

XAYDARALI RO'ZIBOYEV

NAFISA KOMILOVA

GULBAHOR RADJABOVA

BIOINFORMATIKA



Toshkent 2022

MUNDARIJA

KIRISH	5
I. BOB. BIOINFORMATIKANING FAN SIFATIDA SHAKLLANISH TARIXI, PREDMETI VA VAZIFALARI	7
Zamonaviy biologik tadqiqotlarda bioinformatikaning ahamiyati	17
Bioinformatikaning rivojlanish bohqichlari va yutuqlari	21
Bioinformatikaga oid asosiy atamalar va tushunchalar	22
II. BOB. DNK, RNK VA OQSIL	27
DNK tarkibining asosiy tuzilmalari	32
Asoslar orasidagi bog'lar shakllanishi	33
Azotli asoslarning kimyoviy modifikatsiyalari	34
DNKning shikastlanishi	35
Genom tuzilishi	40
DNKni modifikasilovchi fermentlar	44
Genetik rekombinatsiya	47
Ribonuklein kislota	50
Translyatsiya ishtirokchilari	56
RNK genomlari	61
DNK sekvenirlash	62
Genomika, proteomika va metabolomika	63
Ikki o'lchamli gel elektroforez	71
"Inson genomi" loyihasi	77
Umumiy va xususiy loyihalar ma'lumotlarini taqqoslash	82
III. BOB. ZAMONAVIY BIOINFORMATIK MA'LUMOTLAR BAZALARI	89
Zamonaviy nukleotid ma'lumotlar bazalari	91
DDBJ- ma'lumotlar bazasi-Yaponiya	93
EMBL-tadqiqot markazi va ma'lumotlar bazasi-Yevropa	98
NCBI - ma'lumotlar bazasi -GenBank-AQSH	103
INSDC - nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi	106
IV. BOB. ZAMONAVIY PROTEIN MA'LUMOTLAR BAZALARI ..	111
Protein bazalari turlari va ahamiyati	111
PDB - protein ma'lumotlari banki	115

PIR -protein axborot resursi.....	118
UniProt ma'lumotlar bazasi	119
SWISS-PROT-proteinlar ketma-ketligi ma'lumotlar bazasi.....	122
V. BOB. ZAMONAVIY METABOLIK YO'LLARI MA'LUMOTLAR BAZALARI	127
MetaCyc metabolik yo'llarining ma'lumotlar bazalari	127
HSLs metabolik yo'llarining ma'lumotlar bazalari	128
VI. BOB. GENOMLARNI TAHRIRLASH	131
Genomni tahrirlash texnologiyalarga asos solinishi.....	131
<i>TALEN - Transkripsiya aktivatorga o'xshash effektli nukleazlar</i>	138
DNKni ajratish domeni	138
CRISPR texnologiyasi	141
Rux barmoqlar nukleazlari.	153
Birlamchi nukleotidlar ketma-ketligini tahrirlash va identifikasiyalash.	158
VII. BOB. MOLEKULAR FILOGENETIKA	161
Filogenetik tahlil uchun bioinformatika vositalari	166
UPGMA juftliklar guruhi usuli.....	167
Nukleotidlar ketma-ketligini Genbank bazasiga joylashtirish.	168
VIII. BOB. MOLEKULAR DNK VA OQSIL MARKERLAR.....	169
IX. BOB. PANGENOM TUSHUNCHALARI VA ULAR BILAN ISHLASH.....	179
Genom ketma-ketliklariga asoslangan usullar.....	184
Evolutsion tadqiqotlarda pangenom qo'llanilishi.....	184
Pangenomlarning tibbiyotda qo'llanilishi	185
X. BOB. GEN ONTOLOGIYASI	188
XI. BOB. EPIGENOMIKA HAQIDA TUSHUNCHA	191
DNKning metillanishi.....	191
Gistonlarning modifikatsiyasi.....	196
XI. BOB. BIOLOGIK MAKROMOLEKULALARNI VIZUALLASHTIRISHNING ZAMONAVIY USULLARI.	203
Oqsillarning strukturasini va xususiyatlarini in silico sharoitida o'rganish	207
Polipeptid birlamchi strukturasining uchlamchi strukturaga o'tishi	210
Global va mahalliy alignmentlarni solishtirish.....	212

Makromolekulalar modellashtirishda Modeller dasturining qo'llanilishi	216
XII. BOB. MOLEKULYAR BIOLOGIK JARAYONLAR VA ULAR TAHLILI	217
Sun'iy neyronlar orasidagi bog'lanishlar.....	220
XIII. BOB. KARTALASHTIRISH DASTURLARI, GENLARNING FILOGENETIK SHAJARALARINI O'RGANISH.....	222
Xaritalashning dasturiy turlari	222
Genomning o'zgaruvchanligi va tartiblash xatolari	226
Qo'shimchalar yordamida yondashish asoslari	228

KIRISH

Bioinformatika biologik tizimlarda axborotni saqlash va uzatishning nazariy masalalari bilan shug'ullanadigan, informatikaning jadal rivojlanayotgan sohasi hisoblanadi. Bioinformatikaning asosiy tarmoqlari DNK, RNK nukleotidlar ketma-ketligida saqlanadigan genetik “matnlarni” ochish muammosini hal qiladigan kompyuter genomikasi va hujayra metabolizmining tashkil etilishi, uning genom tomonidan boshqarilishini o'rganadi. Genomika va metabolomika fan sohalarining rivojlanishi uchun zarur bo'lgan eksperimental ma'lumotlar bilan yetarli miqdorda va qulay shaklda ta'minlaydigan kompyuter ma'lumotlar bazalarini yaratish bioinformatikaning asosiy bo'limlarini rivojlantirish uchun katta ahamiyatga ega. Bioinformatika biologik tizimlar asosida olingan bilimlarni to'plash, saqlash va ulardan foydalanishni ta'minlaydigan axborot xizmatlarini o'z ichiga oladi. Shuning uchun bioinformatikaning bosh maqsadi biologik bilimlarni samarali foydalanishni ta'minlaydigan shaklda to'plash, biologik tizimlar elementlarini matematik modellarini qurish va tahlil qilishdan iborat. Organizmning faoliyatini ta'minlaydigan moddiy elementlarning tuzilishi haqidagi ma'lumotlar uning genomini tashkil etuvchi DNK yoki RNK nukleotidlar ketma-ketligida saqlanadi.

Organizmlar genamlari DNKsining nukleotidlar ketma-ketligini yaratish (sekvenirlash) 21-asrning boshlarida rivojlangan va ancha tejamli va samarali texnologiyaga aylandi. Aniqlangan genom ketma-ketliklari soni tez sur'atlarda o'sib bormoqda. Bioinformatikada genomika deb nomlangan maxsus bo'lim mavjud bo'lib, uning mavzusi DNK va RNK ketma-ketligida kodlangan biologik tizimlarning asosiy moddiy elementlarining tuzilishi haqidagi ma'lumotlarni saqlash usullarini modellashtirish va o'rganishdir. Genomika sohasida ishlaydigan butun dunyo olimlarining asosiy sa'yi-harakatlari hozirda hujayra genomining nukleotidlari ketma-ketligi bo'lgan genetik “matnlarni” kompyuterda tahlil qilishning samarali usullarini ishlab

chiqishga qaratilgan. Genetik matnni tahlil qilish, DNK ketma-ketligining funksiyalarini aniqlashni anglatadi ya'ni, ularning boshqaruvchi va oqsil kodlovchi mintaqalari va genlar faoliyatini tartibga solish va muvofiqlashtirishni ta'minlovchi mintaqalar o'rganiladi. Hozirda eng dolzarb masala - bu inson genlarini hosil qiluvchi nukleotidlar ketma-ketligini, Xalqaro inson genomi loyihasiga muvofiq, oxirga yillarda inson genomining to'liq ketma- ketligini aniqlash, izohlash hisoblanadi. Aytish joizki, DNKning nukleotidlar ketma-ketligi bo'yicha aniq funktsiyalari bo'lgan mintaqalarni ajratish oson ish emas, chunki ular tabiatan ancha xilma-xildir. Hozirgi vaqtda nukleotidlar ketma- ketligi bo'yicha genlarni kompyuter usullari bilan aniqlash ehtimolligi 70% dan oshmaydi. Ammo bugungi kunda bioinformatik tadqiqot ishlari hujayradagi metabolism jarayonlarini o'rganishga ko'plab bag'ishlangan. Hujayradagi metabolism jarayonlarini modellashtirish va biologik tizimning moddiy elementlarining birgalikdagi faoliyatini o'rganishdan iborat bo'lgan bioinformatikaning tegishli bo'limini metabonomika deb atash mumkin.

Metabonomikaning vazifalari hujayradagi mavjud bo'lgan fermentlarning boshqaruvchi-regulyativ xususiyatlari va hujayrada gomeostazni saqlaydigan metabolismning dinamik tuzilishini aniqlash va modellashtirishdir.

I. BOB. BIOINFORMATIKANING FAN SIFATIDA SHAKLLANISH TARIXI, PREDMETI VA VAZIFALARI.

Informatika fanining XX asming ikkinchi yarmida paydo bo'lgan davrdan boshlab fizika-matematika, texnika, gumanitar va boshqa fanlarga ham tadbqiq qilinishi hamda ular bilan hamkorlikda ishlashi tobora kengayib bormoqda. Hozirgi kunda informatika fani usullarini chetlab o'tadigan biron-bir fan sohasini topish mushkul. Tabiiy fanlar ham bundan mustasno emas. O'tgan asming 60- yillar oxiri 70-yillar boshlarida biologiyada EHM -elektron hisoblash mashinalari faol qo'llanila boshlandi: Shu bilan birgalikda ularning xotiralari, operatsion tezliklari oshdi, o'lchamlari kuchraytirildi hamda biologiya sohasida information tahlillarni talab etuvchi katta miqdordagi eksperimental ma'lumotlar to'planib qoldi. Bunga misol qilib bir qancha davlat olimlari hamkorligida 2003 yildayoq odam genomining sekvenirlanishini bo'yicha olingan ma'lumotlarni keltirish mumkin. Shunday qilib, XXI asr boshlariga kelib bioinformatika sohasi jadal chegaralanib qolganligi hamda tobora ko'payib borayotgan axborot hajmini saqlash zaruriyati tug'ilganligi bilan bog'lanadi. Ilk ketma-ketliklari aniqlangan bir necha yuz oqsillar haqida ma'lumotlar kitob-atlas shaklida nashr qilindi. 70 yillar boshlariga kelib aniqlangan ketma-ketliklar miqdori shu qadar ko'paydiki, ularning hajmi tufayli bu ma'lumotlarni kitob shaklida nashr qilishning umuman iloji yo'q edi. Inson miyasi bunday axborotlarni tahlil qila olmasligi va ketma-ketliklarni taqqoslash uchun maxsus dasturlar kerak bo'la boshladi. 90-yillarda genomika fani paydo bo'la boshladi. Hozirgi kunga kelib bir qancha organizmlar, jumladan odam, sichqon, tovuq, qurbaqa, bir qancha baliq turlari, chuvalchanglar, yuzlab viruslar va bakteriyalar hamda yuzlab o'simlik turlarining genom ketma-ketliklari aniqlangan. Bakteriya genomining o'qilishi biologlar uchun Mendeleyevning ximiklar uchun yaratilgan davriylik qonunini ochish bilan tenglashtiriladi. Shu boisdan ham bunday hajmdagi biologik ma'lumotlarni tahlil qilishda kompyuter texnologiyasidan foydalanila boshlandi. Gen ketma-ketliklarini tenglashtirish bo'yicha birinchi algoritm 1970 yilda yaratildi. Kompyuterlar axborotlarni virtual ma'lumotlar

bazasida saqlash va ular ustida yuqori tezlikda operatsiyalar o'tkazish imkonini berdi.

Bioinformatika ham boshqa zamonaviy fanlar singari bir qancha fanlar, ya'ni molekulyar biologiya, genetika, matematika va kompyuter texnologiyalari fanlari birlashuvi asosida vujudga keldi. Uning asosiy vazifasi bu biologik molekulalar, eng avvalo nuklein kislotalar va oqsillarning strukturalari, funksiyalari bo'yicha ma'lumotlarni tahlil qilish va tizimlashtirish uchun hisoblash algoritmlarini ishlab chiqishdir. DNK nukleotid ketma-ketliklarini sekvenirlashning jadal usuli ishlab chiqilgandan so'ng ma'lumotlar bazasida to'planayotgan genetik axborotlar hajmi yuqori tezlik bilan orta boshladi. Informatika, lingvistika va informatsiya nazariyasi yutuqlari genetik matnlarni tahlil qilish imkoniyatlarini ochib berdi. Bioinformatikaning boshqa fan sohalari bilan o'zaro bog'liq holdagi rivojlanishi organizm va hujayrada yuz berayotgan biologik jarayonlarni tushunishning yangi darajasi shakllantirishga imkon beradi.

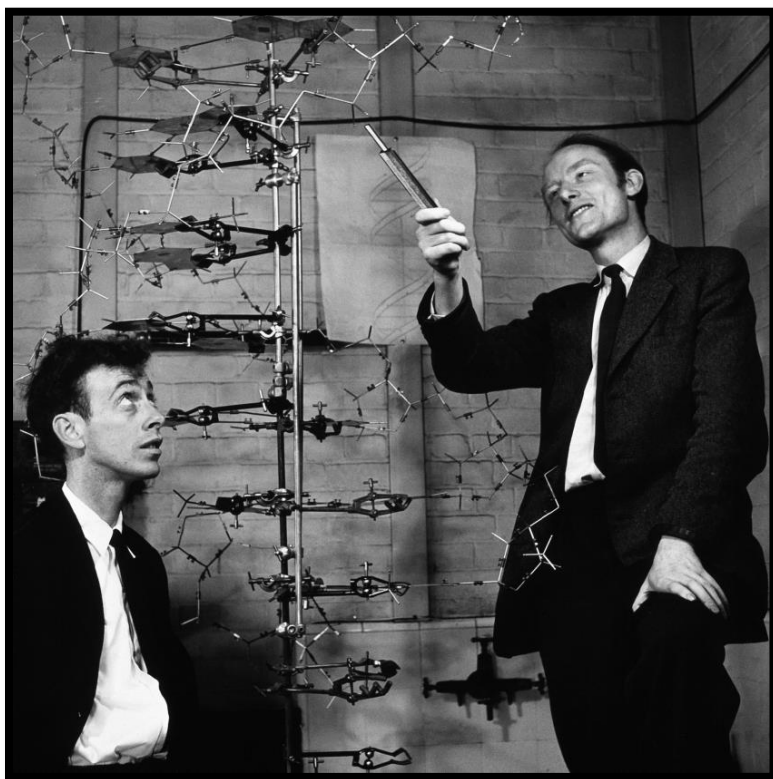
Bioinformatikaning yaralish tarixi XIII asrlarga borib taqaladi. Matematika tarixiga Fibonachchi (Fibonacci) nomi bilan kirib kelgan yosh italyan Pizalik Leonardo Leonardo of Pisa (1-rasm) biologik jarayonning birinchi matematik modelini tuzgan holda quyonlarnig ko'payishi to'g'risidagi masalani tavsiflab bergan.

XX asrning 20 yillariga kelib esa yana bir italyan olimi Vito Volterra -Vito Volterra "yirtqich-o'lja" ko'rinishidagi ikki biologik turning o'zaro harakati modelini yaratdi. 40 yillar oxirida biologiyaga fizik va matematiklar kirib kela boshladi. Biologiyaning zamonaviy



*1-rasm. Pizalik Leonardo
(1170-1250)*

tarixi 1953 yildan, Amerika olimlari Jeyms Uotson hamda Frensis Krik tomonidan DNK ning qo'sh spiralligi kashf qilingan davrdan boshlandi (2-rasm.).



2-rasm. Jeyms Uotson-chapda,
Frensis Krik-o'ngda

1950-yillardan shu kunga qadar bazalar ma'lumotida ko'p miqdordagi turli xil organizmlarning nukleotidlari qatori ma'lumotlari yig'ilgan bo'lib, ularni oddiy hisoblash usullarida taqqoslash va tahlil qilish juda murakkab bo'lgan. Bioinformatika fanining mustaqil fan sifatida shaklanishining asosiy xronologik sanalari sifatida

qo'yidalarni ko'rsatish mumkin.

1866 yil - Gregor Mendel tomonidan no'xat o'simligida irsiy omillarnig irsilanishi to'g'risidagi tajribalarini nasrda e'lon qilinishi.

1928 yil - Ervin Shyodinger bunday omillar 1000 angstromga teng bo'lishi to'g'risidagi fikrlarini aytgan.

1933 yil - A.Tizelius eritmadagi oqsil aralashmalarini elektroforetik ajratish usulini taklif etgan.

1951 yil - L.Ploing va R.Kyuri a-spiral va P-barg strukturasini hosil qiluvchi polipeptid zanjirlrining struktur modelini taklif qilishgan.

1952 yil - R.Franklin va M.Uilkins rentgenostruktur tahlil yordamida DNK regulyar strukturasining xaraterini aniqlashgan.

1953 yil - J.Uotson va F. Krik DNK ikkilamchi strukturasi taklif qilishgan.

1954 yil - M.Peruts va u boshqargan ilmiy guruh xodimlari oqsillar kristallografiyasida fazalar muammosini, og'ir atomlarning o'rin almashinishi usuli yordamida aniqlashgan.

1955 yil - F. Senger qoramol insulin oqsilining ketma-ketligini aniqlaydi.

1957 yil - Artur Kornberg ilk bor sintetik DNK molekulasi yaratgan.

1965 yil - Margaret Deyhoff ilk bor "Biotibbiyot tadqiqotlar milliy fondi" (BTMF), Vashington, xodimlari bilan hamkorlikda birinchi marotaba oqsil ketma-ketliklarini ma'lumotlar bazasiga birlashtirgan.

1968 yil - Verner Arber, Gamilton Smit va Deniel Nat restriktazalar ishlash prinsipini aniqlashgan.

1969 yil - Los Anjelesda "Stenford universiteti" va "Kaliforniya universiteti" tomonidan kompyuterlarni birlashtirish tizimining yaratilishi "ARPAnet" tarmog'ining yaratilishiga olib elgan.

1970 yil - Nidlmén - Vunshning ketma-ketliklarni taqqoslash maqsadida algoritm tavsifi beriladi.

A.DJ.Gibbs va G.A.Makimtayer aminokislotalar va nukleotid qatorlari uchun nuqtali matrisa yordamida aniqlash uslubini yoritib berishgan.

1972 yil - Paul Berg, ligaza yordamida birinchi sun'iy rekombinant molekulasi konstruktsiyasini yaratgan.

Stanli Koen, Enni Chan, Gerbert Boyer rekombinant RNKli birinchi organizmni yaratishadi.

1973 yil - Djozef Sembruk o'zining ishchi guruhi bilan birgalikda DNK elektroforezi uslubini, agaroz gelini qo'llab mukammallashtirishadi.

Stanli Koen DNK klonlashni amalga oshiradi.

"Brukheyven oqsil bazalar ma'lumoti" yaratiladi.

Robertt Metkaf o'zining doktorlik dissertasiya ishida "Ethernet" tarmog'iga ta'rif beradi.

1974 yil - Vint Karf va Robert Kan kompyuter tarmoqlarini "Internet" global

tarmog'iga birlashtirish konsepsiyasini rivojlantirishdi va ma'lumotni uzatishning protokollarini ishlab chiqishdi - Transmission Control Protocol, TCP.

1975 yil - P.H.O'Farrell poliakrilamid gelida dodesil sulfat ishlatgan holda ikki o'lchamli elektroforez uslubini yaratdi.

Edvard Sauzern Sauzern-blot tahlilini yoritib bergan.

Bill Geyts va Pol Allen "Maykrosoft" - Microsoft Corporation, korporasiyasiga asos solishadi.

1977 yil - Frederik Senger, Allen Maksam va Uolter Gilbert DNK sekvenlash uslubini ishlab chiqishdi.

1979 yil - "Los Alamos milliy laboratoriyasida" Nyu Meksiko shtatida, Uolter Goud xamkasblari bilan birgalikda, ilk bor "GenBank" ma'lumotlar bazasining prototipi asosida DNK ma'lumotlar bazasini birashtirishdi.

1980 yil - Mark Skolnik, Rey Uayt, David Botshteyn va Ronald Deyvis inson genomining PDR-marker (Pestriktazalar uzunligi polimorfizmi) xaritasini yaratdilar.

"FX-174" organism genlarining to'liq ketma-ketligi aniqlandi.

Ko'p o'lchamli yadroli magnitli rezonans usuida Vutix oqsil struktirasini aniqlash ishlarini amalga oshirdi

Kaliforniyada "IntelliGenetics Inc." kompaniyasi tashkil etildi va uning birinchi mahsuloti "IntellGenetics Suit" oqsillarni aniqlash va DNK ketma-ketliklarini aniqlaydigan va tahlil qiladigan dasturlar paketi ishlab chiqildi.

Smit-Uotermannning ketma-ketliklarni tahrirlash algoritmi yaratildi.

AQSH Oliy sudi suniy modifisirlangan bakteriya patentini tan oldi.

1981 yil - IBM korporasiyasi bozorga personal kompyuterlarni chiqardi.

Inson mitoxondrial genomi sekvens qilindi.

D.Benson va LD.Lipmen tomonidan "GENINFO" - menyu orqali ketma-ketliklar ma'lumotlar bazasini boshqaradigan dasturni ishlab chiqishdi.

Mayzel va Lenk rangli tasvir va sxemalar filtrasi dasturini ishlab chiqishdi va nuqtali matrisalar uslubini ishlash prinsipi soddalashtirilar.

1982 yil - rekombinant DNK asosida yaratilgan dorivor vosita ilk bor bozorga chiqarildi.

Viskonsin biotexnologiya markazida “genetics Computer Group, GCG”, axborot bo’limi tashkil etildi.

1983 yil - Sotuvda CD kompakt diskar chiqarildi.

1984 yil - Djon Postelning “Internet” tarmog’iga SID nomli domen tizimlari joylashtirildi.

“Apple computer” korporasiyasi macintosh kompyuterlarini chiqarishdi.

1985 yil-Kerri Mullis PZR-polimerazali zanjirli reaksiyani ixtiro qildi.

Robert Sinsheymer “Inson genomi” proektini ishlab chiqishni taklif etdi.

1986 yil - Tomas Roderik genlarni xaritalash, sekvenlash va tahlil qilish muammolari bilan shug’ullanadigan aloxida ilmiy fanni “Genomika” deb atalishini taklif etdi.

Jeneva universiteti tibbiy biokimyo bo’limi va Evropa molekulyar biologiya laboratoriyasi bilan xamkorlikda SwissPROT ma’lumotlar bazasi yaratildi.

Leroy Hud va Lloyd Smit DNK ni sekvenlash usulini avtomatlashtirildi.

1987 yil - AQSH lari tabiatni muhafaza qilish vazirligi “Inson genomi” loyihasini rasmiy ishga tushurganligini e’lon qildi.

1988 yil - Devid T.Byork hammualliflar bilan birgalikda, zamburug’lar sun’iy xromosomasini ishlatish uslubini yoritdilar.

Pirson va Lipmen FASTA algoritmini e’lon qilishdi.

AQSHlari “Rak milliy institute”da “Biotexnologik ma’lumotlar milliy markazi” tashkil etildi.

1989 yil-AQSH lari Sog’lomlashtirish milliy institute - NIH “Inson genomini tadqiqot qilish milliy markazini” tashkil etdi.

Oxford Molecular Group Ltd., OMG, “Anakonda”, “ASP”, “Cameleon” dasturlarini ishlab chiqishdi va oqsil strukturalarini ishlab konstruksiyalaydigan, dorivor vosiyalarni molekulyar modellashtiraigan va ushalb chiqadigan dasturlarni yaratdilar.

1990 yil - Altshtul bir qancha dasturchilar bilan birgalikda, BLAST algoritmini ishlab chishdi.

1991 yil - “CERN” Jeneva, tomonidan “Xalqaro o’rgimchak to’ri” ning boshlang’ich ishlariga asos solishganin e’lon qilishdi.

Kreyg Venter ekspressiyalanadigan ketma-ketliklar yarliklari yordamida genlarni aniqlash texnologiyasini yaratdilar.

Kaliforniyada “Insyte Pharmaceuticals” farmasevtik genomika bilan shug’ullanadigan kompaniya tashkil etildi.

AQSH larining Yuta shtatida Myriad genetics Inc. kompaniyasi tashkil etildi va uning asosiy faoliyati asosiy kasalliklar genini aniqlash va ularning irsiylanishini o’rganishdan iborat.

1993 yil-Frensis Kollins “Inson genomi” loyihasini boshqardi. Buyuk Brutaniyada “Senger markazi” tashkil etildi, loyihaga boshqa davlatlar ham qo’shildi. Loyiha faoliyatini 2005 yilda tugatish rejalashtirildi.

1994 yil - Ettvud va Bek PRINTS oqsillar motivi ma’lumotlar bazasini yaratishdi.

Merilend shtatida Gene Logic kompaniyasi tashkil etildi.

1995 yil - “TIGR” kompaniyasi olimlari erkin yashaydigan *Haemophilus influenzae* organism genom ketma-ketliklarini aniqlashdi.

1996 yil - Achitqi zamburug’i *Saccharomyces cerevisiae* genomi sekvenlandi.

PROSITE ma’lumotlar bazasi ishlab chiqildi.

Affimetrix kompaniyasi birinchi komersiya DNK chipklarini ishlab chiqishdi.

1998 yil - *Caenorhabditis elegans* chuvalchangi va *Saccharomyces cerevisiae* genomi taxrirlandi.

AQSH lari NIH - National Institute of Health - instituti tomonidan “PON” - aloxida oligan nukleotidlar polimorfozmi loyihasiga asos solindi, ushbu loyiha inson genomida o’tayotgan o’zgarishlarni tadqiqot etishga qaratilgan.

1999 yil-Inson birinchi xromosomasining ketma-ketligi e’lon qilindi.

2000 yil - *Pseudomonas aruginosa*, *Arabidopsis thaliana* va *Drosophila melanogaster* genomlari sekvenlandi.

2001 yil-fevralda “Science” va “Nature” jumallarida inson genomi va uning tahlillari annotasiyalari e’lon qilindi.

2002 yil - boshqa organizmlar genom ketma-ketliklari e’lon qilindi.

Bugungi kunga qadar bioinformatikaga turlicha ta’riflar beriladi, biroq asosan bioinformatika deganda turli biologik axborotlarni tahlil qilishda kompyuterdan foydalanish tushuniladi. Shuningdek «bioinformatika» termini maydoni ham juda kengaydi va biologik ob’ektlar bilan bog’liq barcha matematik algoritmlardan hamda biologik tadqiqotlarda qo’llaniladigan axborot-kommunikatsiya texnologiyalaridan foydalanadi. Bioinformatikada informatikadagi singari amaliy matematika, statistika va boshqa aniq fanlar usullari qo’llaniladi. Bioinformatika shuningdek genetika, molekulyar biologiya, biofizika, ekologiya, va qator tabiiy fanlar sohalarida foydalaniladi. Bioinformatika o’z ichiga qo’yidagilarni oladi:

S qiyosiy genomikada kompyuter tahlilining matematik usullari (genom bioinformatikasi);

S oqsil strukturalarini bashorat qilish uchun algoritm va dasturlarni ishlab chiqish (strukturaviy bioinformatika);

S muvofiq hisoblash uslubiyatlari strategiyasi tadqiqoti hamda informatsion murakkablikning biologik tizimlar tomonidan umumiy boshqarilishi.

Amaliy ma’noda bioinformatika - bu biologlar manfaatlari uchun xizmat qiladigan amaliy fandır. Ma’lumotlarni birlamchi tahlil qilish texnik bioinformatika sohasiga tegishlidir. Olingan ma’lumotlarni qayerdadir saqlash va ulardan foydalanish imkoniyatlarini ta’minlash zarurati mavjud, jumladan B geni qaysidir jarayonda qatnashadi va hokazo, bu esa bioinformatika fanining amaliy ahamiyatidan dalolat beradi.

Bioinformatika biologiya sohasining qo’yidagi yo’nalishlarida qo’llaniladi:

- genomika, transkriptomika va proteomika;
- rivojlanish biologiyasida kompyuter modellashtirish;

- gen tarmoqlarining kompyuter tahlili;
- populyatsion genetikada modellashtirish.

Bioinformatika dori preparatlarini loyihalashtirish muddatini 5-6 yildan bir necha oylarga qisqartirish imkoniyatini yaratib farmakologiya sohasiga ham osongina kirib bordi. Shuningdek, bu fan ko'plab boshqa tibbiyotga va biologiyaga oid fanlar bilan integratsiyalandi. Bugungi kunda bioinformatikaning qo'yidagi bo'limlari mavjud:

- umumiy bioinformatika;
- klinik bioinformatika;
- strukturaviy genomika;
- funktsional genomika;
- farmakogenomika;
- klinik proteomika;
- funktsional proteomika;
- strukturaviy proteomika.

Bioinformatika usullari yordamida katta hajmdagi biologik ma'lumotlarni shunchaki tahlil qilish emas, balki har doim ham oddiy tajribalarda aniqlab bo'lmaydigan qonuniyatlarni isbotlash, genlar va ular kodlaydigan oqsillar funksiyalarini bashorat qilish, hujayradagi genlarning o'zaro ta'siri modelini qurish, dori preparatlarini yaratish mumkin. Bu ma'lumotlar oqsil ketma- ketliklarini va regulyator uchastkalarni aniqlash uchun foydalaniladi. Ma'lumotlar miqdorining ko'payishi bilan endi ketma-ketliklarni qo'lda tahlil qilish mumkin bo'lmay qoldi. Hozirgi kunda milliardlab juft nukleotidlardan tashkil topgan minglab organizmlar genomlari bo'yicha qidiruvlar olib borish uchun kompyuter dasturlaridan foydalaniladi.

Yirik genomlar uchun DNK fragmentlarini yig'ish yetarli darajada qiyin vazifalardan hisoblanadi. Bu usul hozirda qariyb barcha genomlar uchun qo'llaniladi va genomlarni yig'ish algoritmlari bioinformatika sohasida bugungi kunning dolzarb muammolaridan biri sanaladi. Genomda genlarni va regulyator

elementlarni avtomatik tarzda qidirish genetik ketma-ketliklarga kompyuter tahlilini qo'llashda yana bir misol bo'la oladi.

Genomika kontekstida annotatsiya - bu DNK ketma-ketligida genlarni va boshqa ob'ektlarni markirovkalash nishonlash jarayonidir. Genomlar annotatsiyasi birinchi dasturiy tizimi Owen White tomonidan 1955 yildayoq yaratilgan edi. Bu orqali evolyutsion biologiya turlarning kelib chiqish va paydo bo'lishini, ularning davrlar bo'yicha rivojlanishini o'rganadi. Informatika evolyutsiyani o'rganuvchi biologlarga bir necha jihatlarida yordam berdi:

1) barcha DNK dagi o'zgarishlarni o'rgangan holda ko'p sonli organizmlar evolyutsiyalarini tadqiq qilishda;

2) yanada kompleks evolyutsion hodisalarni o'rganish imkonini beruvchi genomlarni bir-biriga taqqoslashda;

3) populyatsiyalar kompyuter modellarini qurishda;

4) ko'p miqdordagi turlar haqida ma'lumotni o'z ichiga oluvchi nashrlarni sifatida aniqlanishi mumkin. Ixtisoslashtirilgan dasturiy ta'minot mahsulotlari qidirish, vizualizatsiya qilish, axborotni tahlil qilish va eng muhimi, natijalarni boshqa tadqiqotchilar bilan bo'lishda foydalaniladi.

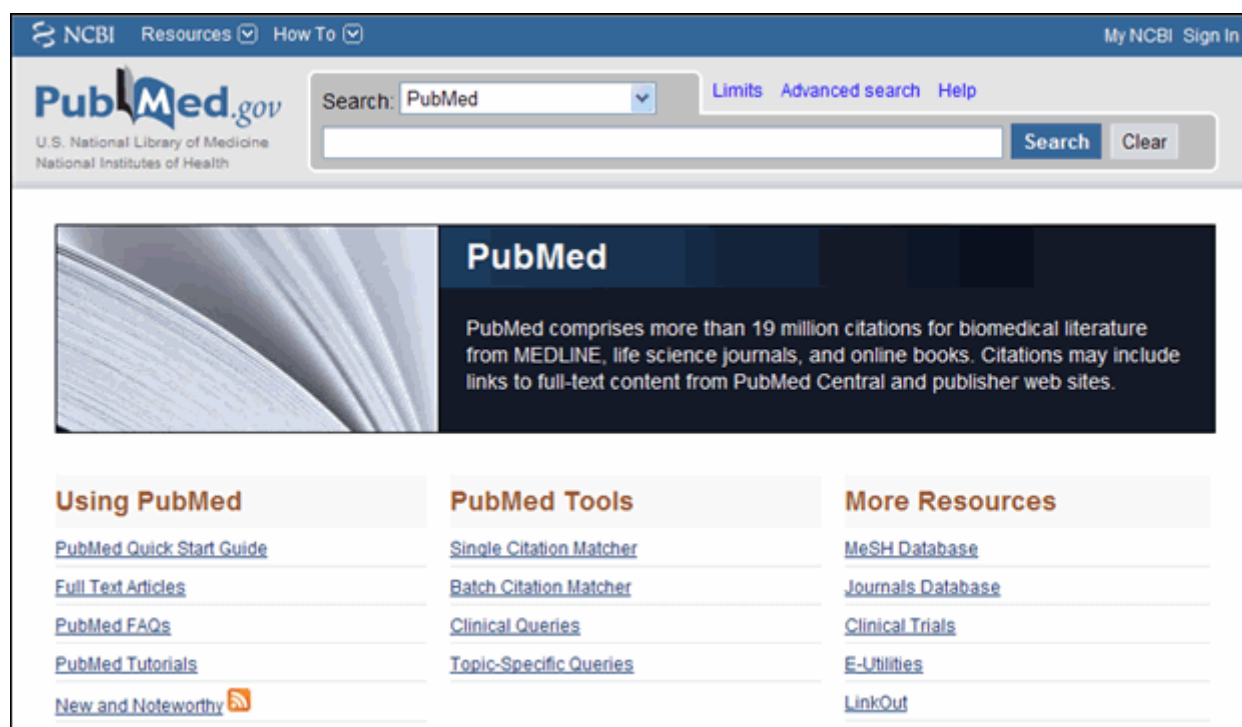
Hozirgi zamon ilmiy biologik adabiyotida bioinformatika bilan birgalikda "hisoblash biologiyasi" iborasi ham uchrab turadi. Hisoblash biologiyasi - bu fan sohasi emas, balki biologik jarayonlarni o'rganish uchun kompyuterlardan foydalanishga uslubiy yondashuv hisoblanadi. Garchi "hisoblash biologiyasi" ko'proq algoritmlar va aniq hisoblash usullarini ishlab chiqishlar bilan shug'ullansada hozircha "bioinformatika" va "hisoblash biologiyasi" iboralaridan tez-tez ma'nodosh so'zlar sifatida foydalanilmoqda. Hisoblash biologiyasida foydalaniladigan barcha usullar ya'ni, masalan, garchi biologik vazifalar bilan bog'liq bo'lsada matematik modellashtirish - bu bioinformatika hisoblanmaydi.

Bundan tashqari matematik biologiya ham mavjud bo'lib, u ham bioinformatika singari biologik muammolarni yechishda ishlatiladi, biroq unda qo'llaniladigan usullar natijasi son bilan ifodalanmaydi va ularni amalga oshirishda

dasturiy va jihoz ta'minoti talab etilmaydi. Oqsillar fazoviy tuzilmalarini bashorat qilishda ishlatiladigan algoritmlar va dasturlar ishlab chiqish bilan shug'ullanuvchi strukturaliy bioinformatika boshqalaridan ajralib turadi.

Zamonaviy biologik tadqiqotlarda bioinformatikaning ahamiyati

Bioinformatika biologiyaning ilmiy tajribalari asosida olingan natijalami tahlil qiladi. Olingan ma'lumotlarni tadqiqotchi ma'lumotlar bazasida mavjud bo'lgan barcha to'plamlar bilan solishtiradi. Bordini, u o'zi aniqlagan ketma-



3-rasm. PubMed ma'lumotlar bazasining asosiy oynasi.

ketlikni ma'lumotlar bazasidan topa olmasa bunda u bu ma'lumotni shu joyga kiritib qo'yadi va bu bilan bazani yanada boyitadi. Ma'lumotlar bazasi funksiyalariga saqlash, tizimlashtirish, axborotlarni yangilab turish unga kirish huquqi bilan ta'minlashlar kiradi. Bu operatsiyalar esa katta qudratlardagi kompyuterlarni talab qiladi. Shuningdek biologik mavzular majmuidagi ilmiy nashriyotlar bazalari ham mavjud. Biologiya bo'yicha istalgan ilmiy jurnalning barcha sonlarida chiqadigan har bir maqola ma'lumotlar bazasiga joylashtiriladi izlanuvchi uni internet tarmog'i orqali oson topib olishi uchun qisqa ta'rif berib qo'yiladi (3-rasm).

Integral ma'lumotlar bazasi va ensiklopediyalar konkret gen, oqsil, funksiyalarni amalga oshishi haqida ma'lumot beradi. Ular katta miqdordagi boshqa ma'lumotlar bazalari axborotlarini umumlashtiradi va uni hamisha yangilab turadi. Har qanday yangidan o'qilgan genom harflaming turli xil kombinatsiyalarida

takrorlanuvchi ulkan ketma-ketliklar ko'rinishida namoyon bo'ladi. Bioinformatika bunday xilma-xillikdagi matndan genlarni ajratib olish imkoniyatini beradi.

Genomdan genni ajratib olish kabi bunday operatsiya genomni belgilash deb ataladi. Barcha genlar funksiyalarini tajribalar asosida aniqlash yetarli darajada murakkablikni yuzaga keltiradi. Bu holatda bioinformatika funksiyalari allaqachon aniqlangan genlar bilan solishtirib ko'rishga tayangan holda ularni bashorat qilishda ko'maklashadi. Oqsil molekulasida biologik vazifalarning har xil turlariga javob beruvchi uchastkalar mavjud. Bioinformatika usullari yordamida ushbu uchastkalarni aniqlash konkret bir oqsilning barcha spektr funksiyasini ochib beradi. Oqsil strukturalarini tajribalar asosida, ya'ni masalan oqsil molekulalaridan tashkil topgan mikroskopik kristalni rentgen nurlari bilan nurlantirish orqali aniqlash mumkin. Bu esa yetarli darajada uzoq va qimmatli jarayon hisoblanadi. Ayrim oqsillar kristall tuzilmalarga ega bo'lmaganligi sababli ularni tahlil qilishning umuman iloji yo'q. Bioinformatika kompyuter modellashtirish yordamida hech bo'lmaganda oqsil strukturasi uzoqroq o'xshash ketma-ketligi ma'lum bo'lgan holatlarda oqsilning fazoviy modelini yasashda yordam beradi. Bioinformatika metodlari asosida olingan molekulaning fazoviy strukturasini bilgan holda uning qanday ishlashini va uning ishlashiga qanday ta'sir eta olishni bashorat qilish mumkin. Dori preparatlarini fazoda har xil ximiyoviy bog'lanishlar bilan oqsil-nishonlarning o'zaro ta'sirini modellashtirish asosida tayyorlash mumkin. Bunda katta miqdori bog'lanishlarni saralash va eng maqbullarini tanlab olish kerak bo'ladi.

Biologiya, kimyo, fizika, matematika hamda informatika fanlarini birlashtirish biologik tizimni har tomonlama tavsiflash imkonini beradi. Kompyuter resurslaridan foydalanish tahlil jarayonini bir necha marotaba tezlashtiradi hamda olinadigan natijalarning aniqligini va tezligini oshiradi.

Bioinformatika texnologiyalaridan foydalanib qilingan biologiya sohasidagi yangi kashfiyotlar tez suratda tibbiyot, farmakologiya, kosmetologiya, biotexnologiya, qishloq xo'jaligi, ekologiya va boshqa sohalarda jalb qilinadi.

Bioinformatika mustaqil ravishda amaliy ahamiyatga ega bo'lgan natijalar beradi va shuningdek biologiyaning turli sohalarida ishlash uchun sharoit bilan ta'minlaydi. Bioinformatika bo'yicha ishning katta qismi biologik axborotni saqlash va uni tahlil qilish uchun ma'lumotlar bazasidan foydalanishtexnologiyalari atrofiga jamlangan. Bunday ma'lumotlar bazasi ommabop yoki shaxsiy bo'lishi mumkin. Ularga ochiq standartlar orqali ommaviy kirish huquqini olish esa muhim ahamiyat kasb etadi. Garchi ma'lumotlar bazasidan foydalanishga nisbatan bu usullar anchagina keng tarqalgan bo'lsada biologik axborotlarni tahlil qilish uchun ontologiya va mantiqiy usullardan foydalanish rivojlanib bormoqda.

Bioinformatikaning rivojlanish bo'chqichlari va yutuqlari

Bir qancha xorijiy davlatlarda 20-21 asrlarda bioinformatika jadal suratda rivojlanayotgan dunyo biotibbiyot fanlari sohasiga aylanib bordi. Bioinformatik texnologiyalar iste'molchilari tadqiqotchilar, fundamental ishlanmalar mualliflari bilan bir qatorda tibbiyot, farmakologiya, biotexnologiya hamda o'quv muassasalari hisoblanadi. Fanning bu sohasi AQSHda va shuningdek boshqa rivojlangan davlatlarda muhim yo'nalish sifatida qaraladi.

Yevropa, Osiyo, AQSH hamda Avstraliya davlatlarida bioinformatika markazlari soni yildan-yilga ko'payib bormoqda. Bioinformatika bo'yicha yuqoridagi davlatlarda, akademiya hamda ta'lim markazlari bilan bir qatorda so'nggi yillarda sohada olingan tadqiqot natijalardan tijorat maqsadida foydalanishga yo'naltirilgan sezilarli darajadagi tashkilot va loyihalar yuzaga keldi. Bu eng avvalo genomlarning, shuningdek odam genomining strukturaviy, funktsional hamda qiyosiy tahlili bo'yicha faoliyat yurituvchi tashkilotlardir. Bioinformatika sohasi bo'yicha yaratilgan usullarni qo'llash bilan birga amaliy muammolarni yechish yo'lida, xususan farmakologiyada texnik hamda dasturiy bazalar jadal suratda rivojlanib bormoqda. Bunday muammolarni bartaraf etishda dasturiy ta'minot sanoati ham takomillashib bormoqda.

Mamlakatimizda genomika va bioinformatika fanlarining rivojlanishiga qaratilayotgan alohida e'tibor tufayli dunyo fanida o'z o'rniga ega nufuzli ilmiy maktab va muhit shakllantirildi, zamonaviy laboratoriyalar tashkil etilib, keng miqyosda xalqaro ilmiy aloqalar yo'lga qo'yildi. Xususan, O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi "Genomika va bioinformatika" markazida sohada anchagina muvaffaqiyatli dasturlar amalga oshirildi. Markazda yetakchi xorijiy ilmiy markaz tajribalariga ega, bioinformatik texnologiyalar bo'yicha bilim va ko'nikmalarni puxta egallagan ilmiy xodimlarning faoliyat olib borishi va shular hisobga olingan holda markazda bioinformatika laboratoriyasining tashkil etilganligi bunga yaqqol misol bo'la oladi. Markaz ilmiy jamoasi hanuzgacha noaniq bo'lgan g'o'za genomidagi rekombinatsion bloklar (ya'ni, avloddan avlodga ko'chib o'tadigan gen allellari to'plami) o'lchamlarini topib, topib, zamonaviy

tezkor “assotsiativ kartalashtirish” usulini kashf etdi. Natijada g’o’za genomidagi genlardan foydalanishning yangi imkoniyatlari ochilib, g’o’zada zamonaviy markerlarga asoslangan selektsiya usullari ishlab chiqildi. Gen-nokaut yoki RNK interferentsiyasi molekulyar genetika va bioinformatika usullari mahsuli bo’lib, organizmning belgilangan genlari faolligini to’xtatish imkonini beradi. Shu tufayli genlari “o’chirilgan” (nokaut qilingan) organizm vujudga keladi. Bu nukleotid ketma-ketligi ma’lum bo’lgan genlarning funksiyasini aniqlashga yordam beradi. Nokaut qilingan va normal organizm namunalari orasidagi farqlar, o’rganilayotgan gen funksiyasini ko’rsatib beradi. Qishloq xo’jaligi ekinlarining biologik ko’rsatkichlari - hosildorlik, ertapisharlik, zararkunanda va hasharotlarga chidamlilikning namoyon bo’lishida ishtirok etuvchi genning tarkibi va funksiyasi aniqlangandan so’ng maqsadga muvofiq ravishda ushbu gen faoliyatini kuchaytirish yoki aksincha uni to’xtatish mumkin. Markaz olimlari erishgan eng so’nggi yutuqlardan biri - bu ular tomonidan g’o’za uchun yaratilgan dunyodagi ilk -nokaut texnologiyasidir.

Bioinformatikaga oid asosiy atamalar va tushunchalar

Bioinformatika, shuning uchun bio bo’limlariga kiritilgan - anatomiya, botanika, virusologiya, mikrobiologiya, tsitologiya, paleontologiya, fiziologiya va boshqalar bilan birga. Bioinformatika eksperimental biologiyada olingan dalillarni tahlil qiladi. Eksperimentator olingan ma’lumotlarni ma’lumotlar bankida mavjud bo’lgan butun to’plam bilan solishtiradi. Ketma-ketliklar aniqlanganch, ma’lumotlar bazasiga kiritadi. Ma’lumotlar banklarning vazifalariga axborotlarni saqlash, tizimlashtirish, yangilash va ulardan foydalanishni ta’minlash kiradi. Biologik mavzulardagi ilmiy nashrlar banklari ham mavjud. Xar qanday ilmiy jurnalning sonida chop etilgan har bir maqola bu banklarda saqlanadi va boshqa har qanday olim uni internetda osongina topishi uchun imkon bo’ladi. Yeng yirik onlayn kutubxona PubMed tibbiy va biologik nashrlar so’nggi 50 yil ichida chop etilgan 16 milliondan ortiq maqolalarni o’z ichiga oladi. Integratsiyalashgan ma’lumotlar banklari va entsiklopediyalar muayyan gen haqidagi barcha ma’lum

ma'lumotlarni birlashtirib, muhim vazifani bajaradi. Boshqa banklardagi ma'lumotlarni ko'p sonli ma'lumotlar bilan umumlashtiradilar va doimiy uni yangilab turishadi. Bioinformatika o'z oldiga qanday tadqiqot maqsadlarini qo'yishini ko'rib chiqaylik. Genomlarni tahlil qilish, ulardagi genlarni qidirish, yangi o'qilgan genom turli takrorlanadigan kombinatsiyalar aniqlash kiradi. Genomdan genni ajratib olishning bu operatsiyasi genom markup deb ataladi.

Gen funksiyasini bashorat qilish. Barcha genlarning funksiyalarini eksperimental ravishda aniqlash juda ko'p vaqt talab qiladi. Bu holda, bioinformatika ularni asoslangan xolda bashorat qilishda yordam beradi va vazifalari allaqachon aniqlangan genlar bilan taqqoslash imkonini beradi. Biron xil ketma-ketlikning alohida olingan bo'limlarining rolini baholash maqsadida masalan oqsil molekulasi biologik vazifalariga ma'sul bo'lgan joylar mavjud bo'ladi. Ushbu bo'limlarni quyidagi usullar yordamida aniqlashdan oldin bioinformatika ma'lum bir oqsilning barcha funksiyalarini bashorat qiladi. Oqsillarning ketma-ketliklarining molekulyar modellarini qurish asosida, Protein tuzilmalari eksperimental tarzda aniqlanadi, masalan, oqsil molekulalaridan iborat mikroskopik kristalni rentgen nurlari bilan nurlantirish orqali. Bu uzoq va qimmat jarayon. Ba'zi oqsillarni kristall strukturaga ega bo'lmaganligi uchun umuman bunday tahlil qilib bo'lmaydi. Kompyuter modellashtirish yordamida bioinformatika oqsilning fazoviy modelini tuzishga yordam beradi. Makromodellarning faoliyat mexanizmi tadqiqoti o'tkazilgandan so'ng, ularning modellari asosida olingan molekulaning fazoviy tuzilishini asosida bioinformatika usullaridan foydalanib, uning qanday ishlashini taxmin qilish mumkin ish.

Kompyuter dasturlariga asoslangan dori dizaynlarini yaratish. Dorilar turli kimyoviy birikmalarning fazodagi maqsadli oqsil bilan o'zaro ta'sirini simulyatsiya qilish yo'li bilan loyihalanishi mumkin. SHu bilan birga bunday ta'sirlarning optimal bo'lgan shaklini tanlash kerak. Axborotlarni tahlil qilish biologiya, kimyo, fizika, matematika va informatika fanlari uyg'unligi biologik tizimni ko'p jihatdan

tavsiflashga imkon beradi. Foydalanish kompyuter resurslari tahlil jarayonini tezlashtirishga yordam beradi vanatijalarni olish aniqligi va tezligini oshiradi.

Informatika yutuqlaridan foydalanish. Bioinformatika texnologiyalari yordamida biologiyada yangi kashfiyotlar tibbiyot, farmakologiya, kosmetologiya, biotexnologiya, qishloq xo'jaligi, ekologiya va boshqa sohalarda keng qo'llanilmoqda. Bioinformatika mustaqil ravishda amaliy qiymatga ega bo'lgan natijalarni beradi va turli sohalarda ishlash uchun sharoit yaratadi.

Bioinformatikaning asosiy metodlari. Bioinformatikaga oid ishlarning aksariyati biologik axborotni saqlash va keyin uni qayta ishlash uchun ma'lumotlar bazalaridan foydalanish texnologiyasiga qaratilgan. Bu ma'lumotlar bazalari davlatniki va xususiy bo'lishi mumkin. Bunday ma'lumotlar bazalariga ochiq standartlar orqali ommaviy kirishni ta'minlash juda muhimdir. Biologik axborotni qayta ishlash uchun ontologiyalar va mantiqiy usullardan foydalanish rivojlanib bormoqda.

Aniq dasturiy paketlarga misollar. Bioinformatika usullari tizimlar biologiyasida muhim rol o'ynaydi. Ular kompyuterlar yordamida keng imkonlar yaratadi.

- tajriba ma'lumotlarini ma'lumotlar banklariga to'plash va integratsiya qilish;
- kompyuter tahlilini amalga oshirish uchun;
- turmush tizimlarini strukturaviy va funktsional tashkil etishni matematik modellashtirishni o'tkazish;
- tirik tizimlarning yangi xususiyatlarini bashorat qilish;
- shu asosda eksperimental tadqiqotlarning yangi bosqichlarini rejalashtirish.

Qo'yida bugungi kunda keng tarqalgan asosiy ma'lumotlar bazalari va ma'lumotlar banklari keltirilgan:

- GenBank - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>
- Nukleotid ketma-ketliklarining ma'lumotlar banki (3400000000juft asoslari 461000 ketma-ketliklarda).
- SWISS-PROT - <http://www.expasy.ch/sprot/sprot-top.html>

- Oqsillarning ketma-ketligi asosida annotatsiyalangan ma'lumotlar banki.
- PIR - <http://www.nbrf.georgetown.edu/pir/searchdb.html>
- gomologiya va taksonomiyaga ko'ra, oqsillarning ketma-ketligiga ko'ra annotatsiyalangan bank ma'lumotlari.
- PDB - <http://www.rcsb.org/pdb/>
- 3D strukturaga ko'ra, biologik makromolekulalarning ma'lumotlar banki. Bank dambix po strukture biologicheskix makromolekul.
- NDB - <http://ndbserver.rutgers.edu>
- Nuklein kislotalar bo'yicha bank ma'lumotlari. DNK va RNK ning uchlamchi fazoviy tasvirlari kiritilgan.
- ProDom - <http://protein.toulouse.inra.fr/prodom.html>
- Oqsillar domeniga ko'ra ma'lumotlar banki.
- ACT - (Artemis Comparison Tool) - genom tahlili;
- Arlequin - populyatsion-genetik ma'lumotlar tahlili.
- Bio Edit - aminokislota va nuklein kislotalar ketma-ketligini taxrirlanishi redaktori;
- Bio Numerics - bioinformatika bo'yicha tijorat universal paketlar dasturi;
- BLAST - aminokislota va nuklein kislotalar ketma-ketligining bazalarida bir-biriga yaqin ketma-ketliklarni izlash dasturi;
- ClustaIW - keng ravishdagi aminokislota va nuklein kislotalar ketma-ketligini taxrirlash
- FASTA - aminokislota va nuklein kislotalar ketma-ketligining uxshash algortmlari to'plami
- Mesquite - Java tilidagi qiyosiy biologiya uchun dastur
- Muscle - ClustalIW ga nisbatan tez va aniq dastur. Aminokislota va nuklein kislotalar ketma-ketligining solishtirish dasturi.
- PopGene - populyatsiyalarning genetik xilma xilligini tahlili dasturi. Populations - populyatsion-genetik tahlil.

Keng qo'llaniladigan saytlar:

1. <http://www.bioinformatics.ru>
2. <http://www.rusbiotech.ru>
3. <http://elementy.ru/lib/430895>
4. <http://www.sibai.ru>
5. <http://lake.baikal.ru>
6. <http://www.jcbi.ru>
7. http://www.rtcbl.iitp.ru/index_r.html
8. <http://medi.ru/pbmc/8800101.htm>

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Bioinformatika sohasida birinchi biologik ma'lumotlar dasturi qachon va kim tomonidan yaratilgan?*
2. *Bioinformatika biologiya sohasining qaysi yo'nalishlarida qo'llaniladi?*
3. *Bioinformatikaning qanday bo'limlari mavjud?*
4. *4.Genomika kontekstida annotasiya nimani anglatadi?*
5. *5.Zamonaviy biologik tadqiqotlarda bioinformatikaning tutgan o'rniga ta'rif bering?*
6. *Gen funksiyasini bashorat qilish nimaga asoslanadi?*

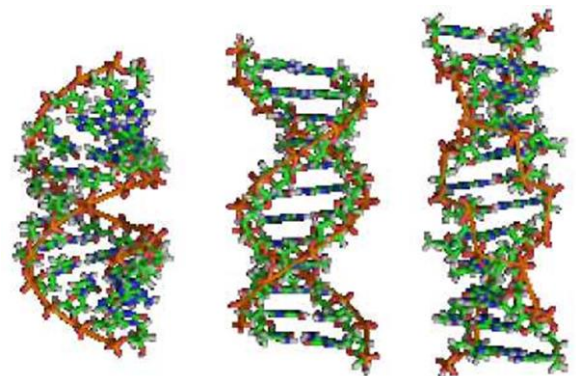
II. BOB. DNK, RNK VA OQSIL

Dezoksiribonuklein kislota (DNK) - bu tirik organizmlarning rivojlanishi va faoliyati uchun genetik dasturni saqlash, avloddan avlodga yetkazish va amalga oshirishni ta'minlaydigan makromolekuladir. DNK molekulasi biologik ma'lumotlarni nukleotidlar ketma-ketligidan iborat genetik kod shaklida saqlaydi. DNKda har xil turdagi RNK va oqsillarning tuzilishi haqida ma'lumotlar mavjud. Eukariot hujayralarda - hayvonlar, o'simliklar va zamburug'larda DNK xromosomalarning bir qismi sifatida hujayra yadrosida, shuningdek ba'zi hujayra organoidlarida - mitoxondriya va plastidlarda joylashgan. Prokariot organizmlar - bakteriyalar va arxeylar hujayralarida aylana yoki chiziqli DNK molekulasi, ya'ni nukleoid deb ataladigan hujayra membranasiga biriktirilgan. Quyi taraqqiy etgan eukariotlar masalan, achitqi zamburug'ida plazmidlar deb nomlangan kichik, avtonom, asosan aylana shaklidagi DNK molekulalari mavjud. Bundan tashqari, bitta yoki ikki zanjirli DNK molekulalari DNK - tutuvchi viruslarda viruslar genomini hosil qilishi mumkin.

Kimyoviy nuqtai nazardan, DNK bu takrorlanadigan bloklar - nukleotidlardan tashkil topgan uzun polimer molekuladir. Har bir nukleotid azotli asos, shakar - dezoksiriboza va fosfat kislota guruhidan iborat. Zanjirdagi nukleotidlar orasidagi bog'lanishlar dezoksiriboza va fosfat kislota guruhi fosfodiefir bog'lari orqali hosil bo'ladi.

Aksariyat hollarda bir qatorli DNKni o'z ichiga olgan ba'zi viruslar bundan mustasno. DNK makromolekulasidagi azotli asoslar bir-biriga komplementar ikkita zanjir asosida tashkil topgan. Ushbu ikki zanjirli molekula spiral chiziqqa o'ralgan.

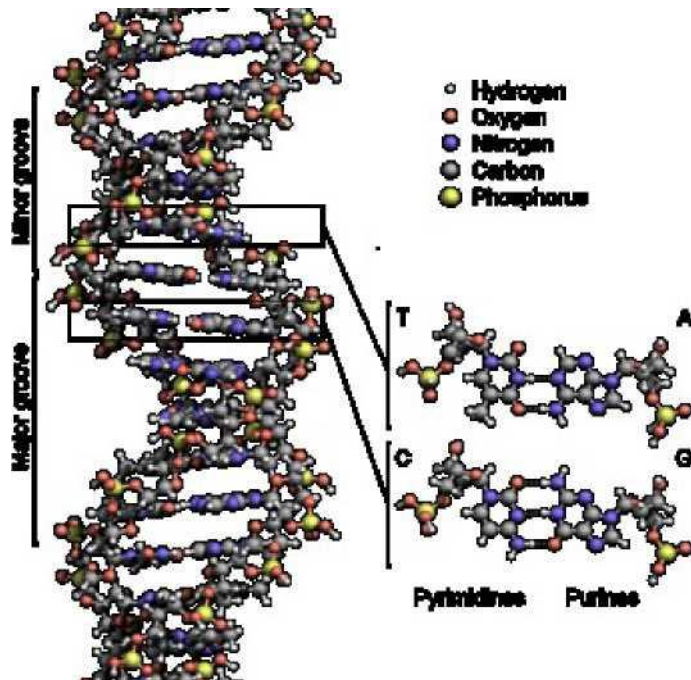
Umuman olganda, DNK molekulasining tuzilishi an'anaviy "qo'sh spiral" shaklida



4-rasm. Ionlarning kontsentratsiyasi va molekulaning nukleotid tarkibiga qarab, tirik organizmlarda DNKning ikki karra spirali turli shakllarda mavjud. Rasmda A, B va Z shakllari ko'rsatilgan (chapdan o'ngga)

tan olingan, lekin, ushbu ko'rinish noto'g'ri nomlangan bo'lib, aslida "ikkita vint" shaklidagi nomlanish to'g'ri hisoblanadi. Spiral o'ng tarafga og'gan bo'lsa, DNKning A- va B shakllari, chap tarafga og'gan bo'lsa, DNKning Z-shakli deb ataladi (4-rasm).

DNKda azotli asoslarning to'rt xili mavjud -adenin (A), guanin (G), timin (T) va sitozin (S). Zanjirlardan birining azotli asoslari boshqa zanjirning azotli asoslari bilan komplementarlik prinsipiga binoan vodorod bog'lari bilan bog'lanadi: adenin (A) faqat timin (T) bilan, guanin (G) – faqat sitozin (S) bilan bog'lanadi (5-rasm). Nukleotidlarning ketma-ketligi har xil turdagi RNK haqida ma'lumotni "kodlash" imkonini beradi, ularning eng muhimi axborot yoki matrisali- mRNK, ribosomal – rRNK va transport -tRNK hisoblanadi. Ushbu barcha RNK turlari DNK matrisasida transkripsiya jarayonida sintez qilingan RNK ketma-ketligiga nusxa ko'chirish yo'li bilan sintez qilinadi va oqsillarning biosintezida translyasiya jarayonida ishtirok etadi. Kodlash ketma-ketliklaridan tashqari, hujayra DNKsida boshqaruvchi va strukturaviy funktsiyalarni bajaradigan ketma-ketliklar mavjud.



5-rasm. DNK tuzilishi (juft spiral). Tuzilishdagi turli xil atomlar turli xil ranglarda ko'rsatilgan; ikkita asosiy juftlikning batafsil tuzilishi quyida ko'rsatilgan

Bundan tashqari, eukariotlarning genomida ko'pincha "genetik parazitlar" ga tegishli mintaqalar, masalan, transpozonlar mavjud bo'ladi.

DNK tuzilishini aniqlash 1953 yilda, biologiya tarixidagi burilish nuqtalaridan biri bo'ldi. Francis Krik, Jeyms Uotson, va Maurice Wilkins DNK struktursini aniqlashda qo'shgan buyuk hissi uchun 1962 yilda fiziologiya va tibbiyot soxasi bo'yicha Nobel mukofoti bilan taqdirlandi. Ushbu

mukofotga hissa qo'shgan Rozalinda Franklin rentgenografiya usulida DNK tuzilishi to'g'risida ma'lumotlar olgan, ushbu strukturani esa Uotson va Krik ochib bergan.

Birinchi marta DNK moddasini Johann Friedrich Misher 1869 yilda yiringli massadagi hujayra qoldig'idan azot va fosfordan tashkil topgan moddani ajratib olgan. Avvaliga, yangi modda Misher tomonidan nuklein deb atalgan, keyinchalik kislotalik xususiyatlari aniqlangandan so'ng, nuklein kislota deb atala boshlaydi. Yangi kashf etilgan moddaning biologik funktsiyasi noma'lum bo'lib, uzoq vaqt davomida DNK organizmda fosfor zahirasi hisoblangan. Bundan tashqari, hatto 20-asrning boshlarida ham ko'plab biologlar DNKning irsiy ma'lumot uzatilishida hech qanday aloqasi yo'q deb hisoblashadi, chunki molekula tuzilishi, ularning fikriga ko'ra, juda monoton-bir xil bo'lib, kodlangan ma'lumotni o'z ichiga olmaydi.

1930 yillarga qadar DNK faqat hayvon hujayralarida, o'simlik hujayralarida esa RNK mavjud deb hisoblangan. 1934 yilda "Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur physiologische Chemie" nashrida va 1935 yilda Moskva davlat universiteti olimlari qo'lyozmalarida biokimyogarlari A.N. Belozersky va A.R. Kizel tomonidan chop etilgan maqolalarida o'simlik hujayralarida DNK mavjudligi isbotlangan. 1936 yilda Belozerskiy guruhi dukkakli, donli va boshqa o'simliklarning urug'lari va to'qimalaridan DNKni ajratib olishgan. 1939 - 1947 yillarda xuddi shu olimlar guruhining tadqiqotlari natijasida har xil turdagi bakteriyalar tarkibidagi nuklein kislotalarining mavjudligining isbotlanganligi dunyo ilmiy adabiyotlaridagi birinchi ma'lumot bo'ldi.

Asta-sekin, genetik ma'lumot tashuvchisi, ilgari mavjud bo'lgan fikrlar singari, oqsillar emas, balkim DNK ekanligi isbotlandi. Dastlabki hal qiluvchi dalillardan biri Osvold Every, Kolin Maklaud va Maklin Makkartining 1944 yilda bakteriyalarni transformasiyasi bo'yicha olib borgan tajribalaridan kelib chiqqan. Ular pnevmokokklardan ajratilgan DNKni transformatsiya qilishi natijasida, yani zararsiz kulturalarning kasallik qo'zg'atadigan bakteriyalar xususiyatlariga ega

bo'lishini isbotlashga muvaffaq bo'lishdi. Amerikalik olimlar Alfred Xershi va Marta Chayzning tajribasi 1952 yilda radioaktiv izotoplar uslubi yordamida bakteriofag DNKlari bilan yuqtirilgan hujayraga faqat fag nuklein kislota o'tkazishini ko'rsatdi va yangi avlod fagida boshlang'ich fag bilan bir xil oqsillar va nuklein kislota mavjud irsiylanishini isbotlashgan.

XX asrning 50-yillariga qadar DNKning aniq tuzilishi, shuningdek irsiy ma'lumotni irsiylanishi uslublari aniq emas edi. DNK bir nechta nukleotidlardan iborat ekanligi aniq ma'lum bo'lgan bo'lsa-da, hech kim bu zanjirlarning miqdori va qanday bog'langanligini aniq bilmagan.

1949-1951 yillarda biokimyogar Ervin Chargaff guruhi olib borgan faoliyati natijasida Chargaff qoidalari shakllantirildi. Chargaff va uning hamkasblari DNK nukleotidlarini qog'oz xromatografiya yordamida ajratishga va har xil turdagi nukleotidlarning aniq miqdoriy nisbatlarini aniqlashga muvaffaq bo'lishdi. Adenin (A), timin (T), guanin (G) va sitozin (S) uchun topilgan nisbat quyidagicha bo'lgan: adenin miqdori timin miqdoriga, guanin esa sitozin miqdoriga teng: $A = T$, $G = C$. Ushbu qoidalar rentgenstruktur tahlillar asosida DNK tuzilishini aniqlashda hal qiluvchi rol o'ynadi.

DNK juft spiralining tuzilishi Frensis Krik va Jeyms Uotson tomonidan 1953 yilda Mauris Uilkins va Rozalind Franklin tomonidan olingan rentgen ma'lumotlari va Chargaff qoidalari asosida taklif qilingan.



[Frensis Krik](#)



[Jeyms Uotson](#)



[Moris Uilkins](#)



[Rosalind Franklin](#)

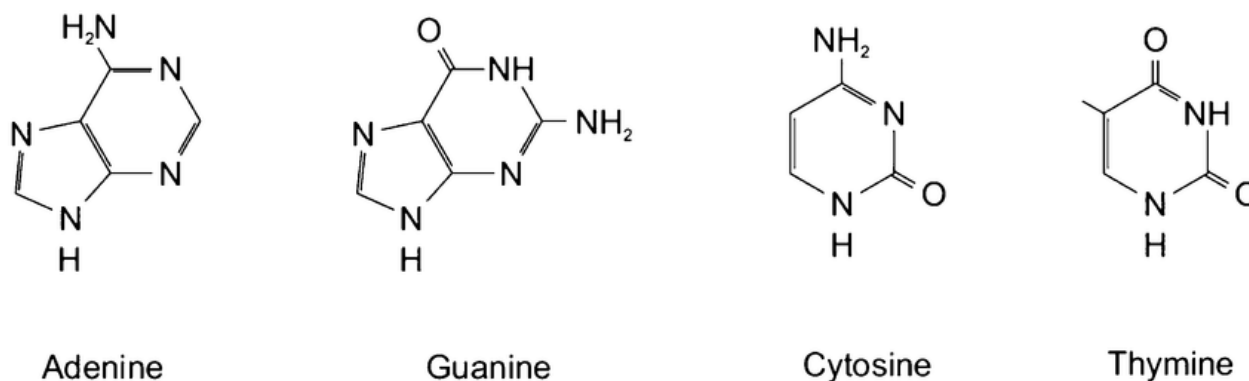
1957 yilda amerikaliklar Aleksandr Rich, Gari Felsenfeld va Devid Devis uchta ipdan tashkil topgan nuklein kislotani tasvirlashdi. 1985-1986 yillarda Moskvada Maksim Davidovich Frank-Kamenetskiy ikkita emas, balki uchta DNK

zanjiridan tashkil topgan H-shaklini isbotlashgan va qanday hosil bo'lishini ko'rsatishdi.

DNK tarkibining asosiy tuzilmalari

Deoksiribonuklein kislotasi (DNK) - bu monomerlar sifatida nukleotidlardan tashkil topgan, biopolimer- polianion hisoblanadi. Har bir nukleotid 5'-holatida shakar deoksiribozasiga biriktirilgan fosfor kislota qoldig'idan iborat bo'lib, unga to'rtta azotli asoslardan biri 1'-holatida glikozid bog'lari (C - N) orqali bog'lanadi. DNK va RNK o'rtasidagi asosiy farqlardan birini tashkil etuvchi xarakterli shakarning mavjudligi, bu nuklein kislotalarning nomlarida qayd etilgan RNK tarkibida riboza shakari bilan tavsiflanadi.

Molekulalarning tuzilishi asosida nukleotidlarni tashkil etuvchi asoslar ikki guruhga bo'linadi: purinlar - adenin (A) va guanin (G) bir-biriga bog'langan besh va olti a'zoli geterosikllar orqali hosil bo'ladi va pirimidinlar - sitozin (S) va timin (T) olti a'zodan iborat geterosikl orqali hosil bo'ladi (6-rasm).



6-rasm. DNK molekulasida tarkibidagi asosiy azotli asoslari.

Shuni ta'kidlash kerakki, timin (T) va uratsil (U) ilgari mavjud bo'lgan fikrlarga ko'ra, mos ravishda DNK va RNK da mavjud bo'lishi chegaralanmagan, ba'zi RNK molekulalarining sintezidan so'ng, ushbu molekulalardagi uratsillarning katta qismi maxsus fermentlar yordamida timinga aylanib metillanadi. Bunday jarayonlar transport va ribosomal RNKlarda uchraydi.

DNK polimeri juda murakkab tuzilishga ega. Nukleotidlar uzun polinukleotid zanjirlarida kovalent ravishda bog'langan. Bu zanjirlar aksariyat hollarda ayrim bir zanjirli DNK-genomiga ega bo'lgan viruslardan tashqari, o'zaro

vodorod bog'lari bilan bog'langan bo'ladi va ikkilamchi strukturalarni hosil qilib, ikkilamchi spiral nomini oladi. Har bir zanjir asosi ketma-ket keladigan fosfatlar va shakardan tashkil topgan. Bir zanjir ichki qismidagi qo'shni nukleotidlar fosfodiefir bog'lar bilan bog'langan, ular o'z navbatida bir nukleotidning dezoksiriboza molekulasining (3'—OH) 3'-gidroksil guruhi va boshqanukleotidning (5'—PO₃) 5'- fosfat guruhi o'rtasida vujudga keladi. DNKning assimetrik zanjirlar uchi 3' - va 5' deb ataladi. DNK sintezida zanjir qutblanishi muhim ahamiyatga egadir, zanjir uzayishi faqatgina yangi nukleotidlarning erkin 3'-uchiga qo'shilishi natijasida yuz beradi.

Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, tirik organizmlarning aksariyat qismida DNK bir emas, balki ikkita polinukleotid zanjiridan iborat. Ushbu ikkita uzun zanjir bir-biriga qarama-qarshi bo'lib, uning tarkibidagi zanjirlarning azotli asoslari o'rtasida hosil bo'lgan vodorod bog'lanishlari bilan barqarorlashgan bir-biriga nisbatan spiral shaklida o'ralgan. Tabiatda bu spiral ko'pincha o'ng tomonga og'gan bo'ladi. DNK molekulasini tashkil etuvchi ikkita ipning 3'-uchidan 5'-uchiga yo'nalishlari qarama-qarshi joylashgan bo'lib, iplar bir-biriga "antiparallel" joylashgan.

Ikki karra spiralning kengligi 22 dan 24 A ga tengdir, yoki 2,2-2,4 nm bo'ladi, har bir nukleotid uzunligi 3,3 A yoki 0,33 nm g teng. Shu bilan birga, spiralda kichkina 12 A li va katta 22 A li qatorlarni farqlash mumkin. Oqsillar, masalan transkripsiya omillari, ikki zanjirli DNK ning ma'lum ketma-ketliklariga bog'lanadi, asosan katta qatorlarda asoslar uchlari bilan o'zaro ta'sirlashadi.

Asoslar orasidagi bog'lar shakllanishi

DNK zanjiridagi iplarning biridagi har bir tayanch asos ikkinchi ipning bitta aniq asosiga bog'lanadi. Ushbu bunday o'ziga xos majburiy bog'lanish komplementarlik deb ataladi. Purinlar pirimidinlar bilan bir - birini to'ldiradi ya'ni ular bilan vodorod bog'larini hosil qila oladi: adenin faqat timin bilan, sitozin esa guanin bilan bog'lanishni hosil qiladi. Ikki karra spiralning bir-birini to'ldirishi shuni anglatadiki, bir qatorda joylashgan ma'lumotlar ikkinchi qatorda ham

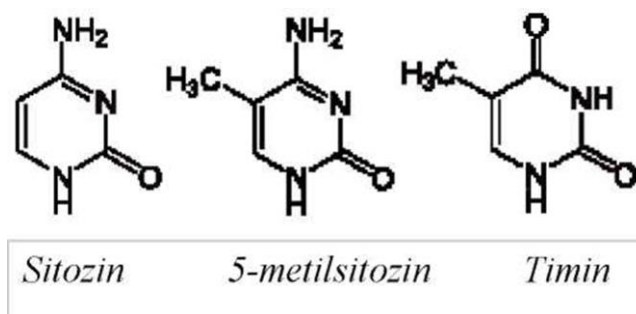
mavjud. Bir-birini to'ldiruvchi asos juftlari o'rtasidagi o'zaro ta'sirlarning qaytaruvchanligi va o'ziga xosligi DNKning replikatsiyasi va tirik organizmlardagi boshqa DNK funktsiyalari uchun muhimdir.

Vodorod bog'lari kovalent bo'lmaganligi sababli, ular osonlikcha buziladi va tiklanadi. Ikki karra spiralning zanjirlari fermentlar- helikaza ta'sirida yoki yuqori harorat ta'sirida ajralib ketishi mumkin. Turli xil asosli juftliklar har xil miqdordagi vodorod bog'lanishlarini hosil qiladi. A-T ikkita, G-C esa uchta vodorod bog'i bilan bog'lanadi, shuning uchun G-C ni uzish uchun ko'proq energiya talab qilinadi. G-C juftlarining ulushi va DNK molekulasi uzunligi zanjirning dissotsiyanishi uchun zarur bo'lgan energiya miqdorini aniqlaydi: tarkibida G-C miqdori yuqori bo'lgan uzun DNK molekulalari ko'proq chidamli bo'ladi. DNK molekulalarining ushbu funktsiyalari tufayli osonlik bilan ajralishi kerak bo'lgan qismlar, masalan, bakterial promotorlarda TATA ketma-ketligi, odatda ko'p miqdordagi A va T ni o'z ichiga oladi.

Azotli asoslarning kimyoviy modifikatsiyalari

DNK tarkibidagi azotli asoslar kovalent ravishda o'zgartirilishi mumkin, bu gen ekspressiyasini boshqarishda qo'llaniladi. Masalan, umurtqali hayvonlar hujayralarida sitozin metillanishi natijasida 5-metiltsitozin hosil bo'lishi somatik hujayralar tomonidan gen ekspressiyasini qiz hujayralariga yetkazish uchun ishlatiladi. Sitozin metillanishi DNK juft spiralidagi asoslarning juftlanishiga ta'sir qilmaydi. Umurtqali hayvonlarda somatik hujayralaridagi DNK metillanishi CG ketma-ketligidagi sitozin metillanishi bilan cheklanadi. O'rtacha metillanish darajasi turli xil organizmlarda farq qiladi, masalan, *Caenorhabditis elegans* nematodasida sitozin metillanishi kuzatilmaydi va yuqori metillanish darajasi umurtqali hayvonlarda uchraydi- 1% gacha. Asoslar boshqa modifikatsiyalari bakteriyalarda adenin metillanishi jarayoni va kinetoplastlarda "J-asoslaming" glikozillirlanishi uchraydi.

Genning promotor qismida 5-metilsitozin hosil bo'lishi bilan sitozinni metillashtirish uning faol bo'lmagan holati bilan o'zaro bog'liq. Sitozin metillanishi sut emizuvchilarda X- xromosomaning inaktivasiyasi uchun muximdir. DNK metillanishi genom imprintingida ishlatiladi.



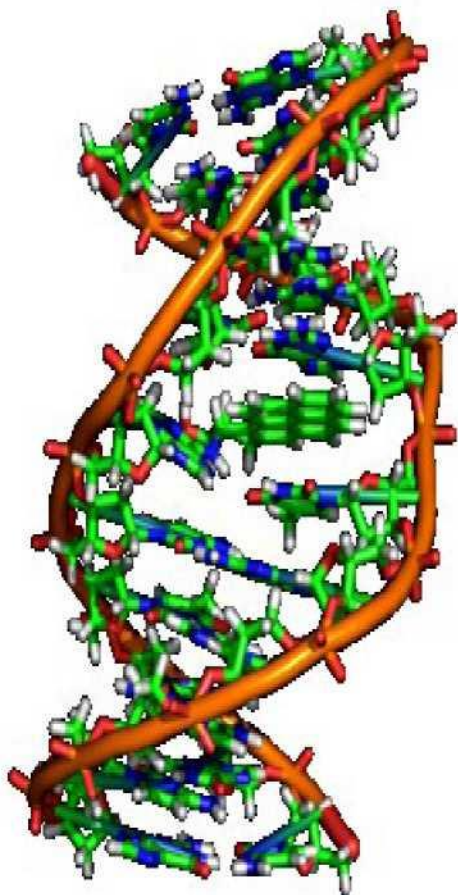
7-rasm. Sitozin, 5-metilsitozin va timinning tuzilishi. Timin 5-metilsitozinni dezaminirlanishi natijasida paydo bo'lishi mumkin

Kanserogenez jarayonida DNK metillanish profili buziladi. Biologik roliga qaramasdan, 5-metilsitozin spontan ravishda amin guruhini yo'qotish va timinga aylanish xususiyatiga ega, shuning uchun metillangan sitozinlar yuqori sondagi mutatsiyalar hosil bo'lishi manbai hisoblanadi (7-rasm).

DNKning shikastlanishi

DNKga turli xil mutagenlar zarar yetkazishi mumkin, ular tarkibiga oksidlovchi va alkillovchi moddalar, shuningdek yuqori energiyali elektromagnit nurlanish - ultrabinafsha va rentgen nurlari kiradi. DNK zararlanish turi mutagen turiga bog'liq. Masalan, ultrabinafsha nurlari DNKga zarar yetkazadi, ular tarkibidagi timin dimerlarini hosil qiladi, ular qo'shni asoslar o'rtasida kovalent bog'lanish hosil bo'lishidan paydo bo'ladi.

Erkin radikallar yoki vodorod peroksid kabi oksidlovchilar DNKning bir necha turdagi zararlanishiga olib keladi, shu jumladan asoslarda modifikatsiyalar, xususan, guanozin va ikki zanjirli DNK sinishiga sababchi bo'lishi mumkin. Ba'zi hisob-kitoblarga ko'ra, har bir inson hujayrasi kuniga 500 ga yaqin asos oksidlovchi birikmalar tomonidan zarar ko'radi (8-rasm). Zararlarning har xil turlari orasida eng xavfli qo'sh zanjirda hosil bo'ladigan uzilishlardir, chunki ularni tiklash qiyin va xromosoma mintaqalarining yo'qolishiga - o'chirilishiga va translokatsiyaga olib kelishi mumkin.



8-rasm. Spiralning o'rtasida joylashgan interkallatsiyalangan kimyoviy birikma benzopiren, tamaki tutunidagi asosiy mutagen

Ko'p mutagen molekularar ikkita qo'shni zanjir jufti orasiga kiritiladi, yani interkallash ro'y beradi. Bunday birikmalarning ko'pchiligi: masalan, etidiy bromid, daunorubicin, doksorubicin, talidomid aromatik tuzilmaga egadir. Interkallovchi birikma asoslar o'rtasiga kirishi uchun qo'sh spiral bir-biridan uzoqlashishi, ochilishi va struktura buzilishi kerak bo'ladi. Qosh spiralda vujudga kelgan bunday o'zgarishlar transkripsiya va replikasiya jarayonining o'tishiga xalaqit beradi, mutatsiyalar hosil qiladi. Shuning uchun interkallaydigan birikmalar ko'pincha kanserogen hisoblanadi, ular orasida – benzopiren, akridin, aflotoksin, etidiy bromid eng xavflisi hisoblanadi. Lekin bu xususiyatlariga qaramasdan, interkallaydigan birikmalar, onkologik kasalliklarni davolashda o'sma hujayralarining

o'sish jarayonini to'xtatishda qo'llaniladi. Ayrim moddalar –cisplatin, mitomicin, psoralen DNK zanjirlari o'rtasida ko'ndalang tikishlar hosil qila oladi va DNK sintezini bostirish xususiyatiga ega, shuning uchun o'sma kasalliklarining ayrim turlarini davolashda qo'llaniladi.

Superspirallashish. Superspirallashish asosida DNK zanjirining uchlarining yo'nalishlarida burilishi uning qisqarishi, “super spirallar” hosil bo'lishi tushuniladi. Oddiy holatlarda DNK zanjiri har 10, 4 juft asosi uchun bitta burilishni amalga oshiradi, ammo o'ta o'ralgan holatda ham bo'lishi mumkin. Superburilishning ikki turi mavjud: ijobiy - asoslar bir-biriga yaqinroq joylashgan normal burilish yo'nalishi bo'yicha va qarama-qarshi yo'nalishda buralgan ham bo'lishi

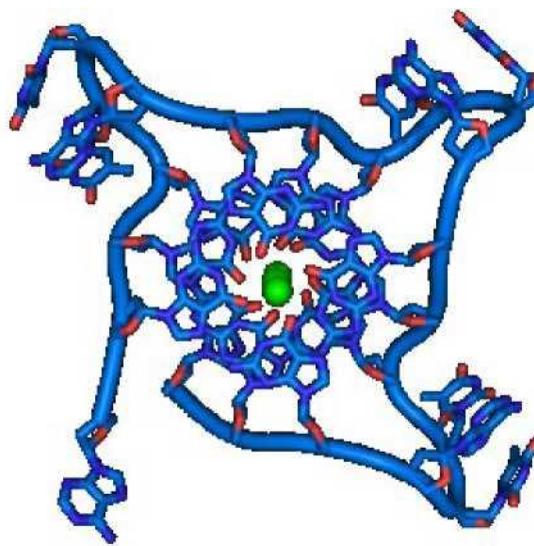
mumkin-salbiy superburalish deb ataladi. Tabiatda DNK molekulalari odatda salbiy superburalishi uchraydi, bu jarayonlar asosan fermentlar- topoizomerazalar tomonidan amalga oshiriladi. Bu fermentlar DNKda transkripsiya va replikatsiya jarayonida hosil bo'lgan qo'shimcha supersprallrni olib tashlaydi.

Xromosomalarning uchlaridagi strukturalar. Chiziqli xromosomalarning uchida DNKning telomerallari deb nomlangan ixtisoslashgan tuzilmalari joylashgan. Ushbu mintaqalarning asosiy vazifasi xromosomalarning uchlarini yaxlitligini saqlashdir. Telomerlar, shuningdek DNK uchlarini endonukleazalar degradasiyasidan saqlaydi va reparasiya tizimining faolligini olib oladi. DNK-polimeraza fermentlari xromosomalarning 3'-uchini replikatsiyasini amalga oshira olmagan uchun, bu jarayonni maxsus ferment-telomeraza amalga oshiradi (10-rasm). Inson hujayralarida telomerlar ko'pincha bitta zanjirli DNK bilan ifodalanadi va TTAGGG ketma-ketligining bir necha ming takrorlanishlaridan tashkil topgan. Bu ketma-ketliklarda yuqori miqdorda guanin asoslari uchraydi, ular xromosoma uchlarini stabilashtiradi, va g'ayrioddiy strukturalar – G-kvadruplekslar hosil qiladi, ular o'zaro ta'sirda bo'lgan ikkita emas, balki to'rtta asoslardan tashkil topgan bo'ladi. To'rtta guanin asoslarining atomlari, bitta tekislikda joylashadi, asoslar o'rtasidagi stabilashtirilgan vodorod bog'lari yordamida markazda metal ionlari ko'pgina hollarda kaliy bilan xelatlangan plastinka hosil qiladi. Ushbu plastinkalar bir-birining ustiga joylashtirilgan bo'ladi. Xromosomalarning uchida boshqa tuzilmalar ham paydo bo'lishi mumkin: asoslar bir zanjirda yoki turli parallel zanjirlarda joylashgan bo'lishi mumkin. Bunday strukturalardan tashqari telomerlar, T-halqalar yoki telomer halqalar deb ataladigan halqasimon tugunli strukturalar hosil qilish xususiyatiga egadir. Bularda bir zanjirli DNK stabilashtirilgan telomer oqsillari yordamida keng halqa shaklida joylashadi. T- tugun oxirgi uchida bir zanjirli telomer DNK ikki zanjirli DNK ga qo'shiladi, va ushbu molekulada zanjirlar qo'shilishini buzadi, va bog'lar faqat bir zanjir bilan bog'langan holda

qoladi. Bunday uch zanjirli tuzilma D-tugun den ataladi, ingliz tilidan displacement loop ma'nosini anglatadi.

DNK-biologik funktsiyasi. DNK genetik ma'lumot tashuvchisi bo'lib, nukleotidlar ketma-ketligi genetik kod yordamida qayd etilgan. Tirik organizmlarning ikkita asosiy xususiyati DNK molekulalari bilan bog'liq- irsiyat va o'zgaruvchanlik. DNK replikatsiyasi jarayonida hujayralar bo'linishi paytida qiz hujayralar tomonidan nasldan-naslga o'tganda DNK zanjirning ikki nusxasi hosil bo'ladi, natijada hosil bo'lgan qiz hujayralarda irsiy ma'lumot genetik jihatdan ota-ona irsiy ma'lumotiga o'xshash bo'ladi. Genetik ma'lumot gen ekspressiyasi, transkripsiya- DNK matritsasida RNK molekulalarining sintezi va translyatsiya- RNK matritsasida oqsillarning sintezi jarayonida amalga oshiriladi .

Nukleotidlar ketma-ketligi turli xil RNK turlari to'g'risidagi ma'lumotlarni kodlaydi: informatsion yoki axborot- mRNA, ribosomal-rRNK va transport- tRNK. Ushbu turdagi RNKlarning barchasi transkripsiya jarayonida DNKdan sintezlanadi. Ularning oqsil biosintezidagi roli turlicha, m-RNK oqsil tarkibidagi aminokislotalar ketma-ketligi haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga oladi, ribosomal RNK ribosomalar uchun asos bo'lib xizmat qiladi, murakkab nukleoproteinlar bo'lib, ularning vazifasi m-RNK asosida aloxida olingan aminokislotalardan oqsillarni shakllantiradi, t-RNK aminokislotalarni oqsil shakllanadigan manzilga- ribosomalar faol markaziga yetkazib berishda ishtirok etadi.



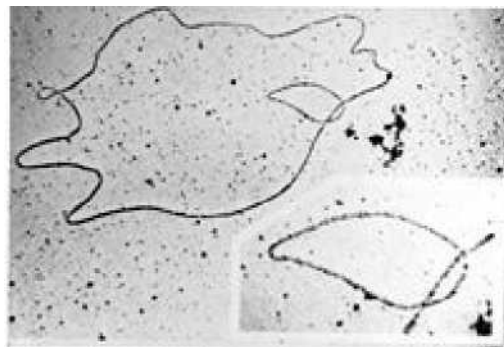
10-rasm Telomerlarning tuzilishi. Markazda xelatlangan metall ioni yashil rangda ko'rsatilgan.

Genom tuzilishi

Ko'pgina tabiiy DNKlar ikki zanjirli strukturalarga ega bo'lib, chiziqli tuzilishga egadir, eukariotlar, ayrim viruslar va bakteriyalarning alohida olingan avlodlari yoki halqasimon DNK turi prokariotlar, xloroplastlar va mitoxondriyalarda, chiziqli bir zanjirli DNK ayrim viruslar va bakteriofaglarda uchraydi. In vivo sharoitida DNK zich spirallashtgan bo'lib, kondensirlangan holatda bo'ladi. Eukariotlar hujayrasida DNK yadroda joylashgan va mitozning profaza, metafaza va anafaza bosqichida xromosoma to'plami shaklida yo'rug'lik mikroskopida kuzatish mumkin. Bakterial prokariot hujayralar bitta halqasimon DNK molekulasiga ega bo'lib, sitoplazmada noto'g'ri shaklda joylashgan va nukleoid deb ataladi (11-rasm). Genom irsiy ma'lumoti genlardan tashkil topgan. Gen-irsiy ma'lumotning irsiylanish birligi va DNK ma'lum qismi bo'lib, organizm ma'lum aniq belgisini xarakterlaydi. Gen ochiq transkripsiya jarayonida qatnashadigan faol qismiga ega, shuningdek boshqaruvchi ketma-ketliklarga ega bo'lib, ular promotor va enhanserlar deb ataladi, genning bu qismlari faol qismining ekspressiyasini boshqaradi.

Ko'pgina turlarda genom umumiy ketma-ketligining faqatgina kam qismi oqsil kodlash xususiyatiga egadir. Inson genomining 1,5% kodlanadigan ekzonlardan iborat, DNK ning 50% dan ko'p qismi kodlanmaydigan takrorlanadigan ketma-ketliklardan iborat. Bunday kodlanmaydigan DNK ning ko'p miqdordagi genlarning mavjudligi va genomlar hajmidagi farqlari hozirgi kunga fan sohasining yechilmagan muammolarini ko'rsatadi.

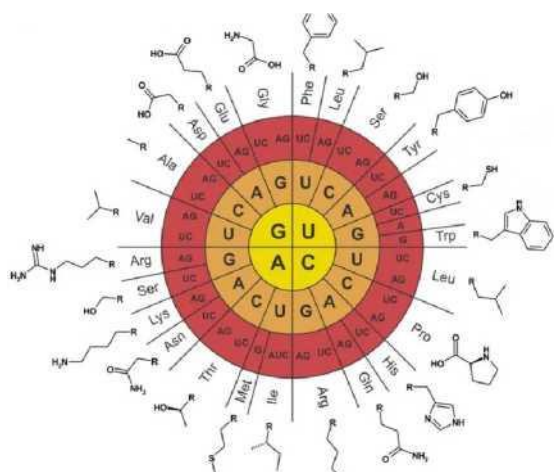
Oqsil kodlamaydigan genomlar ketma-ketligi. Hozirgi vaqtda "keraksiz DNK" ingliz tilidan "*junk DNA* " atamasi sifatida ishlatiladi, ya'ni kodlanmaydigan DNK ketma-ketliklar to'g'risidagi ma'lumotlar ko'paymoqda. Telomeralar va sentromeralarda oz sonli genlar mavjud, ammo ular xromosomalarning



11-rasm. Bakteriofag genomining DNKsi: transmissiya elektron mikroskopidagi fotosurat

funksiyasi va barqarorligi uchun muhimdir. Odamlarda ko'p uchraydigan kodlanmaydigan genlar- psevdogenlar bo'lib, bular genlar nusxasi hisoblanadi, mutatsiyalar natijasida faolsizlangan shaklda saqlanadi. Bunday ketma-ketliklar molekulyar biologlar tilida, molekulyar qazilma boyliklar deb ataladi va genlar duplikatsiyasi va keyingi divergensiyasi uchun boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi. Organizmdagi oqsillar xilma-xilligining boshqa manbaiga-intronlarning alternativ splicingi jarayonida kesish va yopishtirish jarayonida ishlatilishi hisoblanadi. Bundan tashqari oqsil kodlamaydigan ketma-ketliklar yordamchi hujayra RNK larni, masalan kichik -RNK larni kodlashda ishtirok etadi. Yaqinda inson genomi transkripsiya jarayoni ustida olib borilgan tajribalar ko'rsatishicha, genom 10% i poliadenillangan RNK hosil bo'lishida qatnashishi isbotlangan, uy sichqoni genomida olib borilgan tajribalar ko'rsatishicha, sichqon genomining 62% i transkripsiyalanish xususiyatiga egadir.

Transkripsiya va translatsiya. DNK dagi kodlangan irsiy ma'lumot, oxirgi bosqichda biopolimerlar sitezida o'qilishi zarur bo'lib, ular mahsuloti hujayra tuzilmasida ishtirok etadi. DNK zanjiridagi asoslar ketma-ketligi to'g'ridan-to'g'ri RNK ketma-ketligini belgilaydi va ular transkripsiya jarayonida ishtirok etadi. m-RNK tarkibadagi ma'lumot transkripsiya deb ataluvchi jarayonning aminokislotalar ketma-ketligida yoziladi. m-RNK dagi nukleotidlar ketma-ketligi va aminokislotalar ketma-ketligi o'rtasidagi nisbat translatsiya jarayonining genetik kod deb ataluvchi qonuniyatlari bilan belgilanadi. Genetik kod uchta xarflardan, sozlardan iborat bo'lib, kodon deb ataladi va uchta nukleotiddan tuzilgandir, masalan ACT, CAG, TTT va boshqalar. Genlar nukleotidlari transkripsiya jarayonida RNK-polimeraza fermenti ishtirokida RNK ga o'tkaziladi. Bu nusxa esa o'z navbatida m-RNK dan ribosomalarda qaytadan kodlanadi, m-RNK dan nukleotidlar qayta o'qi'ladi, m-RNK ning aminokislotalarga birikkan t-RNK bilan jiftlashishini amalga oshiradi. Uchta xarfli kombinasiyalarda to'rt xil asoslar ishtirokini e'tiborga olsak, 64 xil kodonlar 4^3 -kombinasiyalar mavjudligini hisoblab topish mumkin. Kodonlar 20 xil standart aminokislotalarni kodlash



	U (Urasil)	C (Sitozin)	A (Adenin)	G (Guanin)	
U	UUU Fenilalanin	UCU Serin	UAU Tirozin	UGU Sistein	U
	UUC	UCC	UAC	UGC	C
	UUA Lösin	UCA	UAA Stop kodon	UGA Stop kodon	A
	UUG	UCG	UAG	UGG Triptofan	G
C	CUU Lösin	CCU Prolin	CAU Histidin	CGU Arjinin	U
	CUC	CCC	CAC	CGC	C
	CUA	CCA	CAA Glutamin	CGA	A
	CUG	CCG	CAG	CGG	G
A	AUU Izokösin	ACU Treonin	AAU Asparajin	AGU Serin	U
	AUC	ACC	AAC	AGC	C
	AUA	ACA	AAA Lizin	AGA Arjinin	A
	AUG Start kodon	ACG	AAG	AGG	G
G	GUU Valin	GCU Alanin	GAU Aspartik asit	GGU Glisin	U
	GUC	GCC	GAC	GGC	C
	GUA	GCA	GAA Glutamik asit	GGA	A
	GUG	GCG	GAG	GGG	G

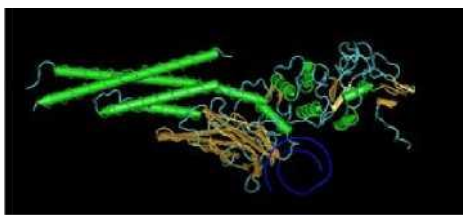
12-rasm. Kodonlarning xillari

xususiyatiga ega, ularning ko'pchiligiga bitta kodondan ko'p kodon to'g'ri keladi (12-rasm).

Uchta kodondan biri, m-RNK ning oxirida joylashgan bo'lib, aminokislota kodlamaydi va oqsil molekulasini translyasiyasining tugashini anglatadi, bularga "stop" yoki "nonsens" kodonlar deb ataladi- TAA, TGA, TAG kodonlar shular jumlasiga kiradi.

Replikatsiya. Bir hujayrali organizmlar ko'payishi va ko'p hujayrali organizmlar o'sishi uchun hujayra bo'linishi katta ahamiyatga egadir, lekin hujayra bo'linishidan oldin genom ikki hissa oshishi zarur bo'lib, qiz hujayralar bir xil ota-onaga irsiy ma'lumotiga ega bo'lishini ta'minlaydi. Nazariy jihatdan mavjud bo'lgan genom ikki xisssa oshishining replikasiya jarayonining yarimkonservativ turi DNK ko'payishida qo'llaniladi. DNK ikki zanjiri ajralib, keyinchalik yetishmaydigan komplementar ketma-ketliklar DNK-polimeraza fermenti asosida sintezlanadi. Bu ferment asoslarga to'g'ri keladigan nukleotid orqali komplementar juftlashib, unga o'sib kelayotgan zanjirga birlashtirish orqali polinukleotod zanjirini sintezlaydi. DNK-polimeraza yangi zanjirni sintezini mustaqil boshlay olmaydi, balkim mavjud zanjirni o'stirish xususiyatiga ega bo'lib, qisqa nukleotidlar zanjiri - praymerlar asosida praymaza fermenti ishtirokida sintezni boshlaydi.

DNK polimerazalar DNK zanjirini 5'-->3' faqatgina yo'nalishda sintezlash xususiyatiga ega bo'lgani uchun, antiparallel DNK zanjiri har-xil nusxada olib boriladi: birinchi zanjir to'xtovsiz, ikkinchisi esa vaqt oraliq'ida sintezlanadi.



13-rasm STAT3 transkripsiya omilining DNK bilan o'zaro ta'siri (ko'k spiral shaklida ko'rsatilgan)

Oqsillar bilan o'zaro ta'sir. DNKning barcha funktsiyalari uning oqsillar bilan o'zaro ta'siriga bog'liq. O'zaro ta'sirlar nospesifik bo'lishi mumkin, har qanday DNK molekulasiga oqsil qo'shilganda yoki ma'lum bir ketma-ketlikning mavjudligiga bog'liq (13-rasm). Shuningdek, fermentlar DNK bilan o'zaro ta'sirlashishi

mumkin, ulardan eng muhimi RNK-polimerazalar bo'lib, ular DNK asoslarining ketma-ketligini RNK molekulasini transkripsiya jarayonida, yoki yangi DNK zanjirini – replikatsiya jarayonida sintez qiladi.

Strukturaviy va boshqaruvchi oqsillar. DNK ning nukleotidlar ketma-ketligiga bog'liq bo'lmagan, oqsillarning DNK bilan o'zaro ta'siri, ularning struktur oqsillar bilan o'zaro ta'siri hisoblanadi. Hujayrada DNK ushbu oqsillar bilan bog'langan bo'ladi va kompakt strukturani hosil qiladi, bunga xromatin deb ataladi. Eukariotlarda xromatin DNKga katta bo'lmagan ishqoriy xususiyatga ega bo'lgan oqsill- gistonlarning bog'lanishi natijasida hosil bo'ladi, prokariotlarda esa xromatin biroz tartibsiz bo'lib, giston-o'xshash oqsillar bilan bog'langan. Gistonlar disksimon oqsil strukturalarni shakllantiradi ularga nukleosomalar deb ataladi, gistonlar xar biriga DNK ikki barobar spiral shaklida o'raladi. Gistonlar va DNK o'rtasidagi nospesifik bog'lar gistonlar tarkibidagi ishqorli xususiyatga ega bo'lgan aminokislotalarning va DNK shakar fosfat karkasining kislotali qoldiqlarining ion bog'lari hisobiga hosil bo'ladi. Bu aminokislotalar kimyoviy modifikatsiyalari metillanish, fosfolirlanish va asetillanish hisobiga ro'y beradi. Bu kimyoviy modifikatsiyalar DNK va gistonlar o'rtasidagi o'zaro ta'sir kuchini o'zgartiradi, transkripsiya omillari uchun xizmat qiladigan maxsus ketma-ketliklarning transkripsiya jarayoniga moyilligini oshiradi va transkripsiya tezligini o'zgartiradi. Xromatin tarkibidagi nospesifik ketma-ketliklarga bog'langan boshqa oqsillar gel elektroforezda yuqori harakatchan bo'lib, buralgan DNK ning katta miqdorini tashkil qiladi. Bu oqsillar xromatin tarkibida yuqori tartibdagi strukturalarni tashkil

qilishda katta ahamiyatga ega. DNK ga birikadigan boshqa guruh oqsillariga- bir zanjirli DNK bilan bog'lanadigan oqsillar kiradi. Insonda bu guruhga kiruvchi oqsillardan yahshi o'rganilgan oqsillarga- replikasining A oqsili hisoblanadi, ushbu oqsil ikki zanjir ishtirok etadigan zanjir ochilishi bilan bog'liq bo'ladigan jarayonlarda shu jumladan, rekombinasiya va reparasiya jarayonlarida ishtirok etadi. Bu guruh oqsillari bir zanjirli DNKni halqa tugunlar hosil bo'lishi va nukleazalar ta'sirida degradasiya bo'lishidan saqlaydi. Shuningdek, boshqa oqsillar spesifik ketma-ketliklarga bog'lanadi va tanishda ishtirok etadi. Bunday yahshi o'rganilgan guruh oqsillariga-turli xil transkripsiya omillari kiradi, ya'ni transkripsiya jarayonini boshqaradigan oqsillar. Har bir oqsillar ma'lum ketma-ketlikni taniydi, asosan promotor qismlarda va genlar transkripsiyasini yoki bostiradi, yoki faollashtiradi. Bunday holatlar asosan transkripsiya omillarining RNK-polimeraza bilan to'g'ridan-to'g'ri assotsiasiyasi yoki, yordamchi oraliq-vositachi oqsillar yordamida yuz beradi. Polimeraza oqsillar bilan avvaliga assotsiyalashadi, keyin transkripsiya boshlanadi. Boshqa xollarda transkripsiya omillari promotor qismlardagi joylashgan gistonlarni modifikasilaydigan fermentlar bilan bog'lanadi va DNK ni polimerazaga ochib beradi. Spesifik ketma- ketliklar genom ko'p qismida uchragani uchun bitta transkripsiya omili tipining faolligining o'zgarishi minglab genlar faolligining o'zgarishiga olib kelishi mumkin. Shunga ko'ra, bu oqsillar atrof-muhit o'zgarishiga organism javob reaksiyasida, organism rivojlanishida va hujayralar differensirovkasida tez-tez boshqarilib turiladi. Transkripsiya omillarining DNK bilan o'zaro ta'sirining maxsusligi, aminokislotalar va DNK asoslari o'rtasidagi munosabatlar orqali ta'minlanadi, bu esa o'z navbatida DNK ketma-ketliklarini o'qish imkonini yaratadi. Asoslar bilan o'zaro ta'sirlar asosiy halqada o'tadi, bu yerda asoslar transkripsiya jarayonining o'tishi uchun ochiq bo'ladi.

DNKni modifikasilovchi fermentlar

Hujayrada DNK kompakt, yani superspirallashgan holatda joylashadi, boshqa holatda hujayra yadrosiga sig'mas edi. Asosiy hayotiy jarayonlari o'tishi uchun

DNK ochilishi kerak bo'ladi, ushbu jarayon ikki hil oqsil guruhlariga - topoizomerazalar va xelikazalar tomonidan amalga oshiriladi.

Topoizomerazalar- nukleazalar va ligazalar faolligiga ega bo'lgan fermentlardir. Ular DNK ning superburalish darajasini o'zgartirish xususiyatiga ega. Bu fermentlarning ayrimlari DNK spiralini kesadi va hosil bo'lgan bitta zanjirning harakatlanishiga imkon yaratadi, superburalish darajasini kamaytiradi, keyinchalik yana kesilgan joyni birlashtirib qo'yadi. Boshqa fermentlar ikki zanjirdan birini kesadi, hosil bo'lgan bitta zanjir kesilgan joydan o'tish imkoniga ega bo'ladi, keyinchalik birinchi zanjirdagi kesilgan joyni yana ligirlaydi. Topoizomerazalar DNK bilan bog'liq bo'lgan - transkripsiya va replikasiya jarayonlarida ishtirok etadi.

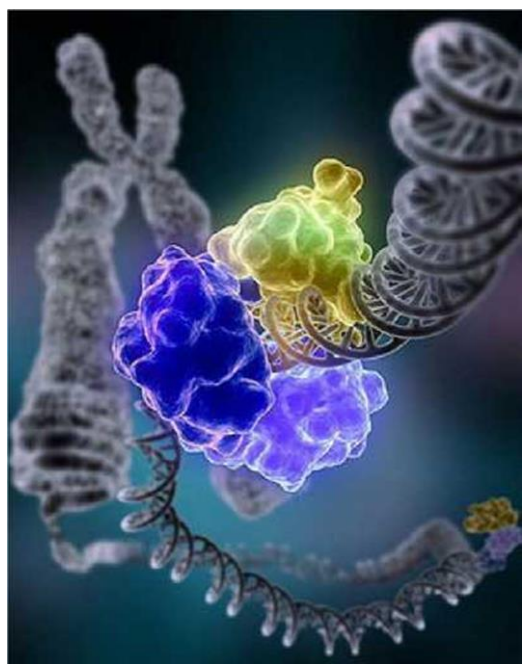
Xelikazalar- molekulyar motor oqsillari hisoblanadi. Ular nukleotiduchfosfatlarning va ko'pgina hollarda ATF kimyoviy energiyasidan foydalanib, asoslar o'rtasidagi vodorod bog'larini uzadi, ikki zanjirni alohida olingan zanjirlarga ajratish xususiyatiga ega.

Polimerazalar. DNK metabolizmi uchun kerakli bo'lgan fermentlar guruhi mavjud bo'lib, ular nukleozidtrifosfatlardan polinukleotid zanjirini sintez qiladi, bularga DNK-polimerazalar deb ataladi. Ular DNK zanjiridagi oldingi nukleotidning 3'-gidroksil guruhiga yangi nukleotidlarni qo'shish xususiyatiga ega. hamma polimerazalar 5'--> 3' yonalishda faoliyat ko'rsatadi. Ferment faol markazida substrat-nukleozidtrifosfat-komplementar asos bilan bir zanjirli polinukleotid zanjirdagi-matrisa bilan juftlashadi. DNK replikasiyasi jarayonida DNK bog'liq DNK polimeraza boshlang'ich DNK ketma-ketligining nusxasini sintezlaydi. Bu jarayonda polimerizasiya aniqligi juda katta ahamiyatga ega bo'lib, xatoliklar mutatsiyalarga olib keladi, shuning uchun ko'pgina polimerazalar mustaqil ravishda "tahrirlash" xususiyatiga egadir, xatoliklarni bartaraf eta oladi.

Polimeraza sintez davrida xatoliklarni noto'g'ri nukleotidlar o'rtasidagi juftlashishlarning bo'lmasligi orqali taniydi. Juftlashish yo'qligi aniqlangandan so'ng, fermentning 3'--> 5' yo'nalishdagi ekzonukleazali faolligi oshadi va

noto'g'ri juftlashish joylarini kesib tashlanadi. Ko'pgina organizmlarda DNK-polimerazalar katta majmua sifatida faoliyat ko'rsatadi, ularga replisomalar deb ataladi va ular tarkibida ko'plab qo'shimcha subbirliklar bo'lib, xelikazalar ham ular tarkibida faoliyat ko'rsatishi mumkin.

RNK bog'liq DNK polimerazalar- polimerazalarning maxsuslashgan turi bo'lib, RNK matrisasida DNK sintezini amalga oshiradi. Bu polimerazalar turiga teskari transkriptazalar kiradi, ushbu fermentlar retroviruslarda uchraydi va ular hujayrani zararlantirganda ferment faollashadi, xuddi shuningdek telomeraza, telomerlar replikasiyasi uchun foydalaniladi. Telomeraza- noan'anaviy ferment turlariga kiradi, chunki xususiy m-RNKga ega bo'ladi. Transkripsiya DNK-bog'liq RNK-polimeraza tomonidan amalga oshiriladi, yani DNK matrisasi asosida bir zanjirli m-RNK nusxa tushiradi. Gen transkripsiyasi boshlanishida RNK-polimeraza genning boshlang'ich promotor qismiga bog'lanadi, va DNK zanjirini



14-rasm Zararlangan DNK zanjirini bog'laydigan DNK ligaza I (turli xil ranglarda ko'rsatilgan bir nechta bir xil oqsil molekulalaridan tashkil topgan halqa shaklidagi tuzilish)

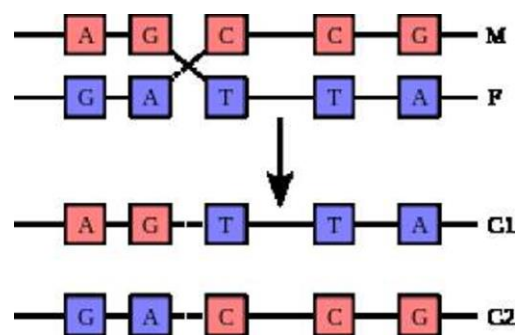
ochadi. Keyinchalik gen ketma-ketligini m-RNKga terminator qismiga yetguncha nusxa ko'chiradi, terminator qismida to'xtaydi va DNK dan ajraladi. DNK- bog'liq DNK polimeaza singari, RNK- polimeraza II inson genomida genlarning ko'p qismini transkripsiyasini amalga oshiradi, ko'p miqdordagi oqsil majmuasi- boshqaruvchilar va qo'shimcha birliklar tarkibida faoliyat ko'rsatadi.

Nukleazalar va ligazalar. Hujayrada sodir bo'ladigan turli xil jarayonlar, masalan, rekombinatsiya va reparasiya jarayonlarida, DNK zanjirlarini kesishi va yaxlitligini tiklashi (ligaza, 14-rasm) mumkin bo'lgan fermentlarni o'z ichiga oladi. DNKni

kesuvchi fermentlarga nukleazalar deyiladi. DNK molekulasining uchlarida nukleotidlarni gidrolizlaydigan nukleazalar ekzonukleazalar deb ataladi va endonukleazalar DNKni zanjir ichida kesib tashlaydi. Molekulyar biologiya va genetik muhandislikda eng ko'p ishlatiladigan nukleazalar DNKni ma'lum ketma-ketliklar qismida kesuvchi restriksion endonukleazalar ishlatiladi. Masalan, EcoRV fermenti - E. colidagi ferment olti nukleotidli 5'-GAT | ATC-3' ketma-ketligini taniydi va DNKni vertikal holda ikki zanjir joyida kesadi. Tabiatda bu fermentlar bakteriyalarni bakteriofaglar bilan zararlanishdan, bakterial hujayraga kiradigan fagni kesish orqali himoya qiladi. Bu holatlarda nukleazalar-restriksiya-modifikasiyalar tizimining asosiy qismi sifatida ishtirok etadi. DNK-ligazalar DNK fragmentlarining uchlarini tikadi, ATF energiyasidan foydalangan holda, fosfodiefir bog'larini katalizlaydi. Restriksion nukleazalar va ligazalar klonlashda va finjerprintingda qo'llaniladi.

Genetik rekombinatsiya

DNK ikkita zanjiri boshqa DNK segmentlari bilan ta'sirlashmaydi, inson hujayralarida turli xil xromosomalar yadroda fazoviy tuzilishi jihatdan qismlarga bo'lingan shaklda joylashadi. Turli xromosomalar o'ratsidagi bunday masofalar DNK ning irsiy ma'lumotni stabil saqlash xususiyatida katta ahamiyatga egadir. Rekombinatsiya jarayonida fermentlar yordamida DNK ning ikki zanjiri uziladi, va o'sha joylarida ma'lum qismlari o'zaro almashinadi, keyinchalik spirallar ketma-ketligi yana tiklanadi, shuning uchun gomologik bo'lmagan xromosomalar o'rtasida bunday almashinuvlar irsiy ma'lumot buzilishiga olib keladi (15-rasm).



15-rasm. Rekombinatsiya xromosomalarning (M) va (F) uzilishi va keyinchalik ikkita yangi xromosomalarni (C1 va C2) hosil qilish uchun ulanishi natijasida yuzaga keladi.

Xromosomalar o'rtasidagi irsiy ma'lumotning almashinuvi natijasida hosil bo'lgan rekombinasiyalar natijasida genlarning yangi kombinasiyalari vujudga keladi, o'z navbatida bu tabiiy tanlanish samarasini oshiradi va yangi oqsillar yuqori tezlikda amalga oshadigan evolyutsiyasida katta ahamiyatga egadir. Genetik

rekombinasiya reparasiya jarayonida ham katta ahamiyatga egadir, asosan hujayraning DNK ikkalla zanjirining uzulishi bilan bog'liq bo'lgan javob reaksiyasida aks etadi.

Krossingover eng ko'p tarqalgan turi- bu gomologik rekombinasiya hisoblanadi, ya'ni xromosomalar rekombinasiyasida ishtirok etadigan ketma-ketliklar bir-biriga o'xshash bo'lishi kerak. Bir xil vaqtlarda gomologik uchastkalar shaklida transpozonlar ishtirok etadi. Gomologik bo'lmagan rekombinasiya hujayraning shikastlanishiga olib keladi, bunday rekombinasiya natijasida translokasiyalar vujudga keladi. Rekombinasiya reaksiyalari fermentlar tomonidan katalizlanadi, ular rekombinazalar deb ataladi, masalan *Cre*. Birinchi reaksiya bosqichida rekombinaza DNKning birinchi zanjirini uzadi, komplementar zanjirdan ajralishini va ikkinchi xromatida zanjirlarining biriga bog'lanishini ta'minlaydi. Ikkinchi xromatida ikkinchi marotaba uzilishi natijasida DNK zanjirining uzilishiga, birinchi xromatidada juftsiz qolgan zanjirga ulanishini ta'minlaydi va Hollidey strukturasini hosil qilishiga olib keladi. Hollidey strukturasini juftlashgan xromosoma bo'ylab xaraktatlanish xususiyatiga ega bo'ladi va zanjirlarni o'rin almashtirishini amalga oshiradi. Rekombinasiya reaksiyasi ferment bog'larini uzganga va ikki zanjirning ligirlanishi yuz berganda tugaydi.

DNK ga asoslangan metabolizm evolyutsiyasi. DNK tarkibidagi irsiy ma'lumot hamma zamonaviy organizmlarning rivojlanishi, o'sishi, hayot faoliyati uchun amalga oshirish imkonini beradi. Lekin Yerdagi hayotning uzoq to'rt milliard yil tarixi davomida DNK asosiy irsiy axborot manbai bo'lganligi to'g'risida ma'lumot yoq. Mavjud gipotezalarga ko'ra, RNK moddalar almashinuvida markaziy rol o'ynagan, chunki u irsiy ma'lumot o'tkazishda ishtirok etadi va ribozimlar ishtirokida katalizni amalga oshira oladi. Bundan tashqari, RNK-“oqsillar fabrikasi”ning ribosomalarning asosiy komponenti hisoblanadi. Qadimiy RNK dunyosi- yani kataliz uchun va irsiy ma'lumotni tashish uchun xizmat qilgan bo'lsa, to'rtta asosdan tashkil topgan zamonaviy genetik kodning shakllanish manbai bo'lib xizmat qilgan bo'lishi mumkin. Bu jarayon

organizmlarda mavjud kam sondagi asoslar, yani replikasiya aniqligini kuchaytirish, va ko'p sondagi asoslar asosida ribozimlar faolligini oshirush hisobiga ro'y bergan deb hisoblanadi.

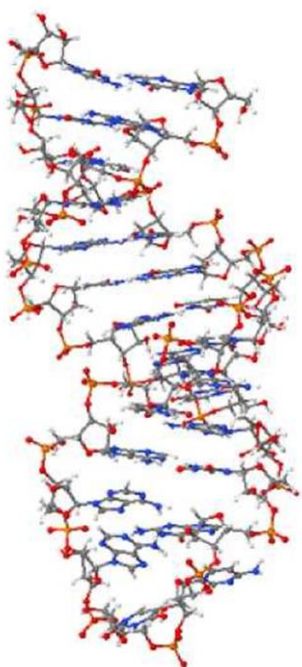
Afsuski, qadimgi genetik tizimlar xozirgi kunga qadar saqlanib qolmagan. Tashqi muhitda DNK o'rtacha bir million-yil davomida saqlanadi, asta-sekinlik bilan mayda fragmentlarga degradasiyaga uchraydi. 250 million-yil ilgari kristall tuzlaridan uchraydigan bakterial sporalardan DNKni ajratish va ularda [16S r-PHK](#) ning ketma-ketligini o'rganish ishlari bo'yicha diskussiya mavzulari davom etmoqda.

Ribonuklein kislota

Ribonuklein kislota- uchta asosiy makromolekulalardan biri bo'lib, hamma tirik organizmlar hujayralarida uchraydi va kodlashda, irsiy materialni o'qishda, genlarni boshqarishda va tasvirlashda ishtirok etadi.

DNK singari, RNK uzun zanjirdan iborat, undagi har bir zveno nukleotid deb ataladi. Har bir nukleotid azot asosidan, shakar va fosfar guruhidan iborat. RNK ketma-ketligi irsiy ma'lumotni kodlash imkonini beradi. Hamma tirik organizmlar RNKni oqsil sintezini dasturlashda ishlatiladi. Hujayra RNKlari transkripsiya jarayonida, ya'ni maxsus fermentlar RNK-polimerazalar asosida DNK matritsasida asosida RNK hosil bo'ladi. Keyinchalik matrisali RNKlar translyasiya jarayonida ishtirok etadilar. Translyasiya- bu m-RNK matrisasida oqsil sintezlanishi hisoblanadi. Boshqa RNKlar transkripsiyadan so'ng, kimyoviy modifikasiyalarga uchraydi, undan so'ng hosil bo'lgan ikkilamchi va uchlamchi strukturalar RNK tipiga qarab turli xil vazifalarni bajaradi. Bir zanjirli RNKlar uchun turli xil fazoviy strukturalar xos, ularda bitta zanjirning nukleotidlar bir qismi o'zaro juftlashgan bo'ladi. Ayrim yuqori sturturali RNKlar oqsil sintezida ishtirok etishadi, masalan t-RNKlar kodonlarni tanishda va aminokislotalarni oqsil sintezi jarayonida manziliga yetkazishda, ribosomal RNKlar esa ribosomalar strukturaviy va katalitik vazifalarni ishtirok etishadi. Shu bilan birga, zamonviy tasavvurlarga ko'ra, RNKlar vazifalari faqatgina translayasiya jarayonlari bilan chegaralanib qolmaydi, yadroviy kichik

RNKlar eukariot matrisali RNKlar splayisigida va boshqa jarayonlarda ishtirok etadi. Bundan tashqari, RNKlar ayrim fermentlar tarkibiga kiradi masalan telomerazalar, va ayrim RNKlarning fermentativ faolligi aniqlangan, ya'ni boshqa RNKlarni zanjirini kesish xususiyatiga ega bo'lib, va aksincha RNK fragmentlarini tikish xususiyatiga ham ega bo'ladi. Bunday RNKlar ribozimlar deb ataladi. Ko'pgina viruslar genomi RNK dan tashkil topgan, ya'ni DNK rolini bajaradi. Hujayradagi RNKlarning turli tuman funksiyasiga qarab, hujayra biologiyasida RNK biologik tizimlar paydo bo'lgunga qadar birinchi irsiy ma'lumotni tashuvchi molekulalar degan gipoteza mavjuddir.



16-rasm. Pro [mRNK halqasi](#). Asoslardagi [azot](#) atomlari ko'k rangda, fosfat asosidagi [kislorod](#) qizil

Oqsillar sintezida RNK roli 1939 yilda Torbbern Oskar Kaspersson, Jan Brashe va Djek Shuls ishlarida taklif qilingan. Jerard Mairbaks birinchi marta quyon gemoglobinini kodlaydigan, matrisali RNK ni ajratib olingan, va ushbu RNK oositlarga o'tkazilganda, xuddi shu oqsil kodlanishi aniqlangan. 1956-1957 yillarda A.Belozerskiy, A.Spirin, E.Volkin, L.Astraxan tomonidan hujayralardagi RNK tarkibini va hujayradagi RNK lar asosiy massasini ribosomal RNK tashkil qilishini aniqlaganlar. Severo Ochoa 1959 yilda tibbiyot bo'yicha RNK sintezining mexanizmini ochgani uchun Nobel mukofotiga sazovor bo'lgan. 1990-yillarning boshlarida o'simlik genomiga begona genlarning kiritilishi analog genlarining ekspresiyasini bostirishga olib kelishi aniqlandi. Shu bilan birga 22 nukleotid qatoriga ega bo'lgan RNK lar mikro RNK lar bo'lib, S. elegans nematodalar ontogeneizida

boshqaruvchi rolini bajarishi isbotlangan (16-rasm).

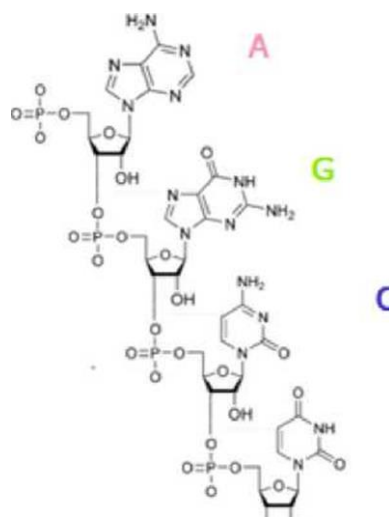
Monomerlarning kimyoviy tarkibi va modifikatsiyalari. RNK nukleotidlari tarkibida shakar – riboza bo'lib, unga 1' holatida asoslar- adenin, guanin, sitozin

yoki uratsillardan biri birikkan bo'ladi. Fosfat guruhi ribozani zanjirga bog'lab, bir ribozaning 3 'uglerod atomi bilan, ikkinchisining 5' holatida bog'lanish hosil qiladi. Fosfat guruhlari fiziologik pH ko'rsatkichida salbiy zaryadlangan, shuning uchun RNK polianion xususiyatga ega. RNK to'rt asosli - adenin (A), guanin (G), uratsil (U) va sitozinli (S) polimer sifatida transkripsiyalanadi. Ammo "yetuk" RNKda ko'plab o'zgartirilgan asoslar va shakar mavjud. Hammasi bo'lib, RNK da 100 ga yaqin modifikasiyalangan turli xil nukleotidlar mavjud bo'lib, ulardan 2'-metilriboza shakarning ko'p uchraydigan modifikasiya variantlari hisoblanadi, psevdouridin esa -asoslarning modifikasiyalari hisoblanadi. Psevdouridin, riboza bilan C-N emas, balkim C-C bog'lari orqali bog'lanadi va RNK molekulasida turli xil xolatlarda uchraydi. Shuningdek, psevdouridin, t-RNK ning funksiyasi uchun muhim hisoblanadi. Ikkinchi modifikasiya turlariga gipoksantin kiradi, adeninning dezaminirlanishi natijasida hosil bo'ladi, va nukleozid inozin nomi bilan ataladi. Inozin genetik kodnig turg'unligini ta'minlashda katta ahamiyatga egadir. Boshqa ko'plab uchraydigan modifikasiyalarning roli oxirigacha o'rganilmagan. Masalan, peptid bog'larni hosil qiluvchi ribonukleotidlar roli shular jumlasiga kiradi.

Tuzilishi. RNKdagi azotli asoslar sitozin va guanin, adenin va uratsil, shuningdek, guanin va uratsil o'rtasida vodorod bog'larini hosil qilishi mumkin. Lekin boshqa ta'sirlar ham mavjud bo'lib, bularga bir nechta adenin nukleotidlarining o'zaro tugunlar hosil qilishi, yoki to'rtta adenin o'zaro tugunlar hosil qilib o'zaro ta'sirlar adenin-guanin o'rtasida bo'lishini misol keltirish mumkin (17-rasm).

RNKning uni DNKdan ajratib turadigan muhim tarkibiy xususiyati ribozaning 2' holatida gidroksil guruhining mavjudligidir, bu

RNK molekulasining B-konformatsiyasida emas, balki A konformasiyada ega



OH

17-rasm. RNK polinukleotidning kimyoviy tuzilishi

bo'lishiga imkon beradi, bu holat ko'pincha DNKda kuzatiladi. DNK ning A-shaklida chuqur- tor qator va chuqur bo'lmagan, keng kichik qatorli struktura uchraydi.

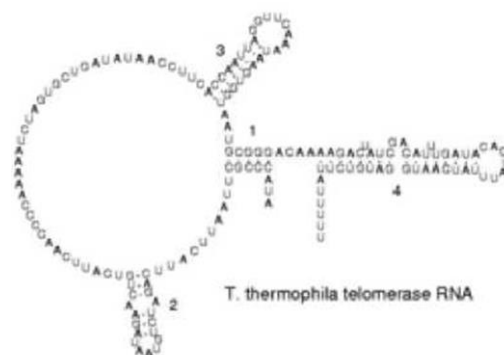
RNK tarkibidagi 2' gidroksil guruhining mavjudligi, konformatsion plastik, ya'ni spiral hosil bo'lishida ishtirok etmaslik imkonini beradi, RNK molekulasining hududlari boshqa fosfat bog'lanishlariga kimyoviy ta'sir ko'rsatishi va ularni uzishida ishtirok etadi. Bir zanjirli RNK ning "ishchi" shakli, oqsillar singari, uchlamchi strukturaga ega bo'ladi. Uchlamchi struktura ikkilamchi struktura elementlari asosida hosil bo'lib, bu strukturaning hosil bo'lishida bitta molekula ichidagi vodorod bog'lari ishtirok etadi. Bir necha turdagi ikkilamchi strukturalar farqlanadi, bularga asos-halqa, halqa va psevdotugunlar shaklidagi strukturalar kiradi. Asoslar juftlashishining ko'p miqdordagi variatsiyalari mavjudligi uchun RNK ikkilamchi strukturasini bashorat qilish, oqsillar ikkilamchi strukturasini bashorat qilishga nisbatan murakkab vazifa hisoblanadi, lekin hozirda RNK ikkilamchi strukturalarini bashorat qilishning samarali dasturlari mavjud bo'lib, *ifold* dasturi shular jumlasiga kiradi (18-rasm).

RNK molekulalarining funktsiyasining ularning ikkilamchi tuzilishiga bog'liqligiga ribosoma to'plamlari- [IRES](#) misol bo'la oladi.

IRES - bu informasion RNKning 5' uchidagi struktura u oqsil sintezini boshlashning odatiy mexanizmini chetlab o'tish xususiyatiga ega bo'lib, ribosomaning biriktirilishini ta'minlaydi, bu 5' uchida maxsus modifikatsiyalangan asos- *cap* joylashadi va ushbu jarayonni amalga oshirishda oqsil sintezinig innisiasiya omillarini talab qiladi.

Dastlab IRES virusli RNKlarda topilgan, ammo hozirda mRNKlar ham [stress](#) sharoitida IRESga bog'liq innisiasiya mexanizmidan foydalanishi haqida tobora ko'proq ma'lumotlar to'planib bormoqda.

Ko'pgina RNK turlari, masalan, rRNK va mikro RNK, hujayradagi RNK molekulalari sintezlangandan keyin eukariotlar sitoplazmasiga eksportidan so'ng,



18-rasm. Sodda hayvonlar RNK komponentining ikkilamchi tuzilishi

oqsillar bilan birlashib kompleks hosil qiladi. Bunday RNK-oqsil komplekslari ribonukleoprotein komplekslari yoki [ribonukleoproteinlar](#) deb ataladi.

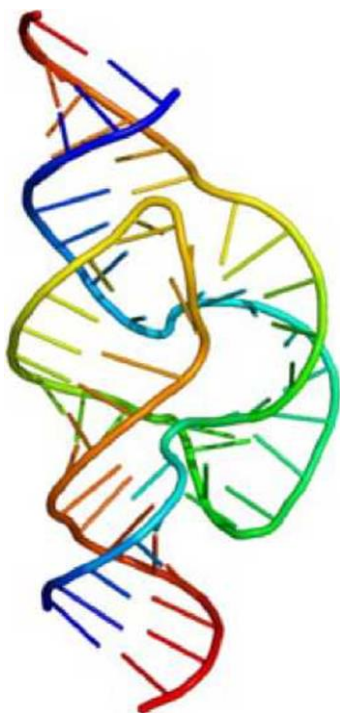
Tirik hujayrada RNK sintezi ferment - RNK polimeraza tomonidan amalga oshiriladi. eukariotlarda RNKning har xil turlari turli xil, ixtisoslashgan RNK polimerazalari tomonidan sintezlanadi. Umuman olganda, ham DNK, ham boshqa RNK molekulalari RNK sintezi uchun matritsa vazifasini o'tashi mumkin. Masalan, polioviruslar o'zlarining genetik materiallarini takrorlash uchun RNKga bog'liq RNK-polimerazadan foydalanadilar. Lekin ilgari faqat viruslarga hos bo'lgan RNK bog'liq RNK sintezi hujayrali organizmlarda RNK- interferensiya jarayoni natijasida sodir bo'ladi.

DNKga bog'liq bo'lgan RNK polimeraza holatida bo'lgani kabi va RNKga bog'liq RNK polimeraza ham promotor ketma-ketligiga birikadi. Matrisaning molekulasining ikkilamchi strukturasi polimerazaning helikaza faolligi asosida ochiladi, substrat molekulaning 3 'dan 5' uchi yo'nalishda harakat qilib RNKni 5'→3' yo'nalishida sintez qiladi. Molekulaning oxirgi uchidagi transkripsiya terminatori sintezning tugashini belgilaydi. Ko'pgina RNK molekulalari boshlang'ich molekulalar sifatida sintezlanadi, ular "tahrirlash" dan o'tadi - RNK-oqsil komplekslari yordamida keraksiz qismlari olib tashlanadi.

Masalan, *Escherichia coli*- da rRNK genlari bitta operonda joylashgan- lokusda joylashish tartibi quyidagicha: 16S - tRNK Glu₂ - 23S-5S, bitta uzun molekula sifatida o'qiladi, so'ngra avval rRNK hosil bo'lishi bilan bir nechta mintaqalarga bo'linadi, va keyin yetuk rRNK molekulalari hosil bo'ladi. Sintezdan so'ng RNKning nukleotidlar ketma-ketligini o'zgartirish jarayoni RNKni qayta ishlash yoki tahrirlash deb ataladi.

Transkripsiya tugaganidan so'ng, RNK molekulalari bajaradigan funksiyalariga qarab modifikasiyaga uchraydi. Eukariotlarda RNK ning yetilish jarayoni ya'ni oqsil sinteziga tayyorlanishi, splicing jarayonini o'z ichiga oladi: oqsilni kodlamaydigan ketma-ketliklarning intronlarning splicingasoma ribonukleotidi orqali olib tashlanishi ro'y beradi. Keyinchalik eukariotlarda

boshlang'ich i-RNK ning 5' uchiga maxsus modifikasiyalangan nukleotid cap qo'shiladi, 3' uchiga esa bir nechta adenin qo'shiladi, ularga poli A- uchi deb ataladi.



*19-rasm. RNKni
ajratib turadigan bolg
'a ribozimasining
tuzilishi*

Matrisali RNK- bu RNK turi DNK dagi kodlangan ma'lumotni ribosomalarga tirik organizmlarning oqsil sintezlovchi molekulyar mashinalarga o'tkazishda vositachi vazifasini bajaradi. i-RNK kodlaydigan ketma-ketliklari oqsil tarkibidagi aminokislotalar ketma-ketliklarini belgilaydi. Lekin ko'p RNK lar oqsilni kodlamaydi. Bu kodlamaydigan RNKlar alohida olingan genlar tomonidan transkripsiyalanadi, masalan, ribosomal RNK lar yoki intronlar hosilalari bo'lishi mumkin. Klassik, yahshi o'rganilgan kodlamaydigan RNK turlari - bular transport RNK va ribosomal RNK lar bo'lib, translatsiya jarayonida ishtirok etadi. RNK ning i- RNK prossesingida va boshqa vazifalarni bajaruvchi genlarni boshqarishda ishtirok etadigan

sinflari ham mavjud (19-rasm). Bundan tashqari, RNK ning kodlamaydigan molekulalari mavjud bo'lib, RNK molekulalarini ligirlash va kesish kabi kimyoviy reaksiyalarni katalizlash xususiyatiga ega. Oqsillar kabi, enzimlar bilan kimyoviy reaksiyalarni katalizlaydi, va RNK ning katalitik molekulalari ribozimlar deb ataladi.

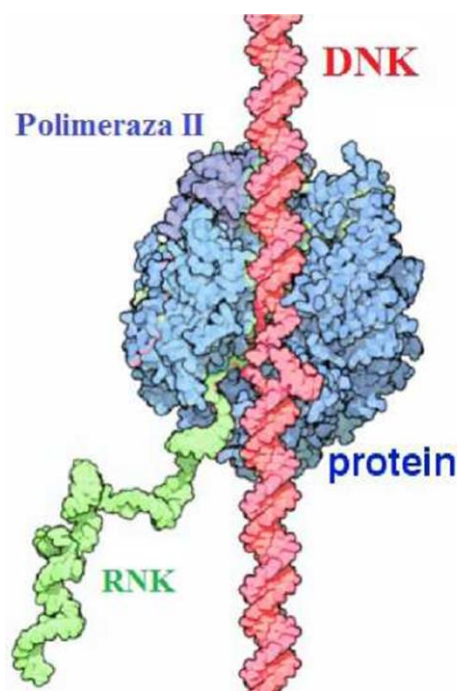
Translyatsiya ishtirokchilari

Oqsil aminokislotalar tarkibi ketma-ketligi to'g'risidagi ma'lumot i-RNK tarkibida joylashgan. Ucha nukleotid kodon ketma-ketligi bitta aminokislota to'g'ri keladi. Eukariot hujayralarda transkripsiya qilingan boshlang'ich i-RNK, prossesing jarayonini o'tgandan so'ng, yetuk RNK ga aylanadi. Prossesing jarayonida oqsilni kodlamaydigan ketma-ketliklar -intronlar olib tashlanadi.

Shundan so'ng, i-RNK yadrodan sitoplazmaga eksport qilinadi, unga t-RNKga birikkan aminokislotalar yordamida i-RNK ning tranlyasiyasini amalga oshiradigan ribosomalar bilan qo'shilishi yuz beradi (20-rasm).

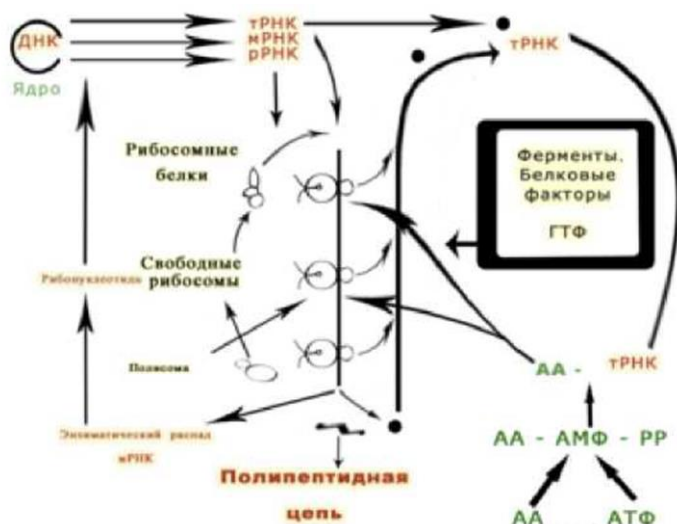
Yadrosiz hujayralarda bakteriyalar va arheylarda, ribosomalar i-RNK ga RNK transkripsiya o'tgan qismiga darhol birikishi yuz beradi. Eukariotlar va prokariotlarda, i-RNK ning sikli, ribonukleazalar ta'sirida parchalanashi orqali nazorat qilinadi. Transport- RNKlar - kichkina RNK lar bo'lib, 80 ga yaqin nukleotidlardan tashkil topgan bo'lib, konservativ uchlamchi strukturga egadir. Ular ribosomalarda spesifik aminokislotalarni peptid bog'lari sintezi joyiga tashishda ishtirok etadi.

Har bir t-RNK aminokislotani biriktirib oladigan, i-RNK dagi kodlarni taniydigan antikodon qismlari mavjud. Antikodon kodon bilan birga vodorod bog'larini hosil qiladi, t-RNK da hosil bo'lgan peptid bog'idagi oxirgi aminokislota va t-RNK dagi aminokislota o'rtasida peptid bo'gining hosil bo'lishiga yordam beradi. Ribosomal RNK lar -ribosomalarni katalizlaydigan tarkibiy qismi hisoblanadi. Eukariotlar ribosomalari to'rtta molekula r-RNK ga ega bo'ladi: 18S, 5,8S, 28S va 5S. To'rtta ribosomalarning uchasi yadrochada sintezlanadi. Sitoplazmada ribosomal RNK lar ribosomal oqsillar bilan birlashadi va nukleoprotein hosil qilishadi, ularga ribosomalar deb ataladi. Ribosoma mRNAga birikadi va oqsilni sintez qiladi. rRNK eukariot hujayralar sitoplazmasida topilgan RNKning 80% gacha bo'lgan qismini tashkil qiladi. Ribosomalarning boshqacha turi t-RNK va i-RNK vazifasini bajaruvchi ti- RNK ko'pgina bakteriyalar va plastidalar tarkibida uchraydi. Ribosomalarning nuqsonli stop kodonlarga ega bo'lmagan i-RNK da to'htab



20-rasm. RNKpolimeraza II fermenti ishtirokida DNKdan RNK transkripsiyasi RNK turlari

qolganda, ti-RNK katta bo'lmagan peptidga ulanadi va oqsil degradasiyasida ishtirok etadi.



21-*ras*m. Har xil turdagi RNKlarning oqsil sintezidagi roli (Uotsonga ko'ra)

Genlarni boshqarishda ishtirok etish. Tirik hujayralarda RNK ning bir nechta turi mavjud bo'lib, genning yoki iRNK ga komplementar bo'lgan genning namoyon bo'lish darajasini pasaytiradi. Mikro-RNK lar 21-22 nukleotid qatoriga ega bo'lib, eukariotlarda topilgan, va RNK-interferensiya mexanizmi orqali ta'sir ko'rsatadi. Bunda mikro-

RNK va fermentlar kompleksi genning promotor qismlarida DNK ning metillanishiga olib keladi, va gen faolligini pasaytiradi. mi-RNK ni boshqarishning boshqa turi ishlatilganda, komplementar mi-RNK degradasiyaga uchraydi. Lekin genlar ekspressiyasini ko'paytiradigan mi-RNK turlari ham mavjuddir. Kichik interferensiyalaydigan RNKlar 20-25 nukleotid qatoridan iborat, ko'pgina hollarda virus RNKlarining parchalanishidan hosil bo'ladi, lekin endogen hujayraviiy mi-RNK turlari ham mavjud.

Kichik interferensiyalaydigan RNKlar o'hshash mikro-RNK mexanizmlarining RNK-interferensiyasi orqali harakat qilishadi. Hayvonlarda RNK ning yangi turi topilgan bo'lib, ular pi-RNK 29-30 nukleotiddan iborat bo'lib, Piwi bilan o'zaro ta'sirlasha oladi, jinsiy hujayralarda transpozonlar nusxalarining sonining ko'payishiga yo'l qo'ymaydi va gametalarni hosil bo'lishida asosiy rol o'ynaydi. Bundan tashqari, pi-RNK epigenetik tarzda ona tomondan irsiylanadi, va avlodlarga transpozonlarni ekspressiyasini ingibirlaydigan xususiyatlarning irsiylanishini ta'minlaydi. Ma'nosiz RNKlar bakteriyalarda keng tarqalgan bo'lib, i-RNK ga birikadi va genlarni namoyon etuvchi xususiyatlarini bostiradi, lekin bir hillari ekspressiyasini faollashtiradi. Bunday RNKlar i-RNK ga birikkanda, RNK ning ikki zanjirli molekulasini hosil bo'ladi va fermentlar tomonidan degradasiya

qilinadi. Eukariotlarda yuqori molekulyar - RNK ga o'hshash RNK molekulari topilgan, ular oqsil molekulasini kodlamaydi. Ular ham genlarning namoyon bo'lishida ishtirok etadi. Misol tariqasida sut emizuvchilarda Xist genini keltirish mumkin, X-xromosomalarning biriga birikadi va faolsizlantiradi.

Genlarni boshqarishda individual molekulalarning roolidan tashqari, regulyator elementlar mRNKning translyasiya qilinmagan 5' va 3' mintaqalarida hosil bo'ladi. Ushbu elementlar translyasiyaning boshlanishiga to'sqinlik qilib, mustaqil ravishda harakat qilishi yoki oqsillarni biriktirishi mumkin.

RNK prosessingi. Ko'pgina RNKlar boshqa RNKlar modifikasiyasida ishtirok etadi. Intronlar boshlang'ich iRNKdan splaysasoma yordamida kesiladi, splaysasomalar tarkibida oqsillardan tashqari bir qancha kichik yadro RNKlari ham bo'ladi. Bundan tashqari, intronlar

o'zlarining xususiy kesilishini katalizlaydi. Transkripsiyanatijasida sintezlangan RNK kimyoviy jihatdan modifikasiya qilinishi mumkin. Eukariotlarda RNK nukleotidlarining kimyoviy

modifikasiyasi, masalan, ularning metillanishi, kichik yadro RNKlari -

60-300 nukleotidlardan tashkil

topgan ketma-ketliklar tomonidan

amalga oshiriladi. RNKning bu turi

yadrochada va Kahal tanachalarida

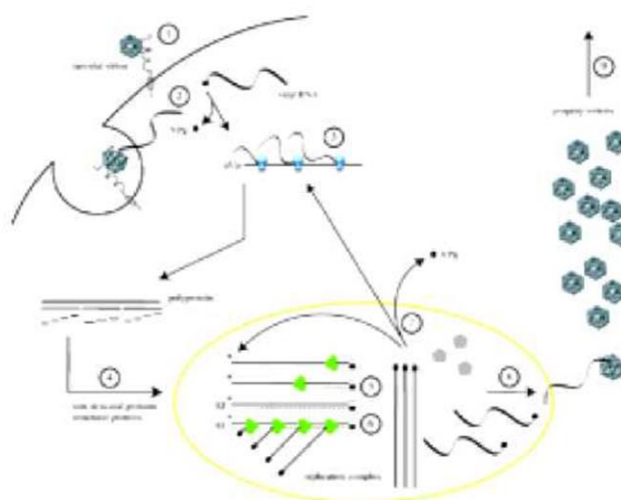
joylashgan. Kichik yadro RNKlari

fermentlar bilan assotsiasiyasi yuz

bergandan so'ng, ular RNK-nishon

bilan bog'lanadi ikki molekula asoslari orasida juftliklar hosil qiladi, fermentlar esa

RNK-nishonlarining nukleotidlarini modifikasiya qiladi. Ribosomal va transport



22-rasm. Poliovirus misolida RNK genomiga ega bo'lgan virusning hayot aylanishi : 1 – asl virionni retseptorga biriktirish; 2 – virion hujayraga kiradi; 3 – virus RNKlaridan virus oqsillarini polipeptid hosil bo'lishi bilan tarjima qilish; 4 – virusli polimerazalar uning RNKini ko'paytiradi

RNKlar ko'pgina modifikatsiyalarga ega bo'lib, evolyutsiya davomida saqlanib qoladi (22-rasm).

RNK genomlari

DNK singari, RNK ham biologik jarayonlar to'g'risida ma'lumotga ega bo'ladi. RNKlar viruslar genomi va virusga o'xshash strukturalarning genomi sifatida foydalanilishi mumkin. RNK-genomlarini oraliq DNK bosqichiga ega bo'lmagan va ko'payish uchun DNK nusxalarini hosil qiluvchi va qaytadan RNK ga sintezlanadigan turlariga bo'linadi, masalan retroviruslarda.

RNK- tutuvchi viruslar. Ko'pgina viruslar, masalan gripp virusi, hamma bosqichlarda faqat RNK dan tashkil topgan genomga ega. RNK asosan oqsil qobig'ining ichida joylashadi va kodlanadigan RNK-bog'liq RNK-polimerazalar yordamida replikasiya jarayonini o'taydi. RNK dan tashkil topgan viruslar genomi quyidagi guruhlarga bo'linadi:

- "RNK ning musbat zanjiriga" ega bo'lgan, i-RNK va genom sifatida qo'llaniladigan
- "minus zanjirga ega" bo'lgan, faqat genom sifatida qo'llaniladi, i-RNK sifatida komplementar molekula foydalaniladi
- ikki zanjirli viruslar

Viroidlar- RNK genomiga ega bo'lgan, patogenlarning boshqa guruhi bo'lib, oqsil molekulalariga ega bo'lmaydi. Ular xo'jayin organism RNK-polimerazalar yordamida replikasiya qilinadi.

Retroviruslar va retrotranspozonlar. Boshqa viruslarda RNK-genom hayotiy siklining birida ega bo'lishi mumkin. Retroviruslar virionlari RNK molekulalariga ega, bu RNK lar xo'jayin hujayrasiga kirganda DNK nusxalarini sintezlashda matrisa bo'lib xizmat qiladi. O'z navbatida, DNK matritsasi RNK-genom sintezlanadi. Viruslardan tashqari, teskari transkripsiya jarayonini genomning mobil elementlari- retrotranspozonlar ham qo'llashadi.

DNK sekvenirlash

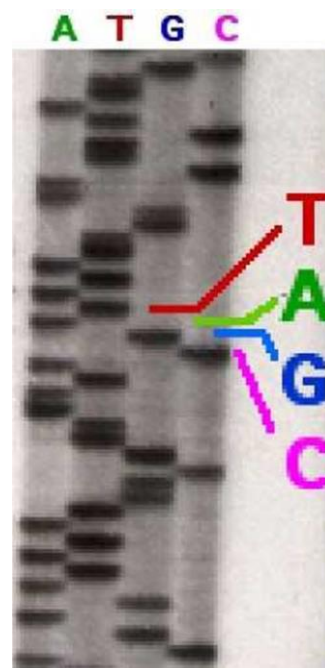
Biopolimerlar, nuklein kislotalami- DNK, RNK, oqsillami sekvenirlash, ularning nukleotid va aminokislotali ketma-ketliklarini aniqlash bo'lib, lotin tilidan *sequentum*- ketma ketlik ma'nosini anglatadi.

Sekvenirlanish natijasida monomerlar ketma-ketliging chiziqli tuzilmasi to'g'risida matn shaklida rasmiy tavsifi hosil qilinadi. DNK sekvenirlangan qismlari odatda 100 nukleotidlar juftidan oshmaydi- *next generation sequencing* va Senger sekvenirlanishi bo'yicha 1000 nukleotidlar jufti hosil qilinishi mumkin. Bir-birini qoplaydigan DNK qismlari sekvenirlanishi natijasida to'liq genlar, umumiy i-RNK yoki organizmlar to'liq genomi to'g'risida ma'lumot beradigan genlar qismlari olinadi (23-rasm).

Sekvenirlash uchun Edman, Senger va boshqa uslublar qo'llaniladi, odatda hozirgi kunda genlarni sekvenirlash uchun Sengerning ddNTP-didezoksinukleoziduchfosfatlar uslubi qo'llaniladi.

Sekvenirlashdan oldin DNK ning *PZR-polimerazali zanjirli reaksiya* uslubi yordamida taniladigan ketma-ketligi amplifikasiya qilinadi. To'liq genom sekvenirlanishi yangi avlod sekvenirlash texnologiyalarini *next generation sequencing* uslubini qo'llab amalga oshiriladi.

Didezoksinukleotid yoki "zanjir uzilishi" uslubi F.Senger tomonidan 1977 yilda ishlab chiqilgan bo'lib, hozirgi kunda DNK nukleotid ketma-ketligini aniqlashda keng qo'llaniladi. Senger bo'yicha sekvenirlashda sekvenirlanayotgan zanjirning maxsus 17-20 nukleotid uzunligiga ega bo'lgan sintetik oligonukleotidning gibridizasiyasi amalga oshiriladi. Bu oligonukleotid praymer bo'lib, 3'-gidroksil guruhni matritsaga komplementar bo'lgan, zanjirning inisiasiyasini boshlaydi. Praymerli eritmalar 4 ta probirkaga joylashtiriladi, ularning



23-rasm. Radiofaol izotop bilan nishonlangan PZR mahsulotlariga ega bo'lgan gel qismlari. Radioavtograf. (Senger uslubida sekvenirlash)

har birida dATP, dCTP, dGTP, dTTP dezoksinnukleotidlari bo'lib, ularning biri radioizotop bilan nishonlangan va 4 ta 2', 3'-didezoksinnukleotidlardan ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP biri bo'ladi. Didezoksinnukleotid hamma pozitsiyalar bo'yicha uzayib borayotgan zanjirga qo'shiladi, va uning zanjirga qo'shilish joyida zanjir sintezi to'xtaydi. Buning natijasida har 4 probirkada DNK-polimeraza ishtirokida primar ketma-ketligiga ega bo'lgan oligonukleotidlarning har hil uzunlikdagi noyob to'plami hosil bo'ladi. Keyinchalik probirkalarga zanjirlarni ajratish uchun formamid qo'shiladi, va poliakrilamid gelida to'rt hil yo'lakchada elektroforez o'tkaziladi. Sekvenirlangan DNK segmentlarini "o'qish" maqsadida radioavtografiya o'tkaziladi. Zamonaviy uslubda didezoksinnukleotidlarni to'rt hil turli tuman fluoressent bo'yoqlar bilan bo'yaladi va bitta probirkada PZR o'tkaziladi. So'ngra poliakrilamidli elektroforezda lazer nuri gelning ma'lum qismida fluorescent bo'yoqlarini qo'zg'atadi va gelda migratsiya bo'lgan nukleotidni detector aniqlaydi. Zamonaviy asboblari yordamida DNK ning kapillyar elektroforezini o'tkazishda foydalaniladi.

Genomika, proteomika va metabolomika

Genomika - molekulyar genetikaning tirik organizmlar genomini va genlarini o'rganishga bag'ishlangan bo'limi bo'lib, maxsus yo'nalish sifatida tirik organizmlarning ayrim turlari genomlarini tartiblashtirish bo'yicha birinchi loyihalar paydo bo'lishi bilan birga 1980 va 1990 yillarda paydo bo'ldi. Birinchi bo'lib 1977 yilda, 5368 nukleotid ketma-ketlik uzunligiga ega bo'lgan C-X174 bakteriofagining genomi to'liq o'rganilgan va tartiblangan.

Genom - bu organizm hujayrasida joylashgan irsiy materiallarning to'plamidir. Odamlarda- Homo sapiens genom yadroda joylashgan 23 juft xromosomadan, shuningdek mitoxondriyal DNKdan iborat. Yigirma ikkita autosomal xromosoma, ikkita jinsiy xromosoma X va Y, inson mitoxondriyal DNKsi taxminan 3,1 milliard baza juftini o'z ichiga oladi. Gen bu tirik organizmlar irsiyatining tarkibiy va funktsional birligi bo'lib, ma'lum bir polipeptid yoki funktsional RNKning ketma-ketligini belgilaydigan DNK ketma-ketligi

hisoblanadi. Genlar aniqrog'i, genlarning allellari ko'payish jarayonida ota-onadan naslga o'tadigan organizmlarning irsiy xususiyatlarini aniqlaydi. Shu bilan birga, ba'zi organoidlar mitoxondriya, plastidalar organizm genomiga kirmaydigan xususiyatlarini aniqlaydigan DNKlariga ega bo'ladi.

Genetik ma'lumot genlardagi DNK yoki RNK molekulalarining maxsus funktsional hududlarida nukleotidlar ketma-ketligi - genetik kod yordamida kodlangan oqsillarning tuzilishi haqidagi ma'lumotdir. Genetika, genomika yoki gen muxandisligida olib boriladigan tajribalar ma'lum model yoki muhitda o'tkaziladi.

In vitro lotincha so'zdan olingan bo'lib, "probirka ichida" ma'nosini anglatadi - bu tajribalarni o'tkazish texnologiyasi, tajribalar "sinov probirkasida" - tirik organizmdan tashqarida o'tkaziladi. Umumiy ma'noda, bu atama *in vivo* jonli organizmga odamlarda yoki hayvonot modelida eksperimentga qarshi holda olib boriladi. Molekulyar biologiya, biokimyo, farmakologiya, tibbiyot, genetika va boshqalar bilan bog'liq ko'plab tajribalar organizmdan tashqarida, tirik hujayralar kulturasida yoki hujayrasiz modelda amalga oshiriladi.

In vivo lotin so'zidan olingan bo'lib- so'zma-so'z "tiriklikda" ma'nosini anglatadi, ya'ni tajribalar "tirik organizm ichida" yoki "hujayra ichida" olib boriladi.

Amplifikatsiya- lotincha "amplification" - kuchaytirish, ko'payish, molekulyar biologiyada - xromosoma DNK qismlarining qo'shimcha nusxalarini shakllantirish jarayoni, odatda tarkibida ba'zi genlar yoki strukturaviy geteroxromatin segmentlarini ko'paytirish tushuniladi. Amplifikatsiya - bu o'sma hujayralarining rivojlanishi paytida onkogenlarning faollashuv mexanizmlaridan biri, masalan, neyroblastomaning rivojlanishi paytida N-myc onkogen bolalarda to'qima saratonining eng keng tarqalgan shaklini misol keltirish mumkin. Shuningdek, amplifikatsiya - PZR - polimeraza zanjiri reaksiyasi paytida ma'lum bir nukleotid ketma-ketligi nusxalarini ko'paytirish bosqichi hisoblanadi. Bugungi kunda genomika sohasining qo'yidagi bo'limlari mavjud:

Strukturaviy genomika - bu genom ma'lumotlarining mazmuni va tashkil etilishi. Maqsad ma'lum tuzilishga ega bo'lgan genlarni o'rganish, ularning funksiyasini tushunish, shuningdek "asosiy" oqsil molekulalarining fazoviy tuzilishini va uning o'zaro ta'sirini aniqlashdir.

Funksional genomika - bu gendan xususiyatga qadar genomda qayd etilgan ma'lumotlarning amalga oshirilishi.

Qiyosiy genomika (evolyutsion) - turli organizmlar genamlari tarkibi va tashkil etilishini taqqoslovchi tadqiqotlar asosida olib boriladi. To'liq genom ketma-ketliklarini olish turli xil tirik organizmlar genamlari o'rtasidagi farqlar darajasini yoritib berdi. Allellar bir xil genning gomologik xromosomalarning bir xil bo'limlarida lokuslarida joylashgan va bir xil belgi rivojlanishining muqobil variantlarini belgilaydigan turli shakllari. "Allel" atamasi V. Yoxansen tomonidan 1909 yilda taklif qilingan. Genomdagi o'zgarishlar mutatsiyalar orqali sodir bo'ladi. Evolyutsion taraqqiyotda ushbu jarayonlar turlar hosil bo'lishida va jinsiy ko'payish asosida bio xilma-xillikning rivojlanishiga olib kelgan. Mutatsiya lotin so'zidan olingan bo'lib, *mutatio* - o'zgarish ma'nosini anglatadi - tashqi yoki ichki muhit ta'sirida yuzaga keladigan genotipdagi doimiy, ya'ni ma'lum bir hujayra yoki organizmning avlodlariga irsiylanishi mumkin bo'lgan o'zgarish hisoblanadi. Bu atama Gyugo de Friz tomonidan taklif qilingan. Mutatsiyalar paydo bo'lish jarayoni mutagenez deb ataladi. Mutatsiyalar eng ko'p tarqalgan turlariga quyidagilar kiradi:

Translokatsiya - bu xromosomaning bir qismi homolog bo'lmagan xromosomaga o'tadigan xromosoma mutatsiyasining bir turi. Duplikatsiya lotinchadan "duplication" - ikki baravar ko'payish - xromosomalarning tuzilishini buzadigan mutatsiya turi hisoblanib, bu genlarni o'z ichiga olgan xromosoma mintaqalarining takrorlanishi. Bu barcha xromosomalarning gomologik rekombinatsiyasi, retrotranspozitsiyasi yoki takrorlanishidagi xatolardan kelib chiqishi mumkin.

Deletsiya bu lotin so'zidan olingan bo'lib, "deletion" - qisqarish ma'nosini anglatadi, bunda xromosomaning qayta tashkil etilishi yuz berib, unda

xromosomaning bir qismi yo'qoladi. Xromosomaning qisqarishi orqali buzilishi yoki tengsiz irsiylanish natijasida bo'lishi mumkin. Yo'qotilgan xromosoma mintaqasining pozitsiyasi bo'yicha qisqarishlar ichki -interstitsial va terminal deb tasniflanadi.

Proteomika inglizcha so'zdan olingan bo'lib, *Proteomics*- molekulyar biologiyaning oqsillarni aniqlash va miqdoriy tahliliga bag'ishlangan sohasi hisoblanadi, boshqacha aytganda, oqsillarni yuqori samaradorlik bilan o'rganishdir. "Proteomika" atamasi 1997 yilda taklif qilingan. Barcha hujayra oqsillarining umumiy miqdori proteom deb ataladi.

Oqsillar va ularning tirik organizmlarda, shu jumladan odamlarda o'zaro ta'sirini o'rganish proteomika fan soxasi tomonidan olib boriladi. Proteomika bo'yicha olimlar oqsillarning "sintezi", ularning parchalanishi va organizmdagi sintezlanmaydigan oqsillarni almashtirish bilan shug'ullanishadi. Shuningdek, oqsillar organizmda sintezlangandan keyin qanday o'zgarishlarga uchrashi mumkin bo'lgan jarayonlar tadqiqot qilinadi. An'anaga ko'ra oqsillarni o'rganish biokimyo bo'limlaridan biridir, ammo inson genomi DNKsi va boshqa bir qator organizmlarning tuzilishi aniqlagandan so'ng, tadqiqotchilar oqsillarni o'rganish soxasida yangi molekulyar usullarni qo'llanilishi bilan birga yangi termin proteomika paydo bo'ldi. Xususan, insonning barcha oqsillari tuzilishi va ularning standart sharoitlarda olingan proteolitik bo'laklari haqida keng ma'lumotlar bazalari rivojlandi. Bu oqsillarni bir xil sharoitda olingan proteolitik qismlarini molekulyar og'irligi bo'yicha aniqlashga imkon beradi.

Proteomika hujayra, to'qima yoki organizmda mavjud bo'lgan oqsillar turini o'rganadi. Birinchi proteomika usullari, masalan, Edmanning oqsillar ketma-ketligi texnologiyalari genom texnologiyalardan ancha oldin paydo bo'lgan bo'lsa-da, haqiqatan ham oqsillarni yuqori o'tkazuvchanligi faqat post-genom davrida, ya'ni turli organizmlar genomlarining ma'lum nukleotidlar ketma-ketligi aniqlangandan son'ng mumkin bo'lgan.

Shunga ko'ra, proteomika genomikaga qaraganda ob'ektiv jihatdan murakkabroq, chunki organizm genomi ko'p hollarda hayot davomida o'zgarmaydi, lekin uning barcha oqsillari doimiy ravishda o'zgarib turadi. Hatto bitta organizmning har xil tipdagi hujayralari proteomlari farq qiladi. Bundan tashqari, proteomni o'rganish boshqa holatlar bilan murakkablashadi, masalan, ko'plab oqsillar translyatsiyadan keyingi o'tadigan modifikatsiyalarga asosan, proteomika bo'limlari translyatsiyadan keyingi modifikatsiyani o'rganish bilan shug'ullanadi-fosfoproteomika va glikoproteomika. Ko'pgina oqsillarning faolligi uchun boshqa oqsillar va RNK bilan o'zaro aloqalar juda muhimdir, bu ularning identifikatsiyasini ham qiyinlashtiradi. Va nihoyat, ba'zi oqsillar shu qadar qisqa vaqt ichida mavjud bo'lib, shunchalik tez parchalanadiki, ularni mavjud usullar yordamida o'rganish juda qiyin.

Proteomika usuli bilan olingan ma'lumotlar turli xil kasalliklarning sabablarini, masalan, neyrodegenerativ kasalliklar sabablarini, shuningdek davolash usullarini chuqurroq anglashni shakllantirish uchun ishlatilishi mumkin. Proteomika yangi vaksinalar yaratish uchun mos antigenlarni izlash bilan shig'ullanadi. Turli xil saraton kasalliklarida maxsus oqsillarni aniqlash biomarker diagnostikasi, saraton kasalliklarini tashxis qilishda va davolash uchun katta ahamiyatga ega.

Proteomika tarixi 1950 yilda, Edman oqsillarni sekvenirlash usulini taklif qilganida boshlanadi. 1958 yilda Frederik Senger tadqiqot guruhi insulinning aminokislotalar ketma-ketligini aniqladi. 1959 yilda immunotahlil usuliga asos solindi, bu usul oqsillarni o'rganish uchun katta ahamiyatga ega edi. 1967 yilda Edman usuli yordamida oqsillarning aminokislota ketma-ketligini aniqlaydigan birinchi avtomat sekvenator yaratildi. 1970 yilda Laemmli denaturasiya uslubi asosida poliakrilamidli gel elektroforez yordamida oqsillarni ajratish usulini taklif qildi va 1975 yilda uning asosida ikki o'lchamli elektroforez texnikasi ishlab chiqildi. 1984 yilda elektrosprey ionizasiya usuli ixtiro qilindi, bu oqsillarni mass-spektrometriya uslubi yordamida o'rganish imkonini berdi va 1985 yilda MALDI ionlash usuli taklif qilindi. MALDI- *Matrix-assisted laser desorption/ionization*

ingliz so'zidan olingan bo'lib, matrisali-faollashgan lazerli desorbsiya-ionlanish ma'nosini anglatadi, ya'ni tahlil qilinayotgan modda va matritsaga lazer nurlari impulslarini ta'sir qilishi asosida ionlanish yuzaga kelishi natijasida amalga oshiriladi.

1994 yilda mass-spektrometriya bo'yicha olingan ma'lumotlar asosida shakllangan birinchi peptid xaritalari paydo bo'ldi. 1996 yilda aspirant Mark Uilkins "proteome" atamasini kiritdi va keyingi yil "proteomika" atamasi paydo bo'ldi. 1999 yilda fragmentlarni bashorat qilish uchun birinchi dasturlar paydo bo'ldi, ularning massalari oqsillar ketma-ketligi bo'yicha mass-spektrometriya yordamida aniqlandi. 2001 yilda дробовик uslubi asosida proteomika sohasining rivojlanishiga asos solindi va 2014 yilga kelib ushbu usul bitta namunada 20 ming odam oqsilini aniqlashga imkon berdi. Hozirgi vaqtda nafaqat mass-spektrometriyaning har xil turlari kabi proteomika usullarini ishlab chiqish va takomillashtirish, balki proteomik ma'lumotlarni izohlash uchun yangi dasturlar ham mavjud. Proteomika sohasida eng dolzarb muammolardan biri bu oqsil iosintezi va uning genetic boshqarilishi muammosi hisoblanadi.

Oqsil biosintezi - mRNK va tRNK molekulalari ishtirokida ribosomalarda paydo bo'ladigan aminokislotalardan polipeptid zanjiri sintezining murakkab ko'p bosqichli jarayoni. Protein biosintezi jarayoni sezilarli energiya sarfini talab qiladi. Oqsillar yuqori molekulyar organik moddalar bo'lib, ular zanjirga peptid bog'lari bilan bog'langan alfa-aminokislotalardan iborat. Tirik organizmlarda oqsillarning aminokislota tarkibi genetik kod bilan aniqlanadi, aksariyat hollarda 20 ta standart aminokislotalar sintezda ishlatiladi. Ularning ko'plab birikmalari oqsil molekulalarining turli xil xususiyatlarini beradi. Bundan tashqari, oqsil tarkibidagi aminokislotalar ko'pincha translyatsiyadan keyingi modifikatsiyani boshdan kechiradi, bu ham protein o'z vazifasini bajara boshlashidan oldin, ham hujayradagi "vazifasi" paytida yuz berishi mumkin. Ko'pincha, tirik organizmlarda bir nechta oqsil molekulalari murakkab komplekslarni, masalan, fotosintez kompleksini hosil qiladi.

Oqsillarni o'rganish usullari. Oqsillarni o'rganishda an'anaviy yondashuv ularni to'qima va hujayralardan ajratib olishni, keyinchalik tozalashni o'z ichiga oladi, buning natijasida tozalangan oqsilning tuzilishi va funktsiyasini tahlil qilish mumkin bo'ladi. Proteomika boshqacha yondashuvni qo'llaydi: hujayraning tarkibidagi barcha oqsil tarkibini bir bosqichda ko'rish va tahlil qilish mumkin. Bu mass-spektrometriya va ikki o'lchovli elektroforez kabi usullar va texnologiyalar paydo bo'lishi va rivojlanishi tufayli mumkin bo'ldi. Biroq, proteomika usullari bu ikki misol bilan cheklanib qolmaydi.

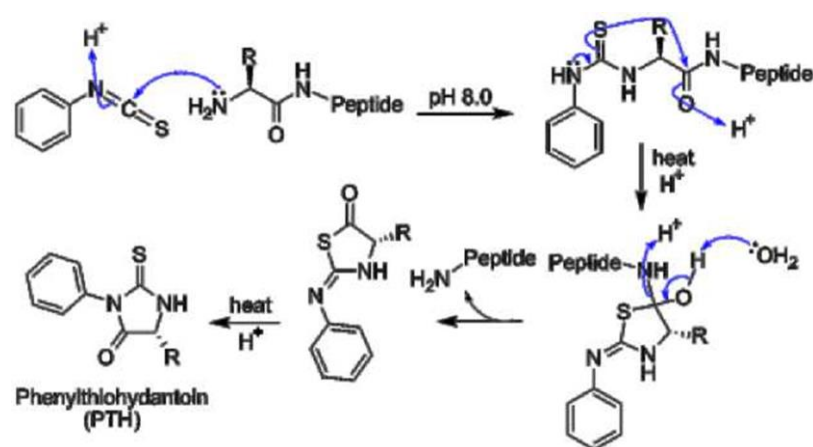
Edman usuli. *Edmanning degradatsiyalash* usuli peptidlarning birlamchi ketma-ketligini aniqlashning eng qadimgi usullaridan biridir. 1950-1956 yillarda shved biokimyosi Pyer Viktor Edman tomonidan ishlab chiqilgan. Usulning mohiyati o'rganilayotgan peptidni ma'lum reaktivlar to'plami bilan qayta ishlashdan iborat bo'lib, bu ketma-ketlikning N-uchidan bitta aminokislotalarni chiqarib tashlashga olib keladi. Reaksiyani siklik takrorlash va reaksiya mahsulotlarini tahlil qilish peptiddagi aminokislotalarning ketma-ketligi to'g'risida ma'lumot beradi. Edman usuli yigirmanchi asrning ikkinchi yarmida keng tarqaldi. Hozirgi vaqtda usulning o'ziga xos kamchiliklari - reaksiyaning miqdoriy bo'lmagan yo'nalishi, bir nechta jarayonlar tufayli amalda qo'llanilmaydi.

1953 yilda Frederik Senger insulin gormoni aminokislotalar ketma-ketligini aniqladi. N-terminal qoldig'ini nishonlash va identifikatsiyalash uchun Senger 1-ftor-2,4-dinitrobenzoldan foydalanishni taklif qildi. Oqsilning N-terminal qoldig'i ushbu reagentga bog'langandan so'ng, polipeptid zanjiri xlorid kislota bilan alohida aminokislotalarga gidrolizlanadi va belgilangan qoldiq aniqlanadi. Agar oqsil bir nechta polipeptid zanjiridan iborat bo'lsa, u holda ikkala N-terminal qoldiqlari belgilanadi, ya'ni oqsil tarkibidagi individual polipeptid zanjirlari soni aniqlanadi. Barcha oqsillar ketma-ketligini ketma-ketlashtirish uchun ko'pincha Edmanning sekvens usuli qo'llaniladi. 1960-yillarda Edman uslubini amalga oshiradigan avtomat sekvenatorlar yaratildi. Sengerni aniqlashi uchun 10 yildan ko'proq vaqtni

talab qilgan insulinning birlamchi tuzilishini endi bir necha kun ichida proteinlarni to'g'ridan-to'g'ri sekvenirlanish yo'li bilan olish mumkin.

Hozirda Edman usuli genom ketma-ketligi noma'lum bo'lgan organizmlarni o'rganishda kamdan-kam qo'llaniladi. An'anaviy oqsillar ketma-ketligi, ularning ko'pgina xususiyatlarini masalan, translyatsiyadan keyingi modifikatsiyalar, genlar ketma-ketligining tanib bo'lmaydigan qismlarini o'rganishda ishlatiladi.

Aksariyat oqsillarni ketma-ketligini aniqlashdan oldin maxsus usulda tayyorlash kerak. Birinchidan, oqsil tarkibidagi disulfid bog'lanishlari, kislota bilan oksidlanish yoki, ditiotreitol bilan qaytarilish reaksiyasi natijasida yo'q qilinadi.



24-rasm. Edman uslubida oqsilning feniltiogidantoin N-uchini aniqlash

Bundan tashqari, oqsil zanjiri maxsus proteazalar tomonidan bo'laklarga bo'linadi, chunki uzun oqsillarni ketma-ketligi past darajadagi aniqlikka ega. Odatda, gidroliz uchun tripsin fermenti ishlatiladi, ushbu ferment lizin yoki arginin qoldig'iga tegishli bo'lgan peptid bog'lanishlariga ta'sir qiladi.

Shuning uchun, to'liq gidroliz paytida oqsil tarkibidagi lizin va arginin qoldiqlari soni tripsin orqali aniqlansa, hosil bo'lgan bo'laklar sonini taxmin qilish mumkin bo'ladi. Olingan bo'laklar elektroforez yoki xromatografiya usuli bilan qo'shimcha ravishda tozalanadi va Edmanga ko'ra ketma-ketlik hosil bo'ladi. Oqsil bo'laklarini ajratib ketma-ketliklarni olish uchun tripsin tomonidan aniqlanadigan qismlar va oqsilning boshqa qoldiqlarini taniy oladigan maxsus ferment bilan bo'laklarga bo'linadi. Olingan ikki hil bo'laklar umumiy oqsilning ketma-ketligiga asoslanib, oqsilning to'liq aminokislotalar ketma-ketligi tiklanadi.

Ikki o'lchamli gel elektroforez

1970-80 yillarda oqsillarni ajratish va tozalash usullari rivojlandi. Ushbu usullar xromatografiya va elektroforez uslublarining prinsiplarini birlashtirdi, ularning ko'plari uzoq vaqtdan beri ishlatilmay qolgan, ammo ba'zilari hali XXI asrda ishlatilmoqda. 1970 yilda shveytsariyalik olim Ulrix Laemmli denaturatsiya asosida oqsillarni elektroforez bilan ajratish usulini taklif qildi. Birinchidan, oqsillar molekulyar massasiga ko'ra, qatlamlar shaklida natriy dodesil sulfating. *Natriy dodesil sulfat*, SDS ta'sirida denaturatsiyaga uchratilgan. Oqsil qancha ko'p bo'lsa, SDS shuncha ko'p bog'lanadi va ularning kompleksi shunchalik salbiy zaryadga ega bo'ladi. Shuning uchun, namunalar poliakrilamid gelida tekshirilganda, ular elektr maydon ta'sirida harakatlana boshlaydilar, oqsil molekulalarining harakatlanish tezligi ularning massasiga bog'liq, yengil oqsillar gel bo'ylab tezroq harakatlanadi. Ushbu uslubda molekulyar massasi 5 dan 250 kDa gacha bo'lgan oqsillarni ajratish uchun juda mos keladi. Laemmli usuli yanada rivojlantirildi, 1975 yilda Patrik O'Farrell va Yoaxim Kloz mustaqil ravishda ikki o'lchamli elektroforez usulini taklif qilishdi. SDS yordamida ajratishdan oldin oqsillarni izoelektrik nuqtalariga ko'ra oldindan ajratiladi. Birinchidan, oqsillar statsionar pH ko'rsatkichiga ko'ra, maxsus polimerlar bilan to'ldirilgan shisha naychaga kiritiladi. Oqsillar naycha orqali taqsimlanadi, pH ko'rsatkichiga ko'ra, oqsillar izoelektrik nuqtasiga teng bo'lgan maydonlarga joylashadi. Keyinchalik, naychaning tarkibi ajratiladi va an'anaviy Laemmli boyicha gelda elektroforez o'tkaziladi. Shunday qilib, oqsillar avval izoelektrik nuqtaga, so'ngra molekulyar massasiga ko'ra bo'linadi. Ikki o'lchamli elektroforez usulida oqsillar an'anaviy elektroforezdagi kabi tasma bilan emas, balki oqsil konsentratsiyasiga to'g'ri keladigan bo'yalish intensivligi orqali aniqlanadi. Ikki o'lchamli elektroforez yordamida nafaqat turli xil oqsillarni, balki bir xil oqsilning izoformalarini, shuningdek, translyatsiyadan

keyingi modifikatsiyalari har xil bo'lgan oqsil shakllarini ajratish mumkin. Ikki o'lchamli elektroforez texnikasini turli xil takomillashtirish taklif qilindi, uning ba'zi bosqichlari, shuningdek gell skanerlarni qayta ishlash tizimlari avtomatlashtirildi. Aslida, ikki o'lchamli elektroforez - bu proteomni tasavvur qilishning yagona usuli hisoblanadi.

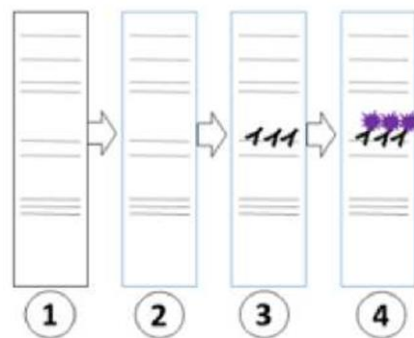
Western blotting uslubi. Ba'zi hollarda organizmlardan izolyatsiya qilingan hujayra oqsillarini ma'lum hujayra antitanalar bilan o'zaro ta'sir qilishini aniqlash uchun Western blotting usuli qo'llaniladi. Western blot yoki immunoblot uslubi oqsillarni antitanalar orqali aniqlashga asoslangan. Reaksiya birinchi bosqichida poliakrilamid gelida denaturasiyaga uchragan oqsillar uzunligi bo'yicha yoki oqsil nativ holati uchlamchi strukturasiga ko'ra, SDS tasirida elektroforez o'tkaziladi. Keyinchalik oqsillar natriysellyulozaali yoki PVDF- membranalariga o'tkaziladi va oqsillarga nisbatan maxsus bo'lgan monoklonal yoki poliklonal antitanalar yordamida deteksiya qilinadi (25-rasm). Western blotting molekulyar biologiya, biokimyo, genetika va boshqa sohalarga keng qo'llaniladi. Xuddi shunga o'xshash, immunoenzim- ELISA yoki immunobo'yash uslublari ham oqsillarni maxsus antitanalar yordamida aniqlashda ishlatiladi. Western blotting uslubi George Stark tomonidan Stenford Univeriteti laboratoriyasida ishlab chiqilgan bo'lib, western blot nomlanishi W.Neal Burnett tomonidan berilgan. Uslub nomlanishi southern-blotting DNK ni aniqlash texnologiyasini aniqlagan Edvin Southern nomiga atalgan va western-blotting uslubi shunga asosan nomlangan. Huddi shuningdek, analogiyada RNK ni aniqlash uslubi Northern-blotting deb ataladi va oqsillar modifikasiyasining post translyasion deteksiyasi uslubi Eastern blotting deb nomlanadi (26-rasm).



25-rasm. Ikki o 'lchamli elektroforez

Mass-spektrometriya. Mass-spektrometriya o'rganilayotgan birikmalarning molekulyar og'irligini aniqlashga qaratilgan bir qator usullarni o'z ichiga oladi. U biologiyada, ayniqsa proteomikada keng qo'llanilishini mumkin. Mass-spektrometriya, mass -spektografiya yoki mass-spektrometrik tahlillarini o'z ichiga oladi va moddalarning kimyoviy, elementli va izotop tarkibiga qarab bu moddalarning konsentrasiyasini aniqlashda va identifikatsiya qilishda qo'llaniladi.

O'lchash asosini komponentlar ionizatsiyasi xizmat qiladi va massaning zaryadga nisbati asosida modda tarkibini tashkil etuvchi komponentlarni aniqlash, ion tokining intensivligini o'lchash va modda tarkibidagi har bir komponentning hissasini hisoblab chiqish, ya'ni moddaning mass-spektrini aniqlash tashkil qiladi. Har bir komponentning kimyoviy tabiatiga ko'ra, kelib chiqishi va o'ziga xos xususiyatlarga ega bo'lishini hisobga olsak, mass- spektrometriya tibbiyotda, biologiya va sanoatda katta ahamiyatga egadir. Mass- spektrlarni hosil qilish uchun birinchi navbatda, organik yoki noorganik moddani tashkil etuvchi neytral molekula va atomlarni zaryadlangan ionlarga aylantirish lozim. Bu jarayonga ionizatsiya deb ataladi, organik va noorganik moddalar uchun turlicha o'tkaziladi. Ikkinchi navbatda, asosiy shartlardan biri mass- spektrometrning vakuum qismida ionlarni gaz holatiga o'tkaish lozim bo'ladi. Mass-spektrometrlardagi vakuum qismlari chuqur bo'lib, ionlar uning ichida to'siqsiz bemaolol harakat qiladi, agar mass-spektrometrlarda vakuum qismlari bo'lmasa, ionlar tarqalib ketadi va rekombinatsiyaga uchraydi, y'ni qaytadan zaryadlanmagan holatga qaytadi. Ko'pgina katta molekulyar massaga ega bo'lmagan molekulalar faqatgina bitta musbat va manfiy zaryadga ega bo'lishi



26-rasm. Western blotting sxemasi. Oqsillar elektroforez (1) bilan ajralib, membranaga (2) o'tkaziladi. Keyin membrana birinchi (3) va ikkinchi (4) antitanalar bilan ishlanadi, shundan keyin antitanalar bilan bog'langan oqsillar aniqlanadi.

mumkin. Molekula qanchalik katta bo'lsa, shunchalik ionizasiya vaqtida ko'p zaryadli ionga aylanish ehtimoli mavjud. Shuning uchun, bunday samara katta molekulalarda, masalan oqsillar, nuklein kislotalar va polimerlarda namoyon bo'ladi. Ionizasiyaning ayrim turlarida, masalan elektronlar bilan ta'sir ettirilganda, molekulalar bir nechta xarakterli qismlarga ajralishi mumkin, ushbu holat qo'shimcha identifikasiya qilish va noma'lum strukturalarni o'rganish imkonini beradi.

1980-yillarda mass-spektrometriya asosida molekulalarning nurga sezgir bo'lgan organik moddalar- matritsalar ishlatila boshlandi, shu bilan birga lazer yordamida ionlashtiruvchi usul ishlab chiqildi. Matritsa o'rganilayotgan moddaning molekulalarini o'rab oladi va lazer ta'sirida qo'shni molekulalarni ionlashtiradi. Yangi ionlash usuli an'anaviy mass- spektrometr detektori bilan birlashtirildi- MALDI-TOF deb atala boshladi. Ushbu detektorda ionlar vakuum trubkasida harakatlanib, detektor bo'lgan sezgir plastinkaga yetib boradi. Ion naychaning uzunligini bosib o'tadigan vaqt uning massasiga teskari proportsionaldir. 1990-yillarda va 2000-yillarning boshlarida oqsillarni o'rganish uchun MALDI-TOF usuli juda faol ishlatilgan. MALDI-TOF yordamida patogen mikroorganizmlarni aniq tur va turga qarab aniqlash mumkin. Proteomikani saraton kasalliklarini tashxislash uchun oqsil biomarkerlari tahlili yordamida, shuningdek o'smaning malignanlik darajasini aniqlash imkoniyati o'rganilmoqda. Ushbu yo'nalishda allaqachon ma'lum yutuqlarga erishilgan. Masalan, Qo'shma Shtatlarda 2015 yilda ishlab chiqilgan Xpresys Lung testiga ruxsat beriladi, unda bir nechta plazma oqsillarining maqsadli mass-spektrometriyasidan foydalaniladi va o'pkada o'sma tugunlarining malignanligi darajasi baholanadi.

Proteomikaning so'nggi yutuqlari - mass-spektrometriya, organellalar oqsillari va membrana oqsillarini ajratish - yurak proteomini o'rganish va modifikatsiyalangan oqsillarni aniqlash shuningdek, ularning modifikatsiyasining xususiyatini aniqlash imkoniyatini yaratishi mumkin. Yurak proteomidagi

ma'lumotlar turli yurak-qon tomir kasalliklari mexanizmlarini tushunishga yordam beradi.

Proteomikada bioinformatika. Mass-spektrometriya va chiplar yordamida oqsil bo'laklari haqida ma'lumot olish mumkin, lekin ushbu uslublar oqsillarning to'liq strukturasi haqida ma'lumot bera olmaydi. Shu munosabat bilan, bugungi kunda mass-spektrometriya ma'lumotlari va mikrosxemalardan o'rganilgan oqsil bo'laklaridan deyarli to'liq yig'ilgan oqsillar to'g'risida ma'lumot beradigan dasturlar yaratildi. Ushbu dasturlar UniProt va PROSITE ma'lumotlar bazalari asosidagi oqsillar kichik ketma-ketliklarining tahrirlariga asoslangan. Oqsillarni tahlil qiladigan dasturlarning aksariyati ularning translyatsiyadan keyingi modifikatsiyasini hisobga olmaydi. Translyatsiyadan keyingi modifikatsiyani aniqlaydigan mavjud vositalar faqat taxminiy xarakterga ega.

Biomarker oqsillarini o'rganish uchun bioinformatikaning hisoblash usullari faol qo'llaniladi. Shunday qilib, kompyuter modellari yordamida homiladorlik paytida ona organizmi va homila o'rtasida intensiv ravishda oqsil almashinuvini ko'rsatish mumkin va tahlil uchun onadan faqat invaziv bo'lmagan qon namunalari talab qilinadi. Genom ketma-ketliklaridan olingan ma'lumotlarni tasdiqlash uchun proteomika usullaridan foydalanadigan proteogenomika kabi yo'nalish rivojlanmoqda. Shuningdek, rentgen difraksiyasini tahlil qilish va NMR spektroskopiyasi ma'lumotlari asosida oqsil tuzilmalarini keng miqyosda o'rganish bilan shug'ullanadigan tarkibiy proteomika mavjud.

Proteomika va tizimlar biologiyasi. Miqdoriy proteomikaning so'nggi yutuqlari tizimlarni chuqur tahlil qilish uchun ishlatishga imkon beradi. Turli xil ta'sirlarga, tashqi omillarning harakatlari, hujayra tsiklining turli bosqichlari bilan bog'liq holda hujayra fiziologiyasining o'zgarishiga javoban biologik tizimlarning xatti-harakatlarini ta'riflash ko'plab biologik jarayonlarning mohiyatini chuqur anglashga imkon beradi. Shu tufayli proteomika genomika, transkriptomika, epigenomika, metabolomika kabi ilmiy yo'nalishlar - tizimlar biologiyasiga kiritilgan. Shunday qilib, saraton hujayralari proteomining atlasini, inglizcha

Proteome Cancer Atlas tarkibida ushbu oqsillar uchun genom va transkriptom ma'lumotlarni o'z ichiga olgan, saraton genom atlasini ing. *The Cancer Genome Atlas* da taxminan 200 dan ortiq 4000 dan ortiq tahlil qilingan o'sma namunalaridagi oqsillarning ekspressiyasi to'g'risida miqdoriy ma'lumotlar mavjud. Proteomika usullari asosida ishlab chiqilgan dori-darmonlarning maqsadga muvofiqligini tasdiqlash, biomarkerlarning samaradorligini aniqlash va dori ta'sir mexanizmi va uning toksikligini o'rganish uchun ishlatiladi. Bir-biri bilan bog'liq bo'lmagan ikki organizmning proteomlarini taqqoslash, bu ikki organizm uchun umumiy bo'lgan ikkala oqsilni va ularning fenotiplaridagi farqlarni aniqlaydigan oqsillarni aniqlashga imkon beradi. Bunday tahlil evolyutsion jarayonni tushunish uchun foydali bo'lgan ma'lumotni berishi mumkin va ba'zida bu oqsillarning ilgari noma'lum funktsiyalarini aniqlashga imkon beradi.

“Inson genomi” loyihasi



27-rasm. “Inson genomi” loyihasi logotipi

Inson Genom loyihasi (ingliz tilidan, *Human Genom Project* , *HGP*) - Xalqaro ilmiy-tadqiqot loyihasi bo'lib, uning asosiy maqsadi DNK tarkibiga kiruvchi nukleotidlar ketma-ketligini va inson genomini tashkil qilgan 20-25 ming genlarni aniqlash bo'ldi (20- rasm). Ushbu loyiha biologiya sohasida o'tkazilgan eng yirik xalqaro xamkorlik munosabatlaridan biri hisoblanadi. Loyiha 1990 yilda Jeyms

Uotson rahbarligida, AQSH lari Sog'liqni saqlash Milliy

Tashkiloti tomonidan o'z faoliyatini boshlagan. 2000 yilda genom tuzilmasining qoralama ishchi varianti ishlab chiqildi va 2003 yilda to'liq genom tuzilmasi taqdim etildi, lekin bugungi kunga qadar genom ayrim qismlarining to'liq tahlillari tugatilmagan. Celera Corporation xususiy kompaniyasi tomonidan parallel ravishda xuddi shunday analogik loyiha ishga tushirilgan edi, ushbu loyiha “Inson genomi” loyihasidan sal ilgari faoliyatini tugatgan. Sekvenirlash ishlari asosan AQSH, Kanada, Buyuk Britaniya davlatlarining universitetlari va tadqiqot markazlarida

o'tkazilgan. Inson genlarini aniqlash kabi fundamental ahamiyatga ega bo'lgan tadqiqotlardan tashqari, sog'liqni saqlash sohasida yangi dorivor vositalarni yaratish va boshqa yo'nalishlarini rivojlantirish sohasida ko'p ishlar qilindi. Loyiha maqsadiga ko'ra, inson turi genomi genlarini aniqlash, tahrirlash va tushunish ishlari bilan bog'liq bo'lsada, boshqa organizmlar, ayrim bakteriyalar shu jumladan, *Escherichia coli*, hasharotlardan drozofila, va sut emizuvchilarga mansub bo'lgan uy sichqoni genomi ham tadqiq qilindi. Loyiha faoliyatining bo'shlag'ich davrida inson gaploid genomini tashkil etuvchi uch milliardga yaqin nukleotidlarni aniqlash rejalashtirilgan. Keyinchalik bir nechta tadqiqot guruhlarini sekvenirlash ishlari kengaytirish maqsadida, bir nechta xalqaro loyihalar HapMap, «Applied Biosystems», «Perlegen», «Illumina», «JCVI», «Personal Genome Project» va «Roche-454» inson diploid genomi ishlari olib borishdi. Har bir tirik organizm - bitta tuxumdan rivojlangan egizaklar va klonlangan hayvonlar bundan mustasno bo'lib, loyiha ishlari inson genomini ketma-ketliklarini aniqlash, har bir gen variatsiyasini sekvenirlash ishlari o'z ichiga oldi. Lekin, "Inson genomi" loyihasi hujayralar tarkibini tashkil etuvchi hamma DNK larning ketma-ketligini aniqlash kirmagan, balkim genom ayrim geteroxromatin qismlarni sekvenirlash ishlari tashkil qilgan va hozirga qadar 8% ga yaqin qismlari sekvenirlanmagan.

Ushbu loyiha AQSH Energetika vazirligi tomonidan qo'llab-quvvatlangan bir necha yillik ishlarning , xususan 1984 va 1986 yillarda bo'lib o'tgan seminarlarning va Energetika Vazirligining qo'llab quvvatlashi natijasida faoliyat boshlaydi. 1987 yildagi hisobotlarga ko'ra "Bu harakat yakuniy maqsadi inson genomini tushunishdan iborat" "Inson genomini bilish tibbiyot sohasining va sog'liqni saqlash borasidagi boshqa fanlarni rivojlanishi uchun zarur" deb ko'rsatilgan. Ushbu vazifalarni hal etish uchun muhim bo'lgan texnologiyalarni yaratish 1980 yillarning ikkinchi yarmidan boshlangan.

1988 yilda Jeyms Uotson AQSH Milliy Sog'liqni Saqlash Tashkilotining (NIH) Inson genomini tadqiq qilish milliy markazining rahbari bo'lib ishlagan. 1993 yildan bo'shlab Frensis Kollinz markaz rahbari sifatida faoliyat ko'rsatadi, va

1997 markazning nomi Inson Genomini tadqiqot qilish Milliy instituti -National Human Genome Resources Institute ga o'zgartirildi.

Mazkur 3 milliard dollarlik miqdordagi loyiha 1990 yilda AQSH Energetika vazirligi va Milliy Sog'liqni saqlash Instituti tomonidan ishga tushirildi, 15 yil davom etilishi rejalashtirilgan. Bu konsorsiumga AQSH idan tashqari, Xitoy, Fransiya, Germaniya, Yaponiya va Buyuk Britaniya davlatlari qatnashgan. Keng masshtabdagi Xalqaro kooperasiya va genomika yo'nalishining sekvenirlash tadqiqot ishlari, shuningdek hisoblash texnologiyalari sohasidagi yutuqlar, genomning qoralama varianti 2000 yilda tugatilgan, AQSH ining shu davrdagi prezidenti Bill Klinton va Buyuk Britaniya premier ministri Toni Bler tomonidan 2000 yil 26 iyunda e'lon qilingan. Sekvenirlash ishlarini davom ettirish 2003 yilda olib borilgan ishlarning to'liq 2 yil oldin muvaffaqiyatli tamomlaganligi, 2006 yil may oyida " Nature " jurnalida loyihani yakunlash yo'lida yana bir muhim voqea bo'ldi, oxirgi xromosoma, 1- xromosoma ketma-ketligi to'g'risida e'lon qilinadi. Bugungi kunda inson genomining to'liq ketma-ketligi" to'g'risida ta'riflar mavjud. Ularga ko'ra, genom to'liq sekvenirlangan, boshqalariga ko'ra esa, hali ishlar davom etmoqda. Hozirgi kunda inson DNK zanjiridagi nukleotidlar qatorining navbatli ketma-ketligining tartibini aniqlash bo'yicha olib borilayotgan sekvens ihlari yakunlanmoqda, sekvens ishlarining interpretasiyasi esa hali davom etadi. Bu ishlar yakun topganda inson genomining o'qish ishlari yakun topadi. Loyiha bo'yicha inson genomini sekvens asosida o'qish ishlari 2003 yilda tugatilgan, lekin bir qancha regionlar tugatilmagan hisoblanadi:

Birinchi navbatda xromosomalarning markaziy regionlari- sentromeralar singari ma'lum bo'lib, ularda DNK ketma-ketligining takrorlanuvchi qismlari juda ko'p uchraydi, ularni zamonaviy texnologiyalar asosida sekvenirlash murakkab, bo'lib sentromeralar 1-10 million nukleotid juftliklariga ega bo'lib, ko'p qismlari sekvenirlanmagan.

- Ikkinchidan, xromosomalar uchi telomerlar deb ataladi, ular ham takrorlanuvchi nukleotidlardan iborat, shuning uchun 46 xromosomalarning

ko'pchiligida ular aniqlanmagan.

- Uchinchidan, har bir individuum genomida multigenli oilalar vakillariga ega bo'lgan bir qancha lokuslar mavjud, ularni hozirda mavjud bo'lgan DNK fragmentasiyasi uslubida aniqlash qiyin, bu genlar oilasi asosan immun tizim uchun muhim bo'lgan oqsillarni kodlaydi.

- Bu regionlardan tashqari genomda bir qancha - bo'shliqlar mavjud bo'lib, ularning ayrimlari yirik tuzilgan va aniqlash murakkab hisoblanadi.

DNK ning ko'p qismini tashkil qilgan va qolgan qismi takrorlanuvchi qismlar bo'lib, ularda genlar bo'lishi ehtimoli juda past, va hozirgacha aniq emas, sekvenirlash ishlari bu regionlarda davom etmoqda.

Maqsadi. Inson DNKsining ketma-ketligi Internet tarmogida har qanday foydalanuvchi uchun mavjud bo'lgan ma'lumotlar bazalarida saqlanadi. AQSH Milliy Biotexnologiya Axborot Markazi (va uning Evropa va Yaponiyadagi sherik tashkilotlari) genom ketma-ketliklari GenBank deb nomlanuvchi ma'lumotlar bazasida, bugungi kunda aniqlangan va gipotetik genlar va oqsillar ketma-ketligi bilan birga saqlaydi. Boshqa tashkilotlar, masalan, Santa-Kruzdagi Kaliforniya universiteti va Ensembl ma'lumotlar bazalarida qo'shimcha ma'lumotlar, annotasiyalar hamda vizualizatsiya bilan bog'liq bo'lgan ma'lumotlarni qidirish uchun kuchli dastur vositalari qo'llab-quvvatlaydi. Ma'lumotlar tahlili uchun kompyuter dasturlari ishlab chiqilgan, chunki bu dasturlarsiz ma'lumotlarni aniqlash juda murakkabdir. Genlarning chegarasini identifikatsiya qilish va DNK ketma-ketliklaridagi boshqa ketma-ketliklarini aniqlash genom annotasiyasi deb ataladi, bu soha bioinformatikagaga tegishlidir.

Ushbu jarayon kompyuterlar yordamida inson tomonidan amalga oshiriladi, lekin ular bu jarayonni juda sekin amalga oshiradi, genomlarning sekvenirlash jarayonini qisqa muddatlarda amalga oshirish maqsadida, maxsus kompyuter dasturlari ishlatiladi. Bugungu kunda annotatsiya texnologiyalari DNK ketma-ketliklari va inson tili asosida parallel olib boriladigan statistik modellarga asoslangan- informakada formal grammatika deb ataluvchi konsepsiyalari

ishlatiladi. "Inson genomi" loyihasining boshqa yana bir maqsadi- genom tadqiqotlarining etik, huquqiy va ijtimoiy asoratlarini tadqiqot qilish hisoblanadi.

Hamma insonlar qandaydir darajada noyob genom ketma-ketliklariga egadir. Shining uchun "Inson genomi" loyihasi nashr etgan ma'lumotlar aniq bir tanlab olingan insonga tegishli emasdir. Ma'lumotlar asosan ko'p bo'lmagan miqdordagi anonim donorlarning kombinirlangan genom ma'lumotlariga tegishli hisoblanadi. Olingan genom ketma-ketliklari individuumlar orasida genlarni aniqlash bo'yicha kelgusi ishlarda asos bo'lib xizmat qiladi. Asosiy ishlar asosan bir nukleotidlar polimorfizmini aniqlash tadqiqotlariga bag'ishlangan.

Loyiha o'z oldiga qo'ygan maqsadlarga muddatdan ilgari erishdi. Genomning 95% sekvenirlash ishlarini aniqlash vazifa qilib qo'yilgan edi, tadqiqotchilar sayl harakati bilan genom DNK sining 99,9% sekvenirlandi.

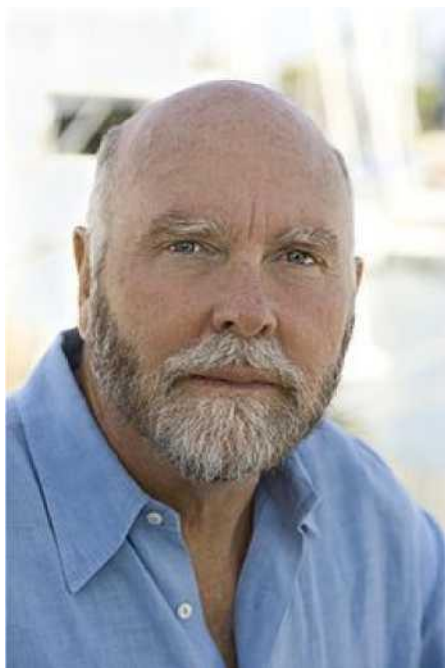
Loyiha asosan AQSH hukumati tomonidan Sog'liqni Saqlash Milliy Instituti orqali va Buyuk Britaniya Wellcome Trust sahovat mehr-muruvvat jamiyati tomonidan Senger Institutini va dunyo bo'ylab boshqa guruhlarini moliyalashtirildi. Moliyalashtirish bir qancha sekvenirlash markazlariga taqsimot qilindi, bularga: Whitehead Instituti, Senger Instituti, Sent-Luisdagi Vashington Universiteti va Baylor Tibbiyot Kollejlari kiradi.

Tadqiqot ishlrda genom katta bo'lmagan uzunlikdagi qismlarga, 150 000 juft nukleotidlar uzunligida taqsimlanadi, keyinchalik bu qismlar vektorga ulanadi va BAC deb ataluvchi sun'iy recombinant bakterial xromosoma hosil qilingan. Bu bakteriyalar gen muxandisligi uslubida bakteriyalardan yaratilgan. Genlarga ega bo'lgan vektorlarni bakteriyalarga kiritilgan va replikasiya jarayonida genlardan nusxa ko'chirilgan. Genom har bir qismlari drobovik uslubida sekvenirlangan va olingan hamma ketma-ketliklar birgalikda kompyuter matnida terilgan. Natijada butun xromosomaning tuzilishini tiklash uchun to'plangan DNKning katta bo'laklarining kattaligi taxminan 150000 tayanch juftligini tashkil etgan. Ushbu tizim "ierarxik drobovik usuli" deb nomlanadi, chunki genom avval turli

o'lchamdagi bo'laklarga bo'linadi, ularning xromosomadagi o'rni oldindan ma'lum bo'lishi kerak.

Umumiy va xususiy loyihalar ma'lumotlarini taqqoslash

1998 yilda amerikalik tadqiqotchi Kreyg Venter va uning Celera Corporation xususiy firmasi xususiy moliyalashtirish asosida genom tadqiqotlari bo'yicha ishlarni olib borgan. 1990 yillarda Milliy Sog'liqni Saqlash Institutida ishlaydi va loyihaning asosiy maqsadi sifatida genom sekvenirlash ishlarini qulay, tez va arzon moliyalashtirishga qaratadi. Genom moliyalashtirish ishlariga 300 million dollar miqdoridagi loyiha asosida ish olib boradi. Celera kompaniyasi bakteriyalarning 6 million juft nukleotidlardan iborat bo'lgan uzunlikdagi genom ketma-ketliklarni aniqlashda qo'llaniladigan Drobovik uslubidan foydalanadi, ma'lumki inson genomi 3 milliard nukleotid ketma-ketligidan iborat. 2000 yilda genom tadqiqotlari e'lon qilingan bo'lsada, Celera kompaniyasi, "Inson genomi" loyihasida faoliyat ko'rsatgan olimlar o'z ishlarining batafsil ma'lumotlarini 2001 yilda e'lon qilishdi. «Nature» jurnalining maxsus sonida davlat tadqiqotlarining natijalari va «Science» jurnalida Celera kompaniyasining tadqiqot ishlari nashr qilindi. Bu ma'lumotlarda genom 83% tadqiqot ma'lumotlarining qoralama variantlari keltirilgan bo'lib, 90% euhromatin regionlarining 150 000 bo'shliqlari, va tugallanmagan segmentlarini o'z ichiga olgan. 2003 yildan 2005 yilgacha qoralama variantlarning qayta ishlangan namunalari keltirildi va genom 92% ning aniqlangan qismlari e'lon qilindi.



“Inson genomi”- aniq organizm DNK sekvensiga mo'ljallangan, eng mashxur xalqaro genom loyihasi hisoblanadi. Xozirgi kunda inson DNK sining ketma-ketligi to'g'risidagi bilimlar juda katta foyda keltirmoqda. Biologiya va tibbiyot sohida erishilgan yutuqlardan tashqari, turli xil organizmlar modelini –drozofila, Danio rerio, achitqilar, nematodalar, ayrim o'simliklar va ko'pgina mikroblar va parazitlarni genomini

sekvenirlash fan sohasida yangiliklar olib kelishi kutilmoqda.

2004 yilda “Inson genomi” Loyihasi, Inson genomini sekvenirlash bo'yicha Xalqaro Konsorium tadqiqotchilari (ingliz tilidan International Human Genome Sequencing Consortium- IHGSC), inson genomidagi genlar soni 20 dan 25 mingtagacha ekanligi to'g'risida ma'lumot berishdi. Bundan oldingi ma'lumotlarga ko'ra, 3 dan 40 mingtagacha, loyiha ish boshlashdan oldin 2 milliongacha degan ma'lumotlar mavjud bo'lgan. Lekin hozirgi davrgacha bu sonlar o'zgarib turmoqda, va yaqin davrlargacha genlar soni to'g'risidagi ma'lumot aniq bir fikrga kelishi mumkin bo'lmaydi.

Xususiy loyiha tarixi. 1976 yila Uolter Firs va uning guruhi tomonidan Genta Universitetida (Gent, Belgiya) MS2 bakteriofagining- virus genomi to'liq aniqlandi. DNK ni fragmentlarga bo'lib aniqlash texnikasi - ingliz tilidan shotgun deb ataladi, DNK ning qisqa fragmentlari ketma-ketligi to'g'risidagi ma'lumotni genom rekonstruksiyasida ishlatilgan. Bu texnikani birinchi marta Senger Fi-X174 fagining genomini sekvenirlashda qo'llagan, 1977 yilda birinchi to'liq sekvenirlangan genom hisoblanadi. Texnika “shotgun sequencing” - drobovik uslubi deb atalgan, chunki genom ko'plab bo'lakchalarga bo'linadi. Uslubni keng miqyosda qo'llash uchun sekvenirlash va genom qayta yig'ish uchun uni avtomatlashtirish zaruriyati paydo bo'ldi va bu jarayon 1980 yilda amalga oshdi. 1995 yilda ushbu uslub birinchi 1,8 million juft nukleotidlardan iborat bo'lgan erkin yashovchi organism *Haemophilus influenzae* bakteriya genomiga, va 100 million juft asoslarga ega bo'lgan hayvon genomiga qo'llash mumkinligi ko'rsatildi. Usul avtomatlashtirilgan sekvensdan foydalanishni o'z ichiga oladi, bu esa uzunroq ketma-ketliklarni aniqlashga imkon beradi, o'sha paytda bir marta taxminan 500 ketma-ketlikka ega bo'lgan juftlik olingan. Taxminan 2000 juftlikdagi ketma-ketliklar ikki yo'nalishda "o'qildi", bu muhim elementlar bo'lib, ularning yaratilishi genomni yig'ish uchun va DNKning "contig" deb nomlanuvchi yirik mintaqalarini tiklash uchun zarur bo'lgan birinchi kompyuter dasturlarini ishlab chiqishga olib keldi.

1998 yilda ushbu uslub Celera Corporation tomonidan inson genomini o'qish uchun qo'llanilla boshladi. Ushbu uslubni qo'llashda DNK ni 2 dan 300 mingga ega bo'lgan uzunlikdagi fragmentlarga bo'lish va "DNK kutubhomsini" tashkil qilishdan iborat bo'lgan. Keyinchalik hosil qilingan 800 nukleotid qatorlariga ega bolgan fragmentlarni, har bir fragmentni ikki tomonidan avtomatik sekvenatorda o'qish amalga oshirilgan. Murakkab algoritm va superkompyuter yordamida, bo'laklar birlashtirilishi amalga oshirilgan va genom millionlab 800 nukleotid uzunligiga ega bo'lgan fragmentlardan rekonstruksiya qilingan.

Davlat va xususiy loyihalar yutuqlari yangi, yuqori avtomatlashtirilgan kapillyar DNK sekvenator *Applied Biosystems 3700* ga bog'liq bo'lgan. Ushbu sekvenator DNK zanjirlarini juda mayin ingichka kapillyar trubkadan o'tkazgan, eski sekvenator modellarida esa yassi gel ishlatilgan. Yana bir kritik omillardan biri hamma inson genomini sekvenirlash uchun, 30-50 milliongacha ketma- ketliklarni qayta ishlaydigan genom ma'lumotlarini yig'ish uchun yangi, mashtabli dastur, assembler zarurati paydo bo'ldi. Celera kompaniyasining katta masshtabli loyihalaridan biri xuddi shunday assemblerni yaratish bo'lib, genomlarni sekvenirlash uchun yuqori avtomatlashtirilgan katta fabrikasini yaratish bilan parallel ravishda olib bordi. Assemblerni ishlab chiqish Brayen Ramos rahbarligida olib borilib, assemblerning birinchi versiyasi 2000 yilda Celera kompaniyasi professor Djerald Rubin bilan kelishilgan holda, olib borildi va meva pashshasi *Drosophila melanogaster* genomi DNK sini fragmentlarga bo'lish uslubi orqali genom ketma-ketliklari o'qildi. Ushbu avtomatlashtirilgan uslub yordamida ular 130 million juft nukleotidlarni dastur orqali qayta ishladilar, va avvalgi ishlarga ko'ra 10 baravar ko'p ma'lumotlar yig'shga muvaffaq bo'lishdi. Bir yildan so'ng Celera Corporation inson genomining 3 milliard juft nukleotidga ega bo'lgan genom ma'lumotlarini e'lon qilishdi.

"Inson genomi" davlatlararo loyihasida, IHGSC tadqiqotchilari ko'pgina insonlardan donor sifatida ayollar qon namunalari va erkaklarning sperma namunalaridan genom izlanishlarida qo'llanilgan. Lekin olingan namunalardan

faqatgina ayrimlari DNK tadqiqotlarida ishlatilgan. Shunga ko'ra donorlar shaxsi anonim xolda saqlangan, xattoki olimlar donorlar haqidagi ma'lumotga ega bo'lishmagan. Umumiy loyiha ishlarida turli xil DNK kutubxonasining klonlari tadqiq qilingan. Bunday kutubxonalarning ko'pchiligi doktor Piter J. De Jong tomonidan tuzilgan. Norasmiy ma'lumotlarga ko'ra, genetiklar jamiyatida davlat loyihasida DNK tadqiqotlari uchun Buffalo shahrida istiqomat qiluvchi erkak DNK si ishlatilgan- kodli nomi RP11. "Inson genomi" loyihasi tadqiqotchilari tanlanma asosda tanlangan 20 ta donor ichidan ikkita erkak va ikkita ayol donორlarning oq qon hujayralarini ishlatishgan, har bir donor DNK kutubxonasi uchun manba bo'lib qolgan. Kutubxonalardan RP11 donorining ma'lumotlari sifatii ko'rasatichlariga qarab ko'proq ishlatilgan. Albatta erkak sperma namunalarini ishlatishda, ularning DNK ma'lumotlarining yarmini saqlashini inobatga olish lozim, yani X va Y xromosomalardan olgan ma'lumotlar ahamiyatga ega bo'lgan, 22 autosomalarga nisbatan, har bir erkak spermatozoid bitta X va Y xromosomaga ega.

"Inson genomi" sekvenirlash fazasi tugagan bo'lsada, DNK ning o'zgaruvchanligi bo'yicha tadqiqotlar HapMap Xalqaro loyihasida davom etmoqda, bu loyihaning maqsadi bir nukleotidli polimorfizm SNP guruhlar strukturasi, boshqacha bunday guruhlar gaplotiplar deb ataladi, identifikasiyasi hisoblanadi.

HapMap loyihasi uchun umumii hisobda 270 insondan namuna olingan: Yoruba va Ibadan aholisi (Nigeriya), Yaponiya aholisi (Tokio), Xitoy aholisi (Pekin), va Centre d'Etude du Polymorphisms Humain (*CEPH*), fransuz manбайдan olingan bo'lib, ularga AQSH rezidensiyasidagi Shimoliy Evropadan kelib chiqqan aholi genom ma'lumotlari kiradi.

Celera Genomics kompaniyasi sekvenirlanish uchun 5 kishining DNK namunasi ishlatilgan. Kreyg Venter kompaniyaning asoschisi Celera kompaniyasi DNK namunalari sifatida 21 kishi donor namunasidan 5 kishinikini tanlab olingan va ular orasida o'zining DNK namunasi ham ishlatilganini e'lon qilgan.

Genom ma'lumotlarini talqin qilish bo'yicha ishlar hali boshlang'ich bosqichida bo'lib, inson genomiga oid batafsil ma'lumot tibbiyot va biotexnologiyalarning rivojlanishi uchun yangi istiqbollar kutilmoqda. Myriad Genetics kabi bir qator kompaniyalar turli kasalliklarga, shu jumladan ko'krak bezi saratoni, qon ivishining buzilishi, kista fibrozi, jigar kasalligiga moyilligini ko'rsatadigan genetik testlarni o'tkazishning oddiy usullarini taklif qila boshladilar. Shuningdek, inson genomi haqidagi ma'lumotlar saraton, Altsgeymer kasalligi va boshqa klinik ahamiyatga ega bo'lgan sabablarni qidirishda yordam berishi va kelajakda ularni davolashda katta yutuqlarga olib kelishi kutilmoqda.

Biologlar uchun ko'plab foydali natijalar ham kutilmoqda, masalan, saratonning ma'lum bir shaklini o'rganayotgan tadqiqotchi izlanishini bitta gengacha qisqartirishi mumkin. Onlayn genom ma'lumotlar bazasiga tashrif buyurib, ushbu tadqiqotchi boshqa olimlarning ushbu gen haqida nima yozganligini, shu jumladan gen uchun xarakterli bo'lgan oqsilining uch o'lchovli tuzilishi, uning funktsiyasi, boshqa inson genlari bilan evolyutsion aloqasi, sichqon, achitqi yoki Drosophila genlari bilan bog'liqligini tasdiqlashi mumkin. Zararli mutatsiyalar, boshqa genlar bilan o'zaro ta'sirlar, gen faollashgan tana to'qimalari, ushbu gen bilan bog'liq kasalliklar yoki boshqa ma'lumotlar tahlil qilinadi. Olib borilgan tadqiqotlarda, turli xil organizmlarning DNK ketma-ketliklaridagi o'xshashliklar evolyutsiya nazariyasi bo'yicha, yangi ma'lumotlar bilan boyitishda, ko'pgina hollarda evolyutsiya masalalarini molekulyar biologiya muammolariga bog'lab o'rganish dolzarb bo'lib bormoqda. Shunga ko'ra, ko'pgina evolyutsion muammolarni ribosomalar va organellalar paydo bo'lishi, umurtqalilarda embrion, immun tizim rivojlanishining molekulyar darajasini kuzatish mumkin. Bu muammolarning o'rganilishi insonlar va ularga yaqin sut emizuvchilar o'rtasida o'xshashliklarni aniqlashda katta ahamiyatga ega.

Inson genomi turli tumanligini aniqlash loyihasi ingliz tilidan Human Genome Differences Project- alohida o'tkazilayotgan loyiha bo'lib, etnik guruhlar o'rtasidagi DNK ketma-ketliklarini xaritalashga bag'ishlangan. Kelajakda HGDP

loyihasi bo'yicha olingan ma'lumotlar kasalliklarni nazorat qilishda, inson va antropologiya sohasida yangi ma'lumotlar olishda katta ahamiyatga ega. HGDP etnik guruhlarda alohida olingan kasalliklarga moyilligini aniqlashda va ularni davolashda yangi strategiyalarni ishlab chiqishda qo'llaniladi.

Shuningdek, ushbu loyiha inson populyasilarining bu kasalliklarga adaptasiyasining o'tishini tushuntirishda yangi ma'lumotlar beradi. Inson genomini tadqiqot qilishning asosiy istiqbollari sekvenirlanish yangi avlodining uslublarini ochilishiga zamin yaratadi. Yangi uslublarning rivojlanishi natijasida genom sekvenirlanishining jarayoni soddalashtirildi va tezlashtirildi. Ushbu uslublar katta miqdordagi inson genomining -"1000 ta genom lohiyasi", bir nukleotidli polimorfizmlarni aniqlashda qo'llanilmoqda. Bundan tashqari, yangi avlod sekvenirlanishi genom elementlarini xaritalash loyihasiga asos soldi- ENCODE, bu loyihada genlarning boshqaruvchi va boshqa ketma-ketliklarini aniqlash maqsad qilib qo'yilgan.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

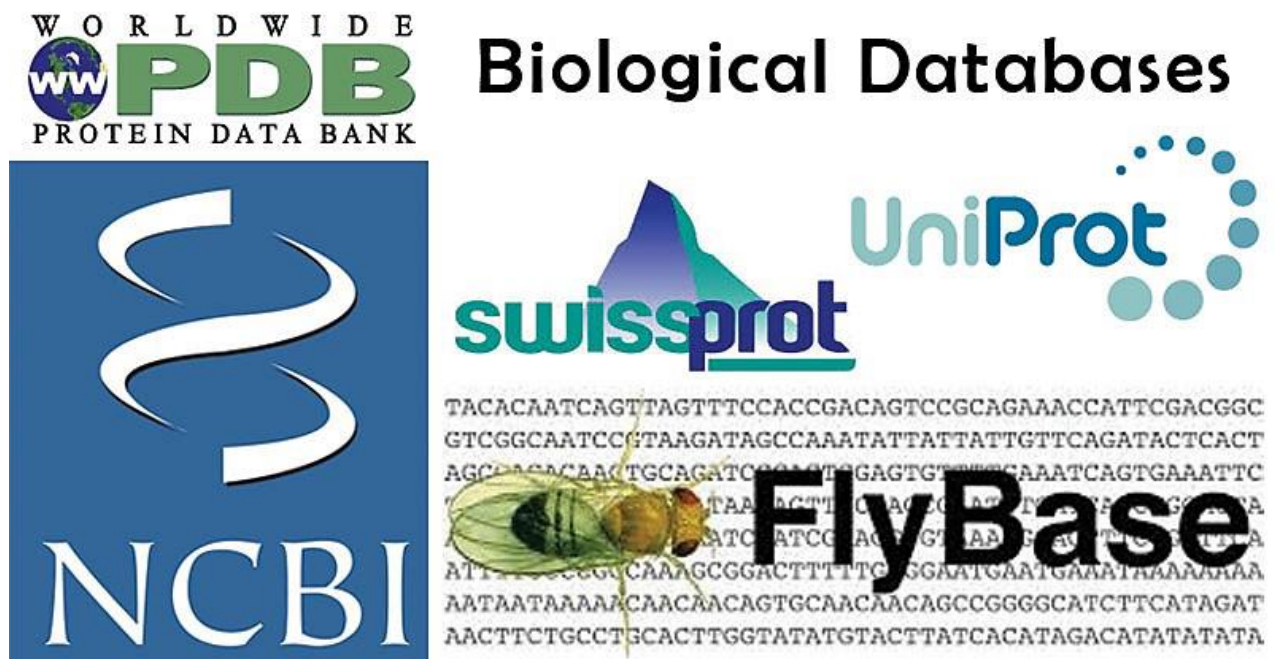
1. *DNK azotli asoslarining modifikasiyalari DNK strukturasiga qanday ta'sir ko'rsatadi?*
2. *DNK shikastlanishi qanday o'zgarishlarga olib keladi?*
3. *Xromosoma uchidagi strukturalar qanday ahamiyatga ega?*
4. *Oqsil kodlamaydigan ketma-ketliklar ahamiyatini tushuntirib bering?*
5. *Strukturaviy va boshqaruvchi oqsillar roli nimadan iborat?*
6. *DNK modifikasiyalovchi fermentlar guruhi tasnif bering?*
7. *Genetik rekombinasiya tushunchasi nimani anglatadi?*
8. *M-RNK lar rolini ochib bering?*
9. *Evolutsiya nuqtai-nazaridan RNK-genomlarining rolini tushuntirib bering?*
10. *DNK sekvensida qaysi olim uslubi keng qo'llaniladi v anima uchun?*
11. *Birinchi marta qaysi organism genomi to'liq ochib berilgan?*

12. Inson genomi loyihasining maqsadi qanday muammoga qaratilgan?

III. BOB. ZAMONAVIY BIOINFORMATIK MA'LUMOTLAR BAZALARI

Zamonaviy genom tadqiqotlarining o'ziga xos belgilaridan biri bu juda katta miqdordagi ketma-ketlik ma'lumotlarini yaratishdir. Genom ma'lumotlar hajmi o'sib borishi bilan, ma'lumotlarni boshqarish uchun murakkab hisoblash metodologiyasi talab qilinadi. Shunday qilib, genomika va bioinformatika oldida turgan birinchi vazifa - bu kompyuter ma'lumotlar bazalarini yaratish va ulardan foydalanish orqali keng hajmdagi ma'lumotlarni saqlash va boshqarish tashkil qiladi.

Biologik ma'lumotlar bazasi - bu tizimda saqlanadigan ma'lumotlarning tarkibiy qismlarini yangilash, so'rash va yuklab olish uchun mo'ljallangan, kompyuterlashtirilgan dasturiy ta'minot bilan bog'langan jarayon hisoblanadi. Oddiy ma'lumotlar bazasi har xil ma'lumot to'plamini o'z ichiga olgan bitta fayl bo'lishi mumkin. Ma'lumotlar bazasini rivojlantirishning asosiy maqsadi ma'lumotlarni oson qidirib topishga imkon beradigan tuzimli to'plamida ma'lumotlarni tashkil qilishdir. Misol uchun bir nechta mashhur ma'lumotlar bazalari: NCBI - Genotika Milliy Biotexnologiya Markazi, Shveytsariya Bioinformatika Institutidan-SwissProt va Protein Axborot Resursidan-PIR



28-rasm. Biologik ma'lumotlar bazalarining qisqa jamlanmasi

ma'lumotlar bazalarini keltirish mumkin (28-rasm).

Biologik ma'lumotlar bazalarining turlari. Ularning tarkibiga qarab biologik ma'lumotlar bazalarini taxminan ikki toifaga bo'lish mumkin:

1. Birlamchi ma'lumotlar bazalari: Birlamchi ma'lumotlar bazalari arxivlashgan ma'lumotlar bazasi deb ham ataladi. Ular nukleotidlar ketma-ketligi, oqsillar ketma-ketligi yoki makromolekulyar tuzilish kabi eksperimental ravishda olingan ma'lumotlar kabilar bilan to'ldirilgan. Eksperimental tadqiqot natijalari tadqiqotchilar tomonidan to'g'ridan-to'g'ri ma'lumotlar bazasiga topshiriladi va bu ma'lumotlar arxivlanib boradi. Ma'lumotlar quyidagi bazalarga taqdim etiladi:

- EMBL, GenBank NCBI va DDBJ-nukleotidlar ketma-ketligi,
- Array Express Archive va GEO-funksional genomik ma'lumotlar,
- Protein ma'lumotlari banki -PDB; uch o'lchovli makromolekulyar tuzilmalar koordinatalari.

2. Ikkilamchi ma'lumotlar bazalari: Ikkilamchi ma'lumotlar bazalari dastlabki ma'lumotlarni tahlil qilish natijasida olingan ma'lumotlarni o'z ichiga oladi. Ikkilamchi ma'lumotlar bazalari ko'pincha ko'plab manbalardan olingan ma'lumotlarga, shu jumladan boshqa ma'lumotlar bazalariga boshlang'ich va ikkinchi darajali ma'lumotlar bazalariga asoslanadi.

Ushbu bazalarga quyidagilar misol bo'ladi:

- InterPro- oqsil oilalari, motivlari va domenlari,
- UniProt ma'lumotlar bazasi- oqsillar to'g'risidagi ketma-ketlik va funksional ma'lumotlar
- Ensembl-genlar o'zgaruvchanligi, funktsiyasi, boshqarish funktsiyalari to'g'risidagi ma'lumotlar

Bundan tashqari ko'pgina ma'lumotlar manbalari ham birlamchi, ham ikkilamchi xususiyatlarga ega. Masalan, UniProt peptidlarni sekvenirlash tajribalarida olingan birlamchi ketma-ketlikni qabul qiladi. Shu bilan birga, UniProt peptidlar ketma-ketligini genom ma'lumotidan TrEMBL va SwissProt ma'lumotlar bazasidan oladi va tahlil qiladi.

Tarmoqlarda maxsus ma'lumotlar bazalari ham mavjud bo'lib, ular ma'lum tadqiqotlarga qiziqish uyg'otadi. Masalan, Flybase, OIVning ketma-ketliklari ma'lumotlar bazasi va ribosomal ma'lumotlar bazasi loyihasi ma'lum bir organizmda yoki ma'lum bir turdagi ma'lumotlarga ixtisoslashgan ma'lumotlar bazalari hisoblanadi.

Ma'lumotlar bazalarining ahamiyati ilm fanning rivojlanishidagi o'rni juda ham muhim.

- Ma'lumotlar bazalari ma'lumotlar ombori vazifasini bajaradi.
- Ma'lumotlar bazasi ma'lumotlarni saqlash va boshqarish uchun turli xil qidirish mezonlari orqali ma'lumotni osongina olish va foydalanish imkonini beradi.
- Ikkilamchi ma'lumotlar bazalari so'nggi o'n yil ichida biologiya sohalarining ma'lumotlar kutubxonasiga aylandi va tadqiqotchilar tomonidan o'rganilgan har qanday gen yoki gen mahsuloti to'g'risida juda ko'p ma'lumot olish imkonini beradi.
- Ko'plab foydalanuvchilarning bir xil ma'lumotlarda ishonchlilik darajasini oshirish va murakkab muammolar yechimini topishga yordam beradi.
- Ma'lumotlarni indekslash, identifikatsiyalashga imkon beradi.
- Xilma-xil ma'lumotlarning ko'payishini oldini olishga yordam beradi.

Zamonaviy nukleotid ma'lumotlar bazalari

Nukleotidlar ketma-ketligi bazalari-turlari va ahamiyati. Biologiya sohasi tobora ma'lumotlarga boy fanga aylanib borgan sari, katta ma'lumotlar to'plamlarini saqlash va ular bilan aloqa qilish zarurati tug'iladi. Aniq misollarga - bu nukleotidlarning ketma-ketligi, oqsillar ketma-ketligi va rentgen kristallografiyasi, makromolekulyar NMR markazi tomonidan ishlab chiqarilgan oqsillarning 3D tarkibiy va tuzilish ma'lumotlarini o'z ichiga oladi. Nukleotidlar ketma-ketligidan tashkil topgan bunday ma'lumotlar bazalari nuklein kislotalari ketma-ketligining bazalari deb nomlanadi.

Nuklein kislotalari ketma-ketligini saqlaydigan va ommaga taqdim etadigan uchta asosiy ma'lumotlar bazasi mavjud: GenBank, NCBI, EMBL, DDBJ. Ular nukleotidlarning ketma-ketlik bazalari deb nomlanadi, chunki ular barcha nuklein kislotalari ketma-ketligining omboridir. Nukleotid ma'lumotlar bazasi GenBank, RefSeq, TPA va PDB kabi bir nechta bazalar to'plamidir. Genom, gen va transkripsiya ketma-ketligi ma'lumotlari biotibbiy tadqiqotlar va kashfiyot uchun asos bo'lib xizmat qiladi.

a. GenBank AQShda joylashgan bo'lib, NCBI portali orqali malaka oshiruvchilar foydalanishi mumkin. EMBL -Yevropa molekulyar biologiya laboratoriyasi Buyuk Britaniyada va DDJB -Yaponiyaning DNK ma'lumotlar bazasi, Yaponiyada joylashgan. Uchalasi ham nukleotidlar ketma-ketliklarini qabul qilishadi, so'ngra ular orasidagi optimal sinxronizatsiyaga erishish uchun har kuni yangi va yangilangan ma'lumotlarni almashadilar. Ushbu uchta ma'lumotlar bazasi asl ketma-ketlik ma'lumotiga ega bo'lganligi uchun birlamchi ma'lumotlar bazasiga birikadi -INSDC va ular Sequence Read Archive -SRA bilan hamkorlik qiladi, u yuqori o'tkazuvchanlikdagi ketma-ketliklaridan olingan ma'lumotlarni arxivlaydi. GenBankning ketma-ket ma'lumotlar bazasi ochiq foydalanish, barcha ommaga ma'lum bo'lgan nukleotidlarning izohli to'plami va ularning proteinli tarjimalaridan iborat. Ushbu ma'lumotlar bazasi nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi -INSDC bilan hamkorlik qilish doirasida Milliy biotexnologiya ma'lumotlari markazi -NCBI tomonidan ishlab chiqiladi va saqlanadi. Dunyo bo'ylab laboratoriyalarda 100000 dan ortiq alohida organizmlardan ishlab chiqariladigan ketma-ketliklarni jamlaydi. GenBank biologik sohalarda tadqiqotlar olib borish uchun muhim ma'lumotlar bazasiga aylandi va so'nggi 18 yilda har ikki oyda ikki baravar ko'payib, geometrik progressiv o'sdi.

b. EMBL (Yevropa molekulyar biologiya laboratoriyasi). Yevropa molekulyar biologiya laboratoriyasi-EMBL. Nukleotidlarning ketma-ketligi to'g'risidagi ma'lumotlar bazasi - Yevropa bioinformatika institutida -EBI saqlanadigan birlamchi nukleotidlarning ketma-ket to'plamini saqlaydi. Ma'lumotlarni

genomlarni sekvenirlash markazlaridan, alohida olimlardan va patent idoralaridan oladi.

c. DDBJ-Yaponiya DNK ma'lumotlar banki. U Yaponiyaning Shizuoka prefekturasidagi Milliy Genetika Institutida -NIG joylashgan. Bu Osiyodagi yagona nukleotidlar ketma-ketligi ma'lumotlar banki hisoblanadi. Garchi DDBJ o'z ma'lumotlarini asosan yapon tadqiqotchilaridan qabul qilsa-da, u har qanday boshqa mamlakatlarning tadqiqotchilaridan ma'lumotlarni qabul qilishi va taqdim etishi mumkin.

Ko'pgina ikkilamchi ma'lumotlar bazalari shunchaki GenBank yoki EMBL kabi birlamchi ma'lumotlar bazalarining biridan yoki ikkinchisidan ajratib olingan kichik to'plamdir. Boshqa ikkilamchi ma'lumotlar bazalari ham mavjud bo'lib, ular hech qanday ketma-ketlikni taqdim etmaydilar, ularda ketma-ketliklarning ma'lumotlar bazalarida to'plangan ma'lumotlar mavjud.

a. Omniome ma'lumotlar bazasi: Omniome ma'lumotlar bazasi TIGR Genomik tadqiqotlar instituti tomonidan qo'llab-quvvatlanadigan keng qamrovli mikrobial manbadir. U nafaqat har bir genom uchun o'rganib chiqilgan ketma-ketligi va izohiga ega, balki organizmlar, taksonlar DNK molekulalarining tuzilishi, tarkibi va DNK ketma-ketligidan bashorat qilingan boshqa protein tarkibi atributlari to'g'risidagi ma'lumotlarga egadir. Ushbu ma'lumotlar bazasiko'p genomli izlanishlar va tahlillar ishlarini osonlashtiradi, masalan, turli xil genomlardagi oqsillar va genlarning joylashish holatini taqqoslash ishlarida qo'llaniladi.

b. FlyBase ma'lumotlar bazasi: Konsorsium *D. Melanogaster* meva pashshasi misolida va uning barcha genomini yuqori to'liqlik va sifatga ko'ra ajratib beradi.

c. ACEDB: Bu nafaqat ketma-ketlikni, balki genetik xaritalar, shuningdek, *C. Elegans* nematoda qurti haqidagi fenotipik ma'lumotlarning ham omboridir.

DDBJ- ma'lumotlar bazasi-Yaponiya

DNA Data Bank Japan- Yaponiya DNK ma'lumotlar bazasi bo'lib, turli genlar va organizmlar bilan bog'liq nukleotid ketma-ketliklar haqida ma'lumotga

ega bo'lgan elektron resurslar bazasidir (29-rasm). DDBJ markazi INSDC a'zosi sifatida nukleotid natija ma'lumotlarini to'playdi.

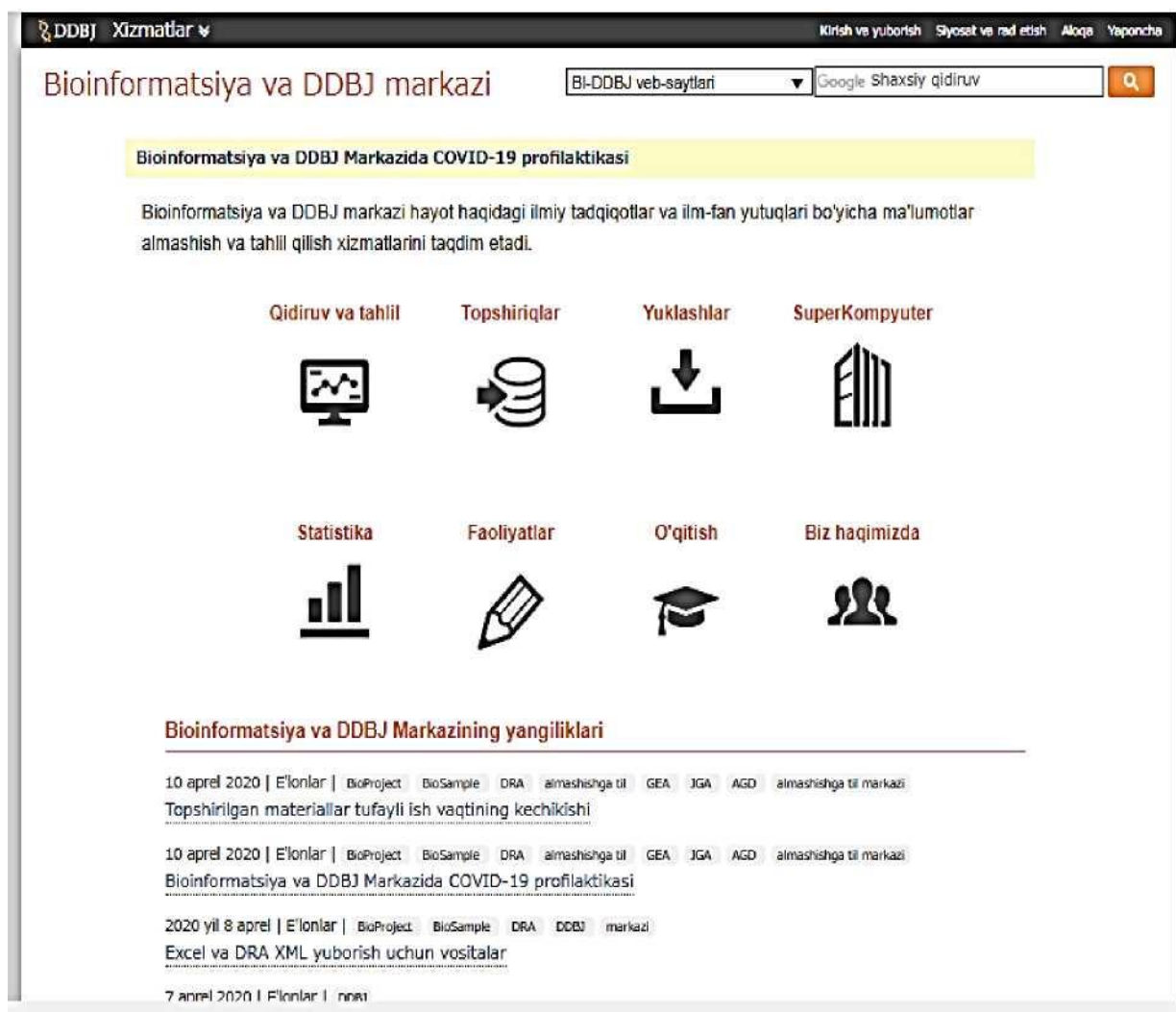
DDBJ ma'lumotlar bazasining tashkillashtirilishi:

- 1980 EMBL ma'lumotlar kutubxonasi tashkil etildi va Yaponiya davlatidan nukleotid
- ma'lumotlar banki uchun xalqaro hamkorlikni so'radi.
- 1982 EMBL va GenBank xalqaro hamkorlikni boshladi, ma'lumotlar bankida ishtirok etish uchun Yaponiya davlatiga xamkorik taklif qilishdi.
- 1983 xalqaro ma'lumotlar banki uchun hissa qo'shish maqsadida nukleotid ma'lumotlarini to'plash, baholash va tajriba ma'lumotlarini yuklash boshlandi.

- 1984 NIG, Genetika Milliy instituti universitetlararo ilmiy-tadqiqot instituti sifatida qayta tashkil etildi. DDBJ NIG tarkibida ishlay boshladi.

29-rasm. DDBJ ma'lumotlar bazasi oynasining umumiy ko'rinishi.

- 1986 DNKning ma'lumotlar bazasi maslahat qo'mitasi tashkil etildi.
- 1987 DDBJ mustaqil bo'ldi va DDBJ ma'lumotlar bazasi operatsiyasining rasmiy boshlanishi deb hisoblanadi.



uchun, CIB axborot Biologiya markazi NIG tashkil etildi.

- 2001 CIB, CIB-DDBJ sifatida qayta tashkil etildi, Yaponiya axborot Biologiya va DNK ma'lumotlar banki markaziga aylandi.

• 1

99

5

D

D

BJ

nin

g

ya

na

da

sa

ma

ral

i

fao

liy

ati

- 2005 DDBJ, EMBL, GenBank o'zaro hamkorlikni kuchaytirish maqsadida kelishib yagona Xalqaro nukleotid ketma-ketlik ma'lumotlar bazasi-INSDC ni tashkil qilishdi.
- 2009 yilda DDBJ fakulteti xodimlari xizmati bilan DBCLS va DDBJ hamkorlik yanada kuchaygan.

DDBJ ma'lumotlar bazasi molekulayar biologiya yuzasidan boshqa ma'lumotlar bazasi bilan a'loqada xamkorik qiladi:

<i>DNK ma'lumotlar bazasi:</i>	^r DDBJ / EMBL / GenBank ^r MGA
<i>Proteinlar bazasi:</i>	* UniProt ^r PDB ^r DAD ^r Patent

U quyidagi xizmatlarni taqdim etadi (30-rasm):

1980-yillarning boshidan boshlab DDBJ nukleotidlar ketma-ketligi ma'lumotlar bazalaridan biri sifatida, shu jumladan Yevropada EMBL-Bank / EBI va AQShda GenBank / NCBI a'zosi sifatida faoliyat ko'rsatmoqda. 2005 yilda DDBJ, EMBL-Bank va GenBank o'zaro hamkorlikni INSDC deb atashni kelishdilar.



30-rasm. Nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasini yaratish uchun hamkorlik doirasi.

DDBJ, EMBL va GenBank tomonidan birgalikda boshqariladigan xalqaro ketma-ketlik ma'lumotlar bazalariga ma'lumotlarni taqdim etgan shaxslar quyidagilarni bilishlari kerak:

INSD o'zlarining ma'lumotlar bazalarida mavjud bo'lgan barcha gen annotasiyalariga bepul va cheklovsiz kirishning yagona siyosatiga ega. Dunyo miqyosidagi olimlar ushbu annotasiyalardan tajribalarni rejalashtirishda yoki tahlillarni nashr qilish uchun foydalanishlari mumkin. Ilmiy nashrlarni chop etishda ilmiy adabiyotlardan foydalangan holda, ilmiy izlanishlar asl nusxasini keltirish lozim bo'ladi.

INSD ma'lumotlariga kirishni cheklaydigan, ushbu annotasiya ma'lumotlardan foydalanishni cheklaydigan yoki ular asosida nashrlarning ayrim turlarini taqiqlangan annotasiyalarni o'tkazib bo'lmaydi. Xususan, foydalanish bo'yicha cheklovlar yoki litsenziyalash talablari ketma-ketlik ma'lumotlari annotasiyalarga kiritilmaydi va ma'lumotlar bazasini qayta taqsimlash yoki undan foydalanishda cheklovlar yoki litsenziyalash to'lovlari bo'lmaydi. INSD-ga taqdim etilgan barcha ma'lumotlar bazalari annotasiyalar ilmiy nashrlar bazasiga bog'langan bo'ladi. Xatolarni tuzatish va mualliflar tomonidan annotasiyalarning yangilanishi qabul qilinadi va noto'g'ri annotasiyalar bazaning keyingi nashridan olib tashlanishi mumkin, ammo barchasi kirish raqami orqali doimiy ravishda saqlanib qoladi. Taqdim etuvchilarga INSD tomonidan qo'llab-quvvatlanadigan veb-saytlarda aks ettirilgan ma'lumotlar keng jamoatchilikka oshkor qilinishi tavsiya etiladi. Ma'lumotni topshirish huquqiga ega ekanliklarini aniqlash uchun yuboruvchilar javobgar hisoblanadi.

Cheklangan tahririyat nazorati va ba'zi ichki ekspert tekshiruvlaridan tashqari, masalan, INSD formatlaridan to'g'ri foydalanish va CDS yozuvlarida ko'rsatilgan kodlash hududlarining tarjimasi tekshirish o'tkaziladi, yozuvning sifati va aniqligi ma'lumotlar bazasi emas, balki taqdim etuvchi muallifning zimmasiga yuklanadi. Ma'lumotlar bazalari iloji boricha sifatli manbaga erishish uchun ma'lumotlar bazasi taqdim etuvchilari va foydalanuvchilari bilan ishlaydi.

DDBJ markazi rasman tadqiqotchilar tomonidan nukleotid ketma-ketliklar to'plash va ma'lumotlar jamlash uchun tasdiqlangan halqaro baza hisoblanadi. DDBJ markazi har kuni ENA/EBI va NCBI bilan chiqarilgan ma'lumotlarni almashtirganligi sababli, uchta ma'lumot markazi har qanday vaqtda deyarli bir xil ma'lumotlarni o'zaro almashadi. Deyarli yagona ma'lumotlar bazasi INSD deb ataladi. DDBJ asosan yapon tadqiqotchilari tomonidan natija ma'lumotlarni to'playdi, Yapon tadqiqotchilarining INSD ma'lumotlarining 99% DDBJ orqali taqdim etiladi. Patent arizalariga ko'ra tegishli nukleotid va aminokislotalar ketma-ketligi ma'lumotlarini taqdim etish:

INSD Yaponiya, Koreya, Yevropa va AQShda Patent idoralari tomonidan to'plangan patent- mualliflik ixtirolari ilovalar bilan bog'liq nukleotid natija ma'lumotlarni o'z ichiga oladi. DDBJ markazi, shuningdek, Yaponiya va Koreyada patent idoralari tomonidan to'plangan patent ilovalar bilan bog'liq aminokislotalar natija ma'lumotlarni beradi.

EMBL-tadqiqot markazi va ma'lumotlar bazasi-Yevropa

EMBL-tadqiqot markazi va ma'lumotlar bazasi haqida umumiy ma'lumot. EMBL -1974 yilda tashkil topgan, tirik tabiat haqidagi fanlar bo'yicha Yevropaning yetakchi laboratoriyalari-molekulyar biologiya spektrlarini qamrab oluvchi 80 dan ortiq mustaqil tadqiqot guruhlariga bo'lgan hukumatlararo tashkilot(31-rasm) hisoblanadi. EMBL-tadqiqot markazi va ma'lumotlar bazasi oltita saytlar hamjihatligida ishlaydi: Heidelberg, Barselona, Gamburg, Grenobl, Rim va EMBL-EBI Xinxton.

Yevropa molekulyar biologiya laboratoriyasi -EMBL dunyodagi yetakchi ilmiy-tadqiqot institutlari va Yevropaning tirik tabiat haqidagi ilm-fan laboratoriyalari jamlanmalaridan biridir. EMBL Yevropa bo'ylab oltita markaz va uning saytlardan foydalanib ishlaydi:

1. Heidelberg, Germaniya* - asosiy laboratoriya;
2. Xinxton, Buyuk Britaniya* - Yevropa bioinformatika instituti (EMBL-EBI);

3. Grenobl, Fransiya* - struktur biologiya bo'yicha tadqiqotlar va xizmatlar;
4. Gamburg, Germaniya* - struktur biologiya bo'yicha tadqiqotlar va xizmatlar;
5. Rim, Italiya* - epigenetika va neyrobiologiya;
6. Barselona, Ispaniya* - to'qima biologiyasi va kasalliklarni modellashtirish.

EMBL boshqaruvi. EMBL - tirik tabiat bilan bog'liq bolgan fanlar bo'yicha fundamental tadqiqotlarga ixtisoslashgan hukumatlararo tashkilot bo'lib, 20 dan ortiq a'zo davlatlarning, shu jumladan, Yevropa va Isroilning, shuningdek, ikkita assotsiatsiyalashgan a'zo bo'lgan Argentina va Avstraliyaning jamoat tadqiqot markazlari tomonidan moliyalashtiriladi. EMBLni Bosh direktor, hozirda EMBL Kengashi tomonidan boshqaruvchi organ tomonidan tayinlangan professor Edit Xard boshqaradi. Kengash tarkibiga barcha a'zo va unga a'zo bo'lgan davlatlar vakillari kiradi. EMBL missiyasining asosiy funksiyalari quyidagilardan iborat:

- molekulyar biologiyada asosiy tadqiqotlarni o'tkazish;
- o'rgatish, barcha darajadagi olimlar, talabalar va yangi a'zolarga, tirik tabiat haqidagi bilimlarni o'rgatish
- a'zo davlatlar olimlariga xizmatlarni taklif qilish, tirik tabiat bilan bog'liq bo'lgan hamma ma'lumotlar yuzasidan xizmat ko'rsatish
- yangi vositalar va usullarni ishlab chiqish;
- texnologiyalar transferida faol ishtirok etish;
- Yevropa ilmiy tadqiqotlarini birlashtirish, zamonaviy biologiya sohasidagi hamma ilmiy tadqiqot ishlarini birlashtirish

EMBL-dagi mavjud tadqiqotlar. EMBL-da olib borilgan tadqiqotlar biologik tashkilotlarning ko'p darajalarida, molekuladan organizmgacha, shuningdek,

hisoblash biologiyasi, bioinformatika va tizimlar biologiyasida eksperimental tahliliga urg'u beradi. Tadqiqotlar molekulyar biologiya spektrini qamrab oluvchi 80 dan ortiq mustaqil guruhlar tomonidan olib borilmoqda. EMBL xalqaro, innovatsion va fanlararo o'zaro hamkorlikni tashkil qilgan. Uning ko'pgina mamlakatlardan kelgan 1700 dan ortiq xodimlari bioinformatika, genomika, biologiya, fizika, kimyo va informatika fanlarini o'z ichiga oladi.

Ilmiy xizmatlar haqida. EMBL tomonidan taqdim etiladigan xizmatlar quyidagilardan iborat:

- biomolekulyar ma'lumotlar bazalari va bioinformatika vositalari, xususan EMBL-EBI;
- Gamburg va Grenoblda struktura biologiyasi uchun texnologik jihozlar va yuqori o'tkazuvchanlik texnologiyalari bilan ta'minlash;
- o'rnatish yoki saqlash uchun qimmatga tushadigan yoki katta xarajatlarni talab qiladigan usullar va texnologiyalardan tejamkor va samarali usullardan foydalanishni ta'minlash.

EMBL-EBI Foydalanish shartlari.

1. EMBL-EBI vakolati bilan shaffof ravishda ilm-fanni tadqiqotlarini targ'ib qiladi, bu biologiya sohasidagi ilmiy tajribalardan olinadigan eng keng jamoatchilikka taqdim etiladigan ma'lumotlar bilan bog'liq bo'lgan bepul onlayn xizmatlar, ma'lumotlar bazasi va dasturiy ta'minotni taqdim qilishni o'z ichiga oladi. Olimlar tomonidan yaratilgan ilmiy ma'lumotlar taqdim etilganda, taqdim etilgan ma'lumotlardan foydalanishga hech qanday cheklovlar qo'yilmaydi.

2. EMBL-EBI ilg'or ilmiy amaliyotga muvofiq har qanday onlayn xizmatlar, ma'lumotlar bazalari yoki dasturiy ta'minotga kiritiladi va nashrlarda yoki mahsulotlarda aks ettirilishini talab qiladi. Kutilayotgan natijalar tegishli veb-sahifada ko'rsatiladi.

3. EMBL-EBI-ga uning onlayn-xizmatlarida taqdim etilgan har qanday ma'lumot maxfiy hisoblanmaydi.

4. Barcha ilmiy ma'lumotlar ma'lum vaqt oralig'ida saqlanadi va ma'lumotlar turiga mos ravishda taqdim etiladi, masalan kirish ma'lumotlari kirish qo'mitasi tomonidan ko'rib chiqilishi kerak bo'lgan olimlar ma'lumotlari, ma'lum vaqtgacha nashr etishdan oldin taqiqlangan.

5. EMBL-EBI tomonidan saqlanadigan shaxsiy ma'lumotlar qonun yoki sud tartibga soluvchi buyruq talab qilgan hollardagina alohida holatlarda oshkor etiladi. EMBL-EBI ma'lum bir dasturiy ta'minot yoki ma'lumotlar bazalaridan biron-bir shaxsning foydalanishi uchun jamoat tashkilotlariga taqdim qilishi mumkin.

6. OpenScience-dagi majburiyati saqlab qolgan holda, ushbu foydalanish shartlarini istalgan vaqtda yangilash huquqini saqlab qoladi. O'zgarishlar muqarrar bo'lgan taqdirda, veb-saytlarga xabar yuborish orqali har qanday o'zgarishlar to'g'risida oqilona xabar berishga harakat qiladi, va ushbu o'zgarishlarni veb-saytdan foydalanganda tekshirib ko'rish mumkin bo'ladi. Eng yangi qayta o'zgarishlar, 'EMBL-EBI foydalanish shartlari' sahifasida ko'rinadi.

7. Ushbu foydalanish shartlariga tegishli har qanday savol yoki izohga quyidagi manzilga murojaat qilish mumkin: Administrator, EMBL-EBI, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton CB10 1SD

Onlayn xizmatlar.

1. EMBL-EBI onlayn xizmatlaridan foydalanuvchilar EMBL-EBI kompyuterlari, fayllari yoki tarmoqlaridan tashqari xizmat ko'rsatish interfeyslaridan foydalanishga urinmaslikka kelishib olishgan.

2. EMBL-EBI veb-saytlari cookie-fayllardan ma'lumotlarni yozib olish uchun foydalanadi. Cookie fayllaridan foydalanishni boshqarish mumkin, lekin EMBL-EBI veb-saytlaridan cookie-fayllarni qabul qilinmasa, veb-saytning barcha xususiyatlaridan to'liq foydalana olish imkoni bo'lmaydi. Turli xil veb-brauzerlarda cookie fayllarini qanday boshqarish va EMBL-EBI va uchinchi tomon cookie fayllarining to'liq ro'yxati - <https://www.ebi.ac.uk/about/cookie-control/> da keltirilgan.

3. EMBL-EBI ushbu onlayn xizmatlarning uzluksizligini ta'minlash uchun

barcha imkoniyatlarni ishga solgan va har qanday o'zgarishlar yoki uzilishlar to'g'risida tegishli ogohlantirishni ta'minlaydi. Shu bilan birga, EMBL-EBI xizmat vaqtincha yoki doimiy to'xtab qolishining oqibatlari uchun javobgarlikni o'z zimmasiga olmaydi.

4. EMBL-EBI onlayn xizmatlaridan boshqalarga xizmat ko'rsatadigan EMBL-EBI ni oldini oladigan yoki oldini oladigan darajada foydalanishga har qanday urinish foydalanishni bloklashga olib keladi. EMBL-EBI foydalanuvchini ularning ehtiyojlarini va qanday qilib ularni boshqa manbalardan olish mumkinligini muhokama qilish uchun murojaat qiladi.

5. EMBL-EBI veb-sahifalarida ishlaydigan dastur har qanday shaxs tomonidan veb-sahifada alohida istisnolar ko'rsatilmagan hollardagina istalgan maqsadlarda foydalanilishi mumkin. EMBL-EBI-ning veb-sahifalari orqali(to'g'ridan-to'g'ri yoki uchinchi tomon bazalari orqali) yuklab olish uchun taqdim etilgan har qanday dasturning shaxsiy litsenziya shartnomasi mavjuddir.

6. EMBL-EBI to'plangan ma'lumotlarning toifalari va ularni qayta ishlash usullarini hisobga olgan holda, zarur deb hisoblagan xavfsizlik darajasini ta'minlash uchun tegishli texnik va tashkiliy choralarni amalga oshiradi.

Ma'lumot xizmatlari.

1. Veb-saytga ma'lumotlar bazasiga ilmiy ma'lumotlarni taqdim etilganda, bu ma'lumotlar bir vaqtning o'zida ilmiy ma'lumotlarga muvofiq tarzda chiqariladi va doimiy ravishda saqlashi mumkin.

2. EMBL-EBI o'zi, Internet-xizmatlari orqali mavjud bo'lgan ma'lumotlardan foydalanish yoki tarqatish uchun hech qanday qo'shimcha cheklovlar qo'ymaydi.

3. EMBL-EBI taqdim etilgan ma'lumotlarning aniqligi, yaratilgan ma'lumotlar bazasi, dasturiy ta'minot yoki Internet-xizmatlarning aniqligi, shuningdek ma'lumotlar bazalari, dasturiy ta'minotlar va har qanday maqsadlar uchun onlayn xizmatlarning yaroqliligini kafolatlamaydi.

4. Dastlabki ma'lumotlar uchinchi shaxslar tomonidan talab qilinadigan huquqlarga, shu jumladan patent, mualliflik huquqi, boshqa intellektual mulk

huquqlari, biologik xilma-xillik bilan bog'liq foydalanish va imtiyozlarni baham ko'rish huquqlariga ega bo'lishi mumkin. EGA ma'lumotlar bazasi va biotibbiy tadqiqotlar uchun ruxsat berilgan inson ma'lumotlari uchun ushbu huquqlar Ma'lumotlarga kirish to'g'risidagi bitimlarda rasmiylashtirilishi mumkin. EMBL-EBI xizmatlaridan foydalanuvchilarning ma'lumotlardan foydalanish bunday uchinchi shaxslarning biron bir huquqlariga zarar etkazmasligini ta'minlash uchun javobgardir.

NCBI - ma'lumotlar bazasi -GenBank-AQSH



(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)

NCBI-“Biotexnologik Ma'lumotlar Milliy Markazi” *National Center Biotechnology Information*, 1988 yilda AQSH da tashkil etilgan, Milliy tibbiyot kutubxonasining filiali sifatida- *National Library of Medicine* asosida yuzaga kelgan (32-rasm).

The screenshot shows the NCBI homepage with a navigation menu on the left, a central workflow diagram, and a right sidebar with links to various databases and news.

NCBI Bosh sahifasi

- Resurslar ro'yxati (AZ)
- Barcha manbalar
- Kimyoviy moddalar va bioassaylar
- Ma'lumot va dasturiy ta'minot
- DNK va RNK
- Domenlar va tuzilmalar
- Genlar va ifoda
- Genetika va tibbiyot
- Genomlar va xantalar
- Homologiya
- Adabiyot
- Proteinlar
- Seksiyani tahlil qilish
- Taksonomiya
- O'quv va qo'llanmalar
- O'zgarish

NCBI-ga xush kelibsiz

Milliy Biotexnologiya Axborot Markazi biologik va genom ma'lumotiga kirishni ta'minlash orqali fan va sog'liqni saqlashni rivojlantiradi.

[NCBI haqida](#) | [Missiya](#) | [Tashkilot](#) | [NCBI yangiliklari va blogi](#)

Yuborish

Ma'lumot yoki qo'lyozmalarni NCBI ma'lumotlar bazasiga saqlash

Yuklab oling

NCBI ma'lumotlarini kompyuteringizga o'tkazing

O'rganing

Yordam hujjatlarini toping, darsga boring yoki darslarni tomosha qiling

Rivojlaning

Ilovalarni yaratish uchun NCBI API va kod kutubxonalaridan foydalaning

Tahlil qiling

Ma'lumotlaringizni tahlil qilish vazifasi uchun NCBI vositasini aniqlang

Izlanishlar

NCBI tadqiqotlari va hamkorlikdagi loyihalarni o'rganing

Ommabop manbalar

- PubMed
- Kutub javoni
- PubMed Central
- QARSHI
- Nukleotid
- Genom
- SNP
- Gen
- Protein
- PubChem

NCBI yangiliklari va blogi

- SARS-CoV-2 ma'lumotlarini tezkor burilish bilan tezkor etkazib berish 09 April 2020 yil
- 1-rasm. SARS-CoV-2 taqdimot ma'lumotlari bu anja GenBank unki
- 22 aprel NCBI-ning ALFA-dagi veb-seminari: variantlarni tahlil qilish va taqin qilish uchun allel chastotasi ma'lumotlari 08 aprel 2020 yil
- 2020 yil 22-aprel nihonchamha kuni anaf
- Keyingi RefSeq FTP raqami 200 tagscha o'tkaziladi 07 April 2020 yil
- Keyingi hashr uchun NCBI-ning Referat Sequence (RefSeq) raqamini 200 ra

[Ko'proq...](#)

32-rasm. NCBI ma'lumotlar bazasining asosiy oynasi.

U AQShning Vifetda, Merilend shtatidagi Sog'liqni Saqlash Milliy Institutida joylashgan. NCBIning asosiy maqsadi sog'lom va kasal organizmda o'tadigan molekulyar va genetik jarayonlarni keng tushunish uchun yangi informatsion texnologiyalarni ishlab chiqarishdan iborat. Maxsus maqsadlariga: biologik ma'lumotlarni saqlash va tahlil qilish uchun avtomatlashtirilgan tizimlarni ishlab chiqish, ma'lumotlarni mashinali qayta ishlash yuqori texnologiyalarini rivojlantirish, foydalanuvchilarga bazalar ma'lumotiga va dasturiy ta'minotga kirishini osonlashtirish, butun jahon bo'yicha biotexnologik ma'lumotlarni yig'ish ishlarini olib borishdan iborat. Shuning uchun NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) tarmog'iga xizmat ko'rsatadi. GenBank - bu nuklein kislotalar genetik ketma-ketligining ma'lumotlar bazasi, asosan NCBI tomonidan boshqariladi, barcha ommaga ma'lum bo'lgan DNK ketma-ketliklarining sharhlangan to'plamidir (Nuklein kislotalar tadqiqotlari, 2013 yil yanvar; 41 (D1): D3642). GenBank Yaponiyaning DNK ma'lumotbazasi (DDBJ), Yevropadagi nukleotidlar arxivi (ENA) va NCBI-da GenBankni o'z ichiga olgan Xalqaro nukleotidlar ketma-ketligi ma'lumotlar bazasi bilan hamkorlikning bir qismidir.

NCBI bazasi quyidagi xizmat ko'rsatish resurslarini taqdim etadi:

- Mahalliy ketma-ketliklarni qidiruv vositasi (BLAST)
- BioProject (ilgari inson Genomi loyihasi)
- BioSistemalar
- BLAST (yakka tartibda)
- Konservativ domenlar ma'lumotlar bazasi (CDD)
- Bazada Saqlanadigan domenlarni qidirish xizmati (CD qidirish)
- Genomik tarkibiy o'zgarishlarning ma'lumotlar bazasi (dbVar)
- Genotiplar va fenotiplar to'g'risidagi ma'lumotlar bazasi (dbGaP)
- Single nukleotid Polimorphism Ma'lumotlar Bazasi (dbSNP)
- FTP: FASTA BLAST ma'lumotlar bazasi
- FTP: Genom xaritasi ma'lumotlari

- GenBank
- Genom BLAST
- Primer-BLAST
- PubMed
- Taksonomiya umumiy daraxti
- Vektorni tahrirlash vositasi (VAST)




INSDC - nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi




(<http://www.insdc.org>)

Nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi -INSDC. DNK, RNK va aminokislotalar ketma-ketligini 30 yillar mobaynida o'z ichiga olgan ma'lumotlar bazalarini yig'ish va tarqatish bo'yicha kompleks sa'yl-harakatlarini boshqarishdan iborat (33-rasm). Biologik ma'lumotlar arxivlarining uzoq vaqtdan beri davom etayotgan global izlanishlardan biri, ommaviy nukleotidlarning ketma-ketligi haqidagi ma'lumotlarni to'playdi, saqlaydi va kerakli ma'lumotlar bilan ta'minlaydi.

INSDCning uchta hamkori ma'lumotlar bazalariga ishonchli ma'lumotlarni topshirishga yordam beradigan va butun dunyo bo'ylab doimiy ravishda ma'lumot almashishni qo'llab-quvvatlaydigan ma'lumotlar, metadata va protokollarning formatlarini yaratish bo'yicha hamkorlikda ish olib boradi- BioSample dasturi yordamida:

**INSDC** International Nucleotide Sequence Database Collaboration

INSDC HAQIDA SIYOSAT ADVISORLAR HUUJATLAR



Nukleotidlarning ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi bilan hamkorlik

- Xalqaro nukleotid uzun bazasi hamkorlik (INSDC) o'rtasida uzoq turgan asosiy tashabbus bo'lib [almashishga](#) [tli](#) . [EMBL](#) . [Abu ostida](#) va [NCBI](#) . INSDC ma'lumotlar va eksperimental konfiguratsiyalarga oid kontekstual ma'lumotlar bilan boyitilgan, funktsional izohga o'tishlar va birikmalar orqali o'qiladigan ma'lumotlar spektrini qamrab oladi.

Ma'lumot turi	DDBJ	EMBL-EBI	NCBI
Keyingi avlod o'qiydi	Davrani o'qish arxivi	Evropa nukleotidi Anxv (ENA)	Davrani o'qish arxivi
Kapillyar o'qiydi	Izlar arxivi		Izlar arxivi
Izohlanmagan ketma-ketliklar	DDBJ		GenBank
Namunalar	BioSample		BioSample
Tadqiqotlar	BioProject		BioProject

- INSDC maslahat kengashi, [Xalqaro maslahat qo'mitasi](#) har bir ma'lumotlar bazasining maslahat organlarining a'zolaridan iborat. Xalqaro maslahat qo'mitasi chop [ggg'oz](#) INSDC ma'lumotlarni depozit hisobvarag'tga muhimligini yangi bir bor tasdiqlagan.
- Xalqaro ketma-ketlik ma'lumotlar bazasiga ma'lumotlarni taqdim etgan shaxslar [INSDC siyosatidan](#) xabardor bo'lishi kerak

Ma'lumotni qanday yuborish kerak

- Ma'lumotlar bazasiga ma'lumotlarni qanday topshirish haqida to'liq ma'lumot olish uchun, iltimos, hamkorlikdagi sherikni tanlang.

33-rasm. INSDC-xalqaro ma'lumotlar bazasining asosiy oynasi ko'rinishi.

- Mishima shahridagi Milliy Genetika Institutida Yaponiya DNK ma'lumotlar banki (DDBJ; <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>);

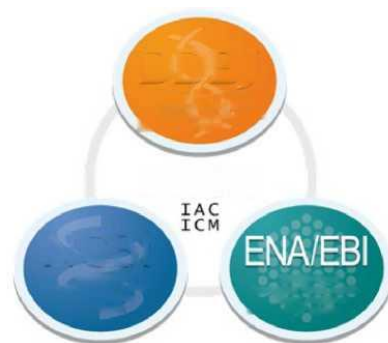
- Buyuk Britaniyaning Xinxton shahridagi Yevropa Molekulyar Biologiya Laboratoriyasining Yevropa Bioinformatika Instituti- EMBL-EBI; <http://www.ebi.ac.uk/ena>.

- AQShning Biotexnologiya Axborot Milliy Markazi- NCBI; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, Bethesda shtatida, MD, AQSh.

INSDC ma'lumotlariga bepul va cheklanmagan kirishning birgalikdagi yagona siyosatiga ega. Ushbu siyosatga binoan, INSDC har kuni nukleotidlar ketma-ketligi va ular bilan bog'liq ma'lumotlarni to'playdi, saqlaydi, ta'minlaydi va almashadi.

INSDC xalqaro ma'lumotlar bazasida quyidagi yo'naltirilgan platformalari mavjud:

- Bioinformatika
- Biologik ma'lumotlar bazasi
- Yaponiya DNK ma'lumotlari banki
- Yevropa bioinformatika instituti
- Biologik ma'lumotlar bazalari ro'yxati
- Milliy Biotexnologiya Axborot markazi
- Sequence ma'lumotlar bazasi



INSDC xalqaro ma'lumotlar bazasida quyidagi bog'laniladigan URL platformalari mavjud:

- > Rasmiy veb-sayt
- > EMBL INSDC sayti
- > EMBL nukleotid bazasi
- > Yaponiya DNK ma'lumotlari banki
- > GenBank nukleotidini qidirish

INSDC xalqaro ma'lumotlar bazasida quyidagi hujjatlar platformalari mavjud:

- > INSDC tomonidan boshqariladigan so'z birikmalari

- › Genetik kod jadvallari*
- › INSDC holati to'g'risidagi hujjat
- › Genom to'plamini topshirish uchun INSDC standartlari
- › INSDSeq XML v1.5 dtd
- › INSDC Advisor jurnalining muharrirlariga ochiq xat
- › TPA topshirish bo'yicha ko'rsatmalar
- › INSDSeq XML holati
- › / inference qualifier lug'at bo'yicha tavsiyanoma
- › / eksperiment kvalifikatori lug'at bo'yicha tavsiyanoma
- › / Submitter_seqid kvalifikatori tavsiyalari to'g'risidagi hujjat
- › INSDC kelishilgan uslubiy kalit so'zlari

*Genetik kod jadvallari platformasidan ma'lumot (2016 yil tuzilgan):

Achitqi zamburug'i mitoxondriyasidan (transl_table = 3)

Aminokislotalar FFLSSSSYY **

CCWWTTTTPPPPHHQRRRRRIIMMTTTTNNKKSSRRVVVVAAAADDE

EGGGG

Boshlash kodlari ----- — ** ----- — MM ----- — -----

Baza1 TTTTTTTTTTTTTTTTCCCCCCCCCCCCCAAAAAAAAAAAAAA

AGGGGGGGGGGGGGGGGG

Baza2 TTTTCCCCAAAAGGGGTTTTCCCCAAAAGGGGTTTTCCCCAAA

AGGGGTTTTCCCCAAAAGGGG

Baza3 TCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTC

AGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAG

Vaqt o'tishi bilan an'anaviy INSDC ketma-ketlik arxiviga kiritilgan nukleotidlar ketma-ketliklar sonining korrelyativ o'sishi kuzatildi. Jumladan, ommaviy ketma-ketlik ma'lumotlari-WGS hamda ommaviy bo'lmagan ya'ni Expressed Sequence Tag (EST), Genome Survey Sequence (GSS), Patent va Transkriptome Shotgun Assambleyasi (TSA) ketma-ketlik ma'lumotlari o'rin oladi. Keyinchalik (2013 yil) barcha ma'lumotlar BioSample dasturi yordamida

optimallashtirilib umumlashtirildi. Ma'lumot o'rnida shuni aytish mumkinki, BioSample dasturi NCBI, DDBJ va EMBL ma'lumotlar bazasidan o'rin olgan.

Nukleotidlar ketma-ketligi bo'yicha xalqaro ma'lumotlar bazasi bilan ishlash siyosati.

1. INSDC o'zlarining ma'lumotlar bazalarida mavjud bo'lgan barcha yozuvlarga bepul va cheklovsiz kirishning yagona siyosatiga ega. Dunyo miqyosidagi olimlar ushbu yozuvlarga eksperimentlarni rejalashtirish yoki har qanday tahlil yoki tanqidlarni nashr etish uchun kirishlari mumkin. Tegishli maqola, chop etilgan ilmiy adabiyotlardan foydalangan holda, olimlarning asl nusxalariga tayanib, asl taqdimnomaga tayanib beriladi.

2. INSDC ma'lumotlariga kirishni cheklaydigan, ushbu yozuvlardagi ma'lumotlardan foydalanishni cheklaydigan yoki ushbu yozuvlar asosida nashrlarning ayrim turlarini taqiqlaydigan yozuvlarga bayonnomalarni biriktirmaydi. Xususan, foydalanish bo'yicha cheklovlar yoki litsenziyalash talablari biron-bir ketma-ketlik ma'lumotlari yozuvlariga kiritilmaydi va hech kim tomonidan ma'lumotlar bazasini qayta taqsimlash yoki undan foydalanishda hech qanday cheklovlar yoki litsenzion to'lovlar bo'lmaydi.

3. INSDC-ma'lumotlar bazasiga taqdim etilgan barcha annotasiyalar ilmiy nashrlar sifatida doimiy ravishda ochiq bo'lib qoladi. Xatolarni tuzatish va mualliflar tomonidan yozuvlarning yangilanishi qabul qilinadi va noto'g'ri annotasiyalar bazaning keyingi nashrlaridan olib tashlanishi mumkin, ammo barchasi kirish raqami orqali doimiy ravishda saqlanib qoladi.

4. Taqdim etuvchilarga INSDC tomonidan qo'llab-quvvatlanadigan veb-saytlarda aks ettirilgan ma'lumotlar keng jamoatchilikka oshkor qilinishi tavsiya etiladi. Ma'lumotni topshirish huquqiga ega ekanliklarini aniqlash uchun yuboruvchilar javobgar.

5. Tahririyat nazorati va ba'zi ichki tekshiruvlaridan tashqari (masalan, INSDC formatlaridan to'g'ri foydalanish va CDS yozuvlarida ko'rsatilgan kodlash hududlarining tarjimai tekshirilganda), ma'lumotning sifati va aniqligi ma'lumotlar bazasi emas, balki taqdim etuvchi muallifning zimmasidadir. Ma'lumotlar bazalari

iloi boricha sifatli manbaga erishish uchun ma'lumotlar bazasiga ma'lumot taqdim etuvchilari va foydalanuvchilari bilan doimiy a'loqada bo'ladi.

INSDC xalqaro ma'lumotlar bazasining maslahatchi qo'mitalari.

DDBJ maslahatchilari:

- Sumio Sugano, Tibbiyot fanlari instituti, Tokio universiteti
- Ken Kurokawa, Yer-hayot ilmiy instituti, Tokio texnologiya instituti
- Kaoru Fukami-Kobayashi, Bioresource ma'lumot bo'limi, RIKEN BioResource markazi

EMBL maslahatchilari:

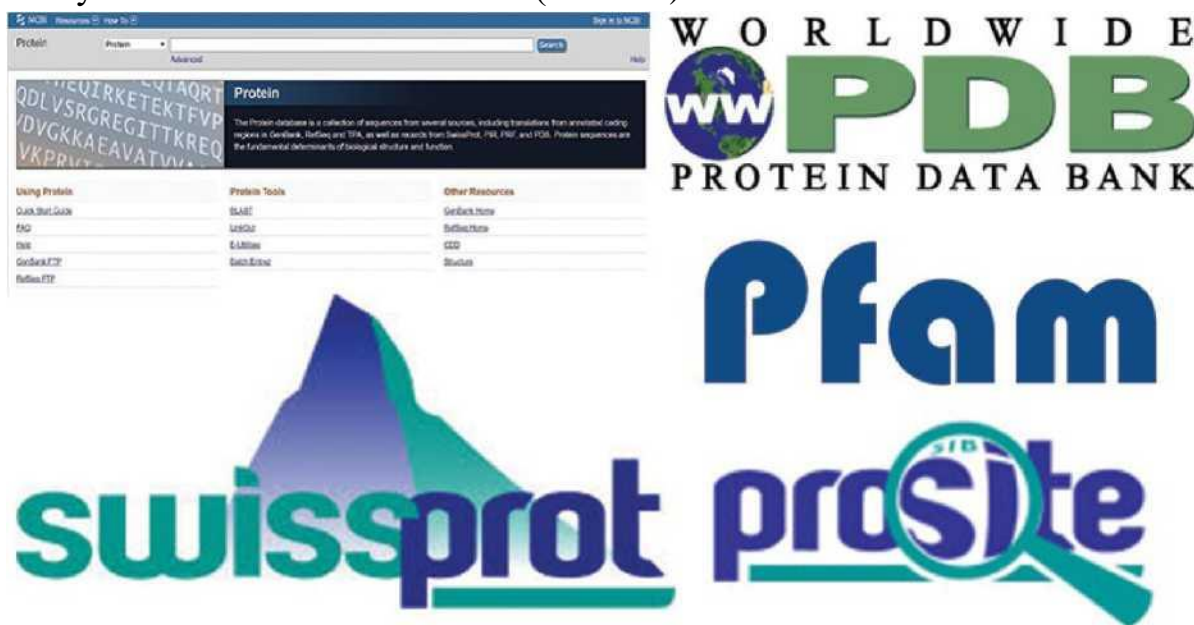
- Antuan Danchin, AMABiotics SAS, Evri, Frantsiya va CEA ilmiy maslahatchisi, Frantsiya
- Babis Savakis, Krit universiteti va IMBB-FORTH, Iraklion
- Jan Vaysenbax, Genoskop, Evri
- Mark Blaxter, GenePool Genomics fondi va Edinburg universiteti, Evolyutsiya biologiyasi instituti

GenBank (NCBI) maslahatchilari:

- Stiven Salzberg, Djons Xopkins nomidagi tibbiyot maktabi, Baltimor, MD, AQSh
- Rich Roberts, Yangi Angliya Biolabs, Beverli, MA, AQSh
- Valeri de Kresi-Lagard, Florida universiteti, Geynvill, FL, AQSh

IV. BOB. ZAMONAVIY PROTEIN MA'LUMOTLAR BAZALARI. Protein bazalari turlari va ahamiyati.

Proteinlar bazasi oqsillar haqida bir yoki bir nechta ma'lumotlar to'plamidir. Ular tarkibiga oqsilning aminokislotalar ketma-ketligi, tuzilishi, shuningdek funktsiyalari kabi ma'lumotlar kiradi (34-rasm).



34- rasm. Protein tuzilishi ma'lumotlar bazasi jamlanmasi.

Protein ma'lumotlar bazalari turli xil gen bazalaridan DNK ketma-ketligini translyatsiya qilish orqali tuziladi va protein tarkibiy ma'lumotlarini o'z ichiga oladi. Ular muhim manba hisoblanadi, chunki oqsillar ko'p biologik funktsiyalarni bajaradi.

Protein ma'lumotlar bazalarining ahamiyati: Protein tuzilmalari, funktsiyalari va ayniqsa ketma-ketligi to'g'risida juda ko'p ma'lumotlar olinmoqda. Ma'lumotlar bazalarini qidirish ko'pincha yangi oqsilni o'rganishda katta ahamiyatga egadir.

Protein ma'lumotlar bazalari quyidagi maqsadlarda foydalanadi:

1. Proteinlar va oqsillar oilalari o'rtasidagi taqqoslash genom tarkibidagi yoki turli xil turlardagi oqsillar o'rtasidagi munosabatlar haqida ma'lumot beradi va shu sababli faqat ajratib olingan oqsilni o'rganish orqali olinadigan ko'proq ma'lumotni taqdim etadi.

2. Eksperimental bazalardan olingan ikkilamchi ma'lumotlar bazalari ham

keng tarqalgan. Ushbu ma'lumotlar bazalari ma'lumotlarni qayta tashkil qiladi va izohlaydi yoki bashorat qiladi.

3. Ko'pgina ma'lumotlar bazalaridan foydalanish ko'pincha tadqiqotchilarga oqsilning tuzilishi va funksiyasini tushunishga yordam beradi.

1. *Protein ma'lumotlar birlamchi bazalari: a. PRIMARY* - ma'lumotlar bazalarida eksperimental tadqiqotlar natijasida aniqlangan oqsillar ketma-ketligi mavjud, ular nukleotidlar ketma-ketligining kontseptual translyasiyasidan hosil qilingan. Kontseptual translyasiya, albatta, eksperimental ravishda olingan ma'lumotlarga kirmaydi, shuning uchun nukleotidlar ketma-ketligi ma'lumotlarini talqin qilinishi natijasida paydo bo'lgan noto'g'ri ma'lumotlarga ega bo'lishi mumkin. Protein ketma-ketligi bo'yicha bir qator boshlang'ich ma'lumotlar bazalari mavjud va ularning har biri alohida e'tibor talab qiladi.

b. Protein ma'lumot manbasi (PIR) - oqsillar ketma-ketligi bo'yicha ma'lumotlar bazasi (PIR-PSD): PIR-PSD PIR, MIPS (Protein Sequences uchun Myunxen axborot markazi, Germaniya) va JIPID (Yaponiya xalqaro oqsil ma'lumotlari bazasi, Yaponiya) o'rtasidagi hamkorlikdagi ma'lumot bazasidir. PIR-PSD ning o'ziga xos xususiyati shundaki, u super-oila tushunchasi asosida oqsillar ketma-ketligini tasniflaydi. PIR-PSD-da ketma-ketlik gomologiya domeni va ketma-ketliklar bo'yicha ham tasniflanadi. Gomologiya domenlari evolyutsion shajara bloklariga to'g'ri kelishi mumkin, ketma-ketliklar funktsional joylarni yoki saqlanib qolgan hududlarni anglatadi. Bunday tasniflash yondoshuvi funktsional-struktura munosabatlari ketma-ketligini to'liqroq tushunishga imkon beradi.

c. SWISS-PROT: Taniqli va keng ishlatiladigan proteinlar bazasi bu SWISS-PROT hisoblanadi. PIR-PSD singari, bu saralangan oqsillar ketma-ketligi bazasi hamda annotasiyalarning yuqori darajasini ta'minlaydi. Har bir tahrirdagi ma'lumotlarni alohida ma'lumotlar va annotasiyalar sifatida ko'rib chiqish mumkin. Asosiy ma'lumotlar umumiy bitta harfli aminokislotalar kodiga kiritilgan ketma-ketliklar va tegishli ma'lumot va bibliografiyadan iborat. Tahrirda oqsilning tuzilishi yoki funksiyalari, fosforillanish, asetilatsiya va boshqalar kabi post-

translatsional o'zgarishlar, tarkibiy sohalar, saytlar, kaltsiyni bog'laydigan hududlar, ATP-ulanish joylari, ruh barmoqlari va boshqalar to'g'risida ma'lumotlar mavjud.

d. TrEMBL (tarjima qilingan EMBL uchun) - bu SWISS-PROTga qo'shimcha sifatida chiqarilgan dasturga kiritilgan oqsillar ketma-ketligi ma'lumotlar bazasi hisoblanadi. Unda EMBL nukleotid ma'lumotlar bazasida to'liq tahrirlanmagan kodlash ketma-ketliklarining tarjimasi mavjud. Shunday qilib, ushbu ma'lumot bazasida hech qachon tahrirlanmagan va organizmda aniqlanmagan oqsillar ketma-ketligini o'z ichiga olishi mumkin.

e. Protein ma'lumotlar banki (PDB): PDB-oqsil tuzilishi to'g'risidagi asosiy ma'lumotlar bazasi hisoblanadi. Ma'lumot bazasida yuqori molekulyar oqsillar biologik molekulalarning uch o'lchamli tuzilishi to'g'risida kristallografik ma'lumotlar bazasi. PDB nafaqat oqsillarning, balki nuklein kislotalar bo'laklari, RNK molekulalari, antibiotik gramitsidin kabi yirik peptidlar, oqsil va nuklein kislotalar komplekslarining uch o'lchamli tuzilishini ham arxivlaydi. Ma'lumotlar bazasida asosan uchta manbadan olingan ma'lumotlar mavjud: rentgen kristallografiyasi, tadqiqotchilar tajribalari va molekulyar modellashtirish.

2. Protein ma'lumotlar ikkilamchi bazalari: ularda birlamchi ma'lumotlar bazalarida joylashgan ketma-ketlikni chuqur tahlil qilish natijalarini ham o'z ichiga oladi. Ko'pgina oqsillarning ikkinchi darajali ma'lumotlar bazalari turli xil oqsillarga tegishli xususiyatlarni izlash natijasidir. Ba'zi bir ishlatiladigan ketma-ketlik va tuzilishning ikkinchi darajali ma'lumotlar bazalari quyidagilar kiradi:

*a. MHC*Pep*:MHC*Pep** - bu 13000 dan ortiq peptid ketma-ketligidan tashkil topgan ma'lumotlar bazasi, bu immunitet tizimining asosiy gistomansublik kompleksi to'g'risidagi ma'lumotlarni saqlaydi.

b. PROSIT: Bu birinchi ishlab chiqilgan ikkinchi ma'lumotlar bazasi. Undan foydalanib, yangi ketma-ketlik qidirilganda oqsillar oilasini osongina topishimiz mumkin. Shunday qilib, PROSIT tarkibida proteinlar domenlari, oilalar va funktsional joylarni tavsiflovchi hujjatlar yozuvlari, shuningdek ularni aniqlash

uchun bog'langan monomer va profillar mavjud.

c. *Profillar*. Profil ma'lumotlar bazasi ketma-ketlikni moslashtirishda muhim saqlanib qolgan hududlarni aniqlash uchun ishlatiladi.

PDB - protein ma'lumotlari banki



Protein ma'lumotlari banki (PDB) 1971 yil oktyabr oyida PROTEIN DATA BANK Nature New Biologiyada Kembrij Kristallografik Ma'lumotlar Markazi, Buyuk Britaniya va Bruksaven Milliy Laboratoriyasi, AQShdagi qo'shma korxona sifatida e'lon qilindi. U eksperimental ravishda aniqlangan protein tarkibidagi barcha ma'lumotlarning markaziy arxivi sifatida tashkil etilgan. Bugungi kunda PDB xalqaro miqyosda Protein Ma'lumotlar Banki (WPPDB) nomi bilan tanilgan xalqaro konsorsium tomonidan yuritiladi. WWPPDBning vazifasi makromolekulyar tarkibiy ma'lumotlarning yagona arxivini yaratishdir.



35-rasm. PDB – protein ma'lumot bazasining boshqa bazalar bilan a'loqasi.

Ushbu veb saytga odatda rentgen kristallografiyasi, NMR spektroskopiyasi va krioelektron mikroskopiya usullari orqali olingan, dunyoning turli mamlakatlari biolog va kimyogarlar tomonidan taqdim etilgan ma'lumotlar kirishi mumkin (PDBe, PDBj, RCSB, va BMRB). PDB butun dunyo bo'ylab oqsil ma'lumotlari banki deb nomlangan tashkilot tomonidan nazorat qilinadi. PDB global arxivini yagonalashtirish maqsadida bir harakat PDBe (Buyuk Britaniya), PDBj (Yaponiya), va BMRB (AQSh) bazalari hamkorlikda ish olib borishadi (35-rasm).

PDB arxivi har hafta yangilanadi va ma'lumotlarni foydalanuvchilarga bepul taqdim etiladi. Taqdim etiladigan xizmat turlari ko'p jumladan:

- Kristallografik ma'lumotlar bazasi

- Protein tuzilishi
- Protein tarkibini bashorat qilish
- Protein tuzilishi ma'lumotlar bazasi
- PDBREPORT PDB tuzilishidagi barcha anomaliyalarni ko'rsatadi
- PDBsum - boshqa ma'lumotlar bazalaridan foydalanadi
- Proteopedia - bu molekulalarning 3D entsiklopediya tipida ko'rsatadi.

Protein ma'lumotlari banki (PDB) arxivi yirik biologik molekulalarning 3D tuzilmalari, shu jumladan oqsillar va nuklein kislotalar to'g'risidagi ma'lumotlarning dunyo miqyosidagi yagona omboridir. Omborda barcha organizmlarning, shu jumladan bakteriyalar, zamburug'lar, o'simliklar, umrtqasizlar, boshqa hayvonlar va odamlarda mavjud bo'lgan hayot molekulalari, molekulalar strukturalarining mayda oqsillar va DNK mayda bo'laklaridan tortib, murakkab molekulalarga qadar ma'lumotlari jamlanadi.

PDB dunyo bo'ylab xalqaro foydalanuvchilar jamoasiga ega bo'lib, keng soha vakillarini strukturaviy biologiya, biokimyo, genetika, bioinformatika, farmakologiya, media yozuvchilar, rassomlar, kabi sohalarda o'z ichiga oladi. *Nuklein kislotalari tadqiqotlari* 2000, har doim eng ko'p nashr etilgan ilmiy nashrlardan biridir. Clarivate Analytics tomonidan 2017 yilda o'tkazilgan bibliometrik tahlili dunyo bo'ylab PDB tomonidan yuqori sifatli izlanishlarni ko'rsatmoqda. Iqtibosli maqolalar biologiya va biokimyo, kompyutershunoslik, o'simlik va hayvonot fanlari, fizika, atrof-muhit, ekologiya, matematika va geografiya kabi 16 ta ilmiy sohada dunyo bo'yicha o'rtacha ko'rsatkichdan oshib ketdi. RCSB PDB ma'lumotlari va xizmatlaridan foydalanish qiymati har yili 5.5 milliard dollarga baholanmoqda. Ushbu saytlar kuniga 24 soat, haftada yetti kun xizmat ko'rsatadi (36-rasm).

PIR -protein axborot resursi



PIR - *protein axborot resursi* bazasi, Jorjtaun universiteti tibbiyot markazi (*GUMC*) tomonidan bioinformatikani qo'llab-quvvatlash maqsadida genom va proteom tadqiqot natijalari va oqsil ketma-

PIR A UniProt CONSORTIUM MEMBER
Protein Information Resource

About PIR | Resources | Search/Analysis | Download | Support

INTEGRATED PROTEIN INFORMATICS RESOURCE FOR GENOMIC, PROTEOMIC AND SYSTEMS BIOLOGY RESEARCH

UniProt Universal Protein Resurslari (UniProt) ilmiy jamoalarga oqsillar ketma-ketligi va funktsional ma'lumotlar uchun yagona, markazlashtirilgan, vakolatli manba beradi.
UniProtKB | UniRef | UniParc | Joriy nashr: 2020_02

PRO
Protein Ontology

- Protein ob'ektlarini tavsiflash va o'zaro bog'liqlik
- PRO-ni ko'rib chiqish
- RACE-PRO bilan izohlang

* PRO hisobotining namunasi *

iPTMnet
Integrated Protein PTM Resource

- PTM fermenti-substrat-sayt aloqalari
- PTM tarmoqlarini vizual tahlil qilish, o'zaro so'zlashuvlar va saqlash
- Partiya olish

* IPTMnet hisobotining namunasi *

iProLINK
Literature Information & Knowledge

- Matnni yaratish vositalariga va izohlangan korporatsiyalarga kirish
- RLIMS-P kinaz, substrat va saytni qazib olish
- miRtex miRNA / maqsadli ma'lumotni ajratib olish

* RLIMS-P hisobotining namunasi *

BOSHQA RESURS

- Malumot Proteomlari
- iProClass
- iProXpress
- QONUN

XALQNING qidirish

MA'LUMOT: UniProtKB

Use single letter amino acid code

TEXT qidirish

MA'LUMOT: iProClass

Bioinformatika va kompyuter biologiyasi bo'yicha magistrlik dasturlari:

- Jorjtaun universitetida
- magistrlik dissertatsiyasi, magistrlik, PSM va Delever universitetida magistrlik dasturlari.

Uy | PIR haqida | Ma'lumotlar bazalari | Qidiruv / tahlil | Yuklab olish | Qo'llab-quvvatlash | SITE Xaritasi | FOYDALANISH S

© 2018 Protein ma'lumotlari manbai

ketliklarini taqdim etadi (37-rasm).

35- rasm. PIR -Protein axborot resursi markazining asosiy oynasi.

PIR 1984 yilda Uinona Barker va Robert Ledlilar boshchiligida Milliy Biotibbiy Tadqiqotlar Fondi (*NBRF*) tomonidan tadqiqotchilar va mijozlarga oqsillar ketma-ketligi ma'lumotlarini aniqlash va izohlashda yordam beradigan manba sifatida tashkil etilgan. Bungacha NBRF 1964-1974 yillarda Margaret Dayhoff tahriri ostida nashr etilgan "Proteinlar ketma-ketligi va tuzilishi atlas" da birinchi makromolekulyar ketma-ketlik to'plamini tuzgan. Dayxof va uning tadqiqot guruhi oqsillar ketma-ketligini taqqoslash, ketma-ketliklar orasidagi masofa va ketma-ketlikni aniqlash hamda oqsillar ketma-ketligi evolyutsion tarixini aniqlash uchun kompyuter usullarini ishlab chiqishda kashf etdilar.

PIR boshqa ma'lumotlar bazalari jumladan, EBI (Yevropa Bioinformatika Instituti), oqsillar ketma-ketligi va funktsiyalarining markaziy manbai bo'lgan UniProt (Birlashgan Protein ma'lumotlar bazasi) va SIB (Shveytsariya Bioinformatika Instituti) bilan birgalikda ish yuritishadi.

PIR o'zida oqsillar ketma-ketligi, oilalari, fermentlar va fermentativ yo'llar, molekulyar tuzilmalar va strukturalar ularning sinflari, genlar va genomlar, adabiyot va taksonomiyalarning ko'p sonli molekulyar ma'lumotlar bazalariga keng ko'lamli murojaatlarni va havolalarni taqdim etadi (1-rasm). Ushbu sayt ma'lumotlarini UniProt (Birlashgan Protein ma'lumotlar bazasi) resurslari bilan dastlabki tahlilini o'tkazgan holda taqdim etib, tahlil qilishda ham UniProt dasturlaridan foydalanadi.



UniProt ma'lumotlar bazasi

UniProt - bu oqsillar ketma-ketligi va funktsional ma'lumotlarning erkin kirishi mumkin bo'lgan ma'lumotlar bazasi bo'lib, ularning ko'plari genomni tartiblash loyihalaridan olinadi (38-rasm). Unda tadqiqotlar natijasida olingan oqsillarning biologik funktsiyasi haqida juda ko'p ma'lumotlar mavjud. Uni bir nechta Yevropa bioinformatika tashkilotlari va Vashington, Kolumbiya okrugi (AQSh) dan tashkil topgan UniProt konsorsiumi qo'llab- quvvatlaydi. UniProt keng doirada boshqa bazalar bilan hamkorlikda ish olib boradi. Jumladan:

✓ INSDC

- ✓ EMBL
- ✓ GenBank (NCBI)
- ✓ DDBJ
- ✓ Ansambl
- ✓ Yevropa patent idorasi (EPO)
- ✓ FlyBase: Drosophilidae hasharotlar oilasi uchun genetik va molekulyar ma'lumotlarning asosiy ombori.
- ✓ H-Invitation ma'lumotlar bazasi (H-Inv)
- ✓ Proteinlarning xalqaro indeksi (IPI)
- ✓ Yaponiya Patent idorasi (JPO)
- ✓ Protein haqida ma'lumot manbasi (PIR-PSD)
- ✓ Protein ma'lumotlari banki (PDB)
- ✓ Oqsillarni tadqiqot qilish fondi (PRF) ^[18]
- ✓ Saccharomyces Genome Database (SGD)
- ✓ Arabidopsis haqida ma'lumot manbai (TAIR)
- ✓ AQSh Patent idorasi (USPTO)
- ✓ Shveytsariya-Prot (SWISS-Prot)
- ✓ TrEMBL
- ✓ Umurtqali va Genomli Annotatsiya Ma'lumotlar Bazasi (VEGA)

Saytning yaratilishi Shveytsariya-PROT tomonidan 1986 yilga borib taqaladi. Uning UniProt tarzida to'liq ishga tushirilishi 2003 yil dekabr oyida sodir bo'lgan. UniProt Inson Genomini o'rganish Milliy Instituti, Milliy Sog'liqni Saqlash Institutlari (NIH), Yevropa Komissiyasi, Shveytsariya Federal Hukumati Ta'lim va Ilmiy Federal Xizmati, NCI-caBIG va AQSh Mudofaa Vazirligi tomonidan moliyalashtiriladi. UniProt to'rtta asosiy ma'lumotlar bazasini taqdim etadi:

1. UniProtKB (Swiss-Prot qismlari bilan)
2. UniProtKB (TrEMBL-qismlari bilan)
3. UniParc
4. UniRef.

UniProtKB / TrEMBL - avtomatik izoh bilan boyitilgan yuqori sifatli hisoblash, tahlil ma'lumotlarini o'z ichiga oladi. U genom loyihalari natijasida olingan ma'lumotlar oqimining ko'payishiga javoban joriy qilingan, chunki UniProtKB / Shveytsariya-Protning vaqt va mehnat sarf qiladigan qo'l yozuvlaridan ko'ra EMBL-Bank / GenBank / DDBJ nukleotidlar ketma-ketlik ma'lumotlar bazasidagi kodlangan ketma-ket tarjimalarini avtomatik ravishda qayta ishlalaydi.

UniProt Archive (UniParc) - bu oqsillar ketma-ketligining asosiy, hamma uchun ochiq bo'lgan to'liq ma'lumotlar bazasi. Bazada proteinlarning bir necha xil turini topish mumkin. Oqsilning har bir ketma-ketligiga barqaror va noyob identifikator (UPI) va proteinni turli xil manbalar bazalarida aniqlash imkonini beradi. Bundan tashqari ma'lumotlar bazasidagi protein ketma-ketliklari o'zgarganda, bu o'zgarishlar UniParc tomonidan kuzatiladi va barcha o'zgarishlar tarixi arxivlanadi.

UniProt Referents Klasterlari (UniRef) - yuqoridagi UniProtKB (Swiss-Prot qismlari bilan), UniProtKB (TrEMBL-qismlari bilan) va UniParcda mavjud xususiy va umumiy oqsillar ketma-ketligi yagona UniRef yozuviga birlashtiradi.



SWISS-PROT-proteinlar ketma-ketligi ma'lumotlar bazasi

Genom loyihalaridan ketma-ket ma'lumotlar bazalariga suis^jrot ma'lumotlar oqimi oshib borishi sababli ma'lumotlar bazasini izohlashda bir qator qiyinchiliklarga duch kelinmoqda. SWISS-PROT-da yuqori sifatli ketma-ketlik va izohlarning saqlanishi bu kabi muammolarning yechimini topish imkonini beradi (39-rasm)

SWISS-PROT - 1987 yilda Jeneva Universitetining Tibbiy biokimyo bo'limida yaratilgan. U Yevropa molekulyar biologiya laboratoriyasi (EMBL) va Shveytsariya Bioinformatika Instituti (SIB) o'rtasida teng huquqli sheriklik asosida birgalikdagi sa'y-harakatlari bilan ish yuritadi. Hozirgi vaqtda SWISS-PROT 31 ta turli xil ma'lumotlar bazalari bilan bog'langan va bio-molekulyar ma'lumotlar almashinib turadi. Hozirgi vaqtda (1999 yil oktyabr holatiga ko'ra) SWISS-PROT ~ 81 000 ketma-ket yozuvlarni o'z ichiga oladi, bunda ~ 65 000 ta ma'lumotlardan olingan 30 million aminokislotalar haqida ma'lumotlar mavjud.



39-rasm. SWISS-PROT ma'lumotlar asosiy oynasi

ketligi boshqa ma'lumotlar bazasidan uchta aniq mezon bilan ajratib turadi: (I) aniq izohlar, (II) minimal ma'lumotlar va (III) boshqa ma'lumotlar bazalari bilan to'laqonli integratsiya. SWISS-PROT-da ma'lumotlarning ikki sinfini ajratish mumkin: asosiy ma'lumotlar va izohlar. Har bir ketma-ketlik uchun asosiy ma'lumotlar ketma-ketlik ma'lumotlaridan iborat; iqtibos ma'lumotlari

(bibliografik havolalar) va taksonomik ma'lumotlar (oqsilning biologik manbasi tavsifi), izoh esa quyidagi elementlarning tavsifidan iborat:

- Oqsilning funktsiyalari

Post-translational modifikatsiyalar, masalan, uglevodlar, fosforillanish, atsetilatsiya, GPI-langar va boshqalar.

- Domenlar va saytlar. Masalan, kaltsiyni bog'laydigan mintaqalar, ATP-ulanish joylari, sink barmoqlari, gomeobokslar, CH₂ va CH₃ domenlari va boshqalar.

- Ikkilamchi tuzilish. Masalan, alfa spiral, beta zanjir va boshqalar.

To'rtlamchi tuzilish. Masalan, homodimer, heterotrimer va boshqalar.

- Boshqa oqsillarga o'xshashliklar

- Oqsil yetishmovchiligi bilan bog'liq kasalliklar

- Tarkibiy nizolar, variantlar va boshqalar.

Odam proteomikasi bo'yicha loyiha (HPI)-Bir necha oy ichida bir qator sekvens markazlari va kompaniyalarining birgalikdagi sa'y-harakatlari inson genamlari ketma-ketligining birinchi loyihasini ishlab chiqishdi. Bunday urinish insonning biologik jarayonlarini tushunishda juda muhim qadamdir. Bu loyihani amalga oshirishda ko'pgina muammolar mavjud. Jumladan, barcha kodlash hududlarini genom ketma-ketligi bo'yicha aniqlash murakkabdir. Hozirgi algoritmlar juda kuchli bo'lishiga qaramay, barcha ekzonlarni aniq aniqlashga qodir emas, turli xil variantlarni ajratish uchun yaxshi jihozlanmagan va mayda oqsillarni aniqlay olmaydilar va bunday oqsillar ko'pgina biologik jarayonlar uchun hal qiluvchi rol o'ynaydi. Bir marta ribosomalarda sintez qilingan oqsillar ko'p sonli o'zgartirish bosqichlariga duchor bo'ladi. Ushbu barcha modifikatsiyalar tufayli xilma-xillik yuqori daraja bilan murakkablashmoqda.

Shunday qilib, inson genomini ifoda etadigan turli xil protein molekulalarining soni millionga yaqinroqdir. Hisobga olish kerak bo'lgan murakkablikning yana bir omili - bu proteinlar ketma-ketligi darajasidagi polimorfizm miqdorining mavjudligi hisoblanadi. Ushbu polimorfizmlarning ba'zilari kasallik holatlari bilan bog'liq, shuning uchun SWISS-PROT sifat standartlariga muvofiq barcha ma'lum bo'lgan odamlarning ketma-ketligini

izohlash uchun katta loyihani amalga oshirmoqda. Bu har bir ma'lum protein uchun uning funktsiyasi, uning domen tuzilishi, hujayra ichidagi joylashishi, translyasidan keyingi o'zgarishlar, variantlar, boshqa oqsillarga o'xshashlik va hokazolarni o'z ichiga olgan juda ko'p ma'lumotni taqdim etishni anglatadi. Hozirda 5400 dan oshiq izoh mavjud.

HPI loyihasi quyida qisqacha tavsiflangan bir qator kichik tarkibiy qismlarni o'z ichiga oladi:

- Barcha ma'lum bo'lgan proteinlarga izoh berish. Keyingi 9 oy davomida (2000 yil aprelgacha) SWISS-PROT-da oldin mavjud bo'lmagan protein oqsillari to'liq izohlandi.
- Sut emizuvchilarining inson oqsillari ortologlarini izohlash. Har qanday inson oqsillari uchun, sutemizuvchi boshqa turlardagi mavjud ortologlarga izoh beriladi.
- Proteinlar ketma-ketligi darajasida barcha ma'lum bo'lgan polimorfizmlarga izoh berish. Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, SWISS-PROT bunday polimorfizmlarning katta miqdori haqida ma'lumotga ega va u protein darajasida barcha «mayda» o'zgarishlarni saqlash va izohlash harakatini sezilarli darajada kengaytiradi.
- Odam oqsillaridagi barcha ma'lum post-translatsion o'zgarishlarni izohlash. Kelgusi 9 oy davomida SWISS-PROT-da taqdim etilgan oqsillardagi ma'lum translyasidan keyingi modifikatsiyalarning batafsil tavsifini to'ldirishga katta kuch sarflanadi.
- Strukturaviy ma'lumotlarga qattiq bog'lanish. SWISS-PROT PDB / RCSB 3D-tuzilmasi ma'lumotlar bazasi bilan chambarchas bog'langan biologlar uchun foydali bo'lgan ko'plab xususiyatlarni o'z ichiga oladi. Bunday yaqin aloqalar, ilmiy yondashuvga mos keladigan, insonning barcha oqsillari uchun homologiyaning olingan modellarni taqdim etish orqali yanada kengaytiriladi. HPI loyihasi va uning hozirgi holati haqida batafsil ma'lumot <http://www.expasy.ch/sprot/hpi/> da berilgan.

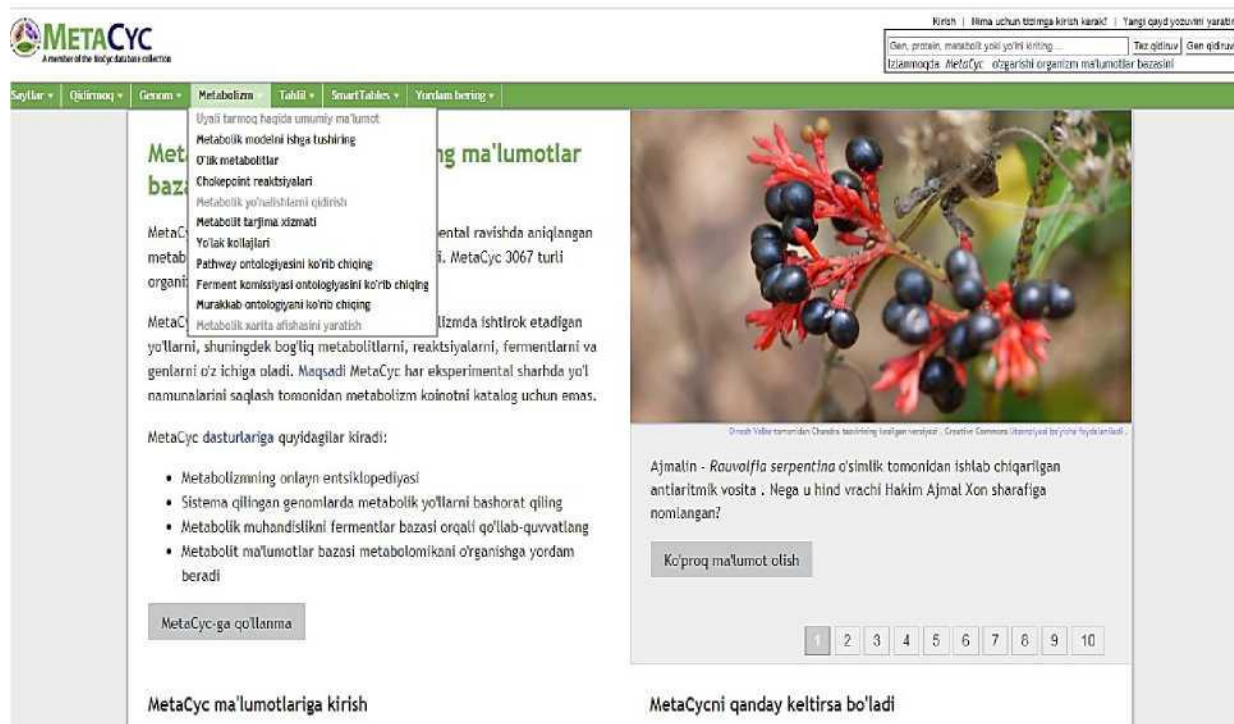
Mavzini mustahkamlash uchun savollar:

1. Biologik ma'lumotlar bazasi ma'nosini ochib bering?
2. Ma'lumotlar bazalari nechta turi mavjud?
3. Zamonaviy nukleotidlar bazalariga misollar keltiring?
4. Zamonaviy protein bazalariga misollar keltiring?

V. BOB. ZAMONAVIY METABOLIK YO'LLARI MA'LUMOTLAR BAZALARI

MetaCyc metabolik yo'llarining ma'lumotlar bazalari

MetaCyc - hayotning barcha sohalarida eksperimental ravishda aniqlangan metabolik yo'llar va fermentlarning ma'lumotlar bazasi. U shuningdek reaksiyalar, kimyoviy birikmalar va genlarni o'z ichiga oladi (40-rasm).



40-rasm. MetaCyc ma'lumotlar bazasining asosiy oynasi

MetaCyc bazasida 3067 turli organizmlardan mavjud bo'lgan 2766 xil metabolitik yo'llari mavjuddur. MetaCycda ham birlamchi, ham ikkilamchi metabolizmda ishtirok etadigan yo'llar, shuningdek bir-biriga bog'liq metabolitlarni, reaksiyalarni, fermentlarni va genlarni o'z ichiga oladi. MetaCyc [dasturlariga](#) quyidagilar kiradi:

- Metabolizmning onlayn ensiklopediyasi,
- Tizimlashgan genomlarda metabolik yo'llarni bashorat qilish,
- Metabolik muhandislikni fermentlar bazasi orqali yaratish,
- Metabolit ma'lumotlar bazasi metabolomikani o'rganishda qo'llash.

MetaCyc missiyasi quyidagi vazifalarni bajarish uchun genetika, molekulyar biologiya, mikrobiologiya, biokimyo, genomika, bioinformatika, metabolik muhandislik va tizimlar biologiyasining ko'plab tadqiqotchilar jamoasiga xizmat

qilishdir. MetaCyc asosiy tadqiqotlar va genomlarni tahlil qilish uchun tadqiqotchilar, talabalar va o'qituvchilar tomonidan o'quv maqsadlari uchun metabolik yo'llar va fermentlar haqidagi zamonaviy, adabiyotlar asosida tayyorlangan ma'lumot manbasi sifatida foydalaniladi.

MetaCyc bazasida birlamchi metabolizmlarda va ikkilamchi metabolizmlarda ishtirok etadigan gen va oqsil (aksincha bo'lishi mumkin) yo'llarini o'zida saqlaydi. MetaCyc ma'lumotlari boshlang'ich adabiyotlardan, tadqiqotlardan va tashqi ma'lumotlar bazalaridan olinadi. Olingan ma'lumotlar asosida quyidagilarni taqdim etadi:

- Metabolitik yo'lining ahamiyati,
- Boshqa metabolitik yo'llari bilan aloqadorligi,
- Bu metabolitik yo'li mavjud bo'lgan organizmlar haqida,
- Metabolitik yo'lining eksperimental dalillari,
- Qarama-qarshi dalillar haqida.

MetaCyc quyidagi manbalardan olingan ma'lumotlarni o'z ichiga oladi:

- PubMed,
- UniProt,
- NCBI,
- CHEBI, KEGG Ligand va PubChem kimyoviy tuzilish bazalari,
- BRENDA fermenti bazasi.

MetaCyc-ni boshqa yo'l bazalari bilan taqqoslaydigan bo'lsak, jumladan MetaCyc yo'llari xaritalari KEGG xaritalariga qaraganda haqiqiy biologik jarayonlarga yaqinroq. MetaCyc shuningdek, metabolik reaksiyalar va fermentlar to'g'risida keng ma'lumot beradi, bu esa ushbu metabolitning biosintezi yoki katabolizmining mumkin bo'lgan yo'nalishlari haqida tushunishga imkon beradi.

HSLs metabolik yo'llarining ma'lumotlar bazalari

HSLs - tirik organizmlar xususan inson salomatligi yuzasidan metabolik yo'llar, fermentlar va gen bilan bog'liq yo'llarning ma'lumotlar bazasi (41-rasm).

HSLS Bosh sahifa > Molekulyar biologiya > OBRC: Onlayn bioinformatika manbalari to'plami >

Metabolik yo'llar

OBRC

- Elektron pochta bo'yicha takliflar
- Yangi manbani tavsiya eting
- DNK ketma-ketligi bo'yicha ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Fermentlar va yo'llar
 - Fermentlar va fermentlar nomenklaturasi
 - Metabolik yo'llar
 - Protein-oqsillarning o'zaro ta'siri
 - Signal yo'llari
- Gen mutatsiyalari, genetik o'zgarishlar va kasalliklar
- Genomika ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Immunologik ma'lumotlar bazasi va vositalari
- Microarray, SAGE va boshqa gen ifodalari
- Organella ma'lumotlar bazalari
- Boshqa ma'lumotlar bazalari va vositalari (adabiyotlarni nashr)

- 1 Ambion GeneAssistx99 Yo'l-yo'lakay atlas
Protein turli xil hujayrali yo'llarda qanday qatnashishini bilib oling.
- 2 BioCarta - Metabolik va signalizatsiya yo'llarining onlayn xaritalari
Klassik metabolik va signallarni o'tkazish yo'llarining dinamik xaritalarining keng to'plamini qidiring.
- 3 BioCyc - yo'llar / genomlar bo'yicha ma'lumotlar bazasi to'plami
205 dan ortiq genom ma'lumotlar bazalari to'plamini qidiring.
- 4 Bionemo - biologik parchalanish metabolizmiga oid molekulyar ma'lumotlar
Biologik parchalanish metabolizmiga bevosita aloqador proteinlar va genlar haqida ma'lumot toping.
- 5 BoolNet - Boolean Network tahlil vositasi
Boolean tarmoqlarini yaratish, qayta qurish va tahlil qilish uchun foydalaning.
- 6 Kaleydo - Yo'l va genlar ekspozitsiyasi vizualizatsiyasi
Yo'llar va genlar o'rtasidagi bog'liqlikni tushunib oling.
- 7 ChemProt - kasallik kimyoviy biologiyasi ma'lumotlar bazasi
Kimyoviy-oqsillarning o'zaro ta'siri to'g'risida ma'lumot toping.
- 8 DAVID - Izoh, vizualizatsiya va integratsiyalashgan kashfiyot uchun ma'lumotlar bazasi
Genlarga keng qamrovli izohlar, ekspress-ma'lumotlar tahlili, biologik yo'llarni xaritasi va boshqa

41-rasm. HSLS ma'lumotlar bazasining asosiy oynasi.

HSLS ma'lumotlar bazasi quyidagi xizmatlarni taklif etadi:

- DNK ketma-ketligi bo'yicha ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Fermentlar va ular bilan bog'liq bo'lgan jarayonlar
- Fermentlar va fermentlar nomenklaturasi
- Metabolik yo'llar
- Protein-oqsillarning o'zaro ta'siri
- Signal yo'llari
- Gen mutatsiyalari, genetik o'zgarishlar va kasalliklar
- Genomika ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Immunologik ma'lumotlar bazasi va vositalari
- Microarray, SAGE va boshqa gen ifodalari
- Organella ma'lumotlar bazalari
- Boshqa ma'lumotlar bazalari va vositalari (adabiyotlarni izlash, laboratoriya protokollari, tibbiy mavzular va boshqalar)
- O'simliklar to'g'risidagi ma'lumotlar bazasi

- Protein ketma-ketligi bo'yicha ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Proteomika manbalari
- RNK ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari
- Tuzilma ma'lumotlar bazasi va tahlil vositalari

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Zamonaviy metabolik yo'llar ma'lumotlar bazasining vazifasini ochib bering?*
2. *MetaCyc ma'lumot bazasi qanday ma'lumotlarni o'z ichiga oladi?*
3. *HSLs ma'lumotlar bazasida qanday turdagi ma'lumotlar olish mumkin?*

VI. BOB. GENOMLARNI TAHRIRLASH

Genomni tahrirlash texnologiyalarga asos solinishi

O'simliklar, hayvonlar va odam genomining to'liq sekvenirlanishi natijasida olingan ma'lumotlar bioinformatika usullari orqali biotexnologiya, molekulyar biologiya, qishloq xo'jaligi va tibbiyot sohalarida keng miqyosda qo'llash uchun katta imkoniyatlar ochib bermoqda. Biroq genomning alohida elementlarining funktsional o'zaro bog'liklarini va ularning fenotipik belgilarini hamda alohida kasalliklarning patogenezi shakllanishidagi rolini tushunish uchun genomlarning faqatgina nukleotid ketma-ketliklari to'g'risidagi ma'lumotlar yetarli emas. Postgenom sohasida genomlardagi DNKlarni manipulyatsiya (boshqarish) qilish, genlar ekspressiyasini va regulyator elementlarning ishlarini boshqarish va vizuallashtirish imkonini beruvchi usullar faol rivojlanib bormoqda. Ammo barcha usullar ham samaradorligi, havfsizligi hamda keng doiradagi tadqiqotchilar qo'llashi uchun yuqori talablarga javob bermaydi. So'nggi bir necha yillar ichida genomlarni tahrirlash uchun TALEN, Zinc Finger va CRISPR/Cas9 (inglizcha CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, o'zbek tilida - muntazam guruhlarda joylashgan qisqa palindromik takrorlar) kabi yangi texnologiyalar vujudga keldi.

Genomni tahrirlash texnologiyalari. Ushbu yaqinda paydo bo'lgan tizimlar allaqachon genom muxandisligining samarali va ishonchli texnologiyalariga aylanib ulgirdi. Bu innovatsion texnologiyalarni zamonaviy biologiyaaning asosiy model ob'ektlari genomlarini tahrirlashda hamda genomlarning funktsional skriningi, odam irsiy kasalliklari hujayra modellarini yaratish, epigenomikasini o'rganish va hujayrada sodir bo'ladigan jarayonlarni vizualizatsiya qilishda qo'llaniladi.

Gen muxandisligi sohasining tarixi 1972 yilda amerikalik olim Pol Naim Berg (Paul Naim Berg) laboratoriyasida rekombinant DNK yaratilishi bilan boshlangan. Bu tajribada olimlar ichak tayoqchasi genomini bakteriofag va virus (SV40) genlari bilan birlashtirgan. Ushbu kashfiyotdan so'ng gen muxandisligi

sohasida ulkan yutuqlarga erishildi, molekulyar-genetik mexanizmlar va hodisalar mukammal o'rganildi va kashf etildi, endilikda bu hodisalami *in vitro* sharoitida amalga oshirish mumkin. Bakteriya hamda viruslarning molekulyar genetikasi va biokimyosi sohasidagi izlanishlar bioinformatik usullar yordamida DNKni manipulyatsiya qilish (boshqarish) va turli vektor tizimlari ishlab chiqish, ularni hujayraga kiritish usul va uslublarini yaratish imkonini berdi. Buning natijasida esa nafaqat transgen mikroorganizmlar, balki genetik modifikatsiyalangan o'simliklar va hayvonlar olishga erishildi.

Bioinformatika sohasining shiddat bilan rivojlanishi biotexnologiya va selektsiya yo'nalishlari taraqqiyotiga turtki berib, gen muxandisligining amaliy sohasini yuzaga keltirdi. Biroq an'anaviy gen muxandisligi usullari bir qator kamchiliklarga ega bo'lib, bulardan bittasi - odam va hayvonlarning katta genomlarini manipulyatsiya qilish o'ta murakkabligidir.

Halqaro "Inson genomi" loyihasi doirasida 1990-2003 yillar davomida odam yadro DNKsining nukleotid ketma-ketligi aniqlandi va 20,5 mingga yaqin genlar identifikatsiya qilindi. Bu kabi ko'plab loyihalar hozirgi vaqtda ham olib borilmoqda, asosiy biologik model ob'ektlar genomlari - ichak tayoqchasi, nematoda, drozofila pashasi, sichqon va h.o. nukleotid ketma-ketliklari allaqachon o'qib bo'lingan. Bu loyihalar orqali DNKning faqat nukleotid ketma-ketliklari to'g'risidagi ma'lumotlar olish imkoni bor, ammo genom alohida elementlarining funksiyasi va ularning o'zaro butun genom tizimiga bog'liklari to'g'risidagi biron ma'lumot olish imkoni yo'q. Inson genomidagi funktsional o'zaro bog'liqlarni anglash, nafaqat irsiy patologiyalarning sabab-oqibatlarini, balki ko'p omillarga bog'liq bo'lgan kasalliklarning sabablarini aniqlash va ularni davolash uchun nishonlar ham topish imkonini beradi.

Inson genomi Milliy tadqiqot instituti 2003 yilda yangi halqaro loyiha ENCODE (ingl. Encyclopedia of DNA Elements, o'zb. DNK elementlari entsiklopediyasi) ustida ish boshladi. Loyihadan maqsad - olimlarning intilish va izlanishlarini birlashtirgan holda RNK va oqsillar darajasida faol bo'lgan

elementlar, fundamental genetik jarayonlarni- transkripsiya, translatsiya va replikatsiyani nazorat qiluvchi regulyator elementlar va inson genomi funktsional elementlarining to'liq ro'yxatini olish edi. Bu kabi funktsional o'zaro aloqadorliklarni aniqlash uchun quyidagi ikki strategiya qo'llaniladi: genni o'chirish (knockout yoki knockdown) hamda gen faoliyatini yoki uning ektopik ekspressiyasini kuchaytirish. An'anaviy usullar - gomologik rekombinatsiyalar qo'llangan transgenез sichqonlarda, bundan tashqari virusli va lentivirusli vektorlarning qo'llanilishi nafaqat qimmat, balki juda katta mehnat talab etadi, ular o'ta qat'iy belgilangan genom lokusida aniq o'zgarishlar kiritish imkonini bermaydi.

Hozirgi kunda olimlar ixtiyorida bir necha texnologiyalar paydo bo'ldi, bular orqali o'simliklar, hayvonlar va odam genomlarini o'ta yuqori aniqlikda tahrirlash imkonini beradi.

Genomni tahrirlash tizimlarining asosiy yo'nalishlari.

Yangi avlod texnologiyalari: Zinc Finger, TALEN, CRISPR. Zinc-finger texnologiyasi.

Fok I - endonukleazalar domeni bilan bog'langan oqsil domenining "Rux barmoqchalari" tipi sayt-spetsifik nukleaza sifatida faol bo'lib DNKni in vitro sharoitida qat'iy belgilangan uchastkalarini o'ta aniqlikda qirqishi allaqachon 1996 yilda birinchi marta ko'rsatib berilgan edi. SHu kabi ximerik oqsillar modulli strukturaga ega bo'lib har bir "rux barmoqchalari" domeni bir nukleotid tripletini taniydi (Zinc-finger Nuclease, ZFN).

1 Bu kulturalanadigan hujayralar jumladan pluripotent tana hujayralari hamda model hayvonlar va o'simliklarda asosiy tahrirlash usuliga aylandi.

2 Ammo ZFN texnologiyasi murakkabligi va har bir aniq genom lokuslari uchun oqsil domenlarining konstruktsiyasini tuzishga yuqori harajat talab etilishi, bir nukleotidli almashinuv yoki domenlararo o'zaro noto'g'ri ta'sirlar sababli DNK-nishonning noaniq qirqilishi ehtimolliklari kabi bir nechta kamchiliklarga ega.

3. Shuning uchun genomni tahrirlovchi yangi texnologiyalar topish maqsadida faol izlanishlar davom etdi. So'nggi yillarda bu izlanishlar genomlarni tahrirlash imkonini beruvchi yangi instrumentlarning yaratilishiga sabab bo'ldi.

TALEN texnologiyasi. Bu tizimlar - TALEN (Transcription ActivatorLike Effector Nucleases, ya'ni transkripsiyani faollashtiruvchilarga o'xshash effektor nukleazalar) va CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ya'ni - muntazam bir-biridan bir xil uzoqlikda joylashgan qisqa palindromik guruhlar takrorlari).

4. Ushbu tizimlar odam, o'simliklar va hayvonlar hujayrasida yuqori samarali ishlarni amalga oshirish va ular uchun konstruktsiyalar tuzishning nisbatan soddaligi bilan farq qiladi. Bu kabi texnologiyalar genomlar ustida turli xil manipulyatsiyalarni amalga oshirishda faol qo'llanilmoqda va bu orqali transgen va mutant hayvon va o'simliklar yaratish hamda kulturalanadigan odam plyuripotent hujayralari asosida kasalliklar modelini yaratish va tadqiq etish kabi bir qator murakkab muammolarni hal etish uchun imkon yaratadi. Bundan tashqari epigenomikasini o'rganish va xromosoma lokuslarini hujayra tsiklida o'tkazish uchun TALEN DNK - bog'lovchi domenlari asosidagi ximerik oqsillar va faoliyati to'xtatilgan (inaktivatsiya) Cas9 nukleazalaridan genlar transkripsiyasini boshqarish bo'yicha olib borilgan tajribalarda foydalanilgan. 2011 yilda genomlarni yuqori darajadagi aniqlikda tahrirlash imkonini beruvchi usullar qatorida TALEN tizimi ham nufuzli "Nature Methods" halqaro jurnali tomonidan yil texnologiyasi deb tan olindi. Bu texnologiyaning yaratilish tarixi *Xanthomonas* avlodi bakteriyalarining o'rganilishi bilan bog'liq. Ushbu bakteriyalar sholi, qalampir, pomidor kabi o'simliklarning patogeni hisoblanib qishloq xo'jaligiga katta iqtisodiy zarar keltiradi, bu esa ularning sinchkovlik bilan o'rganilishiga sabab bo'ldi. Aniqlanishicha, bakteriyalar o'simliklar hujayralarining sitoplazmasiga effektor oqsillarni- TALE, Transcription Activator-Like Effectors ajratib chiqaradi, bu esa o'simliklar hujayrasidagi jarayonlarga ta'sir etib patogenlarga nisbatan chalinuvchanlik darajasini oshiradi.

Keyinchalik effektor ta'sir etuvchi oqsillarning faoliyat mexanizmlarini o'rganish natijasida, ular eukariotlardagi transkripsiya omillarini takrorlab DNK bilan bog'lana olish va o'zlarining gen-nishonlarining ekspressiyasini faollashtirish qobiliyatiga ega ekanligi aniqlandi.

TALE oqsillari DNKga bog'lanishi, domen va yadroda joylashish signali hamda maqsaddagi genning transkripsiyasini faollashtirish uchun javobgar markaziy domendan tashkil topgan. Birinchi marta ushbu oqsillarning DNKga bog'lana olish qobiliyatlari 2007 yilda tavsiflangan edi, bir yil o'tib esa ikki guruh olimlar tomonidan TALE oqsillarining nishonlangan DNK izchilliklarini tanib olish kodlari aniqlandi.

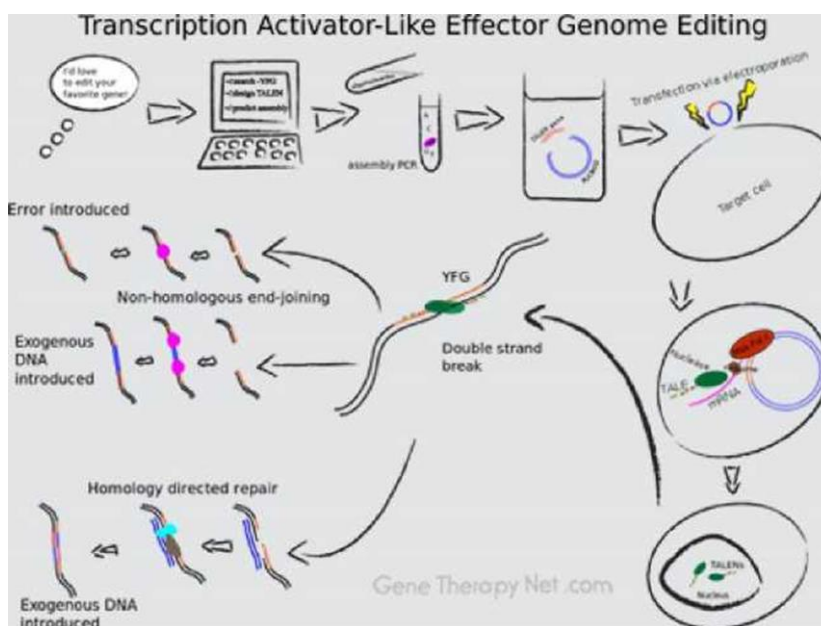
1 DNKga bog'lanuvchi domenmonomerlardan tashkil topganligi va ularning har biri bitta nukleotid bilan nishonlangan nukleotid ketma-kemligiga bog'lanishi ko'rsatib berildi. Monomerlar ikkitasi yuqori o'zgaruvchan (Repeat Variable Diresidue, RVD) 12 - va 13 - pozitsiyalarda joylashgan 34 aminokislotalar qoldig'idan iborat tandem takrorlarni namoyish etadi.

2 Bunda aynan o'sha yuqori o'zgaruvchan aminokislotalar belgilangan nukleotidlarni tanib olishga javobgar hisoblanadi. Bu kod tug'ma degenerativ hisoblanadi. Ba'zi yuqori o'zgaruvchan aminokislotalar bir necha nukleotidlar bilan turli samaradorlik bilan bog'lanishi mumkin. Bunda TALE monomerlari bog'lanadigan 5' - oxirgi uchi nukleotid ketma-ketligi oldidan nishonlangan DNK molekulasida doim faqat timidin nukleotidi joylashgan bo'ladi, bu esa bog'lanish samaradorligiga ta'sir etadi.

3 So'nggi 3'-uchi tanib olish saytiga bog'lanuvchi tandemli takror 20 aminokislota qoldig'idan iborat bo'lib u yarim takror deb nomlanadi. TALE oqsillari yordamida DNK kodlarining o'qilishi aniqlanganidan so'ng o'zining soddaligi bir monomer - bir nukleotid bilan butun dunyo olimlarining qiziqishini uyg'otdi va TALEN - ximerik nukleazalar yaratish bo'yicha birinchi tajribalar amalga oshirildi.

4 Shu maqsadda TALE domeniga bog'lanib DNKni kodlovchi izchillikni

plazmidada vektoriga kiritildi, bu vektor ilgari ZFN texnologiyasini yaratishda foydalanilgan. Natijada DNKga bog'lanuvchi domenni va FokI restriksiyalari endonukleazalarining katalitik domenini o'z



ichiga olgan sun'iy ximerik nukleazalar ekspressiya qiluvchi genetik konstruktsiyalar yaratildi. Bu texnologiya DNK-bog'lovchi domen turli yuqori o'zgaruvchan monomerlami (Repeat Variable Diresidue, RVD) birlashtirgan holda istalgan nukleotid

42-rasm. TALEN texnologiyasidan foydalangan holda Sevimli Gen (YFG) ni genom tahrirlash jarayoni. Qat'iy ketma-ketlik aniqlanib, tegishli TALEN ketma-ketligi ishlab chiqilgan va plazmidga kiritilgan. Plazmid maqsadli katakka joylashtiriladi va u erda funktsional TALEN ishlab chiqarish uchun tarjima qilinadi, u yadroga kiradi va maqsad ketma-ketligini bog'laydi va bog'laydi. Ilovaga qarab, bu xato (maqsadli genni yo'q qilish) yoki maqsadli genga yangi DNK ketma-ketligini kiritish uchun ishlatilishi mumkin.

ketma-ketligi nishon bo'lgan sun'iy nukleazalar yaratish imkonini beradi. Ko'p hollarda A, T, G, C nukleotidlarini mos ravishda bog'lash uchun Asn va Ile (NI), Asn va Gly (NG), ikki Asn (NN), His va Asp (HD) larni o'z ichiga olgan yuqori o'zgaruvchan (RVD) monomerlardan foydalaniladi. Bunda yuqori o'zgaruvchan monomerlar-RVD NN, A hamda G sifatida bog'lanishi mumkin.

Ko'plab tajribalarda guaninning yanada spetsifikroq bog'lanishi uchun NH yoki NK monomerlari qo'llanilganida keraksiz nishonga bog'lanish xatoliklarini

kamaytiradi. Yuqori o'zgaruvchan monomerlardagi-RVD (H yoki N) birinchi aminokislota qoldig'i bevosita nukleotidga bog'lanishda qatnashmaydi, lekin fazoviy konformatsiyani stabillash uchun javob berishi aniqlandi. Ikkinchi aminokislota qoldig'i nukleotid bilan o'zaro bog'lanadi, bunda bog'lanish tabiati turlicha: D va N azotli asoslar bilan vodorod bog'larini hosil qiladi, lekin I va G Van-der-Vaals kuchi hisobiga nishonlangan nukleotidlar bilan bog'lanadi.

Domenga bog'lanuvchi sun'iy DNK yadro lokalizatsiyasi signaliga, N - uchi domeni va FokI katalitik domeniga ega bo'lgan yarimtakror genetik konstruktsiyaga kirgiziladi. Sun'iy nukleazalar uchun nishonlangan saytlar quyidagicha tanlab olinadi: ular DNKning turli zanjirlarida bo'lishi va speyser ketma-ketligida kichik uchastkalarga (12-25 j.n.) ajratilgan bo'lishi kerak bo'ladi. Sun'iy nukleazalarning yadroga borib joylashishi bilan ular nishonlangan saytlar bilan bog'lanadi, natijada S uchlarida joylashgan ximerik oqsillarning FokI domenlari dimerizatsiyalanadi va speyser ketmaketligiga ikki zanjirli bo'shliq hosil qiladi.

Nazariy jihatdan DNKga bog'lanuvchi domenlarning ma'lum tanib olish saytlari bilan genomning istalgan uchastkasiga TALEN sun'iy nukleazalari yordamida ikki zanjirli bo'shliq kiritish mumkin. TALEN nukleazalari saytlarini tanlashdagi yagona cheklov, bu nishonlangan ketma-ketlikdagi 5'- uchi oldidan T ning mavjud bo'lish zaruriyatidir.¹ Ammo speyser ketma-ketligi uzunligini o'zgartirish bilan ko'p hollarda sayt tanlovlarini amalga oshirish mumkin. DNKga bog'lanadigan domenning W232 qoldig'i Noxir uchastkasining tarkibida 5' - T bilan o'zaro birikadi, bunda u TALEN ning nishonlangan saytlar bilan birikish samaradorligiga ta'sir ko'rsatishi aniqlangan.

2 Ammo A, G, yoki C bilan bog'lana oluvchi TALEN Noxirli domenining mutant variantlarining selektsiyasi natijasida bu muammoni hal etish imkoni bor.

TALEN - Transkripsiya aktivatoriga o'xshash effektli nukleazlar

Transkripsiya aktivatoriga o'xshash effektli nukleazlar -TALEN texnologiyasi TAL effektor DNKni bog'laydigan domenni DNK ajratish domeniga qo'shib, hosil bo'lgan sun'iy cheklash fermentlaridan foydalanadi (42- rasm).

Cheklov fermenti - bu DNK iplarini ma'lum bir ketma-ketlikda kesadigan fermentlar. Transkripsiya aktivatoriga o'xshash effektlarni (TALE) deyarli har qanday istalgan DNK ketma-ketligini bog'lash uchun tezkor ravishda ishlab chiqilishi mumkin. Bunday muhandis TALE ni DNK ajratish domeni (DNK iplarini kesib tashlaydigan) bilan birlashtirib, istalgan DNK ketma-ketligini qisqartiradigan cheklov fermentlarini yaratishi mumkin. Ushbu cheklov fermentlari hujayralarga kiritilganda, ular genlarni tahrirlash yoki in situ sharoitida genom tahrirlash uchun ishlatilishi mumkin, bu mexanizatsiyalangan nukleazlar yordamida genom tahrir deb nomlanadi. Sink barmoqli nuklonlar va Cas9 oqsillari bilan bir qatorda, TALEN genomni tahrirlash sohasida taniqli vositaga aylanmoqda.

TAL effektor DNKni bog'laydigan domen TAL effektlari - bu Xanthomonas bakteriyalari tomonidan sintezlanadigan oqsillar. DNKni bog'laydigan domen 12 va 13-aminokislotalarning ajralib turadigan yuqori konservativ 33-34 aminokislotalar ketma-ketligini o'z ichiga oladi. Takrorlanuvchi o'zgaruvchan diresid (RVD) deb nomlangan ushbu ikki pozitsiya juda o'zgaruvchan va o'ziga xos nukleotid tan olinishi bilan kuchli korrelyatsiyani ko'rsatadi. Aminokislotalar ketma-ketligi va DNKni tanib olish o'rtasidagi o'zaro bog'liqlik tegishli RVDlarni o'z ichiga olgan takroriy segmentlarning kombinatsiyasini tanlash orqali ma'lum DNKni bog'laydigan domenlarni loyihalashga imkon berdi.

DNKni ajratish domeni

FokI endonuklezatsiyasining oxiridan boshlab spetsifik bo'lmagan DNK ajratish domeni ko'plab turli xil hujayralar turlarida faol bo'lgan gibrid nukleazlarni qurish uchun ishlatilishi mumkin. FokI domeni noaniq vazifani bajaradi, maqsadli genomdagi saytlar uchun to'g'ri yo'nalish va masofaga ega bo'lgan noyob DNK bilan bog'lanadigan domenlarga ega ikkita konstruktsiyani talab qiladi. TALE

DNKni bog'laydigan domen va FokI ajratish domeni orasidagi aminokislotalar qoldiqlari soni va ikkala individual TALEN ulash joylari orasidagi bazalar soni yuqori darajadagi faollikka erishish uchun muhim parametrlar bo'lib ko'rinadi.

TALEN mexanizmi aminokislotalar ketma-ketligi va TALE ni bog'lash sohasini DNKni aniqlash o'rtasidagi sodda bog'liqlik oqsillarni samarali ravishda ishlab chiqishga imkon beradi. TALEN konstruktsiyalari yig'ilgandan so'ng ular plazmidlarga joylashtiriladi; maqsad hujayralar keyin plazmidlar bilan transfektsiyalanadi va gen mahsulotlari ifoda etiladi va genomga kirish uchun yadroga kiradi. Shu bilan bir qatorda, TALEN konstruktsiyalari hujayralarga mRNA kabi etkazilishi mumkin, bu TALEN ifoda etadigan oqsilning genomik integratsiyasi imkoniyatini yo'q qiladi. MRNA vektoridan foydalanish, shuningdek, homologiya yo'naltirilgan ta'mirlash (HDR) darajasini va genlarni tahrirlash jarayonida introgresiyaning muvaffaqiyatini sezilarli darajada oshirishi mumkin.

TALEN texnologiyasidan hujayralar tuzatish mexanizmlari bilan javob beradigan ikki qatorli tanaffuslarni (DSB) qo'zg'atish orqali genlarni tahrirlash uchun foydalanish mumkin. Nomologik bo'lmagan qo'shilish (NHEJ) DNKni ikki tomonlama tanaffusning ikkala tomonidan bog'lanadi, bu erda yumshatish uchun ketma-ketlik juda kam yoki umuman bo'lmaydi. Ushbu tuzatish mexanizmi kiritish yoki o'chirish yoki xromosomani qayta o'zgartirish orqali genomdagi xatolarga olib keladi; har qanday bunday xatolar gen mahsulotlarini kodlangan joyda ishlashga olib kelishi mumkin. Ushbu faoliyat turlarga, hujayra turiga, ishlatiladigan genga va ishlatilgan nuklazaga qarab farq qilishi mumkinligi sababli, yangi tizimlarni loyihalashda uni nazorat qilish kerak. Shu bilan bir qatorda, DNK genogenga NHEJ orqali ekzogen ikki qatorli DNK qismlari mavjudligida kiritilishi mumkin.

Gen terapiyasini qo'llash Masalan, TALEN texnologiyasi barqaror ravishda o'zgartirilgan insonning embrional ildiz hujayrasini va induktsiyalangan pluripotent ildiz hujayralari (IPSCs) va insonning eritrotsitlari liniyalarini samarali ravishda loyihalash uchun ishlatilgan. Ushbu texnologiya, shuningdek, kasallik asosidagi genetik xatolarni tuzatish uchun eksperimental ravishda ishlatilgan. Misol uchun, u

in vitro dan o'roq hujayra kasalligi, kseroderma pigmentosum va epidermoliz bulosa kabi kasalliklarni keltirib chiqaradigan irsiy nuqsonlarni tuzatish uchun ishlatilgan. Shuningdek, TALEN texnologiyasidan saraton kasalligiga qarshi kurashish uchun immunitet tizimidan foydalanish vositasi sifatida foydalanish mumkinligi ko'rsatildi. Nazariy jihatdan, ishlab chiqilgan TALEN termoyadroviylarining genom-o'ziga xos xususiyati individual genetik joylardagi xatolarni to'g'ri ekzogen shablondan homologik yo'naltirilgan tuzatish orqali tuzatishga imkon beradi. Aslida esa, vaziyatda TALEN® texnologiyasini qo'llash samarali etkazib berish mexanizmining yo'qligi, noma'lum immunogen omillar va TALEN ulanishining o'ziga xos xususiyati bilan cheklangan. TALEN® texnologiyasining yana bir paydo bo'ladigan usuli bu boshqa genom muhandislik vositalari, masalan meganukleazlar bilan birlasha olish qobiliyatidir. TAL effektorining DNK bog'laydigan hududi meganukleazaning yorilish sohasi bilan birlashtirilishi mumkin, bu TAL effektining muhandislik qulayligi va yuqori spektrli DNK bilan bog'lanish faolligini birlashtirgan giper arxitekturani yaratish uchun past darajadagi chastota va meganukleazning o'ziga xos xususiyati bilan. masalan, meganukleazlar. TAL effektorining DNK bog'laydigan hududi meganukleazaning yorilish sohasi bilan birlashtirilishi mumkin, bu TAL effektining muhandislik qulayligi va yuqori spektrli DNK bilan bog'lanish faolligini birlashtirgan giper arxitekturani yaratish uchun past darajadagi chastota va meganukleazning o'ziga xos xususiyati bilan. masalan, meganukleazlar. TAL effektorining DNK bog'laydigan hududi meganukleazaning yorilish sohasi bilan birlashtirilishi mumkin, bu TAL effektining muhandislik qulayligi va yuqori spektrli DNK bilan bog'lanish faolligini birlashtirgan giper arxitekturani yaratish uchun past darajadagi chastota va meganukleazning o'ziga xos xususiyati bilan.

2015 yilda Buyuk Ormond Street kasalxonasining shifokorlari TALEN asosidagi genom tahrirlashning birinchi klinik qo'llanilishini e'lon qilishdi. CD19 + o'tkir limfoblastik leykemiya bilan kasallangan 11 oylik chaqaloq, leykemiya hujayralariga hujum qilish, Alemtuzumabga qarshi turish va kiritilgandan so'ng,

asosiy immunitet tizimining aniqlashdan qochish uchun ishlab chiqilgan donor T hujayralari bilan davolandi. Terapiyadan bir necha hafta o'tgach, bemorning ahvoli yaxshilandi; shifokorlar ehtiyotkor bo'lishiga qaramay, davolanishdan keyin bemor bir necha oy davomida remissiyada.

CRISPR texnologiyasi

TALEN ximerik oqsillari tizimi kashf qilinganidan ikki yil o'tib CRISPR genomni tahrirlash texnologiyasini faol qo'llash rivojlandi.

1 Bu texnologiyaning elementlari kodirlamaydigan RNK va Cas (CRISPR-associated) oqsillari hisoblanadi. TALEN ximerik oqsillaridan farqli ravishda CRISPR/Cas tizimi yordamida xususiyati nishonlangan DNK va kodirlamaydigan RNKlarning o'zaro komplementar bog'lanishi hisobiga amalga oshiriladi. Bunda nukleaza faolligiga ega kodirlamaydigan RNK va Cas oqsillaridan iborat kompleks hosil bo'ladi. Ba'zi bakteriya genlarida 1987 yilda sirli takrorlar aniqlangan, ularning funksiyalari qariyb 20 yil davomida noma'lumligicha qoldi. Bakteriya genlarining sekvens qilinishi genomda analogik nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan ko'plab mikroorganizmlarning aniqlanishiga sabab bo'ldi, bular xarakterli strukturaga ega, ya'ni noyob DNK-speyserlarining qisqa uchastkalari bir-biridan qisqa palindrom takrorlar bilan ajralgan. Aynan ushbuAynan ushbuxususiyatiga ko'ra ular CRISPR deb nomlandi. Bundan tashqari bu kabi CRISPR kassetalari bevosita oqsil mahsulotlari nukleaza va xelikaza faolligiga ega bo'lgan Cas genlari (CRISPR-associated - CRISPR bilan assotsiatsiyalangan) yaqinida joylashgan bo'ladi. 1 Bir-biridan bexabar bioinformatiklarning uch guruhi speyser DNK ko'plab fag va plazmidalarning DNKsiga gomolog ekanligini 2005 yilda ma'lum qildi. 2007 yilda CRISPR speyser lokusida mavjud va bakteriofagga chidamli bo'lib borayotgan *Streptococcus thermophilus* hujayralari bakteriofagning genom DNKsiga komplementar ekanligi aniqlandi. Shu tarzda CRISPR/Cas texnologiyasi noyob mexanizm bo'lib mikroorganizmlarni begona DNK kirishidan himoyalashi va restriksiya-modifikatsiya tizimi bilan bir qatorda faol bo'lib genetik ma'lumotlarni gorizontal ko'chirilishini cheklashi aniqlandi.

CRISPR - tizimlari prokariot organizmlar o'rtasida keng tarqalgan: ular 87% arxey va 48% eubakteriyalarda aniqlangan. SHuning uchun har xil organizmlar turlarida genomdagi (1-18) CRISPR-kassetalari miqdori kabi takrorlarning miqdori (o'rtacha 60) va hajmi (o'rtacha 23-37 n.j.), shuningdek speyserlarning soni va hajmi (17-84 n.j.) o'zgaruvchan bo'ladi. Bunda bir kasseta ichidagi speyserlar va takrorlarning uzunligi o'zgarmas va takrorlar ketma-ketligi esa bir xil bo'ladi.²

Himoya mexanizmi uch asosiy bosqichdan iboratdir. Birinchi adaptatsiya bosqichida bakteriya hujayrasiga kirgan begona DNKning kichik fragmenti yangi speyser hosil qilib xo'jayin genomining CRISPR-lokusiga o'rnatiladi. Virus genomida bu fragment protospeyser sifatida speyserga komplementar va qisqa flankirlangan konservativ izchillikda mavjud bo'ladi, bu PAM (Protospacer Adjacent Motif; protospeyserga tegishli motiv) deb nomlanadi. Yangi speyser doim CRISPR kassetasi oldidan AT ga AT ga boy lider ketma-ketlik tarafidan o'rnashadi, xuddi shu joyda promotorelementlari va regulyator oqsillarning o'tkazish saytlari joylashgan. Barcha izlanishlarga ko'ra, aynan shu tarzda ko'pchilik CRISPR/Cas-tizimlarining nishonlari hosil bo'ladi.

Transkripsiyani ikkinchi bosqichida barcha CRISPR lokuslari precrRNA (poly-spacer precursor crRNA; CRISPR RNKning yarim speyserli o'tmishdoshi) uzunligida transkripsiyalanadi. Yetilmagan transkripning yetilgan crRNA holatiga protsessing qilinishi CRISPR/Cas-tizimlarida ko'p hollarda Cas6 endonukleazalari tomonidan amalga oshiriladi. 39-45 nukleotid uzunligidagi qisqa crRNA (CRISPR RNK) bir speyser ketma-ketligiga ega bo'lib oxirlarida sterjen-bigiz strukturasi shakllanishida ishtirok etuvchi takrorlar joylashgan: gidroksil guruhiga ega takrorning so'nggi sakkiz nukleotidlari 5' uchida sterjen hosil qiladi, va to'g'nog'ichsimon struktura 2', 3'-tsiklik fosfat bilan 3'-uchida ilmoqli urchuq (bigiz)ni hosil qiladi. Uchinchi bosqich - begona RNK yoki DNKni interferentsiya (faoliyatini susaytirish) qilish, bu jarayon crnA va cas-oqsillari kompleksining o'zaro ta'siri hisobiga amalga oshiriladi. CrnA komplementar holda

protospeyserning ketma-ketligini tanib oladi va cas-oqsillari ularning buzilishini ta'minlaydi.

DNK-nishonlarni effektor majmuasi bilan degradatsiya qilish uchun crnA nukleotidlarining DNK-nishonlari bilan o'zaro -2, -3, -4 pozitsiyalarda (agar +1 protospeyserning birinchi asosiga qabul qilinsa) komplementar birikishi ro'y bermasligi kerak. CrnA va DNK-nishonlarning o'zaro komplementar birikishi ushbu pozitsiyalarda effektor majmuasining shakllanishini buzadi, bu esa genom DNKsini qirqishga va uning keyinchalikdegradatsiyaga uchrashiga to'sqinlik qiladi. Viruslar va ularning xo'jayin organizmlarining uzoq koevolyutsiyasi viruslarda crISPr-interferentsiyalarga qarshi himoya mexanizmlarining paydo bo'lishiga olib keldi. Bu bakteriya va arxeylarda crISPr/cas-tizimlarining katta xilma-xilliklarga ega ekanligi bilan tushuntiriladi. Bioinformatik tadqiqotlar barcha crISPr/cas-tizimlarini asosiy uch tipga (I-III) va bu tiplarni yana kamida 10 ta guruhlariga bo'ladi. Hozirgi kunda bulardan *S. Pyogenes* patogenidan ajratib olingan II-A tipining crISPr/cas-tizimi genom muxandisligida faol qo'llaniladi. Bu bakteriyada cas genining minimal to'plami aniqlangan. Birgina polufunksional cas9 oqsili pre-crnA protsessingini hamda begona DNKning interferentsiyasini amalga oshiradi.

CrnA protsessingi kodirlamaydigan kichik RNK - tracrna (transactivating crnA; transaktiviruyushaya crRNK) bilan ham bog'liq bo'ladi. Tracrna molekulalari pre-crnA ketma-ketliklarining takrorlari bilan dupleks hosil qilib komplementar bog'lanadi, xo'jayin hujayralarning ribonukleazalaridan biri - RNKaza III, cas9 ishtirokida 5' uchida 20- nukleotidli speyser ketma-ketligiga ega bo'lgan yetuk crnA ning hosil bo'lishi bilan dupleksni qirqadi. Butun lokusga Mg²⁺ ionlari ishtirokida cas9 ikki zanjirli ajralish kiritadi, bunda bu fermentning HnH nukleaza domeni crRNA ga komplementar DNK ipini qirqadi va RuvC - domeni nokomplementar ipni qirqadi. Cas9 *S. pyogenes* uchun DNK-nishon o'zida bevosita qirqish amalga oshiriladigan uch nukleotiddan so'ng 5'-nGG-3' RAMni tutmog'i lozim. II tipining Cas9 uchun *S. thermophilus* va *Neisseria meningitidis* nishonlari mos ravishda boshqa konsensusga ega - 5'-nGGnG-3' va 5'-nnnnGAtt-

3'. Genom muxandisligining umumiy strategiyasi sayt-spetsifik nukleazalar yordamida to'rt asosiy bosqichdan iborat:

1. Genomda maqsadli nukleotid ketma-ketligini tanlab olish.
2. Tanlab olingan nishonga yo'naltirilgan nukleaza konstruktsiyasini yaratish.
3. Ushbu konstruktsiyani hujayra yadrosiga kiritish.
4. Olingan mutatsiyalarning tahlili.

TALEN va CRISPR/Cas9 texnologiyalari yordamida ishlaganda ikki zanjirli bo'linmalarni spetsifik kiritish uchun saytlarni sinchkovlik bilan tanlab olish zarur. Dastlabki bioinformatik tahlillarga ko'ra, genomga ikki zanjirli bo'linmalarni kiritish maqsadsiz effektlarning ham ehtimolligi borligi bilan tushuntiriladi.¹ Kerakli saytlarni tanlashda ketma-ketliklarning takrorlanishidan va genomning boshqa rayonidagi yuqori gomologiyalaridan qochish talab etiladi. TALEN ximerik oqsillari tizimidan foydalanilganda bir necha sabablarga ko'ra maqsadsiz effektlari vujudga keladi. Birinchidan, bu spetsifik nukleotidlar va RVD bog'lanishning effektivligidagi farqlardir. NN va HD monomerlari nukleotidlar bilan kuchli vodorod bog'lar hosil qiladi, bu vaqtda NG va NI - kuchsiz shakllanadi. Bu DNKtaniydigan domenlarni maqsadli saytlardan bir necha nukleotidlarga farqlanuvchi saytlar bilan bog'lanishiga imkon berishi mumkin. Ikkinchidan, kodning tug'ma bo'lgani uchun monomerlarning nukleotidlar bilan bog'lanish ehtimolligi mavjud, masalan, NG va A laming o'zaro bog'lanishi. Uchinchidan, ikki nukleazalarning FokI domenlari bir hil DNKga bog'lanuvchi domenlari (gomodimerlarning hosil bo'lishi) bilan dimerizatsiyaga uchrashi mumkin. Bu muammo majburiy geterodimerlar sifatida ishlovchi FokI domenlariga ega TALEN tizimini yaratish orqali bir qator ishlarni amalga oshirish davomida hal etilgan. Ehtimolli maqsadsiz effektlar nukleazalar tanish saytlari orasidagi speyzer DNKning xajmi qayd etilmaganligi natijasida sodir bo'lishi mumkin. Bu xususiyat FokI domenlari dimerizatsiyalanishi uchun yetarli masofada joylashgan nukleazalarning maqsadsiz saytlar bilan bog'lanishida ikki zanjirli bo'shliq kiritish imkonini beradi. S. pyogenes cas9 nukleazalari 5'-NGG-3' konsensusi bilan RAM

larning majburiy ishtirokini talab etadi, bunda kam miqdorda bo'lsa ham u nishonlarni tanlashni cheklaydi. Xususan, odam genomida maqsadli (nishon) saytlar har 8-12 n.j. laridan so'ng joylashgan bo'ladi. CRISPR/cas9 tizimining asosiy kamchiligi - maqsadsiz mutatsiyalar paydo bo'lishining nisbatan yuqori ehtimolligidadir. In vitro, bakteriyalarda va odam hujayralarida olib borilgan tajribalarda 20 nukleotidli sgRNA (single guide RNA) larning speyser uchastkalarida ba'zi bir nukleotid almashinuvlari CRISPR/cas9 tizimining sezilarli darajada faolligini susaytirishga olib kelishi ma'lum qilingan, ayniqsa agar bu almashinuvlar sgRNA ning so'nggi 10-12 nukleotidlari 3'- oxirlarida joylashgan bo'lsa. Shu bilan bir vaqtda sgRNA ning 5'-oxiridagi almashinuvlar tizimning faoliyati uchun hech qanday ta'sir o'tkazmaydi. Ammo ma'lumki, agar sgRNA ning 3'-oxiridagi bir yoki ikki nukleotidli almashinuvlar CRISPR/cas9 tizimining faoliyatiga ta'sir etmaydi, va aksincha, agar 5'-oxirida joylashgan bo'lsa faoliyatga to'sqinlik qiladi. Umuman olganda, maqsadsiz effekt cas9 uchun 5'-oxiri nukleotidlariga nisbatan kam ahamiyatga ega ketmaketlikni yo'naltiruvchi 3'-oxiridagi -8-12 n.j. almashinuvlarning joylashishlari bo'yicha aniqlanadi, bunda Cas9 i sgRNA larga kiritiladigan almashinuvlar va aynan nishon-sayt xususiyatlarining konsentratsiyasi va miqdori uchdan oshmasligi lozim. Ko'rsatilgan kamchiliklarni yengish cas9 ortologlarini qo'llashga asoslangan usullarni qidirish va ishlab chiqishga imkon beradi. Bularning faolligini ta'minlash uchun murakkab konsensus ketma-ketlikka ega RAM zarur hisoblanadi. Masalan, II tip N. Meningitidis CRISPR/cas PAM larni 5'-NNNNGATT-3', konsensusi bilan taniydi, bu jarayonda nishon tanlash imkoniyatini cheklab spetsifiklikni oshirishi mumkin. CRISPR/cas tizimlari yordamida genomni tahrirlash spetsifikligini oshirish maqsadida sgRNA jufligi (ZFN va TALEN juftlik analoglari singari) bilan ikki Cas9 nikazalaridan foydalaniladi. Ushbu sgRNA jufligi FokI domenlari bilan faqat ikki mustaqil oqsillarning ta'siriasnosida DNKga bo'shliq (parchalash) kiritadi.¹ Bir katalitik faol domenlarning mutatsiyasi (HNHda D10A va RuvCda H840A) Cas9 nukleazasini DNK-nikazaga aylantiradi. Agar DNKning ikkala

zanjirini Cas9 nikaza juftligi bilan qirqilsa sayt spetsifik ikki zanjirli bo'shliqlar hosil qilishga olib keladi, bu bo'shliqlar DNK uchlarining (oxirlari) nogomologik (NHEJ - non-homologous end joining) tikilishi yordamida qayta juftlashadi, bunda alohida bo'lgan bir zanjirli parchalanishlar yuqori ekstsiziya (BERbase excision repair) asosida samarali ravishda qayta juftlashadi. Ikki Cas9 nikazalarini sgRNA juftligi bilan qo'llash maqsadsiz mutatsiyalarning hosil bo'lishini sezilarli darajada kamaytirishi va bu jarayonda maqsadsiz mutatsiyalarning chiqishi butunlay nukleazalarning qo'llanilishiga bog'liqligi ko'rsatib berilgan.

Keltirilgan CRISPR/ Cas9 va TALEN tizimlari yordamida maqsadli (nishonli) saytlarni tanib olish imkoniyatlari shu kabi saytlarni qidirishda qo'llash uchun kompyuter algoritmlarini tuzishda e'tiborga olingan. Hozirda turli kompaniyalar tomonidan yaratilgan onlayn dasturlash ta'minotlari mavjud bo'lib, ular CRISPR/ Cas9 va TALEN tizimlarining potentsial saytlarini tanlash, hamda ehtimolli maqsadsiz effektlarni aniqlash uchun ham mo'ljallangan. DNKga bog'lanuvchi domen deyarli bir xil takrorlardan tashkil topgan, shuning uchun TALEN ni ekspressiya qiluvchi genetik konstruktsiya tuzishda texnik xarakterga ega muammolarni hal etish talab etiladi. Bu borada 20-30 va undan ortiq monomerlardan iborat TALE DNKga bog'lanuvchi domenlarini yaratish imkonini beruvchi bir qator usullar taklif etilgan. Ushba strategiyalardan biri DNKni II tipli restriksiya endonukleazalari va ligirlash-REAL (REstriction and Ligation) bilan gidrolizlash orqali DNKni standart klonlashtirishga asoslangan. Bunda birinchi bosqichda 5' - va 3' - oxirlaridan (uchlari) restriksiya endonukleazasaytlari kiritilgan monomerlar kutubxonasi tayyorlanadi. DNK gidrolizidan so'ng juftlikdagi lgirlash jarayonlari o'tkaziladi va buning natijasida dimerlar (N1N2, N3N4, N2k-1N2k) hosil bo'ladi, bular keyinchalik tetramerlarga birlashadi. Bunda to'g'ri ketma-ketlikka turli restriksiya endonukleazalarini qo'llash orqali erishiladi. Bu usul murakkab va uzoq vaqt talab etadi, har bir bosqichda reaksiya mahsulotlarini tozalash hamda yo'nalishning to'g'riligini tasdiqlab borish ham talab etiladi. Bu jarayonlarni tezlashtirish maqsadida mono-, di-, tri - va tetramerlarni o'z

ichiga olgan 376 elementlardan iborat kutubxona yaratilgan. Effektivlikni oshirish va yig'ish jarayonlarini tezlashtirish maqsadida Golden Gate reaksiyasi qo'llaniladi, bu bir reaksiya aralashmasida bir vaqtning o'zida ligirlash va restriksiya endonukleazalari yordamidagidrolizlash imkonini beradi. Invitro sharoitlarda va bakteriya hujayralarida CRISPR/ Cas9 yordamida

DNKni qirqish uchun quyidagi komponentlar talab etiladi va yetarli hisoblanadi: kodirlamaydigan RNK tracrRNA va pre-crRNA, RNKaza III va Cas9 oqsili. Ushbu tizimni sut emizuvchilar hujayralarida qo'llash bir qator afzalliklarni beradi.

Birinchidan, SpCase9 (Cas9 *S. pyogenes*) nukleazasi kodonlar tomonidan optimallashtirilgan yuqori eukariotlar hujayrasidagi transkripsiya jarayoniga moslashishi zarur hamda yadro kompartmentalizatsiyasini ta'minlash uchun yadro lokalizatsiyasi signallarini birlashtirish lozim (NLS - nuclear localization signal). Ikki NLS Cas9 ni yadroga samarali (effektiv) yo'naltirish uchun yetarlidir.

Ikkinchidan, eukariot hujayralarda pre-crRNA larni tayyor bo'lishi uchun ekzogen RNKaza III kiritilishi talab etilmaydi, chunki bu vazifani o'z hujayra RNKazalari samarali amalga oshiradi.

Uchinchidan, kodirlamaydigan ikki RNK o'rniga ko'pincha yagona ximerik sgRNA kiritiladi, bunda sintetik struktura "bigiz-asos" yordamida tabiiy crRNA-tracrRNA duplekslarni o'rnini bosish maqsadida yetuk crRNA tracrRNA qismi bilan birlashgan bo'ladi. sgRNA transkripsiyasi uchun mos keluvchi promotor talab etiladi, masalan RNK-polimeraza III aloqador U6-promotori. Feng Zang (Feng Zhang) laboratoriyasida dastlabki plazmida konstruktsiyalari yaratilgan bo'lib bu konstruktsiya CRISPR/Cas9 ishlashi uchun talab etiladigan elementlaridan tashkil topgan. PX260/pX334 plazmidalari tarkibida uch ekspressiyalovchi kassetalar mavjud bo'lib bular; Cas9- nukleaza/nikaza, CRISPR RNK-matritsasi va tracrRNK. Nishon - ketmakteligini o'zgartirish uchun bu konstruktsiyadan faqatgina dastlabki 30- nukleotidli yo'naltiruvchi izchillikni kesib olish talab etiladi. Bu izchilliklar BbsI flankirlangan saytlar hisoblanib, uni sun'iy

sintez qilingan izchilliklar bilan almashtiriladi. Ushbu jarayonni amalga oshirish uchun maqsadli ketma-ketlikka komplementar va mos ravishda yopishqoq uchlarni o'zida tutgan 30-a'zoli oligonukleotidlar birga erib va plazmidaga ligirlanadi.

PX330/pX335 plazmidalari ikki ekspressiyalovchi kassetalarni o'zida tutadi: Cas9-nukleaza/nikaza, 85-nukleotidli tracrRNK ni o'z ichiga olgan ximerik sgRNA. Yo'naltiruvchi ketma-ketlikni almashtirish prinsipi o'zgarmagan, lekin uning uzunligi qisqa - 20 nukleotid, bunda 20-m guanin bo'lishi kerak, hamda u6-promotor bu asosni transkripsiya boshlanish nuqtasida ushlaydi. Bundan tashqari bu plazmidalarga 2A-GFP yoki 2A-Purosaytlari kabi qo'shimcha elementlar kiritilishi mumkin, bularning vazifasi - plazmidalarni o'zida tutgan hujayralarni keyinchalik selektsiya qilishdan iborat. Odam, sichqon va boshqa organizmlar hujayra kulturalarining transformatsiyasi uchun ko'pincha plazmidalardan foydalaniladi, bu plazmidalar cas9 va in vitro sgRNK nukleazalarning ishlab chiqarilishini ta'minlaydi. Butun organizm transformatsiyasi uchun Sas9 mRNK lariga va bir hujayrali embrionlarning sgRNK lariga mikroin'ektsiya maxsus usullari ishlab chiqilgan. Bu usul sichqon, danio (*Danio rerio*) va drozofilalarda faol qo'llaniladi. Keng qamrovdagi gen nokauti uchun sgRNKlarning katta kutubxonalaridan foydalanib lentivirus vektorlar qo'llaniladi. Hujayralari zich hujayra devoriga ega o'simliklarda protoplastlarning plazmida transformatsiya usuli hamda *Agrobacterium tumefaciens* yordamidagi agroinfiltratsiya usuli qo'llaniladi.

Genom muxandisligida TALEN va CRISPR/Cas qo'llanilishi. TALEN va CRISPR/Cas9 tizimlarini yaratish genom muxandisligining rivojlanishida muhim bosqichlardan hisoblanadi. Bu tizimlarning yaratilishi, ularning arzon va sodda tuzilishi fundamental va shu qatorda amaliy fanlarning rivojlanishiga kuchli turtki berdi. Bu texnologiyalarni oziq-qishloq xo'jaligi va tibbiyot kabi turli sohalarda qo'llanilishi haqiqatdan ham hayratlanarli yutuqlarga sabab bo'lmoqda. Ammo hozirgacha ularning qo'llanishi bo'yicha spetsifik va havfsizligiga bog'liq (nojo'ya ta'sirlari ehtimolligi tufayli) bir necha muammolar ochiqlicha qolmoqda, masalan, davolashda qo'llash uchun organizmga qanday kiritish mumkinligi va ushbu

tizimlardan qaysi biri samarali va havfsiz degan savollar hanuzgacha ochiqligicha qolmoqda. CRISPR/Cas9 texnologiyasi ZFN va TALEN usullariga nisbatan bir qancha afzalliklarga ega, ya'ni uni yaratish bir muncha oson va yuqorisamarador bo'lib, turli hujayra liniyalari va organizmlari genomlarida yuqori ishlab chiqarish va ko'p tarmoqli tahrirlash imkoniyatiga ega. 1.2 Bugungi kunda texnologiyalarning qaysi birini qo'llash kerakligi bo'yicha aniq javoblar mavjud emas. Bu texnologiyalarni juda yaxshi tushinib baholash uchun ularni o'z afzalliklariga ega kichik detallarigacha bir-biriga solishtirib o'rganish talab etiladi. Shunda ham bu savollarga universal javob topish imkoni bo'ladi deyish qiyin hamda har bir konkret jarayon uchun turli hil variantlarni qo'llash va ularning ichidan maqsad muvofiqlarini tanlab olish kerak bo'ladi.

CRISPR-Cas9. Klasterli muntazam ravishda intervalgacha bo'lgan qisqa palindromik takrorlanishlar (qisqartirilgan CRISPR deb ataladi) prokariotik DNK segmentlari bo'lib, ular bazis ketma-ketligining qisqa takrorlanishini o'z ichiga oladi. CRISPR olimlarga genomlarni misli ko'rilmagan aniqlik, tezkorlik va moslashuvchanlik bilan tahrirlash imkonini beradigan vosita sifatida foydalanilmoqda. CRISPR genlarni ko'paytirish va tahrirlash bo'yicha eski usullarga qaraganda ancha yaxshi.

CRISPR / Cas tizimi - bu prokariotik immunitet tizimi, bu plazmidlar va faglar kabi begona genetik elementlarga qarshilikni ta'minlaydi va immunitetning shaklini ta'minlaydi. CRISPR spacerslari bu ekzogen genetik elementlarni eukariotik organizmlarga RNK aralashishiga o'xshash tarzda taniydilar va kesib tashlaydilar. Genlarning to'plami CRISPR takroriylari bilan bog'liq deb topildi va ularga cas, yoki CRISPR bilan bog'liq bo'lgan genlar deb nom berildi. Cas genlari DNKni kesib yoki ochib yuboradigan fermentlar bo'lgan putativ nukleazani yoki helikaz oqsillarini kodlaydi. Cas genlari har doim CRISPR ketma-ketligi yaqinida joylashgan. Bir qator Cas fermentlari mavjud, ammo eng mashhuri *Streptococcus pyogenes*dan kelib chiqqan Cas9 deb nomlanadi.

CRISPR aralashuvi texnikasi juda katta potentsial imkoniyatlarga ega, jumladan, odamlar, hayvonlar va boshqa organizmlarning mikroblarini va oziq-ovqat ekinlari genlarini o'zgartirish. Cas9 oqsilini va tegishli qo'llanma RNKlarini hujayraga etkazib, organizmning genomini istalgan joyda kesish mumkin. CRISPRlar hayotning barcha daraxtlarida genlarni tartibga solish va genlarni tartibga solish uchun maxsus endonuklaz fermentlari bilan birgalikda ishlatilgan. Yangi paydo bo'lgan biotexnologiya va inson urug'ini tahrir qilish istiqbollari haqida axloqiy xavotirlar bildirildi.

CRISPR / Cas9 genomini tahrirlash II tip CRISPR tizimi bilan amalga oshiriladi. Cas9 - bu DNKni kesib tashlaydigan ferment (nuklaz), CRISPR - bu DNKni aniqlab, Cas9 qayerda kesish kerakligini aytadigan DNK ketma-ketligi.

Cas9-ni to'g'ri ketma-ketlikda boqish uchun kerakli RNK talab qilinadi, bu erda DNK ketma-ketligini kesib, kerakli joyga genomga joylashtiring. Genom tahrirlash uchun ishlatilganda, ushbu tizim Cas9, CRISPR RNK (crRNA), transfaollashtiruvchi crRNA (tracrRNA) va homologik bo'lmagan qo'shilish (NHEJ) yoki homologiya yo'naltirilgan ta'mirlashda ishlatiladigan DNK tuzatish shablonining ixtiyoriy qismini o'z ichiga oladi. (HDR). CrRNK Cas9 tomonidan faol kompleks hosil qiluvchi tracrRNK bilan bog'langan mintaqani (asosan soch panjasi halqa shaklida) yo'naltirish uchun uni Cas9 ishlatadigan RNKni o'z ichiga oladi.

CRISPR / Cas9 ko'pincha maqsadli hujayralarni translyatsiya qilish uchun plazmidan foydalanadi. CrRNA har bir dastur uchun ishlab chiqilishi kerak, chunki bu Cas9 hujayraning DNK-ni aniqlash va bevosita bog'lash uchun foydalanadigan ketma-ketlikdir. CRRNA faqat tahrirlash kerak bo'lganda bog'lanishi kerak. Ta'mirlash shablonini har bir dastur uchun ishlab chiqilgan bo'lishi kerak, chunki u kesmaning ikkala tomonidagi ketma-ketliklar va qo'shilish tartibining kodi bilan mos kelishi kerak. Bir nechta hidoyat RNK (sgRNA) hosil qilish uchun bir nechta krRNK va tracrRNKni bir-biriga qadoqlash mumkin. Ushbu sgRNK Cas9 geni bilan birlashtirilib, hujayralarga aylantirilishi uchun plazmidga

aylantirilishi mumkin. Cas9 oqsili crRNA yordamida xost hujayraning DNK-sida to'g'ri ketma-ketlikni topadi va DNKda bitta yoki ikki qatorli tanaffus hosil qiladi. Uy egasi DNKda to'g'ri joylashtirilgan bitta ipli tanaffuslar homologga yo'naltirilgan tuzatishni keltirib chiqarishi mumkin, bu homolog bo'lmagan uchga odatda ikki qatorli tanaffusdan keyin qo'shilishga qaraganda kamroq moyil bo'ladi. DNKni tuzatish shablonining bir qismini taqdim etish ma'lum bir DNK ketma-ketligini genomning aniq joyiga kiritishga imkon beradi. Ta'mirlash shablonini Cas9 induktsiyalangan DNK sindirishidan tashqari 40 dan 90 tagacha tayanch juftliklarga kengaytirish kerak. Maqsad hujayraning HDR jarayonini taqdim etilgan ta'mirlash shablonidan foydalanish va shu bilan yangi ketma-ketlikni genomga kiritishdir. Birlashtirilgandan so'ng, ushbu yangi ketma-ketlik hozir hujayraning genetik materialining bir qismidir va uning yangi hujayralariga o'tadi. DNKni tuzatish shablonining bir qismini taqdim etish ma'lum bir DNK ketma-ketligini genomning aniq joyiga kiritishga imkon beradi. Ta'mirlash shablonini Cas9 induktsiyalangan DNK sindirishidan tashqari 40 dan 90 tagacha tayanch juftliklarga kengaytirish kerak. Maqsad hujayraning HDR jarayonini taqdim etilgan ta'mirlash shablonidan foydalanish va shu bilan yangi ketma-ketlikni genomga kiritishdir. Birlashtirilgandan so'ng, ushbu yangi ketma-ketlik hozir hujayraning genetik materialining bir qismidir va uning yangi hujayralariga o'tadi (2-videoga qarang). DNKni tuzatish shablonining bir qismini taqdim etish ma'lum bir DNK ketma-ketligini genomning aniq joyiga kiritishga imkon beradi. Ta'mirlash shablonini Cas9 induktsiyalangan DNK sindirishidan tashqari 40 dan 90 tagacha tayanch juftliklarga kengaytirish kerak. Maqsad hujayraning HDR jarayonini taqdim etilgan ta'mirlash shablonidan foydalanish va shu bilan yangi ketma-ketlikni genomga kiritishdir. Birlashtirilgandan so'ng, ushbu yangi ketma-ketlik endi hujayraning genetik materialining bir qismidir va uning yangi hujayralariga o'tadi.

Ilovalar. RNAi singari, CRISPR aralashuvi (CRISPRi) genlarni teskari yo'nalishda nishonga olish orqali o'chiradi, lekin saytni kesib tashlamaydi. Belgilangan sayt metilatlangan, shuning uchun gen epigenetik jihatdan

o'zgartirilgan. Ushbu o'zgartirish transkripsiyani inhibe qiladi. Cas9 - bu DNK darajasida ma'lum genlarni nishonga olish va susaytirishning samarali usuli. Cas9 ma'lum bir inson genlarini faollashtirgan sintetik transkripsiya omillarini (genlarni yoqadigan protein qismlari) o'tkazish uchun ishlatilgan. CRISPR kasallik taqlid qiladigan yoki gen buzilganda yoki mutatsiyaga uchraganida nima bo'lishini ko'rsatadigan hayvonlarning yaratilishini soddalashtiradi. CRISPR mikroblar darajasida har joyda gen o'zgargan hayvonlarni yaratish uchun ishlatilishi mumkin. CRISPR-dan kasallikning inson hujayrali modellarini yaratish uchun ham foydalanish mumkin. Masalan, Odam mikroblarini modifikatsiyasi 2015 yil aprel oyida Xitoy olimlari mutatsiyalarni tuzatish uchun CRISPR yordamida inson hayotiy bo'lmagan embrionlarning DNKini o'zgartirishga urinish natijalari to'g'risida (Protein Cell. bu beta-talassemiya, o'linga olib keladigan irsiy kasallik. Tajribalar faqat ba'zi genlarni o'zgartirdi va boshqa genlarga maqsadsiz ta'sir ko'rsatdi. Tadqiqotni olib borgan olimlar CRISPR reproduktiv tibbiyotda klinik qo'llanishga tayyor emasligini ta'kidlashdi. Ushbu nashr embiyolarda genlarni tahrirlash to'g'risida jiddiy tashvish tug'dirdi.

2015 yil dekabr oyida inson genlarini tahrirlash bo'yicha xalqaro sammit Vashingtonda bo'lib o'tdi. Amerika, Buyuk Britaniya va Xitoy milliy ilmiy akademiyalari a'zolari germlin modifikatsiyasi etikasini muhokama qilishdi. Oxirida ular tegishli huquqiy va axloqiy ko'rsatmalar asosida asosiy va klinik tadqiqotlarni davom ettirishga kelishib oldilar. Somatik hujayralarda klinik foydalanish o'rtasida aniq bir farq bor edi, bu erda tahrirlar effekti faqat bir kishi bilan, germlin hujayralari bilan cheklanib, genom o'zgarishlari kelajak avlodlarga meros bo'lib o'tadi. Bu inson evolyutsiyasi uchun kutilmagan va uzoq davom etadigan oqibatlarga olib kelishi mumkin, genetik (masalan, gen / atrof-muhit o'rtasidagi o'zaro ta'sir) va madaniy (masalan, ijtimoiy darvinizm), shuning uchun gametotsitlar va embrionlarning odamlarda meros bo'lib bo'ladigan o'zgarishlarni keltirib chiqarishi uchun javobgarlik talab qilinmadi. Qo'shimcha, ular ushbu muammolar doimiy ravishda hal etiladigan xalqaro tadqiqotlar forumini o'tkazishga

kelishib oldilar va tadqiqotlar sohasidagi qoidalarni davlatlararo uyg'unlashtirdilar. 2016 yil fevral oyida Britaniyalik olimlarga CRISPR-Cas9 va shunga o'xshash usullardan foydalangan holda, inson embrionlarini genetik jihatdan o'zgartirishga ruxsat berilgan.

2015 yil 8 fevralda AQSh milliy razvedka direktori dunyo bo'ylab tahdidlarni baholash bo'yicha yillik hisobotga qo'shildi. AQSh razvedka hamjamiyati, "ommaviy qirg'in va tarqatish quroli" tahdidlari ro'yxatiga gen tahririni. Hisobotga ko'ra, bu genlarni tahrirlashning nisbatan qulayligi AQSh razvedka jamoatchiligini xavotirga solmoqda. "Ushbu ikki tomonlama foydalanish texnologiyasining keng tarqalishi, arzon narxlari va jadal rivojlanish sur'atlarini hisobga olgan holda, uni qasddan yoki ataylab suiiste'mol qilish iqtisodiy va milliy xavfsizlikka ta'sir ko'rsatishi mumkin", deyiladi hisobotda. Hisobotda CRISPR nomi bilan tilga olinmagan bo'lsa-da, Klapper aniq yangi va ko'p qirrali genlarni tahrirlash tizimlariga ega edi. Aftidan, CRISPR texnikasining arzonligi va nisbatan qulayligi - asosiy tarkibiy qismlarni 60 dollarga Internetda sotib olish mumkin - bu razvedka agentliklarining g'ashini keltirdi.

2018 yil noyabr oyida tadqiqotchi Jiankui He, insonning genetik jihatdan tahrirlangan birinchi chaqaloqlarini, Lulu va Nana taxalluslari bilan tanilganligini da'vo qildi.

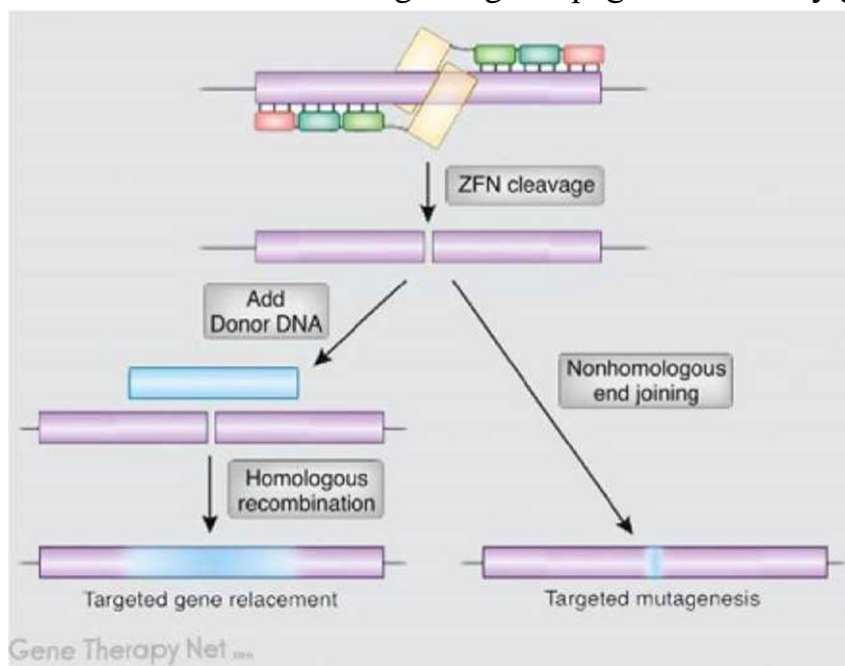
Rux barmoqlar nukleazlari.

Sink barmoqli nukleazlar (ZFN) - bu sink barmoq DNKni bog'laydigan domenni DNK ajratadigan domenga qo'shib, hosil qiluvchi sun'iy cheklov fermentlari. Sink barmoq sohalari ma'lum bir kerakli DNK ketma-ketligini aniqlash uchun ishlab chiqilishi mumkin va bu sink-barmoq nukleazlariga murakkab genomlardagi noyob ketma-ketlikni nishonlashga imkon beradi. Endogen DNKni tiklash texnikasidan foydalanib, ushbu reaktivlar yuqori organizmlarning genomlarini aniq o'zgartirish uchun ishlatilishi mumkin. Cas9 va TALEN oqsillari bilan bir qatorda, ZFN genomni tahrirlash sohasida taniqli vositaga aylanmoqda.

Sink barmoqli nukleaza - bu ma'lum bir joyda DNKni bog'lash va yopish uchun mo'ljallangan maxsus endonukleaz (1-rasm va 1-rasmga qarang). Ikkita

protein maydoni mavjud. Birinchi domen DNKni bog'laydigan domen bo'lib, u eukariotik transkripsiya omillaridan iborat bo'lib, rux barmog'ini o'z ichiga oladi. Ikkinchi domen - FokI cheklash fermentidan tashkil topgan va DNKning katalitik bo'linishi uchun javob beradigan nukleaz domeni.

DNKni bog'laydigan domen. Ayrim ZFNlarning DNK-bog'laydigan domenlari odatda uchta va oltita individual rux barmoqlarining takrorlanishini o'z ichiga oladi va ularning har biri 9 va 18 oralig'ida tanishi mumkin. Agar sink barmoq domenlari mo'ljallangan sayt uchun juda aniq bo'lsa, unda jami 18 basseyanni tan olgan 3 juft barmoqli ZFNlar, nazariy jihatdan, sutemizuvchilar genomida bitta lokusni nishonga olishlari mumkin. Sink-barmoqlarning yangi qatorlarini yaratishning eng sodda usuli - bu ma'lum o'ziga xoslikning kichik sink-barmoq "modullarini" birlashtirish. Eng keng tarqalgan modulli yig'ish jarayoni



43-rasm. FokI domenida sariq rangda tasvirlangan ikkala tarmoqli tanaffus bilan har biri uchta rux barmoqlari bilan DNKni bog'laydigan bir juft ZFN ko'rsatilgan. Keyinchalik, ikkala simli tanaffus homologga yo'naltirilgan ta'mirlash orqali yoki homolog bo'lmagan so'nggi qo'shilish orqali ta'mirlanayotganligi ko'rsatilgan.

uchta alohida sink barmoqlarini birlashtirishni o'z ichiga oladi, ular har biri 3 basseyin DNK ketma-ketligini 9 basseyinning maqsadli sayтини tan oladigan 3 barmoq qatorini yaratishga imkon beradi.

DNK-razvedka domeni. FokI-ning IIs cheklovi endonukleatsiyasidan kelib chiqadigan spetsifik bo'lmagan ajratish domeni odatda ZFN-larda ajratish domeni sifatida ishlatiladi. DNKni ajratish uchun ushbu bo'linish domeni kichrayishi kerak va shuning uchun palindromsiz DNK saytlarini nishonga olish uchun bir juft ZFN kerak. Standart ZFN-lar ajratish domenini har bir sink barmoq domenining C-terminallariga biriktiradi. Ikkala bo'linadigan domen DNKni o'lchash va tortib olishiga imkon berish uchun, ikkita individual ZFNlar DNK ning qarama-qarshi iplarini o'zlarining C-termini bilan bir-biridan bir-biridan alohida masofada bog'lashlari kerak.

Gen terapiyasini qo'llash. Sink barmoq nukleazlari ko'plab o'simliklar va hayvonlarning genomlarini manipulyatsiya qilish uchun foydalidir. ZFN-lar shuningdek, inson kasalliklarining izogenik modellari deb nomlangan yangi avlod genetik kasalliklarini yaratish uchun ishlatiladi. Sink barmoq nukleazlari, shuningdek, OIV / OITSni davolash uchun saqlab qolish uchun rux barmoq nukleazlari tomonidan parchalangan CCR5 geni bo'lgan CD4 + inson T-hujayralarini klinik tadqiqotda ishlatilgan. FokI endonukleaziyasining spetsifik bo'lmagan ajratish domenini (N) rux-barmoq oqsillari (ZFP) bilan birlashtirgan maxsus ishlab chiqilgan ZFN-lar saytga xos DSB-ni genomga etkazib berishning umumiy usulini taklif etadi va bir nechta buyurtmalar bo'yicha mahalliy homologik rekombinatsiyani rag'batlantiradi. kattalik. Bu maqsadli gen tuzatish yoki genom tahririni inson hujayralarida mumkin bo'lgan variantga aylantiradi. ZFN-kodlovchi plazmidlar DSB-ni inson hujayralarida ma'lum bir gen lokosiga yo'naltirish uchun ZFN-ni vaqtincha ifoda qilish uchun ishlatilishi mumkin bo'lganligi sababli, ular terapevtik genlarni oldindan tanlangan xromosomaga maqsadli etkazib berish uchun ajoyib usulni taklif etadi. ZFN-kodlovchi plazmidga asoslangan yondashuv terapevtik genlarni virus bilan etkazish bilan bog'liq barcha muammolarni bartaraf etish imkoniyatiga ega. ZFN-larning birinchi terapevtik qo'llanmalarida bemorlarda o'zlarining hujayralari yordamida ex vivo terapiyasi o'tkazilishi mumkin. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va

tuzatilgan funktsiyalari bilan differentsiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni. ular oldindan tanlangan xromosoma saytiga terapevtik genlarni maqsadli etkazib berish uchun ajoyib usulni taklif qilishadi. ZFN-kodlovchi plazmidga asoslangan yondashuv terapevtik genlarni virus bilan etkazish bilan bog'liq barcha muammolarni bartaraf etish imkoniyatiga ega. ZFN- larning birinchi terapevtik qo'llanmalarida bemorlarda o'zlarining hujayralari yordamida ex vivo terapiyasi o'tkazilishi mumkin. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va tuzatilgan funktsiyalari bilan differentsiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni. ular oldindan tanlangan xromosoma saytiga terapevtik genlarni maqsadli etkazib berish uchun ajoyib usulni taklif qilishadi. ZFN-kodlovchi plazmidga asoslangan yondashuv terapevtik genlarni virus bilan etkazish bilan bog'liq barcha muammolarni bartaraf etish imkoniyatiga ega. ZFN-larning birinchi terapevtik qo'llanmalarida bemorlarda o'zlarining hujayralari yordamida ex vivo terapiyasi o'tkazilishi mumkin. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va tuzatilgan funktsiyalari bilan

differentiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni. ZFN-kodlovchi plazmidga asoslangan yondashuv terapevtik genlarni virus bilan etkazish bilan bog'liq barcha muammolarni bartaraf etish imkoniyatiga ega. ZFN-larning birinchi terapevtik qo'llanmalarida bemorlarda o'zlarining hujayralari yordamida ex vivo terapiyasi o'tkazilishi mumkin. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va tuzatilgan funktsiyalari bilan differentiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va tuzatilgan funktsiyalari bilan differentiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni. Ildiz hujayralari genomini tahrirlashdan so'ng hujayralar madaniyatda kengaytirilishi va tuzatilgan funktsiyalari bilan differentiatsiyalangan hujayralar hosil bo'lishi uchun bemorga qayta kiritilishi mumkin edi. Dastlabki maqsadlar ehtimol monogen kasalliklarning sabablarini, masalan, IL2Ry geni va genlarni tuzatish uchun b-globin geni va mutagenez va nogironlik uchun CCR5 geni.

Potentsial yon ta'sirlar. Agar sink barmoq domenlari ularning saytlari uchun etarlicha aniq bo'lmasa yoki ular qiziqish genomiga kiradigan noyob saytni mo'ljalga olmasa, maqsaddan tashqari bo'linish paydo bo'lishi mumkin. Maqsaddan tashqarida bo'lgan bunday ajratish, ta'mirlash mexanizmlarini ag'darish uchun etarlicha ikki qatorli tanaffuslarni keltirib chiqarishi va natijada xromosoma qayta joylashishiga va / yoki hujayraning o'limiga olib kelishi mumkin. Maqsaddan tashqari ajratish hodisalari, shuningdek, donor DNKning tasodifiy birlashishiga

yordam berishi mumkin. Inson tanasiga kiritilgan ko'plab xorijiy oqsillarda bo'lgani kabi, terapevtik agentga va u faol bo'lgan hujayralarga qarshi immunologik reaksiya xavfi mavjud. Proteinni vaqtincha ifodalash kerak bo'ladi, ammo reaksiyaning paydo bo'lish vaqti qisqa bo'ladi.

Birlamchi nukleotidlar ketma-ketligini tahrirlash va identifikatsiyalash.

Organizmlarni identifikatsiyalash odatda nukleotidlar ketma-ketligi tahlili asosida, BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ko'p marotabalik to'g'irlash dasturi yordamida ma'lumotlar bazasida GenBank/EMBL/DDBJ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) o'tkaziladi.

BLAST (ingl. *Basic Local Alignment Search Tool*) - birlamchi nukleotidlar va oqsillar ketma-ketligini solishtirishga yordam beruvchi algoritm. BLAST algoritmi asosidagi kompyuter dasturlari birlamchi strukturasi (ketma-ketligi) yoki ma'lumotlar bazasidagi fragmenti ma'lum bo'lgan oqsil yoki nuklein kislotalar gomologlarini izlab topishga imkoniyat yaratadi (Altschul et al., 1990).

BLAST seriyasidagi dasturlar. Biologik ketma-ketlikni tahlil qilish uchun 3 ta asosiy yondashuv mavjuddir:

Nukleotidlar ketma-ketligi tahlili. DNK yoki RNK nukleotidlari ketma-ketligi bilan ishlashga yordam beruvchi algoritmlar to'plami. Blastn («Nucleotide BLAST») dasturi turli xil mablumotlar bazasiga ega bo'lgan nukleotidlar ketma-ketligini solishtirish va gomologik ketma-ketlikni izlab topishga yordam beradi. BLAST yordamida tahlil boshqa algoritmlarga nisbatan ko'p vaqtni oladi, lekin past gomologli ketma-ketliklarni solishtirish imkonini beradi. Megablast 95% gacha yaqin qarindosh nukleotidlar ketma - ketligini solishtirishga mo'ljallangan. Dastur ko'p nukleotid ketma-ketliklarni yagona ketma-ketlikka yig'adi va BLAST baza ma'lumotlarini qidira boshlaydi. Keyin megablast individual ketma-ketlikni solishtirish va statistik ishlov berish uchun olingan ma'lumotlarga ishlov bera boshlaydi. Discontiguous megablast dasturi nukleotidlar ketma-ketligini bazi bir

mos kelmaslikka etiborga va olmaslikka yo'l qo'yadi, u farqlanuvchi lekin ketma-ketlikni taqqoslash uchun mo'ljallangan.

Oqsil ketma-ketligi tahlili. Aminokislotalar ketma-ketligi bilan ishlashga yordam beruvchi algoritmlar to'plami. Standart BLASTP («Protein BLAST») dasturi turli xil ma'lumotlar bazasiga ega bo'lgan aminokislotalar ketma-ketligini solishtirish va gomologik ketma-ketlikni izlab topishga yordam beradi. Boshqa dasturlar singari BLASTP dasturi mahalliy gomologik qismlarni topadi. Quyidagi algoritm yordamida dasturi turli xil ma'lumotlar bazasiga ega bo'lgan aminokislotalar ketma-ketligini solishtirish va gomologik ketma-ketlikni izlab topish mumkin. psi-blast («Position-Specific Iterated BLAST») algoritmi oqsillar ketma-ketligi tahlilida yanada sezgir algoritm bo'lib, uni oqsillarning uzoq qarindoshlari yoki oqsillarning yangi oila abzolarini topish uchun foydasi bo'ladi. Quyidagi algoritmdan Blastp standart algoritmi ketma-ketlikni topa olmaganda yoki gipotetik oqsillarga aloqa yuborganda, muayyan ketma-ketlik bilan o'xshashlik topilganda foydalaniladi. Phi-blast («Pattern-Hit Initiated BLAST») foydalanuvchi bergan shablonni o'zida saqlashi va bir vaqtda foydalanuvchi bergan so'rov bilan gomolgik o'xshash bo'lgan oqsillar ketma-ketligini qidirish uchun mo'ljallangan. Sdart («Protein homology by domain architecture») algoritmi oqsillar tarkibini o'rganadi. U xamma oqsillar tarkibini theprotein nr ma'lumotlar bazasida tahlil qiladi va qidiruv olib boradi.

Translyatsiya qilingan ketma-ketliklarni tahlil qilish. Maxsus dastur bo'lib, nukleotid ketma-ketlikni aminokislota ketma-ketligiga translyatsiya qilishga imkon beradi. Blastx («Translated query vs protein database») oldin nukleotid ketma-ketlikni aminokislota ketma-ketligiga translyatsiya qiladi, keyin oqsillar gomologik ketma-ketlikni ma'lumotlar bazasida izlab topishga yordam beradi. Blastx o'qish uchun nukleotid ketma-ketliklarni xamma 6ta xoshiyasini translyatsiya va tahlil qiladi. SHunday qilib, algoritm de novo sekvenirlangan nukleotid ketma-ketlikni va EST - ketma-ketlikni («Expressed Sequence Tags») tahlil qiladi. Bu algoritm

boshqa nukleotid Blast ga nisbatan yanada sezgir algoritm hisoblanadi, chunki solishtiruv oqsil ketma-ketligi darajasida olib boriladi. Boshqa tarafdin, tblastn («Protein query vs translated database») algoritmi aksincha oqsillar ketma-ketligini izoxli bo'lmagan nukleotidlar ketma-ketligida qidirishga yordam beradi. Va nixoyat, tblastx («Translated query vs translated database») algoritmi, yangi genlarni nukleotid ketma-ketlikda identifikatsiya qilishga foydali hisoblanadi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

- 1. Genlarni tahrirlash ishlari nechta bosqichdan iborat?*
- 2. CRISPR-texnologiyasining asosiy maqsadini ochib bering?*
- 3. ENCODE halqaro loyihasining maqsadini ochib bering?*
- 4. Yangi avlod texnologiyasiga qanday dasturlar tizimlari kiritilgan?*
- 5. TALEN texnologiyasining asosiy funksiyasi nimadan iborat?*

VII. BOB. MOLEKULAR FILOGENETIKA

Filogenetikaning asosiy tushunchalari. DNK yoki oqsillar ketma-ketligi ko'rinishidagi molekulyar ma'lumotlar mavjud organizmlarning juda foydali evolyutsion istiqbollarini ham ta'minlaydi, chunki organizmlar rivojlanib borishi bilan genetik materiallar vaqt o'tgani sari mutatsiyalarni fenotipik o'zgarishlarga olib keladi. Genlar to'plangan mutatsiyalarni qayd qilish uchun vosita bo'lganligi sababli, ular molekulyar qazilmalar bo'lib xizmat qilishi mumkin. Bir qator o'zaro bog'liq organizmlarning molekulyar qoldiqlarini qiyosiy tahlil qilish orqali genlarning va hatto organizmlarning evolyutsion tarixini aniqlanish imkonini beradi. Filogenetik tadqiqotlarni amalga oshirish juda mashaqqatli ishdir, chunki ma'lumotlar va tadqiqotlar shunchalik darajada ko'p, ammo hisoblash va qator bioinformatika vositalarini ishlab chiqish va ulardan foydalanish bilan amaliy hisoblash vaqtlarida katta ma'lumotlar to'plamini tahlil qilish va yuqori ehtimollik bilan eng maqbul yechimlarni topish imkon'iyligi mavjud. Ushbu tendentsiyaga javoban, filoinformatika (ya'ni, hisoblash filogenetikasi) bo'yicha olib borilayotgan izlanishlarning aksariyati samarali zamonaviy yondashuvlarni ishlab chiqishga qaratilgan.

Filogeniya - biologiyaning bir qismi bo'lib, organizmlarni bir-biridan kelib chiqish muammolarini o'rganadi. Filogeniya odatda sistematik nomlar yoki «evolyutsion shajara» ko'rinishida tasvirlanadi.

Molekulyar filogenetika-polimer makromolekulalar- DNK, RNK va oqsillarning tuzilishini o'rganish asosida tirik organizmlar o'rtasidagi munosabatlarni o'rnatish usulidir. Molekulyar filogenetik tahlil natijasi tirik organizmlarning filogenetik daraxtini qurishdir.

Molekulyar filogenetika tirik organizmlarning ilmiy tasnifiga kuchli ta'sir ko'rsatdi. Makromolekulalar bilan ishlash usullari turli ixtisosdagi biologlar uchun mavjud bo'lib, bu tirik organizmlar haqida yangi ma'lumotlar yig'ilishiga olib keldi. Bu ma'lumotlar asosida tirik organizmlar evolyutsiyasi haqidagi eski taxminlar qayta ko'rib chiqilmoqda. Ular yangi guruhlarini, shu jumladan faqat molekulyar filogenetik ma'lumotlar asosida aniqlangan guruhlarini ta'riflaydilar. Tirik

organizmlar tuzilishiga qarab o'xshash va farqlarga ega bo'lgan guruhlariga bo'linadi. Agar ikki xil organizm bir biri bilan juda bog'liq bo'lsa, ularning ajdodlari bitta deb qabul qilinadi. Filogenetik tahlil bu evolyutsion munosabatlarni baholashga kiradi. Evolyutsion tarix esa filogenetik tahlil asosida shoxlangan, daraxtsimon diagrammalar asosida shakllantiriladi, unda taqribiy avlodlar o'rtasidagi nasliy munosabatlar keltiriladi. Bunday munosabatlar molekulalar, organizmlar o'rtasida keltirilishi mumkin. Turli xil organizmlar o'rtasidagi filogoniyalar ular o'rtasidagi gomologiyalarni tahmin qiladi va klassifikatsiyaga bog'liq bo'ladi. Filogeniya bir necha belgilar to'plamiga ko'ra, yoki klassifikatsiya asosida munosabatlar topologiyasini o'rnatadi, yoki bu munosabatlarda evolyutsion jarayonlar modelini tuzadi.

Evolutsion daraxt. Organizmlar, populyatsiyalar, turlar va genlar o'rtasidagi munosabatlar tom ma'noda ularning qarindoshligiga yoki genealogiyasiga qarab, ya'ni bitta ajdoddan kelib chiqishiga qarab quriladi. Natijalar ko'pgina holatlarda daraxt diagrammasi shaklida beriladi. Agar oxirida keltirilgan avlodlar hammasi bitta ajdoddan rivojlangan bo'lsa, bunga ildizli asos deb ataladi. Evolyutsion daraxtlar genetik ma'lumotlar asosida ham shakllantiriladi. Bir-biriga qarindosh bo'lgan nukleotil ketma-ketligi yoki oqsillar ketma-ketligining filogenetik tahlili evolyutsiya davomida oilalar rivojlanishining yo'nalishlarini aniqlashda katta ahamiyatga egadir. Ketma-ketliklarning evolyutsion munosabatlarini shakllantirishda tashqi shoxlanish diagrammasidan foydalaniladi. Bunda daraxt asosidagi shoxlangan bog'lanishlar ketma-ketliklar o'rtasidagi munosabatlar shakllanishini aks ettiradi. Filogenetik tahlilning asosiy maqsadi, daraxtdagi shoxlangan bog'lanishlarni aniqlash va shoxlarning uzunligini aniqlashga qaratiladi. Nuklein kislotalar va oqsillarning ketma-ketliklarning tahlilida ko'pincha qo'shni shoxlarda joylashgan bir biriga yaqin bo'lgan pozitsiyalar belgilanadi. Agar organizmlarda yoki organizmlar guruhida genlar guruhi aniqlansa, bu oila genlarining o'rtasidagi filogenetik munosabatlar ularning ekvivalent funksiyalari to'g'risida ma'lumot berishi mumkin. Agar ikki turli xil organizmlarda topilgan ikki xil nuklein kislotalari yoki oqsillar bir-biriga o'xshasa, ularning bir ajdoddan kelib

chiqqanligi to'g'risida ma'lumot olish mumkin. Bunday ketma-ketliklarni taxrirlash natijasida ketma-ketliklarda o'zgarmay qolgan pozitsiyalarni aniqlash imkonini beradi va qaysilari o'zgarganligini bilish mumkin. Bu ikki pozitsiya ketma-ketliklari evolyutsion qarindosh bo'ladi va ularni gomologik deb hisoblash mumkin. Filogenetikada qo'yidagi sistematik yondashuvlar mavjud: guruhli-fenetik, vaqtinchalik - kladistik, va evolyutsion.

Fenetik va kladistik yondashuvlar. Molekulyar ma'lumotlar asosida filogeniya qurish usullari juda ko'p. Ularni ikki turga bo'lish mumkin: fenetik yondashuv turlar fenotipik o'xshashligiga qarab guruhlanadi, bunda xamma belgilar hisobga olinadi. Filogenetik munosabatlar evolyutsion tarixga kirmaydi. Kladistik yondashuvga asosan guruhlariga faqat umumiy orttirilgan belgilar kiritiladi, ya'ni ajdodlarda bo'lmagan belgilar bo'yicha guruhlanadi. Kladistik yondashuv genealogiyaga yondashadi va filogenetik tahlil uchun eng yaxshi uslublardan hisoblanadi, hozirgi evolyutsion nazariyani hisobga oladi va yangi turlar evolyutsion shoxlanish natijasida kelib chiqadi deb taxmin qiladi, ya'ni kladogenez asosida. Kladistik yondashuv hamma imkoni bo'lgan evolyutsiya yo'nalishlarini o'z ichiga oladi, har bir tugunda ajdodlar tasniflarini ishlab chiqadi, va hosil bo'lgan optimal daraxtni tanlab oladi va evolyutsion modelini tuzadi. Kladistikaning asosiy nuqtasi ya'ni bir guruh vakillari yoki klad vakillari umumiy evolyutsion tarixga ega va yaqin aloqaga ega ekanligini bildiradi.

Uzoq ajdodlarida bo'lmagan belgilariga qarab, umumiy xarakterli belgilariga ko'ra guruhlanadi. Bunday orttirilgan belgilariga vizual jihatdan tasvirlanadigan turli xil belgilar kiritiladi. Kladistik tahlil fenotipik belgilar yoki aminokislotalar, nuklein kislotalar asoslarining ketma-ketligiga qarab olib boriladi.

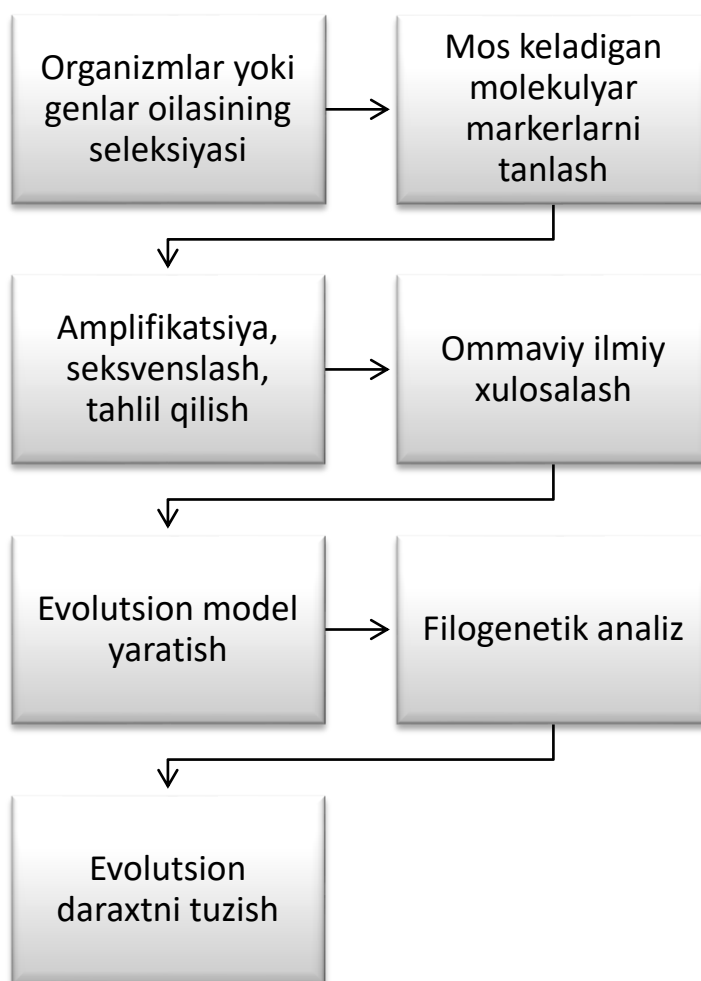
Kladistikada uch xil mumkin bo'lgan holatlar mavjud:

1. Organizmlar o'zaro umumiy ajdoddan kelib chiqishiga qarab bog'liq bo'ladi.
2. Evolyutsion chiziqlar vaqt oralig'ida shoxlanadi.

3. Vaqt o'tishi bilan avlodlarda xarakteristikalarda o'zgarishlar sodir bo'ladi.

Klad, takson va tugun. Klad deb monofiletik takson tushuniladi. Klad -bu umumiy ajdodga ega bo'lgan yaqin guruhlar va ular a'zolarining organizmlari va genlari kiradi. Klad so'zi grekcha so'zdan kladosdan olingan bo'lib, shox degan ma'noni bildiradi. Takson organizmlarning klassifikatsiyasidagi hohlagan guruhlar tushuniladi. Tugun evolyutsion chiziqning shoxlanish nuqtasi tushuniladi, ya'ni turlarning bir-biridan ajralishini anglatadi. Har qanday filogenetik tahlilning asosiy bosqichlari quyidagilardan iborat:

Filogenetik tahlil bosqichlari:



Ma'lumotlar bazasini yig'ish va tekislash

- Birinchi qadam protein yoki DNKning ketma-ketligini aniqlash va boshqa tegishli ketma-ketlikdan iborat ma'lumotlar to'plamini yig'ishdir.

- DNK qiziqishlarining ketma-ketligini NCBI- BLAST yoki shunga o'xshash qidirish vositalaridan foydalanib olish mumkin.
- Agar ketma-ketliklar tanlangan va olingan bo'lsa, bir nechta ketma-ketliklar yaratiladi.
- Bu olingan ketma-ketliklarda gomologiyani aniqlash uchun ketma-ketliklar to'plamini tashkil qilishni o'z ichiga oladi.
- ClustalW, MSA, MAFFT va T-Coffee kabi ko'plab veb-saytlar va dasturlar mavjud bo'lib, ular ma'lum bir molekulyar ma'lumot to'plamida bir nechta ketma- ketlikni bajarish uchun mo'ljallangan.

Hisoblash usullari va stoxastik modellar yordamida ketma-ketliklardan filogenetik daraxtlarni qurish (baholash)

- Filogenetik daraxtlarni qurish uchun daraxtlar topologiyasini aniqlash va ma'lumotlar to'plamidagi ketma-ketlikning filogenetik aloqalarini eng yaxshi tavsiflaydigan ketma-ketliklar uzunligini hisoblash uchun statistik usullar qo'llaniladi.
 - Qo'llaniladigan eng keng tarqalgan hisoblash usullari orasida masofaviy- matritsa usullari va maksimal parsimoniya va maksimal ehtimollik kabi diskret ma'lumotlar usullari mavjud.
 - Ushbu eng mashhur usullarni qo'llaydigan Paup, PAML, PHYLIP kabi bir nechta dasturiy paketlar mavjud.
- *Hisoblangan daraxtlarni statistik ravishda sinab ko'riladi va baholanadi.*
- Daraxtni baholash algoritmlari bitta yoki bir nechta eng yaxshi daraxtlarni yaratadi.
 - Hosil qilingan daraxtlarning to'plamidan bitta daraxtning boshqasidan sifat ko'rsatkichlari aniqlanadi va agar taklif etilgan filogeniya maqsadga muvofiq bo'lsa, baholash uchun bir qator statistik sinovlardan o'tkaziladi.
 - Daraxtlarni baholashning keng tarqalgan usullari Bootstrap va Jackknife Resampling usullari va parsimoniya, masofa va ehtimollik kabi analitik usullarni o'z ichiga oladi.

Filogenetik tahlil uchun bioinformatika vositalari

Filogenetik tahlil uchun ishlatilishi mumkin bo'lgan bir nechta bioinformatika vositalari va ma'lumotlar bazalari mavjud. Bularga PANTHER, P-Pod, PFam, TreeFam, UPGMA, PhyloFacts, MEGA-7 va Clustaw2_phylogeny dasturi tarkibiy filogenomik entsiklopediyasi kiradi. Ushbu ma'lumotlar bazalarining har biri turli xil algoritmlardan foydalanadi va ketma-ketlik ma'lumotlarini olish uchun turli xil manbalardan foydalanadi va shuning uchun PANTHER tomonidan hisoblangan daraxtlar, masalan, P-Pod yoki PFam tomonidan yaratilgan daraxtlardan sezilarli farq qilishi mumkin. Ushbu turdagi barcha bioinformatika vositalarida bo'lgani kabi turli xil usullarni sinab ko'rish, natijalarni taqqoslash, keyin har xil ma'lumotlar to'plamini jalb qilgan tadqiqotlar uchun qaysi ma'lumotlar bazasi yaxshi ishlashini aniqlash (konsensus natijalariga ko'ra) muhimdir.

Clustal Omega dasturi yordamida nukleotidlar ketma - ketligini ko'p marotaba to'g'irlanadi. Keyingi bosqichda filogenetik daraxtni tuzishda MEGA-7 programmasida ko'proq haqiqatga o'xshash usuli (*maximal likelihood*), maksimal iqtisod (*maximal parsimony*), chamalab ko'rilgan o'rtacha juftlik (UPGMA) va yaqin qo'shnilar (Neighbor-joining)dasturlari orqali tekshiriladi va olingan nukleotidlar ketma-ketligini halqaro Genbank (NCBI) joylashtiriladi.

Hozirgi kunda molekulyar daraxtlarni shakllantirishning bir necha xil uslubi mavjud. Maksimal tejamkorlik yoki minimal evolyutsiya uslubi ketma-ketliklarda hosil bo'ladigan o'zganrishlarning ko'rsatishda qadamlar sonini minimallashtirishga asoslangan. Ketma-ketliklarning qaysi pozitsiyasida o'zgarishlarni aniqlash maqsadida, yoki belgilarning to'g'ri kelishiga qarab, bu ketma-ketliklarning ko'p taxririni tuzish kerak bo'ladi. Bu pozitsiyalarda taxririlar o'xshash belgilariga ko'ra vertikal joylashtiriladi. Bu uslubda mutatsiyalarning minimal soniga bir ketma-ketlikdan boshqa ketma-ketlik kelib chiqishiga ko'ra qarab daraxtlar shakllantiriladi. Minimal evolyutsiyaning asosiy dasturlarga: PHYLIP, DNAPARS, DNAPENNY, DNACOMP, DNAMOVE, PROTPARS lar mansub.

UPGMA juftliklar guruhi usuli

Pairwise intra-group unweighted (arifmetik o'rtacha, UPGMA juftliklar guruhi usuli) usuli eng oddiylaridan hisoblanadi. Uning hozirgi shaklida, usul 1973 Singh va Sokal tomonidan taqdim qilingan. Dastlab uslubni filogenetikada qo'llash morfologik xususiyatlar asosida fenogrammlar qurish bilan bog'liq. Metoddan foydalanishning zaruriy sharti o'rganilayotgan nukleotid ketma-ketliklarining doimiy evolyutsiya tezligi hisoblanadi. Agar ketma-ketlik evolyutsiyasi tezligi notekis bo'lsa (molekulyar soat modeli mos kelmasa), UPGMA usuli daraxt topologiyasida xatoliklarga olib kelishi mumkin.

Algoritm usuli. Birinchi bosqichda masofa matritsasida eng kichik masofa qiymatiga ega bo'lgan ikkita takson topiladi. Bu ikki takson bitta klasterga (yoki kompozitsion taksonga) birlashtiriladi. Bu usul molekulyar evolyutsiyaning yagona tezligini nazarda tutgani uchun shoxlanish (divergensiya) nuqtasi ikki takson orasidagi genetik masofaning yarmini tashkil etadi. Kelajakda bu ikki taksonning klasteri bir butun hisoblanadi. Masofa matritsasi kompozitsion takson bilan boshqa takson orasidagi masofa ga teng deb faraz qilib, qayta hisoblanadi:

$$d_{uk} = (d_{u1k} + d_{u2k})/2$$

buyerdagi d - genetik masofa bo'lsa, u kompozit ketma-ketlik.

Qoshnilarni qo'shish usuli. Genetik masofalar xaritasi 2002 yilda tuzilgan bo'lib, qo'shnilarni qo'shish orqali 18 ta insonlar guruhi baxolangan, 23 xil genetik ma'lumotlar baxolangan. Xarita Yaponiya Milliy Genetika instituti professori Naruya Saytou tomonidan yaratilgan.

PANTHER-(Protein Analysis The Evolutionary Relationships) tasniflash tizimi oqsillar uchun mo'ljallangan. Proteinlar quyidagicha tasniflangan:

- Oilalar evolyutsiyaga bog'liq bo'lgan oqsillar guruhi.
- Molekulyar funksiyasiga bog'liq bo'lgan oqsillar guruhi: oqsilning o'z-o'zidan yoki bevosita biokimyoviy darajada ta'sir qiladigan oqsillarning funksiyasi, masalan, protein kinaza.
- Biologik jarayon: hujayra yoki organizm darajasida, masalan mitozda, jarayonni bajarish uchun o'zaro ta'sir qiladigan oqsillar guruhi.

Nukleotidlar ketma-ketligini Genbank bazasiga joylashtirish.

Clustaw2-phylogeny dasturi yordamida filogenetik daraxtni tuzish. Tahlil uchun olingan ketma-ketliklarni tuzish. Alohida matnli faylga (Microsoft Word) filogenetik daraxt tuzish uchun xizmat qiluvchi organizmlarning (FASTA formatida), ketma-ketligini kiritiladi.

- Ketma-ketlikni raqamlanadi. Boshqa matnli faylga organizm nomlariga mos keluvchi raqamlar ketma-ketligini yozib chiqiladi.
- Clustal Omega dasturi yordamida nukleotid kislotalar va oqsillar ketma - ketligini aniqlab olinadi, so'ngra ularni ko'p marotabali to'g'irlashga mo'ljallanadi.

Clustal Omega guruhli satr yoki onlayn tarzda ishlaydi.

- Ko'p marotabali to'g'irlash uchun Clustal Omega sahifasiga kiriladi:

<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/index.html>.

Clustal Omega bosh sahifasida to'rt ilovali menyu bor:

- Step 1 (Qadam 1) - ilova ketma-ketlikda FASTA formatida Microsoft Word dokumentiga tahlil qilinayotgan nukleotidlar ketma-ketligini kirituvchi oynani o'zida saqlaydi. Grafada Enter or paste da DNA tanlanadi.
- Step 2 (Qadam 2) - ilova (Pairwise Alignment Options) juft to'g'irlash variantlarini o'zida saqlaydi: sekinroq (Slow) yoki tezroq (Fast). Parametrlarni o'zgartiriladi (Slow);
- Step 3 (Qadam 3) - ilova ko'plab to'g'irlash variantlarini o'zida saqlaydi (Multiple Sequence Alignment Options): kiritish formatini aniqlanadi PHYLIP;
- Step 4 (Qadam 4) - natijalarni elektron manzil orqali yuborish uchun oyna (o'zingizning elektron manzilngizni grafada EMAIL ko'rsating).
- To'g'rilashni ishga solish uchun SUBMIT tugmasini bosiladi. To'g'irlash natijalarini bir necha daqiqadan so'ng elektron manzilga yuboriladi.

- Step 5 (Qadam 5) - Alignments oynasini o'ng tarafida filogeniya tuzish uchun ilova saqlanadi. (Send to ClustaW2_Phylogeny)
- Send to ClustaW2_Phylogeny tugmasini bosing, boshqa oynada filogeniya tuzish uchun ketma - ketlik ochiladi.
- Clustal W - Phylogeny dasturi bilan filogenetik malumotlarni tayyorlash
- Boshqa oynada Submit tugmasini bosing, bir necha daqiqa mobaynida fayllar va filogrammlar birdan filogenetik daraxt ochiladi.

Filogenetik daraxt terminlari:

- *Uzel, tugun (node)* - ikkita alohida evolyutsiyalanuvchi ajdodlar ketma-ketligining bo'linishi (tur, populyatsiya).

- *Yaproq, barg (leaf)* - real (zamonaviy) ob'ekt; grafaning tashqi uchi.

- *Tarmoq (branch)* - uzel orasidagi, uzel va yaproq orasidagi aloqa, grafa yoyi.

Ildiz (root) - o'rganilayotgan ob'ektlarning faraz qilingan umumiy ajdodi.

- *Klada (clade)* - ilgari mavjud bo'lgan ob'ektlarning hamma ajdodlarining guruhi.

MEGA 7 dasturi yordamida filogenetik daraxtni tuzish. Filogenetik daraxtni tuzish uchun MEGA 7 dasturidan foydalanamiz (www.megasoftware.net). Dasturni ishlab chiqaruvchi korxona sahifasidan bepul ko'chirib olishimiz mumkin. Dastur tuzilayotgan daraxtning statistik ahamiyatini baholaydi va butstrep-tahlil imkoniyatini beradi. Maksimal tejamlash metodi yordamida minimal sondagi mutatsiyalangan daraxt tanlanadi.

VIII. BOB. MOLEKULAR DNK VA OQSIL MARKERLAR.

"Marker texnologiyasi" biologiyaga ancha vaqt oldin kirib kelgan. Biologiyada marker ma'lum lokalizatsiya geni deb ataladi, ular yordamida boshqa genlarni aniqlash mumkin. Marker uchun tanlab olingan har qanday modda ma'lum talablarga javob berishi kerak. Tadqiqotlarga ko'ra, molekulyar markerlar ma'lum

xossalarga ega bo'lishi va muayyan talablarga javob berishi lozim: polimorfizmi yuqori darajada bo'lishi; irsiylanishning kodominant tabiati; genomda bitta xromosoma bo'yicha taqsimlanishi; neytral xatti-harakat; marker parametrlarini oson baholash; yuqori reprezentativlik, ma'lumotlarni oson almashish qobiliyatiga ega bo'lishi kerak. Oqsil va DNK markerlarining afzalligi shundaki, yuqori natijalar olish imkonini beradi.

Oqsil markerlari. Turli biologik muammolarni hal qilish uchun markerlar sifatida biologiyada ikki asosiy guruh eng keng qo'llaniladi proteinlar-izoenzim tizimlari va urug'larning zaxira oqsillari. Izoenzim genetikada keng qo'llaniladi, va bu fermentlarning deterministik ko'p molekulyar shakllari, bir xil turdagi shaxslarda aniqlangan, bir xil substratga xosligi, lekin ularning birlamchi tuzilishida va fizik-kimyoviy xossalari farqlar bo'lib, termik jixatdan barqaror hisoblanadi. Izoenzim markerlarning genetikada rivojlanishida Markert, Meller asarlari katta ahamiyatga egadir.

RFLP tahlil. Restriksiya fragmentlari uzunligining polimorfizmi (RFLP-Restriction fragment length polymorphism) genom DNKsini o'rganishda qo'llaniladi, endonukleazalar yordamida DNK kesib olinadi va gel elektroforezda (DNK elektroforez) natijalar kesilgan qismlar hajmini tahlil qilish usuli hisoblanadi. Ushbu tadqiqotdan foydalanilganda turli namunalardan turli natijalar olinadi va RFLP yordamida DNK nukleotidlari ketma-ketligidagi ayrim farqlarni, ular kesilgan joyida joylashgan holatda aniqlash mumkin. DNK tartibida joylashtirish texnologiyalari DNKni juda aniq tavsiflashi mumkinligi sababli RFLP ommaviy qo'llash uchun birinchi va eng arzon usul sifatida ishlab chiqilgan. RFLP tahlili genom xilma xilligini xaritalashning muhim vositasi hisoblanadi, genetik kasalliklar uchun marker genlarni aniqlash, kasallik xavfini aniqlash, genetik barmoq izlari olish, va qarindoshlikni aniqlashda muxim o'rin tutadi.

Molekulyar biologiyada Restriksiya fragmentlari uzunligining polimorfizmi (RFLP) - polimorf gomologik DNK ketma-ketliklaridagi o'zgarishlarga ega bo'lgan shaxslarda, populyatsiyalarda yoki turlarda ajratish yoki genlarning o'rnini ketma-ketlik asosida aniqlash uchun foydalanadigan usuldir. Ferment yordamida qirqilgan

saytlar polimorfizm aniqlanadi, uslub birinchi bosqichida DNK namunasi bir yoki bir necha restriktaza fermentlari yordamida fragmentlarga bo'linadi va natijada olingan fragmentlar o'z o'lchamlariga ko'ra gel yelektroforezi bilan ajratiladi.

Bu tahlil eskirgan arzon DNK texnologiyalari bo'lsa-da, tahlil keng foydalanish uchun yetarli darajada arzon bo'lib, birinchi ishlab chiqilgan DNK profilini aniqlash texnikasi edi. RFLP tahlil genom xaritalash muhim vositasi bo'lib, genetik kasalliklar uchun kasallik xavfini aniqlash va otaliklikni aniqlashda keng qo'llaniladi. Ushbu uslub DNK namunasini restriksiya fermenti yordamida parchalashni o'z ichiga oladi, bu DNK molekulasini qisqa aniq ketma-ketlikda kesadi. Parchalanish yo'li bilan olingan DNK fragmentlari keyinchalik agaroz gelida elektroforezi jarayon orqali ularning uzunligi bo'ylab ajratiladi va south blotting uslubi yordamida membranadan o'tkaziladi. So'ngra DNK namunasi gibridlanishi yoramida to'ldiruvchi fragmentlar uzunligini aniqlaydi, polimorfizm fragment uzunligi kesish uslubida aniqlangan fragmentning uzunligi turli hil shaxslar o'rtasida o'zgaruvchi, bir-biriga o'xshamagan ketma-ketlik gomologiyasini topish orqali aniqlanadi. Har bir fragmentning uzunligi kodlash mintaqasini o'z ichiga olgan yoki olmaganligidan qat'i nazar, allel hisoblanadi va keyingi genetik tahlilda ishlatilishi mumkin.

Genomlardagi RFLP o'zgarishlarini tahlil qilish ilgari genom xaritalash va genetik kasalliklarni tahlil qilishda muhim vosita edi. Tadqiqotchilar dastlab ma'lum bir kasallik gen xromosoma o'rnini aniqlashda, kasallikning oila a'zolari DNK orqali tahlil qilganda va kasallikning irsiylanishida aniqlashda RFLP allellar orqali aniqlashda qo'llanilgan. Kasallik geni aniqlangach, boshqa oilalarning RFLP tahlillari kasallik xavfi ostida bo'lgan yoki mutant genlarni oila a'zolariga qanday irsiylanishini aniqlashi mumkin. RFLP testi genomdagi noyob genlarni tahlil qilish orqali organizmlarning kasallikka beriluvchanligini aniqlash va farqlash uchun ishlatiladi. Bu, shuningdek, qirqilgan fragmentlar o'rtasida lokuslarda rekombinatsion tezlikni aniqlash uchun xam ishlatiladi.

RFLP tahlil jinoyat sodir qilinganda namunalarni aniqlashda genetik markerni aniqlashda, otalikni aniqlash uchun, va hayvonlar turining genetik xilma-

xilligi yoki naslchilikda foydali belgilarni tanlashda asos bo'lib xizmat qildi. RFLP tahlil texnikasi aniq, lekin ko'p vaqt talab qiladi va noqulay hisoblanadi. Bu usul DNK namunasining katta miqdorini talab qiladi, va tekshirish jarayonlari umumiy DNK ajratish, bo'laklarga bo'lish, elektroforez, blotting, gibridizatsiya, flushing, va autoradiografiyani o'tkazish bir oygacha davom etishi mumkin. Oligonukleotid zondlaridan foydalanilish asosidagi RFLP usulining cheklangan versiyasi 1985-yilda chop etildi. Inson genomi loyihasi natijalari asosan RFLP xaritalash asosida olingan va bu loyihada bir yoki ko'p nukleotidlar polimorfizmi (SNPS) zarurligi tufayli almashtirildi. SHuningdek ko'p irsiy kasallik genlari va mutatsiyalarni to'g'ridan-to'g'ri aniqlash uchun RFLP tahlili SNP genotipirlash uslubiga almashtirdi. RFLP allel tahlili hozirda ham ishlatiladi, lekin hozirda odatda Polimeraza Zanjirli reaksiya tomonidan amalga oshiriladi- PCR usullari. Misol uchun, DNK fingerprinting -barmoqlar identifikatsiyasi uchun RFLP tahlillar asosida olib boriladi.

Shuningdek RFLP marker tanlashda ham ishlatiladi. Restriksiya fragment uzunligi soni polimorfizmi- TRFLP yoki ba'zan T-RFLP dastlab bakterial jamoalarni aralash tur namunalarida tavsiflash uchun ishlab chiqilgan uslubdir. Texnika boshqa guruhlariga, jumladan, tuproq zamburug'lariga ham tatbiq etilgan. RFLP lyuminescent teglar bilan praymerlar asosida juftliklar DNK PCR amplifikatsiya qilinadi. PCR mahsulotlari keyinchalik RFLP fermentlari yordamida parchalanadi va natijada olingan namunalar DNK sekvensi yordamida aniqlanadi. Natijalar TRFLP profilidagi bantlar yoki cho'qqilarni oddiygina hisoblash va taqqoslash yoki bir yoki bir nechta TRFLP bandlarini ma'lum turlar bazasi bilan taqqoslash orqali tahlil qilinadi. Texnika ba'zi jihatlari bilan temperatura gradienti yoki denaturatsiyalovchi gradient gel elektroforeziga- TGGE va DGGE o'xshaydi.

RFLP bilan bevosita bog'liq ketma-ketlik o'zgarishlar ham PZR yordamida yanada tez tahlil qilinishi mumkin. Qirqilgan saytlar amplifikatsiya qilinadi. Bu usul split polimorf ketma-ketlik- CAPS deb atalgan. SHu bilan bir qatorda, amplifikatsiyalangan segmentni allelga xos oligonukleotid- ASO probalari,

ko'pincha oddiy nuqta-blotatsiya yo'li bilan amalga oshiriladigan jarayon orqali tahlil qilish mumkin.

DNK markerlari yoki molekulyar genetik markerlar muayyan gen uchun yoki turli shaxslar, zotlar, navlar va liniyalarning polimorf xususiyatlari taqqoslanganda xromosoma uchun DNK nukleotid ketma-ketligi molekulyar biologiya usullari bilan aniqlanadi. So'nggi yillarda genetika, selektsiya, bioxilma-xillikni saqlash, evolyutsiya mexanizmlarini o'rganish, xromosomalarni xaritalash, shuningdek, urug'chilik va naslchilik uchun ko'plab muammolarni hal qilish uchun oqsil, DNK va RNK darajasida molekulyar genetik markerlardan foydalanish samaradorligi bo'yicha ko'plab ma'lumotlar to'plangan. Eng keng tarqalgan molekulyar genetik markerlarni quyidagi turlarga bo'lish mumkin: oqsillarning aminokislotali ketma-ketliklarini kodlovchi tarkibiy genlar bo'limlari markerlari(oqsillarning elektroforetik variantlari), strukturaviy genlarning kodlab bo'lmaydigan bo'limlari markerlari va strukturaviy genlar uchun DNK sekvenslarining markerlari-genom-RAPD-tasodifiy polimorf DNK bo'ylab qisqa takrorlashlar taqsimoti; restriksiya saytlarda AFLP polimorfizm va microsatellit lokusi, tandem 2-6 nukleotidlar bir elementar birligi uzunligi bilan takrorlanadi. DNK darajasida polimorfizmini aniqlashning zamonaviy texnologiyalari mavjud bo'lib, ular orasida quyidagilarni ajratish mumkin: DNK restriksiya fragmentlari uzunligi polimorfizmini tahlil qilish-RFLP, polimeraza zanjiri reaksiyasi (PCR) va genom DNKdagi takroriy ketma-ketliklar orasidagi DNK amplifikatsiyasiga asoslangan boshqa usullar yordamida polimorfizm tahlili.

DNK namunalari asosidagi markerlar. DNK restriksiya fragmentlari uzunliklarining polimorfizmini baholash turli usullar bilan amalga oshirilishi mumkin, lekin eng an'anaviy usul gibridizatsiya qo'llaniladi. Bu usulga DNK ni ajratish, qirqilgan fragmentlar olish, ularni elektroforetik ajratish, olingan DNK fragmentlari bilan spetsifik DNK namunalarini keyingi gibridlanishi bilan filtrlarga o'tkazish kiradi. DNK namunasi-ma'lum bir gomologik darajaga ega klonlangan DNKning nisbatan qisqa ketma-ketligi va genom DNKsining tegishli bo'limi bilan gibridlanish qobiliyati kiradi. Restriktazalar va namunalar kombinatsiyalari har bir

individda xos DNK fragmentlarining yuqori polimorf spektrlarini ishlab chiqaradi. Ikkinchisi o'rtasidagi farqlar tufayli bo'lishi mumkin, misol uchun, qir qilgan fragmentlarda o'tgan mutatsiyalar bo'lishi mumkin. RFLP turli laboratoriyalarda spektrlarning yuqori representativligi va markerning kodominant "xatti-harakati" ni o'z ichiga olgan bir qator muhim afzalliklarga ega. RFLP orqali genomni xaritalash samarali, ko'p biologik va iqtisodiy muhim belgilarga ega.

VNTR- inglizcha: Variation Number Tandem Repeat - DNK barmoq izi usul ma'nosini anglatadi. Tandem genomlarda takrorlanishlar mavjud bo'lib, polimorf xususiyatga ega juda keng tarqalgan. Bu DNK bo'laklarining yuqori o'zgaruvchanligi natijasida mikro-va minisatellitli ketma-ketliklar namunalarining populyatsiya darajasida yuqori aniqlikka ega bo'lgan ko'p sonli spektrlarini olish imkonini beradi. Polimorfizmning juda yuqori darajasi tufayli bunday yondashuv hozirgi kunda ichki va populyatsiyalararo o'zgaruvchanlikni tahlil qilish va organizmlar guruhlarida o'rtasidagi genetik masofalarni aniqlash uchun yaxshi vosita hisoblanadi. VNTR-allel variantlari irsiylanishning kodominant tabiatiga ega.

PCR tahlili. Polimeraza zanjirli reaksiyasi usuli genom DNKsining alohida bo'laklarining o'ziga xos praymerlaridan foydalanish asosida diskret DNK amplifikatsiya mahsulotlarini olishni o'z ichiga oladi. Ushbu uslub asosida ko'plab tegishli texnologiyalar qurilgan. Eng keng tarqalgan RAPD texnologiyasi nukleotid ketma-ketlik yagona praymerlar yordamida amplifikatsiyasi polimorf DNK fragmentlari tahliliga asoslangan.

SSR (inglizcha oddiy natija takrorlanishlari) - qisqa minipraymerlar asosida PCR-yoki microsatellite takrorlanishlar kodominant irsiylanishining markerlarini aniqlash imkonini beradi va, shunga ko'ra, tadqiqot joyida geterozigotlarni aniqlash uchun qulay. Biroq, PCR-dagi flanslar uchun bir juft primer bizga faqat bitta lokusning polimorfizmini ko'rib chiqish imkonini beradi. Ko'pgina mikrosatellit lokuslari uchun polimorfizmini aniqlab bo'lmaydi. Qoida tariqasida, berilgan microsatellit locuslari uchun ko'plab maxsus turlari bor.

RAPD (Inglizcha: Random Amplified polimorf DNK)-ixtiyoriy nukleotid ketma-ketligi bo'lgan bitta qisqa, odatda 10 ketma-ketlikka ega bo'lgan primer

yordamida polimeraza zanjiri reaksiyasining o'tkazilishi hisoblanadi. Praymerlar ketma-ketligi mutlaqo farq qilmaydi, balki GC-tarkibi 40-70% va nukleotid ketma-ketligining murakkabligi 50-100% qiymatlari bilan chegaralanadi. RAPD uslubida bitta primer yoki bir necha RAPD primer dan foydalanish mumkin. RAPD mahsuloti ishlatiladigan praymerning teskari ketma-ketligi bilan o'ralgan genom DNK fragmentini kuchaytirish natijasida hosil bo'ladi. Usul bir xil praymerlardan foydalanib, turli xil tadqiqotlar uchun universaldir. Odatda, bir tur uchun yuqori polimorfizmni aniqlaydigan primer boshqa turlar uchun ham samarali bo'ladi.

ISSR (inter Simple Sequence Repeat) RAPD usulining ixtisoslashgan varianti bo'lib, unda primer mikrosatellitli ketma-ketlikdan iborat. Bu usul RAPD kabi uzunligi 15-24 nukleotid bo'lgan bir yoki bir necha praymerlardan foydalanadi. Lekin bu holda praymerlar tandem qisqa 2-4 nukleotid takrorlanishidan iborat, masalan, 5 - CA CA CA CA CA CA G, praymerning 3 uchida esa bir yoki ikki tanlanma nukleotidlardan iborat. ISSR amplifikatsiya mahsulotlari yonbag'irlarda teskari mikrosatellit primer ketma-ketligini o'z ichiga oladi. Bu usulda praymerlar ketma-ketligi o'ziga xos va RAPD ga qaraganda qat'iyroq tanlangani uchun PZR da RAPD usuliga nisbatan yuqori haroratda (55- 60°C) bajarilishi mumkin.

AFLP (inglizcha Amplified Fragment Length polimorfizm) RAPD va PZR usullarining kombinatsiyasi bo'lgan texnologiya. AFLP bir necha bosqichdan iborat murakkab usul: genom DNK bir vaqtning o'zida 4 va 6 asoslarni taniydigan ikkita restriktazalar bilan kesiladi, fragmentlar hosil bo'ladi. Cheklangan genom DNK saytlar uchun" yopishqoq " uchlari o'z ichiga olgan ligaza fermenti yordamida yopishadi (EcoRI va MseI). SHundan so'ng ketma-ket ikkita PZR amalga oshiriladi. Birinchi PZR (preamplifikatsiya) EcoRI va MseI adapterlari uchun to'liq to'ldiruvchi praymerlardan foydalanadi. Birinchi PZR dan keyin elektroforez yordamida differentsiallash qiyin bo'lgan yuqori va MseI adapterlari orasida ko'p sonli amplifikatsiya mahsulotlar hosil bo'ladi. SHuning uchun ikkinchi PZR da EcoRI va MseI adapterli praymerlar tanlab ko'chirish uchun 3 - dan 1 gacha adapterlarni 3' - oxirida qo'shimcha bazalarni o'z ichiga oladi. DNK fragmentlarini

ajratish poliakrilamid gelida, radioaktiv yoki lyuminesentsiya orqali amalga oshiriladi.

SSAP (inglizcha ketma-ketlikning o'ziga xos amplifikatsiya polimorfizmi) polimorfizmni restriksiya yo'li bilan ham, transpozon yoki retrotranspozonning genom DNKsiga kiritib aniqlash uchun AFLP usulining modifikatsiya uslubi hisoblanadi. O'rganilgan namunalarning genom DNKsi restriktazalar bilan parchalanadi va 3' - uchli fragmentlar olinadi. Qirqilgan DNK keyinchalik PstI va MseI fermentlari bilan ligatsiyalanadi. Birinchi polimeraza zanjir reaksiyasi (preamplifikatsiya) praymerlar asosida bajariladi, ya'ni restriksiyalangan genom DNK da birikishi mumkin bo'lgan barcha kombinatsiyalari ko'chiriladi. Birinchi PZR dan keyin praymerlar orasida lokalizatsiyalangan DNK fragmentlarining ko'plab amplifikatsiya mahsulotlari hosil bo'ladi. PZR mahsulotlari suyultiriladi va ikkinchi, PZR uchun ishlatiladi. Ikkinchi PZR praymer va har qanday adapter praymer bilan amalga oshiriladi. Ikkinchi PZRda adapterga qo'shimcha nukleotidlar bilan praymerlardan foydalanish mumkin. Ikkinchi PZR dan keyin elektroforez lyuminesent yorug'lik ishlatilgan bo'lsa, poliakrilamid gelida yoki sekvenatorda bajariladi. Retrotranspozon ketma-ketligi orasidagi DNK fragmentini ko'chirish natijasida ikkinchi PZR dan keyin ko'chirish mahsulotlari hosil bo'ladi. Qoida tariqasida, ikki retrotranspozon o'rtasidagi masofa PZR mahsulotlari (25003000 tayanch juft) odatda olingan natija nisbatan uzoq bo'ladi.

IRAP (inter Retrotranspozon Amplified polimorfizm) - ikki qo'shni retrotranspozonlar ketma-ketligini to'ldiruvchi praymerlar orasidagi polimeraza zanjir reaksiyasi. Usul bir necha variantlarga ega. IRAP birinchi versiyasida bitta praymer foydalanadi. Amplifikatsiya mahsulotlari bir xil ketma - ketlikka ega bo'lgan ikkita teskari nukleotidlar orasida hosil bo'ladi, ya'ni bir zanjirda bir nukleotidning 5' - uchi boshqa nukleotidning 3' - uchiga yo'nalgan bo'ladi. Agar retrotranspozonning markaziy qismi PZR mahsulotlarining odatdagi hajmidan uzunroq bo'lsa (3000 ga yaqin tayanch juft), u holda PZR faqat turli retrotranspozitsiyalar orasida o'tadi. Bu holda tutash nukleotidlar teskari holatda joylashgan bo'lishi kerak. IRAP ning yana bir varianti nukleotidlar tahlili uchun ikki

xil praymerdan foydalanadi: biri 5' -uchli va ikkinchisi retrotranspozondan turli yo'nalishlarda yo'naltirilgan 3' - uchli nukleotidlar.

RMAP (inglizcha: Retrotranspozon Microsatellite Amplified polimorfizm) - praymer o'rtasida retrotranspozonning nukleotid fragmentiga yaqin, oddiy mikrosatellitdan praymer (ISSR-praymer) bo'lgan polimeraza zanjirli reaksiyasi. Bu holda retrotranspozonning ko'chirilgan fragmentining holati mikrosatellit lokusiga praymer yordamida "langar" qilinadi. Masalan, o'simliklarda praymerning 3' uchida bitta nukleotid bilan praymer va mikrosatellit praymer (5' - CA CA CA CA CA CA CA G) ishlatish qulay. RMAP nukleotidning 5' va 3' uchlari uchun praymerlarining variantlaridan foydalanadi.

PBAP (Retrotranspozon Based add polymorphism- RT asosidagi Qo'shish Polimorfizmlari praymerlarni retrotranspozon ketma-ketliklarini ishlatish va kodominant allel variantlarini aniqlashga asoslangan usul. Uning prinsipi retrotranspozitsiyadan oldin DNKning bir qismini va retrotranspozonning praymerini joylashtiradigan bir juft primerlardan foydalanadigan ko'p lokusli PZR ga asoslangan. Natijada, PZR teskari tomondan bir juft o'rab olingan fragmentlar variantlarining birini kuchaytiradi, nukleotidlar o'rtasidagi retrotranspozon bilan genom DNK saytlar o'rtasida PZR uchun juda uzoq o'tadi chunki bu usul faqat polimorf lokus uchun polimorfizmni aniqlanishi uchun ishlatiladi. Uning afzalliklari polimorf variantlarning kodominantligi tahlil qilish uchun ko'plab foydalanish imkoniyatini o'z ichiga oladi.

IPBS (inglizcha inter PBS amplification) - PBS retrotranspozon Praymeri sayt uchun maxsus ketma-ketliklariga ega bo'lgan praymerlardan foydalanishga asoslangan usul. Usul namunalar orasidagi polimorfizmni aniqlash hamda eukariotlarda yangi retrotranspozonlarni klonlash uchun samarali hisoblanadi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Molekulyar markerlar qanday talablarga javob berishi kerak?*
2. *RFLP tahlili qanday turdagi tadqiqotlarda qo'llaniladi?*
3. *VNTR usulini asosiy vazifasini ochib bering?*
4. *PCR tahlili nechta bosqichdan iborat?*

5. DNK markerlari qanday maqsadlarda qo'llaniadi?

IX. BOB. PANGENOM TUSHUNCHALARI VA ULAR BILAN ISHLASH.

Pangenom, supragenom ham (ing. Pan-genom, pangenom, supragenom) — yaqindan bog'liq shtamlari yoki ekotiplar o'rtasida genetik xilma-xil bo'lishi mumkin organizmlar (odatda monofiletik) bu guruhga mansub barcha genlar majmui tushuniladi. Pangenom bir turni tashkil etgan barcha shtamlarning genlarini birlashtiradi: tur, turkum yoki yuqori tartibdagi taksoniga ko'ra. An'anaga ko'ra, pangenom tushunchasi bakteriyalar va arxeylar turlariga qo'llaniladi. Odatda, pangenom egri chiziq bilan xarakterlanadi- shtamlar soni va aynan shu shtamlarda mavjud bo'lgan gen guruhlar soni o'rtasidagi munosabatni ko'rsatuvchi grafik sifatida. "Pagenom" atamasining an'anaviy tushunchasi va uning ta'rifi 2005-yilda Herve Tattelek tomonidan kiritilgan. Bu vaqtga kelib gemofil taekcha (*Haemophilus influenzae*) (birinchi taxrirlangan genom) va *Escherichia coli* kabi ko'pgina organizmlarning model genamlari kodlangan edi. Ushbu tadqiqotlarning muvaffaqiyati shu qadar muhim ediki, har bir tur uchun bitta ma'lumot genomini kodlash olimlar tomonidan barcha biologik jarayonlarni tushunish uchun yetarli deb hisoblandi. Biroq, ketma-ketlik texnologiyalarining rivojlanishi bir xil turdagi bakteriyalarning ko'plab shtamlari uchun DNK ketma-ketligini tezda aniqlash imkonini berdi. Bitta streptokokk turining (*Streptococcus agalactiae*) sakkiz shtammi genamlarini solishtirib, Tettelin turli shtammi genamlar orasida sezilarli farq topdi: har bir yangi shtammning qolgan qismidan o'rtacha 33 ta gen bilan farq qildi. Bu turlar ichida muhim genetik xilma-xillikning mavjudligini ko'rsatdi. Intraspetsifik xilma-xillik haqidagi ma'lumotlar evolyutsiyani o'rganish uchun, shuningdek, tibbiy va biotexnologik maqsadlar uchun turning metabolik imkoniyatlarini baholash uchun ishlatilishi mumkin, bu pangenomlarni, ya'ni turning barcha mavjud shtamlarining genlarini o'rganish fikriga olib keldi.

Evolutsiyaning tez sur'atlarda rivojlanishi tufayli bakteriyalar va arxeylar uchun intraspetsifik genetik xilma-xilligi muammosi juda muhimdir. SHunday

qilib, *Escherichia coli* uch xil shtammlari o'rtasida gen tarkibida faqat 39% mos kelishi ma'lum.

Pangenom an'anaviy uch qismga bo'linadi. Birinchi qism universal genom-o'rganilayotgan taksonning barcha shtammlarida mavjud genlar. Bu strukturada bakteriyaning mavjudligi uchun zarur bo'lgan genlarni, ya'ni oqsillar translyatsiyasi, replikatsiya va energiya ishlab chiqarish tizimlarini kodlaydigan genlarni o'z ichiga oladi. SHuningdek, ular 92-95% shtammlarda mavjud bo'lgan genlarni o'z ichiga olgan "yumshoq" universal genom tushunchasidan foydalanadilar. Bu taxrirlash va annotatsiyadagi xatolar asosida amalga oshiriladi. Ikkinchi strukturaviy elementlarga faqat shtammlari birida bir nusxada mavjud bo'lgan noyob genlar hisoblanadi, va aslida shtammlari va bakteriyalar serotiplari o'rtasidagi farqlarni aniqlash tushuniladi. Noyob genlar muhim ulushi yana genlaridagi xatolardan iborat bo'lishi mumkin, juda ko'p da ko'rib chiqiladi, bu elementni istisno qilinadi.

Uchinchi strukturaviy element birinchi va ikkinchi strukturaviy element o'rtasida joylashgan-bu periferik genom (o'zgaruvchan variabel genom). Ko'rib chiqilayotgan taksonning barcha shtammlari genomlarida mavjud bo'lgan genlardan iborat va shtammlarni ma'lum ekologik nishalarda (masalan, fotosintez yoki simbioz uchun zarur) adaptatsiyasi uchun javobgardir. Pangenomni Venn diagrammasi sifatida tasvirlash uslubida genomlarning o'xshashlik darajasini ko'rsatish mumkin.

Takson ichidagi genetik xilma-xillikning muhim ko'rsatkichi ochiq va yopiq pangenomlar tushunchasidir. Agar har bir yangi shtamm ro'yxatga qo'shilganda taksondagi genlarning umumiy soni o'sishda davom etsa, u holda pangenomning bu turi ochiq deb ataladi.

Agar ma'lum miqdordagi shtammlardan boshlab pangenomning o'lchami to'yinishga erishsa, bunday pangenom yopiq deyiladi.

Turlarda ochiq pangenomning mavjudligi turning muhim genetik xilma-xilligini aniqlashga imkon beradi. Bu, odatda, ma'lum bir tur ichida yuzaga keladigan ko'plab gorizontal genlarni ko'chishi hodisalari bilan bog'liq.

Bakteriyalarning ko'pchilik turlarida ochiq pangenom, xususan, *Escherichia colida*. Yopiq pangenomli guruhlarda genlarning aksariyati barcha hisoblangan shtammlar uchun universaldir, shuning uchun yopiq pangenomdagi genlarning umumiy soni odatda kamroq ochiq pangenomga nisbatan. Yopiq pangenomli bakteriyalar turiga sibir kuydirgisi *Bacillus anthracis* misol bo'ladi. Ushbu turning to'rtta shtammini ko'rib chiqqilgandan so'ng, yangi shtammlarning qo'shilishi pangenomning hajmini oshirmaydi. Bu tur nisbatan yaqinda paydo bo'lganligi va uning genetik xilma-xilligi asosan virulentlik genlarni o'z ichiga olgan plazmidga asoslanganligi bilan bog'liq. Biroq, genetik jihatdan *Bacillus anthracis* mustaqil tur bo'lishdan ko'ra, boshqa turning kloniga o'xshaydi. Sibir kuydirgi qo'zg'atuvchisi qarindosh shtammlaridan faqat ikkita plazmid bilan ajralib turadi, ulardan biri toksinni kodlaydi. Bu misol haqiqiy genetik axborotning turlarini tanlash mezonlari o'rtasidagi tafovutni ko'rsatadi. Ochiq pangenomli turlargina haqiqiy tur hisoblanadi.

Pangenom hajmini belgilovchi omillar Pangenomning kattaligi xajmi o'rganilayotgan guruhlarining ekologik omillar bilan o'zaro ta'sirini aks ettirishi mumkin. Bu o'zaro ta'sir genlarning yo'qolishi va qo'shib olish jarayonlari o'rtasidagi muvozanatlashtiruvchi harakatdir. Masalan, ekologik vaziyatning sezilarli darajada o'zgarishi ko'pgina funksiyalarning keraksiz bo'lib qolishiga olib keladi, natijada bu funksiyalarni bajaruvchi oqsillarning genlari yo'qolishiga olib keladi. Genlarning yo'qolishi endosimbiontlar (begona hujayralar ichida yashovchi organizmlar) va boshqa allopatrik turlarda (izolyatsiyalangan geografik nishalarda yashovchi) kuzatiladi, ular kichik yopiq pangenomlar bilan xarakterlanadi. Aksincha, ko'plab turli xil ekologik nishalarda yashovchi guruhlar o'z qo'shnilari bilan muloqotda bo'lib, gorizontal transfer orqali yangi genlarni qo'shib olishadi. Genomning qo'shib olingan qismlari orasida muhim qismi "egoistik" mobil

elementlardan tashkil topgan. Bakteriofaglar, integrazalar, transpozazalar va boshqa tizimlar genomda egoist elementlarning to'planishiga yordam beradi. Ularning genomdagi butun to'plami mobilom deb ataladi, yon qo'shni turlar soni qanchalik ko'p bo'lsa, parazit mobil elementlarni qo'shib olish shunchalik ko'p bo'ladi. Natijada, bakteriyalarning simpatrik turlari yon qo'shnilarga ega bo'lgan ochiq pangenomga ega bo'ladi.

Pangenomning qurilishi va tahlili. Pangenomik qurilish va tahlillar ma'lumotlar miqdoriga ko'ra bir qancha qiyinchiliklarni o'z ichiga oladi. Pangenomlarni qurish va keyingi tahlilning barcha usullarini pangenomaning ta'rifi asosida ikki guruhga bo'lish mumkin: gen taxrirlariga asoslangan va ketma-ketliklar asosida.

Gen taxrirlariga asoslangan usullar. Bu usulda pangenom uchun genlar guruhi funktsional birliklar sifatida olinadi va o'rganilayotgan organizmlar guruhi uchun gen taxrirlari majmui ustida ish olib boriladi. Uslub uchun olib boriladi: z ortologik qator qurish; z pangenomni aniqlash; z keyingi tahlil.

Qurilgan pangenomning tuzilishi genlarni ortologik guruhlariga bo'lish aniqligiga bevosita bog'liq. Ko'pchilik hollarda graflar konstruktsiyasiga asoslangan yondashuvlar ortologlarni topish uchun ishlatiladi: ketma-ketliklar aniqlangandan so'ng va graf qirralari ketma-ketliklar juftliklari o'xshashligiga ko'ra solishtiriladi. Ko'p turli ortolog guruhlarini aniqlash uchun ketma-ketliklar klasterlanadi, tanlab olingan guruhda genning paydo bo'lishiga qarab. SHundan so'ng pangenomning o'zi quriladi. Keyingi tahlil usullari pangenome universal qismlaridagi ketliklarni bir nechtasini o'z ichiga olishi mumkin, filogeiyay rekonstruktsiyasi, va turli vizualizatsiya ishlarini.

Proteinortho dasturi - ortologik qatorlarni qurishning eng mashhur dasturiy vositalaridan biridir.

OrthoMCL - ortologik qatorlar qurishning yana bir keng tarqalgan usuli, ortologik va paralogik genlarni guruhlash imkonini beradi.

PGAT (prokariot-genom tahlil vositasi) - turli prokariotlar genomlarining ma'lumotlar bazasiga asoslangan veb-xizmat. Tanlangan organizmlar guruhida mavjud bo'lgan yoki yo'q bo'lgan genlarni aniqlash, har bir bunday gen uchun SNP haqida ma'lumot olish, bir nechta alignmentlar qurish va metabolik yo'llarning kegg bazasiga kirish imkonini beradi. Xizmatning funksiyalari ma'lumotlar bazasida mavjud genomlar bilan chegaralanadi va o'z ma'lumotlaringizni yuklay olmaysiz.

PGAP (Pangenomlar tahlil paketi) - besh moduldan iborat bo'lib, pangenomni tahlil qilish uchun Perl skriptlar majmui. Mavjud funksiyalar orasida funktsional genlarni klaster tahlil qilish, pangenomik profilni tahlil qilish va genetik o'zgarish mavjudligi aniqlashda ishlatiladi. 2018 yilda, PGAP joriy etilgan, kengaytirilgan versiyasi, qo'shimcha tahlillar qilish va ko'rish uchun modul qo'shilgan. Yangi analitik komponentlar ortologiya bo'yicha ketma-ketliklarni taxrirlash va gen klasterlarini qurish imkonini beradi. Vizuallashtirish modullari genom strukturalarini solishtirish va konservativlik va o'zgaruvchanlik asosida gen taqsimotlarini qurish imkonini beradi.

GET_HOMOLOGUES-pangenom tahlili uchun paket. Foydalanuvchi BLAST algoritmidan foydalanish asosida, uch xil ortolog klasterizatsiyasini algoritmlarini o'rtasida tanlashi mumkin. Bundan tashqari, oqsillarning domen tarkibi haqida ma'lumot olish uchun Pfam bazasiga qarshi HMM-profillarini qidirish mumkin. Pangenomning uchta asosiy qismidan tashqari, dasturda "yumshoq" universal genom ham belgilangan.

PanCoreGen - grafik interfeysli dastur. Pangenom qurish tartibi BLASTN iterativ foydalanish asoslangan. Agar FASTA va Excel formatlarida genlar ruyxatini birlashtira oladi va NCBI ma'lumotlar bazasiga kirish imkoniga ega.

Pan-Tetris - pangenomlarning interfaol vizualizatsiyasi uchun mo'ljallagan dasturi, "supergenom" asosida ortologik genlar guruhining lokal taxriri orkali io'lab chiqiladi va olingan natijalarning interfaol ta'sirida foydalagnuvchilar uchun taxrirdagixatolarni aniqlashda ishlatiladi.

Genom ketma-ketliklariga asoslangan usullar

“Pangenom” atamasini shuningdek, tadqiqot qilinayotgan organizmlarda genomlar ketma-ketligining to’plami sifatida ifodalash mumkin. Oldingi uslublardan farqli o’laroq, pengenomlarning bu tipida ortologik qatorlardan emas, balkim ketma-ketliklarni taxrirlashlarning, yoki qismlarni umulashtiradigan graflardan foydalanish mumkin. Bunday uslubdan ko’pgina xolatlarda genlari bitta nukleotidi bo’yicha polimorfizmga ega bo’lgan eukariot organizmlar uchun qo’llaniladi va eukariotlar uchun pangenom shakllantirilganda genlar taxrida xatoliklar kelib chiqishining oldini oladi.

Panseq — onlayn-servis, taxrirlashni shakllantirishda ishlatiladi. Universal genomda kupgina genlarni taxrirlash va periferik genlar mavjudligi binar matritsasini imkonini beradi

GenomeMapper — pangenom shakllantirishning grafli uslubini amalga oshiradigan dastur. Xar bir genom bir xil uzunlikdagi bloklarga ajratiladi, va bir necha genom uchun umumiy bo’lgan bloklar bir marta saqlanadi. Yon bloklar esa yon shoxlar (qovurg’alar tizimida) qo’shiladi. Bundan so’ng, xar bir genomdan ma’lum uzunlikdagi nukleotidlar xammasi uchun bloklarning xesh-jadvali tuziladi, bularda nukleotilar va ularning joylashishi tartibi bloklarda o’rganiladi.

Evolyutsion tadqiqotlarda pangenom qo’llanilishi

Organizmlar evolyutsiyasini tadqiqot qilishda qiyosiy genomika uslubidan foydalanish pangenomlarni shakllantirishda keng qo’llaniladi. Pangenom tahlili o’rganilayotgan organizmlar guruhida genetik xilma xillikning darajasi aniqlashda yordam beradi. Bakteriyalar yoki arxeylar turlarining genetik xilma xilligi qoida bo’yicha, genlarning gorizontal ko’chirilishi natijasida vujudga kelgan. SHuning uchun gorizontal ko’chirilish asosan organizmlar guruhining evolyutsiyasi to’g’risida xulosa qilish imkonini beradi. SHunga ko’ra, *Streptococcus pneumoniae* ning 44 shtammidan shakllangan pangenom o’rganilganda, bu pangenom ochiq pangenom ekanligi aniqlangan, ya’ni xar bir yangi qo’shilgan genom pangenom xajmini oshirgan. Lekin bashorat modeli orqali, shtammlar soni

50 ga yetganda yangi genlar qo'shilishi imkoni bo'lmasligi aniqlangan. 44 shtammda shakllantirilgan pangenom periferiyasidagi yangi genlar manbai streptokokkning boshqa turi *Streptococcus mitis* ekanligi aniqlangan, ularning genlari gorizontal ko'chirish orqali hosil qilingan. Genlarning evolyutsion tarixi avlodlarda irsiylanishda vertikal xolda berilishi, gorizontal xolda ko'chirilishi bilan bog'liq bo'lgan ma'lumotlar bilan to'g'ri kelmaydi. SHuning uchun, evolyutsiyani asosan mikroorganizmlar evolyutsiyasida va ayrim yuqori taraqqiy etgan organizmlar evolyutsiyasida filogenetik daraxt shaklida emas, balkim filogenetik tarmoq sifatida shakllantirish kerak degan fikrlar paydo bo'lishiga olib keldi. Bunday filogenetik tarmoqlar uchun ma'lumotlarni shakllantirishda pangenomlardan olinadi. Xozirga kunda organizmlar o'rtasida munosabatlarni aniqlashda va yoritishda pangenomlar misoli ko'p keltirilmoqda. Masalan, ichak tayoqchasi va *Shigella* o'rtasidagi pangenomni shakllantirishda ularda bir xil genlar tarkibi aniqlangan ya'ni shigella va ichak tayoqchasi ko'pfarqlar bo'lmasligi ko'rsatilgan. Filogenetik tahlil asosida, shigella aloxida olingan turkum emasligi, ichak tayoqchvsidan ajratilishiga sabab ularning patogen xususiyati bo'lib, xromosomadagi virulentlik genlari sabab bo'lgan.

Metagenomikadagipangenomlar. Pangenomlar ko'p xollarda metagenomik tadqiqotlarda qo'llaniladi, ma'lum joyda istiqomat qiluvchi organizmlar tur va miqdoriy tarkibi sekvenlash uslubida aniqlanadi. Bu xollarda noan'anaviy pangenom qo'llaniladi: ya'ni bir xil kelib chiqishiga qarab emas, balkim bir vaqtda bir xil ekologik nishada (muxitda) birga yashaydigan organizmlar o'rtasida olib boriladi. Panegenomlarning qo'llanilishi aniq joyda yashaydigan umumiy tashqi muxit omillari ta'sirida bo'lgan umumiy adaptatsiyalarni aniqlash imkonini beradi. Metagnom tadqiqotlarida genomlar bo'yicha ma'lumotlar yig'ish ancha murakkab jarayon hisoblanadi.

Pangenomlarning tibbiyotda qo'llanilishi

Patogen mikroorganizmlar qoidaga ko'ra, genlarninig gorizontal ko'chirilishi orqali antibiotiklarga chidamli va infeksiyon genlarga ega bo'lishadi, shunga ko'ra

pangenom shakllantirish epidemiologik tadqiqotlarda xam qo'llanilishi mumkin. Patogen turi uchun variabel gen xajmini bilish juda katta ahamiyatga egadir, chunki u qanchalik katta xajmga ega bo'lsa, shunchalik genlami gorizontaldolda qabul qilish imkoniga ega bo'ladi, va patogen xolati yuqori bo'ladi. Periferiyaning o'lchami butun pangenomdagi universal genomning ulushiga qarab topiladi. Bunday xususiyat birinchi navbatda, tashqi muxitda yashovchanligi yuqori bo'lgan patogenlarda aniqlash katta ahamiyatga egadir. Chunki patogen antibiotiklarga chidamlilik darajasini tabiatdagi muxitdan o'zaro ta'sir orqali ega bo'lishi mumkin. Sibir kuydirgisi *Bacillus anthracis* tuproqda o'z faolligi saqlaydi, lekin yopiq pangenomga ega va universal genom ulushi 99%ni tashkil qiladi. Ushbu xususitya asosan sibir kuydirgisi tuproqda faol bo'lmagan sporalar shaklida saqlashi va shu xolatda boshqa tuproqdagi orgazmlar bilan genlar almashinuvini amalga oshira olmasligi orqali tushuntirish mumkin.

Boshqa tur [Legionella pneumophila](#) - inson patogeni bo'lib, amyobalar ichida yashash xususiyatiga egadir va ularda tashqarida xayot faoliyatiga ega bo'lmaydi. Lekin amyobaning ichidagi boshqa mikroorganizmlar bilan gentik ma'lumotni almashtirish xususiyatiga ega va ochiq pangenomga ega bo'ladi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Pangenom nima?*
2. *Supragenom nima?*
3. *Pangenomning ochiq turi qanday bo'ladi?*
4. *Escherichia colida pangenomning qaysi turi mavjud?*
5. *Bakteriofaglar pangenomda qaysi jaroyonda ishtrok etadi?*
6. *Pangenomaning ta'rifi asosida uni necha guruhga bo'lish mumkin?*
7. *Gen taxrirlariga asoslangan usullarda maqsad nima?*
8. *Pfam qanday baza?*
9. *Panseq nima?*
10. *GenomeMapper qanday dastur?*
11. *Metagenomikadagi pangenomlar qanday ko'rinishda bo'ladi?*

12. *Periferiyaning o'lchami qanday topiladi?*

X. BOB. GEN ONTOLOGIYASI

Biologiyaning zamonaviy yo'nalishlari biotexnologiya, genlar injinerligi, genomika, bioinformatika kabi yo'nalishlarining rivojlanishi fanda yangi "gen ontologiya" terminining yuzaga kelishiga sabab bo'ldi. Gen ontologiyasi predmetlariga mikroorganizmlar, o'simliklar, hayvonlar va inson genlari ularning mahsulotlari ma'lumotlar ba'zasi va ularning annotatsiyalari kiradi. Gen ontologiya loyihasi molekulyar va hujayra biologiyasida bir necha domenlarni ichiga oladi va genlar, gen mahsulotlari va ketma-ketliklar bo'yicha ma'lumotlarini tushunishda jamoatchilik foydalanishi uchun keng imkoniyatlar ochib beradi. Ko'pgina model organizmlarning ma'lumotlar ba'zalari va genom annotatsiyasi guruhlarini yaratishda gen ontologiyasidan foydalaniladi va ularning annotatsiyasida gen ontologiya manbalari o'rni beqiyosdir.

Konsortsium gen ontologiya - bu "*gen ontologiyasi*" loyihasida faol ishtirok etayotgan bir qator biologik ma'lumotlar ba'zalari va tadqiqot guruhlaridir. Bu turli xil model organizmlar uchun bir qancha ma'lumotlar ba'zalari, jami oqsillar ma'lumotlar ba'zasi, "*gen ontologiyasi*" dasturiy ta'minot ishlab chiquvchilar va muharrirlar guruhini o'z ichiga oladi. Gen ontologiyasi bioinformatika dasturlar bo'yicha loyiha bo'lib, barcha organizmlarning genlari va gen mahsulotlari standartlashtirilgan genetik ma'lumotlar ba'zalarini yig'ishga bag'ishlangan. Loyihaning maqsadi genlar va ularning mahsulotlari sifatlaridan birini aniq belgilangan ro'yxatini ma'lumotlar bazasiga joylash va yangilash; genlar va gen mahsulotlar uchun qo'shimcha annotatsiyalarni rasmiylashtirish; ortib borayotgan ma'lumotlar bazasi loyihasidan foydalanish uchun ma'lumotlar tarqatish. Gen ontologiyasi "*Ochiq biotibbiyot ontologiyasi*" deb nomlangan klassifikatsiyasi keng qamrovli qismi hisoblanadi. Gen ontologiya deganda murakkab biologik hodisalarni yuzaga kelishi tasvirlangan noma'lum bir biologik ob'ektlarni tushinish kerak. Ontologiya dunyodagi ob'ektlar va ular orasidagi munosabatlar to'g'risidagi ma'lumotlar yordamida maxsus bilim yo'nalishlarini rasmiylashtirishda qo'llaniladi.¹ Biologiya va boshqa tegishli fanlar uchun universal namunaviy

terminologiya yetishmasligi yuzaga keldi. Terminlar bu qiyin muloqot qilish kabi tushunchalarni ifodalaydi, lekin ancha bir-biridan farq qilish gen ontologiya boshqariladigan so'zlar terminlardan tuzilgan.

Terminlar ontologiya nizomiga muvofiq uch yo'nalish molekulyar funktsiya, biologik jarayonlar va hujayra komponentlariga bo'linadi. Xar bir ontologiya biror gen yoki gen maxsulotlarini funktsional jixatdan hamda terminlar o'rtasidagi aloqalarni tasvirlaydi. Tartibga soluvchi aloqalar ikki quyi sinflari bor: ijobiy tartibga soluvchi va salbiy tartibga soluvchi.

Gen ontologiyada tez-tez yangi o'zgartirishlar bo'lib, atamalar yoki eskirgan ma'lumotlar olib tashlanadi. Agar terminlar ontologiyadan o'chirilgan bo'lsa belgilangan terminlar o'z kuchida qoladi lekin eskirgan yorliqlar va termin barcha aloqalari olib tashlanadi. Aloqalarni o'zgartirish annotatsiyalarga tasir qilmaydi chunki ularning gen ontologiyada joylashgan o'rniga emas balki annotatsiyalar o'ziga xos maxsus terminlarga yo'naltirilgan. Gen ontologiya loyihasi genlar funktsiyalarini kataloglashtirish uchun katta manba bo'ladi. Shunday bo'lsada undan hali hamma joyda foydalanilmaydi va hanuzgacha murakkabligicha qolmoqda.

Gen ontologiyasi 1998 yilda tadqiqotchilar konsortsium asosida uch model organizmlar *Drosophila melanogaster* (meva pashshasi), *Mus musculus* (sichqon) va *Saccharomyces cerevisiae* (non achitqisi) genomlari o'rganilib, ularni o'qilishi va genetik ma'lumotlar ba'zasi yaratilishi asosida tashkil etilgan. 1 So'ngra boshqa model organizmlar uchun ko'p ma'lumotlar ba'zasini shu tariqa ko'rish va ma'lumotlaridan foydalanish, qo'shimcha annatatsiyalar ba'zasini yaratishni kengaytirish, kabi jarayonlarda gen ontologiyasidan foydalanildi. O'simlik, xayvon va mikroorganizmlar eng asosiy genetik ma'lumotlar ba'zalari bu loyixaga xissa qo'shmoqda. 2008 yil yanvar xolatiga ko'ra, gen ontologiya dasturi turli xil biologik organizmlarda qo'llaniladigan 24.500 dan ortiq terminlarini o'z ichiga oladi. U ma'lumotlar gen ontologiyasini rivojlantirish va undan foydalanish bo'yicha adabiyotlarda muxim tayanch hisoblanadi, va u bioinformatika sohasida tegishli standart vositasi bo'lib kelgan. 2011 yil sentyabr xolatiga ko'ra, gen

ontologiyasi 360 ming dan ziyod tirik organizmlar uchun 33 mingdan ortiq terminlar va 12 million atrofida gen mahsulotlar annotatsiyasi mavjud.² So'nggi bir necha yil davomida, gen ontologiya konsortsium gen ontologiya sifati va spetsifik annotatsiya miqdorini oshirish uchun bir qator o'zgarishlar amalga oshirildi. 2013 yilga kelib, annotatsiyalar soni 96 milliondan oshdi. Annotatsiya sifati avtomatlashtirilgan sifat nazorati yo'li bilan takomillashtirildi.

Gen ontologiya konsortsium so'nggi paytlarda biologik jarayonlarning bevosita kichik sinfi sifatida, yangi biologik bosqichini joriy etdi. Bu sinf biologik jarayonlar sodir bo'lishi mumkin bo'lgan paytida alohida davri yoki bosqichini ifodalaydi. Ular shuningdek, boshqa biologik jarayonlar bilan tartibga solinadi. Biologik jarayonlar murakkab hodisalar bo'lib, organizmlar xayoti uchun zarur molekulyar funksiyalarni amalga oshirilishi demakdir. 1 Misol uchun turli biologik jarayonlar hujayra bo'linish sikli metafaza va profaza hamda xayz ko'rish payti, jinsiy hujayralarni qo'shilishi va rivojlanish bosqichi.

Gen ontologiya biologik jarayonida "bosqichlarni" ifodalash Gen ontologiyasi biologiyaning boshqa yo'nalishlari ya'ni, biotexnologiya, genlar injinerligi, genomika, bioinformatika, biokimyo, fiziologiya, proteomika kabi yo'nalishlarda olib borilgan tadqiqotlarning mahsuli asosida yo'nalish sifatida yuzaga keldi.² Yuqorida ko'rsatilgan fanlar gen ontologiyasi ma'lumotlar bazasidan foydalanib kelmoqda. Biomeditsinada turli genetik kasalliklarni davolash, ularga tashxis qo'yish ishlarida gen ontologiyasi majmuiga kiruvchi inson genomi ma'lumotlar bazasidan keng foydalanilmoqda. Bulardan tashqari qishloq ho'jaligi mahsulotlarini genomlarini tadqiq qilib, yangi o'simlik navlari, hayvon zotlari yaratilishida, ularni maxsuldorligini oshirishda qo'llanilmoqda.

Mavzini mustahkamlash uchun savollar:

1. *Gen ontologiyasi nima?*
2. *Konsortsium gen ontologiya bu?*
3. *Gen ontologiyasi manbai nima?*

XI. BOB. EPIGENOMIKA HAQIDA TUSHUNCHA

Epigenomika - genetikaning bo'limi bo'lib, DNK va RNKning birlamchi keima-ketligida o'zgarish bo'lmasligi asosida irsiylanish va o'zgaruvchanlik mexanizmlarini o'rganadi.

Epigenetik regulatsiya - gen faolligini uning kodlanish ketma-ketligini o'zgartirmagan holda o'zgarishga olib keluvchi jarayon bo'lib, ushbu o'zgarishga sabab bo'lgan omil yo'qolgandan keyin ham stabil nasllanadi.

Bir genotipdan bir qancha hujayra fenotiplari hosil bo'ladi. Kapalaklarda (*Araschnia levana*) uchraydigan mavsumiy rang o'zgaruvchanligi rivojlanish sharoitini belgilaydi. YOki sichqonlarda DNK metillanishi bilan bog'liq bo'lgan to'mtoq dumlilik fenotipi shular jumlasiga kiradi.

Ona bolasini ko'krak suti bilan oziqlantirayotgan paytida olgan tashqi stressi bola katta bo'lgandan keyin unda yuzaga keladigan depressiya holatlari epigenetik o'zgarishlar bilan ifodalanadi.

Epigenetika va epigenomika sohalarini rivojlantirish uchun ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) loyihasi ma'lumotlarni muvofiqlashtirish markazi ishlab turibdi. 2006 yilda "Epigenetics", 2008 yilda "Epigenetics & Chromatin", kelajak meditsinasi sifatida 2009 yilda "Epigenomics" va "Clinical Epigenetics" ilmiy jurnallari chop etila boshladi.

Genning epigenetik saylensigida (o'chiq turishida) RNK interferentsiya, gistonlarning modifikatsiyasi va DNK metillanishi o'zaro ta'sirda bo'ladi.

DNKning metillanishi.

Sitozin va adeninning metillanishi DNK komplementar o'zaro bog'likligiga ta'sir ko'rsatmaydi, balki DNK spiralini stabillaydi va bir qancha oqsillar tomonidan taniladi. Ushbu nukleotidlarning metillanishi S-adenozilmetionin (SAM) (metil gruhi donori) ishtirokida "spontan" holda fermentlarning ishtirokisiz sodir bo'lishi mumkin. Hujayrada ko'p uchraydigan metillangan tsitozinning dezaminlanishi oqibatida timin hosil bo'lishi mutatsiyaga olib keladi va DNK

replikatsiyasi jarayonida keyingi avlodga o'tadi. Sitozinning "spontan" metallanishi SrG motivida ko'p sodir bo'ladi.

Ko'pchilik holatlarda metillanish hodisasi in vivo prokariot va eukariotlarda DNK-metiltransferaza (DNMT) fermenti ishtirokida amalga oshadi.

Yuksak umurtqalilarda quyidagi DNK-metiltransferazalar uchraydi:

1. Dnmt1 - qo'llab-quvvatlovchi metilaza replikasiya fokuslarida lokallashgan, DNKning 3'-yo'nalishida keng tarqalgan, de novo metilaza faolligini namoyon qila oladi, lekin DNKning yarimmetillanganligiga yaqinligi 1-2 tartibga yuqori. Bir necha xil izoformalari mavjud, shu jumladan somatik va ootsitspetsifik. Dnmt1 taqisligida quyidagicha yashovchan mutantlar bo'ladi: embrional letallik, global gipometillanish, imprintingni yo'qotish va boshqalar. DNKning regulyator domeni faol bo'linayotgan hujayralarning replikativ kompleksiga ushbu fermentni yetkazib berishni ta'minlaydi. Har xil oqsillar bilan bog'lana oladi (shu jumladan RNK ketma-ketligi bilan ham degan qarash mavjud):

- Gistondeatsetilazalar (HDAC) bilan.
- Transkripsiya repressorlari, o'sma supressorlari bilan (pRb, RP58).
- Ba'zi onkooqsillar genlari mahsulotlari bilan (PML-RAR).
- Xromatinni modifikatsiyalovchi, ya'ni fermentlar bilan kompleksdagi metillangan CpG ni (MeCP2/1, MBD2, MBD3) bog'lovchi oqsillar bilan assotsiatsiya qilishi mumkin.

2. Dnmt2 - RNK metilaza bo'lib chiqdi, ya'ni 2006 yilda bu ferment TRDMT1 (tRNA aspartic acid methyltransferase) deb qayta nomlandi. Asosan ba'zi bir transport RNKlarni metillaydi.

3. Dnmt3a - de novo metilaza. In vitro da yarim metillangan va metillanmagan DNKga bir xil faollikni namoyon qiladi (qo'llab-quvvatlash faolligi bo'lishi mumkin). Bu ferment mutantlarida postnatal letallik kuzatilishi mumkin.

4. Dnmt3b - de novo metilaza. Yarim metillangan va metillanmagan DNKga bir xil faollikni namoyon qiladi (mini - va mikrosatellitlarni afzal ko'radi). Bu ferment tsentromerning minisatellit takrorlanishlarini metillash uchun zarur.

Dnmt3b sintezining buzilishi kam uchraydigan ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, Facial anomalies) sindromiga olib keladi.

5. Dnmt3l fermenti boshqa DNMT-oqsillariga o'xshash, lekin o'zining katalitik faolligiga ega emas. Dnmt3a va Dnmt3b metilazalarini DNK bilan bog'lanishini va ularning faolligini kuchaytirib de novo qo'llab-quvvatlaydi. Dnmt3a va Dnmt3b metilazalari bilan bog'lanadi hamda gametogenez vaqtida imprintlarni aniqlanishida va imprint bo'lgan genlarning transkripsiyasini repressiya qilinishida ishtirok etadi. Bu ferment mutantlarida erkaklardagi sterillikka va gametalarda ikkala allellarda ham imprintlangan genlarning ekspressiyasiga olib keladi.

Metillanishning xolati xromatin strukturasi, bir qator ferment komplekslarining lokalizatsiyasi va faol qo'llanishi bilan aniqlanadi. Metillanish sistemasida kuzatiladigan defektlar, shu jumladan metillangan DNK bilan bog'lanuvchi oqsillarning faolligi, og'ir irsiy kasalliklarga olib keladi.

Metillanishdagi nosozlik bilan bog'liq bo'lgan ba'zi patologiyalar:

Kanserogenez

Kompleks nosozliklar:

- diabetning 2 turi.

Imprinting nosozligi bilan bog'liq bo'lgan kasalliklar:

- Beckwith-Wiedemann sindromi
- Silver Russel sindromi
- Prader-Willi sindromi
- Angelman sindromi

Neyrodegenerativ faoliyatning buzilishi:

- X-xromosomaning sinish sindromi
- ICF
- Retta sindromi.

Ko'pchilik eukariotlarning DNK-viruslarida DNKning metillanishi replikatsiyani ta'minlash uchun zarur bo'ladi. Frog virus 3 (FV3) DNKsi ma'lum

bo'lgan virus DNKlari ichida eng ko'p metillangani hisoblanadi (umumiy tsitozinning 20%ga yaqini metillangan). 5-azatsitidin (metilazalar ingibitori) zararlangan hujayralarda virus genlarining eksperessiyasiga ta'sir qilmaydi, lekin shakllanayotgan kapsidalarda DNKning to'liq bo'lmagan joylashishi kuzatiladi yoki kapsidalar umuman bo'sh bo'lib qoladi va natijada FV3 infektsiyalash mahsuloti 100 marta va undan ortiqqa kamayadi.

Zararlangan hujayralarning yadrolarida virus DNKsining SrG motivlarida hujayra DNMTlari ishtirokida de novo metillanish sodir bo'ladi va so'ngra metillangan DNK sitoplazmaga eksport qilinadi (Willis D.B., Granoff A. Virology 1980, Goorha R. Et al., Virology 1984, Schetter C. Et al. J.Virol. 1993).

Ko'pchilik viruslar infektsiyalash jarayonida xo'jayin-hujayra DNK-metiltransferazalarining ekspressiya darajasini oshishini stimullash qobiliyatiga ega (adenoviruslar, herpesviruslar, papilomaviruslar va boshqalar) (Hoelzer et al. NAR 2008).

Metillanishning statusi integrallashgan va replikatsiyalanuvchi formalar orasida ancha farq qilishi mumkin (Hoelzer et al. NAR 2008).

DNK metillanishining asosiy funksiyalari:

1. Xromatin strukturasini va xromosoma stabilligini qo'llab-quvvatlash.

- Takrorlanuvchi va integrallashgan begona ketma-ketliklarning saylensingi.
- Begona DNK transkripsiyasiga qarshi himoya mexanizmi (shu jumladan parazitik).

Shundan kelib chiqib, qoida bo'yicha, yuksak metillangan:

- Satellitlar va boshqa takrorlanuvchi ketma-ketliklar.
- Transpozonlar, provirus nusxalari.
- Geteroxromatinga xos bo'lgan ketma-ketliklar.

2. Genlar ekspressiyasini transkripsiya darajasida irsiylanmaydigan to'qimaga xos uzoq muddatli bosib turish.

- Ushbu tip hujayralarga xos bo'lgan ekspressiya profilini shakllanishi.

Shundan kelib chiqib, qoida bo'yicha, yuksak metillangan:

- Transkripsion faol bo'lmagan genlar (gametalarda - gametaga xos ekspressiyalanuvchilardan tashqari barcha genlar).

- Onkogenlar.
- Imprintlangan genlar.

Va qoidaga binoan, gipometillanganlar:

- Transkripsion faol genlar.

SHuni yodda saqlash lozimki, gen ekspressiyasi darajasiga metillanishning ta'siri doimo bir xil emas!

Umurtqalilarda DNKning normal metillanishi quyidagicha:

- SrG motividagi S odatda metillangan bo'ladi (50-90%, odatda 70-80%, katta yoshdagi insolarning hujayralarida taxminan 70%).

- SrG motividan tashqaridagi Sning metillanishi (embrional o'zak hujayralarida aniqlangan) kam ulushni tashkil qiladi (metilazaning "sakrashi" natijasida bo'lishi mumkin).

Metillangan SrG motivlar yakka bo'lishi mumkin (umumiy tarkibning 80%ida, ko'pincha intronlarda, kam hollarda to'qimaga xos genlarning promotorlarida va bu holat keng miqyosda farqlanishi mumkin). YOki SrG orolchalar deb nomlanuvchi qismlarda to'planishi mumkin (odamda 45000 ga yaqin SrG orolchalar mavjud).

SrG orolchalarning xususiyatlari:

- 60% genlarda mavjud, shu jumladan "uy xo'jaligi" genlarining hammasida.
- >200 j.n., ko'pchiliklarining uzunligi - 0.5-3 m.j.n.
- Nisbatan yuqori GS-tarkibli (>50%, odatda >60%), Sr motivning jips joylashishi (10 f.n.ga bitta, genomning o'rtachasiga qaraganda 10-20 barobar ko'p) va uning statistik uchrashi (statistik 0.5 dan ko'p).

- Nukleosomalardagi N1 giston miqdori kamayadi, gistonlar yuqori atsetillangan bo'ladi.

- Qoidaga ko'ra SSGSSS motiviga ega (SP1 transkripsion faktorini bog'lanish saytlari).

Metillangan DNKning biologik funksiyalari:

- Genom imprintingi
- X-xromosomalamining inaktivatsiyasi
- Xromatin strukturalarining regulyatsiyasi
- Gen ekspressiyasining regulyatsiyasi
- DNK replikatsiyasi
- Kantserogenez
- Hujayra differentsirovkasi
- Transgenlarning o'chirilishi ("silencing").

Genom imprintingi - genetik fenomen bo'lib, ma'lum genlar faqat otadan, boshqalari esa onadan o'tgan allellardan ekspressiya bo'lishidir. Insonda kamida 80ta gen genom imprintingiga uchragan.

Sut emizuvchilar va o'simliklarda imprinting alohida genlarda uchrasa, hasharotlar va zamburug'larda imprinting bir butun xromosomalarda uchrashi ko'rsatilgan.

Keyingi yillarda NGS yordamida sut emizuvchilarning genomlarida 1000dan ortiq imprintlangan lokuslar, asosan miyada, aniqlangan.

Gistonlarning modifikatsiyasi

Ma'lumki nukleosomalar oktamer bo'lib kompakt joylashgan gistonlardan, ya'ni 2 molekuladan iborat H2A, H2B, H3 va H4 oqsil molekulalarini tashqi tomonidan DNK zanjiri 1,75 marta o'rashi hisobiga hosil bo'ladi va DNK zanjiri o'rami ustida H1 oqsili joylashadi.

Nukleosomalar evolyutsion takomillashib borganligini yuqoridagi slayddan ko'rish mumkin. Arxeal bakteriyalarda A va B gistonlari keyinchalik "ikkilangan" holga kelishi va ularning takomillashuvi asosida eukariotik tetramer so'ngra oktamer gistonlar hosil bo'lganligini ko'rish mumkin. Gistonlar strukturasidagi aminokislotalar soniga, giston hosil qiluvchi domenlarning katta kichikligiga, N - va C-tomonlariga qarab bir-biridan farq qiladi.

Gistonlar aminokislotalarining ketma-ketligi H4 gistonida yuqori konservativlikka ega bo'lsa H2B gistonida bu ko'rsatkich ancha pastligini ko'rish mumkin. DNK va gistonlar o'rtasida 14 xildagi o'zaro ta'sir yuz berar ekan.

Genomda nukleosomalardan xoli bo'lgan joylar (uchastkalar) mavjuddir. Bu joylarda transkripsiya uchun faol, transkripsiya faktorlarini bog'lash saytlari va regulyator oqsillar joylashgan. Yana genomda shunday joylar borki, ularda nukleosomalarning joylashishi qat'iy belgilangan. Genlarda +1 nukleosomaning bo'lishi quyidagicha belgilanadi, ya'ni achitqi zamburug'larda +1 nukleotiddan, umurtqalilarda +60 nukleotiddan iboratdir. Genomdagi nukleosoma o'rami joylari xromatinning remodelingi uchun ATFGa muxtoj oqsillar regulyatsiyasiga uchraydi.

Yuqoridagi rasmdan ko'rinib turibdiki, gistonlar o'zlarining N-tomonlari bilan post-tranlyatsion modifikatsiyaga uchraydi. Bunda asosan, lizinning atsetillanishi, lizin va argininning metillanishi, serin va treoninning fosforlanishi, lizinning ubikvitinlanishi, ADF ribozillanish va sumoillanish kabi jarayonlar yuz beradi.

Ubikvitin (ingl. *Ubiquitous* - *hamma yerda uchrovchi*) - katta bo'lmagan konservativ oqsil bo'lib eukariotlarda oqsillarga birikib oladi. Ubikvitinlanish - bu nishon-oqsilning yon aminoguruhlariga bitta yoki bir nechta ubikvitin monomerlarini ubikvitin-ligaza fermentlari ishtirokida kovalent bog'lar yordamida posttranslyatsion birikishidir. Ubikvitinning birikishi oqsillarning hujayra ichki lokalizatsiyasi va funksiyasiga ta'sir qiladi. Ubikvitin tizimi eng ahamiyatli bo'lgan jarayonlardan bo'lmish proliferatsiyalanish, hujayraning rivojlanishi va differentsirovkasi, patogen va stresslarga javob berish reaksiyasi hamda DNK reparatsiyasi kabilarda ishtirok etadi.

Sumoillanish (ingl. *sumoylation* - *small ubiquitin-related modifier* - kichik ubikvitinga o'xshash modifikator) - oqsilning S-tomonida joylashgan epsilonaminoguruh lizinni ubikvitin tizimi komponenti bo'lgan SUMO oqsili bilan kovalent bog'lanishi natijasidagi posttranslyatsion modifikatsiyasi jarayonidir.

Oqsillarning sumoillanishi hujayradagi har xil jarayonlarga shu jumladan genlar ekspressiyasini boshqarish, mitoz va apoptoz jarayonlariga ta'sir qiladi.

Demak "Giston kodi"ning ishlash prinsipi quyidagicha: gistondagi aminokislota qoldig'ini modifikator-ferment yuqorida keltirilgan misollarga monand o'zgartiradi va bu o'zgarishni giston oqsili "qabul qiladi". Natijada hujayradagi jarayonlarga ta'sir qiluvchi funktsiya amalga oshadi. Jumladan, rasmda keltirilganidek, N3 va N4 gistonlaridagi modifikatsiyalar transkripsiyani boshqarishga yoki DNK reparatsiyasiga ta'sir qiladi.

"Giston kodi" nasldan naslga irsiylanadi. DNK replikatsiyasida nukleosomalar dimerlarga ajraladi va yana yangi sintezlangan DNKga yig'iladi. Yangi sintezlangan gistonlar "eski"larining sxemasi bo'yicha modifikatsiyalanadi.

RNK interferentsiyasi.

RNklar to'g'risidagi bizning bilimimiz suv ustidagi aysbergni kichik bir bo'lagini eslatadi, lekin aysbergning suv osti qismi juda ulkandir. Biz RNklar to'g'risida hozirgi kungacha umumiy bilimlarga ega edik. Asosan i-RNK, r-RNK va t-RNKlarni bilamiz. Fan va texnologiyalarning rivojlanishi bilan yangi-yangi RNK molekulalari kashf qilinmoqda. Quyidagi sxemada RNklarning hozirgi kundagi klassifikatsiyasi berilgan.

Demak, RNklar 2 tipga, ya'ni oqsil sintezi uchun kodlanuvchi va kodlanmaydigan RNklarga bo'linadi. Kodlanadigan RNK tipiga i-RNK kiradi. Kodlanmaydigan RNklarga transkripsion RNklar (r-RNK va t-RNK) va kichik RNklar mansubdir. Kichik RNklarga quyidagilar kiradi:

- Kichik interferlanuvchi RNK (siRNA);
- Mikro-RNK (miRNA);
- Kichik yadroviy RNK (snRNA);
- Kichik yadrochaga xos RNK (snoRNA).

ENCODE (DNK elementlari entsiklopediyasi) loyihasiga binoan 147 xil hujayra tiplari genomlari va transkriptomlari o'rganilgan. Inson genomining taxminan 80%i biokimyoviy faol va DNKning 76%i RNKga transkripsiya bo'lishi

aniqlangan. Kichik RNKlarning 8800 “gen”lari va kodlanmaydigan uzun ketma-ketlikka ega bo’lgan 9600 RNKlar aniqlandi. SHu jumladan, genlar faolligini regulatsiya qilishda ishtirok etuvchi ko’plab yangi RNKlar aniqlandi.

Kichik yadroviy RNKlar (snRNA) hujayra yadrosida joylashgan va ribonuklein oqsillar bilan bog’langan. Ularnig razmeri 90-300 nukleotiddan iborat bo’lib tarkibida ko’p miqdorda “U” nukleotidi bo’ladi. Bu RNKlarni RNK-polimeraza II va III bilan transkripsiyalanadi va 5’-tomonda trimetillangan kepni hosil qiladi. Kichik yadroviy RNKlar pre-m-RNK protsessingidasplaysosoma hosil qilib ishtirok etadilar. Politsistron mRNKlarni parchalaydi, telomer butunligini qo’llab-quvvatlaydi va transkripsiyani boshqaradi.

Mikro-RNKlar (miRNA) kichik razmenga ega bo’lib taxminan 22 nukleotiddan iborat bo’ladi. Genomning kodlanmaydigan DNK ketma-ketliklarida, shu jumladan intronlarda joylashgan bo’ladi. Ular barcha ko’p hujayralilarda aniqlangan. Nishon-genlar ekspressiyasini repressiya qiladi va 3’-UTR bilan bog’lanadi, odatda bu bog’lar to’liq bo’lmaydi.

Mikro-RNKlar birlamchi, ya’ni ko’plab halqa ko’rinishidagi invertlangan takrorlari bo’lgan katta transkriptlardan hosil bo’ladi. Odamning barcha genlarining 1-5% miRNA genidir. Ular strukturali genlarning 30%ini boshqaradi. Mikro-RNKlarning hosil bo’lishi quyidagicha: DNKdan RNK Pol II fermenti yordamida transkripsiya bo’ladi. So’ngra RNKaza III Drosha fermenti ta’sirida kesiladi. Exportin 5 faktori yordamida yadrodan eksport qilinadi. Unga qo’shimcha ravishda Dicer fermenti bilan qo’shimcha kesilib miRNA ga aylanadi. Qo’sh zanjirli RNK RISC (RNK induktsiyalagan silencing kompleksi) bilan bog’lanadi va zanjirlarning biri ajrab ketadi. Qolgan kompleks mRNK bilan bog’lanadi. Rasmda RNK - interferentsiya yordamida genning faoliyatini psaytirish sxemasi berilgan.

Kichik interferlanuvchi RNKlar (siRNA) genomga kiritilgan fermentlarning genini ekspressiyasini kamaytiradi va natijada ularning faolligi pasayadi. Kichik interferlanuvchi RNKlar mRNKni degradatsiyaga olib kelishi genning faolligini postranslyatsion ingibirlanish mexanizmi bo’yicha kamaytiradi.

Kichik xalqa hosil qiluvchi RNKlar yordamida RNK interferentsiyasini fanda va meditsinada qo'llanilishi quyidagi rasmda keltirilgan.

Shunday qilib, epigenetik belgilarni meyozi va zigota bosqichidan olib o'tuvchi bir qancha mexanizmlar mavjudligini xulosa qilish mumkin.

Laboratoriya hayvonlarida olib borilgan tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, bir qancha belgilarni ajdoddan avlodga o'tishida tashqi muhit ta'siri va ovqat ratsioni katta rol o'ynashi aniqlangan. Bunda hayvonlarning genomida mutatsiya bo'lmasdan balki epigenetik o'zgarishlar sabab bo'lgan.

Quyidagi rasmda homilador ayol bola rivojlanishining ilk bosqichidan boshlab spirtli ichimliklar iste'mol qilishi bola epigenomini o'zgarishiga olib kelishi va majruh FASD sindomli farzand tug'ilishi mumkinligi ko'rsatilgan. Bunda albatta DNK-metillanishi, gistonlarning modifikatsiyalanishi va RNK-interferentsiyasi jarayonlari normal holda o'tmasligi sabab bo'lishi mumkin.

Tashqi faktorlarning doimiy ravishda ta'sir qilib turishi keyingi bir nechta avlodlarda adaptatsiyalangan belgini paydo bo'lishiga sabab bo'ladi. Bunday o'zgarishlarni quyidagi sxema yordamida tushuntirish mumkin.

Shunday qilib, bugungi kun fani genlar tiliga yoki epigenetik tilga o'tmoqda va bu kelajakda ko'plab genomdagi o'zgarishlarga javob berishi mumkin.

Genomni taxrir qilishning usul va texnologiyalarini ishlab chiqishdan maqsad quyida keltirilgan zamonaviy biotexnologiya va biomeditsinaning dolzarb vazifalarining yechimini topishdir:

1. Qishloq xo'jaligida qimmatli belgi va xususiyatlarga (hosildorlik, tashqi muhitning noqulay sharoitlariga, zararkunanda va patogenlarga qarshi chidamlilik) ega bo'lgan yangi o'simlik navlarini va hayvonlar zotlarini yaratish;

2. Inson kasalliklarini tadqiq qilish uchun mutant model hayvonlarni olish;

3. Genoterapiya usullarini ishlab chiqish, o'stirilayotgan inson o'zak hujayralaridagi genetik mutatsiyalarni to'g'rilash;

4. Yangi dori vositalarini izlashda va klinika oldi tadqiqotlarini o'tkazayotganda hujayra modellarini yaratish va boshqa amaliyotlarda

foydalanishga qaratilgandir.

Hozirgi kungacha genomni taxrir qilish uchun quyidagi tizimlar sayt-spetsifik nukleazalar yordamida ishlab chiqilgan:

1. “Ruxli barmoqlar” usuli.
2. TALEN usuli.
3. CRISPR usuli.

“Ruxli barmoqlar” usuli. “Ruxli barmoqlar” usuli - Zink finger nucleases (ZFN) fermentlari asosida ishlab chiqilgan. Bu nukleazalar metalloferment bo’lib o’z tarkibida Zn^{2+} atomini tutgandir. Ularga misol qilib FokI nukleazasini keltirish mumkin. Ushbu oqsilning alfa spirali 3 o’ramdan iborat bo’lib, har bir o’ram DNK molekulasidagi spetsifik 3 nukleotid bilan bog’lanuvchi 3 rux barmoqdan iborat domenga ega. Natijada fermentning alfa spirali DNK molekulasining ma’lum spetsifik saytlarini taniydi va bog’lanadi. Nukleazaning faol markazi DNK zanjirini kesadi. Ushbu kesilgan DNK saytiga nishon genni yoki uning modifikatsiyasini kiritish mumkin.

Bu usul bilan ham yuqorida sanab o’tilgan zamonaviy biotexnologiyaning vazifalarini bajarishda foydalanish mumkin.

Quyida keltirilgan rasmlarda “Ruxli barmoqlar” va DNK zanjirini bir-biriga bog’lanishi sxematik ravishda ko’rsatilgan.

“Ruxli barmoqlar” tizimining va faoliyatining bir qator kamchiliklari mavjud. Jumladan, DNK molekulasidagi 3 nukleotidli takrorlanishlarni tanish o’ta aniqlikda emasligidir, ya’ni DNK zanjirida “maqsadga muvofiq bo’lmagan” nukleotidlar ketma-ketligi yoki saytlar kesish sonini ko’payishiga olib keladi. SHu bilan birga bu usul ko’p mehnat va mablag’ talab qilishidir. CHunki har bir DNK ketma-ketligi uchun alohida o’ziga xos optimallashtirilgan “Rux barmoqli” nukleazalar oqsil strukturasi yaratish kerak, ya’ni bu nukleazalar universal emasdir. SHuning uchun “Rux barmoqlari” tizimi keng qo’llanilishi uchun qo’llab-quvvatlanmadi. TALEN (transcription activator-like effectors + nucleases) usuli genomni taxrir qilish uchun yangi instrument hisoblanadi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Epigenomika nima?*
2. *Epigenetik regulatsiya nima?*
3. *DNKning metillanishi nimalar bilan bog'liq?*
4. *Kantserogenez bu?*
5. *Transkripsion faol genlar qanday bo'ladi?*
6. *Transgenlarning o'chirilishi qay tarzda amalga oshadi?*
7. *Genomda nukleosomalardan xoli bo'lgan joylar qanday joylar hisoblanadi?*
8. *H4 bu?*
9. *Gistonlarning modifikatsiyasi bu?*
10. *Interferentsiyasi bu?*
11. *ENCODE qanday loyiha?*

XI. BOB. BIOLOGIK MAKROMOLEKULALARNI VIZUALLASHTIRISHNING ZAMONAVIY USULLARI.

James Watson va Francis Crick tomonidan 1953 yilda DNKning fazoviy tuzilishini kashf qilish va “Nature” jurnalida "Dezoksiribonuklein kislotaning tuzilishi", nomli maqola chop etilgandan beri, zamonaviy tibbiyot va biologiya inson tabiatini tushunish va kasalliklarga tashxis qo'yish va davolashning yangi usullarini ishlab chiqish borasida katta yutuqlarga erishdi. Oxirgi yillarda molekulyar biologiya tadqiqotlarida YaMR, immunofluorescence, mikroskopiya, PZR (polimeraza zanjir reaksiyasi), FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) kabi usullarning qo'llanilishi, sitometriyaning turli usullarida to'qima kulturalar, qon hujayralari va asos hujayralari ajratish va saqlash usullari organizm uchun funksional muhim oqsillarning sintezi, signalizatsiya va metabolik ta'sirlar, tirik hujayralarning strukturalarini o'rganish uchun asos bo'lib xizmai qildi. SHu jumladan elektrofiziologiya sohasida keng qo'llaniladigan “patch clamp” asosida hujayralar kichik guruhning oqimlarini ro'yxatga olish imkonini beruvchi turli modifikatsiyadagi usullar, tutash ion kanallari yoki bitta kanallarning fiziologik xolatlari tadqiqot qilinmoqda. Yuqorida keltirilgan usullar aniq usullar qatoriga mansub bo'lib, ular asosida organizmda kechadigan jarayonlar to'g'risida ma'lumot olish mumkin emas, lekin xali bu ma'lumotlar to'liq shakllangan emas. Oxirgi yillarda olimlar asosiy e'tibori irsiy axborot makromolekulalarining tuzilishi (DNK va RNK), ularning alohida qismlarining vazifasi va birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi strukturalar oqsil makromolekulalari, ularning o'zgaruvchanligi, faolligi, fizik va biologik xususiyatlarini tadqiqot qilishga qaratilgan.

Bioinformatika (hisoblash biologiyasi) - nuklein kislotalarning ketma-ketliklarini o'rganuvchi fan, oqsillardagi DNK/RNK yoki aminokislotalardagi ketma-ketliklar, ularning evolyutsiyasi va yuqorida aytib o'tilgan organizm strukturasini tashkil etuvchi makromolekulalar, elementlar ketma-ketligi va fazoviy tuzilish orasidagi munosabatlar makromolekulalar, ularning fizik xossalari va vazifalarini o'rganadi. Yevropa Bioinformatika instituti olimlarining ta'rifiga ko'ra

bioinformatika kompyuter texnologiyalarining biologik ma'lumotlarini boshqarish va tahlil qilishi tushuniladi. Bu ta'rif bo'yicha, kompyuter va axborot texnologiyalaridan foydalanishni nazarda tutadi, biologik ma'lumotlarni to'plash, tahlil qilish va saqlash. Bioinformatika matematika, informatika va biologiya o'rtasidagi interfeysda matematik modellashtirishni keng qo'llaydi va faqat ish stolida kompyuterlarning hisoblash kuchidan emas, balkim ko'p sonli klaster kompyuterlar majmuasidan katta hajmdagi axborotlarni boshqarish bilan bog'liq masalalarni yechish tizimlaridan iborat. Bioinformatikaning asosiy yo'nalishlari: genlarni ketma-ketligi, evolyutsiya, qidiruv va annotatsiya qilish, genom izohi va dekodlash, ekzon-intron o'zaro ta'sirlar, oqsillarni tasniflash va tavsiflash, qiyosiy genomika va proteomika, oqsil va genom evolyutsiyasi masalalari, filogeniya, strukturaviy biologiya, ixtisoslashgan rivojlanish (differentatsiya) dasturiy paketlar va tarmoq xizmatlari, shuningdek, ba'zi boshqalar.

Bioinformatikada ketma-ketlikni tahlil qilish uchun ishlatiladigan eng muhim usul alignment hisoblanadi. Mavjud juft (pairwise alignment) va bir necha (multiple sequence alignment MSA), mahalliy, global qatorlarini taxrirlash usullari mavjud. Usulning mohiyati shundan ikki yoki undan ortiq ketma-ketliklar bir xil yoki o'xshash bo'limlar va farqlarga ko'ra solishtirish o'tkaziladi. Genlar evolyutsiyasi davomida mutatsiyalar, insertsiyalar yoki deletsiyalar sodir bo'lishi mumkinligi sababli ketma-ketlikda "gaps" qo'shimchalar qo'shishga ruxsat beriladi. Ushbu tadqiqotlar natijasida nukleotidlar yoki aminokislotalar va ularning barcha taqqoslangan ketma-ketliklarda mavjud bo'lgan guruhlarini (motivlarni) aniqlash mumkin. Ya'ni aniq xulosa bilan aytish mumkinki, bu "konservativ" qismlar biologik faol oqsillardagi saytlar evolyutsiya davomida o'zgarmaganligi yoki o'zgarganligi, qarindosh protein yoki DNKlarni aniqlash, o'rganilayotgan ketma-ketlik evolyutsiyasini kuzatishimiz mumkin.

Turli xil oqsillarning yoki DNK larining ketma-ketligini tahlil qilish organizmlardan ajratilgan genlar yoki oqsillarning evolyutsiya yo'nalishi o'rganishga va birinchi paydo bo'lgan vaqtdan oxirgi turdagi faoliyatini tahlil

qilish imkonini beradi. SHunday qilib, MSA yordamida muayyan turning kelib chiqishi va mutatsiyalar chastotasini bilish haqidagi savollarga javob berishingiz mumkin, uning taxminiy yoshini aniqlashingiz mumkin.

Ikkita oqsilni aminokislota ketma-ketligini juftlikda taxrirlash, birida uchlamchi struktura aniq bo'lmasa, birlamchi strukturalarni solishtirish imkoniyati beradi. Taxrirlashning ijobiy natijalarini olinganda, gomologiyalar bo'yicha fikr yuritish mumkin, proteinlarning tuzilishi va funksiyalarining o'xshashligi to'g'risida va fazoviy 3D strukturasini tuzish mumkin. Bunda aminokislotalar ketma-ketligida 40-50% gomologiyaga ega bo'lsa, uchlamchi strukturalarda ular o'xshash bo'ladi va funksiyalari ham o'xshash bo'ladi. Oqsil struktur biologiyasi bioinformatika bir qismi bo'lib, uning uslublarini va matematikadan foydalangan xolda, oqsillarning fazoviy strukturalari bilan bog'liq bo'lgan turli masalalarni yechishda foydalanadi. Bugungi kunda proteinning uchlamchi strukturasini uning biologik funksiyasini begilanishini aniqlangan, shuning uchun oqsilni tashkil qilgan aminokislotalar ketma-ketligidan tashqari, ularning fazoviy tuzilishini bilish katta ahamiyatga ega. Xozirda oqsilning uchlamchi strukturasini aniqlashda ikki xil uslubdan foydalanadi: YaMR (Yadroli magnit rezonansi), va rentgenostruktur tahlil. Bu tadqiqotlardan olingan ma'lumotlar maxsus bankiga kiritiladi: PDB, SRS, SRS3D, SCOP, CATH, PFAM va boshqalar. Ikkala uslubda albatta kamchiliklar mavjud va o'tkazilishi murakkab hisoblanadi. Bioinformatika oqsillarning uchlamchi strukturasini bashorat qilishda va vizualizatsiya qilishda boshqa uslublardan foydalaniladi. Gomologlarni qidirish va modellastirish (homology modeling) kvant mexanikasi va molekulyar dinamika qonunlari asosida bashorat qilish (AB initio prediction) statistik ma'lumotlar asosida ikkilamchi strukturasini bashorat qilish, folding tanish (fold recognition yoki threading) va oxirgisi strukturani taxrirlash (structural alignment) ishlarini amalga oshiradi. Lekin bu uslublar 3D strukturasini aniq bashorat qila olmaydi, chunki turli ma'lumotlar bazasida mavjud bo'lgan noma'lum gomolog strukturasi yoki statistik ishonchga ega bo'lgan bog'lanishlar aminokislotalar ketma-ketliklari o'rtasidagi

bog'lanishlarga asoslangan. Molekulyar dinamika uslublari juda katta hajmdagi hisoblash ishlarini talab qiladi va ko'p yil kerak bo'ladi (AB initio). Eng yaxshi natijalarni bu uslublarni birgalikda olib borish natijasida olish mumkin. Bioinformatika oqsillarning turtlamchi strukturasi to'g'risida ma'lumot bera oladi, ularning ligandlar bilan bog'liqligi to'g'risida (docking) 3D dagi o'zaro tasiridagi molekulalarga asoslangan holda va ularning fizikaviy xususiyatlarini inobatga olib (gidrofoblik, elektrostatistik zaryad, aloxida olingan zanjirlar egiluvchanligi, vodorod bog'larini hosil qilishga qarab) ta'sir joylarini xaqida ma'lumot berish mumkin. Bu kichkina to'liq proteinning faol markaziga tanlanma faollashtirish yoki bloklash bo'yicha molekulalarni modellashtirish mumkin. Bunday modellashtirish yangi dori vositalarini ishlab chiqarishda, ko'p xajmdagi hisoblash ishlari va vaqt resurslarini talab qilinishiga qaramasdan keng qo'llaniladi.

Biologik ma'lumotlarning viziualizatsiyasi intuitiv tasavvurda tushirish hisoblash biologiyasining xal qiluvchi vazifalaridan biri hisoblanadi. Ma'lumki, inson 90% ma'lumotni ko'rish organlari orqali oladi, shuning uchun tadqiqotchilar makromolekulalarni va ular komplekslarini viziualizatsiya qilish oqsil strukturasi fazoviy tuzilishi ularning guruhlarining, oqsil-DNK komplekslari, Oqsil-ligand komplekslari bilan samarali ish olib borishda katta ahamiyatga egadir va maxsus dastur ta'minotlari mavjud bo'lib, ma'lumotlar bankidan kerakli strukturalarni tanlab olishda va tadqiqot qilingan molekulalarni tasvirlab berish yoki guruhlarini tushirish va tahlil qilish uchun tasvirlash xususiyatiga egadir. Xuddi shuningdek, bu paketlar murakkab bo'lmagan animatsiyalarni tuzishda, bir yoki bir nechta uslub asosida molekulalar potentsial energiyasini minimalizatsiyalashda, de novo sharoitida tadqiqot qilingan qismlarni modellashtirishda ya'ni in silico da mutatsiyalar hosil bo'lishi uchun sharoit yaratib berishi, tugunlar hosil bo'lishi, gomologlar rekonstruktsiyasida aminokislotalar radikallarining rotamerlarining o'zgarishi, dokingni amalga oshirishda (retseptor va ligand bog'lanishining bashorat qilinishida) vositalarga ega bo'lib, yangi dori vositalarini loyixalashtirishda katta ahamiyatga egadir. Bugungi kunda bunday

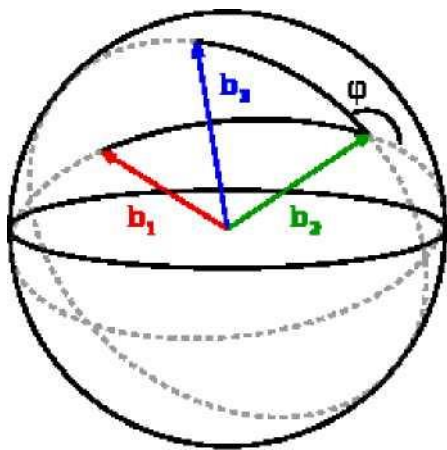
dasturiy ta'minotlarga oqsillarni modellashtirish va vizualizatsiya qilishda Deep View Swiss PDB Viewer (the Swiss Institute of Bioinformatics ishlab chiqqan) Dastur ma'lumotlar ustida bazali operatsiyalar o'tkazish xususiyatiga ega. Dastur GROMACS96 uslubi yordamida molekulalar potentsial energiyasini imkoniyatini hisoblash va minimalizatsiyalash xususiyatiga ega bo'lib, gomologlarni modellashtirishni amalga oshiradi, aminokislotalar ketma- ketligini taxrirlaydi, va oqsil molekulalarining strukturasini taxrirlaydi. Foydalanuvchi polipeptid zanjiri bo'yicha bazali operatsiyalar quya oladi-tugunlar tuzishi, mutatsiyalar hosil qilishi, torzion burchaklar diagrammasi nazoratida zanjir konfiguratsiyasini o'zgartira oladi.

Shu bilan birga, molekulyar biologlar uchun kommertsiya maxsulotlari xam keng ishlatiladi. Molekulyar modellashtirish soxasidagi biri kuchli grafik apparati va tushunarli interfeysga ega bo'lgan dasturlardan biri Accelrys Discovery Studio hisoblanadi. Bu dastur Accelrys Pipeline Pilot Server ga ulanganda kuchli platformaga aylanadi, ko'p imkoniyatlarga ega bo'ladi, oqsillarni konstruktsiyalashda, simulyatsiya qilishda, dinamikada ularning o'zaro ta'sinrlarini o'rganishda QSAR (Quantative structure active relationship kompleks protokollarni o'tkazishda) dasturiy ta'minot oqsillarning turli xil tuzilma darajalaridan tashqari dokingi amalga oshiradi, proteinlar bog'lanish strukturalarini xususiyatlarini, molekulyar dinamika va boshqalardan foydalangan xolda murakkab simultsiyalarni amalga oshiradi. Discovery Studio ning shimoliy qismi NCBI ma'lumotlar bazasiga kirish uchun, yangi imkoniyatlar ochib bermoqda, proteomika, farmakologiya va ketma-ketliklarni tahlili uchun protokollar tadqiqotlar uchun bazalarga kirish imkoniyatlarini yaratgan.

Oqsillarning strukturasini va xususiyatlarini in silico sharoitida o'rganish

In silico-bu biologik tajribani kompyuter simulyatsiyasi sharoitida olib borish tushuniladi. Bu ibora biologiyada tez-tez ishlatiladigan in vivo (tirik organizmda) va in vitro (shisha ichida) iboralari bilan taqqoslanganda, atama *silicio* — "kremniy" lotincha ifodaga o'xshash, chunki yarimo'tkazgich material sifatida

kremniy kompyuter texnikasi ishlab chiqarishda muhim rol o'ynaydi. In silico ifodasi birinchi marta Los Alamos, Nyu-Meksikada bo'lib o'tgan, "Otomata: nazariyasi va ilovalar" seminarida 1989 yilda joriy etildi. Meksika Milliy avtonom universitetining matematigi Pedro Miramontes "DNK va RNK fizik xususiyatlari va molekulyar evolyutsiya" hisobotini taqdim etdi. Miramontes o'z ma'ruzasida "in silico" iborasini butunlay kompyuterda bajarilgan biologik tajribalar uchun ishlatgan. Bu asar keyinchalik uning dissertatsiyasi asosini tashkil etgan. In silikoda Yevropa Ittifoqi komissiyasi tomonidan bakterial genomlarni o'rganish bo'yicha dasturlar yaratilishini qo'llab maqolalarda yoritilgan.



65-rasm Ikki qirrali burchak

Vizualizatsiya lotin tilidan, visualis raqamli axborot yoki fizik hodisalarni vizual kuzatish va tahlil qilish uchun qulay bo'lgan shaklda ifodalash metodlarining umumiy nomi hisoblanadi.

Ikki qirrali burchak-bitta to'g'ri chiziqdan nurlanuvchi ikki yarim tekislik hamda bu yarim tekisliklar bilan chegaralangan fazoning bir qismi bilan hosil qilingan fazoviy geometrik shaklidir.

Yarim tekisliklar ikki qirrali burchakning yuzalari deyiladi va ularning umumiy to'g'ri chizig'i qirra deyiladi.

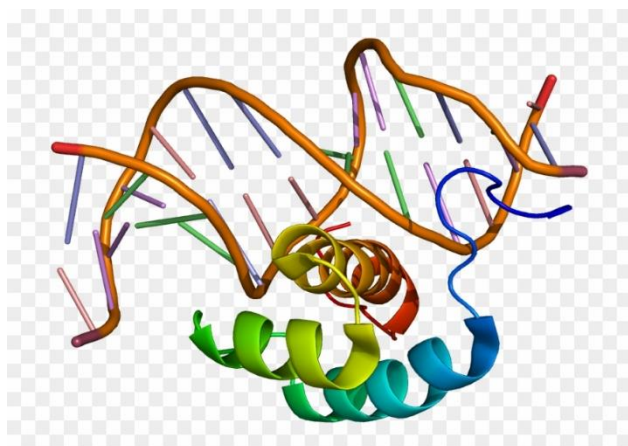
To'g'ri qirralilarning ikki qirralarini ko'rsatkichlari

<i>Nomlanishi</i>	Radianalarda aniq ikki qirrali burchaklar	Taxminiy Graduslar birliklari
<u><i>Tetraedr</i></u>	$\arccos(1/3)$	70.53°
<u><i>Geksaedr yoki kub</i></u>	$n/2$	$90^\circ(\text{aniq})$
<u><i>Oktaedr</i></u>	$n - \arccos(1/3)$	109.47°
<u><i>Dodekaedr</i></u>	$2\arctg(9)$	116.56°
<u><i>Ikosaedr</i></u>	$2\arctg(9 + 1)$	138.19°

Polipeptid birlamchi strukturasi uchlamchi strukturaga o'tishi

Har bir oqsil molekulasini aminokislotalarining chiziqli zanjiri sifatida mRNK ketma-ketligidan translyatsiya jarayonida polipeptid sifatida shakllana boshlaydi. Polipeptid barqaror uch o'lchamli tuzilishga ega emas. Biroq, zanjirdagi barcha aminokislotalar muayyan kimyoviy xususiyatlarga ega: gidrofob, gidrofil va elektr zaryadi. Aminokislotalar bir-biri va hujayraviy muhit bilan o'zaro ta'sirlashganda yaxshi aniqlangan uch o'lchamli struktura-konformatsiya olinadi. Natijada oqsil globulining tashqi yuzasida, shuningdek oqsillarning subbirliklarining bir-biri bilan va biologik membranalar bilan aloqa qilish joylarida faol markazlarning bo'shliqlari hosil bo'ladi. Kamdan-kam hollarda ikkita oqsil konformatsiyasi (konformerlar deb ataladi) bir vaqtning o'zida bir hil bo'lishi mumkin. Ular juda farq qilishi va hatto turli funksiyalarni bajarishi mumkin. Buning uchun oqsil molekulasining fazoviy fazasining turli mintaqalarida taxminan teng energiyali ikki holati kuzatiladi, ularning har biri tegishli ehtimollik bilan ro'y berishi zarur. Hujayradagi ko'pgina oqsillarning uchlamchi strukturasi barqarorlashtirish uchun posttranslatsion modifikatsiyalarga duch kelinadi. Polipeptid zanjirining yaqin ketma-ketliklari orasida disulfid ko'priklar juda keng tarqalgan.

To'g'ri uch o'lchamli tuzilish oqsillarning funksiyasi uchun juda muhimdir. Struktur xatolar odatda turli xususiyatlarga ega bo'lmagan oqsilning shakllanishiga olib keladi. Ba'zi kasalliklar hujayralarda noto'g'ri strukturali oqsillarning to'planishidan kelib chiqadi. Proteinning uch o'lchamli tuzilishini eksperimental aniqlash ko'pincha juda qiyin va qimmatga tushadi. Biroq, ko'pgina oqsillarning aminokislotalar ketma-ketligi odatda bugungi kunda aniqlangan. Shuning uchun



66-rasm. Oqsil strukturasi fazoviy tuzilishi

olimlar oqsilning fazoviy tuzilishini uning aminokislotalar ketma-ketligidan bashorat qilish uchun turli biofizik usullardan foydalanishga harakat qilishmoqda.

Ketma-ketlik tuzilishi-bu ketma-ketliklarda o'xshash saytlami ko'rish oson bo'lgan tarzda DNK, RNK yoki oqsil monomerlarining ikki yoki undan ortiq ketma-ketligini aniqlashga asoslangan bioinformatik usul hisoblanadi. Ikki molekulaning birlamchi strukturalarining o'xshashligi ularning funktsional, strukturaviy yoki evolyutsion munosabatlarini aks ettirishi mumkin (66-rasm). Nukleotidlar yoki aminokislotalar asoslarining mos ketma-ketliklari odatda matritsa qatorlari sifatida ifodalanadi. Shu yoki shunga o'xshash elementlar matritsaning ketma-ket ustunlarida joylashishi uchun asoslar orasiga bo'shliqlar qo'shiladi.

Ketma-ketlik algoritmlari uchun NLP- *NonLinear Programming* dasturi ishlatiladi. Tadqiqot natijasida ketma-ketliklar matritsa qatorlarida shunday joylashganki, mos keluvchi elementlar (nukleotidlar yoki aminokislotalar) bir-birining ostida (bir xil ustunda) joylashadi. Tadqiqot qilinayotgan DNK ketma-ketligidagi uzilish yo'ki bo'shliq, yo'ki aniqlanmagan DNK qismi inglizcha " gap "dan deb ataluvchi belgisi bilan almashtiriladi va indelni, ya'ni mumkin bo'lgan insersiya yoki delesiya joyini ko'rsatadi.

Matnni ifodalash. Matnni ko'rsatish uchun FASTA formatida, ketma-ketliklar bo'shliqlar- gap bilan yozilganda bir xil uzunlikka ega bo'lish mumkin. Yozuvning bu turi ko'pincha dasturlar tomonidan qo'llaniladi va mashinani qayta ishlash uchun qulaydir. Unda ketma-ketliklar bir-birining ostiga yoziladi va ular orasidagi qatorda turli belgilar aminokislotalar orasidagi turli munosabatlarni ko'rsatadi.

Grafik tasvirlash. Grafik tasvirlash imkon qadar ko'rgazmalilikka qaratilgan. Ketma-ketliklarni bir-birining ostiga joylashtirish ham keng tarqalgan, lekin har xil ketma-ketliklardan aminokislotalar orasidagi munosabat turi rang bilan ko'rsatilgan. Har bir aminokislota ranglaydigan "Zappo" va "Clustal" dasturlarda olib boriladi, bu dasturlarda aminokislotalarning xususiyatlariga asoslangan ranglar mavjud bo'lib, ular aminokislotalarning bir xil xususiyatlariga ega bo'lgan ustunlarini

ranglaydi. Identifikatorlar ba'zi ranglar ustundagi aminokislotalarning identifikatsiyasi va konservativligini ko'rsatish imkonini beradi. Aminokislotalarning gidrofob darajasini ko'rsatuvchi ranglar ham mavjud.

Nuqta matrix. Odatda bakterial genomlarning uzun ketma – ketliklari uchun ishlatiladi. Ikkala ketma-ketlikning koordinatalari o'qlar bo'ylab joylashtiriladi va ularning gomologiyasi segmentlar bo'yicha ko'rsatiladi. Shunday qilib, bir xil ketma-ketlikdagi nuqta matritsasi kvadratning diagonaliga o'xshaydi. Bu usul inversiyalar, duplikasiyalar va translokasiyalarni kuzatish imkonini beradi.

Global va mahalliy alignmentlarni solishtirish

Global va mahalliy alignmentlar o'rtasidagi farqni ko'rsatish uchun qo'yidagi misolni ko'rib chiqishimiz mumkin. A va B ketma-ketliklarni olib, ular uchun global va mahalliy algoritm quraylik. Ketma-ketlik markaziy gomolog qismiga kiritilgan, va gomologlarni aniqlash imkonini beradi.

Global algoritm har ikki ketma-ketliklar to'liq uzunligidan foydalanadi, va gomolog ketma-ketliklarni butun uzunligi bo'ylab tekshirish uchun foydalanish mumkin.

Biroq, agar ketma-ketliklar gomologning bir nechta qismlariga ega bo'lsa, bu qismlarni yaxshi aniqlash har doim ham mumkin bo'lmaydi. Yuqoridagi misolda, algoritm uchun to'rtta mos keladigan aminokislotalar ko'rsatilagan, shuning uchun gomologiyaning uzoq qismi ko'rinmaydi. Shunga asoslanib, ketma-ketliklar butunlay gomologik emas deb taxmin qilish mumkin.

Mahalliy algoritm yordamida maksimal gomologiyaga ega bo'lgan ketma-ketliklar bashorat qilinadi. Ketma-ketliklar faqat ayrim qismlari o'xshash bo'lsa, u mukammal, bunday rekombinatsiya yoki konvergent evolyutsiya davomida kelib chiqqan va har doim past o'xshashlik bor kichik qismlar bilan ishlashda ehtiyot bo'lish kerak, ayniqsa, uzun ketma-ketliklar taxrirlanganda, ularda tasodifiy o'xshash maydonlari ortadi.

Biroq, mahalliy ketma-ketliklar har doim ketma-ketlikning kerakli qismini o'z ichiga olmasligi mumkin.

Qidiruv algoritmi. Ular belgilangan mezonlar bo'yicha ma'lum belgilangan ketma-ketlikka o'xshash ketma-ketliklar uchun katta ma'lumotlar bazalarini qidirish uchun ishlatiladi. Qidiruv tezligini oshirish uchun turli xil usullar qo'llaniladi. Eng mashhur dasturlari BLAST va Fasta3x.

Bir nechta algoritm. Bir necha algoritm uch yoki undan ko'p ketma-ketliklar algoritmi hisoblanadi. Gomologik ketma-ketliklar to'plamida konservativ bo'limlarni topish uchun ishlatiladi. Ko'p hollarda, bir necha alignmentlarni qurish filogenetik daraxtlarni rekonstruktsiya zaruriyatida ishlatiladi. Dinamik programmalash yordamida optimal bir nechta o'xshashlikni topish juda ko'p vaqt talab qiladi va murakkab jarayon hosoblanadi, shuning uchun bir nechta alignmentlar turli xarakteristikaga asoslangan. Bir nechta alignmentlarni bajaruvchi eng mashhur dasturlar CLASTAL, T-COFFEE, MAFFT.

Oqsil molekulalarning ikkilamchi va uchlamchi fazoviy tuzilishi haqidagi ma'lumotlardan foydalanib oqsillar strukturasini tuzishda ribonuklein kislotalardan foydalanish mumkin. Maqsad fazoda teng yig'ilgan bo'laklarni topish va taqqoslash orqali ikki va undan ortiq strukturalar gomologiyasini tuzishga harakat qilishdir. Strukturaviy moslashuv odatda ustma-ust keluvchi tuzilmalar, ya'ni ularni berilgan molekulalarga eng yaxshi moslashtiruvchi fazoviy harakatlarni topish bilan birga olib boriladi. Lekin ikki tuzilmalar aminokislotalar qoldiqlari ma'lum taqqoslash bilan oddiy fazoviy strukturasidan farqli o'laroq, tarkibiy ketma-ketlik algoritmlar odatda natija ketma-ketlik bilim talab qilmaydi. Turli tizimli dasturlari asoslangan algoritmlari bor. Fazoviy alignments tarkibiy Genomika va proteomika ma'lumotlarni tahlil qilish uchun, ayniqsa, muhim ahamiyatga ega, va ular ham ketma-ketliklarni taqqoslab olingan alignments baholash uchun foydalanish mumkin.

Tarkibiy hizalama muvaffaqiyatli evolyutsion munosabatlar standart natija algoritm usullari bilan tashkil etilishi mumkin emas qachon natija gomologiya past darajada bilan oqsillarni solishtirish uchun ishlatiladi, lekin bu holda u hisobga

konvergent evolyutsiya ta'sirini olish zarur, asosiy ta'siri bog'liq bo'lmagan amino kislotalar ketliklar uchlamchi tuzilmalar o'xshashlik ko'rsatilgan.

Fazoviy algoritm rentgen difraksionstrukturtahlil va YaMR spektroskopiya foydalanish asoslangan eksperimental ishlab chiqarish ma'lum uch o'lchovli tuzilmalar bilan ikki yoki undan ko'p molekulalarni solishtirish imkonini beradi. Fazoviy algoritm uchun, siz ham protein tuzilishi bashorat usullari bilan olingan tuzilmalarni foydalanishingiz mumkin. Bundan tashqari, bunday bashoratlarning sifatini baholash ko'pincha yaratilgan model va oqsil strukturasi fazoviy moslashuvidan foydalanishga asoslangan bo'lib, uning uchlamchi strukturasi bevosita tajribadan olinadi. Turli oqsil molekulalarining uch o'lchamli strukturalarini tahlil qilish uchun kichik burchakli rentgen sochilishidan foydalanish haqida ham ma'lumotlar mavjud.

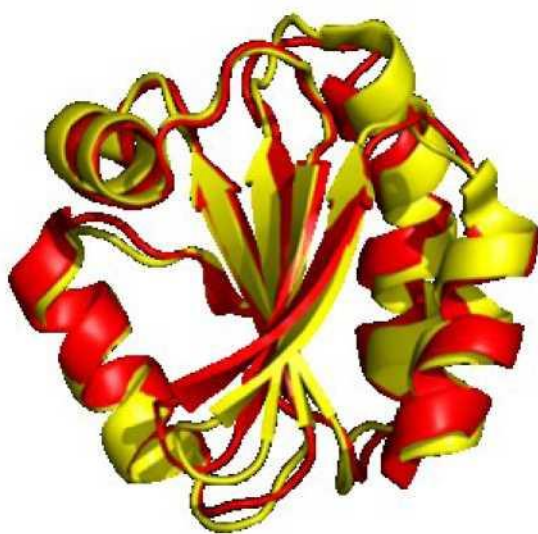
Taqqoslash turi. Tizimli algoritm dasturlari natijasi odatda atom koordinatalari to'plamlarining kombinatsiyasi hisoblanadi. Ko'pincha bunday taqqoslashni qidirishda natija moslash algoritmi minimallashtirishga harakat qiladigan strukturalar orasidagi eng kichik standart og'ish funksiyasi qiymatidan kelib chiqib baholanadi.

Biroq, rmsd algoritmi tuzilmalar fazoviy farq bir daraja sifatida kamchiliklari bir qator bor: outliers uchun beqarorlik va oqsillar tarkibida bir necha domenlar mavjudligi, ikki tuzilmalar o'rtasidagi bu domenlar nisbiy holatda o'zgarishlar sun'iy rmsd qiymatini o'zgartirish mumkin.

Strukturaviy algoritm yaratish va tegishli RMSD qiymatlarini hisoblash uchun oqsil molekulasidagi barcha atomlar va ularning quyi qismlaridan foydalanish mumkin. Masalan, aminokislota qoldiqlarining yon radikallaridagi atomlar har doim ham hisobga olinmaydi va faqat molekulaning peptid kiritilgan atomlarni moslashtirish uchun ishlatish mumkin. Agar tuzilmalar juda ko'p turli xil aminokislotalar ketma-ketligiga ega bo'lsa va yon radikallar ko'plab qoldiqlarda farq qilsa, bu variant tanlanadi. SHuning uchun, soddalashtirish va samaradorlik uchun faqat alfa uglerod atomlarining pozitsiyasi tez-tez ishlatiladi, chunki ularning

pozitsiyasi polipeptid atomlarining pozitsiyasini aniq belgilaydi. Faqat juda o'xshash yoki hatto bir xil tuzilmalarni tekislashda yon zanjir atomlarining pozitsiyalarini hisobga olish muhimdir. Bu holda RMSD nafaqat oqsil o'zagi konformatsiyasining o'xshashligini, balki yon zanjirlarning rotamerik holatlarini ham aks ettiradi.

Usullari. DAMM. Strukturaviy moslashuvning eng ommabop usullaridan biri DAMM (inglizcha distansion alignment matrix usuli-distansion alignmentlar matritsasidan foydalanish usuli) hisoblanadi. Asl protein tuzilmalari geksapeptidlarga bo'linadi va masofa matritsasi parchalar orasidagi ta'sirlarni baholash orqali hisoblanadi. Qoldiqlar ketma-ketlikda tutashgan ikkilamchi struktura elementlari matritsaning asosiy diagonalida joylashgan; matritsaning boshqa diagonallari ketma-ketlikda bir-biri bilan yonma-yon bo'lmagan qoldiqlar



69-rasm. Makromolekulalarni modellashtirish

orasidagi fazoviy aloqalarni aks ettiradi. Ikki oqsilning masofa matritsalarini taxminan bir xil yoki o'xshash elementlarga ega bo'lsa, biz oqsillarning o'xshash stacking va ularning ikkilamchi tuzilish elementlari taxminan bir xil uzunlikdagi looplar bilan bog'langan deb aytishimiz mumkin. Kombinatorial uzatma usuli DALI ga o'xshash bo'lib, u ham har bir strukturani bo'laklar qatoriga ajratadi va u keyinchalik to'liq moslamaga qayta o'rnatishga harakat qiladi. AFP inglizcha:

nomlangan fragmentlarning bir qator pairwise kombinatsiyalari oxirgi moslamani aniqlash uchun optimal o'xshashlik matritsasini aniqlash uchun ishlatiladi.

Alignmentga mos keluvchi keyingi mumkin bo'lgan yuqori AFP ning alignmentini cho'zuvchi ketma-ketliklar orqali chiziqli o'tish yordamida o'xshashlik matritsasi orqali optimal hisoblanadi. Faqat belgilangan mahalliy

o'xshashlik mezonlariga javob beradigan AFP lar matritsaga kiritilgan bo'lib, u kerakli qidiruv maydonini kamaytiradi va samaradorlikni oshiradi.

Makromolekulalar modellashtirishda Modeller dasturining qo'llanilishi

Modeller - kompyuter dasturi bo'lib, oqsillarning uchlamchi strukturasini modellashtiradi va ularning fazoviy strukturasini quradi. Oqsil strukturasining gomologik va tahliliy modelini ishlab chiqadigan dastur hisoblanadi.

RasWin dasturining 3D molekulalarni namoyish etishda ishlatilishi. Bu dasturni erkin holda, Internetda yuklab olish mumkin. RasWin molekulalar tasvirini .pdb. formatida korish imkonini beradi. Bunday formatdagi fayllarni Protein data Base ma'lumotlar bazasidan topish mumkin.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *In silico-bu?*
2. *In vivo qanday jarayon?*
3. *In vitro bu?*
4. *Vizualizatsiya bu?*
5. *FASTA nima?*
6. *NLP nima?*
7. *GROMACS96 qanday uslub?*
8. *SRS3D qanday bank?*
9. *“Patch clamp” bu?*
10. *Qidiruv algoritmi qanday amalga oshiriladi?*
11. *T-COFFEE qanday dastur?*
12. *CLUSTAL bu?*
13. *DAMM* *bu?*

XII. BOB. MOLEKULAR BIOLOGIK JARAYONLAR VA ULAR TAHLILI

Ma'lumki, organizmda juda ko'plab molekulyar biologik jarayonlar o'tadi. Proteoliz — peptidilglutamil fermentlari yoki proteazalar bilan katalizlanadigan oqsillarning gidroliz jarayoni. Proteoliz organizmdagi quyidagi jarayonlarda katta rol o'ynaydi: oshqozon va ingichka ichakda ovqat hazm qilish fermentlarining ta'siri tufayli oziq-ovqat oqsillarini aminokislotalarga parchalash; moddalar almashinuvi jarayonida organizmda oqsillarining sintezini amalga oshirish; fermentlarni, gormonlarni va biologik faol peptidlarni ularning faol bo'lmagan progormonlardan shakllantirish; o'simliklarda proteoliz unib chiqish vaqtida zaxira urug' oqsillarini safarbar qilishda ishtirok etadi. Proteolitik fermentlarning ta'sirini ikki toifaga bo'lish mumkin: cheklangan proteoliz, unda proteaza fermenti oqsil tarkibidagi bir yoki bir nechta peptid bog'larini parchalaydi, bu odatda funktsional holatning o'zgarishiga olib keladi: masalan, fermentlar faollashadi va progormonlar gormonlarga aylanadi; cheksiz, yoki umumiy proteoliz, unda oqsillar alohida aminokislotalarga bo'linadi. Substrat molekulalariga ta'sir etishiga ko'ra proteolitik fermentlar endopeptidazalar va ekzopeptidazalar bo'linadi: endopeptidazalar yoki proteinazalar peptid zanjiri ichidagi peptid bog'larini parchalaydi. Ular organizm va substratlar tarkibidagi peptid tarkibidagi aminokislotalarning ketma-ketligining qoldiqlari o'rtasidagi bog'larni gidroliz qilishda ishtirok etadi. Ekzopeptidazalar zanjirning uchidagi aminopeptidazalar-N- uchidan, karboksipeptidazalar-C-uchidan aminokislotalarni gidrolizlaydi. Proteazalar kataliz mexanizmi turiga ko'ra ham tasniflanadi. Xalqaro biokimyo va molekulyar biologiya ittifoqi bir necha proteaza sinflariga tasnif berishgan, shu jumladan:

- Serine proteases - serin proteazalar
- Aspartic proteases - aspartate proteazalar
- Cysteine proteases - sistein proteazalar
- Metalloprotease-metallproteazalar

Chegaralangan proteoliz-oqsil molekulasidagi bir yoki bir necha peptid bog'larning proteaza fermenti yordamida ajralishi jarayoni tushsuniladi. Cheklangan

proteoliz tartibga soluvchi posttranslational modifikatsiyalardan biridir. Cheklangan proteoliz fermentativ faoliyat bo'lib, boshqa oqsillarni bog'lash qobiliyati va hujayra ichidagi joylashgan oqsil xususiyatlarini o'zgartirishi mumkin.

Cheklangan proteolizga misollar. Cheklangan proteoliz turli maqsadlar uchun hujayra tomonidan ishlatilishi mumkin: hujayra ichidagi oqsillarni tashish paytida N-va C-terminal signal ketma-ketliklarini ajratish uchun; uchlamchi tuzilishining (proinsulin C-peptid) hosil bo'lishida yordam beradi, yani polipeptid zanjirining yordamchi qismini olib tashlash uchun; ferment faol markazlarini faollashtirish uchun- ovqat hazm qilish fermentlari, qon ivishi proteazalari; oqsil joylarining o'zgarishi- ba'zi sytoplasma oqsillari cheklangan proteolizni o'tgandan so'ng, yadroga o'tishi: SREBP, [NF-kB](#), YB-1, progormonlardan fiziologik faol oligopeptidlarning hosil bo'lishi- endorfin, adrenokortikotrop gormon, α - va γ -melanotsit gormonlar va boshqa fiziologik faol peptidlar hosil qilish uchun, proopiomelanokortinning ajralishi; domenlar odatda bir-biri difteriyatoksini, hujayra proliferatsiya omili HCF-1 shakllantirish omillari bilan aloqada bo'ladi, oqsil domenlar o'rtasida bog'lar hosil bo'lishi; bir nechta oqsil izoformalarini olish uchun- STAT5 va STAT6 oqsillarining cheklangan proteolizi transkripsiyani faollashtiradigan domenlardan mahrum bo'lgan izoformalarining shakllanishiga olib keladi. Ushbu jarayonlarni kompyuter modellashda SPLEN-K, COSMOS/M, ANSYS dasturlaridan foydalaniladi.

Sinaptik uzatish - neurotransmissiya deb ham ataladi — nerv impulslarining tarqalishi oqibatida sinapslarda elektr harakatlarini yuzaga keltiradi. Har bir nerv hujayrasi presinaptik neyrondan yoki postsinaptik neyrondan yoki ikkilamchi neyronning dendridlaridan neurotransmitterni oladi va jarayonni takrorlaydigan bir necha neyronlarga yuboradi, shuning uchun impuls to'liqini ma'lum bir organ yoki muayyan neyronlar guruhiga yetib borguncha tarqaladi.

Signallarning tarqalishi uchun nerv impulsari zarur. Ushbu signallar markaziy asab tizimidan efferent va afferent neyronlar orqali silliq, skelet va yurak mushaklari, bez sekretsiyasi va sut emizuvchilar kabi ko'p hujayrali umurtqali

hayvonlarning yashashi uchun muhim organ vazifasini muvofiqlashtirish uchun yuboriladi.

Neyronlar nerv impulsleri o'tadigan neyron tarmoqlarini hosil qiladi. Har bir neyron boshqa neyronlar bilan kamida 15,000 tarmoqlar hosil qiladi. Neyronlar bir-biriga tegmaydi; ular sinapslar deb ataladigan aloqa nuqtalarini hosil qiladi. Neyronlar axborotni nerv impulsi yordamida uzatadi. Neyronning impulsi sinapsga yetganda, u boshqa hujayralarga ta'sir qiluvchi mediatorlarni sintez qilishga va ingibitsiyasiga yoki qo'zg'alishga olib keladi. Keyingi neyron boshqa ko'plab neyronlar bilan bog'lanishi mumkin va agar hayajonlantiruvchi jarayonlar tushkunlikka tushib qolsa, akson bazasida harakat potentsiali ishlab chiqiladi va shu tariqa axborotni keyingi neyronga uzatib, xotira yoki harakatga olib keladi.

Sun'iy neyron (macculloch-Pitts matematik neyron, formal neyron) – tabiiy neyronning soddalashtirilgan modeli bo'lgan sun'iy neyron tarmog'ining tuguni hisoblanadi. Matematik jihatdan sun'iy neyron odatda bitta argumentning chiziqli bo'lmagan funksiyasi — barcha kirish signallarining chiziqli kombinatsiyasi sifatida namoyon bo'ladi. Bu funksiyaga aktivatsiya funksiyasi yoki aktuatsiya uzatish funksiyasi deyiladi.

Sun'iy neyronlar tarmoqlarda ulanadi-ba'zi neyronlarning chiqishlarini boshqalarning kirishlari bilan bog'laydi. Sun'iy neyronlar va tarmoqlar ideal neyrokompyuterning asosiy elementlari hisoblanadi.

Biologik prototip. Biologik neyron diametri 3 dan 100 mikrongacha bo'lgan, o'z ichiga yadro (yadro teshiklari ko'p bo'lgan) va boshqa organellalar, jumladan, faol ribosomalar, Golji apparatlari bilan yuqori darajada rivojlangan dagal endoplazmatik retikulum organoidlarini va molukulyar jarayonlarni o'z ichiga olgan organizmdan iborat. Jarayonlarning ikki turi mavjud. Akson bir tarmoqli bo'lib, odatda neyron tanasida qo'zg'alishni o'tkazish uchun moslashgan uzun nerv uchidir. Dendritlar odatda qisqa va yuqori shoxlangan bo'lib, ular neyronga ta'sir etuvchi qo'zg'aluvchan va ingibitor sinapslar hosil bo'lishining asosiy joyi bo'lib xizmat qiladi- turli neyronlar akson va dendritlar uzunligining turlicha nisbatiga ega boladi.

Neyron bir nechta dendritlarga va odatda faqat bitta aksonga ega bo'lishi mumkin. Bitta neyron 20,000 boshqa neyronlarga ulanishi mumkin. Inson kontekstida 80 milliard neyron mavjud.

Rivojlanish tarixi. Sun'iy neyronning birinchi matematik modelini W. McCulloch va W. Pitts tomonidan tarmoq modeli sifatida taklif etishdi. Mualliflar tarmoqning bunday elementlar bo'yicha sonli va mantiqiy operatsiyalarni bajara olishini ko'rsatishgan. Amalda, tarmoq Frank Rosenblatt tomonidan kompyuter dasturi yordamida 1958 - yilda oshirgan. Dastlab neyron faqat mantiqiy nol va mantiqiy birlik signallari bilan ishlashi mumkin edi, chunki u biologik prototip asosida qurilgan bo'lib, faqat ikki holatda — hayajonlangan yoki hayajonlanmagan holatlarni aks ettirgan. Neyron tarmoqlarining rivojlanishi shuni ko'rsatdiki, ularni qo'llash doirasini kengaytirish uchun neyron nafaqat binar, balki uzluksiz (analog) signallar bilan ham ishlay olishi zarur. Neyron modelining bu umumlashmasi Widrow va Hoff tomonidan tuzilgan bo'lib, u logistik egri chiziqdan neyron aktivlanish funksiyasi sifatida foydalanishni taklif qilgan.

Sun'iy neyronlar orasidagi bog'lanishlar

Ba'zi neyronlarning chiqish signallari boshqalarning kirishiga keladigan bog'lanishlar ko'pincha biologik neyronlar orasidagi bog'lanishlarga o'xshash sinapslar deb ataladi. Har bir bog'lanish o'z og'irligi bilan ajralib turadi. Musbat og'irlikka ega bo'lgan bog'lanishlar qo'zg'aluvchan, manfiy og'irlikka ega bo'lgan bog'lanishlar esa ingibitor deyiladi. Neyron bitta chiqishi bor, ko'pincha biologik prototipga o'xshatib akson deb ataladi. Neyronning bitta chiqishidan boshqa neyronlarning har qanday kirishiga signal yuborish mumkin.

Molekulyar jarayonlarni modellastirishda AutoDock dasturining ishlatilishi. Doking- dorivor vositalarni kompyuterda modellashtirish jarayonining asosiy va muhim bosqichlaridan biri bo'lib, asosiy vazifasi ligand molekulasini kompleksi biologik faol moddan va reseptor molekulasini bionishonning strukturasini modelini qurish hisoblanadi. Reseptor molekulasini oqsil molekulasini bo'lib, ligand molekulasini kichik hajmga ega bo'ladi. Kam hollarda oqsil-oqsil doking munosabatlari uchrab

turadi. Molekulyar doking bir yoki bir necha molekulalardan tuzilgan molekulalar aro kompleks strukturasi bashorat qiladi. Doking vaqtida reseptor va ligand molekulalar orasidagi konformasion harakatchanlikni hisobga olish zarur bo'ladi. AutoDock dasturi qo'yidagidalarda qo'llaniladi:

1. Rentgen kristallografiyasida
2. Dorivor vositalarga nomzod strukturalar dizaynida
3. Optimazasiyani o'tkazishda
4. Virtual skriningda (HTS)
5. Kombinator kutubhonalar dizaynida
6. Oqsil-oqsil o'zarota'sirlari
7. Kimyoviy tadqiqotlar mehanizmlari.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar:

1. *Proteoliz bu?*
2. *Cheklangan proteoliz qanday ko'rinishda bo'ladi?*
3. *Biologik prototip bu?*
4. *Sinapslar nima?*
5. *Signal qanday hosil bo'ladi?*

XIII. BOB. KARTALASHTIRISH DASTURLARI, GENLARNING FILOGENETIK SHAJARALARINI O'RGANISH

Genetik xarita-strukturaviy genlar, boshqaruvchi gen qismlari va genetik markerlarning nisbiy joylashuvi hamda ular orasidagi nisbiy masofalarning xromosoma (birikish guruhlari) bo'yicha diagrammasidir. Genetik xaritalarni tuzish usuli genetik xaritalash deb ataladi.

Genetik xaritalash tarixi. Dastlab xromosomalarda genlarning o'zaro joylashishi ular orasidagi crossingover chastotasi bilan aniqlandi. Birinchi marta xromosomalarning genetik xaritalarini bu uslubda tuzish imkoniyati 1913-1915 yillarda T. Morgan, A. Stertevant va Morganning laboratoriyasi hodimlari tomonidan genlarni birikish va crossingover hodisalariga asoslangan holda eksperimental usulda ishlab chiqildi. Ushbu tarihiy sanadan boshlab, genetik masofa odatda santimorgan-yoki santimorganidlar, sM sifatida o'lchanadi, 1 sM 1% larda crossingover chastotasiga mos keladi.

Genetik xarita ishlab chiqilgan birinchi organizm qorin qismi qora rangli *Drosophila melanogaster* pashshasi bo'lgan. Keyingi bosqichda boshqa turlar uchun genetik xaritalash amalga oshirildi. SHunday qilib, genetik xarita ishlab chiqilgan birinchi qush va birinchi xayvon uy tovug'i hisoblanadi. Uy tovug'ining birinchi genetik xaritasini ishlab chiqqan va 1930 yilda uni nasr etgan olimlar A. S. Serebrovskiy va S. G. Petrovga tegishli edi.

Xaritalashning dasturiy turlari

BFAST. Ingiliz abbreviaturasida *Blat-like Fast Accurate Search Tool*. Dasturni ishlab chiqqanlar, SNP va indellarga (insertsiya + deletsiya) xatoliklariga nisbatan ta'sirchanlikni xisobga olishgan, o'tkazilgan tajriba va aniqlik o'rtasidagi balans tanlanadi.

Juftlashgan uchlarning sekvenirlanishi amalga oshiriladi. Tajriba oxirida taxrirlash uchun Smita-Vateman algoritmidan foydalanadi. Parallel rejimda klasterda ishlay oladi. Dasturning bfast+bwa versiyasi mavjud. Illumina, ABI SOLiD 454, Helicos formatlariga ega.

BWA. BWA (biologik ketma-ketliklarni taxrirlaydi) — dastur uch komplektdan iborat: BWA-backtrack, BWA-SW va BWA-MEM. BWA-backtrack 100 juft nukleotidgacha o'qiy oladi, BWA-SW va BWA-MEM 70 dan 1 mln.gacha bo'lgan uzun nukleotid qatorlarini o'qiydi. BWA-MEM dasturning oxirgi versiyasi aniq va sifatli ishlab chiqilgan. BWA-SW va BWA-MEM ximerli ketma-ketliklarni topa oladi.

BWA-SW, Barrouza—Uiler qayta qurishlarini Smit—Vateman taxriri orqali foydalanadi. Uzun ketma-ketliklar bilan ishlay oladi, BLAST ga nisbatan aniq va tezroq ishlaydi.

ELAND. Efficient Local Alignment of Nucleotide Data ni anglatadi. Solexa kompaniyasi tomonidan ishlab chiqilgan keyinchalik Illumina sotib olgan. paired-end - o'qishlardan foydalanadi, struktur variantlarni topa oladi, 32 juft nukleotid uzunligigacha o'qiy oladi, nukleotid ketma-ketligida 2 ta farqga yo'l qo'yadi, lekin indellar (insertsiya + deletsiya) bilan ishlay olmaydi.

MAQ. Geplarsiz (gap inglizcha “gap” dan olingan bo'lib, indel ya'ni qo'shimcha nukleotid yoki deletsyani bildiradi, bo'shliqlar “-” beligi bilan belgilanadi) taxrirlaydi. single-end - ketma-ketliklarni o'qishda 3 hil farqlarni topa oladi, paired-end - ketma-ketliklarni o'qishda 1 farqlarga yo'l qo'yadi. Statistik model asosida konsensus quradi.

SHRiMP. SHRiMP2 dasturi yuqori aniqlikka qaratilgan, polimorfizimli qatorlarning taxirini o'tkazadi va sekvenirlash xatoliklarini aniqlaydi. Smit-Vateman algoritmidan foydalanadi, 1 versiyasi ketma-ketliklarni o'qishni, 2 versiyasi esa genomni indeksatsiya qilishda foydalaniladi, shunga ko'ra katta tezlikka ega. Illumina/Solexa, Roche/454 i AB/SOLiD kompaniyalari tomonidan ketma-ketliklarni o'qishda va va parallel ravishda hisoblash ishlarini olib borishda qo'llaniladi.

SOAP. single-read va pair-end fragmentlarining taxirini bajaradi va asosan intronlarni aniqlashda qo'llaniladi. 2way-BWT (2BWT) indeksini ishlatish qobiliyatiga ega. SOAP3 versiyasi GPU bilan ishlashga optimallashtirilgan va maxsus GPU-2BWT indeksidan foydalanadi.

TopHat. RNA-seq taxrirlarini o'qishga moslashgan, Bowtie bazasi asosida ishlab chiqilgan. Illumina Genome Analyzer tomonidan ishlab chiqilgan va boshqa dasturlar tomonidan ishlangan taxrirlar bilan ishlaydi. 75 nukleotid qatorlarigacha bo'lgan nukleotid qatorlarini aniqlaydi, paired va single-end ni aralashtirishga yo'l qo'ymaydi.

Normal inson karyotipining barcha xromosomalarining ideogrammalari sifatidagi grafik tasviri genetik xaritalardan tashqari, boshqa xromosoma xaritalari ham ishlab chiqilgan:

Sitogenetik xarita - xromosomalarining strukturaviy elementlarini (masalan, idiogrammalarda ularning differentsial rangli bo'limlarini) o'zaro joylashish tartibini yoki nishonli DNK namunalarning gibridlanish lokuslarini (in sitida lyuminestsent gibridlanish) fazoviy tasavvuridir.

Fizik xarita - fizik belgilar (DNK molekulasining bo'laklari) nukleotidlar juftligida orasidagi masofalar uzunlagini tartiblashtirish hisoblanadi.

Restriksion xarita - fizik xarita bo'lib, DNKning restriktaza ta'sirida hosil bo'lgan bo'laklari orasidagi masofa va ularning ketma-ketligi aniqlanadi. Bu xarita markerlariga restriksion fragmentlar kiradi- restriksiya saytlari.

Organizmlarning genomini o'rganishning yakuniy maqsadi uning genetik, sitogenetik va fizikaviy xaritalarini birlashtirishdir, shuningdek, ularning to'liq genom ketma-ketlikligi aniqlashdan iborat.

Genetik xaritani tuzishda genetik markerlar joylashishining ketma-ketligi ma'lum zichlikdagi barcha xromosomalarining uzunligi bo'ylab, ya'ni bir-biridan juda yaqin masofada joylashgan turli polimorf DNK lokusi va DNK tarkibidagi irsiy o'zgarishlar orqali aniqlanadi.

Inson genomini xaritalash. 1990-yildan 2003-yilgacha inson genomi dasturi o'zining genetik va fizik xaritalari asosida inson genomi haqida to'liq tasavvur hosil qildi. Markerli ketma-ketliklarning genetik xaritasi barcha inson genlarini, ayniqsa, irsiy kasalliklar genlarini xaritalashni osonlashtirish uchun mo'ljallangan bo'lib, bu dasturning asosiy maqsadlaridan biri bo'lib hisoblangan. Uni amalga oshirish davomida bir necha ming gen nisbatan qisqa

vaqt ichida genetik xaritaga tushirilgan. Inson genetik xaritalari hozirgi kunda og'ir irsiy kasalliklarga tashxis qo'yishda tibbiyotda ishlatiladi.

Qisqa ketma-ketlik algoritmi (qisqa ketma-ketliklarni xaritalash) — genomning aniq qisqa ketma-ketliklarni aniqlash ehtimolini yoki transkriptomdagi pozitsiyalariga mos kelishini aniqlashdan iborat bo'lgan ikkinchi avlod tartiblash natijalarini tahlil qilish uchun qo'llaniladigan bioinformatik usul hisoblanadi. Bu, odatda, o'rganilayotgan organizm genomi ma'lum bo'lsa, ma'lumotlarni qayta ishlashning birinchi bosqichidir.

Usuli. Keyingi avlod platformalar turi qisqa 50-500 nukleotid juft uzunligiga ega bo'lgan millionlab namunalar olish kabi samarali tartiblash imkonini beradi. Buning uchun DNK yoki kDNK molekulasi ko'plab qisqa segmentlarga bo'linib, ular parallel ravishda tartiblanadi. Bu qisqa segmentlarning ketma-ketliklarini olgandan so'ng ulardan to'liq genom yoki kDNK ketma-ketliklar to'plamini tiklash kerak. Buning uchun, aniqlangan har bir qisqa ketliklarning genomdagi ketma-ketliklarga mos keladigan eng munosib ketma-ketliklarning o'rnini aniqlash kerak bo'ladi.

Noma'lum genom ketma-ketliklarini aniqlashda, genomi aniqlangan organism de novo sharoitida genomni rekonstruksiya qilish ishlari olib borilgan, hozirda esa genom ketma-ketliklarining taxrirlash ishlari bo'yicha ko'plab xalqaro loyihalar faoliyat olib bormoqdalar. Bularga genomning ketma-ketliklari to'plamlari misol bo'la oladi, bunday holatlarda ketma-ketliklarni o'qishga ularning ma'nosini aniqlash uchun ma'lumotlar bazasidagi holati o'rganiladi. Bu jarayon xaritalash deyiladi. Xaritalash ishlarini olib borishda, turlicha yondoshuvlar ishlatiladi, masalan, genomni xaritalash uchun katta bo'shliqlar yo'q bo'lishi kerak, RNK-sekvenirlash uslubi qo'llanilganda, ketma-ketliklar o'rtasida ajralishlar mavjudligi tufayli keng qo'llaniladi. Umuman, xaritalash ishlarini o'tkazishda sekvenirlash uslubini qo'llash davom etmoqda va oxirgi avlod sekvenirlash uslublari uchun o'zgargani yo'q, lekin oldingi avlod sekvenirlash uslublari uchun ishlab chiqilgan dasturlar ko'p miqdordagi

ma'lumotlar bilan ishlash uchun mo'ljallangan emas, shuning uchun, qisqa uzunliklarga ega bo'lgan ketma-ketliklarni o'qiydigan uslublar keng qo'llaniladi.

Genomning o'zgaruvchanligi va tartiblash xatolari

Genomni xaritalash ishlarida asosiy muammo shundaki, har qanday o'rganilayotgan genomda o'zgaruvchanlik mavjud bo'lib, SNP ketma-ketliklari va indellar orqali aniqlanadi, ushbu ketma-ketliklar albatta tartiblash xatolari tufayli farq qiladi. SHu sababli, genomni o'qishda va uning "to'g'ri" holatda algoritm yozuvlarini hosil qilishda, genom har qanday joyida ko'proq farqlar bo'lishi kuzatiladi va xaritalash dasturlarida noto'g'ri joylarni topish kerak bo'ladi. Bu maqsadda turli xil yondoshuvlar qo'llaniladi. Bunday tajribalarda RNK-seq usullari qo'llanilganda, natijalar bilan ishlash muammo yanada murakkablashadi. Ketma-ketliklarni aniqlash va o'qish ishlarini takroriy o'tkazish natijasida qo'shimcha xatolar kelib chiqishi mumkin. Bunday holatlarda, ketma-ketliklarning xaritalashda joyini aniqlash imkoni bo'lmaydi va ketma-ketliklarning tasodifiy joyini aniqlash yoki bir necha qismda joyini belgilash mumkin bo'ladi.

Hisoblash muammosi. Genom ketma-ketliklarin milliardlab nusxada hosil qilinsa, xaritalash vaqti jiddiy muammo bo'lishi mumkin. Alignment har doim juda katta resurs talab qiladi, lekin bunday hollarda asosiy muammolardan biri protsessor vaqt va xotira uchun juda oqilona va samarali algoritmlarni ishlatishni talab qiladi.

Yondashuvlar. Bu muammolarni hal qilishda ikki asosiy yondashuv mavjud: xesh-jadvallardan va suffiks shajaralaridan foydalanish mumkin.

Hashing yondashuv asoslari. Aralash ketma-ketliklarni qidiruv jarayoni Smit- Waterman algoritmi asosida dinamik dasturlash yordamida klassik algoritmlarga nisbatan ko'p marta tezroq va iqtisoiy tejamkor usulardan biridir.

Bu yondashuvda tez qidirish uchun Hash funksiyasidan foydalanadi. Eng oson yo'li ketma-ketliklar uzunligidagi mos nukleotidlarga qarab bo'linadi, lekin bu yondashuv ishlamaydi, uzoq so'zlar noyob bo'lishi ehtimoli ko'proq va

ularning saqlash xotirasida juda ko'p joy egallaydi. Buning o'rniga, ular ancha keng tarqalgan qisqa va aralash ketma-ketliklardan foydalanish kerak. Hash funksiyasi tegishli o'rinlarni olish uchun ishlatiladi. O'qishni bir necha qismga bo'lib yondashish algoritmda almashtirishlar imkoniyatini beradi. Demak, MAC dasturida ketma-ketliklar 4 qismga bo'linadi. Agar olingan ketma-ketliklar bo'yicha mukammal mos bo'lsa, unda barcha 4 hil nukleotidlar mos keladi. Ehtimol SNP yoki tartiblash xatolarining mavjudligi tufayli paydo bo'lgan ketma-ketliklarda bitta almashtirish mavjud bo'lsa, u holda u nukleotidlardan biriga mos keladi, demak boshqa 3 hali ham mukammal mos kelmagan. Xuddi shunday, tiklash dasturlaridan LED mukammal hisoblanadi. SOAP, RMAP va SeqMAP shunga o'xshash tarzda ishlaydi.

Hisoblash ishlarida bunday yondashuvlarning qo'llanilishi bir o'zgartirish orqali o'qish barcha chora-tadbirlarini ko'rib chiqish imkoni hisoblanadi. Masalan: ACGTni o'qish uchun ulardan 3tasi bo'lishi kerak: AC, CG, GT. Bu ma'lumotlar xotirada ko'p joy egallaydi, ishlatilayotgan xotira miqdorini kamaytirish uchun, dasturlarda nukleotidlarning bitta kodidan foydalanish (A 00, C 01, G 10, T 11) taklif etiladi, lekin bunday o'qishlar va ketma-ketliklar genom uchun mavjud bo'lishi mumkin noaniq ketma-ketlik ma'lumotlarini o'rganishda ko'p xatoliklarga olib keladi.

Turli algoritmlardan xisoblash ishlarini tezlashtirish va xatolarni oldini olish uchun foydalanish mumkin. Masalan, ketma-ketliklarning joylashgan joyini aniqlash ishlarida foydalanish mumkin. Ma'lum nukleotidni x deb belgilasak, LED algoritmidan foydalanilganda, acgxacg ga acgaacg va ACGCACGGA mos keladi, ushbu algoritm juda sezgir lekin ko'p vaqt talab qiladi.

Ko'pincha algoritmlar ketma-ketliklar tarkibini emas, balki ularning pozitsiyasini aniqlashda qo'llaniladi. Aksariyat dasturlar Needleman — Wunsch algoritmi yoki uning modifikatsiyasidan foydalanadi. Boshqalar, masalan, GASST, Euler dasturlari masofani o'lchash va oraliq qadamni aniqlash dasturini qo'shadilar, bunday dasturlar asosan bir xil harflardan iborat ketma-ketliklar

sonini hisobga oladi. Masalan, 5 ta G ni o'z ichiga olgan ketma-ketlik, 1 ta G ni o'z ichiga olgan ketma-ketlik bilan xaritaga tushirilganda, kamida 4 ta almashtirishga ega bo'lish mumkin. Bunday yondashuv yaroqsiz hududlarning olib tashlanishiga va faqat istiqbolli ketma-ketliklar hududlarining aniq qo'llash imkonini beradi.

Demak Hash uslubi butun genom ketma-ketliklarini o'qish uchun emas, balkim bir xil uzunlikdagi genom qismlarini o'qishda qo'llanilishi mumkin. MAC, RMAP va SeqMAPning dastlabki versiyalari bu yondashuvdan foydalangan, biroq hozirgi vaqtda bitta tajribada o'qishlar soni sezilarli darajada oshdi va bunday yondashuv hozirgi kunda samarali hisoblanmaydi.

Qo'shimchalar yordamida yondashish asoslari

Hisoblash ishlarida algoritmlarning qo'llanilishi ketma-ketliklar takrorlanib kelganda yahshi natija olish imkonini bermaydi, chunki tekshirilishi kerak bo'lgan ketma-ketliklar soni sezilarli darajada ortadi. Bunday muammoni yechish uchun suffiksli shajara-qo'shimchalarga asoslangan algoritmlardan foydalaniladi. Ushbu yondashuvning afzalligi, xususan, takrorlashlar algoritmining ishlash vaqtini tejaydi, chunki takroriy ketma-ketliklar ushbu shajaradan tushirib yuboriladi. Olingan ketma-ketliklar sof shaklida, agar xato yoki almashtirishlar bo'lmasa masalan, Mpscan dasturi ishlatilganda, bunday yondashuv juda tez ishlaydi

