

Мавзу: Кириш. Биоорганик кимё фани. Аминокислоталар.

Ажратилган вақт: 4 соат

Асосий саволлар:

1. Биоорганик кимё фанининг ривожини, фан бўйича эришилган ютуқлари.
2. Аминокислоталар, номенклатураси физик ва кимёвий хоссалари.
3. Аминокислоталарнинг стереокимёси.

Биринчи асосий саволнинг баёни:

Биоорганик кимё фани тирик мавжудотлар организмда учрайдиган ва ҳаёт учун муҳим бўлган биополимерлар (оқсиллар, пептидлар, ферментлар, нуклеин кислоталар, углеводлар, липидлар, биологик мембраналар) ва кичик молекулали биорегуляторлар (алкалоидлар, витаминлар, флаваноидлар, гормонлар, антибиотиклар, простагландинлар, ўсимликларнинг ўсишини тартибга солувчи моддалар, феромонлар, пестицидлар ва бошқалар) нинг кимёвий тузилишлари ва биологик фаолликлари ўртасидаги боғланишни ўрганадиган фандир.

Биоорганик кимё фанининг дунёга келиши XX асрнинг ўрталарига тўғри келади. Унинг ривожланиши дунёда органик кимёнинг ривожланиши билан чамбарчас боғлиқдир. Органик кимё аввало тирик табиатда учрайдиган органик моддаларни ўрганадиган фан ҳисобланиб, сўнгра кўплаб органик бирикмаларни сунъий равишда синтез қилиш мумкинлиги билан ривожланган ва XIX асрнинг охирига келиб бу фан умуман таркибида углевод тутовчи бирикмалар кимёси эканлиги эътироф этилди.

Табиий бирикмалар қаторига кўплаб синтетик равишда олинган бирикмалар - полимерлар, бўёқлар, доривор моддалар кириб келди. Жумладан, 1842 йили Зинин томонидан анилин синтез қилинди, 1854 йилда Бертло ёғларни синтез қилиш усулини топди. 1861 йили Бутлеров оқсилсимон моддаларни синтез қилди. XX асрнинг бошларига келиб табиий бирикмалар кимёси мустақил равишда ривожлана бошлади.

Бу вақтга келиб биологик жиҳатдан муҳим алкалоидлар, терпеноидлар, витаминлар, стероидлар ўсимлик ва ҳайвонлар органларидан ажратиб олинди. Уларнинг тузилишлари ўрганилди, айримларининг синтетик равишда олиш усуллари ишлаб чиқилди. Булардан ташқари XX асрнинг ўрталарида хинин, стрехнин, резерпин, пенициллин ва простагландинларни кимёвий синтез қилишга эришилди.

Кимёвий методлар орқали организмда борувчи ҳар хил кимёвий ва биологик жараёнларнинг бориши аниқланди ва бу изланишлар XIX асрнинг охирига келиб биокимё фанини юзага келтирган эди. Бу фanning энг катта ютуқларидан бири-энзиматик катализ ва биологик катализаторлар ҳисобланган ферментларни ўрганишдан иборат бўлди ва натижада нафас олиш, фотосинтез ва мускул қисқариш жараёнларининг кимёвий механизмларини, яъни тирик организмда модда алмашинувининг асосий қарашларига эга бўлди.

XX асрнинг 50-йиллари бошларида Уотсон ва Криклар ДНК нинг тузилишини очиб бердилар ва улар кишилик жамиятига буюк кўш спираллар ҳақидаги тушунчани ва бу билан генетик маълумотларни сақловчи, ҳамда ўзлаштириш йўллари юзага келтириш ҳақидаги янги фан - молекуляр биологияга асос солдилар.

Бу вақтга келиб табиий бирикмалар кимёсида сифат жиҳатидан ўзгаришлар юзага келди ва у тирик табиатнинг мураккаб моддаларини ва шу жумладан биополимерларни кимёвий жиҳатдан ўрганишга киришади. Уларнинг тузилиши билан биологик функциялари ўртасидаги боғланишлар ўрганилади.

Л.Полинг оксил молекулаларидаги α -спираль тузилишини очади. Ф.Сенгер биринчи очилган оксил - инсулиннинг α -аминокислоталари кетма-кетлигини аниқлайди. Вудворд хлорофилл ва Витамин В₁₂ ларни синтез қилади.

Бу соҳанинг ривожига академиклар М.М.Шемякин, Ю.А.Овчинников, А.Н.Белозерский, В.А.Энгельгард ва бошқалар катта ҳисса қўшишган. Уларнинг ишларидан стероидли гормонлар, антибиотиклардан тетрацеклин ҳамда углеводларни, липидларни, пептидларни ва пестицидлар синтезларини келтириш мумкин.

Бизнинг ўлкамизда бу соҳада ишлари дунё аҳамиятига эга бўлган олимлар академиклар О.С.Содиқов, С.Ю.Юнусов, Ё.Х.Тўрақулов ва уларнинг кўплаб ўқувчиларидир.

Кимёдаги бу ютуқлар ҳақиқатдан ҳам табиий бирикмалар кимёсининг ҳозирги замон биоорганик кимёсига айланганлигини кўрсатади ва бу фан биофизика, молекуляр биология каби фанлар билан биргаликда табиатшуносликда муҳим аҳамиятга эга бўлган ҳодисалар жараёнини ўрганишда муҳим ўрин эгаллайди.

Ҳозирги кунда Республикамизда бу фан соҳаси бўйича кўплаб ишлар олиб борилади. Ўзбекистон Республикаси фанлар академиясига қаршли академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти, академик С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалар кимёси институти, Биокимё институти ҳамда Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети табиий бирикмалар кимёси кафедраси ва муаммолар лабораториясида биоорганик кимё фанининг барча соҳалари бўйича, жумладан Республикамизда ва Марказий Осиёда ўсадиган ёввойи ўсимликларнинг кимёвий таркибини ўрганиш, улардаги физиологик актив моддалар - алкалоидлар, флавоноидлар, углеводлар, терпенлар каби моддаларни ўрганиш, улар асосида турли кимёвий модификациялаш ишларини олиб бориш, Республика худудида учрайдиган айрим ёввойи хайвонлардан, ҳашаротлардан токсин моддаларини ажратиш олиш, уларнинг тузилишини ўрганиш ҳамда улар ичидан энг активларини тиббиётга, қишлоқ хўжалигига тадбиқ этиш ишлари олиб борилади.

Булардан ташқари Республикамизнинг асосий техник ўсимликларидан ҳисобланган пахтани, буғдой, сули, шоли каби ғалла ўсимликларини ва полиз экинларини, ҳамда боғ-мева дарахтларини турли хил касалликлардан

сақлаш воситаларини (гербицидлар, инсектицидлар, фунгицидлар, десикантлар, дефолиантлар ва бошқа моддалар) яратиш устида ҳам ишлар қилинади. Шу давргача олиб борилган илмий тадқиқот ишлари натижасида кўплаб янги физиологик актив моддалар халқ хўжалигининг турли соҳаларига (медицина, қишлоқ хўжалиги ва бошқалар) ишлатишга жорий қилинган.

Биоорганик кимё нималарни ўрганади:

Биоорганик кимё тирик мавжудодларнинг, биринчи навбатда биополимерлар ва кичик молекулали биорегуляторларнинг, асосий диққат-эътиборни уларни тузилиши билан биологик таъсири орасидаги ўзаро боғланишдаги қонуниятларини аниқлашга қаратган ҳолда, асосий компонентларининг тузилишини ва биологик вазифасини ўрганади. Биоорганик кимё ўз моҳияти бўйича ҳозирги замон биологиясининг кимёвий асоси бўлиб қолди. Бундан ташқари, у тиббиёт, қишлоқ хўжалиги ва бошқа бир қатор саноат тармоқлари учун амалий жиҳатдан муҳим аҳамиятга эга бўлган препаратларни олиш масалаларини ҳал қилишга имкон беради.

Ўрганиш объектлари: Оқсиллар ва пептидлар, нуклеин кислоталар, углеводлар, липидлар, аралаш хилдаги биополимерлар-гликопротеинлар, нуклеопротеинлар, липопротеинлар, гликолипидлар, алкалоидлар, терпеноидлар, витаминлар, антибиотиклар, гормонлар, простагландинлар, ўстирувчи моддалар, феромонлар, токсинлар ҳамда синтетик дори моддалар, пестицидлар ва бошқалар.

Тадқиқ қилиш методлари: Асосий қўламни органик кимё методлари ташкил қилади, лекин функционал-тузилиш масалаларини ҳал қилиш учун ҳар хил физикавий, физик-кимёвий, математик ва биологик методлар жалб қилинади.

Асосий вазифалар:

1. Ўрганиладиган бирикмаларни кристаллаш, ҳайдаш, турли хилдаги хроматограмма, электрофорез, ультрафилтрациялаш, ультрацентрефугалаш, оқимга қарши тақсимлаш методлари ёрдамида индивидуал ҳолатда ажратиб олиш;

2. Бирикмаларни масс-спектроскопия, ҳар хил кўринишдаги оптик спектроскопия (УФ, ИК, ПМР, ЭПР) ҳамда рентген тузилиш анализи ёрдамида фазовий тузилишларини аниқлаш;

3. Ўрганилаётган бирикмаларни тўлиқ синтез қилиш, уларнинг аналогларини ва ҳосилаларини синтез қилишни қўшган ҳолда тузилишларини тасдиқлаш ва биологик вазифасини аниқлаш мақсадида амалий жиҳатдан аҳамиятли препаратлар олиш, ҳамда кимёвий синтез ва кимёвий модификациялаш ишларини олиб бориш;

4. Олинган бирикмаларни «in vitro» ва «in vivo» ҳолда биологик тестлаш.

Оқсиллар ҳақида умумий тушунчалар

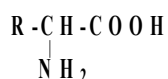
Оқсиллар биология ва кимё фанларида алоҳида ўринни эгаллайди. Ҳайвонлар организмнинг тахминан 70%-ни сув ташкил этади ва 30% қуруқ

колдиқлардан иборат. Бу қуруқ колдиқларнинг ярмини (15%) оксиллар ташкил қилади. Оксиллар ҳаётий жараёнларнинг моддий асоси ҳисобланади.

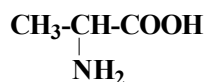
Жонли хужайраларда борадиган асосий жараёнлар - модда алмашунуви, бўлиниш ва кўпайиш хужайра оксилларига боғлиқ. Тирик организмда борадиган барча кимёвий ўзгаришлар оксил моддаларининг бир тури ҳисобланган биокатализаторлар - ферментлар фаолиятига боғлиқ равишда амалга ошади. Шундай қилиб, оксиллар тирик хужайраларнинг барча кимёвий фаоллигини асоси ҳисобланади. Кўпгина гормонлар, организмнинг яшаш жараёнини тартибга солувчи моддалар, биологик заҳар моддалар - токсинлар ва аксарият юқумли (инфекцион) касалликларни бошлаб берувчи моддалар - вируслар ҳам ҳар хил тузилишдаги оксил моддалардан иборат бўлади. Аввало шуни таъкидлаш лозимки, оддий оксиллар α-аминокислоталарнинг бир-бири билан пептид боғлари орқали бириккан полимерлари ҳисобланади. Шунинг учун оксиллар кимёсини ва унинг вазифаларини кўришга ўтишдан аввал α-аминокислоталар ва пептидлар устида қисқача тўхталиб ўтиш керак.

α-Аминокислоталар

α-Аминокислоталар куйидаги умумий формулага эга:

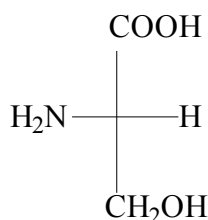


Улар α-аминопропион кислотасининг ҳосилалари ҳисобланадилар . Масалан, аланин:

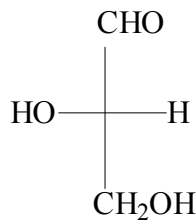


Ҳамма табиий α-аминокислоталар (глициндан ташқари) асимметрик углерод атомига эга бўлганлиги учун улар икки хил оптик актив формада бўлиши мумкин.

α-Аминокислоталар конформациясини аниқлаш учун солиштирувчи эталон сифатида чапга бурувчи серин молекуласи қабул қилинган. *L*-Сериннинг фазовий конфигурацияси *L*-глицерин альдегидига айнан ўхшаш:



L-серин (-)



L-глицерин альдегиди (-)

Оксилларда учрайдиган барча α-аминокислоталар *L*-конфигурацияга эга бўлса ҳам, бу α-аминокислоталарнинг буриш йўналиши ҳар хил бўлиши мумкин. Табиий α-аминокислоталардан серин, треонин, цистин, цистеин, метионин, пролин, оксипролин, гистидин, аспарагин, оксизин, фенилаланин, тирозин, триптофан ва лейцинлардан бошқалари ўнгга (+) бурувчидир.

D-аминокислоталар тирик объектларда нисбатан кам учрайди. Улар мисол учун баъзи бир денгиз ҳайвонлари ҳужайраларида эркин ёки бириккан ҳолда, пептидлар ҳолатида топилган. қизиғи шундаки, D-аминокислоталар баъзи бир организмлар учун заҳарли бўлган ёки баъзи бир ҳимояловчи функцияни бажарувчи ва энзимларни гидролитик таъсирига қарши даъват қилувчи бирикмаларда сақланади.

α -Аминокислоталар оксиллар синтези учун бошланғич манба бўлиб хизмат қилади.

α -Аминокислоталар классификацияси

α -Аминокислоталарни қуйидагича классификациялаш мумкин:

-Биринчидан, органик бирикмаларнинг класслари бўйича - алифатик, ароматик, гетероциклик;

-Иккинчидан, физикавий хоссалари бўйича, нейтрал, кислотали, асосли;

-Учинчидан, қўшимча функционал гуруҳлари бўйича, масалан, олтингугурт тутувчи α -аминокислоталар, оксиаминокислоталар, диаминокислоталар.

Булардан ташқари, биокимёвий классификациялаш ҳам мавжуд:

-Эндоген ёки алмашиши мумкин бўлган α -аминокислоталар-булар киши ва олий ҳайвонлар организмда ҳар хил органик бирикмалардан ҳосил бўлувчи α -аминокислоталар;

-Экзоген ёки алмашинмайдиган, организмга ташқаридан овқат билан киритиладиган α -аминокислоталар. Булар инсон ва ҳайвонлар организмда ҳосил бўлмайди.

Гистидин, тирозин ва аргининлар организмда бошқа бирикмалардан секинлик билан синтез бўлиши мумкин. Лекин ўсиш даврида ёки баъзи бир касалликларда бу синтезларнинг тезлиги организмни нормал ҳолатда тутиш учун етишмай қолади.

Шунинг учун бу α -аминокислоталар ҳам организмга овқат орқали етказиб берилади. Уларни кўпинча ярим алмашинувчи α -аминокислоталар деб ҳам аталади.

Ҳозирги кунда 80 дан ортиқ ҳар хил бирикмалар таркибида ёки эркин ҳолда учрайдиган α -аминокислоталар маълум.

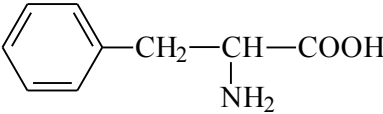
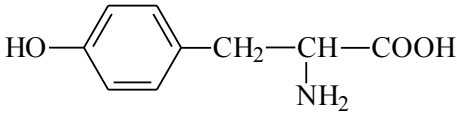
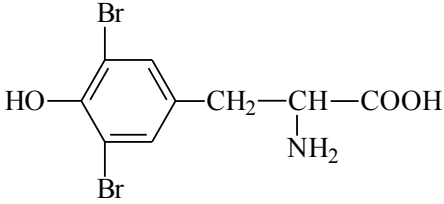
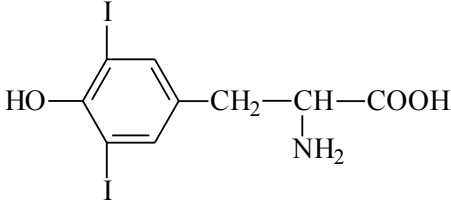
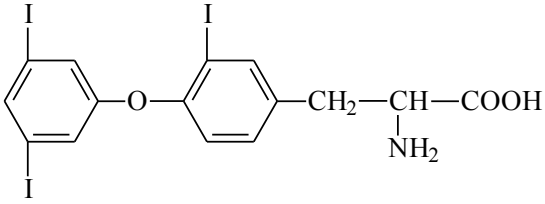
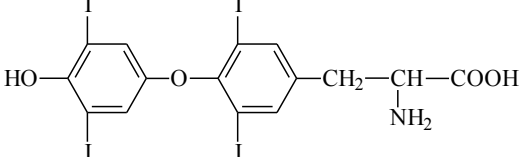
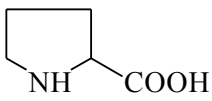
Улардан оксилларнинг гидролизатларида 24 таси борлиги аниқланган (1- ва 2-жадваллар).

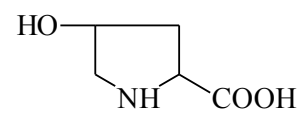
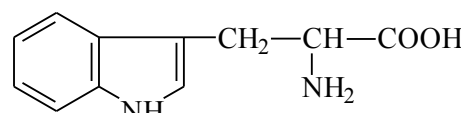
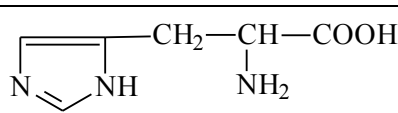
1-жадвал.

Оксилларда учрайдиган α -аминокислоталарнинг органик бирикмалар класслари бўйича классификацияси

α -Аминокислота номи	Формуласи	Қисқартилган белгиси
<u>Алифатик аминокислоталар.</u>		
1. Моноаминомонокарбон кислоталар.		

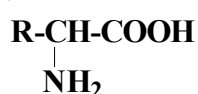
Глицин	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Gly
Аланин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Ala
Валин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Val
Лейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Leu
Изолейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ile
Серин	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ser
Треонин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Thr
2. Диаминомонокарбон кислоталар.		
Лизин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Lys
Оксилизин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Hyl
Аргинин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{NH} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Arg
3. Моноаминодикарбон кислоталар		
Аспарагин кислотаси	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asp
Аспарагин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asn, Asp-NH ₂
Глутамин кислотаси	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Glu
Глутамин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Gln, Glu -NH ₂
4. Олтингугурт тутувчи аминокислоталар.		

Цистеин	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Cys, Cy-SH
Цистин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Cys-Cys, Cy-S-S-Cy
Метионин	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Met
<u>Ароматик аминокислоталар</u>		
Фенилаланин		Phe
Тирозин		Tyr
3,5-Дибромтирозин		
3,5-Диодтирозин		
Триодтиронин		
Тироксин		
<u>Гетероциклик аминокислоталар</u>		
Пролин		Pro

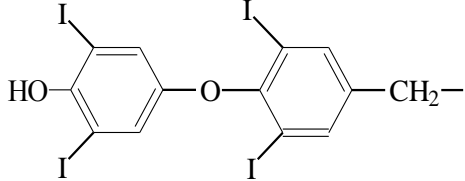
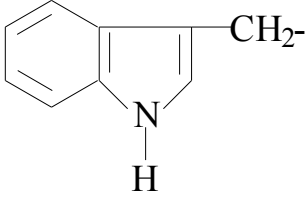
Оксипролин		Нур
Триптофан		Try, Trp
Гистидин		His

2-жадвал

Оқсиллар гидролизида топилган α -аминокислоталарнинг физикавий хоссалари бўйича классификацияси



№	Номланиши	R	Белгиланиши	
			русча ўзбекча	Лотинча
I. Нейтрал α -аминокислоталар				
1	Глицин	H	Гли.	Glu.
2	Аланин	CH ₃ -	Ала.	Ala.
3	Валин*	(CH ₃) ₂ CH-	Вал.	Val.
4	Лейцин*	(CH ₃) ₂ CH-CH ₂ -	Лей.	Leu.
5	Изо-лейцин	CH ₃ -CH ₂ -CH- CH ₃	Иле.	Ile.
6	Фенилаланин	C ₆ H ₅ CH ₂ -	Фен.	Phe.
7	Серин	HOCH ₂ -	Сер.	Ser.
8	Треонин*	CH ₃ -CH- OH	Тре.	Thr.
9	Аспарагин	H ₂ N-CO-CH ₂ -	Асп- (NH ₂)	Asp- (NH ₂)
10	Глутамин	H ₂ NCO(CH ₂) ₂ -	Глу- (NH ₂)	Glu- (NH ₂)
11	Цистин	S-CH ₂ - S-CH ₂ -CH-COOH NH ₂	Цис-S Цис-S	Cys-S Cys-S
12	Цистеин	HS-CH ₂ -	Цис.	Cys
13	Метионин*	CH ₃ S(CH ₂) ₂ -	Мет.	Met.

14	Тирозин	$\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2-$	Тир.	Tyr.
15	Тироксин		Тиро.	Tyro.
16	Пролин	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH}-\text{COOH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{NH} \end{array}$ (тўлиқ формуласи)	Про.	Pro.
17	Оксипролин	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH}-\text{COOH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{NH} \end{array}$ (тўлиқ формуласи)	Опр.	Hypro.
18	Триптофан		Трп.	Trp.
II. Кислотали α-аминокислоталар.				
19	Аспарагин кислота	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-$	Асп.	Asp.
20	Глутамин кислота	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-$	Глу.	Gly.
III. Асосли α-аминокислоталар.				
21	Лизин*	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-$	Лиз.	Lys.
22	Оксилизин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2- \\ \\ \text{OH} \end{array}$	Олиз.	Hylys.
23	Аргинин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \diagdown \\ \text{C}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3- \\ \diagup \\ \text{HN} \end{array}$	Арг.	Arg.
24	Гистидин	$\begin{array}{c} \text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2- \\ \quad \\ \text{N} \quad \text{NH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH} \end{array}$	Гис.	His.

*-Алмашилмайдиган α-аминокислоталар.

α-Аминокислоталарнинг физик-кимёвий хоссалари

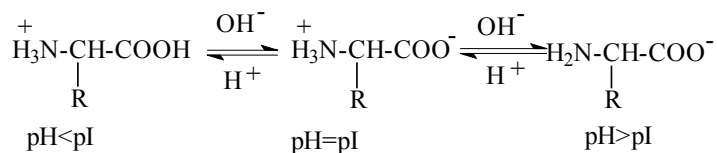
Оқсиллар таркибига кирувчи α-аминокислоталар рангсиз кристалл моддалардир. Улар оддий уй хароратида (~25 °C) турғун бўладилар. Уларнинг суюқланиш ва парчаланиш хароратлари ўзгариб туради. α-Аминокислоталар сувли эритмаларида биполяр ионлар (цвиттер ионлар) ҳолатида бўладилар ва ионлашмаган α-аминокислоталар билан мувозанатда турадилар:



α-Аминокислоталарнинг сувда эрувчанликлари бир-бирларидан кучли фарқ қилади, чунки улардаги эрувчанлик уларнинг молекула тузилишларига боғлиқ бўлади. Бу ҳолат α-аминокислоталарни бир-бирларидан фракциялаб кристалларга тушириш орқали ажратиб олишга катта имкон беради. Кўпчилик α-аминокислоталар органик эритувчиларда кам эрийди. Шу сабабли уларнинг сувли эритмаларини экстракция қилиб олишнинг имконияти бўлмайди. α-Аминокислоталар нейтрал эритмаларга нисбатан кислота ва ишқорларнинг эритмаларида яхши эрийди, чунки бунда улар гидрохлорид ва туз ҳолатларида бўладилар. Бу ҳолат уларнинг амфотерлик хоссалари билан боғлиқдир.

Физикавий тадқиқотлар шуни кўрсатадики, улар кристалл ҳолатда, ҳамда ион ҳолатда бўладилар. α-Аминокислоталарнинг инфракизил (Иқ) спектрлари -COOH гурухи учун ҳам, -NH₂ гурухи учун ҳам характерли бўлган чизикларни аниқламайди, чунки улар ион ҳолатда бўлади. Шунинг учун α-аминокислоталар поляр бирикмаларнинг барча хоссаларини намоён қиладилар; сувда яхши эрийдилар, кўпчилик органик эритувчиларда эрмайдилар. α-Аминокислоталарнинг ён занжирлари уларнинг хоссаларига маълум таъсир кўрсатади. Углерод занжирининг узайиши α-аминокислоталарнинг сувда эришини кескин камайтиради ва спиртда эришини оширади. α-Аминокислоталарни изоэлектрик нуқталари рНкб га яқин, чунки карбоксил гурухининг диссоциацияланиш даражаси аминогурухнинг диссоциацияланиш даражасидан бирмунча юқорирок. α-Аминокислотага кислотали, асосли ёки фақат полярли қўшимча функционал гурухлар киритилса, изоэлектрик нуқталар сурилади.

Кислотали шароитда α-аминокислоталарнинг карбоксил гурухини диссоциацияланиши йўқолади ва бирикма ўзининг амин ҳолатига келади. Ишқорий шароитда α-аминогурухнинг диссоциацияси йўқолади ва моддада кислотали хосса юзага келади:



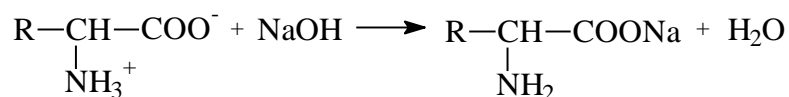
α -Аминокислоталар изоэлектрик нуқталарининг фарқлари ва уларнинг ҳар хил рН даги ўзига хослиги α -аминокислоталарни ажратишда ишлатилади. Бу методни ионоформ методи дейилади.

α -Аминокислоталарнинг кимёвий хоссалари

α -Аминокислоталарнинг кимёвий хоссалари аввалом бор битта углерод атомининг ўзида иккита функционал гуруҳларнинг - карбоксил ва аминогруҳларнинг борлиги билан аниқланади. Биоорганик кимё нуқтаи назаридан α -аминокислоталарнинг баъзи бир муҳим кимёвий хоссалари устида тўхталиб ўтамиз.

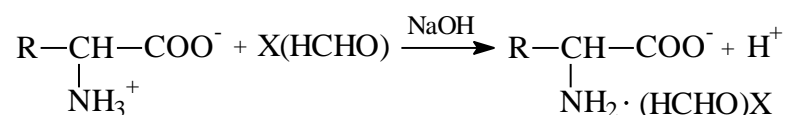
1. Карбоксил гуруҳининг реакциялари.

1) Тузлар ҳосил қилиш. α -Аминокислоталар ўзларининг рН ларидан катта бўлган рН ларда асослар билан реакцияга киришиб сувда яхши эрувчи тузларни ҳосил қиладилар:



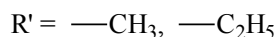
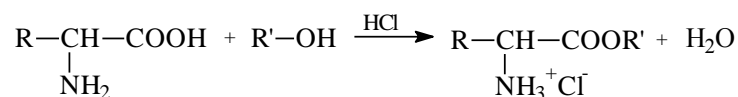
Бу реакция орқали медицинада, биологияда ишлатиладиган кўплаб буфер эритмалар тайёрланади.

2) Карбоксил гуруҳи бўйича титрлаш (формоллаб титрлаш). α -Аминокислоталарни сувда формальдегид билан титрлаш юқори даражада аниқлик билан титрлаш усули ҳисобланади. Бунинг учун α -аминокислота олдиндан формалин билан ишланади. Бунда α -аминокислотанинг асослиги жуда камайган ҳосиласи вужудга келади. Унинг карбоксил гуруҳини ишқор билан потенциометрик усул орқали титрлаш ёки индикаторлар (фенолфталеин, тимолфталеин) иштирокида рН=9 да рангининг ўзгариши орқали аниқлаш мумкин. Бу реакцияда формальдегид α -аминокислоталарнинг ион формаси билан таъсирлашади:

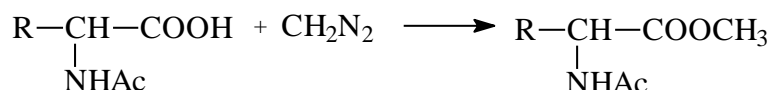


Бу реакциядан α -аминокислоталарни аниқлашда кенг фойдаланиш мумкин.

3) Эфирлар ҳосил қилиш. α -Аминокислоталар кислотали шароитда спиртлар билан реакцияга киришиб эфирлар ҳосил қиладилар. Масалан, α -аминокислоталарнинг сувсизлантирилган метил ёки этил спиртлари билан берган суспензияларини қуритилган HCl гази билан ишланса уларнинг метил ёки этил эфирлари ҳосил бўлади:

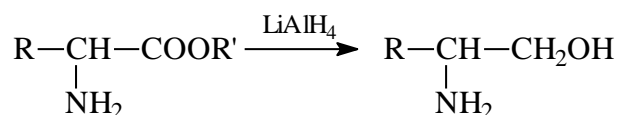


N-Ацилланган α -аминокислоталарнинг метил эфирларини уларга диазометанни таъсир эттириб ҳам олиш мумкин:

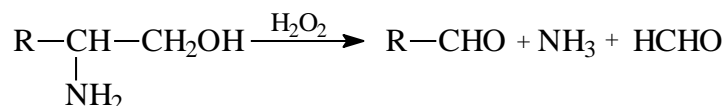


Бу методни қоғоз устида олиб бориладиган электрофорез билан биргаликда қўллаб α -аминокислоталар таркибидаги гурухларни аниқлашда ишлатиш мумкин.

4) Карбоксил гурухини қайтариш. α -Аминокислоталарни LiAlH_4 ёки LiBH_4 билан қайтарилганда уларга мос келувчи аминспиртлар ҳосил бўлади. Бу реакцияда α -аминокислоталарнинг эфирлари эркин ҳолдаги α -аминокислоталарга нисбатан анча енгилроқ қайтарилади.

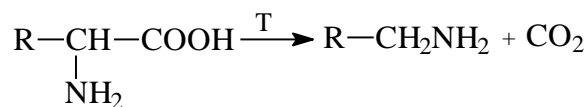


Ҳосил бўлган α -аминспиртлар оксидланса ўзига мос келган альдегидлар, аммиак ва формальдегид ҳосил бўлади.



Бу реакция α -аминокислоталарни миқдорий аниқлаш, ҳамда қўшимча идентификациялаш учун ишлатилади.

5) Декарбоксиллаш. α -Аминокислоталарни (қаттиқ ҳолда) юқори даражада қайнайдиган эритувчида ёки барийли сувда иситилса ўзига мос келган аминлар ва карбонат ангидриди ҳосил бўлади:

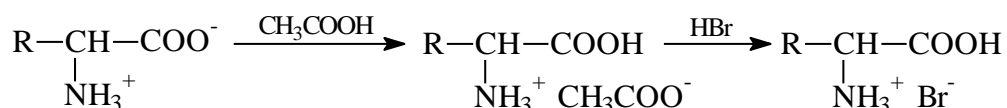


Бу реакцияни ферментатив йўл билан ҳам амалга ошириш мумкин. Бундай жараён оксилларнинг ошқозон-ичакдан ўтиш вақтида у ердаги ферментлар таъсирида, яъни овқат ҳазм қилишда ҳам содир бўлади.

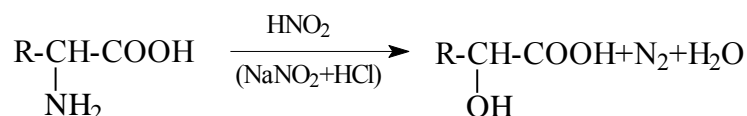
2. Аминогурухнинг реакциялари.

1) Тузларнинг ҳосил бўлиши. α -Аминокислоталарнинг минерал кислоталар (HCl , H_2SO_4) билан берган тузлари эркин ҳолдаги α -аминокислоталарга нисбатан сувда яхши эрувчанликка эга. Уларни органик кислоталар (пикрин, пикролон кислоталар) билан берган тузлари эса қийин эрийди. Шунинг учун бу реакциялар α -аминокислоталарни идентификациялашда ва бир-бирларидан ажратишда ишлатилади.

2) Аминогурух бўйича титрлаш. Аминогурух бўйича титрлаш сульфат ва водород бромид кислоталари билан музла сирка кислота иштирокида титрланади. Бунда α -аминокислоталар карбоксил гурухларининг диссоциацияланиш даражаси пасайиши ҳисобига кучли асосли ҳоссага эга бўлади:

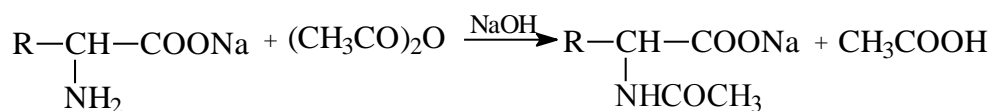
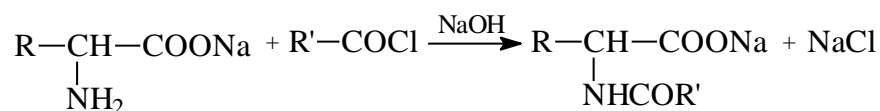


3) Нитрит кислотаси билан таъсирлашиш. Бирламчи аминогурух тутувчи α -аминокислоталар билан нитрит кислотасининг реакцияси α -оксикислоталар ҳосил бўлиши ва азот ажралиб чиқиши билан боради:

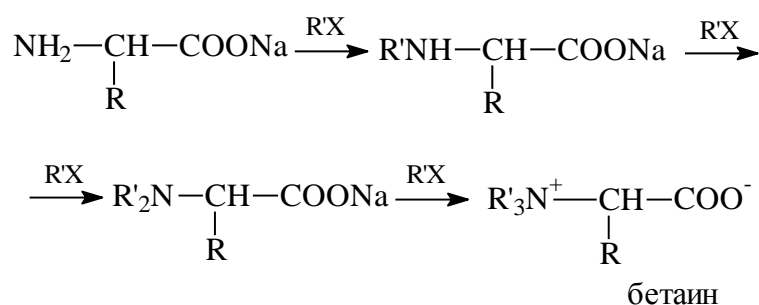


α -Аминокислоталар ёки уларнинг ҳосилаларини нитрит кислотаси билан ишланганда чиқадиган азот миқдорини ўлчаш α -аминокислоталарнинг озод ҳолдаги $-\text{NH}_2$ гурухларини анализ қилишда кенг қўлланиладиган методнинг асоси ҳисобланади (бу амин азотини Ван-Слей бўйича аниқлаш деб аталади).

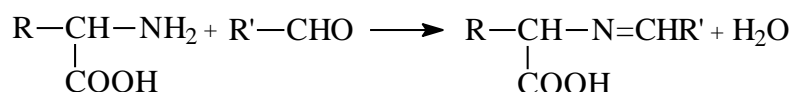
4) N-Ациллаш (Шоттен-Бауман) реакцияси. α -Аминокислотанинг аминогурухини органик кислоталарнинг хлорангидридлари ва ангидридлари билан ишқорий шароитда ациллашга учратиш мумкин:



5) N-Алкиллаш реакцияси. α -Аминокислоталар галоидалкиллар таъсирида моно-, ди- ва триалкилҳосилаларини беради. Триалкилли ҳосилалар тўртламчи аммоний асослари ҳисобланади, уларни ички тузлар, бетаинлар деб ҳам юритилади:



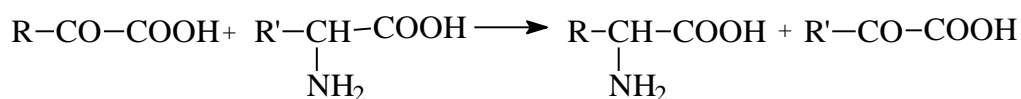
6) Шифф асосининг ҳосил бўлиши. α -Аминокислоталар, бирламчи аминларга ўхшаб, альдегидлар билан Шифф асосларини ҳосил қилиб таъсирлашадилар.



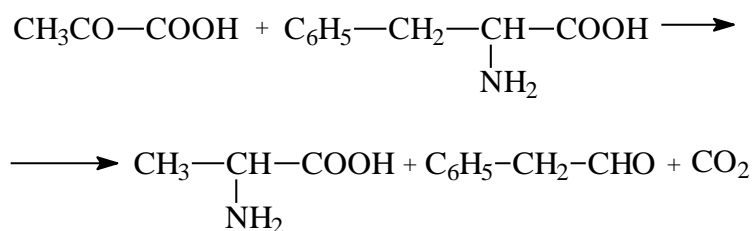
Бу реакция асосида баъзи бир α -аминокислоталарни идентификация қилиш усули ишлаб чиқилган. Реакция музли сирка кислотасида олиб борилади ва ҳосил бўлган моддани УБ-спектрда ютилиш соҳаси ўрганилади. Масалан, фурфурол аксарият α -аминокислоталар билан 360-380 ммк максимум ютилиш ҳосил қилиб таъсирлашади.

7) Аминогурухни кўчириш (перееминлаш).

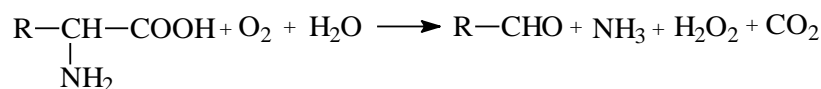
α -Аминокислоталарнинг сувли эритмаларини α -кетокислоталар билан қўшиб қайнатилганда α -аминокислота α -аминогурухининг α -кетокислотага ўтиши содир бўлади.



Аминни кўчиришда кўпинча декарбоксилланиш ҳам содир бўлади. Масалан, пировиноград кислотасини фенилаланин билан таъсирлашуви натижасида аланин, фенилсирка альдегиди ва карбонат ангидриди олинган.



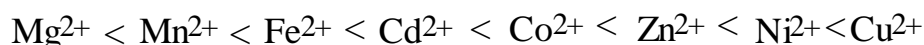
Бу реакция мис иони (Cu^{2+}) ва учламчи ёки иккиламчи асослар иштирокида борса аминни кўчириш 37°C даёқ кетиши мумкин. Азотли муҳитда аминни кўчириш кучли декарбоксилланиш билан боради, кислород иштирокида эса оксидланувчи дезаминланиш ва декарбоксилланиш содир бўлади.



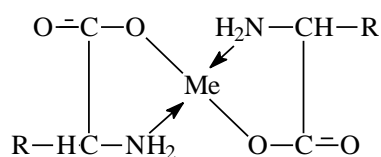
Организмда боровчи аминни кўчириш аминотрансфераза ферментлари иштирокида катализланади. Бу табиатда янги α -аминокислотанинг ҳосил бўлиш жараёни ҳисобланади.

3. α -Аминокислоталарнинг бир вақтни ўзида карбоксил ва аминогурухлар билан борадиган реакциялари.

1) Металлар билан комплекслар ҳосил қилиши. Деярли ҳамма α -аминокислоталар икки валентли металл ионлари билан комплекслар ҳосил қиладилар. Комплексларнинг турғунлиги қуйидаги кетма-кетликда ортиб боради:

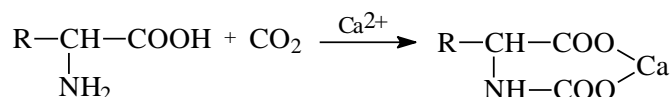


Бу комплекслар хелат бирикмалардир.



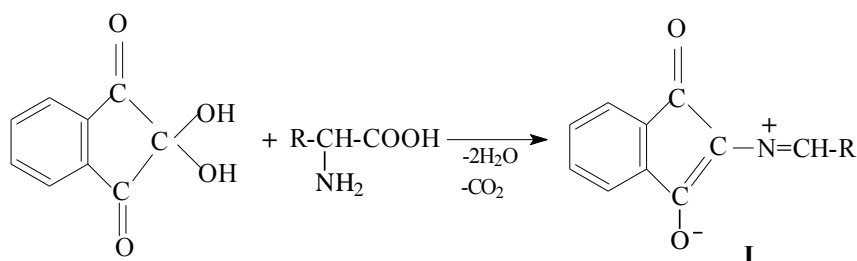
Бу комплекс бирикмаларнинг сувли эритмалари электр токини ишқорий металллар тузларига нисбатан кам ўтказадилар, мис комплекслари α -аминокислоталарни тозалаб олишда қўлланилади.

2) Карбонат ангидриди билан реакцияси. α -Аминокислоталар карбонат ангидриди билан ишқорий шароитда реакцияга киришиб N-карбокси- α -аминокислоталарни ҳосил қиладилар. Уларни кальцийли тузлар ҳолида чўктириб олиш мумкин:

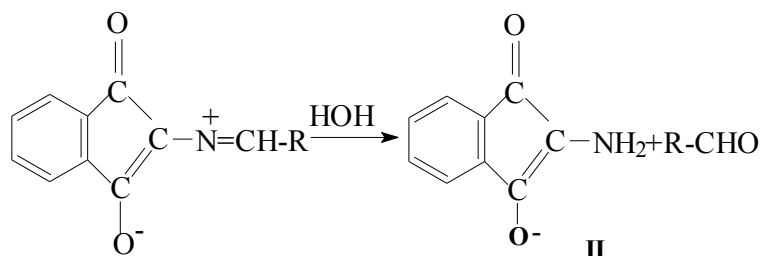


Ҳосил бўлган бу тузларнинг сувли эритмалари киздирилса парчаланадилар. Шу йўл билан α -аминокислоталарни тоза ҳолатда олиш мумкин.

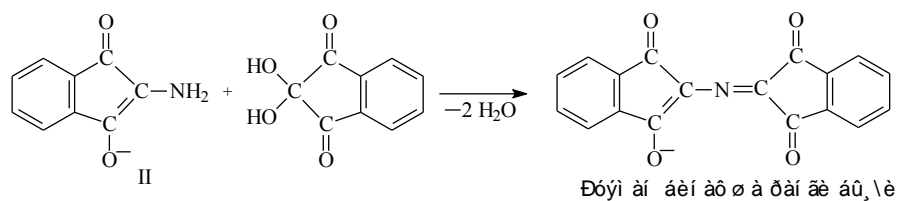
3) Нингидрин билан реакцияси. α -Аминокислоталар нингидрин билан интенсив кўк-бинафша ранг бериб таъсирлашади ва α -аминокислоталарни сифат жиҳатидан очишда ва миқдор жиҳатидан аниқлашда кенг қўлланилади. Бу эса ўз навбатида оқсиллар кимёсини ўрганишда ва тадқиқ қилишда жуда катта аҳамиятга эга.



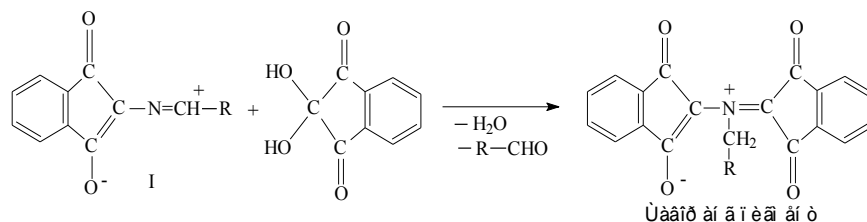
Бунда α -аминокислоталарнинг дастлаб оксидланиб дезаминланиши ва декарбоксилланиши содир бўлади. Агарда реакция сувли шароитда борса нингидринни α -аминокислота билан конденсациялашган маҳсулоти (I) гидролизга учрайди:



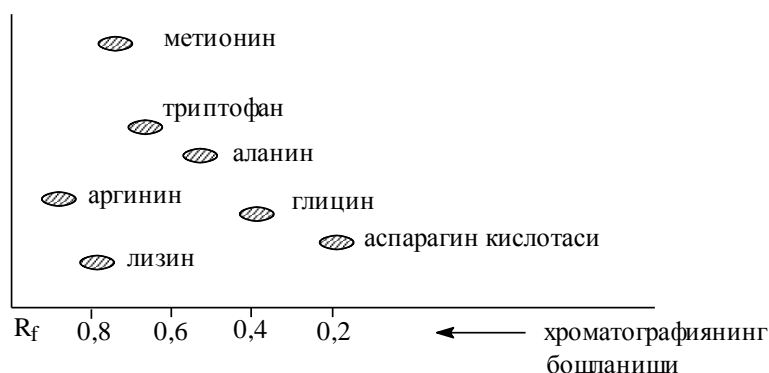
Сўнгра (II) маҳсулот бошқа молекула нингидрин билан таъсирлашиб рангли модда «Руэман бинафша ранг бўёғини» ҳосил қилади. Бу реакция Руэман томонидан 1911 йили тақдим қилинган:



I модда сувсиз шароитда (спиртда) нингидрин билан таъсирлашса, ҳаво ранг пигментни ҳосил қилади:

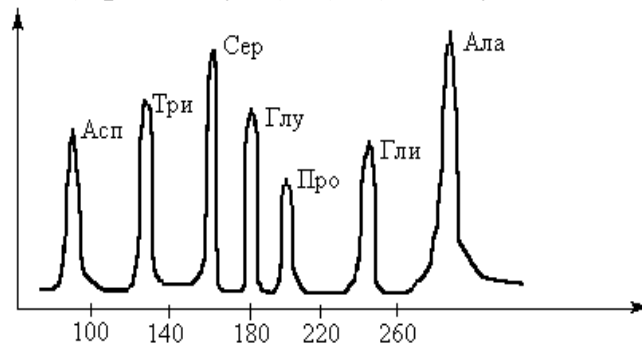


Юқорида айтилганидек, нингидрин оксиллар кимёсини текширишда кенг миқёсда ишлатилади. Оксилларнинг бирламчи тузилишини текширишда биринчи масалалардан бири шу оксилдаги α -аминокислоталар таркибини аниқлашдан иборат. Бунинг учун оксил 5,7 н HCl билан 110 °C да 24 соат давомида гидролизга учратилади ва олинган α -аминокислоталар аралашмаси хроматография қоғозига хроматографияланади (1, 2-расм) ва нингидрин билан очилади:



1-расм. α -Аминокислоталар аралашмасини қоғозда икки мартабалик хроматографияси.

Бунда система: 1) фенол-сув (5:1); 2) 2,4-лутидин-коллидин-сув (1:1:1).



2-расм. Намунали хроматограмма.

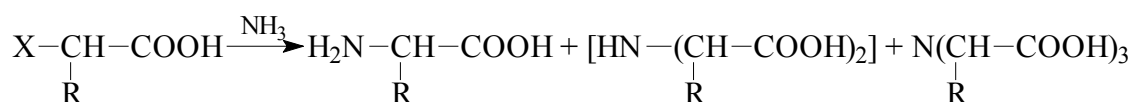
Бу хроматограмма α -аминокислоталарни хроматографик метод билан анализ қилишда олинган.

Ҳозирги вақтда буларни ҳаммасини автоматик равишда α -аминокислота анализаторларида бажарилади ва ҳаммаси бўлиб бир неча соат вақт кетади.

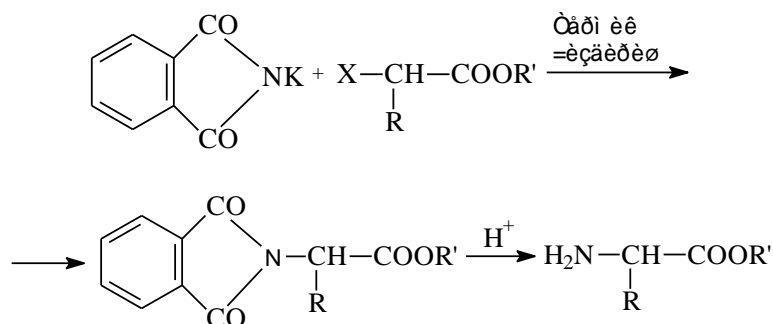
α -Аминокислоталар миқдорий анализини текшириладиган эритмани ион-алмашувчи смолалар билан тўлдирилган колонкаларда олиб бориш мумкин. Бунда α -аминокислоталарнинг бир-биридан ажралиши уларнинг смолалардан юқори поляр қисмлари билан комплекс ҳосил қилиш қобилиятларини ҳар хиллигига боғлиқ ҳолда боради. Колонкадан оқиб тушаётган эритма нингидрин эритмаси билан аралаштирилади ва ҳосил бўлган кўк рангнинг интенсивлиги фотокалориметр ёрдамида ўлчанади. Сўнгра интенсивликни тўғри тезликдаги вақтга нисбатан графиги тузилади.

α -Аминокислоталарнинг олиниши

α -Аминокислоталар асосан оксилларнинг гидролизатларидан олинади, чунки табиий α -аминокислоталар оптик актив бўладилар ва улар шундай ҳолда оксил молекулаларида жойлашадилар. α -Аминокислоталарни синтез қилишнинг кўплаб методлари мавжуд. Улар органик кимё дарсликларида кенг баён қилинган. қуйида уларнинг айримлари келтирилади: Масалан, α -аминокислоталар α -галогеналмашган карбон кислоталарни аммонолиз қилиш билан олинади:



Бу реакцияда қўшимча иккиламчи ва учламчи аминлар ҳам ҳосил бўлиши мумкин. Шунинг учун реакцияни калий фталимид иштирокида ёки аммиакни ортиқча солиб олиб борилади.



α -Аминокислоталар синтез қилинганда рацемат ҳосил бўлиши сабабидан ва табиий α -аминокислота олиш учун рацематларни оптик антиподларга ажратиш керак. Антиподларни баъзи бир ажратиш усуллари қуйидагича:

Мавзу: Пептид боғи, пептидлар

Ажратилган вақт: 2 соат

Асосий саволлар:

1. Пептидлар, пептидларнинг кимёвий синтези.

2. Функционал гурухларни ҳимоялаш, фаоллаш ва пептид боғларини ҳосил қилиш усуллари.

3. Пептидларни қаттиқ фазада синтез қилиш

Биринчи асосий саволнинг баёни:

Пептидларни кимёвий синтез қилиш усуллари

Пептид боғини синтез қилишнинг кўплаб методлари ишлаб чиқилган. Олинадиган пептид характерига қараб муайян вазифа қўйилади. Агарда пептид α -аминокислоталарни маълум кетма-кетликда ёки полипептид бир хил α -аминокислотадан олиниши талаб қилинса, α -аминокислоталарни кимёвий синтезлардаги конденсация реакцияларига ўхшаш ҳолатда поликонденсацияга учратиш мумкин бўлади. Аммо, кўп ҳолларда α -аминокислоталар маълум структура бўйича кетма-кетликда жойлаштирилиши талаб қилинади. Бундай маълум тузилишдаги структурани синтез қилиш учун комплекс ҳолдаги муносабатни ишлатишга тўғри келади, бунда пептид таркибига кирувчи α -аминокислота тузилиши ва конфигурациясининг сақланиши таъминланади.

Бундай иш тартиби бир қанча босқичларни ўз ичига олади:

- 1) Амино- ва карбокси гурухларини ҳимоялаш;
- 2) Амино- ва карбокси гурухларини активлаш;
- 3) Амино- ва карбокси гурухларини конденсациялаш;
- 4) Ҳимояланган гурухларни чиқариб юбориш.

Функционал гурухларни ҳимоялаш

Одатда amino- ва карбокси гурухларини, шунингдек ён радикаллардаги функционал гурухларни ҳимоялаш учун уларни ҳар турдаги ҳосилаларга айлантирилади. Бунда қўйиладиган асосий талаблар:

1) Ҳимояловчи гурухларни киритишда ва чиқариб юборишда олдиндан бор бўлган ёки ҳосил қилинган пептид боғларини узилиши кузатилмаслиги керак;

2) Ҳимоялаш гурухларини киритиш юмшоқ шароитда амалга оширилиши лозим, уни чиқарилаётганда эса бошқа ҳимояланган гурухларга ёки туркумларга тегмаслик керак. Ҳимояловчи гурухларни танлаш қўйилаётган вазифага, яъни α -аминокислоталарнинг талабга мувофиқ кетма-кетлигига боғлиқ.

Ҳимоялаш методлари кераклигича бор бўлишига қарамасдан, уларниг ҳаммаси ҳам қўйиладиган талабларга жавоб бермайди. Шунинг учун доимо янги ҳимояловчи гурухлар излаш ва бор методларни такомиллаштириш устида иш олиб борилади. куйида жуда ҳам муҳим ва кенг қўлланиладиган методлар устида фикр юритилади.

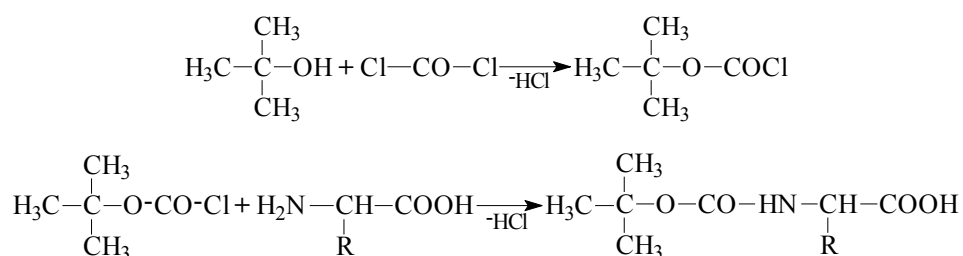
Аминогурухни ҳимоялаш

Аминогурухни ҳимоялаш учун у ацилланади, алкилланади, сульфоланади ёки металлорганик ҳимояловчи гурух қўлланилади. Ацилловчи реагент сифатида учламчи-бутоксикарбонил, карбобензоксид,

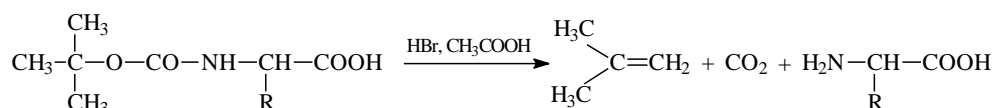
фталил, формил ва учфторацил гурухлари, алкилловчи реагент сифатида эса-дифенилметил гурухларидан фойдаланилади. Сульфолаш тозил гурухини киритиш орқали амалга оширилади, металлорганик бирикма сифатида эса пентакарбонил-[ме-токси(фенил)карбен] хром ишлатилади.

1) Учламчи-бутоксикарбонил (т.БОК) гурухини киритиши.

Бу гурух кириши билан аминогурух электронларнинг амид боғи бўйича делокализацияланиши натижасида кимёвий жиҳатдан актив бўлмай қолади. Бу гурухни киритиш учламчи-бутоксикарбонилнинг хлорангидридларини α-аминокислота билан таъсирлашуви орқали амалга оширилади. Хлорангидрид синтези учламчи-бутанол билан фосген реакциясидан юзага келади:

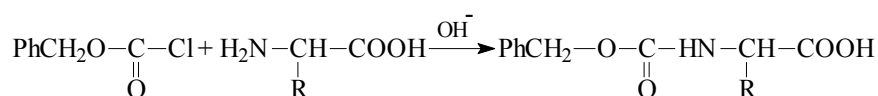


т.БОК гурухи бошқа оддий химояловчи гурухларни чиқариб ташлаш шароитида, масалан, гидрогенолизда, натрий билан суяқ аммиакда ишланганда, ишқорий совунланишда барқарордир. Бу гурух кислотали шароитда, масалан, водород бромид кислотаси билан сирка кислота аралашмаси, илиқ ҳолдаги 80% ли сирка кислотаси, сувсиз учфторсирка кислотаси ёки суяқ водород фторид билан ишланганда парчаланиб чиқиб кетади. Бунда изобутилен ва карбонат ангидриди ҳосил бўлади.

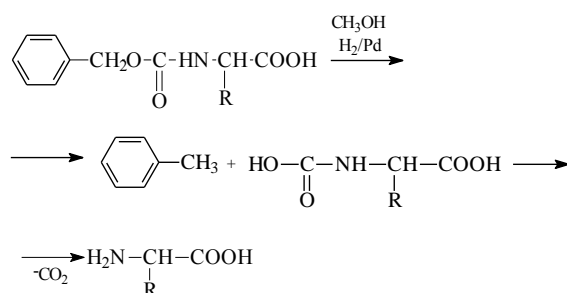


2) Карбобензоксигурухини киритиши.

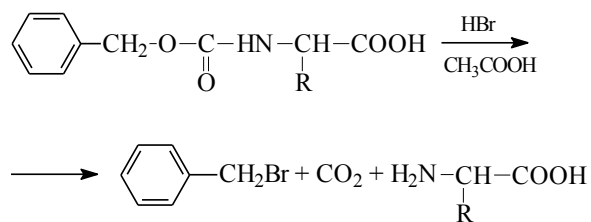
Карбобензоксигурухлар α-аминокислоталар билан кучсиз ишқорий сувли эритмаларда реакцияга киришади.



Карбобензоксигурухини чиқариш гидрогенолизлаш ёки кислотали ишлаш билан олиб борилади. Гидрогенолизлаш бўйича карбобензоксигурухини чиқаришни палладий устида метил спирти иштирокида гидролаш билан амалга оширилади:

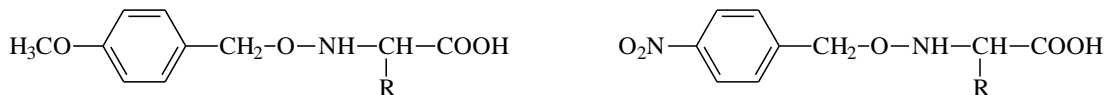


Карбобензоксигурухини чиқариш сувсиз сирка кислотдаги водородбромид кислотаси билан ишланганда, карбонат ангидриди чиқиб кетиши ва бромбензоил ҳосил бўлиши билан ҳам боради:



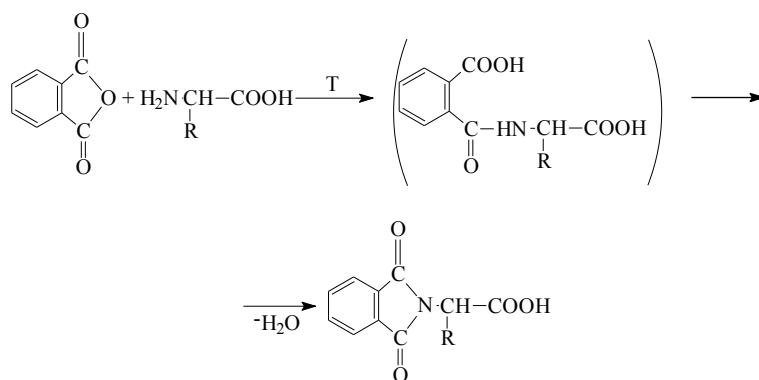
Карбобензоксигурухни олиб ташлаш учун бошқа кислоталарни ишлатиш юқори ҳароратда амалга оширилади, масалан, қайнаб турган учфторсирка кислотаси, қайнаб турган хлорид кислотаси билан.

Аминогурухларни ҳимоялаш учун ишлатиладиган карбобензоксигурухнинг ҳосилалари ичидан *p*-метоксикарбобензоксигурухларини кўрсатиб ўтиш мумкин. Буларнинг фарқ қилувчи хоссаларидан α -аминокислоталарнинг осон кристалланиши ҳисобланади:

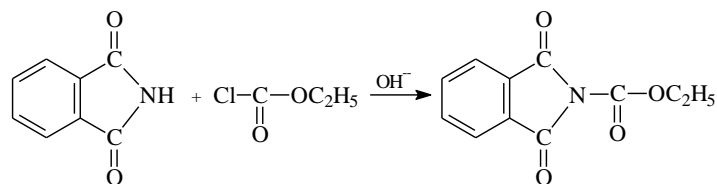


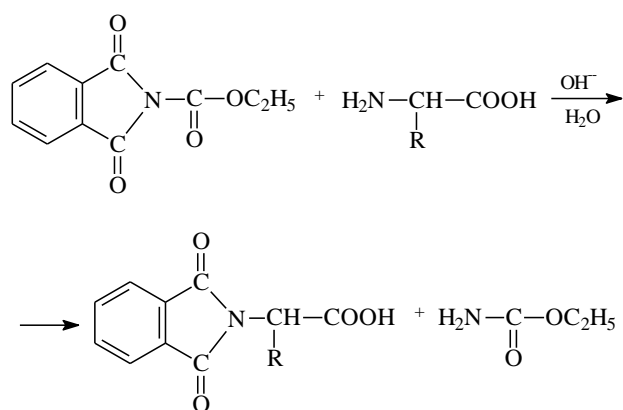
3) Фталил гурухини киритиши.

N-Фталиламинокислоталарни синтез қилиш фтал кислотаси ангидриди билан α -аминокислоталар аралашмасини қотишмага айлантириш орқали амалга оширилади.

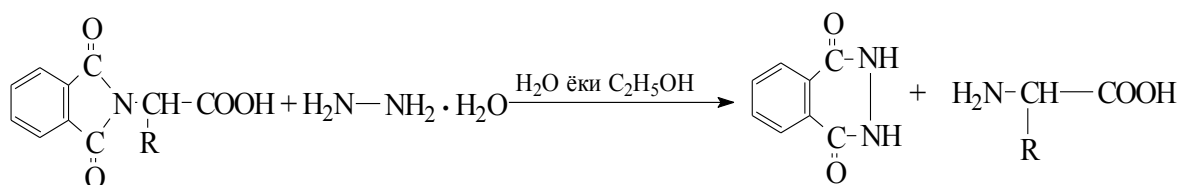


Юқори ҳароратда α -аминокислота парчланади ва рацемизацияга учрайди. Шунинг учун, одатда фталимид ва хлоркўмир кислотасининг этил эфиридан олинган *N*-карбэтоксифталимид қўлланилади.



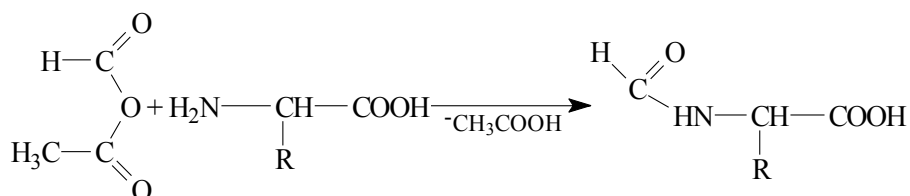


N-Карбэтоксифталиимид α -аминокислоталар билан ишқорнинг суюқ сувли эритмасыда қиздирилмасдан реакцияга киришади. Фталил гуруҳини чиқариб юбориш гидразин-гидрат билан сувли ёки спиртли шароитда ҳам амалга оширилади:

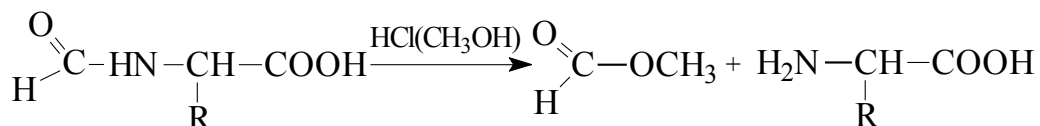


4) Формил гуруҳини киритиш.

Формил гуруҳини киритиш α -аминокислотани чумоли кислотаси ва сирка кислоталарининг аралаш ангидриди билан ишлаш орқали амалга оширилади:



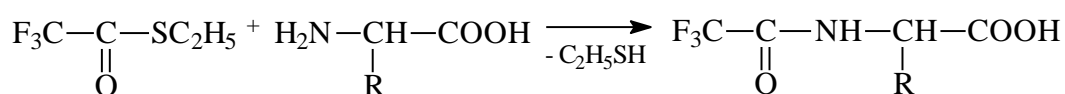
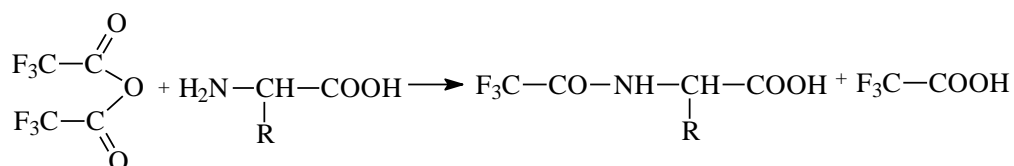
Формил гуруҳини чиқариб юбориш юмшоқ шароитда метил спирти иштирокида хлорид кислотаси эритмасы билан ишлаш орқали амалга оширилади.



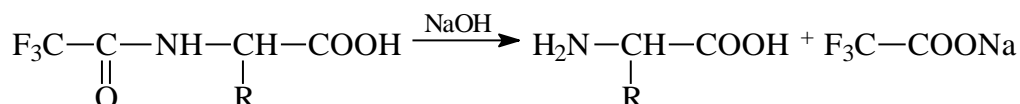
Формил гуруҳини чиқариб юбориш шароитида карбобензокси, фталил ва тозил гуруҳлари сақланиб қоладилар. Лекин тритил ва учламчи-бутоксикарбонил гуруҳлари ажралиб кетадилар.

5) Учфторацетил гуруҳини киритиш.

Учфторацетил гуруҳини киритиш α -аминокислотани учфторсирка кислотаси ангидриди ёки учфторсирка кислотаси тиоэтил эфири иштирокида ишлаш билан амалга оширилади.

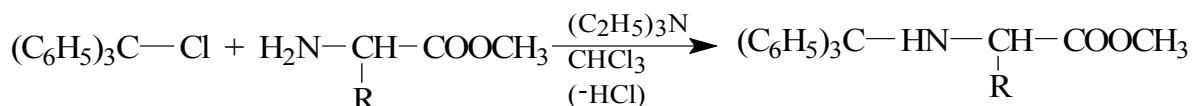


Ҳимояланган гуруҳ юмшоқ шароитда ишқор билан ишланади, масалан, NaOH билан хона хароратида чиқариб юборилади.



б) Учфенилметил (третил) гуруҳини киритиш.

Третил гуруҳини α-аминокислотага киритиш α-аминокислота эфирини третилхлорид билан органик асослар иштирокида органик эритувчиларда ишлаш йўли билан амалга оширилади.

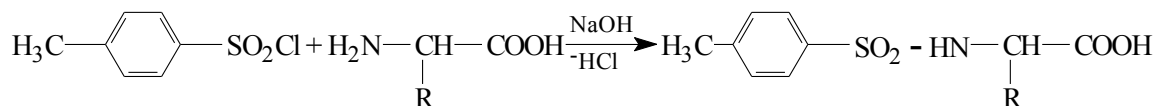


Третил гуруҳи асосларга чидамли, шунинг учун уни чиқариш кислотали муҳитда, масалан, сирка кислотасида, водород хлориднинг сувли эритмасида ёки сирка кислотасини метанолдаги эритмасида амалга оширилади.

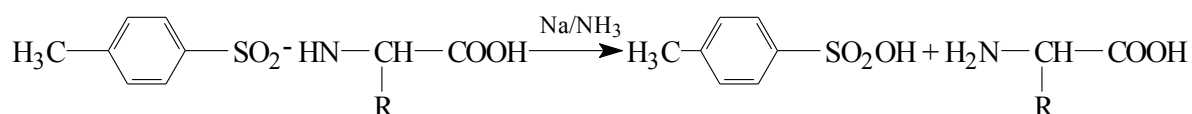
Ҳимояловчи гуруҳ сифатида п-метокситри-фенилметилхлорид ҳам ишлатилиши мумкин ва унинг гидролизга яхши учраши билан ҳосил бўлган маҳсулотдан чиқариб юборилиши бу усулни кенг қўлланишига имкон беради.

7) п-Толуолсульфогуруҳини (тозил гуруҳ) киритиш.

Бу гуруҳни киритилганда α-аминокислотанинг аминогуруҳи сульфоланади. Одатда сульфоланган ишқорнинг сувли эритмасида ёки пиридинда амалга оширилади:

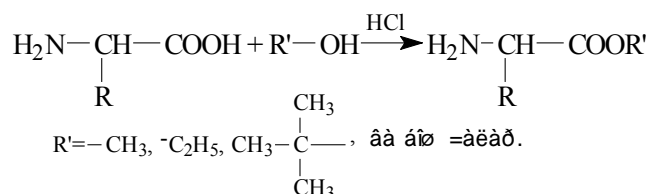


Тозил гуруҳини чиқариш ҳимояланган α-аминокислотани аммиакда ва эритмага аста-секин натрий кўшиш орқали амалга оширилади:

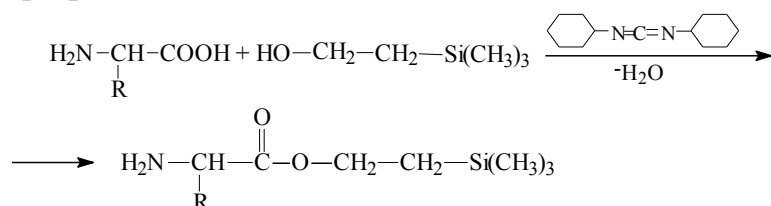


Карбоксил гуруҳини ҳимоялаш.

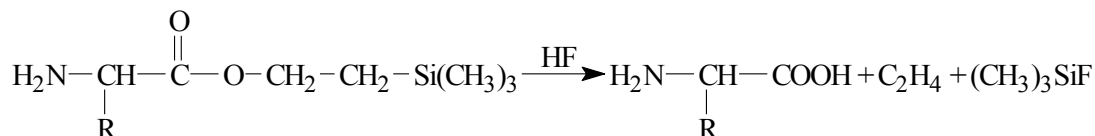
Карбоксил гуруҳини ҳимоялашнинг асосий методлари мураккаб эфирлар ҳосил қилишга асосланган.



Сўнгги йилларда карбоксил гуруҳини ҳимоялаш учун 2-учметилсилил гуруҳи кенг қўлланилади. Бундай ҳимоялашни амалга ошириш учун α-аминокислотани 2-учметилсилилэтанол билан дициклогексилкарбодиаמיד иштирокида этерификациялашга асосланган:



2-Учметилсилил гуруҳи нейтрал шароитда фторидлар билан ишланганда осон чиқиб кетади:



Шундай қилиб, α-аминокислоталарнинг аминогуруҳини ҳам ва карбоксил гуруҳини ҳам ҳимоялашнинг кўплаб усуллари мавжуд.

У ёки бу ҳимояловчи гуруҳни танлаш биринчидан α-аминокислотанинг табиатига, иккинчидан қўйилган вазифага боғлиқ бўлади. Бунда ҳимояловчи гуруҳнинг бирикиши ёки чиқариб юборилиши молекулада ҳосил бўлган ёки бор бўлган пептид боғларига таъсир этмаслиги лозим бўлади.

Бошқа шартлардан бири асимметрик углерод атомини сақлашдан иборат, яъни ҳимоялаш рацемизациялашга олиб келмаслиги керак. Ниҳоят, ҳимояланган α-аминокислотанинг ва ҳосил бўладиган дипептиднинг унуми юқори бўлишига эришиш керак.

Демак, ҳимояловчи гуруҳлар α-аминокислоталарга осон бирикиши ва охириги маҳсулотдан юмшоқ шароитда ва етарли даражада тўлиқ чиқиб кетиши лозим.

Пептидлар синтезида ҳар бир α-аминокислота кетма-кетлик билан бирикади. Шунинг учун ди-, три-, тетра-, ва ҳоказо пептидларнинг ҳар бир босқичидаги унуми аҳамиятга эга.

Одатда, α-аминокислоталардан дипептид олиш унуми 90% бўлганда қониқарли ҳисобланади. Аммо, 8-10 та α-аминокислотадан иборат олигопептидлар синтезида охириги бирикманинг унуми кам бўлади. Масалан, декапептид синтези дипептид олиш шароитида олиб борилганда 40% дан ошмайди.

Бошқа функционал гуруҳларни ҳимоялаш

α-Аминокислоталардан пептидларни синтез қилишда одатда α-амино- ва α-карбоксил гуруҳларини ҳимоялаш етарли эмас. Агарда α-

аминокислоталар жадвалига эътибор берилса, кўпгина α-аминокислоталар α-амино- ва α-карбоксил гурухларидан ташқари яна бир қатор актив гурухларни тутиши кўринади. Пептидлар синтезини маълум йўналишда олиб бориш учун уларни ҳам химоялаш керак бўлади. Бунга юқорида кўрсатилган методлардан бирини қўллаш билан эришиш мумкин.

Функционал гурухларни активлаш

Одатда пептид боғини ҳосил қилишда уч босқич йўл қўлланилади:

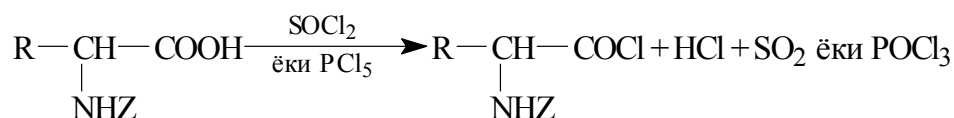
1. Аминогурухи химояланган α-аминокислоталарнинг карбоксил гурухини активлаш.

2. Карбоксил гурухи химояланган α-аминокислоталарнинг аминогурухини активлаш.

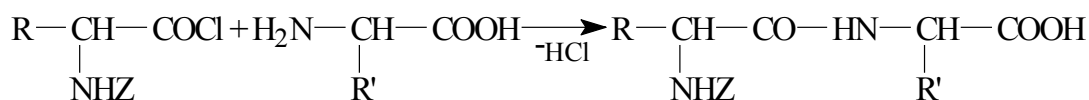
3. Биринчи α-аминокислотанинг аминогурухи, иккинчи α-аминокислотанинг карбоксил гурухи химояланган иккита α-аминокислоталарни конденсирловчи агент иштирокида ўзаро таъсирлашуви.

Карбоксил гурухини активлаш

1) Ацилхлоридлар ёки хлорангидридлар олиш. α-Аминокислоталарнинг хлорангидридларини синтез қилиш аминогурухи химояланган α-аминокислота билан тионил хлорид ёки бешхлорли фосфорни ўзаро таъсирлашуви бўйича олиб борилади:

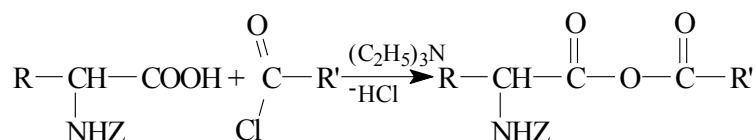


Олинган хлорангидрид иккинчи α-аминокислотанинг аминогурухи билан пептид боғи ҳосил қилиб осон реакцияга киришади:

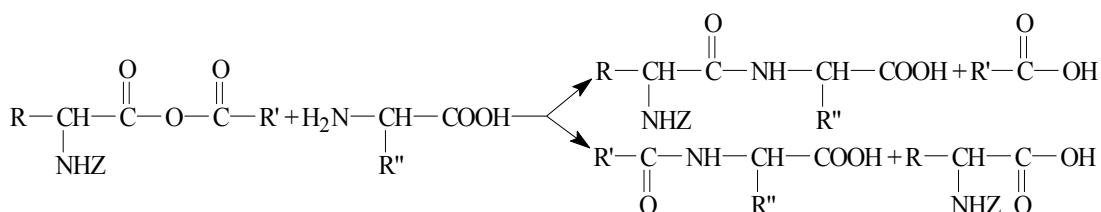


Пептид боғининг ҳосил бўлиши паст хароратда кетади. Методнинг камчилиги хлорангидридларни рацемизацияга учраши ҳисобланади.

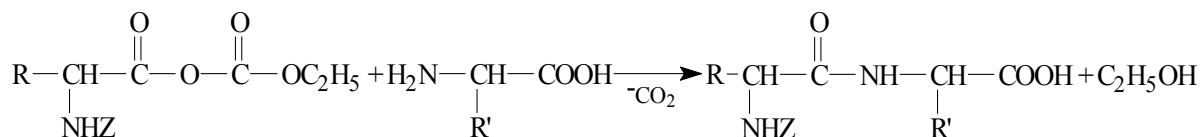
2) Ангидридлар ҳосил қилиш. α-Аминокислоталар ангидридлари ҳосил бўлиш жараёнида улар хлорангидридларга нисбатан кам даражада рацемизацияга учрайди. Аралаш ҳолдаги ва аралаш бўлмаган ангидридлар синтези N-алмашган α-аминокислотанинг ацетилгалогенид ва органик асослар иштирокида ўзаро таъсирлашуви бўйича амалга оширилади:



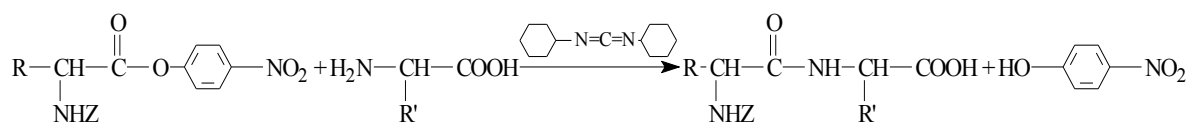
Ҳосил бўлган ангидрид иккинчи α-аминокислотанинг аминогурухи билан осон реакцияга киришади. Аммо аминогурух иккита карбоксил гурухнинг биттаси билан реакцияга киришиши мумкин, бўлмаса у ўз навбатида қўшимча маҳсулотларнинг ҳосил бўлишига олиб келиши мумкин.



Аралаш ангидрид қўлланилганда азотнинг нуклеофиль хужуми иккита карбонил гурухидан бирига кетсагина кўшимча маҳсулот ҳосил бўлишидан қутулиш мумкин. Одатда, бундай ангидридни синтез қилиш учун α -аминокислота хлоркарбен кислота хлорангидридининг этил эфири билан реакциясидан фойдаланилади. Бунда хужумга бир томондан углерод билан кўшни бўлган, электрофиллиги юқорироқ бўлган карбонил гурухи учрайди, иккала томондан кислород атоми билан кўшни бўлган иккинчи карбонил гурухи эса электронларнинг делокализацияга учрагани сабабли электрофиллиги кучсизланади:

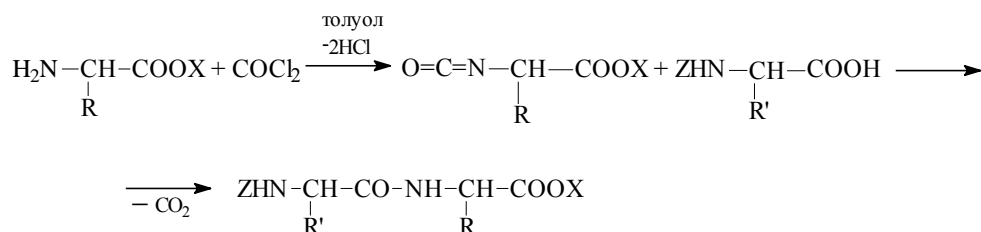


3) Активланган эфирлар ҳосил қилиш. Пептидлар синтезида активланган эфирлар деб ном олган, яхши чиқиб кетадиган гурухга эга бўлган α -аминокислота эфирлари қўлланилади. Бундай активланган эфирларга α -аминокислотадан ва *p*-нитрофенолдан дегидроловчи модда, масалан, дициклогексилкарбодиамид иштирокида синтез қилинган α -аминокислота эфири киради.



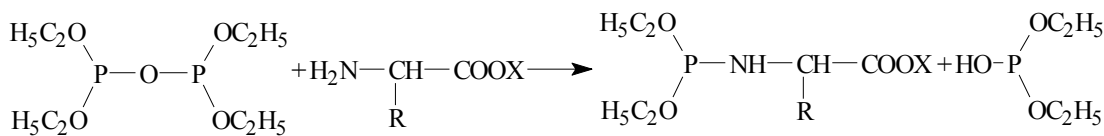
Амино гурухини активлаш

1) Изоцианатлар ҳосил қилиш. Изоцианатлар α -аминокислоталар эфирларини фосген билан қайнаб турган толуолда ўзаро таъсирлашувидан осон ҳосил бўлади:

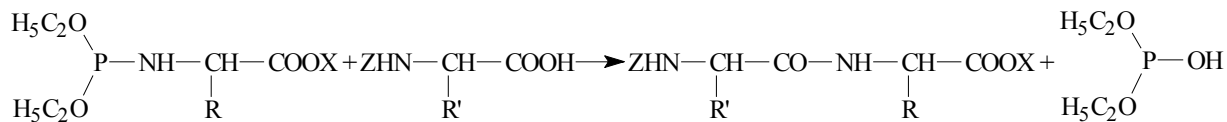


Дипептидлар синтезида рацемизация кузатилмайди.

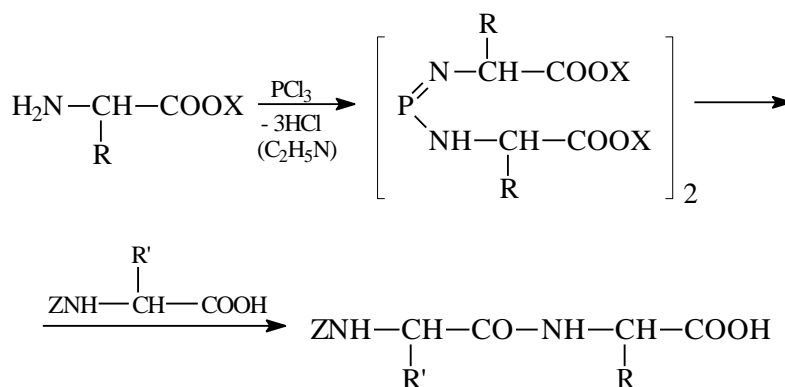
2) Фосфитамидалар ҳосил қилиш. Улар α -аминокислота эфирини ёки унинг гидрохлоридини тетраэтилпирофосфат билан ўзаро таъсирлашувидан ҳосил бўладилар:



Олинган фосфитаמיד аминогурухи ҳимояланган α -аминокислота билан дипептид ҳосил қилиб реакцияга киришади.



3) Фосфоразобирикмалар ҳосил қилиш. Улар учхлорли фосфорни α -аминокислоталар эфирлари ёки уларнинг гидрохлоридларини пиридинда ўзаро таъсирлашувидан ҳосил бўлади. Реакция маҳсулоти димер ҳолатда бўлади ва у реакция аралашмадан ажратилмасдан пептидлар синтези учун ишлатилади.

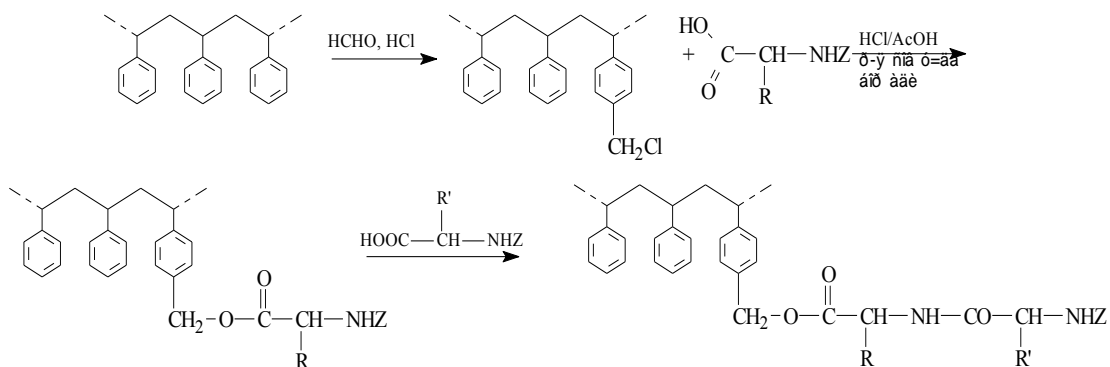


Шундай қилиб, α -аминокислоталар аминогурухини активлаш методлари ҳам етарли даражада кўп ва методни танлаш яна α -аминокислоталар характериға ва қўйилган вазифаларға боғлиқ.

Пептидларни қаттиқ фазада синтез қилиш (Меррифилд методи)

Пептидларни юқоридаги методларда синтез қилишнинг асосий камчилиги - кўп меҳнатлилиги, яъни реакциянинг ҳар бир босқичидан сўнг бирикмаларни тоза ҳолда ажратиб олишдир. Моддаларни ажратиб олиш босқичларини соддалаштириш мақсадида полимерларни ишлатиб қаттиқ фазада синтез олиб бориш методи таклиф қилинди. Бу метод ишлатилганда ҳар бир реакциядан ҳосил бўладиган маҳсулотни тоза ҳолатда ажратиб олишга ҳожат қолмайди. Бошланғич реагентлар ва қўшимча маҳсулотлар филтрлаш йўли билан ва эритувчилар билан ювиш орқали ажратиб олинади.

Бу методда ишлаш кўпроқ полистиролни қўллашга асосланган. Реакцион марказ полимерға хлорметиллаш реакцияси орқали киритилади:



Реакцияга киришмай қолган компонентлар ва қўшимча маҳсулотларни ажратиб олиш (филтрлаш, ювиш) осон бўлганлиги учун бу жараённинг автоматлаштирилишига муваффақ бўлинган.

Бу метод билан қорамолнинг 124 та α -аминокислотадан тузилган пептидин рибонуклеазидини (оксил) синтез қилишга эришилди. Аммо метод бир қанча камчиликларга ҳам эга. Масалан, Меррифилд методи билан синтез қилинган рибонуклеаза ферменти етарли даражадаги активликни кўрсатмади. Эҳтимол, бунга сабаб баъзи бир α -аминокислоталар қаттиқ фаза билан бирикмасдан ўтиб кетганлиги, шунингдек пептид боғини ҳосил қилиш реакцияси нотўғри кетиши натижасида полипептид кетма-кетлигининг нотўғри жойлашган бўлиши ҳам мумкин.

Амалда узун полипептид занжирини синтез қилиш учун, аввал қисқароқ полипептидларни синтез қилинади, кейин уларни дегидратацияловчи агентлар ёрдамида конденциялаш йўли билан уланади.

Пептидларни синтез қилиб олишда асосий муаммолардан бири уларни рацемизацияланиши ҳисобланади. Рацемизацияланишдан қутилиш учун пептидларнинг мураккаб эфирларини ферментатив гидролизга учратиш, пептид трет-бутил эфирларининг эркин ҳолатда турғун бўлишидан фойдаланиб кислотали гидролизга учратиш каби усуллардан фойдаланиш мумкин. Бу ўринда пептидларнинг бензил эфирларидан ҳам фойдаланса бўлади. Баъзи ҳолларда эса бу жараённи яхши бориши учун катализатор сифатида 1,2,4-триазол ҳам ишлатилади. Кейинги вақтларда пептид рацематларини антиподларга ажратишда хроматография методларидан кенг фойдаланилади. Масалан, Виланд ва Бендлар рацемат ҳолатидаги дипептидларни G-25 ва G-50 сефадекслари ёрдамида ажратишган. Худди шундай натижалар ион алмашинув смолаларини ишлатиб ҳам олинган.

Маъруза №3.

Фан: Биоорганик кимё

Мавзу: Оксиллар.

Ажратилган вақт: 4 соат

Асосий саволлар:

1. Оксилларнинг тарқалиши ва биологик функцияси.
2. Оксилларни тозалаш усуллари. Гель хроматография, ион алмашилиш, гидрофоб ва аффин хроматографиялари.
3. Оксилларнинг аминкислота таркибини аниқлаш

Биринчи асосий саволнинг баёни:

Оқсиллар юқори молекулали биологик бирикмаларнинг асосий синифларидан бири ҳисобланади. Улар табиатда жуда кенг тарқалган бўлиб, тирик мавжудотларнинг асоси ҳисобланган хужайралар таркибига киради. Уларда борадиган асосий жараёнлар - модда алмашинуви, бўлиниши ва кўпайиши хужайра оқсилларига боғлиқ. Тирик организмда кетадиган барча кимёвий ўзгаришлар оқсил моддаларининг бир тури ҳисобланган биокатализаторлар - ферментлар фаолиятига боғлиқ равишда амалга ошади. Кўпгина гормонлар, организмнинг яшаш жараёнини тартибга солувчи моддалар, биологик захар моддалар - токсинлар ва юқумли (инфекцион) касалликларни бошлаб берувчи моддалар - вируслар ҳам турли хил тузилишдаги оқсил моддалар ҳисобланади.

Оқсиллар томонидан бажариладиган кенг қамровли ишлар даражаси уларни кўп хилдаги кимёвий тузилишлари ва фазовий шаклларида ўз ифодасини топган. Оқсиллар икки синфга бўлинади: глобуляр ва фибрилляр оқсиллар.

Глобуляр оқсиллар думалоқ шар кўринишига ёки дукка ўхшаган урчуксимон формага эга бўладилар. Бу оқсиллар сувда ва тузларнинг сувли эритмаларида эрийдилар. Глобуляр оқсиллар фазовий тузилишлари билан баъзи ўзига хос жараёнда, яъни катализлаш, транспортлаш ёки регуляциялаш ишларида қатнашади. Глобуляр оқсилларга ҳамма ферментлар, кўпгина гормонлар, масалан инсулин (ошқозон ости безидан олинган), тироглобулин (қизилўнгач безларидан олинган), адренкортикотрон гормони (гипофизадан олинган), аллергия реакцияларига қарши курашувчи антителалар, тухум альбумини, кислородни ўпкадан тўқималарга ташувчи гемоглобин ва сувда эримайдиган, қонни қуюлишга олиб келувчи фибринга айланувчи оқсил-фибриноген киради.

Фибрилляр оқсиллар чўзиқ, ипсимон кўринишга эга молекулалардан иборат, улар сувда эримайдилар. Фибрилляр оқсилларга коллаген, кератинлар ва шойи фиброини кабилар киради. Улар ўзларининг кучли чўзилувчанлиги, чидамлилиги, ҳамда эластиклиги ёки қаттиқлиги билан катта аҳамиятга эга моддалар ҳисобланадилар. Фибрилляр оқсиллар ҳайвонлар тўқималарининг асосий тузилиш материали ҳисобланадилар. Улар сувда эримайдилар, шунинг учун тана толаларини ҳосил қиладилар. Масалан, кератин оқсили терида, сочда, тирноқда, шохларда ва патларда, коллаген ва миозинлар мускулларда, фиброин эса ипак тўқималарида бўлади.

Оқсиллар кимёвий таркиблари бўйича оддий (протеинлар) ва мураккаб (протеидлар) оқсилларга бўлинадилар. Оддий оқсиллар фақат α -аминокислоталарни тутади. Мураккаб оқсиллар таркибига α -аминокислоталардан ташқари оқсил бўлмаган, простетик гуруҳ (қандлар-углеводлар, нуклеин кислоталар, липидлар ва хоказолар) деб аталувчи қисмлар ҳам киради. Оддий оқсиллар эрувчанлиги бўйича 7та гуруҳга бўлинади:

1) Альбуминлар - сувда эрийди, аммоний сульфат тузи билан тўйинтирилса чўкмага тушади, иситилганда осон денатурацияга учрайди. Бу оксиллар ҳайвонлар организмида ҳам, ўсимликлар организмида ҳам учрайди, масалан, тухум альбумини, қон плазмаси альбумини, сутнинг лактальбумини, ўсимлик альбуминлари.

2) Глобулинлар - сувда эримайди, тузларнинг суюлтирилган эритмаларида эрийди. Эритмалари аммоний сульфат тузи билан чўктирилса чўкмага тушади, иситилганда коагуляцияга учрайди. Бу гуруҳ оксилларга қон плазмаси глобулини, мускул тўқимаси миозини, уруғлар эдестини киради.

3) Глутелинлар - ўсимлик оксиллари, сувда эримайди, аммо кислота ва ишқорларнинг суюлтирилган эритмаларида эрийди. Масалан, буғдой глутенини, гуручдан олинган орезенин.

4) Преламинлар - ўсимлик оксиллари, сувда эрийди, туз эритмаларида ҳам, сувсиз спиртда ҳам эримайди. 80%-ли сувли спиртда эритмага ўтади. Бу оксиллар асосан ўсимликларнинг уруғларида бўлади (зеин, гордеин, глиадин).

5) Альбуминоидлар ёки силепротеинлар - булар сувда, туз эритмаларида, спиртда ва суюлтирилган кислота ва ишқорларда эримайди. Улар ҳайвонларда учрайдиган оддий оксиллардир. Масалан, соч кератини, суяк коллагени, ипак фиброини.

6) Протаминлар - таркибида кўп миқдорда аргинин тутувчи асосий кичик молекулали оксиллар. Улар сувда яхши эрийдилар, аммиакнинг суюлтирилган эритмасида эримайди, иситилганда коагуляцияланмайди. Улар балиқларнинг спермалари таркибида учрайди, масалан, кипренин (карп балиғи спермасидан олинган).

7) Гистонлар - сувда эрийди, аммиакнинг суяқ эритмасида эримайди, протеинларга ўхшаб иситилганда денатурацияга учрамайди. Улар асосли оксиллар ҳисобланади. Шунинг учун улар хужайралардаги кислоталар билан масалан, нуклеин кислоталар билан туз ҳолатдаги комплексларни беради.

Мураккаб оксиллар таркибидаги оксил бўлмаган компонентлар табиати билан классификацияланадилар:

1) Нуклеопротеидлар - улар оддий асосли оксиллар протаминлар ёки гистонлардан таркиб топган ва оксил бўлмаган компонентлар - нуклеин кислоталар билан туз ҳолатдаги боғлар орқали боғланган бирикмалардир. Нуклеопротеидлар хужайралар ва рибосомалар ядросининг типик ўзига хос моддалари ҳисобланадилар.

2) Гликопротеидлар - таркибига углеводлар кирган мураккаб оксиллар. Масалан, бириктирувчи тўқималар оксили, қоннинг гуруҳ моддалари, баъзи бир гормонлар (гонадотрон гормони).

3) Хромопротеидлар - оддий оксил ва бўялган протетик гуруҳлардан таркиб топган мураккаб оксиллар. Масалан, хромофор сифатида металпорфирин тутувчи гемоглобин, цитохромлар, каталаза ҳамда хромофор гуруҳи сифатида ретеналнинг п-цис-изомерини тутувчи кўргич пурпури - родопсин ва протетик гуруҳ - рибофлавин тутган флавопротеидлар.

4) Фосфопротеидлар - бу оксиллар таркибига фосфат кислотаси киради. Фосфат кислотаси серинни гидроксил гурухи билан эфир ҳосил қилади. Сут казеини ва тухумдан олинган вителлин фосфопротеидларга типик мисол бўла оладилар.

5) Липопротеидлар - таркибида липидлар, хусусан, фосфолипидлар тутувчи мураккаб оксиллар. Улар ҳайвонот ва ўсимликлар оламида кенг тарқалган. Липопротеид комплекслари мия, қон, сут, ўсимлик хлоропластлари кабиларнинг оксиллари таркибига киради. Липопротеид тузилиши компонентлари хужайра ичидаги мембраналарда ҳам бор.

Оксилларни ажратиб олиш усуллари

Оксилларни табиий манбаълардан ажратиб олишнинг асосан иккита усули мажуд:

1. Эрувчанлигига қараб ажратиш.

2. Молекуланинг катта-кичиклигига қараб ажратиш.

1) Оксилларни тузлаб чўктириш. Масалан, тухум оқини олиб сув билан аралштириб унга туз солинса оксил чўкади. Сутдан ҳам шундай қилиб оксилни чўктириш мумкин. Бунда сув туз билан солватлар ҳосил қилади, оксил молекуласи эса чўкади.

Тузлаб чўктиришда маълум тузлар ишлатилади; бунинг учун:

а) тузлар оксил молекуласи билан ўзаро таъсирлашмаслиги керак; б) тузларнинг эрувчанлиги температурага кам боғлиқ бўлиши керак; в) туз сувда жуда яхши эриши керак, масалан, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 л сувда 25°C да 541 г, 0°C эса 515 г эрийди; NaCl эса 1 л сувда 25°C да бор-йўғи 160-170 г эрийди. Шу сабабли чўктиришда асосан $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ишлатилади, у оксиллар билан реакцияга киришмайди.

2) Оксилларни изоэлектрик нуқтада чўктириш.

Изоэлектрик нуқтада оксиллар зарядларга эга эмас, улар ўз зарядларини йўқотади. Оксилларнинг сувдаги эритмасига кислота ёки ишқор таъсир эттирилганда уларнинг маълум қийматларида оксил ўзининг электрик хусусиятини йўқотади ва изоэлектрик нуқтага келади. Бунда улар зарядсизланади ва натижада чўкади.

3) Оксилларни органик эритувчилар билан чўктириш.

Бунда оксилларнинг сувдаги эритмасига сувда яхши эрийдиган органик эритувчилар таъсир эттирилади (спирт, ацетон). Эритувчиларга қуйидаги талаблар қўйилади:

а) оксил структурасига таъсир қилмаслиги;

б) оксиллар билан реакцияга киришмаслиги.

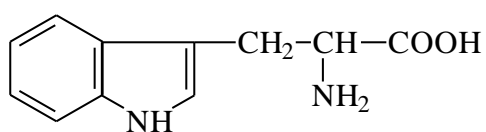
Эритувчи таъсир эттириб чўктириш жараёни паст температурада боради. Бунинг механизми худди туз билан чўктириш усулига ўхшайди.

Оксилларнинг аминокислотали таркибини аниқлаш

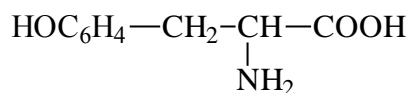
Табиий полипептидлар ва оксиллар тузилишини аниқлашда дастлабки вазифа уларнинг α -аминокислотали таркибини топиш ҳисобланади. Бунинг учун асосий метод бўлиб гидролиз хизмат қилади. Оксиллар гидролизининг бир неча услублари мажуд:

1. *Кислотали гидролиз (H_2SO_4 , HCl).*

Бундай гидролиз натижасида баъзи бир α -аминокислоталар парчаланадилар. Масалан, триптофан ва қисман тирозин.



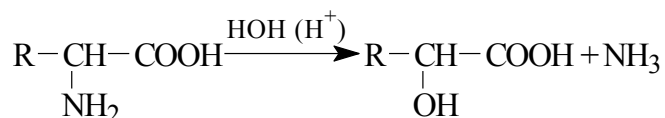
Триптофан



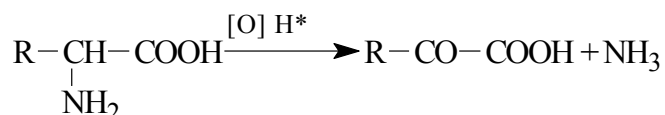
Тирозин

Бундан ташқари, кислотали гидролиз натижасида бир қанча α -аминокислоталар иккиламчи реакцияга учрайди, масалан:

а) гидролитик дезаминлаш



б) оксидлашда дезаминлаш

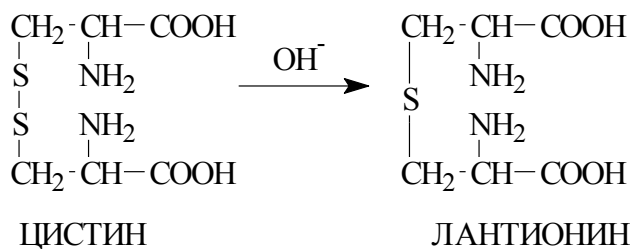


в) хлорид кислота ва сирка кислоталар аралашмаси билан гидролиз қилиш. Бу реакция 37°C да боради ва асосан пептидлар ажратиб олинади.

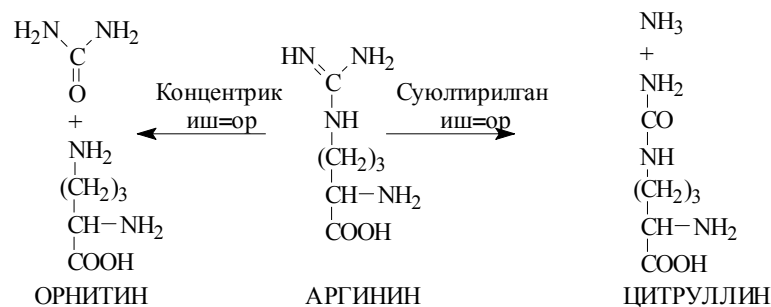
г) автоклавда олиб бориладиган гидролиз. Бунда оқсилга 10 атм. босимда ва 180°C да 2-3% ли кислота таъсир эттирилади. Гидролиз тўлиқ бормайди, бир қисм пептид ва дикетопиперазинлар ўзгаришсиз қолади. Шунинг учун бу методдан оқсилдан дикетопиперазинлар ажратиб олиш учун фойдаланилади.

2. *Ишқорий гидролиз (суюлтирилган ишқорлар).*

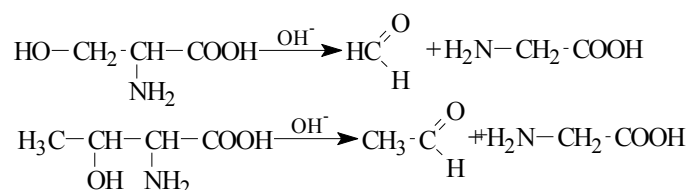
Бу шароитда аргинин ва цистин тўлиқ ҳолда, серин, треонинлар эса қисман парчаланадилар. Аксарият α -аминокислоталар рацемизацияланадилар. Цистин юмшоқ шароитда лантионинга айланади:



Аргинин кучсиз ишқорий эритмада цитруллин ва аммиак, концентрланганида эса орнитин ва мочевиани ҳосил қилади:



Бу реакциялар билан бир қаторда альдоль бўйича қайта зичланиш реакцияси ҳам кузатилади, бунда С-С боғи узилиши билан альдегид ва глицин ҳосил бўлади:



3. Ферментатив гидролиз.

Оқсиллар овқат ҳазм қилиш йўли ферментлари - пепсин, трипсин ва пептидазалар ёрдамида парчаланадилар.

Пепсин ошқозонда сақланади, трипсин ошқозон остки безларидан ажралиб чиқади, пептидазалар эса ичакнинг шиллик пардасидан чиқади. Ферментатив гидролиз асосан, тўлиқ бўлмаган босқичма-босқич гидролиз олиб бориш учун қўлланилади.

Шундай қилиб, юқорида баён қилинганлардан кўриниб турибдики, гидролиз натижасида α-аминокислоталарда ҳар хил ўзгаришлар содир бўлиши мумкин. Бу ҳамма жараёнлар α-аминокислоталарга нисбатан пептидларга янада кўпроқ хосдир.

α-Аминокислоталарнинг гидролиз вақтидаги бундай ўзгариши катта аҳамиятга эга, чунки гидролиз натижасида нафақат α-аминокислоталарнинг парчланиши, балки уларнинг бошқа α-аминокислоталарга айланиши ҳам кузатилади. Агар бу вақтда, одатда оқсилларда учрамайдиган, масалан, орнитин ёки лантанионин α-аминокислотаси ҳосил бўлса, у вақтда унинг ҳақиқий эканлиги осон аниқланади.

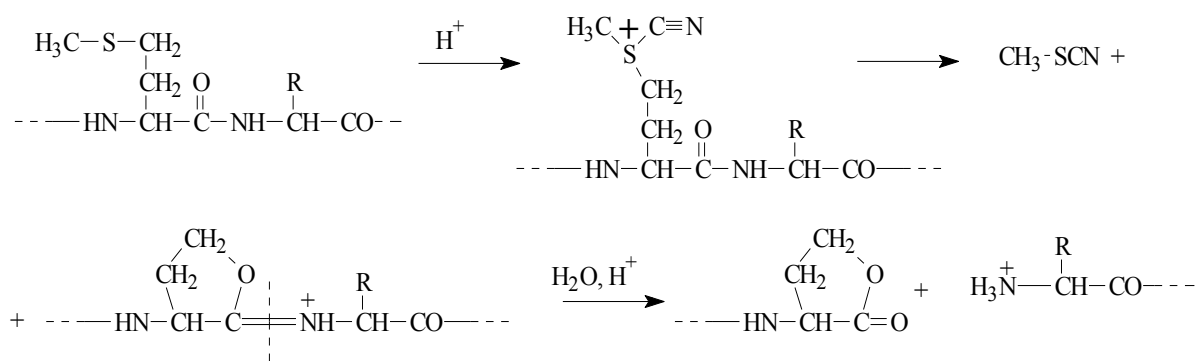
Методнинг янада жиддий камчилиги оқсил таркибига кирувчи α-аминокислоталар, масалан, глициннинг ҳосил бўлишидир, чунки бу нотўғри хулосаларга олиб келиши мумкин.

Ҳозирча оқсиллар молекуласининг бирламчи тузилишини тўлиқ аниқлаш имконини берадиган методлар йўқлиги сабабли полипептид боғини кимёвий реагентлар билан ёки протеолитик ферментлар иштирокида специфик парчалашга учратилади.

Пептидларнинг фрагментларидан ҳосил бўлган аралашма бўлинади (таксимланади) ва уларнинг ҳар бири учун α-аминокислота таркиби ва α-аминокислота кетма-кетлиги аниқланади. Ҳамма фрагментлар тузилиши аниқлангандан сўнг уларни бошланғич полипептид занжирида жойлашиш тартибини аниқлаш лозим бўлади. Бунинг учун оқсил бошқа агент ёрдамида

парчаланишга учратилади ва пептидлар фрагментининг биринчи йиғиндисидан фарқланувчи иккинчи йиғиндиси олинади, улар ажратилади ва бир хил усулда анализ қилинади. Оксилнинг бирламчи тузилишини текширишни охирги этапда полипептид занжирларининг сони ва агарда бор бўлса, дисульфид боғларининг жойлашишини аниқлаш орқали олиб борилади.

Оксилларни фрагментациялаш учун янада спецификроқ ва ҳаммасидан кўпроқ ишлатиладиган метод - метионин қолдиғи бўйича бромциан билан парчалаш ҳисобланади. Бу жуда танлаб таъсир қилувчи метод ҳисобланади, уни 1961 йили Гросс ва Витканлар тақдим этишган. Бромциан билан реакция метиониннинг оралиқ маҳсулоти ҳисобланган циансульфонил ҳосиласининг ҳосил бўлиши билан боради ва бу маҳсулот кислотали шароитда тезда гомосеринни иминолактонига айланади ва яна ўз навбатида имин гуруҳини чиқиб кетиши билан тез гидролизланади. Пептидлар С-охиридан олинadиган гомосерин лактони гомосерингача қисман гидролизланади, натижада ҳар бир пептид фрагменти (С-охиргисидадиган бошқаси) икки хил шаклда, яъни гомосерин ва гомосеринлактон ҳолда бўлади.

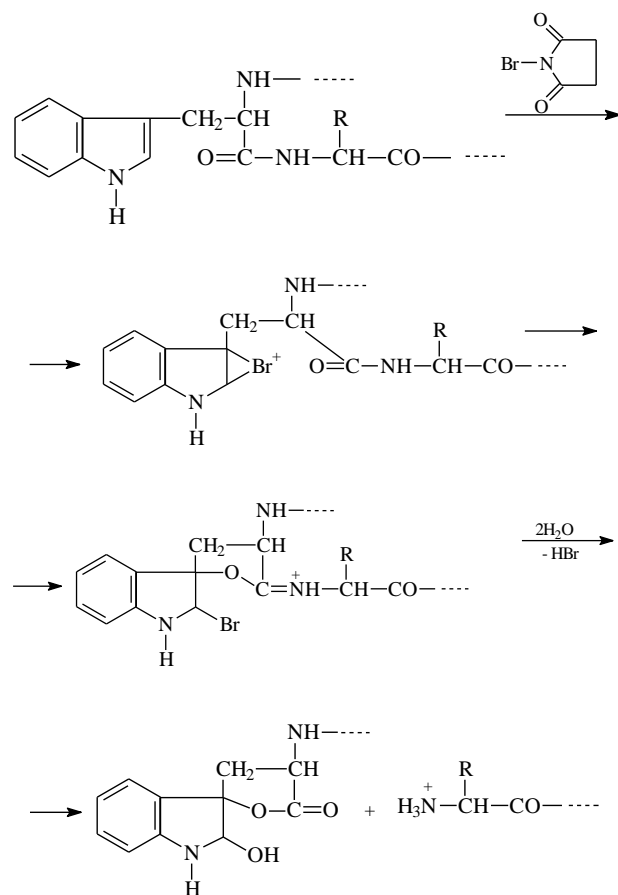


Реакцияни одатда хона хароратида, 15-30 соатда кучли кислотали муҳитда (70% лик НСООН), метионинни ҳар бир қолдиғига 100 карра ошиқча бромциан олинган ҳолда олиб борилади.

Бу шароитда метионин қолдиғи билан ҳосил бўлган боғлар одатда 90-100% парчланади (ажралади). Метиониннинг серин ва треонин билан ажралишлари қисман содир бўладиган боғларидан ташқари оксилларнинг карбонил гуруҳидан триптофан қолдиғини чиқариб ташлаш учун кўпгина методлар таклиф қилинган. Бу мақсад учун қўлланиладиган реагентлардан бири N-бромцуксинимид ҳисобланади. У оксилнинг карбонил гуруҳидан триптофани ажратиб чиқаради.

Электрофиль агент таъсирида карбонил гуруҳидаги триптофан қолдиғи индол халқасининг кўшбоғи билан 1,5 ҳолатда ўзаро таъсирлашишга қобилиятли. Бунда индолни гидроксииндолингача пептид занжирини узилиши билан кечадиган оксидланиш содир бўлади.

Реакция реагентни 2-3 карра ортиқча сарфлаш билан рН 4, 20⁰С да, 2 соат ичида олиб борилади. Реакциядаги пептидлар унуми 50-90%, оксиллар унуми 10-60%.



Оқсиллар ва уларнинг таркибига кирувчи аминокислотларни аниқлаш учун кўпгина рангли реакциялардан фойдаланилади, лекин, кўпинча оқсиллар таркибидаги маълум аминокислоталарга қараб ҳар хил реакцияни ҳам қўллаш мумкин:

1) Биурет реакцияси - бу реакция ҳамма оқсиллар учун характерли бўлиб, улар таркибида пептид боғлари борлигини кўрсатади ва у куйидагича бажарилади: Оқсилга ортиқча миқдорда концентрланган натрий ишқори эритмаси қуйилади ва озгина мис сульфат тузи қўшилади, натижада бинафша ранг ҳосил бўлади.

2) Ксантопротеин реакцияси. Таркибида фенилаланин, тирозин ва триптофан аминокислоталари бўлган оқсилларга концентрланган нитрат кислотаси қуйилади, бунда нитроланиш реакцияси кетиб, сариқ ранг ҳосил бўлади, сўнгра унга аммиак қўшилса сариқ - қовоқ рангга айланади.

3) Миллон реакцияси - оқсил эритмасига симобнинг таркибида нитрит кислотаси тутувчи нитрат кислотасидаги эритмасини кўшиб қайнатилса жигар ранг-қизил чўкма ҳосил бўлади. Бу ҳодиса оқсил таркибида тирозин аминокислотаси борлигини билдиради.

4) Паули реакцияси. Сода солинган оқсил эритмасига диазобензолсульфо кислота қўшилса қизил ранг ҳосил бўлади ва уни кислотали шароитга келтирилса сариқ-қизил ранггача ўзгаради. Бу реакция оқсил таркибида тирозин ва гистидин борлигини кўрсатади.

5) Адамкевич, Гопкинс ва Коул реакцияси. Оқсил эритмасига гликсаль ва концентрланган сульфат кислота қўшилганда кўк-бинафша ранг

ҳосил бўлади. Бу рангнинг ҳосил бўлиши оксил таркибида триптофан аминокислотаси борлигини кўрсатади.

Маъруза №4.

Фан: Биоорганик кимё

Мавзу: Оксилларнинг тузилиши ва уларни аниқлаш.

Ажратилган вақт: соат

Асосий саволлар:

1. Оксилларнинг бирламчи ва иккиламчи тузилиши ҳамда уларни аниқлаш усуллари.
2. Оксилларнинг учламчи ва тўртламчи тузилиши ҳамда уларни аниқлаш усуллари.

Биринчи асосий саволнинг баёни:

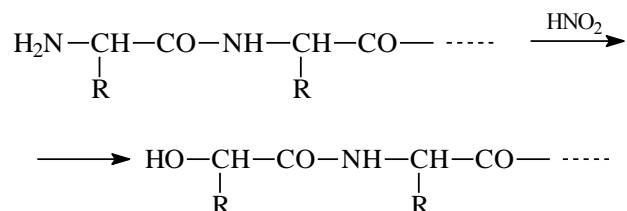
Ҳамма оксиллар ўзларининг бирламчи тузилишлари бўйича фарқланадилар. Мумкин бўлган бундай тузилишларнинг бўлиши миқдорий жиҳатдан амалда чегараланган эмас. Дарҳақиқат, 15 аъзоли ҳар хил α -аминокислотадан тузилган пептид учун уларни 20^{15} ўзаро жойлашиш имконияти мавжуд. Биологик вазифани, хусусан, оксиллар физиологик таъсирининг молекуляр механизмини англаш унинг тузилишини ҳар тарафлама муфассал билмасдан мумкин эмас.

Шундай қилиб, оксил ёки пептидга кирувчи α -аминокислоталарнинг таркибини ва молекуляр массасини аниқлангандан кейинги навбатдаги вазифа пептид занжиридаги α -аминокислоталар қолдиқлари кетма-кетлигини аниқлаш ҳисобланади. Бу жуда мураккаб вазифа одатда охирги α -аминокислоталарни аниқлашдан бошланади. N-охирги ва C-охирги α -аминокислоталар мавжуд. N-охирги α -аминокислоталарни аниқлаш муфассал ишлаб чиқилган, C-охирги α -аминокислоталарни аниқлаш эса кам ўрганилган.

N-охирги α -аминокислоталарни аниқлаш

- 1) Нитрит кислотасини таъсир эттириш.

Бунда гидролиздан сўнг битта α -аминокислота йўқолади, унинг ўрнига α -оксикислота ҳосил бўлади:

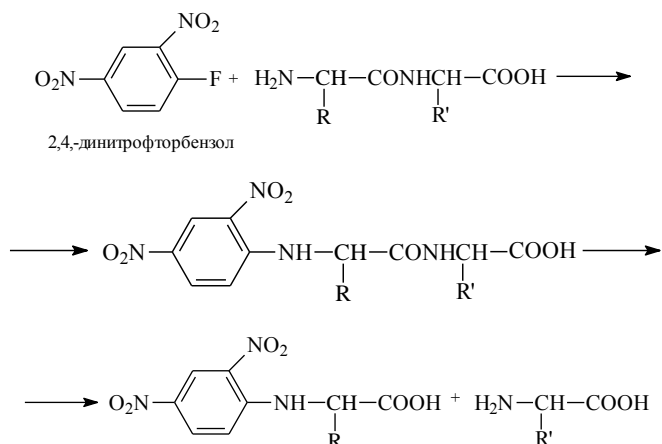


- 2) Алкиллаш ва ациллаш.

N-охирги α -аминокислота алкилланади ёки ацилланади ва натижада унинг алкилли ёки ацилли ҳосиласи ҳосил бўлади.

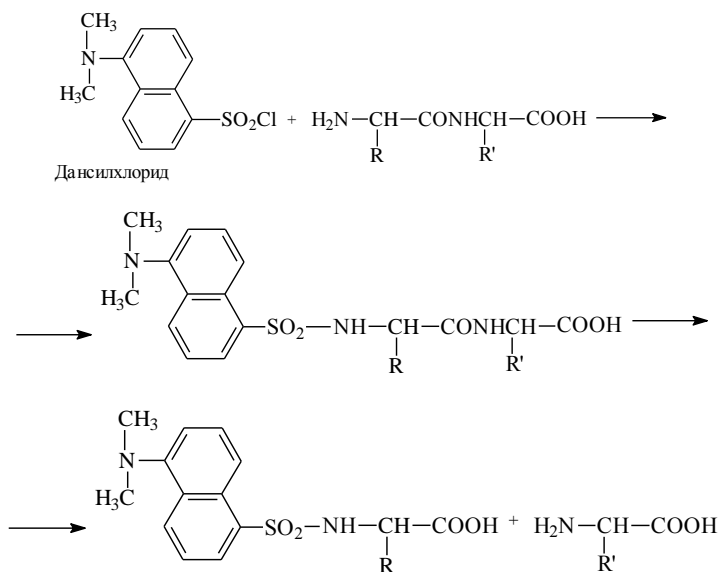
- 3) Оксилни динитрофениллаш.

Пептид ёки оксил 2,4-динитрофторбензол билан кучсиз ишқорий шароитда (рН 9), 20-25⁰С да ишланади (бу реакцияни 1945 йили Сенджер олиб борган):



α -Аминокислоталарнинг динитрофенилли ҳосиласи сарик рангли кристалл моддадир. Гидролиздан сўнг ҳосил бўлган α -аминокислота юпқа қатламли хроматография (ЮқХ) бўйича стандартлар билан солиштириб аниқланади.

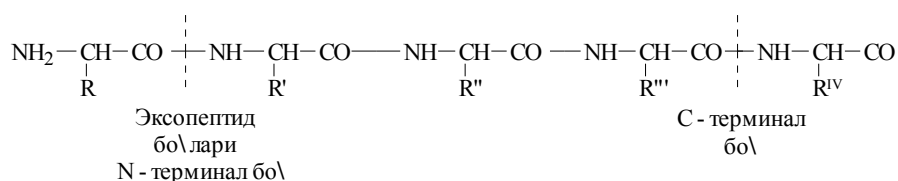
4) 1-Диметиламинонафталин-5-сульфохлорлаш (дансиллаш) реакцияси, бу реакция 1963 йили Гревед ва Хартлилар томонидан ўрганилган.



Лизин ёки аргининдан тузилган пептидларни дансил ҳосилалари олинади ва гидролиз қилиниб (5,7 н НСl, 105⁰С, 12-16 соатда), лизин ёки аргинин α -аминокислоталари олинади ва ЮқХ орқали стандартлар билан солиштириб аниқланади.

Дансил гуруҳларининг интенсив флуоресценцияланиши туфайли α -аминокислоталарни жуда оз миқдордаги дансил ҳосилаларини ҳам аниқлаш ва ўлчаш мумкин бўлади.

5) Янада кўп тарқалган методлардан бири пептидларга фенилтиоизоцианатларни таъсир этиш ҳисобланади, бу реакция 1950-1956 йилларда Эдман томонидан олиб борилган:



Полипептид занжирларининг миқдорини аниқлаш.

Дисульфид кўприклари миқдори ва жойлашшини аниқлаш.

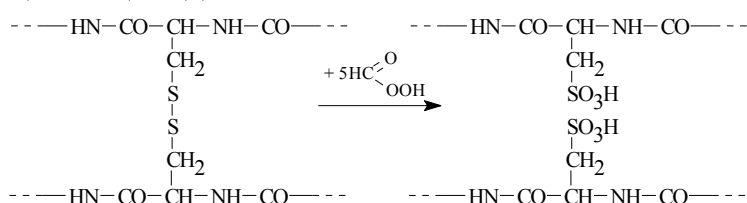
Катта молекуляр оғирликка эга бўлган оқсиллар, одатда, бир нечта полипептид занжирлардан иборат бўлади. Ҳар бир занжир умумий ҳолда N-терминал томонда битта эркин ҳолдаги α-аминогурухга ва С-терминал томонда битта α-карбоксил гурухга эга. Аммо, баъзи бир оқсилларда α-аминогурух яширинган ҳолатда, ацетил ёки бошқа радикал билан алмашган бўлади.

Масалан, тамаки ёғи вирусининг (ВТМ) оқсилидаги полипептиднинг N-охирги қисми N-ацетилсерин-тирозиндан иборат бўлади. Бу ҳолда α-NH₂ гурухини аниқлаш учун олдиндан дезацетиллаш реакциясини ўтказиш керак бўлади. Оқсил молекуласидаги α-аминогурух сони, α-карбонил гурухи сонига тўғри келиши шу оқсил молекуласидаги иштирок этаётган полипептид занжирлари хусусий сонини кўрсатади.

Шундай қилиб, полипептид занжирлари сони N- ва С-охирги гурухларни аниқлаш йўли билан мумкин бўлади. Оқсиллар молекуласидаги полипептид занжири ҳар хил кўринишдаги кўндаланг боғлар ёрдамида боғланган. Улардан энг муҳими цистеинни оксидланиш маҳсулоти ҳисобланган цистин α-аминокислотаси билан уланган боғ ҳисобланади. Бу α-аминокислота оқсил тузилишида алоҳида ўринни эгаллайди.

Цистеиннинг ён радикаллари оксидланишида цистин ҳосил бўлиши мумкин, бунда ҳосил бўладиган цистин кўприги иккита ҳар хил полипептид занжирини бириктириши ҳамда битта занжирни ҳар хил томонини боғлаши мумкин.

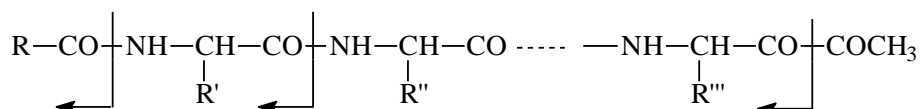
Бундай тикилишнинг бўлиши занжирни ажралишга ва улардаги α-аминокислоталарнинг алмашишини ўрганишга йўл қўймайди. Шунинг учун дисульфид боғларини бузиш ва бўшаган занжирларини ажратиш керак бўлади. Буни ҳаммадан яхши кучли оксидловчи, пептид боғини узмайдиган ва α-аминокислотани кам жароҳатлайдиган перчумоли кислотаси ёрдамида амалга ошириш мумкин. Бунда цистеин кўприги иккита цистин кислотаси молекуласигача оксидланади ва полипептид занжирларида кучли кислотали SO₃H гурухини ҳосил қилади.



Бир-биридан ажратилган полипептид занжирлар ионалмашув хроматография методи билан ажратилиши ва алоҳида текширилиши мумкин.

Бу метод билан шунингдек дисульфид кўпригини битта занжир ичида ёки бир неча занжирлар оралиғида жойлашганлигини ҳам аниқлаш мумкин.

Кейинги вақтларда пептидлар ва оксилларда аминокислота кетма-кетлигини аниқлашда масс-спектрометрик методдан фойдаланиш ривожланиб бормоқда. Бунда пептид ёки оксил молекуласини N-ацилметил эфирига айлантирилади. Бу ҳолатда ҳар хил аминокислотали пептидлар фрагментацияси мавжудлиги ва N-ацилтутувчи амид гуруҳи бўйича парчаланишини аниқланган. Бундай аминокислотали кўринишда фрагментацияланиш пептид молекуласидаги занжирда аминокислоталар қолдиғини қандай кетма-кетликда эканлигини билдиради.

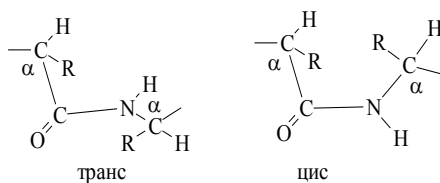


Пептид боғи ва унинг фазовий тузилиши

Оксилларнинг асосий тузилиши бирлиги пептид боғи ҳисобланади:



Оксиллардаги пептид боғлари ҳозирги тасаввурларга асосан амалий жиҳатдан ясси бўлади:



Оддий шароитда ясси системадан биров оғиш кузатилади ҳолос (5-10%). Пептид боғи одатда оддий C-N боғидан тахминан 10% га қисқароқ ва «қисман иккиламчи» боғ -C_αN- харақтерига эга.

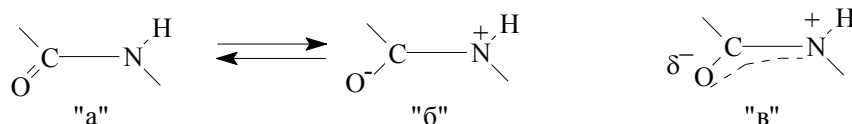
C-O боғининг узунлиги 1,24 Е

C-N боғининг узунлиги (бирламчи аминларда) 1,47 Е

C-N боғининг узунлиги (пептидларда) 1,32 Е

C_αN боғининг узунлиги 1,25 Е

Бу муаммони ўрганишда Полинг ва Корилар рентгенструктура анализи методи бўйича қатор модели ди- ва трипептидларни анализ қилишиб, 1948-1955 йилларда C-N боғини алоҳида табиатини тушунтириб пептид боғининг икки формаси «а» ва «б» орасидаги резонанс кўриниш деб тақлиф қилдилар.

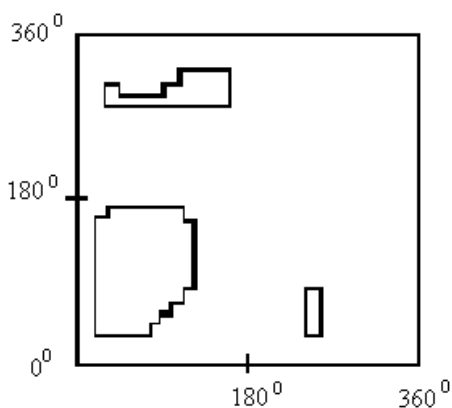


Яъни, оксилларда ва пептидларда C-N боғи азот атомининг тақсимланмаган жуфт электронларини карбонил гуруҳининг π-электрон системаси билан ўзаро таъсирлашуви бўйича қисман қисқа (иккиламчи) бўлади «в» ва бу C-N боғи атрофида қийин айланишга олиб келади. Айланиш тўсиғининг энергияси 63-84 кДж/моль ни ташкил қилади.

Одатда, пептид боғи транс конфигурацияга эга, яъни транспланардир. Оксилларда пептид боғи амалий жиҳатдан ҳар доим транс-конфигурацияга

эга. Пептид боғининг ясси формада эканлиги кўпгина амалий натижалар орқали исботланган.

Анча содда ҳолдаги пептидларда, яъни ди- ва трипептидларда, водород боғлари йўналишини тажриба усулларида ташқари назарий ёндошиш йўли билан ҳам аниқлаш мумкин бўлади. Масалан, жуда содда тузилишга эга бўлган пептидлар Гли-Гли ва Гли-Ала лар $C-C_{\alpha}$ ва $N-C_{\alpha}$ боғлари атрофида эркин айланишда ҳосил бўлиши мумкин бўлган конформерлар учун мос келадиган конформацион ҳолатларнинг тўлиқ қатори ҳисоблаб чиқилган. Олинган ҳисоб натижалари одатда конформацион карталар деб аталувчи диаграмма кўринишида (3-расм) акс эттирилади. Бундай карталарда боғларнинг бурилиш бурчаклари ҳисобга олинади ва энг эътиборли конформациялар чегараланган майдон сифатида тасвирланади.



3-расм. Глицилаланин учун конформацион пептид картаси

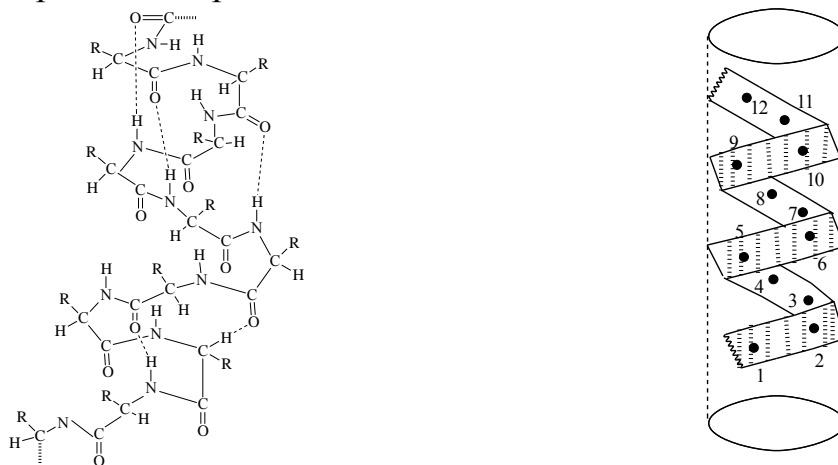
Оқсилларнинг иккиламчи тузилиши (α -спираль, β -тузилиш, β -букилиш)

Иккиламчи тузилиш занжирнинг ўралганлигини аниқлаш билан аниқланади, хусусан у α -спираль ёки β -тузилишни ҳосил қилиши мумкин.

Ясси транс-пептид гуруҳи тузилишининг ҳар тарафлама қатъий элементи ҳисобланади, эркин айланиш $N-C_2$ ва $C-C_1$ боғлари атрофида бўлиши мумкин. Полипептид занжирининг фазовий конфигурацияси, аниқроғи полипептид спирали, оқсилни иккиламчи тузилишини белгилайди. Водород боғлари алоҳида полипептид занжирлари орасида ҳам, ҳамда битта занжирни бўлаклари орасида ҳам вужудга келиши мумкин. Ўз-ўзидан тушунарлики, водород боғлари қанчалик кўп бўлса, молекула шунчалик турғун бўлади. Шунинг учун полипептид занжирлари иложи борица энг кўп миқдорда водород боғлари билан кескин мустаҳкам тахланишга, спираллар ҳосил қилишга интилади. Буларни вужудга келиши α -спираль ва β -формаларда бўлиши мумкин.

α -Спиралда водород боғлари карбонил кислородини боғлайди, α -аминокислота қолдиғининг амид водороди ва водород боғлари спираль ўқи бўйича йўналган бўлади. α -Аминокислота қолдиқларини ҳамма ён занжирлари спиралдан ташқарига жойлашган. Ён радикаллар орасидаги катта масофа, уларни битта α -спираль таркибида ўзаро таъсирлашув имкониятини

инкор этади. Биз юқорида айтганимиздек, водород боғларига эга бўлган α -спираль оксил молекуласидаги полипептид занжирини анча турғун конфигурацияси ҳисобланади. α -Спираль ўнга ва чапга қараган бўлиши мумкин. Чапга қарагани кам бўлади. Водород боғлари α -спираль ўқиға паралел бўлади. қарийб ҳамма -NH-CO- боғлар водород боғини ҳосил қилади. α -Спиральнинг тўлиқ ўрами 3,6 α -аминокислота қолдиғидан ташкил топган. α -Спиральнинг 1-одими 5,4 Е га тенг. α -Аминокислота қолдиқлари орасидаги масофа 1,5 Е, α -спиральнинг радиуси 2,3 Е. Иккиламчи тузилишнинг бошқа варианты қўшни полипептид занжирини молекулалараро водород боғлари билан боғловчи тузилиш β -тузилиш ҳисобланади. Бундай системадаги водород боғларининг, α -спиральдагидан фарқи, полипептид занжири йўналишиға перпендикулярлиғидадир. Иккита бирламчи бирикадиган петид гуруҳларини ясси ҳолда тузилиши бу вақтда тахламларни вужудға келишиға олиб келади. Тахламлар чекасида ён радикалларни сақловчи α -углерод атомларида жойлашган.



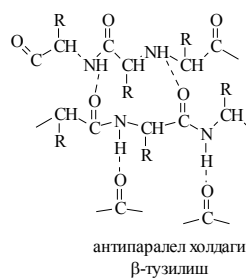
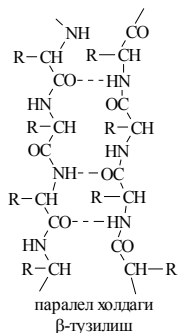
α -Спираль тузилиши

Ҳозирги вақтда спиралларни ва тахламларни ҳамма занжирнинг гуруҳларини $S\alpha$ -C ковалент ўзаро таъсирлашуви ҳамда $S\alpha$ -N боғлари атрофида эркин айланишидан келиб чиқадиган стерик факторлар натижасида эканлиги кўрсатилган.

Оқсилларда водород боғларининг бўлишини тасдиқлашни имид боғларини дейтерий ёки тритий тутувчи сув билан протон алмашиш тезлигини ўрганиш билан амалға оширилиши мумкин. Маълумки кичик молекулали пептидларда бу водород атоми сув билан беҳисоб жуда тез алмашади.

Катта миқдор водород боғларига эга бўлган юқори молекулали полипептидларда имид водородининг алмашиши жуда қийин, сустлашган. Бу шундан дарак берадики, деярли ҳамма пептид гуруҳлари водород боғлари билан боғланган, занжирнинг ўзи эса тахланган спираль ҳолатда ўралган бўлади. Инсулинда 49 та имид водородидан 30 таси секин аста алмашади, яъни спирализацияланиш даражаси тахминан 60% ни ташкил қилади. Оқсилларда водород боғларини борлигини тасдиқловчи бошқа омиллар амид гуруҳи билан водород боғларини ҳосил қилишға олиб келувчи катта

кобилиятга эга бўлган агентлар мочевинанинг концентрланган эритмасини гуанин учфторсирка кислотаси таъсирида деструкцияланиш ва денатурацияланиш ҳисобланади.



Водород боғлари билан бир қаторда оқсил молекуласини ҳосил қилишда бошқа боғлар ҳам катта роль ўйнайди. Уларга аввало, иккита цистеин қолдиғининг оксидланишидан ҳосил бўладиган дисульфид боғлари киради.

Оқсил ва пептидларнинг иккиламчи тузилишини эритмаларда аниқлаш оптик айланиш дисперсияси ва айланма (циркуляр) дихроизм методлари орқали амалга оширилади. Бу методлар оқсил ва пептид молекулаларини фазовий жойланишидаги динамик ўзгаришларини ўрганишга яқиндан ёрдам беради. Оптик айланиш дисперсияси эгри чизиғининг табиатига кўра нафақат α- ва β-тузилишларига тўғри келувчи занжир майдонини аниқлаш, балки фазовий тузилишга у ёки бу факторлар (рН муҳитни, эритувчиларнинг ўзгариши ва ҳоказо) нинг таъсирини кузатиш ҳам мумкин бўлади.

Маълумки, α-спиралли полипептидлар оптик айланма дисперсияда Коттон эффектини 233 дан 198 ммк гача бўлган ютилиш соҳасида бериши кўрсатилган. Бунда тўлқин амплитудаси молекула майдонидаги α-спираллар сонига боғлиқ. Шу ўлчамда 28 та табиий оқсилларни, асосан, ферментларни Коттон эффектлари катталиги ўлчанганда улардан 20 тасини Коттон эффекти рН=4,35 да α-спиралли полипептид деб ҳисоблаш мумкин бўлган поли-L-глутамин кислотасиникига ўхшаш эканлиги аниқланган.

Полипептид ва оқсил молекулалари тузилишида водород боғлари борлиги уларнинг Иқ-спектрларидаги 1650 см^{-1} ва 1550 см^{-1} ҳамда $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ да ифодаланган амид чизиқларининг сурилиши билан аниқланади. Полипептид молекуласидаги водород боғлари йўналишини аниқлаш учун Иқ-спектридаги уларга мос келган ютилиш чизиқлардаги дихроизм ҳодисасидан фойдаланилади. Бу метод полярлашган инфрақизил нурлар ютилиш бурчагининг интенсивлигига асосланган. Агарда полярлашган нурнинг йўналиши водород боғлари йўналишига паралелл бўлса, ютилиш минимал ҳолатда бўлади.

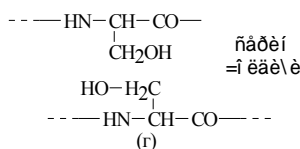
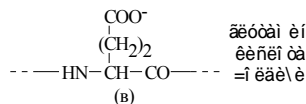
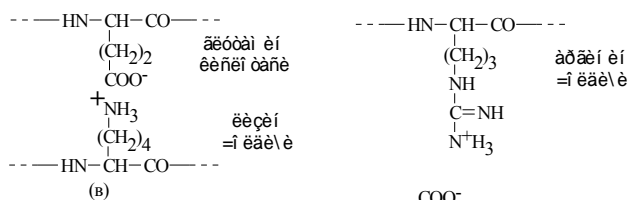
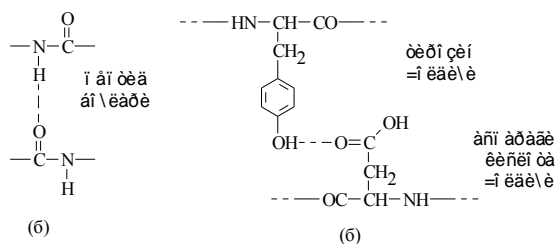
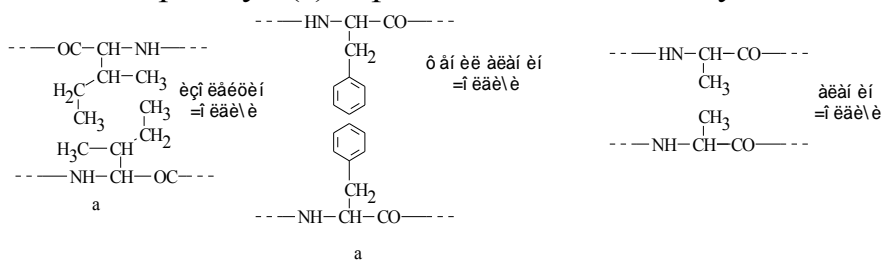
Оқсиллар молекуласида юқори даражадаги иккиламчи тузилиш ва домен деб аталувчи тузилишлар ҳам мавжуд. Оқсиллардаги юқори даражадаги иккиламчи тузилиш улардаги α-спираллар билан β-тузилишлар орасида янгидан ҳосил бўладиган водород боғлари ҳисобига вужудга келади. Масалан, коллаген оқсилини α-типдаги спираль тузилиши унинг β-типдаги

оқсил тузилиши билан молекулалараро водород боғларини мужассамлаштиради. Бунда у ҳар бири чап формадаги спираль ҳолатдаги учта пептид занжири бир-бири атрофида уч маротаба маҳкам ўнг томонга қараб юқори даражада ўралишга эга бўлган тузилишни ҳосил қилади. Молекуладаги ҳажми жиҳатидан унча катта бўлмаган, ҳар бир занжирдаги ҳар қайси глицин қолдиғи бўш фазо ҳосил қилади ва унга қолган икки занжирдаги кенг ҳажмдаги пирролидин халқалари бемалол жойлашиши мумкин бўлади.

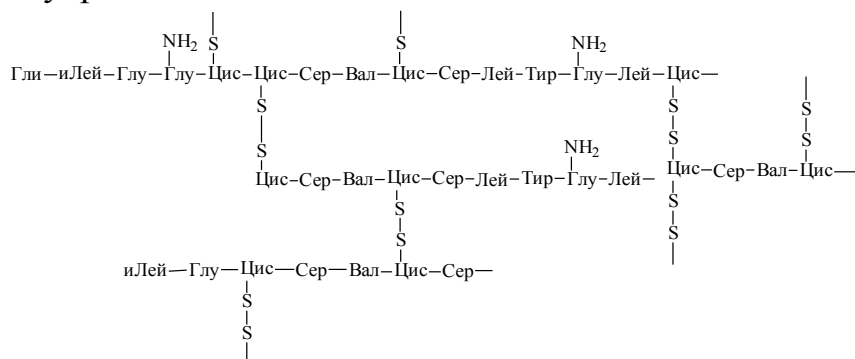
Домен тузилиши. Юқори молекулали оқсилларда полипептид занжирлари ўралганда кўпинча иккита ёки ундан ортиқ доменлар деб аталувчи фазовий бўлиниш соҳалари ҳосил бўлади. Ҳар бир домен ўзининг тузилиши бўйича алоҳида унча катта бўлмаган оқсил эканлигини эслатади. Одатда битта доменда 40 тадан то 300 тагача оқсил қолдиқлари бўлиши мумкин.

Оқсилларнинг учлами тузилиши

Бундай тузилиш оқсил занжирини спиралга айланиб буралган занжир ҳосил қилиши ва табиий оқсилларни суюқлашиши, ҳамда оқсил молекуласида ковалент боғдан ташқари қатор ковалент бўлмаган алоҳида группалар орасида ўзаро таъсирлар, яъни гидрофоб таъсирлашув (а) ва водород боғлари (б), бундан ташқари электростатик таъсирлашув (в) ва ўзаро диполь-диполь таъсирлашув (г) лар натижасида ҳосил бўлади:



Учламчи тузилишда дисульфид боғлари (-S-S-) бир неча полипептид занжирларини қандай бирлаштириш мумкин бўлса, худди шундай, бу занжирнинг баъзи бир нуқталарини мустаҳкамлаши мумкин, ҳамда унда боғич ҳосил қилишига олиб келади. У ва бошқа хил боғлар инсулин молекуласида учрайди.



Бу ерда иккита дисульфид кўприги А ва В занжирларини бирлаштиради, улардан бири эса α -аминокислоталар қолдиқларидаги бор бўлган боғич тешикнинг ҳосил бўлишини таъминлайди. Дисульфид кўприклари жойлашган жойда водород боғларини суллаштирувчи спираль тузилишни бузувчи кучланиш вужудга келади. Шундай қилиб, дисульфид боғларининг бўлиши шунга олиб келадикки, спираль тармоқлари билан бир қаторда полипептид занжирларида маълум аморф соҳа ҳам мавжуд бўлади. Шу билан бир қаторда шу кўприкларнинг ўзи алоҳида-алоҳида полипептид занжирларини оксилнинг бирлашган молекуласига боғлайди.

Учламчи тузилишнинг бошқа хилига пептид занжирлари ичида боғич ҳосил қилувчи ёки алоҳида занжирларни бирлаштирувчи, катта қутбли бўлмаган гуруҳларнинг ўзаро таъсири натижасида юзага келадиган боғлар киради. Булар лейцин, изолейцин, фенилаланин ва триптофан каби α -аминокислоталарнинг углеводородли радикаллари билан тасоввур қилинади. Бу гуруҳлар орасида гидрофоб доира ҳосил бўлади, ундан сув молекуласи чиқариб юборилади. Бунда алоҳида гидрофоб доираларнинг қўшилиши ва уларнинг йиғинди майдони сувда углеводород молекулалари юза энергиясини камайтириш учун шарчага тўпланишига ўхшаш бўлади.

Бунда пептид занжирларидаги катта нополяр қолдиқларининг маълум ҳолатлари тузилишнинг мустаҳкамлигини таъминлаш, ҳамда спираль конфигурацияси билан мос келмаслиги мумкин. Ҳақиқатан, шундай қолдиқларни чиндан ҳам тортилишига қатор факторлар тўсқинлик қилади: бир хил заряд тутувчи гуруҳларнинг яқинлашиши, зарядланган гуруҳлардан сувнинг диполини узиб водород боғларини узиш ва спираль тузилишини бузиш, яъни ҳаммаси энергия сарфлашни талаб қиладиган жараёнлар. Шундай қилиб, углеводород радикаларининг ўзаро таъсирлашуви ҳам дисульфид кўприкларини ҳосил бўлиши каби полипептид занжирини катта сонли водород боғлари ҳосил қилиши билан мустаҳкам спираллар ҳосил қилиши учун интилишига таъсир қилади ва макромолекуладаги аморф бўлақларнинг бўлишига олиб келади. Бу жойларда полипептид занжирлари етарли букилиш қобилиятига эга бўлади. Шунга асосан оксил

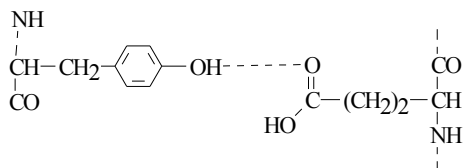
радикалларининг ўзаро таъсирлашуви ва S-S боғини юзага келиши занжирларнинг ўралишига олиб келади ва уларни спираль ҳамда аморф бўлакларини компакт гело-глобула ҳолда тахланишига сабаб бўлади. Мана бу бирламчи занжирнинг глобулага алмашиб келадиган спираль ва аморф жойларини фазовий тахланиши оксил молекуласининг учламчи тузилишини ташкил қилади.

Демак, иккиламчи боғлар (S-S) ҳамда углеводородлар ва бошқа радикалларнинг ўзаро таъсири оксилнинг учламчи тузилишини ташкил бўлишида ва стабиллашишида иштирок этади.

Шундай қилиб, бирламчи занжирнинг спираль ва аморф жойларини ихчам ва симметрик ҳолда молекулада фазовий жойлашиши оксил молекуласининг учламчи тузилишини ташкил қилади.

Бу тузилишни стабиллаштирувчи боғларнинг ўзи ҳар хил характерга эга. Уларга дисульфид боғлари, α -аминокислоталарнинг нополяр радикалларни вандер-вальс ҳолдаги ўзаро таъсири, поляр гурухларнинг электростатик ўзаро таъсирлашуви, водород боғлари ва бошқалар киради.

Учламчи тузилишни сақлашда имин гурухи водороди ва карбоксил кислороди ҳисобига келиб чиқадиган водород боғларидан ва стабилловчи α -спираллардан фарқли равишда тирозин ядроларининг ён гурухлари ва глутамин, ҳамда аспарагин кислоталарининг бўш карбонил гурухлари ҳосил қиладиган водород боғлари ҳам қатнашадилар.



Бундай хилдаги боғлар баъзи бир оксилларнинг учламчи тузилишини сақлашда муҳим роль ўйнайди.

Ҳақиқатан, рибонуклеазани β -меркаптоэтанол ҳамда мочевина билан ишланганда S-S кўприклари узилади ва фермент тўлиқ инактивацияга учрайди. Лекин бу агентларни олиб ташлангандан сўнг ва сульфогидрил гурухларининг ҳаво кислороди билан оксидланганда S-S боғининг активлиги ва сони тўлиқ қайтарилганлиги кузатилади. Бу боғларни ҳосил бўлиши шундай жойларда кетадики худди табиий оксилдагидек. Бу маълумотлар шундан дарак берадики, оксилнинг бирламчи тузилиши нафақат иккиламчи, балки учламчи тузилишини ҳам белгилайди. Учламчи тузилишни аниқ мазмунига фақат рентгеноструктура анализи ёрдамида эришиш мумкин.

Оқсилларнинг рентген тузилиш бўйича анализи.

Бу метод билан оқсилларнинг тузилишини аниқлаш учун аввало, оқсил молекуласи етарли даражада тоза, йирик кристалл ва унча катта молекуляр массага эга бўлмаган ҳолда бўлиши керак. Бу талабга кўпгина биологик жихатдан муҳим бўлган оқсиллар жавоб берадилар. Булар орасида катта қизиқишга эга бўлганлари ферментлар (рибонуклеаза, лизоцим) ҳисобланади. Рентгентузилиш методи билан биринчи бўлиб табиий оқсил миоглобин моддасини фазовий тузилиши суратга олинган. Унга кўра миоглобиннинг

молекуласи эгри-бугри ҳолда букилган, ўлчами 45×35×25 Эга тенг бўлган призма шаклига эга эканлиги аниқланган.

Миоглобин молекуласи занжиридаги 151 аминокислота қолдиқларидан 118 таси α -спираль конфигурациясига эга бўлган 8 та сигментни ташкил қилиши кўрсатилган. Молекула тузилиши жуда ҳам ихчам, зич ҳолатда, ҳамма поляр гурухлар молекула юзасига жойлашган. Молекула ичида нополяр гурухлар жойлашган бўлиб, қўшни нополяр гурухлар билан гидрофоб таъсирлашиб боғланган.

Оқсилларнинг тўртламчи тузилиши

Бир хил бирламчи, иккиламчи ва учламчи тузилишга эга бўлган баъзи бир оқсилларнинг молекулалари, масалан гемоглабиназ, бир неча симметрик тузилган қисмлардан ва бир хил полипептид занжирларидан тузилган бўладилар.

Тузилиши ва вазифаси жиҳатидан бир бўлган молекулани ҳосил қилишни умумий тасаввур қилиш бундай бир хил бўлақларининг йиғиндиси оқсилнинг тўртламчи тузилиши деган номни олди. Оқсилларни тўртламчи тузилиши ҳақидаги умумий характеристикани электрон микроскопия ёрдамида олиш мумкин бўлади.

Оқсилларни алоҳида қисмларга диссоциялаш гуанидин гидрохлориди, мочевина ёки натрий додецилсульфат (дисульфит боғларини қайтариш учун меркаптоэтанол қўшиш билан) ёрдамида эришилади.

Кўп ҳолларда диссоциацияга рН муҳитининг, туз қўшиб сувни ноорганик эритувчилар билан алмаштириб ўзгартириш, ҳамда оқсилни кимёвий модификациялаш ёрдам беради. Мисол учун глутаминсинтетаза ҳар бирининг массаси 50000, иккита параллел гексагонал халқага жойлашган 12 та бир хил қисмдан тузилган.

Глутамин синтетазасининг тўртламчи тузилиши модели

Молекула агрегат ҳолатининг ўзгаришига олиб келувчи (диссоциация-ассоциация) маълум метод ва агентларни аралаш ҳолда қўллаш олигомерлар қисмининг молекуляр оғирлиги ёки ўлчами катта-кичиклиги ва миқдори тўғрисидаги маълумотни беради.

Ҳар хил диссоциацияловчи (ёки ассоциацияловчи) агентлардан фойдаланиш тўртламчи тузилишни ушлаб турувчи куч табиатини аниқлашга имкон беради.

Кўпчилик ҳолларда қисмлар ўртасидаги боғлар ковалент эмас. Тўртламчи тузилишнинг ҳосил бўлишида оқсил глобуласи юзасида жойлашган баъзи бир гурухлар орасидаги кучларнинг ўзаро таъсири катнашади. Бундай кучлар водород боғлари, ҳар хил зарядланган гурухларнинг электростатик ўзаро таъсири, α -аминокислоталарнинг ён радикалларини вандер-вальс ўзаро таъсирлашуви бўлиши мумкин. Кўпинча қисмларни мураккаб комплексларга бирлашиши, уларни биологик фаоллигини асоси ҳисобланади. Масалан, ишқорий фосфатаза активлигини намоён қилиши учун унинг иккита қисми олдиндан бирлашган бўлиши шарт. Баъзида тескари кўринишга ҳам эга бўлинади. Ферментатив активлик фақат

оқсил молекуласини ҳосил қилувчи дегидрогеназафосфоглицероаль дегидраза ажралгандан сўнг аниқланади. Аммо шуни эслатиб ўтиш керакки, у ёки бу оқсилнинг функционал активлиги фақатгина тўртламчи тузилишга боғлиқ бўлмасдан, балки унинг ҳосил бўлишидаги ҳамма тўрттала даражаларга боғлиқдир. Тузилишнинг ҳамма бу даражалари бир-бирларига ўзаро таъсир кўрсатади.

Демак, пептид занжиридаги баъзи α -аминокислоталарни алмашиш тартиби уларни иккиламчи тузилиши ва оқсил молекуласини учламчи ва тўртламчи тузилишига мос келишини аниқлайди.

Маъруза №3.

Фан: Биоорганик кимё

Мавзу: Нуклеин кислоталар.

Ажратилган вақт: 4 соат

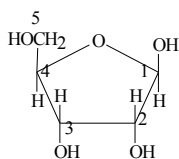
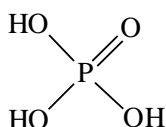
Асосий саволлар:

1. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши.
2. Нуклеин асослари, нуклеозидлар ва мононуклеотидлар ҳамда АТФ.

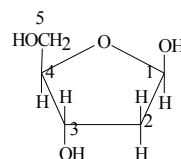
Биринчи асосий саволнинг баёни:

Нуклеин кислоталарнинг бирламчи тузилиши

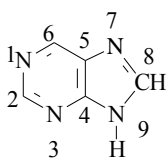
Нуклеин кислоталар мураккаб бирикмалар ҳисобланади ва етарли даражада узоқ вақт гидролизда бир қатор мононуклеотидларга парчаланадилар. Нуклеин кислотани полинуклеотид сифатида, яъни кўп сонли алоҳида мононуклеотидлардан тузилган мураккаб комплекс сифатида тасаввур қилиш керак. Ўз навбатида мононуклеотидлар гидролиз қилинса яна фосфат кислотасига, углевод - пентозага (D-рибоза ёки D-дезоксирибозага) ва пурин ёки пиримидин асосларига парчланиши мумкин.



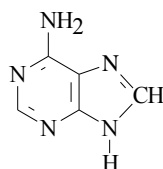
D-Рибоза



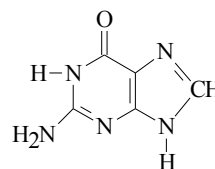
2-Дезокси-D-рибоза



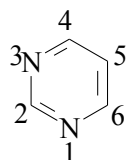
Пурин



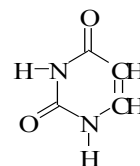
Аденин
6-аминопурин



Гуанин
2-амино-6-оксипурин

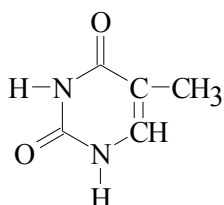


Пиримидин



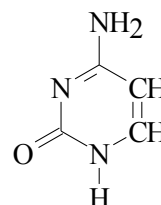
Урацил

2,4-диоксипиримидин



Тимин

(5-метил-урацил)



Цитозин

(2-окси-4-аминопиримидин)

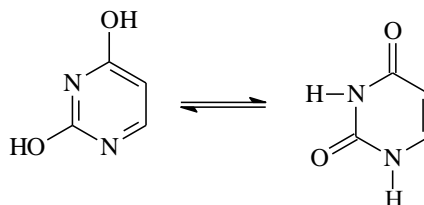
2,4-диокси-5-метил-пиримидин

Нуклеин кислоталарининг таркибига кирувчи энг муҳим аҳамиятга эга бўлган пурин асосларидан аденин ва гуанин, пиримидин асосларидан эса урацил, 5-метил-урацил ёки тимин ва цитозинлар ҳисобланади.

қабул қилинган номенклатурага асосан асослар уч ҳарфли код билан, яъни номининг олдинги учта лотинча ҳарфи билан ёзилиши мумкин.

Масалан, урацил-Ura, Тимин-Thy., Цитозин-Cyt., Аденин-Ade., Гуанин-Gua.

Пиримидин ўзининг тузилиши билан пиридинга жуда ўхшаш ва шунинг учун айтиш мумкинки, унинг кўпгина хоссалари пиридиннинг хоссаларини эслатади. У ҳақиқатан ҳам пиридиннинг характерли хоссаларини янада кучли намоён қилади, чунки пиримидин ҳалқасининг 1,3-ҳолатларида ўзаро таъсирлашиб турувчи иккита электроноакцептор азот атомлари мавжуд, шунинг учун у пиридинга нисбатан фаол ҳисобланади. Бундан ташқари у пиридинга нисбатан анча кучсиз асос ҳисобланади ва унинг ядросидаги углерод атомларига нуклеофилнинг ҳужуми пиридинга караганда анча дезактивланган. Пиримидин ҳалқасининг муҳим хоссаларидан бири кето-енол таутомерия ҳисобланади:



Урацил лактим шакли

Урацил лактам шакли

Пурин таркибига пиримидин ҳалқаси киради, аммо пуринда иккинчи ҳалқа имидазол (1,3-диазол) ҳисобланади.

Имидазолнинг тузилиш формуласидан кузатилишича, ўнгдаги битта гетероатом пуриндаги азот атомига ўхшаш бўлиши керак, иккинчиси эса пирролдаги азот атомига яқинроқ бўлиши керак. Бундай тузилишда 4- ва 5-алмашган имидазол келиб чиқиши керак бўлади. Бироқ бундай жуфт

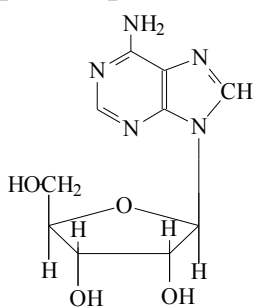
изомерни олишга водородни бир азотдан иккинчи азотга тезда таутомер ҳолатда ўтиб туриши натижасида муваффақ бўлинмайди. Шунга мувофиқ имидазолдаги 4- ва 5-ҳолатлар амалда бир-биридан фарқ қилмайдиган деб қарашга тўғри келади. 4- ва 5-Алмашган бирикмалар олиш фақат азотдаги водород нисбатан кам ҳаракатланувчан гуруҳга, масалан, метил гуруҳига, алмашган ҳолатда мумкин бўлади. Имидазол пиридинга кўра анча кучли асос ва пирролга қараганда анча кучли кислота. У кислота таъсирига пирролга нисбатан чидамлироқ. Имидазол ҳалқасининг ароматиклик характери унинг оксидланишга чидамлилиги ва бирикиш реакцияларига интилиши йўқлиги, ҳамда электрофил алмашишига, айниқса «4» ҳолатга осон киришиши билан намоён бўлади. Пурин имидазолга ўхшаб иккита таутомер тузилиш кўринишида бўлиши мумкин.

Шундай қилиб, нуклеин кислоталарнинг тузилиш элементлари пурин ва пиримидин асослари, фосфат кислотаси ва углевод (D-рибоза ёки D-дезоксирибоза) лар ҳисобланадилар. Бу моддалар моноклеотидлар молекуласида қай тарзда ўзаро боғланганлар? Моноклеотидлар тўлиқ бўлмаган гидролизнинг маълум шароитида парчаланиб икки хил бирикмаларнинг ҳосил бўлиши аниқланган.

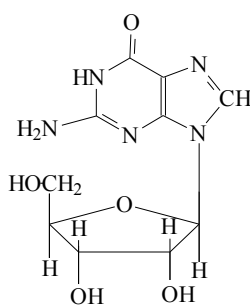
Нуклеозидлар

Углевод билан боғланган пурин ёки пиримидин қаторидаги азотли асослардан иборат бирикмалар - «нуклеозидлар» деб ном олганлар.

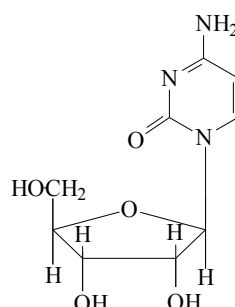
Уларга хайвонлар, ўсимликлар ва бактериялардаги рибонуклеин кислота (РНК) лар таркибига кирувчи аденозин, гуанозин, цитидин ва уридинлар, дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) лар таркибига кирувчи дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин ва тимидинлар кирадилар:



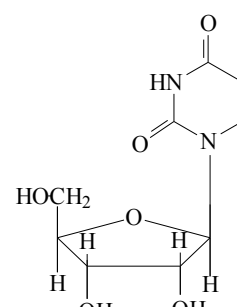
Аденозин



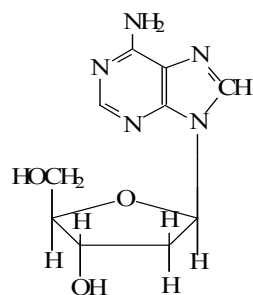
Гуанозин



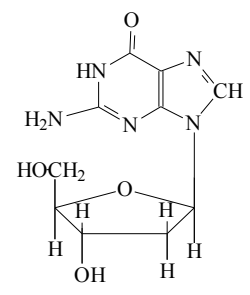
цитидин



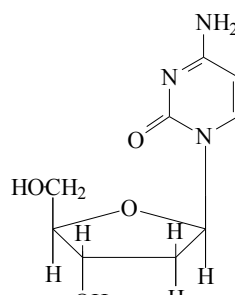
Уридин



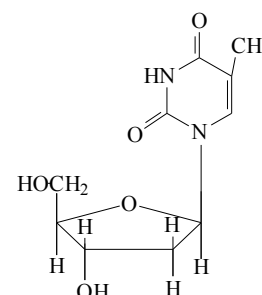
дезоксиаденозин



Дезоксигуанозин

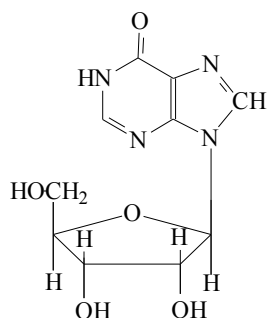


дезоксицитидин

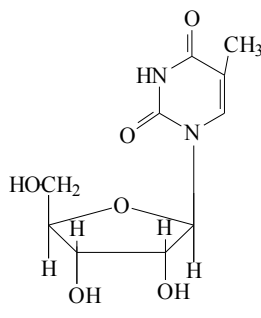


Тимидин

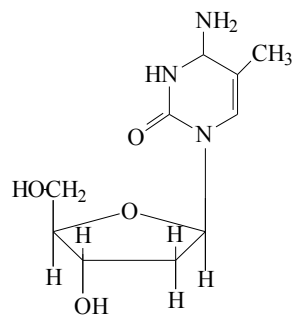
Баъзи бир тур хайвон ва ўсимликлар организмларидаги нуклеин кислоталарда «минор нуклеозидлар» деб аталувчи нуклеозидлар ҳам борлиги аниқланган, масалан, гипоксантин асосини тутувчи инозин, таркибига рибонуклеин кислоталарига мос келмайдиган тимин асоси кирувчи риботимидин, дезоксиметилцитидин ва бошқалар.



инозин



Риботимидин



Дезоксиметилцитидин

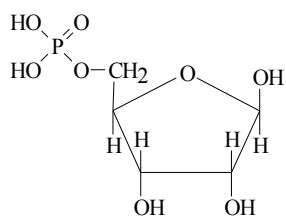
Бундай нуклеозидлар одатда, нуклеин кислоталар таркибига кирмайдилар, улар фақат эркин ҳолатда учрайдилар. Уларнинг баъзи бирлари антибиотиклик хоссасини намоён қиладилар.

Нуклеозидларнинг номларини қисқартириш учун уч ҳарfli ёки бир ҳарfli коддан фойдаланилади. Биринчи вариантда нуклеозиднинг латинча номининг бошланғич иккита ҳарfliга учинчи ҳарfli шундай қўшиладики, бунда нуклеозид номи асос номидан фарқлансин. Масалан, Adenine- Ade, Adenosine-Ado.

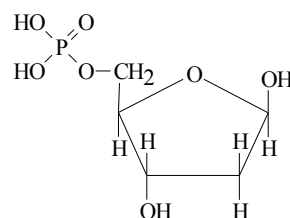
Иккинчи вариантда латинча номланишнинг бош ҳарfli ишлатилади, дезоксинуклеозидлар рибонуклеозидлардан перефикс «d» қўшиш билан фарқланади - dAla, dThy ёки dA, dT (гуанин-гуанозин, урацил-уридин, цитозин-цитидин, тимин-тимидин). Исталган нуклеозидни умуман белгилаш учун N белгиси, пиримидин нуклеозиди учун Y белгиси, пурин нуклеозиди учун R белгиси қўлланилади. Нуклеозидларда асослардаги тартиб рақамлари билан қанд молекуласи тартиб рақамларини фарқлаш учун нуклеозидларда юқоридан белги (штрих) қўйилади. Масалан C-3 рибозанинг углерод атоми C-3 атом деб аталади, у билан боғланган гидроксил эса 3'-гидроксил дейилади.

Фосфорибозалар

Фосфат кислотасининг углеводлар (рибоза ва дезоксирибоза) билан берган муракаб эфирларидан иборат бирикмаларга фосфорибоза ва дезоксифосфорибозалар мисол бўла оладилар:



фосфорибоза



Дезоксифосфорибоза

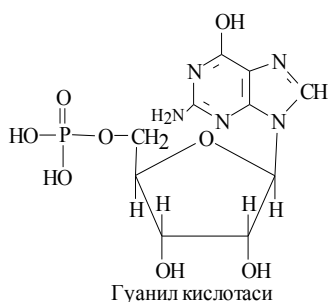
Мононуклеотидлар

Юқоридаги маълумотлардан келиб чиқиб моноклеотидлар қуйидагича тузилган деб ҳисоблаш мумкин: пурин ёки пиримидин асослари - D-рибоза ёки D-дезоксирибоза (фураноза)-фосфат кислотаси қолдиғи.

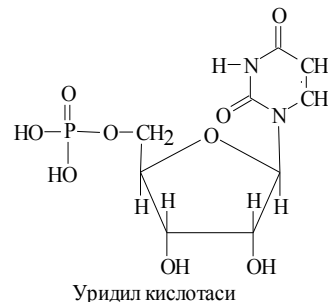
Буларга РНК ва ДНК лар таркибига кирувчи аденил кислотаси, гуанил кислотаси, урацил кислотаси, цитидил кислотаси ҳамда дезоксиаденилат, дезоксигуанилат, дезоксицитидилат ва дезокситимидилатлар мисол бўла олиши мумкин:



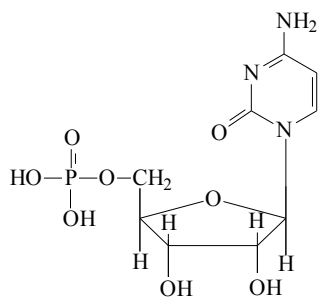
Аденил кислотаси



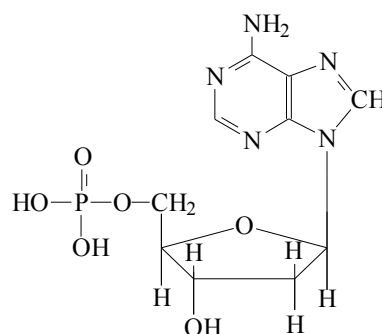
Гуанил кислотаси



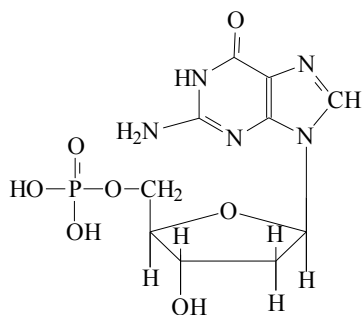
Уридил кислотаси



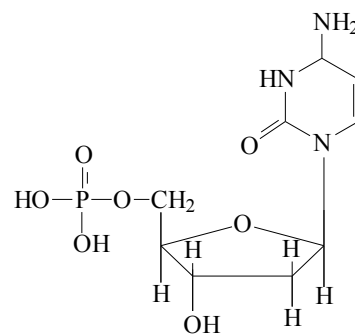
цитидил кислотаси



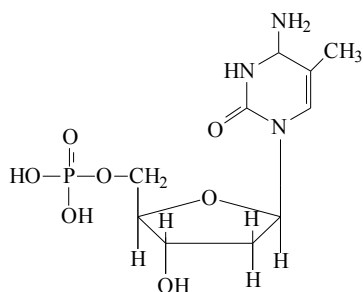
Дезоксиаденилат



дезоксигуанилат



Дезоксицитидилат



дезокситимидилат

Нуклеотидларни номлаш. Нуклеотидларнинг номлари уларнинг таркибига кирувчи гетероциклик асос номига «кислота» сўзини қўшиш билан келтириб чиқарилади: аденил кислота, гуанил кислота, цитидил кислота,

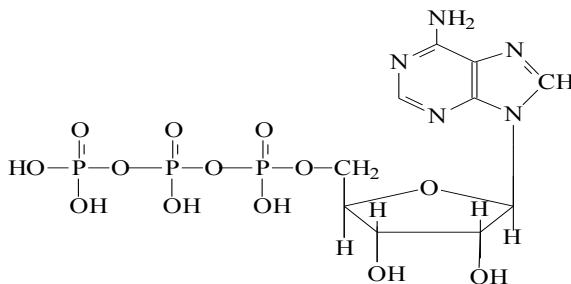
уридил кислота. Ҳозирги кундаги номенклатурада фосфат гуруҳи ёки гуруҳларининг жойлари ҳам кўрсатилади: аденозин-5'-фосфат, аденозин-3'-фосфат, дезоксиаденозин-5'-фосфат. Кўпинча бир ҳарfli қисқартма ишлатилади: Масалан 5'-фосфатлар учун: pA, pG, pЦ, pN, pdA, pdG, pdC, pdU, pdN. 3'-фосфатлар учун: Ap, Gp, Up, dGp, dCp, dUp, dNp. 2'-фосфатлар учун: A(2')p, G(2')p, U(2')p, C(2')p, N(2')p.

Нуклеин кислотанинг гидролизи натижасида чиқадиган фосфат кислотаси қолдиғини моноклеотиддаги туриш ҳолати фосфат кислотаси мураккаб эфири гуруҳининг шу шароитда қайси ҳолатидан (3 ёки 5) гидролиз кетишига боғлиқ.

Рибоза тутувчи нуклеотидлар рибонуклеотидлар, дезоксирибоза тутувчи нуклеотидлар эса дезоксирибонуклеотидлар деб аталадилар.

Аденозинтрифосфат (АТФ)

АТФ - ҳужайралардаги органик моддалар оксидланиб парчаланганда ажралиб чиқадиган моддадир, у кимёвий энергиянинг асосий аккумулятори ҳамда унинг универсал элтувчиси ҳисобланади.



Аденозинтрифосфат

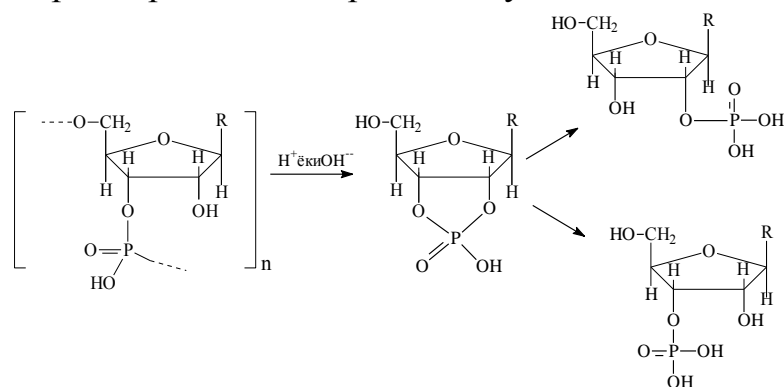
Бундай оксидланиш натижасида энергиянинг ажралиб чиқиши ҳамма вақт аденозинтрифосфатнинг аденозиндифосфат ва анорганик фосфатдан синтез бўлиши билан ҳамоҳанг бўлишини кўрсатади. АТФ нинг гидролизи одатда энергияга керакли бўлган реакция билан боғлиқ. Бу жараён биологик системаларда кўпинча АТФ молекуласида охириги турган фосфат кислота қолдиғи озод ажралиб чиқиши билан амалга ошади. Бу реакцияларни фермент - фосфотрансферазалар (киназалар) катализлайди.

Аденозинтрифосфат ёғ кислоталарни, аминокислоталарни, сирка кислотасини, желч (ўт пуфағи) кислоталари (C_{24} дан C_{27} гача бўлган монокарбон кислоталар) ни, анорганик анионларни активлашда қатнашади. Активлаш аввало субстратга макроэнергетик боғга эга бўлган фосфат кислотасинининг бирикиши билан содир бўлади.



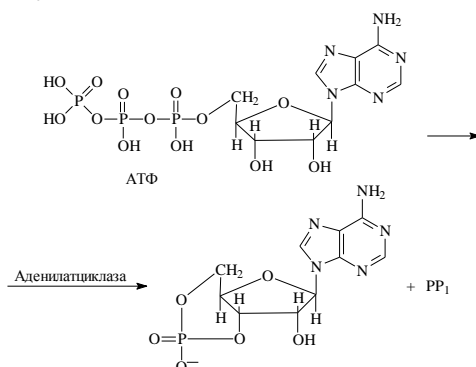
Маълумки, РНК молекуласига кислота ва ишқорлар таъсир эттирилганда нуклеозид-2'-фосфат ва нуклеозид-3'-фосфатлар ҳосил бўлиб парчаланadi. Бундай гидролизланиш H^+ ҳамда OH^- ионлари билан катализга учраб оралиқ циклик фосфат бирикма ҳосил бўлиши билан кетади. Сўнгра

ҳосил бўлган 2,3'-циклик фосфат ионалмашув смолалар ёрдамида 2'- ва 3'-изомер фосфатларга парчаланиб ажралиши мумкин:



R=пурин ёки пиримидин асослари

Аденозин 3,5-циклофосфат хужайрада кетадиган ферментатив реакциялар маҳсулоти ҳисобланади. Бунда аденозин-5-фосфатга (АТФ) оксил гормонлари иштирокида ҳосил бўладиган аденилатциклаза ферменти таъсир эттирилганда иккита фосфат кислотаси қолдиғи ажралиб чиқади ва аденозин-3',5'-циклофосфат ҳосил бўлади.



Аденозин-3',5'-циклофосфат

Бу жараёнда аденозин-3',5'-циклофосфатнинг ҳосил бўлиши муҳим биологик роль ўйнайди. Масалан, унинг ҳосил бўлиши жигар хужайра мембраналари фаолиятида АТФ нинг парчаланиши натижасида икки молекула фосфат кислотаси қолдиғи ажралиб чиқиши ва уларнинг яна нуклеин кислота молекулалари билан бирикиб нуклеофосфатлар ҳосил қилиши, фосфат кислота қолдиқлари ажралиб чиқиш вақтида организм учун керакли бўлган маълум энергия чиқиши катта аҳамиятга эга.

Маъруза №6.

Фан: Биоорганик кимё

Мавзу: РНК ва ДНК.

Ажратилган вақт: 2 соат

Асосий саволлар:

1. РНК ва ДНК ларнинг бирламчи тузилиши.
2. Нуклеотид таркиби ва чекка гуруҳлар анализи.
3. Нуклеотидлар кетма кетлигини аниқлаш усуллари

Биринчи асосий саволнинг баёни:

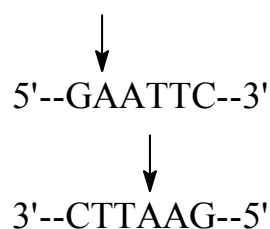
Нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқлаш методлари

Секвенирлаш. Секвенирлашнинг икки хил методи кенг қўлланилади:

а) Кимёвий парчалош - Максам ва Гильберт методи;

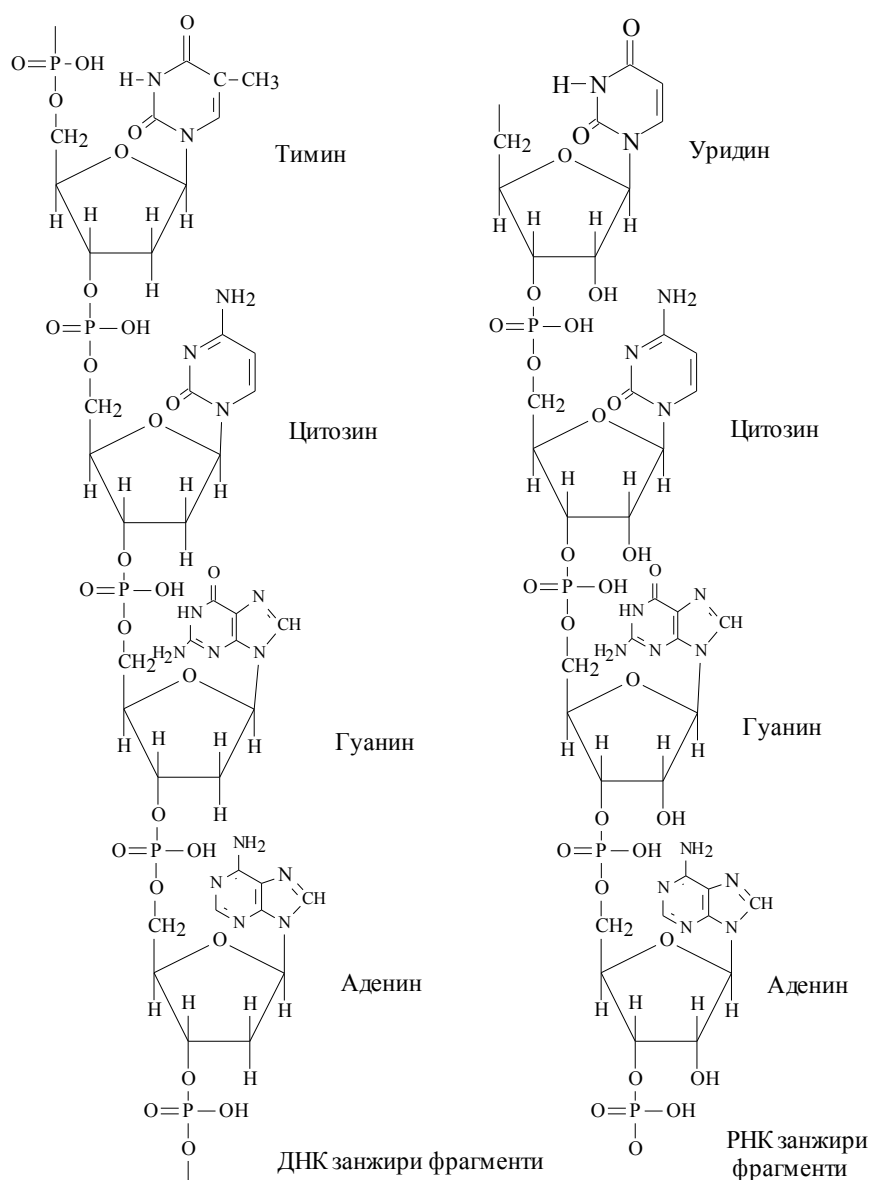
б) анжирни узиш - Сенджер методи.

Бу методларнинг ҳар бири узунлиги бирнеча юз асослардан иборат РНК ва ДНК ларнинг фрагментларга секвенирлаш учун қўлланилиши мумкин. Бу мақсад учун рестриктирловчи ферментлар ишлатилади. Рестриктирловчи ферментлар эса бактериялардан ажратиб олинади. Бу ферментлар қўш занжирли ДНК ни 4-6 жуфт асослар ораси ўлчамига эга бўлган жойидан парчалош қобилятига эга. Рестриктирловчи ферментлар кўп хил бўлганлиги учун уларнинг ҳар бири маълум кетма-кетликдаги асослар турган жойга таъсир этади. Масалан, *E.coli* бактериясида олинган *E.colI* фрагментини парчалош таъсири қуйидагича бўлади:



Бундай парчаланишни қўллаш кимёвий парчалош методи бўйича қўлланилганда, аввал ДНК молекуласидаги иккала занжир кетма-кетлигидаги 5'-охирига полинуклеотидкиназа ферменти ёрдамида радиоактив $^{32}\text{PO}_4$ билан нишонланади. Сўнгра ДНК занжирларини маълум асос олтидан парчалош учун тўғри келган реагент билан ишланади. Бунда узилиш А дан сўнг, кейингисида Г дан сўнг, учунчисида С дан сўнг ва тўртинчисида Т дан сўнг содир бўлади. Нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқлаш занжирни узиш методи билан олиб борилганда бошқача йўл тутилади, яъни табиий ДНК матрицасини олиб ундан радиоактив ҳолатда нишонланган комплементар занжирли ДНК синтез қилинади, синтез ДНК-полимераза ферменти ёрдамида амалга оширилади. Ҳосил бўлган ДНК занжирларини ва уларнинг кетма-кетлигини аниқлаш учун ҳар бир аралашма гель-электрофорез ёрдамида ажратилиб, радиоавтограф ҳолатда ёзиб олинади. Олинган фотоленкадан асосларнинг кетма-кетлиги аниқланади.

Олиб борилган тажрибалар натижалари асосида нуклеин кислоталарга куйидаги тузилиш таклиф қилинган:

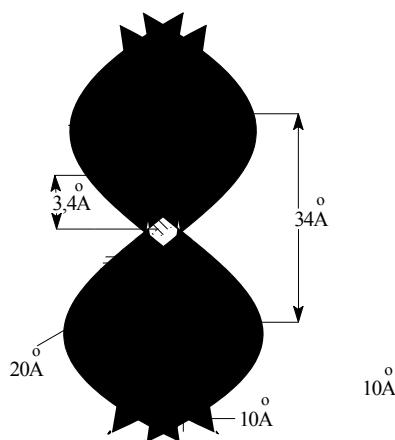


Нуклеин кислоталар таркибини ва тузилишини аниқлашга Левин, Чаргафф, Девидсон, Уотсон, Крик, А.Н.Белозорский ва бошқа олимларнинг изланишлари катта ҳисса қўшди. ДНК асосан хужайра ядросида жойлашган бўлади ва жуда катта молекула оғирлигига ($6 \cdot 10^6$ дан $6 \cdot 10^8$ гача) эга. ДНК молекуласини электрон микроскопда олинган расмда кўриш мумкин, чунки унинг молекуласи жуда катта (1000.000 дан 4.000.000.000 гача).

ДНК нинг кимёвий таркиби учун куйидаги қонуниятларни қўллаш мумкин бўлди:

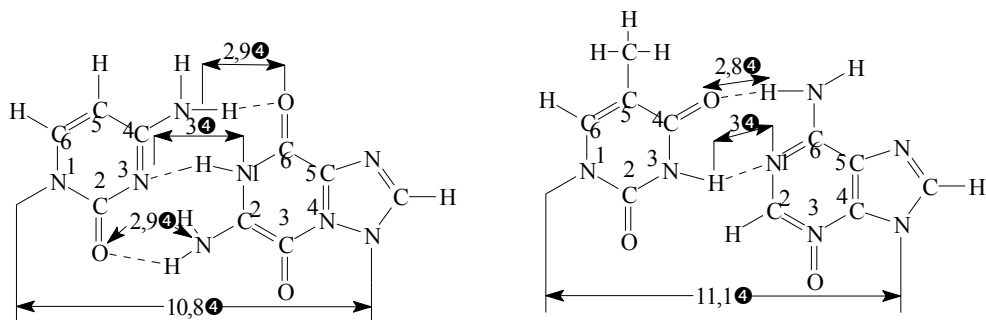
- 1) Пурин асосларининг йиғиндиси пиримидин асосларининг йиғиндисига тенг: АқГ ГқЦ.
- 2) Аденин молекуласининг сони тимин молекуласининг сонига тўғри келади, гуанинники-цитозинга: nА Т, nГ Ц.
- 3) Кетогурухлар сони аминугурухлар сонига тенг.

Бу қонуниятлар асосида ҳамда рентген тузилиш маълумотлари анализига асосан Уилкинс, Уотсон ва Криклар ДНК молекуласининг фазовий тузилишини жамлаш ва шунга биноан ДНК молекуласининг иккита полинуклеотид занжирининг спираль тузилишини ҳосил қилинишини кўрсатиб бердилар:



Спиралнинг тўлиқ (360°) айланишига 10 жуфт асос тўғри келади. ДНК ни 80°C гача маълум шароитда қиздирилса ҳосил бўлган кўш спираль «ечилиб кетади» ва иккита тартибсиз ўралган фрагмент диссоциацияланади. Кейин бу диссоциацияланган моддани аста-секин совитилса яна олдинги ҳолдаги спираль ҳосил бўлади.

Гетероциклик асослар кўш спиралнинг ичига қараган ва уларнинг текислиги тахминан унинг ўқиға параллель бўлади. Спиралнинг ташқи томонида гидрофиль углевод-фосфат қолдиғи жойлашади. Иккита занжирни комплементарлиги генларни жуда содда принципда иккига ажрашишига ёки репликацияга учрашишига олиб келади. Бунинг учун ДНК занжирининг ажралишининг ўзи кифоя ва уларни ҳар бирдан янги комплементар занжир синтез бўлади. Натижада иккита янги, олдингига ўхшаш ДНК молекуласи ҳосил бўлади. ДНК молекуласидаги битта шода азотли асослар жойлашиши бўйича иккинчи шода билан комплементар (тўлдирилган), яъни агарда битта шодада асослар Г-Ц-А-Т ҳолида жойлашган бўлса, унга комплементар бўлган бошқа шодада эса спиралнинг худди шу жойида Ц-Г-Т-А бўлади. Шундай қилиб, ДНК нинг фазовий конфигурациясининг қисқалигини занжирлардаги қарама-қарши жойлашган асослар орасидаги водород боғларини кўплиги таъминлайди. Битта занжирдаги адениннинг қаршисида ҳамма вақт бошқа занжирдаги тимин туради, гуанин қаршисида эса цитозин туради.



ДНК занжиридаги нуклеотидлар бирлиги сони 3000 дан 10.000.000 гача бўлиши мумкин. Занжирлардаги пурин ва пиримидин бирикмаларининг кетма-кетлиги аниқланмаган, аммо улардаги асослар йиғиндиси ДНК нинг каердан келиб чиқишидан қатъий назар бир хил бўлади.

РНК ҳужайранинг ядросида (асосан мағизида), ҳамда цитоплазмасида бўлади. РНК нинг асосий қисми цитоплазмада жойлашган бўлади, катта миқдорда оксил синтез қилувчи ҳамма органлар РНК га бой. РНК миқдори билан оксил синтезининг интенсивлиги ўртасида тўғридан-тўғри боғланиш бор РНК да аденин ва цитозин йиғиндиси гуанин билан урацил йиғиндисига тенг. РНК да (худди ДНК дагидек) пурин асослари йиғиндиси пиримидин асосларининг йиғиндисига тенг.

РНК молекуласи бир шодага тузилган занжирнинг алоҳида қисмларида жойлашган асосларни ўзаро таъсирлашувида ҳосил бўлган водород боғлари сабабли қисман спираллашган бўлимга эга бўлган бир шода занжирдан иборат.

Бир хил тузилиш элементларидан (аденин, гуанин, цитозин, урацил, рибозалар ва фосфат кислотаси) тузилган ҳужайра РНК лари ўзларининг физикавий-кимёвий хоссалари, кимёвий тузилиши ва бажарадиган биологик вазибалари билан фарқланадилар.

Рибосомал РНК лардан ташқари информацион РНК (иРНК) лар ҳам бор. Улар қандай оксил синтез қилиниши кераклиги ҳақида ахборот берадилар.

Яна бир кўринишдаги РНК мавжуд. Бу ташувчи РНК (тРНК) деб аталади. Унинг вазибаси α -аминокислоталарни оксиллар синтез бўладиган жойга етказиб беришдан иборат. тРНК учун Холли томонидан одатдан ташқари тузилиш формаси таклиф қилинган. У бир қаватли ва икки қаватли занжирларни жойлари бир-бири билан алмашган ҳолатда иккиламчи тузилишни ҳосил қилади ва бу тузилишни «беда барги» деб номланган (9 расм). Бу тузилиш бир занжирли қисмдан ва икки занжирли банддан иборат бўлган беш тармоқдан иборатлиги билан характерланади. тРНК учун топилган умумий қонуниятлар бошқа бир занжирли полинуклеотидлар учун ҳам ишлатилиши мумкин. Худди қўш занжирли полинуклеотидлар каби бир занжирли полинуклеотидлар ҳам иккиламчи ва учламчи тузилишлари парчаланиб денатурацияга учраши мумкин. Денатурацияланиш ҳароратнинг ошиши, ион кучларининг пасайиши ёки муҳитга денатурловчи моддалар - мочевина, органик эритувчилар ва бошқаларни қўшишда кузатилади.

Транспорт РНК (тРНК) нинг тўрт хил азотли асослари (аланин, серин, тирозин ва валин α -аминокислоталари тутувчи РНК) нинг кетма-кетлиги ўрнатилган. Бундан ташқари ҳар хил типдаги, турли хил вазибаларни бажарадиган РНК лар ҳам бор. Тахминан 85% ҳужайра РНК лари цитоплазмада алоҳида қисмлар кўринишида оксил билан чамбарчас боғлиқ ҳолда учрайди. Рибосомалар деб аталувчи ушбу нуклеопротеидлар қисмларида асосий оксиллар синтези бўлади.