрсатди. Унинг узунлиги 1,36 мм, тахминан  $4 \cdot 10^6$  жуфт асослар, 4600 кв ( $k$  — кило,  $b$  — base асос)га эга, қалинлиги 20 Å мол, массаси  $2,8 \cdot 10^9$ . Тушунарлики, ДНК юксак даражада ўралган бўлиши керак. Бактерия ДНК сининг миллионлаб одатий асослари (A, T, G ва C) орасида қўшимча метил группалар тутадиган асослар ҳам учрайди. Бактериянинг ҳар бир тури учун метилланган асосларнинг ўзига хос кўриниши характерли. Бир қатор муҳим текширишларда метилланган асосларнинг биологик аҳамияти аниқланди. Улар бактерияга ҳужум қилиб, унинг ДНК сени парчалайдиган вируслардан сақланиш қуроли экан. Бактерия — ҳужайининг метилланган ДНКси ўзининг рестриктазаси томонидан парчаланмайди, ҳолбуки, вирус ДНК си эса бу ферментлар таъсирида йўқотилади.

Прокариотларда геном структура жиҳатдан ҳам анча содда тузилган, уларнинг геномида ДНК регулятор ва сигнал асослар қаторидан ташқари, трансляция қилинмайдиган жим-жит турадиган участкалар ҳам анча сийрак.

Бундан ташқари, баъзи бактерия ҳужайраларида *плазмидий* деб аталадиган ҳалқа шаклидаги бир нечта, майда цитоплазмада эркин яшайдиган ДНК молекулалари ҳам мавжуд. Хромосомадан ташқари, эркин генетик элемент деб аталадиган бу структуралар ҳужайранинг жуда кўп бўлиниш цикларида ўзининг хусусий ритмларида яшайверади. Бинобарин, плазмидий ДНК нинг турли сегментларидан ташкил топган, турли-



ча келиб чиққан *репликонлардир*. Улар ДНК дан жуда кичик, 5—100 миллион дальтон массага эга, осонлик билан ўз эгасининг геномига ва бошқа хужайралар ДНКсига ҳам уланиб олади. Уларнинг бундай хоссаси генетик инженерликда ёт хужайрага керакли генни жойлаштириб ишлатишга мажбур қилиш учун жуда қўл келди.

### 5.2.1. Рестрикцион эндонуклеазалар

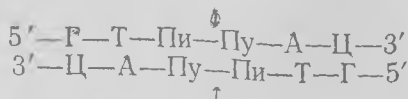
Бактерия ДНК си рестрикция ва модификация системаси ёрдамида ташқи зарарли таъсирлардан муҳофазаланган. Хужайрада бу функцияларни бажарадиган махсус рестрикцияловчи ва модификацияловчи ажойиб ферментлар группаси мавжуд. Улар устида алоҳида тўхталиб ўтилса арзийди. 1970 йил ичак таёқчасида, сўнгра бошқа прокариотларда (лекин эукариотларда эмас) нуклеотидларнинг тегишли тартибига нисбатан специфик ва фақат маълум боғларга таъсир этадиган *эндонуклеазалар* топилган эди. Бу ферментларнинг вазифаси бактерия хужайрасини унга кирган вирус инфекцияларидан қўриқлашга қаратилган. Бу вазифани улар вирус ДНК сининг ҳар иккала занжирини парчалаш йўли билан бажарадилар; шу йўл билан бактерия хужайраси вирус ДНК сининг экспрессияси чегараланади (*рестрикция*). Шунинг учун ҳам эндонуклеазаларнинг бу тури *рестрикцион эндонуклеазалар*, яъни соддагина қилиб *рестриктазалар* деб аталган. Рестрикцион нуклеазалар ҳар қандай узун ДНК молекуласини ҳам кесиб рестрикция фрагментлар деб аталадиган қатор кесиклар ҳосил қилиш хусусиятига эга. Улар ДНК да нуклеотидлар тартибини белгилаш, хромосомаларнинг генетик харитасини тузиш ва интакт генни бир хромосома ДНК сидан иккинчисига кўчириш мақсадида кесиб олиш учун бебаҳо қуролдир. Рестрикцияловчи ферментларни кашф этган америка олимлари Смит ва Арбер 1978 йили Нобель мукофотига сазовор бўлганлар.

Ичак таёқчасининг икки хил штаммида бактериянинг инфекцияси бўлган вируснинг ўсишини текшириш жараёнида бу ферментларнинг муҳим хоссалари маълум бўлди. Улар, аввало, заргардай аниқлик билан ДНК молекуласида метилланмаган нуклеотидлар орасидаги алоҳида боғнигина узади, метилланган асослар орасидаги боғларни мутлақо узмайди. Бактерия — хужайиннинг ДНК молекуласи (синтезланиш жараёнидаёқ) метилланиши туфайли айни эндонуклеаза таъсиридан қутулиб қолади. Ёт вируслар эса молекуланинг тегишли жойида метил группалар сақланмаганидан рестриктаза атакасига дучор бўлади. Лекин вирус ДНК сининг озгина қисми хужайра ичида метилланишга улгуради ва янги шароитга мослашиб, ўз ишини бажарверади.

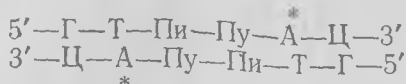
Айни бактериялар турининг ДНК сини спецификлиги бўйича бир-бирига яқин иккита фермент: 1) модификацияловчи метилаза ва 2) рестрикцияловчи эндонуклеаза кўриқлайди.

Модификацияловчи метилаза ҳужайранинг хусусий ДНК сини маълум нуклеотидлар қаторининг калта қисмида специфик метилланиш кўринишини таъминлайди.

Специфик рестрикцияловчи эндонуклеаза эса ўз навбатида, мана шу қаторда тегишли асослар метилланмаган бошқа барча ДНК ларни парчалайди. Масалан, *Haemophilus influenzae* бактериясининг рестрикцияловчи эндонуклеазаси ҳар қандай ДНК да қуйида келтирилган асослар қаторини стрелка кўрсатилган жойда парчалайди:



Аммо юлдузча билан кўрсатилган асослар метилланган бўлса, бу қаторни парчаламайди:



Бу схемада: Пу — пурин; Пи — пиримидинлар.

Рестриктазалар танийдиган нуклеотидлар қатори ДНК молекуласида анча сийрак. Бундай узиш ўрни молекулада ягона бўлиши ҳам мумкин. Одатда бу қатор тўрт ёки олти нуклеотиддан ташкил топган. Ҳозиргача бир неча юз рестрикцияловчи эндонуклеазалар кашф этилган. Уларнинг ҳар биттаси асослар қаторининг маълум тартибига нисбатан қатъий спецификдир. Тўпланган маълумотлар анализи шуни кўрсатдики, улар таъсир этадиган ДНК участкасининг нуклеотидлар қатори симметрик тузилишга эга, яъни бу олти аъзоли қаторнинг ўртасидан хаёлий перпендикуляр чизик ўтказиб, энди шу қаторни чизма сатҳида  $180^\circ$  га айлантирилса, қаторнинг айни ўзи ҳосил бўлади.

Симметриянинг *иккинчи тартиб ўқ симметрияси* деб аталадиган бу турида қатордаги нуклеотидларнинг изчиллик билан келиши биринчи қатор тўғри ўқилганда иккинчи қаторни тескари ўқилгандаги тартибга аниқ мос келади. ДНК қўш занжир (дулекс) нинг бундай қисми *палиндром* деб аталади, чунки ҳар икки томонга бир хил ўқиладиган сўзлар ҳам шундай аталади. Буни 115-бетда келтирилган жадвалдан ҳам кўрса бўлади, бу ерда  $\theta$  белгиси симметрия ўқини, N—A ёки T ни кўрсатади.

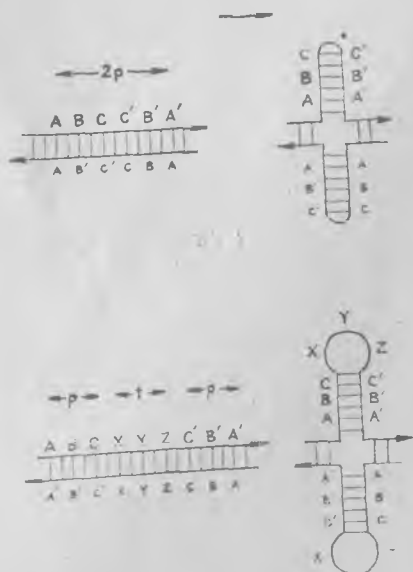
Рестрикцияловчи эндонуклеазалар қисқача улар ажратиб олинган микроорганизмларнинг латинча номининг биринчи ҳарфларидан тузилади. Мас. *Eco R I* ичак таёқчаси (*Escheri-*

## Рестрикцияловчи баъзи эндонуклеазаларнинг спецификлиги

Рестриктазанинг қисқартирилган номи	ДНКнинг рестрикция қисмидаги асослар қатори
Eco RI (E. coli дан)	$5'-\text{Г}-\text{А}-\text{А}-\text{Т}-\text{Т}-\text{Ц}-3'$ $3'-\text{Ц}-\text{Т}-\text{Т}-\text{А}-\text{Т}-\text{Г}-5'$
Eco RII	$5'-\text{Н}-\text{Ц}-\text{Ц}-\text{Н}-\text{Г}-\text{Г}-\text{Н}-3'$ $3'-\text{Н}-\text{Г}-\text{Г}-\text{Н}-\text{Ц}-\text{Ц}-\text{Н}-5'$
Hind III	$5'-\text{А}-\text{А}-\text{Г}-\text{Ц}-\text{Т}-\text{Т}-3'$ $3'-\text{Т}-\text{Т}-\text{Ц}-\text{Г}-\text{А}-\text{А}-5'$
Bam HI	$5'-\text{Г}-\text{Г}-\text{А}-\text{Т}-\text{Ц}-\text{Ц}-3'$ $3'-\text{Ц}-\text{Ц}-\text{Т}-\text{А}-\text{Г}-\text{Г}-5'$
Hpa I	$5'-\text{Г}-\text{Т}-\text{Т}-\text{А}-\text{А}-\text{Ц}-3'$ $3'-\text{Ц}-\text{А}-\text{А}-\text{Т}-\text{Т}-\text{Г}-5'$
Hpa II	$5'-\text{Г}-\text{Ц}-\text{Г}-\text{Ц}-3'$ $3'-\text{Ц}-\text{Г}-\text{Ц}-\text{Г}-5'$

chia coli) ning R штаммидан олинган, санокда биринчи демакдир; *Hin d II*, *Hin a III* (v) *Nastrophilus influenzae* (v) ва ҳоказо.

Эукариот ДНК структура-сида жуда кўп (балки минглаб) палиндромлар учраши унинг яна бир хусусиятидир. Палиндром (юнонча «орқага қочиш» маъносини беради) тўғри ва тескарига бир хил ўқиладиган сўз ёки жумлани билдиради. Биохимиявий генетикада палиндром сўзи эукариотик ДНК нинг қайтарилган нуклеотид қаторларни тутадиган участкаларини белгилаш учун қўлланади. Бундай участкаларни рестрикцияловчи эндонуклеазалар беҳато танийди. Кўп палиндромларнинг ўлчамлари жуда катта, минглаб асосларга етади. ДНК да палиндром уз-узича учлари қўшилган ҳалқа ҳосил қи-



53-расм. Палиндромларнинг тузилиши:

1 — такрорланишлар такрорланмайдиган қаторлар билан ажратилмаган; 2 — такрорланмайдиган қаторлар билан ажратилган.

либ уланади ва шпилькасимон структура ташкил қилади. Калта палиндром қаторлар рестриктазалар ва аксари регулятор оқсиллар танийдиган участкаларни ташкил қилади.

300—1200 қўш асослар тутувчи палиндромлар фақат эукариотлар ДНК сида топишган. Уларнинг аҳамияти ҳозирча аниқланган эмас.

Генетик ахборот қанча мураккаб бўлса, транскрипцияни назорат қилувчи механизмлар ҳам шу қадар мураккаб бўлади.

### 5.3. Эукариот ҳужайра геномининг тузилиши

Ҳар хил турларга мансуб эукариот ҳужайраларда битта ҳужайранинг ўзидаги ДНК нинг миқдори турлича. Тирик организм қанча мураккаб бўлса, унда генетик ахборот шунча кўп бўлади. Ягона одам ҳужайрасидаги ДНКнинг умумий узунлиги 2 м га тенг ҳисобланади; бу тахминан  $5 \cdot 5 \cdot 10^9$  қўш асосларга, бинобарин,  $4 \times 10^{12}$  молекуляр массага тўғри келади. Одам ҳужайраларида 46 та хромосома бўлиб, улар ҳар бирининг узунлиги 4 см га тенг. ДНК да 1 миллион «ҳарф» (нуклеотидлар) 0,034 см узунликда жойлашади ва  $10^6$  нм<sup>3</sup> ҳажми ишғол қилади. Бошқача айтганда, одам организмнинг диаметри 20 мкм га тенг бўлган типик ҳужайрасида, битта гаплоид геномда ахборотнинг ярмини сақлайдиган уруғ ҳужайрасидаги  $3 \cdot 10^9$  нуклеотидларда жойлашган генетик ахборот қирралари  $1 \cdot 5 \cdot 10^{-4}$  см (1,5 мк) кубга сиғади. Солиштириш учун айтиш мумкинки, бундай ахборот китобда  $3 \cdot 10^9$  ҳарф, 1 млн бетни эгаллар эди.

Умуман битта хромосомада нечта ген жойлашган, деган савол ҳам олимларни қизиқтириб келган. Бу саволга жавоб бериш учун ҳам молекуляр биологиянинг сеvimли объекти *E. coli* га мурожаат қилишга тўғри келди. Тез орада турли йўллар билан битта хромосомада жуда кўп генлар жойлашганлиги аниқланди.

Ичак таёқчасида уларнинг сони 3000 дан ортиқ, балки 5000 атрофидадир. Турли генетик ёндашишлар орқали кўпгина генларнинг хромосомада жойланиш тартиби ҳам белгиланган. Бир ДНК молекуласидаги генларнинг сони, албатта, уларнинг ўлчами ҳақидаги саволни ҳам туғдиради. Генлар ўлчамини назарий ҳисоб билан ҳам белгилаб бўлади. Яна ўша молекуляр биологиянинг ишончли объекти *E. coli* га мурожаат қиламиз. Маълумки, ичак таёқчаси  $4 \cdot 10^6$  қўш нуклеотидлардан иборат. Ҳар бир аминокислотани изчил келадиган учта асос (триплет) кодирлаганидан ва генетик кодда уларни ажратиб турадиган вергуллар бўлмаганидан 350 та аминокислота қолдиғидан тузилган ўртача оқсилни кодирлаш учун 1050 та асос тўғри келади. Бундай асосли ҳисобга *E. coli* да мавжуд бўлган 4 миллион қўш асослар 3800 та генини кодирлаш учун етарли бўлади ( $4 \cdot 10^6 : 1050 = 3800$ ). Ген структурасида регулятор қаторлар ва

генлар орасида кодламайдиган участкалар спейсерлар борлиги ҳисобга олинганда генларнинг сони камроқ бўлиши керак.

Эукариот ДНК да генларнинг ташкил этилиши структура ва функция жиҳатидан ҳам анча мураккаб. Сичқон ва бошқа кўп организмларда ўтказилган тажрибалар уларнинг хромосомаларида жуда кўп такрорланадиган қаторлар мавжуд эканлигини, прокариотларда улар йўқлигини тасдиқлади. Бу такрорланишларнинг кичик (10 асосдан кам) қатордан ташкил топганлари миллиондан ортиқ бўлиши мумкин. Улар юксак такрорланишлар деб аталиб, сичқон ДНК сининг  $\sim 10\%$  ни ташкил қилади. 10000 мартадан кам бўлмаган ўртача такрорланишлар яна  $20\%$  ни ташкил этади ва қолган  $70\%$  ДНК нинг ягона қисмига тўғри келади. Турли эукариотларда юксак ва ўртача такрорланадиган қаторлар сони ҳар хил турларда фарқ қилади.

Гаплоид геномдаги ДНКнинг миқдори организмларнинг эволюцион занжиридаги ўрнига боғлиқ эмас. Бир қатор яқин турадиган турларда ҳам ДНК нинг миқдори орасида кескин фарқ кузатилиши мумкин. Бунинг моҳиятини шундан тушунилса бўлади, сут эмизувчиларда улар геномининг  $1\%$  дан камигина зарур оқсилларни кодирлайдиган ДНК ҳисобига тўғри келади. Бинобарин, сут эмизувчилар геноми деярли 3 млн оқсилни кодирлаш учун етарли ўлчамга эга ( $3 \cdot 10^9$  нуклеотид) бўлса ҳам, ҳеч бир организм 30000 дан ортиқ алоҳида қаторларни реал кодлашга қабул тузилмаларга молик эмас. Бу нуқтаи назардан инсон тахминан 5000 генга эга пашша — дрозофиладан фақат 6 мартагина мураккаб.

Маълумки, барча ДНК нинг фақат озгина қисмигина ҳақиқатан оқсилларни кодирлайдиган ДНК дир. Хромосомадаги ДНК нинг кўп қисми оқсилларни кодирламайди. ДНК нинг қўш занжири юзасида жуда кўп оқсиллар сочилиб ётади. Улар нуклеотидларнинг специфик қаторини танийди (регулятор оқсиллар), масалан, оқсил *репрессор* ДНК билан боғланиб, лактоза метаболизмига жавобгар ва бутун генлар кластери оиласи синтезини тула ингибирлайди. Бундай оқсиллардан бир қанчаси маълум.

Одам, ҳайвонлар ва юксак ўсимликлар ҳужайраларида ДНК нинг миқдори бактерияларникига қараганда 10000 марта кўп, генлар миқдори эса фақат 1000, баъзан ундан ҳам кам марта кўпроқ. Ҳужайрадаги ДНК нинг миқдори миллион генга етади, лекин ҳар бир аини дақиқада 100000 дан кам ишлайди, қолганлари тинч ҳолатда бўлади.

Баъзи эукариот генлар ҳужайрада жуда кўп нусхаларда учрайди. Бунга тўрт хил р-РНК ни кодирлайдиган генлар йиғиндиси ёрқин мисолдир. Гистонларни кодирлайдиган генлар ҳам 1000 гача нусхада учрайди. Лекин бундай воқеа унча кўп тарқалган эмас. Масалан, эукариотларнинг бир қанча туқималари ва ҳужайраларида жуда кўп миқдорда учрайдиган оқсил-

лар, масалан, зардоб альбумини, гемоглобин, коллаген ва тухум альбумини генлари бир ёки бир нечта нусхада бўлади.

### 5.3.1. Эукариот хромосомалар хроматин толаларидан тузилган

Тинч ҳолатдаги эукариот ҳужайрада хромосома материали *хроматин* деб аталади, у аниқ кўринмайди ва ядро бўйича бепартиб тарқалгандай туюлади. У 60% оқсил, 35% ДНК ва балки 5% РНК дан иборат нозик толалар ҳосил қилади. ДНК хроматинда ишқорий табиатга эга оқсил — гистонлар билан қаттиқ боғланиб, яхшилаб тахланган ва тартибланган *нуклеосомалар* ҳосил қилади. Демак, нуклеосомалар хромосомаларнинг структура бирлигидир. Чўзилган ҳолда одам хромосомасининг ҳар бирида жойлашган ДНК қўш спиралининг узунлиги тахминан 5 см га тенг бўлар эди. Гистонлар ёрдамида бу узун молекуланинг диаметри фақат бир неча мкм га тенг ядрога зич тахланган. 1974 йилда кашф этилган нуклеосомалар туфайли хроматин ипи қисман ёйилган бўлиб, электромикрографияда мунчоқ ипига ўхшайди. Бу ДНК — гистонли комплекс нуклеазалар иштирокида парчаланганда нуклеосомалар орасидаги участкалар ечилади, 146 жуфт асос тутувчи икки занжирли компонент ҳосил бўлади. Ҳар бир нуклеосома бир қанча гистон молекулаларига ўралган нуклеин кислота занжири, шу комплекс нуклеосомаларни ҳосил қилади. Уларни боғлаб турган ДНК занжири, гистонсиз участка, узунлиги 60 та қўш нуклеотидга тенг бўлиб, *линкер* участкаси деб аталади. Нуклеосома (гистонли) *кор* ёки минимал нуклеосома линкерли ДНК билан биргаликда хроматиннинг такрорланадиган структура бирлигини ташкил қилади. Шундай қилиб, мана шу тарзда шаклланган хусусий нуклеосома 200 қўш нуклеотид қаторини ўз ичига оладиган ДНК фрагментидир.

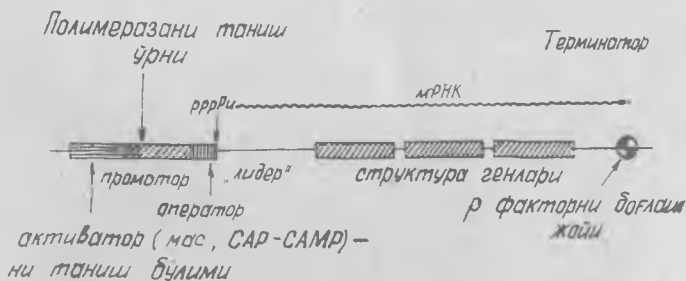
Гистонлар ДНК нинг бошқа ДНК — боғловчи оқсиллар билан алоқасини чегаралаб, ген фаолиятининг регуляциясида қатнашади.

### 5.4. Ген активлигининг регуляцияси

Геннинг охирги маҳсулоти оқсил бўлганидан унинг регуляцияси бевосита оқсил синтезини назорат қилиш механизмининг калитидир. Ичак таёқчаси хромосомаси ДНК сининг катталиги, т-РНК ва р-РНК лар ҳисобга олинмаганда, тахминан 3000 та оқсилни кодирлаш учун етарли. Аммо бир вақтнинг ўзида фақат 1000 тагина оқсил синтезланади. Одамнинг 46 хромосомасида кодирланган оқсиллар сони 10—100 марта ортиқ, лекин бу ерда ҳам бу оқсиллар ҳаммаси доимо синтез қилинмайди. Шунинг билан бирга ҳамма генлар ҳам полипептид занжирини ҳосил қилиб экспрессияланмайди. Анчагина генлар оқ-

селларни кодирловчи цистронларнинг бошланиши ва тугашини белгилайди, бошқалари бу генларни ишга солиш ва тўхтатиш сигналларини ташкил қилади. Булардан шундай ҳулосага келиш мумкинки, жонли ҳужайра оқсиллар синтезини идора қилиш қобилиятига эга, бинқбарин, баъзи оқсиллар фақат улар учун зарур шароит туғилгандагина синтезланади. Мана шундай назорат механизмини тушунтириш учун 1961 йили француз олимлари Ф. Жакоб ва Ж. Моно *генлар индукцияси ва репрессияси назариясини* таклиф қилдилар. Бу назария сўнгра яна такомиллаштирилиб, жуда кўп тажрибаларда тўла тасдиқланди.

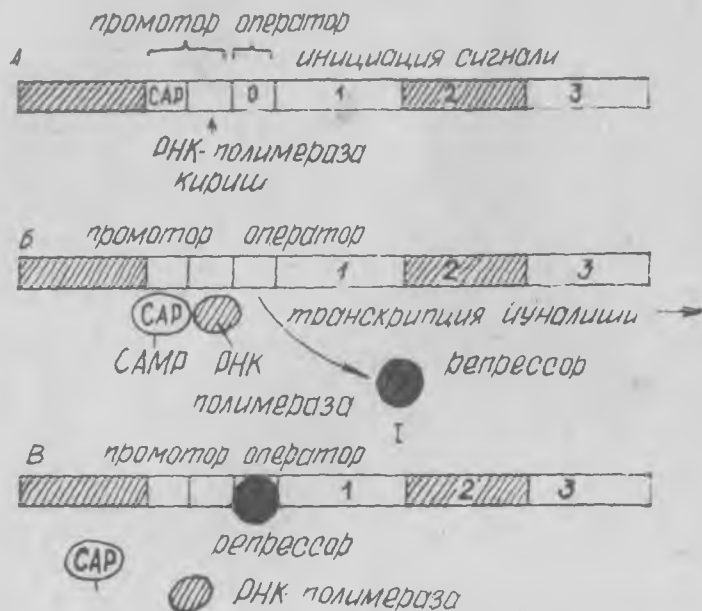
Индукция ва репрессия назариясига кўра, ген, яъни ДНК нинг маълум чегараланган сегментининг икки қисми: *регулятор ген* ва *структура гени* бор. Структура генлари (яъни ҳужайра структурасини ва унинг метаболизмини таъминлаб турадиган оқсилларни кодирловчи генлар) регулятор ген экспрессияси туфайли назорат қилинади. Бу функцияни регулятор ген структура ген экспрессиясини бўғиб турадиган махсус оқсил — репрессорни синтез қилиш йўли билан таъминлайди. Демак, нормал ҳолатда структура генлари репрессирланган бўлади. Ген ишлаши учун репрессор активсизланиши лозим. Бундай функцияни *индуктор* (кўпинча ген таъсир этадиган субстрат) бажаради. Ҳақиқатан ҳужайрада субстрат бўлмаса геннинг ишлаши ҳам керак эмас. Муҳитда индуктор пайдо бўлиши билан ген ишлайди ва шу субстратдан фойдаланиш учун лозим бўлган фермент синтезланади. У *индуцирланадиган фермент* дейилади.



54-расм. Оперон структурасининг модели.

Репрессор оқсил табиатли модда бўлиб, ДНК нинг *оператор* номли сегменти билан реакцияга киришади. Репрессорнинг боғланадиган жойи промотор билан структура генлари орасида. ДНК га муҳтож РНК-полимеразанинг боғланадиган жойи промоторнинг старт нуқтаси. Репрессорнинг оператор билан боғланиши туфайли РНК-полимераза промотор билан бирика олмайди. ДНК молекуласининг регулятор участкасидаги операторлар — регулятор оқсилларни танийдиган жой, *промоторлар* инициация (структура гени иш бошлаш) жойини танийди.

Баъзи вақтларда шу қисмга «ижобий» назорат қиладиган элементлар, масалан, комплекс циклик АМР—КФО (катаболик активловчи оқсил) ҳам киради. Мана шу участкаларнинг ҳаммаси структура генлари, битта промотор ва битта оператордан иборат функционал бирлик *оперонни* ҳосил қилади.



55- расм. Ген функциясининг регуляцияси.

Энг яхши ўрганилган оперон — ичак таёқчасининг *лактаза оперони* — *лас-оперондир*. Лас-оперон 120 та қўш асослар қаторидан тузилган. Оператор билан структура генлари орасида 166 та қўш нуклеотиддан иборат *лидер қаторлик* жойлашган, унинг маълум қисми *аттенюатор* деб аталади. Одатда, аттенюаторда, агар қандайдир стимуляторлар тўсқинлик қилмаса, транскрипция тугайди.

Транскрипция қилинаётган ген (ёки генлар) тугагани ҳақида ДНК матрицада асосларнинг махсус терминирловчи қатори сигнал беради. Транскрипциянинг тугаши учун р ҳарфи билан белгиланадиган специфик оқсил ҳам керак.

Структура генлари инициирловчи кодондан бошланиб, терминирловчи кодон билан тугайди. Промотор ДНК га муҳтож РНК-полимеразани, оператор тартибга солувчи молекулаларни боғлайди.

Лактаза оперонининг барча промотор-операторли участкаси ажратиб олиниб, унинг нуклеотид қатори аниқланган. Умумий узунлиги 120 та қўш асослар бўлиб, оператор (яъни 1/3), про-



мотор тахминан 80 ( $\frac{2}{3}$  қисмини) ташкил қилади. Оперонда на- зорат остида биттадан ген ҳам бўлиши мумкин. Лактоза опе- ронида бирин-кетин келган учта ген ( $\beta$ -галактозидаза, пермеаза, трансацетилаза) учта айрим старт ва терминал кодонлар та- шувчи битта м-РНҚ сифатида транскрипция қилинади.

### 5.5. Эукариот ҳужайрада генлар ифодаси

Энди ДНК молекуласининг функционал жиҳатдан энг му- ҳим қисми бўлган генлардаги ахборотнинг амалга ошишини ва бу жараённинг бошқарилишини кўриб чиқайлик. ДНК моле- куласида тўртта нуклеотиднинг изчил қатъий тартибда жойла- шини белгилайдиган генетик ахборот ҳар бир тирик орга- низм учун ягонадир. XX асрнинг дастлабки йилларида ген деб аталган унинг бирлиги доим биология фанининг марказида бў- либ, тобора аниқ таърифланиб келди.

Ген классик биологик маънода организмнинг қандайдир бир фарқли белгиси, яъни фенотипи, организмнинг кузатилади- ган хоссаси, ташқи кўриниши (масалан, кўзнинг ранги) ни белгилайдиган хромосоманинг қисмидир. Кейинроқ ген генетик материалнинг қандайдир бир ферментни аниқлайдиган ёки кодирлайдиган қисми (Бидл ва Татумнинг: *бир ген — бир фер- мент гипотезаси*) деган таъриф пайдо бўлди. Сўнгра бу таъ- риф кенгроқ маънода «*бир ген — бир оқсил*» шаклини олди. Лекин ҳозир генга яна ҳам аниқроқ биохимиявий таъриф бе- риш мумкин. Маълумки, кўпгина оқсиллар бир нечта полипеп- тид занжирдан ташкил топган. Бу занжирлар бир хил бўлма- ганидан (масалан, гемоглобинда  $\alpha$  ва  $\beta$  занжирлар) уларни алоҳида генлар кодирлайди: шунинг учун *бир ген — бир поли- пептид* ифодаси ген билан оқсил орасидаги муносабатни аниқ- роқ таърифлайди.

Шундай қилиб, геннинг ифодаси унда ёзилган информация- нинг оқсил шаклида амалга ошишидир. Бу феномен ген *эксп- рессияси* деб аталади. Лекин ДНК нинг ўзи бевосита оқсил синтезида қатнашмаганидан ДНК даги информацияни оқсил шаклида реализация қилинишигача ДНК нинг биринчи маҳ- сулоту матрица РНК си — *транскрипт* ҳосил бўлади. Сўнгра м-РНҚ геннинг охирги маҳсулоту — оқсилни яратади. Бирор оқ- сил (фермент) ни бор-йўқлиги ҳам организмнинг ирсий белги- сидир. Айрим генлар ва улар тўпламларининг ташқи муҳит билан боғлиқ ҳолдаги экспрессияси *фенотипни* белгилайди.

Табиатнинг ҳаммани қизиқтирадиган энг чуқур сирларидан бири организмнинг *ирсияти* ва *ўзгарувчанлигидир*. Бу муаммо- нинг ёритилишида Грегор Мендель томонидан 1865 йилда ир- сият қонуниятларининг очилиши, 1900 йилда унинг бир вақтда икки олим Де Фриз ва Чермак томонидан янгидан алоҳида- алоҳида тасдиқланиши муҳим босқич бўлди. Лекин бу каш-

фиётларнинг ўзи ҳали ирсиятнинг сақланиши нимага боғлиқ ва ирсий белгилар қандай йўл билан наслдан-наслга ўтади, деган фундаментал саволларга жавоб бермас эди. Асримизнинг бошида ирсият синрини молекулалардан қидириш керак, деган ғоя туғилиб, уни тасдиқлайдиган бир қатор далиллар тулланди. Бу йўналишда инглиз олими А. Гэррод биринчи қадам қўйди, десак бўлади. У сийдикнинг ҳавода қорайиб кетиши билан кузатиладиган *алкаптонурия* касаллигининг сабабини текшириб, бу касаллик ген таъсирининг етишмаслигига боғлиқ эканлигини, касаллик наслдан-наслга ўтишини аниқлади ва ўз тадқиқотлари билан метаболизмнинг туғма патологияси концепциясини ишлаб чиқди. Кейинги йилларда генлар оқсиллар структурасини белгилаши ва анчагина кенг тарқалган ирсий касалликлар айнан фермент камчилиги билан боғлиқ эканлиги аниқланди. Юқорида келтирилган алкаптонурия касаллиги ҳам ароматик аминокислота бўлган тирозин метаболизмининг нормал маҳсулоти — гомогентизат кислотанинг, организмда уни оксидлайдиган фермент етишмаслиги туфайли сийдик билан чиқарилишига боғлиқ.

1941 йилда бир ген — бир фермент гипотезасининг илгари сурилиши генетика билан биохимия орасида алоқалар ўрнатилишига сабаб бўлди. Бу қондани ишлаб чиққан олимлар Джорж Бидл ва Эдуард Татум ўз олдиларига биохимиявий белгиларни генлар бошқарадими, деган фундаментал саволга жавоб беришни мақсад қилиб қўйган эдилар. Улар ўз тадқиқотлари учун жуда қулай объект — нон моғори — нейроспорадан фойдаланиб, ультрабинафша ёки рентген нурлари таъсирида уларда мутациялар пайдо бўлишини кузатдилар. Ионлантирувчи нурлар, рентген, ядро (гамма нурлар), ультрабинафша нурлар асосий мутаген агентлардир. Бидл ва Татум нейроспора ионлаштирувчи нурлар таъсирида витаминлар ва аминкислоталар синтезлаш хусусиятини йўқотишини ва бу хусусият янги наслга ўтишини тасдиқладилар. Демак, генлар ферментлар синтезини бошқарар экан, чунки нур таъсирида витамин ёки аминокислота синтезлаш хусусияти йўқолишига нейроспора ҳужайрасида тегишли фермент етишмаслиги сабаб бўлади. Бидл ва Татум бу муҳим кашфиётлари учун 1958 йилда бактерияларда жинсий жараёни кашф этган олим Джошуа Ледерберг билан бирга Нобель мукофотига сазовор бўлдилар.

Гэрроднинг кашфиётлари ирсий касалликлар ген таъсирига боғлиқ эканлигини кўрсатган бўлса ҳам фан ҳали геннинг ўзи нима, у қандай қилиб ирсий белгиларни сақлайди ва наслдан-наслга ўтишини таъминлайди, деган саволларга жавоб беришдан анча узоқ эди. Ирсият муаммоларини ҳал қилиш йўлида ҳали анча чигал ва мураккаб саволлар турар эди. Уларни ечиш учун яна ярим аср талаб қилинди. Бу давр ичида хромосома структуралари синчиклаб ўрганилди, генларнинг бириккан группалари кашф этилди, хромосомаларнинг дастлабки хари-

талари тузилди, мутациялар ва мутаген омиллар исботланди ва ҳоказо.

Генетика соҳасида фундаментал тадқиқотлар учун тегишли объектнинг танлаб олиниши ва муаммонинг тўғри қўйилиши ҳал қилувчи аҳамиятга эга бўлди. Физиологлар ўз тажрибаларини итларда, биохимиклар метаболик жараёнларни каламушларда ўтказдилар. Мендель ўзининг жуда содда тажрибалари учун нўхатнинг бир неча навидан фойдаланди. 1911 йили биринчи марта генетик тадқиқотларда дрозофила пашша, ўттинчи йилларда моғор замбуруғи — нейроспора, кўп вақт ўтмай, бактериялар ва вируслар қўллана бошланади. Бу объектлар танлаб олинишининг асосий сабаби уларнинг ҳаёт цикли калталиги, кўп сонли индивидлар билан ишлаш имконияти борлиги ва тажрибада фойдаланиш қулайлигидадир.

30—50-йиллар орасида турли организмлардаги моддалар алмашинувини ҳар томонлама ўрганиш натижасида метаболизмнинг асосий йўллари, биосинтетик реакцияларнинг изчил бориши ва ҳал қилувчи босқичлари микроорганизмларда (прова зукариотларда), ўсимликлар ва ҳайвонларда тахминан бир хил эканлиги аниқланди. Молекуляр биологиянинг бошланғич даврида қисқа вақт ичида бирин-кетин эришилган ажойиб кашфиётлар янги ғоялар туғилишига олиб келди. Булардан бири «*Escherichia coli* га нима тўғри келса, у филга ҳам тўғри келади» деган машҳур ибора эди. Аммо кейинги йилларда генетик материалнинг аниқ структураси белгилангач, бу ибора нотўғри бўлиб чиқди. 70-йиллар бир қатор кутилмаган воқеалар аниқланди. Зукариотларда кўп жараёнлар прокариотлардан бутунлай бошқача ўтиши маълум бўлди. Кўп нарсалар прокариотларда маълум бўлса ҳам зукариотларда ҳали номаълум эди: генлар активлиги қандай бошқарилади, зукариотларнинг генетик аппаратига қандай сигналлар таъсир қилади ва ҳоказолар.

## 5.6. Хромосомалардаги ўзгаришлар, мутация, рекомбинация, транспозиция

Кўп йиллардан бери геномлар барқарор, тургун ҳисобланиб келинган. Аммо яқиндан бери ДНК нинг маълум қаторларида турли ўзгаришлар бўлиб туриши, геномдаги жойларининг алмашилиши, ДНК яқин қисмларининг қайта қурилиши тасдиқланди. Бундай ҳодисалар прокариот ва зукариот организмларнинг табиий ҳаёт жараёнида ҳам бўлиб туради.

Хромосомалар доимо турли ўзгаришларга, қайтадан тузилишга дучор бўлади. Организмларнинг табиий ҳаётида хромосомаларда кузатиладиган ўзгаришларнинг бир неча хили маълум. Ўзгарган хромосомалар пайдо бўлишига олиб келадиган

генлар орасида нормал биологик алмашинув ёки турли манбалардаги генларнинг қўшилиши *генетик рекомбинация* деб аталади. Ҳосил бўлган хромосома репликация, транскрипция ва трансляция хусусиятини сақлаб қолади. ДНК таъсирида бактериялар трансформацияси мисолида генетик рекомбинацияни Эвери, Мак-Леод ва Мак Картиларнинг классик экспериментида танишган эдик. Бу тажрибаларда пневмококкларнинг вирулент штаммидан ажратилиб олинган ДНК вирулентмас ҳужайраларга кирганда бу штаммни вирулентли шаклга айлантириши кузатилган. Демак, донор ҳужайрада бўлган вирулентлик гени реципиент геномига илинади.

Хромосомалар нормал физиологик функция бажаришида ҳам доимо ўзгаришлар, қайта тузилишлар бўлиб туради. Тухум ҳужайра сперматозоид билан қўшилганда генетик рекомбинация юз беради; генлар ёки уларнинг айрим қисмлари хромосоманинг бир жойидан иккинчи жойига кўчиши, ҳужайра вирус билан инфицирланганда ҳам генлар алмашинуви ва янги комбинациялар тузиши мумкин.

Геномнинг ўзгарувчан эканлиги ҳақида кўпдан бери маълум далиллар бўлса ҳам, ДНК молекуласида кўчиб юрадиган генларнинг кашф этилиши таажжубланадиган ҳодиса бўлиб чиқди. Чунки табиатдаги ҳамма кузатишлар ирсиятнинг қатъий эканлигига далил, одамлар орасида ҳам бу феномен мияга қаттиқ ўрнашиб қолган. Шунинг учун ҳам америкалик тадқиқотчи агроном Барбара Мак-Клинток 1940 йилда ўзининг нозик тажрибаларида геномнинг айрим элементларини аниқлаб бериши ва хоссаларини ўрганишига қарамай, унинг далилларини фан дунёси тан олмай келди. Фақат 20 йил ўтгандан кейин геномнинг ҳаракатчан элементлари янгидан очилиб, у биохимиявий нуқтаи назардан ДНК нинг гендаги кичкина киритмалари сифатида қабул қилинади. Уларни текшириш кенгайиб, аввало геномнинг ҳаракатчан участкалари ёки *сакраб ўтувчи генлар* деб аталган қисмлари, кейинроқ олдиндан мавжуд, жойини ўзгартириш хусусиятига эга (*транспозиция, мобиль, диспергирланган — ёйилган*) элементлар деб аталади. Бу структураларнинг кашф этилиши ижобий хулосаларга сабаб бўлди. Фанда ген трансформациясига (ўзгаришига), онкогенлар (рак қўзғатувчи генлар) га, генларни ажратиш олиб уни бошқа организм геномига пайванд қилиш йўли билан янги ҳайвонларни олиш (трансген ҳайвонлар) соҳаларига янгича қараш шаклланишига олиб келди. Умуман бу феноменнинг эволюцияга алоқаси ҳар томонлама кенг муҳокама қилиниб, бир қатор самарали ғоялар майдонга чиқди.

ДНК молекуласида узилишлар, доимо алмашинувлар, ула нишлар бўлиб турса ҳам уларнинг турга оид хоссалари ўзгармай сақланади. Бу ҳужайрада нуклеотидлар қаторини аслидай тиклаб турадиган махсус ферментлар мавжудлигига боғлиқ. 56-расмда ДНК молекуласининг функциялари, ундаги

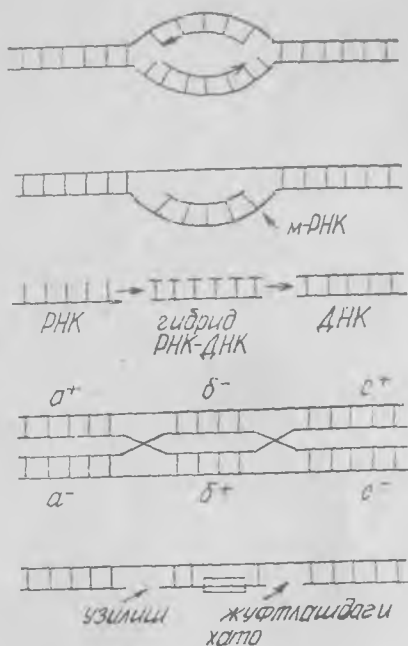
Ўзгаришлар ва тузатиш механизмлари схематик равишда келтирилган.

Хромосомалардаги бир қатор ўзгаришлар ташқи муҳитнинг шикаст етказадиган омиллари ионлантирувчи нурлар, қатор химиявий моддалар ва бошқалар таъсиридан келиб чиқадиган, баъзилари репликация жараёнида узун ДНК молекуласининг узилишига боғлиқ тасодифий ўзгаришлар бўлиб, аксари ҳолларда улар I ДНК-полимераза ва ДНК-лигазалар иштирокида тузатилади (репарация). Агар ДНК молекуларида пайдо бўлган бу ўзгаришлар баргараф қилинмаса, янги синтезланадиган ДНК да ҳам шундай нуқсон шаклида такрорланади, наслдан-наслга ўтади. Бу ҳодиса мутация, унга сабаб бўладиган омиллар *мутагенлар* деб аталади. Демак, мутациялар

ДНК молекуласининг нуклеотид қаторида пайдо бўлган, наслдан-наслга ўтадиган ўзгаришлардир.

Мутациялар — айрим индивидлар ҳаётида жуда сийрак учрайдиган тасодифий ҳодисадир. Битта жуфт асосда учрайдиган ўзгариш *нуқтали мутация* ҳосил қилади. Анчагина мутагенлар одамларда рак касаллигига сабаб бўлади. Мутациялар баъзан оқсилнинг биологик функциясида жиддий ўзгаришларга, баъзан эса биологик функцияси жиҳатидан ўзининг аслидан яхшироқ, сифатли оқсил ҳосил бўлишига олиб келади.

Генетик рекомбинациянинг бошқа бир хили *лизогения*. Бактерия ҳужайраси фагларнинг маълум турлари билан инфекцияланганида бу фагларнинг ДНК си ҳужайин-ҳужайранинг ҳалқали хромосомасига уланиб олиб, унинг билан бирга, ўзини янги фаг парчаси сифатида намоён қилмай, кўп авлодлар давомида репликация қилиниши мумкин. Аммо маълум вақт ўтгач, қандай бўлмасин бир ҳодиса «ухлаб ётган» геннинг экспрессия механизмини ишга солиб юборади. Натижада фаг парчалари ҳосил бўлиб, ҳужайин-ҳужайра лизисга учрайди (емирилади). Мана шундай фаглар *лизогенирловчи* ёки холис,



56-расм. ДНК функциялари:

1-қаторда—репарация; 2-қаторда—транскрипция; 3-қаторда—гибрид комплекс ҳосил бўлиши; 4-қаторда — генетик рекомбинация; 5-қаторда—репарация ифодаланган.



57- расм. Трансдукция.

мўтадил деб аталади. Бундай фаглар орасида энг яхши урганилгани *E. coli* ҳужайрасига кирадиган  $\lambda$  (лямбда) фагдир.

Генетик рекомбинацияларнинг муҳим бир тури *трансдукция* деб аталади. Агар бактерия ҳужайрасига ДНК тутувчи баъзи фаглар юққан бўлса, бактерия-ҳужайин ДНК сининг кичик бир қисми унинг ДНК сига ковалент боғланиши, у билан бирга репликация қилиниши ва шу йўл билан бола фаг парчаларининг ДНК сига уланиши мумкин. Бундай парчалар бошқа ҳужайинга юқса, фаг ДНК си ҳужайрага биринчи ҳужайра хромосомасининг бир қисмини олиб киради. Трансдукция («кўчириб ўтказиш») табиий жараён, у лаборатория шароитида

бактериялар хромосомаси харитасини тузишда қўлланади.

Бактериялар *конъюгацияси* ҳам генетик рекомбинацияга мисол бўлади. Бу баъзан бактерияларда жинсий қўшилиш (конъюгация) жараёнида кузатилади. Бу жараёнда донор ҳужайра хромосома занжирларидан бирининг бир қисми, баъзан тўла занжир — *пиль* деб аталадиган узун бириктирувчи найча орқали шу турга оид реципиент ҳужайрага ўтказилади. Жинсий конъюгация туфайли реципиент ҳужайрага бир нечта янги генлар қўшилиб, унинг хромосомаларига уланади.

### 5.7. Геном касалликлари

Генлардаги нуқсонлар кўпинча ирсий касалликларга сабаб бўлади. Ҳозирги даврда юқумли касалликлар тобора камайиб, одамларда муҳитнинг зарарли факторлари таъсирида келиб чиқадиган касалликлар ва ирсий касалликлар асосий ўринни эгалламоқда. Бир гуруҳ касалликларнинг келиб чиқишида ирсиятнинг иштироки кўп авлодларда кузатилган ва ирсий асосга эга эканлиги ҳеч қандай шубҳа туғдирмайди (масалан, гемофилия, ўроқсимон ҳужайрали камқонлик, қатор қон касалликлари ва бошқалар). Бу касалликларнинг сабаби ота ва онадан орттирилган ирсий нуқсонлар, қайсидир генининг мутацияси. Булар қаторига хромосомалар бузилиши туфайли пайдо бўладиган касалликлар ҳам киради. Умуман, ирсий касалликларнинг хиллари уч мингдан ортиқ, лекин улардан фақат 10% нинг генетик механизми аниқланган. Айрим генлар нуқсони ва уларнинг етишмаслиги натижасида келиб чиқадиган бир қанча касалликлар (улар *молекуляр касалликлар* ҳам дейилади)

билан китобчанинг айрим саҳифаларида танишган эдик. Улар қаторига ферментлар етишмаслигидан келиб чиқадиган алкап-тонурия,  $\beta$ -галактоземия, фенпируозум кислотали олигофрения (ақли заифлик) ва бошқалар, гемоглобин молекуласининг  $\beta$ -занжирида битта аминокислотанинг бошқаси билан алмашинувидан келиб чиқадиган уроқсимон ҳужайрали камқонлик киради. Бу гуруҳ касалликлардан ташқари, келиб чиқиши бевосита бир ген нуқсонига боғлиқ бўлмаса ҳам, лекин ирсий мойиллик билан боғлиқ ташқи муҳит омиллари таъсирида бошланадиган ва ривожланадиган касалликлар гуруҳи ҳам бор. Улар қаторига кенг тарқалган юрак-томир касалликлари (атеросклероз, гипертония, инсульт), бир қатор нерв ва руҳий касалликлар, эндокрин касалликлар (қандли диабет, Базедов касаллиги), кўпгина қон касалликлари, шунингдек рак, моддалар алмашинувининг бузилиши киради. Лекин бу касалликларга мойиллик кўп генлар иштироки билан боғлиқ ва ҳозирча уларнинг генетик механизми тўла ўрганилган эмас. Бу масалалар билан шуғулланадиган генетиклар, биохимиклар ва медиклар ҳамкорлигида пайдо бўлган *медицина генетикаси* фани энди биринчи қадамларини қўймоқда.

Кейинги йилларда молекуляр биологияда кўп одамларнинг ўлимига сабаб бўлиб келаётган энг хавфли касаллик (хавфли ўсма) — раkning келиб чиқишини аниқлаш ва уни даволаш усулини ишлаб чиқишга жуда катта эътибор берилмоқда. Бу муаммога яқиндан ёндашилган сари унинг ечилиши молекуляр биология ва генетика инженерлигисиз ҳал бўлмаслиги аён бўлмоқда. Кўп йиллар давомида ўтказилган тадқиқотларда рак ҳужайралари нормал ҳужайралардан фарқ қилиши аниқланди. Биринчидан, хавфли ўсма ҳужайралари чексиз ўсиш хусусиятига эга. Улар организмнинг тўқималарини емириш ҳисобига ўсади. Бундан ташқари, рак ҳужайралари метастаз беради, яъни асосий ўчоғдан узилиб қон ва лимфа орқали бошқа жойларга тарқалади ва кўплаб янги ўчоқлар ҳосил қилади. Маълум бўлдики, кўпайиш хусусиятига эга барча ҳужайралар хавфли айниш хусусиятига ҳам эга экан. Кейинги йиллардаги тадқиқотлар асосида бундай айниш генлар ишининг регуляцияси бузилиши оқибати, деган фикр туғилди. Раkning келиб чиқиши ҳақида бир қанча назариялар бор. Улардан бири рак ҳар хил — ташқи ва ички омиллар таъсирида пайдо бўлиши мумкин, лекин гап омилда эмас, балки бўлинаётган ҳужайранинг табиатига боғлиқ, деб даъват қилади. Бошқа бир назарияга кўра, ракни канцероген (*канцер* — рак туғдирувчи) моддалар қўзғатади. Бу назарияни тасдиқлайдиган анча далиллар бор, лекин у раkning ҳамма хилларига тааллуқли эмас.

Кейинги йилларда раkning келиб чиқишида вирусларнинг ролига асосий эътибор қаратилган. Бу фикр илгаридан бор бўлса ҳам ўсма қўзғатадиган вируслар бор эканлигига узоқ вақтгача ишонилмас эди. Лекин 1970 йили Г. Темин ва

Д. Балтимор РНК тутувчи вирусларда ДНК синтезлайдиган *тескари транскриптаза* ферментини кашф этдилар. Бундай вируслар ревертазалар деб аталди. Фермент РНК матрицасида геномга уланиши мумкин бўлган ДНК ни синтезлайди. Бу тадқиқот ҳам 1975 йили Нобель мукофоти билан нишонланган.

РНК шаклидаги вирус кўп вақтлар давомида ҳужайрада ўзгаришсиз кўпайиши мумкин. Аммо у ДНК тутувчи шаклга ўтар экан, геномга улана олади ва ҳужайрани ўзгартиради. ДНК ли вируслар ревертаза ферментига муҳтож бўлмаса ҳам, рак қўзғатиш хусусиятига эга. Бундай вируслар тўдаси *онкогенлар* деб аталиб, таркибидаги РНК (ёки мувофиқ равишда ДНК) занжирларида нормал ҳужайрани айнигиб ёмон сифатли қилиш хусусиятига эга *онкооқсилли* кодирлайдиган нуклеотидлар қаторига эга. Бунобарин, раkning келиб чиқиши мана шу онкогенларга боғлиқ. Шуниси қизиқки, онкогенлар барча ҳайвон ва одам ҳужайраларида ҳам топилган. Улар *протоонкогенлар*, яъни раkning бирламчи генлари номини олди. Нормал ҳужайрада улар тинч ётади ва фақат ҳужайра ривожланишининг маълум босқичида активлашиб, битта ҳужайрада 20—30 та РНК молекулалари ҳосил қилади. Уларнинг ҳужайра активлигидаги роли унча аниқ эмас, лекин баъзи онкооқсиллар структураси ҳужайраларнинг ўсиш омиллари деб аталадиган баъзи бирикмаларга ўхшаш эканлиги эътиборга лойиқ.

Қайси шароитда протоонкоген активлашиб, рак қўзғатадиган онкогенга айланади? Бу фундаментал саволга ҳали тўла жавоб йўқ. Протоонкогенни қўзғатадиган бир қатор ҳам ички, ҳам ташқи омиллар топилган. Уларнинг рак пайдо бўлишидаги иштироки ген инженерлигининг нозик усуллари ва қудратли асбоблари ёрдамида жадаллик билан ўрганилмоқда.

### 5.8. Ген инженерлиги

Вируслар билан прокариот ҳужайралар орасидаги материалнинг кўчирилишини, табиий шароитда бактерияларда ўтadиган рекомбинация механизмларини ўрганиш, плазмидлар ва мўътадил фагларнинг ҳужайрадаги ҳаётини тушуниш генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш имконини беради. Олимлар қўлида ДНК нинг керакли бир қисмини бактерия ҳужайрасига кўчириб ўтказадиган система — плазмидлар ҳам бор. Бундай трансмиссив кўчириб ўтказувчи ҳалқали молекулалар — плазмидлар ва мўътадил вируслар *вектор* деб аталади. Улар табиатнинг ўзи биологларга тақдим қилган совға бўлди. Шундай экан, энди бактерияларни културада (улар ўсадиган муҳитда) инсонлар учун керакли оқсилларни, ферментларни синтезлашга мажбур қилиб бўлмасмикан?

Бу фояларнинг амалда юзага чиқиши *ген инженерлиги* ёки *генетик инженерлик* деб аталган ва катта истиқболга эга бўлган янги соҳани дунёга келтирди. } Ген инженерлиги қисқача



айтганда, генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш, уларни тула ўрганиш асосида функционал қисмларига эга бўлиш, керакли жойидан кесиш, керакмас қисмини олиб ташлаб, керак бўлган қисмларини бошқа генлардан ёки синтез йули билан олиб улаш ва шу усулда тайёрланган *дурагай* ёки *рекомбинат* генини мувофиқ организмга киритиб (масалан, одамнинг инсулин генини микроб ҳужайрага ёки сичқоннинг ўсиш гормони генини каламушга), зарур турларни ёки препаратларни синтез қилиш ва ҳоказо ғоялар ва технологиянинг йигиндисидир. Унинг қисқа давр ичида босган ҳар бир қадамнинг ўзи улуг кашфиёт.

Ген инженерлигининг пойдевори — *рекомбинат ДНКлар технологияси* — генетик структураларни бирга қўшиш техникаси — молекуляр биологиянинг энг муҳим ютуқларидандир. Бу технологиядан фойдаланиб, зарур маҳсулот (оқсил)ни кодирлайдиган ДНК молекуласининг кичик бир қисми — генини кесиб олиш, унинг ёт ген билан комбинациясини яратиш, сўнгра бу янги геномни муносиб ҳужайраларга киритиб ҳужайин-ҳужайра ДНК сининг синтез механизми ёрдамида кўп марта лаб кўпайтириш мумкин.

Ген инженерлигининг пайдо бўлиши ДНК структураси, унинг репликацияси, регуляцияси, молекуланинг айрим қисмлари, ҳатто, алоҳида нуклеотидларни таниш механизми, айрим нуклеин кислота, оқсилларни минимал миқдорда ажратиб олиб, унинг миллионлаб нусхасини тайёрлаш техникаси ишлаб чиқилишига боғлиқ эди. Рекомбинат молекулалар олиш техникасини такомиллаштириш натижасида янги вируслар, микроблар, ўсимликлар, ҳайвонлар турларини яратиш, ирсий касалликларни доволаш, бузилган генларни тузатиш, инсоният учун зарур генотипик конструкциялар тузиш имконияти туғилди. Бу соҳанинг тула истиқболи, жамият ривожланишига таъсири қандай бўлишини олдиндан айтиш қийин. Лекин инсон қўлига шундай қудратли қурол теккани аниқ.

Айрим ДНК молекулалари генлар бир турининг кўп нусхасини ҳосил қилиш учун илгаридан ҳужайраларнинг тоза линияларини олишда кўпдан бери ишлатиладиган *клонирлаш* техникасининг молекулаларга мослаштирилган варианты қўлланади. Ҳужайра линияларининг бир хиллигини клонирлаш усули билан кучайтириш мумкин. *Клон* деб бирдан-бир олд ҳужайрадан келиб чиққан ҳужайралар популяциясига айтилади. Клонирлаш асосан мутант ҳужайралар олиш учун ишлатилади. Молекуляр клонирлаш ДНК нинг аниқ бир намунасини тоза ҳолда кўпайтиришдан иборат.

Кейинги йилларда соматик ҳужайраларнинг қўшилишига (*дурагайланишига*) ҳам эришиш мумкин бўлди. Бунда аввало иккита ядроли, битта комбинирланган ҳужайра — *гетерокарион* келиб чиқади. Вақт ўтиши билан гетерокарион митотик бўлиниб, бир ядроли *дурагай* (гибрид) *ҳужайра* беради. Уни клонирлаш мумкин.

Бир турдан ажратиб олинган ДНК ни иккинчи тур ҳужайрасига бевосита киритиб, унинг экспрессиясига эришиб бўлмайди, чунки реципиент (қабул қилувчи) тур ўзининг ДНК сини сақлайдиган қуролга эга. Улар модификация қиладиган метилазалар ва рестрикцияловчи эндонуклеазалардир.

ДНК ни фрагментларга кесиш ва уни бактерияга киритиш вазифасини олий даражада беҳато бажарадиган асбоб табиатнинг ўзида тайёр, улар бактериялар — эндонуклеазаларнинг (113—115-бетлар) бир гуруҳи бўлиб чиқди. Албатта, бактерия ҳужайрасида ДНК молекуласини керакли жойидан кесадиган фермент инсонлар мақсади учун тайёрланган эмас, бу асбобни бактериялар ўз душмани — вирусларга қарши курашиш учун яратган. Лекин табиатнинг донолиги туфайли қачонлардир пайдо бўлган вируслар ДНК сини чегаралайдиган (рестрикция) фермент бугунги кунда инсонлар мақсади учун хизмат қилмоқда. Рекомбинант молекулалар конструкция қилиш учун рестрикция он эндонуклеазалардан фойдаланишни биринчи бўлиб



59-расм. Рекомбинат ДНК ни олиш схемаси:

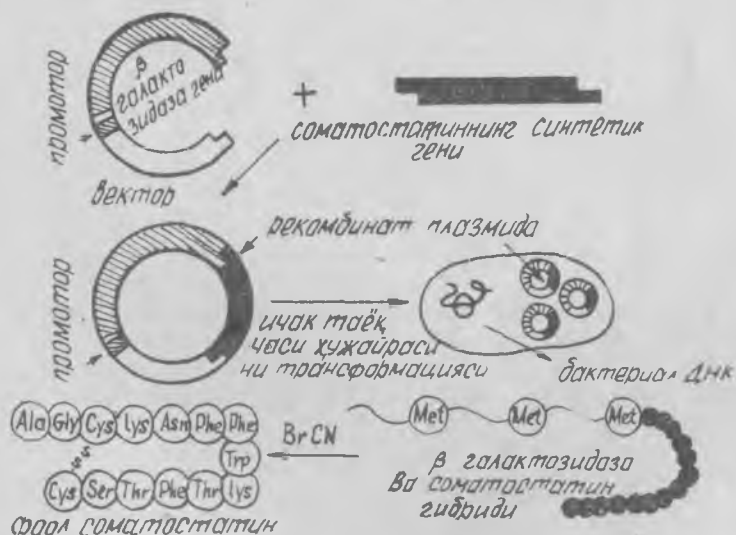
Юқорида — рекомбинат ДНК; ўртада — ёпишқоқ учлар; ўнгда — плазмида, ўртада (пастда) — рестриктаза билан кесиш; чапда — хромосома ДНК си.

1972 йили Америка олимлари Стенли Коэн ва Герберт Бойер кашф этдилар. Бу олимлар у вақтгача ўзларининг плазмидлар устидаги тадқиқотлари билан машхур эдилар.

Коэн ва Бойер ғоясига мувофиқ, плазмидани рестриктазаларнинг бири ёрдамида кесиб ДНК фрагментларида бир занжирли учлар ҳосил қилинади. ДНК нинг бу эркин учлари ёпишқоқ учлар дейилади, чунки бу учларда тўлатилмаган бир чизиқли нуклеотидлар қатори бор. Шу рестриктазанинг ўзи билан донор ДНК ҳам фрагментларга бўлинади. Уларнинг бирида бизни қизиқтирадиган гени сақлайдиган участка ҳам бўлади. Энди мана шу фрагментларни кесилган плазмидалар билан аралаштирилса, ДНК молекуласининг бир занжири учидан рестриктазалар ёрдамида ҳосил бўлган нуклеотидлар қатори, плазмидаларнинг ёпишқоқ учларига комплементар бўлганидан улар билан тегишли лигазалар иштирокида ковалент боғ орқали уланади. Угай ДНК ҳужайра ДНК сига уланиб ўқилиб кетмайди. Бунинг учун воситачи — вектор иштирок этиши зарур. Шундай векторлар сифатида плазмидийлар қулай қурол эканлиги юқорида таъкидланган.

Рекомбинат молекулаларни яратиш учун аввало зарур генининг ҳужайра ДНК сидаги ўрнини аниқлаб, уни кесиб олиш керак. Энди кесиб олинган ДНК фрагментини клонирлаш ва

векторга боғлаш керак. ДНК ни клонирлаш турли манбалардан ажратиб олинган ДНК фрагментларини плазмидий ёки вирус (бактерияфаг) га киритиб сўнгра бу генетик элементларни бактерия ёки ачитқи ҳужайраларида купайтириш усулидир. Шу усул билан ДНК нинг фрагменти векторга боғланади. Векторнинг асосий хоссаси шундан иборатки, у тегишли ҳужайинда автоном реплйцирланиш хусусиятига эга. Мана шу усулда олинган рекомбинирланган молекула клонирлаш учун жуда қулайдир, у реципиент ҳужайрада бемалол экспрессия қилинади. Навбатдаги босқичда плазмидий ёки вирус геномига уланган ДНК молекуласи (рекомбинат молекула) бактерия ёки ачитқи ҳужайрасига киритилади. Бундай синтетик геномда бизни қизиқтирган ген вектор ДНК сининг аҳамияти кам маълум участкасини алмаштирган бўлади. Бактерия ҳужайраси тез бўлиниб кўпайганидан, рекомбинат ДНК ҳам шу қадар кўпаяди ва тегишли оқсил синтезини кўп марта лаб тезлатади ва



58-расм. Ген инженерлиги йўли билан ўсиш гормони олиш.

уни саноат миқёсида олиш имконини беради. Ген инженерлиги йўли билан бир қанча зарур гормонлар, иммун таналар (инсулин, ўсиш гармони, интерферон), иммуноглобулинлар, турли дорилар муваффақият билан олинмоқда.

58-расмда ген инженерлиги йўли билан соматостатин гормонини олиш схемаси келтирилган.

Молекуляр биология ва ген инженерлигининг турли тармоқлари ниҳоятда жадаллик билан ривожланмоқда. Лекин ҳали ҳал қилинмаган фундаментал илмий муаммолар, амалиёт учун жуда муҳим вазифалар кўп. Улар орасида биринчи даражали аҳамиятга эга масала — инсоннинг жисмоний ва руҳий ҳолати,

функцияси, имконияти бошқарилишининг молекуляр асосини тушунишдир. Энди шубҳа йўқки, бу сирларнинг калити унинг геномида. Мана шунинг учун ҳам АҚШда ва ривожланган бошқа мамлакатларда, бизнинг мамлакатимизда ҳам инсон геномининг тула нуклеотид қаторини ўрганишни мақсад қилиб қўйган инсон геноми номли узоқ муддатга мўлжалланган, жуда қиммат турадиган, фавқулודда буюк лойиҳани ишлашга киришилди. Лекин бу улкан вазифани бажариб бўлармикин? Маълумки, инсон геноми бутун бир дунё, унинг моддий асосини 3 млрд нуклеотид қолдигидан иборат ва мингдан ортиқ ген ташкил қилади. Лекин шундай бўлса ҳам, молекуляр биология ва ген инженерлигининг бугунги кундаги ғоялари, методик юксаклиги ва тажрибаси бу вазифани ҳал қилишга қурби етади, деб ишонса бўлади. Кейинги йилларда бутун хромосомалар ва уларнинг жуда катта фрагментларини генлардаги электрофорез усулида ажратиб олиш ва катта ДНК молекулаларининг структурасини тез аниқлаш усуллари ишлаб чиқилди, миллионлаб асосга эга бўлган гигант ДНКларни зукариотлар ҳужайрасида клонирлашга эришилди. Шунини айтиб ўтиш ҳам ўринли: тарих шунини кўрсатадики, инсоният ўз олдига доимо ҳал қилиниши мумкин бўлган вазифани қўйиб келган. Шубҳа йўқки «одам геноми» дек мислсиз лойиҳани ўз олдига қўйган молекуляр биология ва ген инженерлиги ҳужайрадаги ҳар бир геннинг тузилиши, функциясини, хромосомада аниқ жойлашган ўрнини тайинлаш, уларга боғлиқ белгилар, хоссалар, бузғунликларни аниқлаш асосида ирсий касалликлар (геном касалликлари)нинг олдини олиш ва даволаш, турли оқсиллар, ферментлар, гормонлар, вакцина ва антителоларни ишлаб чиқариш, микроорганизмларнинг янги турларини яратиш, ўсимлик ва ҳайвон геномига одамлар учун фойдали хусусият берадиган генларни киритиш ва бошқа муаммоларни муваффақиятли ҳал қилади.

## МУНДАРИЖА

Кириш . . . . .	3
Жонли табиатни ўрганишдаги янги босқич . . . . .	3
Молекуляр биологиянинг пайдо бўлиши ва ривожланиш тарихи . . . . .	5
<b>I б о б. Хужайранинг тузилиши ва таркиби . . . . .</b>	<b>7</b>
1.1. Хужайранинг умумий тузилиши . . . . .	7
1.2. Хужайрани электрон микроскопда кузатиш . . . . .	8
1.3. Хужайра органеллалари . . . . .	11
1.4. Хужайра компонентларини ажратиб олиш . . . . .	17
<b>II б о б. Оқсиллар . . . . .</b>	<b>18</b>
2.1. Оқсиллар классификацияси . . . . .	19
2.2. Оқсилларни ажратиб олиш ва тозалаш усуллари . . . . .	21
2.3. Оқсилларнинг умумий хоссалари . . . . .	23
2.3.1. Оқсилларнинг молекуляр массаси . . . . .	23
2.3.2. Оқсиллар денатурацияси . . . . .	26
2.4. Оқсилларнинг таркиби . . . . .	26
2.5.2. Аминокислоталарнинг оптик хоссалари . . . . .	31
2.5.4. Аминокислоталарнинг химиявий реакциялари . . . . .	33
2.6. Оқсил молекуласининг тузилиши . . . . .	35
2.6.1. Оқсил молекуласининг структура даражалари . . . . .	35
2.6.2. Бирламчи структурани аниқлаш . . . . .	37
2.6.3. Иккиламчи ва учламчи структура . . . . .	43
<b>III б о б. Ферментлар . . . . .</b>	<b>51</b>
3.2. Ферментларнинг спецификлиги . . . . .	53
3.3. Ферментларнинг тузилиши . . . . .	54
3.4. Ферментларнинг таъсир механизми . . . . .	56
3.5. Ферментатив реакция тезлигига таъсир этадиган омиллар . . . . .	57
3.6. Ферментларнинг активланиши ва тормозланиши (ингибириланиши) . . . . .	59
3.7. Ферментлар номенклатураси ва классификацияси . . . . .	60
<b>IV б о б. Нуклеин кислоталар . . . . .</b>	<b>63</b>
4.1. Қисқача тарихи . . . . .	63
4.2. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва физик-химиявий хоссалари . . . . .	67
4.2.1. Нуклеотидлар — нуклеин кислоталарнинг структура элементлари . . . . .	68
4.2.3. Аденозинүчфосфатнинг хужайра энергетикасидаги роли . . . . .	72
4.2.3. Полинуклеотидларнинг тузилиши . . . . .	74
4.2.4. Нуклеин кислоталарнинг нуклеотид таркиби . . . . .	76
4.3. Нуклеазалар . . . . .	77
4.4. ДНК структураси . . . . .	78
4.4.1. ДНК нинг физик-химиявий хоссалари . . . . .	81
4.5. РНК нинг типлари ва учраши . . . . .	83
4.6.1. ДНК биосинтези . . . . .	88
4.6.2. Транскрипция . . . . .	94
4.7. Оқсил синтези, трансляция . . . . .	100
4.7.1. Генетик код . . . . .	101
4.7.2. Полирибосомалар ва РНК нинг ўқилиши . . . . .	107
<b>V б о б. Ген, генотип, хромосомалар . . . . .</b>	<b>108</b>
5.1. Геномнинг ташкил этилиши . . . . .	108
5.1.1. Вируслар, фаглар . . . . .	108
5.2. Прокариот хужайралар геноми . . . . .	112
5.2.1. Рестрикцион эндонуклеазалар . . . . .	113

5.3. Эукариот ҳужайра геномининг тузилиши . . . . .	116
5.3.1. Эукариот хромосомалар хроматин толаларидан тузилганлиги . . . . .	118
5.4. Ген активлигининг регуляцияси . . . . .	121
5.5. Эукариот ҳужайрада генлар ифодаси . . . . .	123
5.6. Хромосомалардаги ўзгаришлар, мутация, рекомбинация, транс- позиция . . . . .	126
5.7. Геном касалликлари . . . . .	128
5.8. Ген инженерлиги . . . . .	128

ТУРАҚУЛОВ ЕЛҚИН ХОЛМАТОВИЧ

**МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИЯ**

*Тошкент—«Ўқитувчи» — 1993*

Мухарририят мудир *А. Иброҳимов*  
Мухаррир *Н. Иноятова*  
Бадий мухаррир *И. Митирев*  
Техмухаррир *Ш. Бобохонова*  
Мусаҳҳиҳ *М. Маҳсудова*

ИБ № 6079

Теришга берилди 27.08.92. Босишга рухсат этилди 21.12.92. Формати 60×90<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Литературная гарнитураси. Кегли 10, шпонсиз. Юқори босма усулида босилди. Шартли б. л. 8,5. Шартли кр-отт. 8,75. Нашр л. 7,65. Тиражи 3000. Зак. № 2547.

«Ўқитувчи» нашриёти. Тошкент, Навоий кўчаси, 30. Шартнома № 19 — 137 — 91.

Ўзбекистон Республикаси Матбуот давлат қўмитасининг Тошполиграфкомбинати. Тошкент. Навоий кўчаси, 30. 1993.

Ташполиграфкомбинат Госкомпечати Республики Узбекистан. Ташкент, ул. Навои, 30.