

8-mavzu. Nuklein kislotalarning tuzilishini aniqlash uslublari.

Reja:

- 1.RNK va DNK larning birlamchi tuzilishi.**
- 2.Nukleotid tarkibi va chekka guruxlar analizi.**
- 3.Nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash usullari.**
- 4.Eritmada va qattiq fazada oligo- va polinukleotidlarni sintez qilish usullari.**

Bu mavzu XX asr ikkinchi yarmida fan sohasidagi buyuk kashfiyotdir. Hozirgi biologiyani nuklein kislotalarsiz tasavvur qilib bo'lmaydi.

Nuklein kislotalar oqsillar kabi hayot uchun zarur yuqori molekulyar biopolimer moddalardir. Ular barcha tirik organizmlarda, hattoki, viruslarda ham keng tarqalgan moddalar bo'lib, nuklein kislotalar o'z molekulalarida hayot uchun zarur moddalar to'g'risidagi ma'lumotlarni saqlaydi. Bu ma'lumotlar orqali organizm o'zi uchun kerak bo'ladigan oqsil va boshqa moddalarni sintezlaydi.

Ularning asosiy vazifasi irsiy belgilarni saqlash va avloddan-avlodga berish hisoblanadi, bu esa hayotning uzluksizligini ta'minlaydi. Shuningdek, organizmda boradigan juda ko'p moddalar va energiya almashinuvi, oqsillar biosintezi kabi muhim jarayonlar nuklein kislotalar faoliyati bilan bog'liq.

Nuklein kislotalar va oqsillar hayotining material asosini tashkil qiladi. Ular o'zaro uzviy bog'liq, ammo ularning hujayradagi o'rni va funksiyasi prinsipial farq qiladi: Oqsillar asosan qurilish va hujayraning ishchi organi materiali; nuklein kislota esa informatsion material, u organizning tuzilishi, o'sishi, rivojlanishiga tegishli ma'lumotning saqlanishi, takrorlanishi, almashinuvi va avloddan-avlodga ko'chirishni ta'minlaydi.

Uzoq avlodlardan milliard yillar davomida uzilmay kelgan informatsiya biopolimerlarning bu ikki turini o'zaro kelishib ishlashi jarayonida amalga oshadi. Hayotning ma'nosi ham naslni saqlash, o'z-o'zini takrorlash bo'lsa, bu jarayon

nuklein kislotalarida nukleotidlarni birin-ketin kelishi tartibi shaklida kimyoviy tilda yozilgan informatsiyani oqsil molekulasida aminokislotalar tartibiga o'tkazishda realizatsiya qilinadi. Demak, nuklein kislotalaridagi ramziy buyruq organizmning real oqsillarida ifodalanadi.

Nuklein kislotalarning ochilishi va o'rganish tarixi

Nuklein kislotalar yangi bir biologik modda sifatida birinchi marta 1869 yilda shveysariyalik olim Fridrix Misher nomalumi birikmani tomonidan kashf etilgan. U noma'lum birikmani yiring hujayralari - leykotsitlar yadrosidan ajratib olib, uning nuklein nomini berdi (lotincha nucleus - yadro). Bu birikma kislota xossasiga ega bo'lganidan keyinroq nuklein kislota deb ataladigan bo'ldi.

Lekin F.Misher ajratib olgan modda sof nuklein kislota emas, balki oqsillar bilan birikmasi - nukleoproteid edi.

Sof holdagi nuklein kislotalarni 1899 yilda R.Altman hayvon to'qimalaridan, 1936 yilda A.N.Belozerskiy o'simlik materiallaridan ajratib oldilar.

Nuklein kislotalarning elementar kimyoviy tarkibi, fizikaviy va kimyoviy xossalari yaxshi ma'lum bo'lsa ham, uzoq yillar davomida ularning hujayrada tarqalishi, biologik roli aniqlanmay keldi. Bu masalalarga faqat 20 yillar oxirida, hujayra yadrosidagi xromosomalarda nuklein kislotalarning bir turi - dezoksiribonuklein kislota ko'p miqdor topilishi tufayli chuqur e'tibor berila boshlandi.

Nuklein kislotalarning birinchi preparatlari achitqilardan va hujayraga boy buqoq bezidan tayyorlanib, ular kimyoviy jihatdan farq qilinishi aniqlangan edi. Bulardan biri-achitqi nuklein kislota tarkibida uglevod komponenti sifatida riboza bo'lganidan u ribonuklein kislota (RNK), hayvonlarning buqoq bezidan olingan nuklein kislota dezoksiriboza saqlaganidan u dezoksiribonuklein kislota (DNK) deb atalgan. Dastlabki vaqtlarda o'simlik hujayralaridan faqat RNK hayvon hujayralarida esa faqat DNK bo'ladi deb faraz qilingan edi.

Avvalo gistokimyoviy Felgen reaksiyasi (fuksinsulfit kislota bilan qizil rang hosil qilishi) dan foydalanib, xromosomalarda DNK borligi, so'ngra barcha hujayralar sitoplazmasida RNK uchrashi aniqlandi. Bu ma'lumotlar hujayra

komponentlarini sentrifugalab ajratish imkoniyati yaratilgandan keyin kimyoviy analiz qilish yo'li bilan isbotlandi. Shunday qilib, hozirgi vaqtda nuklein kislotalarning har ikki xili ham birga tirik organizmlarda bir hujayrali o'simliklardan tortib yuksak rivojlangan hayvon hujayralarida ham uchrashi aniqlangan.

Nuklein kislotalarni ajratib olish

Nuklein kislotalar o'simlik, hayvon va bakteriyalarning hujayralarida oqsillar bilan birikkan holda uchraydi. Bu kislotalarni ajratib olishda, avvalo, ular bilan oqsillar orasidagi bog'lanishni uzish kerak. Buning uchun bir nechta usullardan foydalaniladi.

Masalan, material 10% li natriy xlorid eritmasi bilan ishlanadi. So'ngra past haroratda (0⁰S da) etanol yoki trixlorosirka kislota eritmasi bilan cho'ktiriladi. Cho'kma sentrifuga bilan ajratiladi. Ko'p marta yuvilib, quritiladi. Shu bilan birgalikda nuklein kislotalarni fenol yordamida ajratib olish usuli ham keng qo'llanilmoqda. Bu usul oqsillarni denaturatsiyaga uchratuvchi moddalar (natriy dodekilsulfat yoki yuqori haroratda) ishtirokida olib boriladi. Bunda denaturatsiyaga uchragan oqsil fenol qismiga nuklein kislota esa suvli qismga o'tadi. Keyin nuklein kislota etanol yordamida cho'kmaga tushiriladi.

Bu usulda nuklein kislotalarni oqsil qismining ajratilishiga erishiladi. Shuning uchun bu jarayonga fenolli deroteinizatsiya (proteinsizlanish) deb ataladi.

Bundan so'ng nuklein kislota preparatlari yana ham nozik usullar (xromatografiya, ultratsentrifugalash, elektroforez va boshqa metodlar) dan foydalanib individual nuklein kislotalar olinadi va tarkibi aniqlanadi.

Nuklein kislotalarning kimyoviy tarkibi

Nuklein kislotalarning molekulyar massalari juda yuqori. Ayrimlarining bir necha mlrd. ni tashkil etadi. Shunga muvofiq, ularning fizik va kimyoviy xossalari, ayniqsa strukturasi juda murakkab. Lekin nuklein kislotalarning element tarkibi ancha sodda, asosan S, N, O, N va fosfordan tashkil topgan. Ayniqsa, ular uchun R (8-10%) va N (15-16%) miqdori xarakterlidir. Keyingi yillardagi tekshirishlar Nuklein kislotalar tarkibida kremniy, oltingugurt bo'lishini ham ko'rsatdi. Ular

hujayraning asosiy tarkibiy qismlarida (yadro, ribosoma, mitoxondriy va boshqalarda) nukleoproteinlar hamda, ya'ni oqsillar bilan turli xil komplekslar hosil qilib uchraydi.

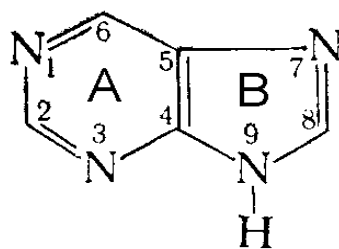
Nuklein kislotalarning kimyoviy tarkibi asosan gidroliz asosida o'rganilgan. Ular o'ziga xos fermentlar, kislotalar, ishqorlar va boshqa kimyoviy birikmalariga parchalanadi. Bu struktura birliklariga azot asoslaridan purin va pirimidin asoslari, uglevodlardan riboza va dezoksiriboza hamda fosfat kislota uchraydi.

Jadval



Purin va pirimidinli azot asoslari

Nuklein kislota tarkibiga 2 xil purin asoslari, ya'ni adenin va guanin kiradi. Bu birikmalar molekulasini pirimidin va imidazol halqasidan tashkil topgan purinning hosilasi hisoblanadi:

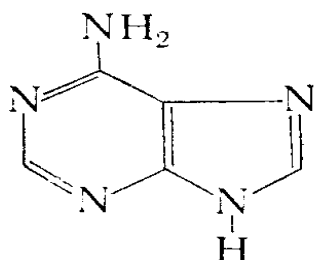


Purin

A - pirimidin halqa

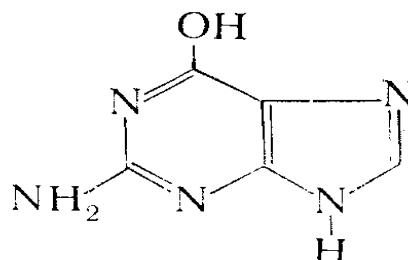
V - imidazol halqa

Nuklein kislotalar gidrolizatida purinning doimo ikki hosilasi - adenin va guanin uchraydi:



adenin

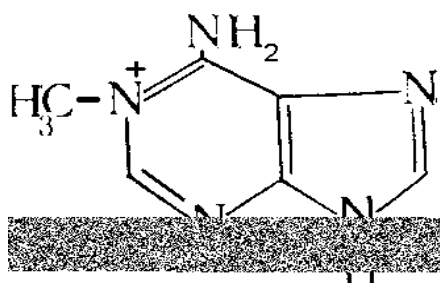
6-aminopurin



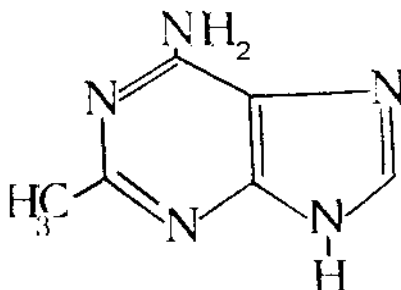
guanin

2-amino-6-oksipurin

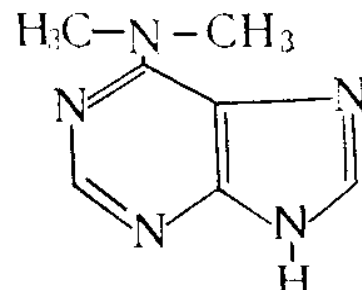
Nuklein kislotalar tarkibida bulardan tashqari boshqa asoslar ham uchraydi. Ularning miqdori yuqorida ko'rsatilgan azotli asoslarga nisbatan ancha kam. Shuning uchun ham ular kam uchraydigan asoslar yoki minor asoslar deb ataladi. Shuningdek ular ekzotik asoslar deb ham ataladi.



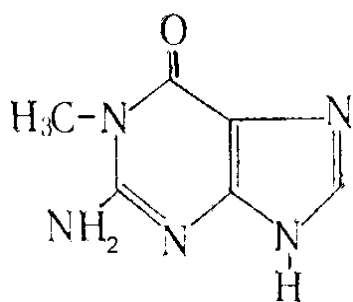
1-metiladenin



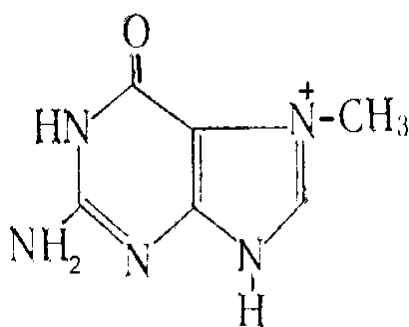
2-metiladenin



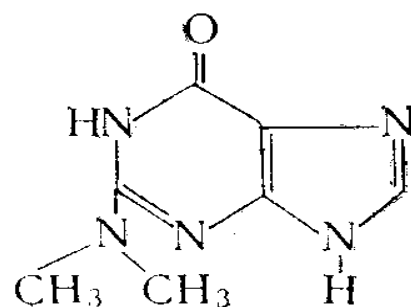
N₆-dimetiladenin



1-metilguanin

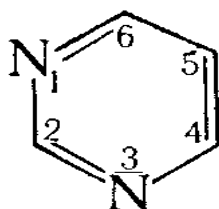


7-metilguanin

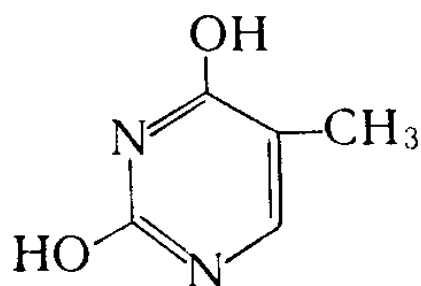


N₂-dimetilguanin

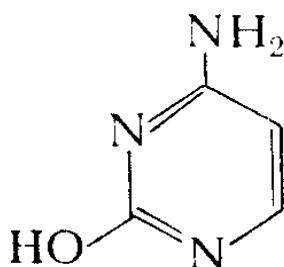
Pirimidin asoslari. Pirimidin asoslaridan nuklein kislotalar tarkibida timin, uratsil, sitozin uchraydi. Ular quyidagicha tuzilgan:



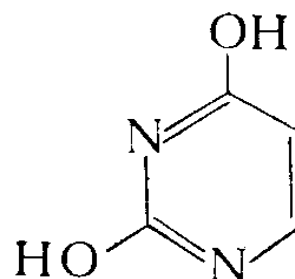
Pirimidin



2,6-dioksi-5-metilpirimidin (timin)

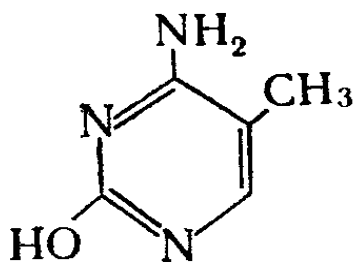


2-oksi-6-aminopirimidin (sitozin)

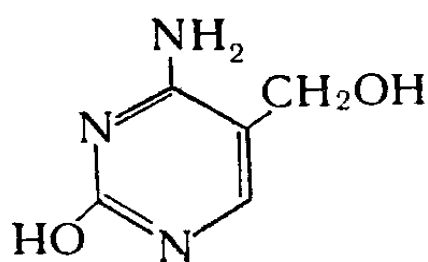


2,6-dioksipirimidin (uratsil)

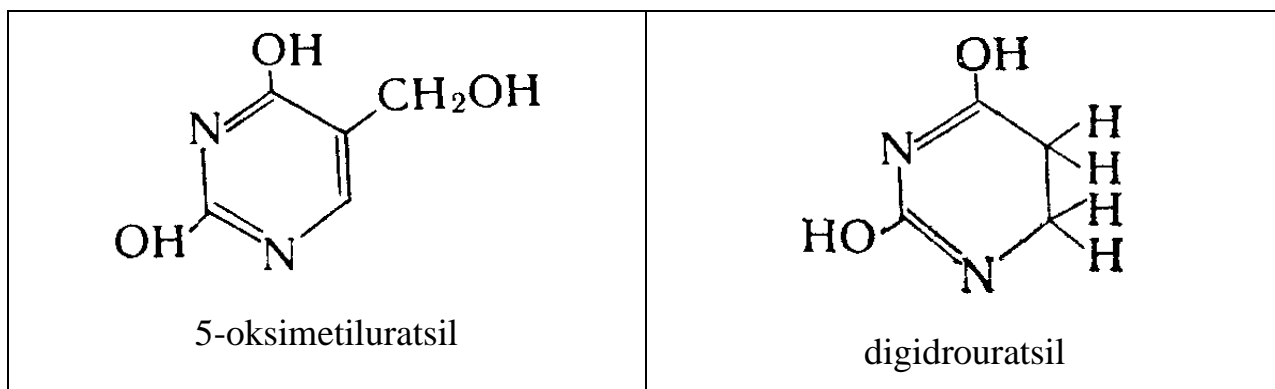
Pirimidin halqasini saqlagan minorli asoslar (bir muncha keng tarqalgan) quyidagilar:



5-metitsitozin

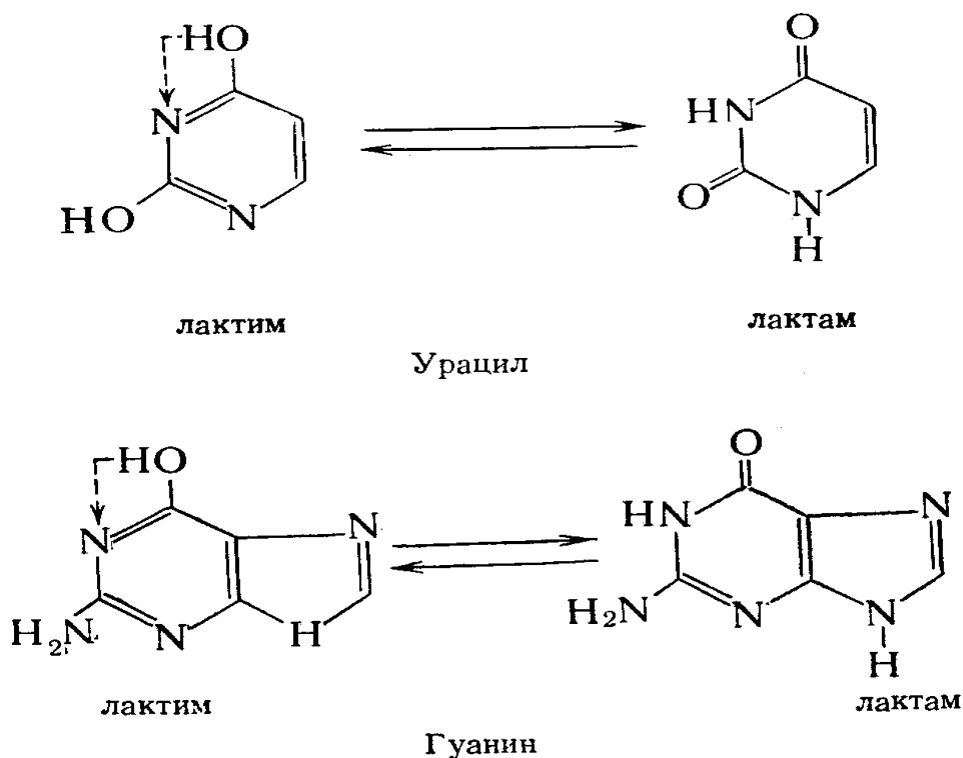


5-oksimetilsitozin



Oxirgi yillarda bularning ro'yxati yanada oshmoqda.

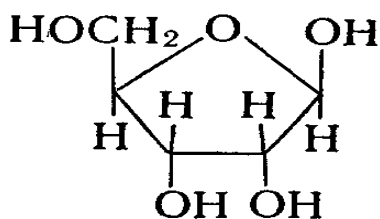
Purin va pirimidin oksiguruh hosilalarining muhim xususiyati shundaki, ular oson tautomerlanadi:



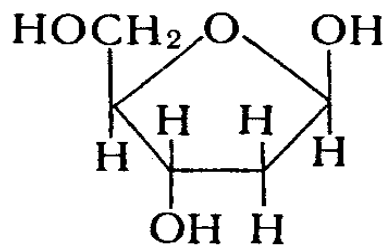
Bu oksiguruhli asoslar (ayniqsa, pirimidin asoslari) tabiiy birikmalarda laktam shaklda uchraydi, ya'ni laktam shaklda nuklein kislotalar tarkibidagi uglevodlar bilan ta'sirlashadi.

Uglevodli tarkibiy qismlari

Nuklein kislotalardagi uglevod (qand) tarkibini D-riboza va D-dezoksiribozalar tashkil qiladi.



β -D-riboza



β -D-2-dezoksiriboza



2-raqami riboza molekulasidagi 2-uglerod atomidagi gidroksil guruhning vodorod atomiga almashinganini ko'rsatadi.

Yaqindagina nuklein kislotalar tarkibidagi bu 2 ta uglevod yagona emasligi aniqlandi. Tekshirishlar ba'zi bir hujayralardagi nuklein kislotalar tarkibida glyukoza uchrashini ko'rsatdi.

Nuklein kislotalar tarkibidagi uglevodlarga qarab ikki guruhga ajratiladi:

RNK (ribonuklein kislotalar)

DNK (dezoksiribonuklein kislotalar)

Ular tarkibi, tuzilishi va funksiyalari bilan farq qiladilar. Ular tuzilishidagi o'xshashlik va farqlarni quyidagi jadvalda ko'rish mumkin:

Nuklein kislotalarning tarkibi

Kimyoviy birikma	Nuklein kislota tiplari	
	DNK	RNK
Purin asoslari	Adenin Guanin	Adenin Guanin
Pirimidin asoslari	Sitozin Timin	Sitozin Uratsil
Uglevod	Dezoksiriboza (glyukoza, ba'zida)	Riboza
Anorganik modda	fosfat kislota	fosfat kislota
Minorli asoslar: Purin asoslari	N ₆ -metiladenin 1-metilguanin 3-metilguanin 7-metilguanin N ₂ -metilguanin	N ₆ -metiladenin N ₆ -dimetiladinin 1-metiladenin 2-metiladenin N ₂ -metilguanin

Pirimidin asoslari	N ₂ -metilguanin	N ₂ -dimetilguanin 7-metilguanin 1-metilguanin
	5-metilsitozin 5-oksimetilsitozin oksimetiluratsil uratsil	5-metilsitozin 5-oksimetilsitozin 3-metilsitozin 3-metiluratsil digidrouratsil

Jadval ma'lumotlaridan ko'rinib turibdiki, DNK va RNK tarkibi pirimidin asoslari bilan farq qilayapti. DNK uchun timinning, RNK uchun uratsilning bo'lishi xarakterlidir. Shu bilan birga DNK va RNK minor asoslari bilan farq qilayapti. RNK tarkibida ko'p (50 dan ortiq) minorli asoslar bor.

Nuklein kislotalar struktur elemenlarining tuzilishi

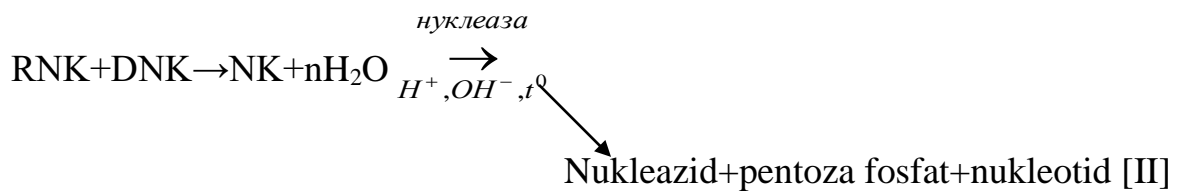
RNK ni ehtiyotlik bilan ishqorning suvdagi eritmasi bilan (masalan, 1 n. NaOH yoki KON bilan 18 soat xona haroratida) ishlansa, ular struktura birliklariga, ya'ni purin yoki pirimidin asoslaridan, riboza va fosfat kislota qoldig'idan iborat bo'lgan qismga parchalanadi. Agar shu jarayon maxsus biokatalizator, masalan ribonukleaza fermenti ta'sirida borsa yana ham yaxshi natija beradi.

DNK esa RNK dan farq qilib suyultirilgan ishqorlar ta'siriga chidamli bo'ladi (xona haroratida). Shuning uchun DNK ning struktura birliklarigacha - purin va pirimidin asoslaridan dezoksiriboza va fosfat kislota qoldig'idan iborat bo'lgan qismgacha gidrolizi maxsus biologik ferment - dezoksiribonukleaza ishtirokida amalga oshadi.

Anorganik (NCI) va organik kislotalar (HCOOH) bunday gidroliz uchun qo'llanilmaydi, chunki ular DNK va RNK ni purin va pirimidin asoslarigacha uglevodgacha, fosfat kislotagacha parchalaydi.

org. asos+uglevod+N₃RO₄ [I]





[I] - tuliq gidrolizga uchragan.

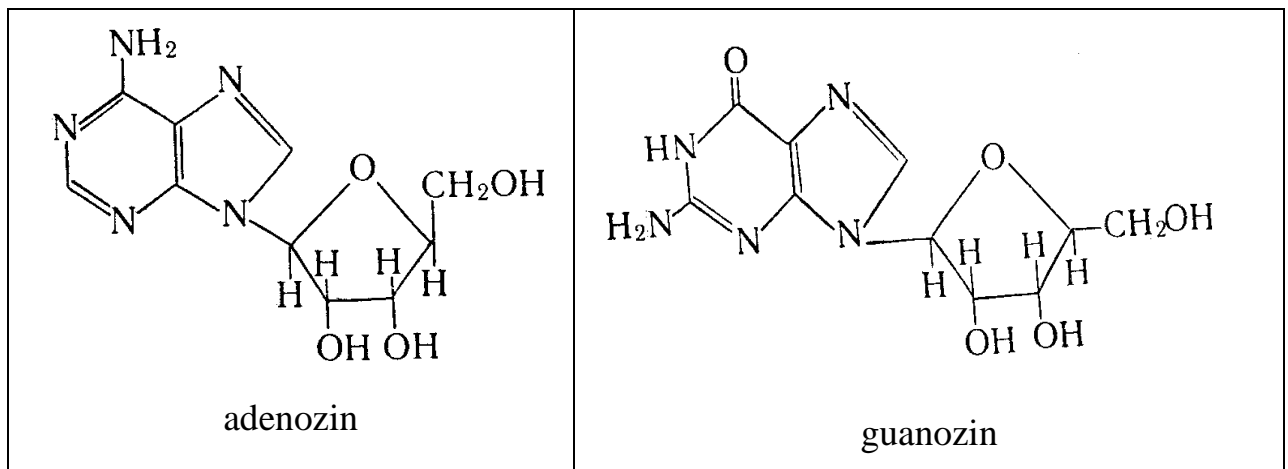
[II] - chala gidrolizga uchragan.

Nukleozidlar. Tuzilishi, nomlanishi

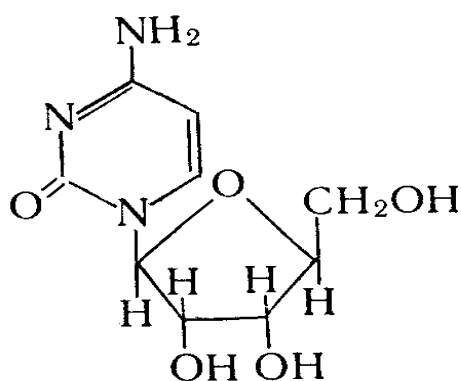
Nukleozidlar - nuklein kislotalarni chala gidroliz qilish mahsulotidir. Ularning takibi azotli asos va qanddan tashkil topgan.

Azotli asoslari bilan uglevoddan tarkib topgan murakkab moddalar nukleazidlar deb ataladi.

Purin asoslari hosil qilgan nukleazidlar "ozin" qo'shimchasini oladi. Masalan, adenzin, guanozin.



Dezoksiriboza bilan birikishidan hosil bo'lgan nukleozid dezoksiadenozin, dezoksiguanozin deb pirimidin asoslari bilan hosil qilgan nukleozidlar esa "idin" qo'shimchasini oladi. Masalan, uridin, timidin, sitidin.



sitidin

Nukleozidlarni hosil qiluvchi azot asoslari va uglevodlar bir-biri bilan β - glyukozid tipida bog'langan. Bunda glyukozid bog' uglevod komponentidagi birinchi ulgerod atomi bilan pirimidin asosidagi 3- azot atomi va purin asosidagi 9- azot atomi orqali birikkan.

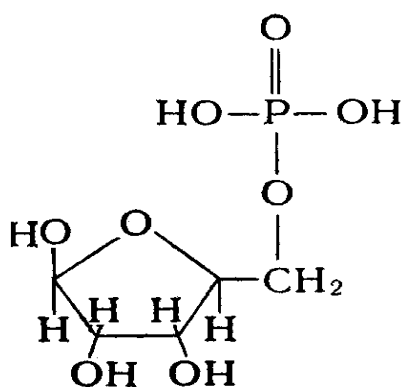
Nuklein kislotalar gidroliz mahsulotida nukleozidlar:

adenozin, guanozin, sitidin, uridin, dezoksiadenozin, dezoksi-guanozin, dezoksitsitidin va dezoksitimidinlar uchraydi.

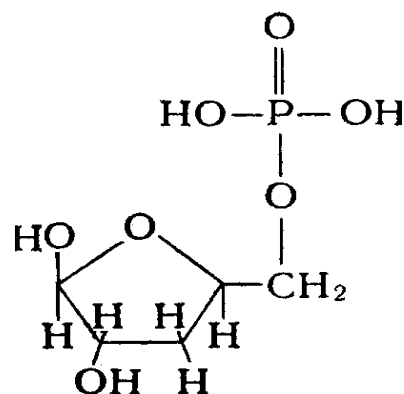
Nukleozidlardagi glyukozid bog'lar kislotalar ta'sirida osonlik bilan parchalanadi, ishqorish muhitda nisbatan barqaror bo'ladi.

Pentazafosfatlar

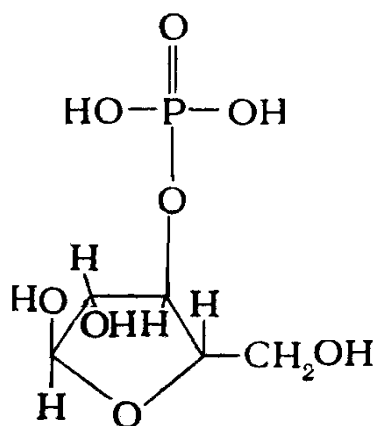
Pentazafosfatlar tarkibida riboza yoki dezoksiriboza hamda fosfat kislota saqlaydi. Fosfat kislota qoldig'i pentozadagi 3 yoki 5 ugleroddagi gidroksilga efir bog'lar orqali birikadi:



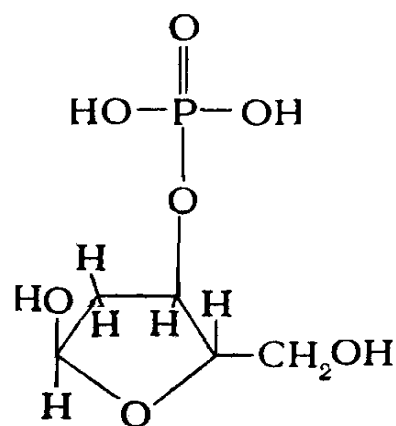
riboza-5-fosfat kislota



Dezoksiriboza-5-fosfat kislota



riboza-3-fosfat kislota



dezoksiriboza-3-fosfat kislota

Nukleotidlar. Tuzilishi, nomlanishi

Nukleozidlarning fosforli efirlariga nukleotidlar deb aytiladi.

Nuklein kislotalarni ishqorlar yordamida gidroliz qilish orqali nukleotidlar olish mumkin. Nukleotidlarni birinchi marta 1908 yilda P.Levin va J.Mandel ajratib oldilar va shu nom bilan ataganlar.

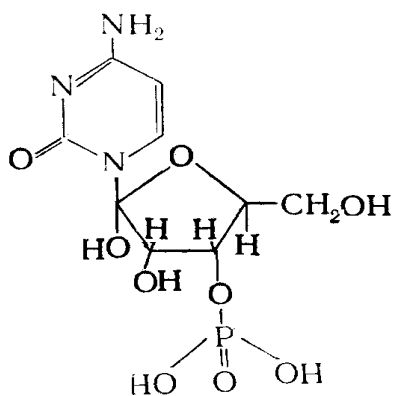
Nukleotidlarning tarkibi 3 komponentdan iborat:

Purin yoki pirimidin asos-riboza yoki dezoksiriboza-fosfat kislota.

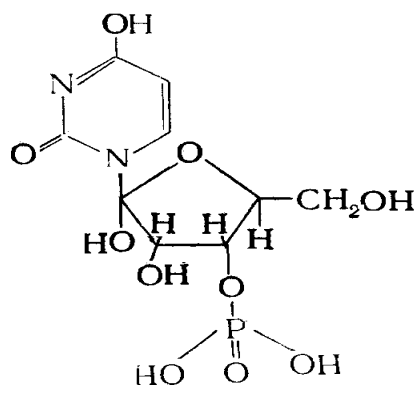
Tarkibida riboza tutuvchi nukleotidlar ribonukleotid, dezoksi-riboza tutuvchi nukleotidlar dezoksiribonukleotid deb ataladi.

Quyida nukleotidlarning kimyoviy tuzilishi va to'liq hamda qisqacha nomlanishi keltirilgan.

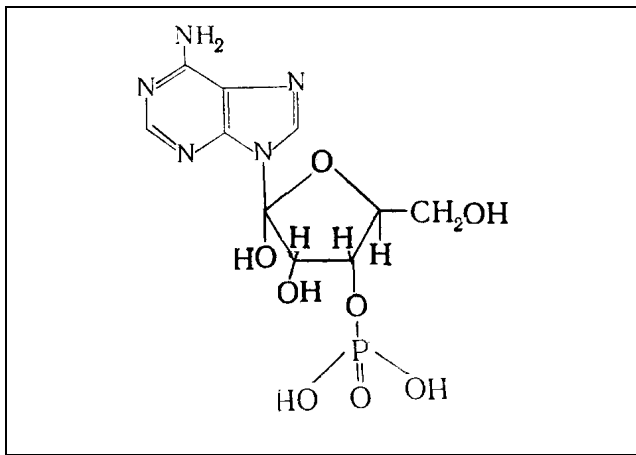
Ribonukleotidlar



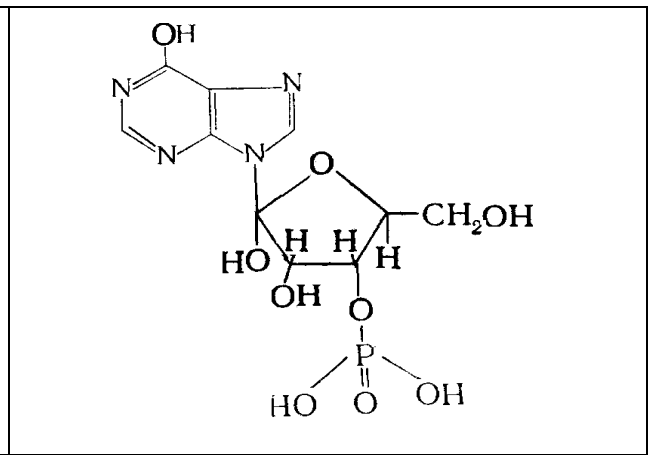
sitidinmonofosfat (SMF)



uridinmonofosfat (UMF)

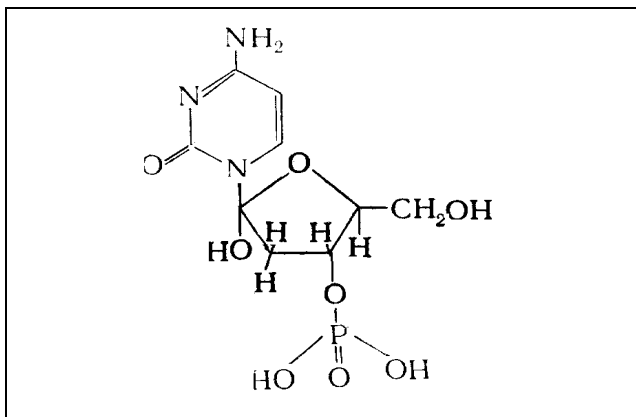


adenozinmonofosfat (AMF)

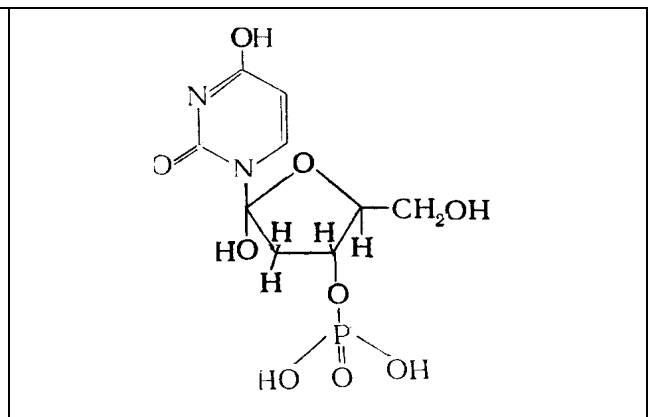


Guanozinmonofosfat (GMF)

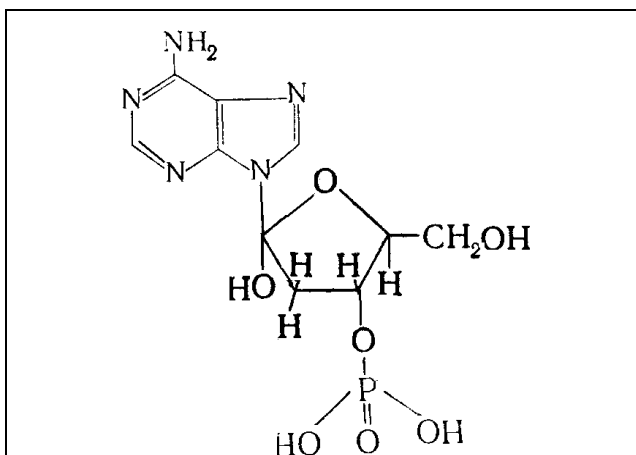
Dezoksiribonukleotidlar



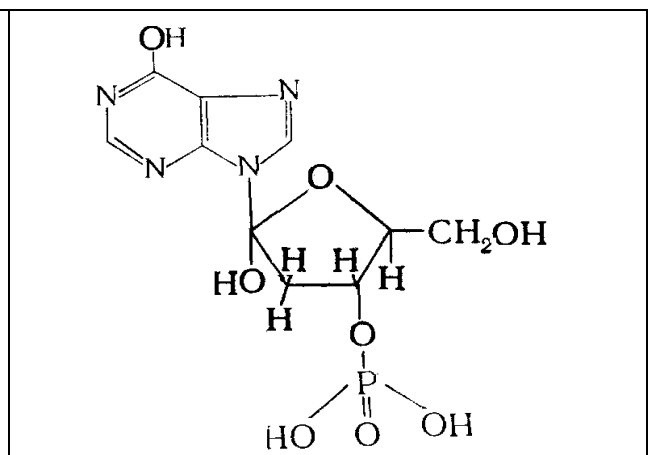
dezoksitsitidin-
monofosfat (d-SMF)



dezoksitimidin-
monofosfat (d-TMF)



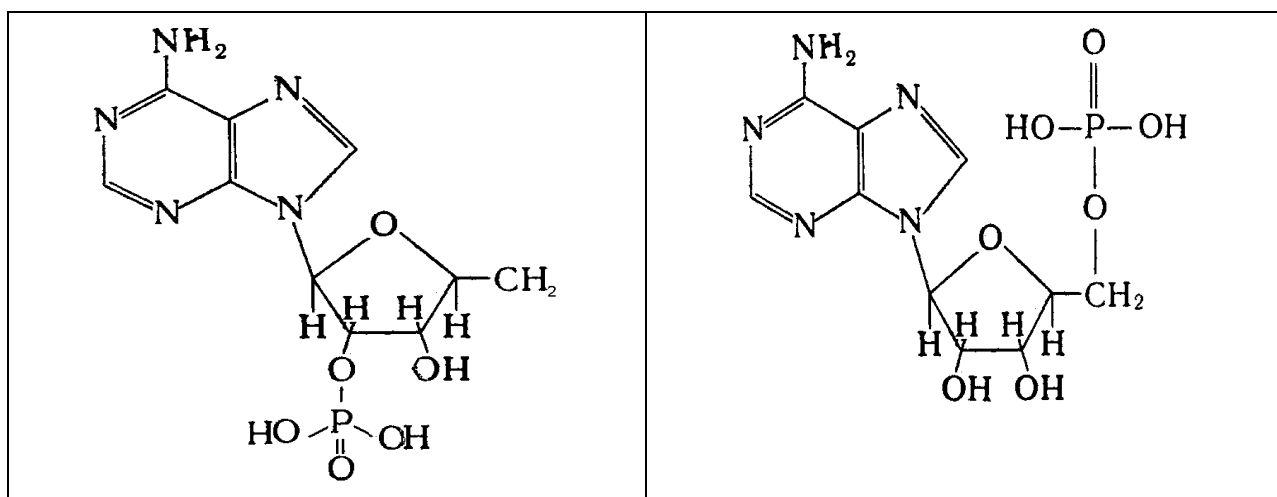
dezoksiadenozin-
monofosfat (d-AMF)



dezoksitanazin-
monofosfat (d-TMF)

Nuklein kislotalar ana shunday nukleotidlarning o‘nlab, yuzlab va hokoz birikishidan hosil bo‘ladi. Demak, nuklein kislotalar polinukleotidlardir.

Nuklein kislotalar tarkibidan fosfat kislota qoldig‘i saqlagani uchun, ularning eritmasi kuchli kislotalik xossasiga ega. Shuning uchun ular kislotalar sifatida nomlanadi. Bunda azotli asos nomiga kislota so‘zini qo‘shish bilan hosil qilinadi. Masalan: adenilat kislota, guanilat kislota, sidilat kislota, timidilat kislota. Ko‘pincha esa nukleotidlarning nomiga nukleozid so‘zini qo‘shish bilan hosil qilinadi: adenzin - 3 - fosfat yoki adenzin - 5 - fosfat va hokozo.



adenozin - 3' - fosfat

adenozin - 5' - fosfat

Nukleotid molekulasida fosfat kislota qoldig‘i birikkan joyni ko‘rsatish uchun ribozadagi uglerod atomlari raqamlab chiqiladi. Bu raqamlarni purin va pirimidin asoslaridagi raqamlardan farqlash uchun " ' " belgisi qo‘yiladi.

Jadval*

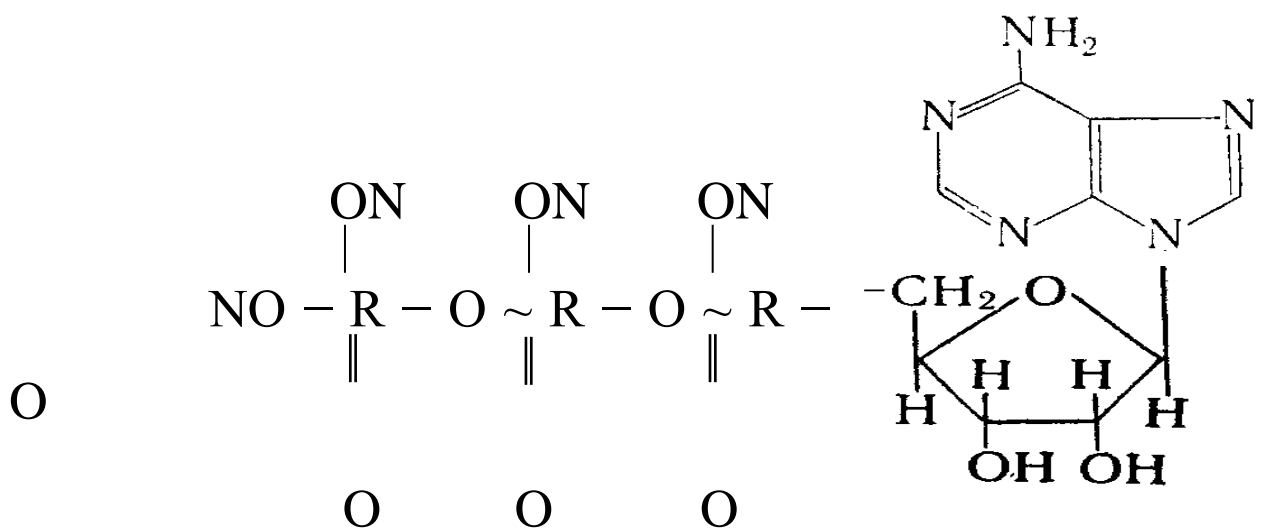
Nuklein kislotalar tarkibiy qismlarining nomlanishi

Azotli asos	Nukleozid (azotli asos + pentoza)	Nukleotid (azotli asos + pentoza + fosfat kislota)
Adenin	Adenzil	Adenilat kislota Adenzinmonofosfat (AMF)
Guanin	Guanzil	Guanilat kislota yoki guanozinmonofosfat

Uratsil	Uridin	(GMF) Uridilat kislota yoki uridinmonofosfat
Timin	Timidin	Timidilat kislota yoki timidinmonofosfat (TMF)
Sitozin	Sitidin	Sitilat kislota yoki sitidinmonofosfat (SMF)

* Yermolayev M.V., L.P.Ilicheva Biologicheskaya ximiya, M. Meditsina, 1989, str. 53.

Nukleotidlar hujayrada erkin holda ham uchrashi mumkin. Shu bilan birgalikda ular hujayrada nukleoziddifosfat, nukleozidtrifosfat shaklida ham uchraydi. Masalan,



Ulardagi 2- va 3- fosfat guruhlari makroergik bog‘ga ega bo‘lib, ularning fermentativ gidrolizi natijasida ko‘p energiya (7-8kkal/mol) ajralib chiqadi.

Barcha nukleozidtrifosfatlar (GTF, d-GTF, STF, d-STF va h.k.) tarkibida ana shunday makroergik bog‘lar saqlaydi. Bunday birikmalar makroergik birikmalar deb aytiladi.

Adabiyotlar

- 1.V.V.Plemenkov. Vvedeniye v ximiya prirodnix soyedineniy. Kazan.2001.
- 2.V. N. Leontyev, O. S. Ignatovets Ximiya biologicheskix aktivnix veshchestv Elektronniy kurs leksiy dlya studentov spetsialnosti 1-48 02 01 «Biotexnologiya» Minsk 2013
- 3.N.A.Tyukavkina, Y.I.Baukov. Bioorganicheskaya ximiya. 3ye izdaniye Moskva 2004.
- 4.Essential Cell Biology (Fourth Edition), Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter, 2014, 863 pages
5. Y.A.Ovchinnikov. Bioorganicheskaya ximiya. M. Prosveshcheniye. 1987.