



## МИКРОСКОПИК СУВ ЎТЛАРИДАН ЕЛЕКТРОФАРЕЗ УСУЛИДА ОҚСИЛ АЖРАТИБ ОЛИШ. ЭЛЕКТРОФАРЕЗ УСТУНЛИГИ

Шамсиддинова Шаҳризода Бахтиёр қизи

ҚарДУ - Кимё-биология факултети "Биотехнология" йўналиши  
талабаси

<https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8231969>

### ARTICLE INFO

Received: 03<sup>th</sup> August 2023

Accepted: 09<sup>th</sup> August 2023

Online: 10<sup>th</sup> August 2023

### KEY WORDS

Гел хроматография, катод,  
анод, электрофарез, крахмал  
қувурлар, капилляр  
электрофарез, ДНК, протеин,  
флорескамин, шиша  
пластинка.

### ABSTRACT

Ушбу мақолада микроскопик сув ўтларидан оқсилларни ажратиб олиш электрофарез усули ва унда ишлатиладиган асбоб-усқуналар, ҳамда бошқа усуллардан устун жиҳатлари, электрофарез усқунаси учун гел тайёрлаш унинг ишлаш принциплари ҳақида айтиб ўтилган.

**Кириш.** Бугунги кунда техника билан инсон организм ҳамривожланиб бормоқда. Буларнинг ба'зилар яхши ва ба'зилари ёмон. Олимлар изланишлари натижаси шуни кўрсатадики инсон оқсидан тузилган ва ҳар бир индивид алоҳида индивидуал тузилишга эга. Я'ни ҳар бир инсоннинг ўзига хос оқсил структураси мавжуд ва буларнинг ҳаммасини ўрганиш мураккаброқ масала. Ҳозирги кунда касалликлар ҳамжуа яхши ривожланиб бормоқда. Айниқса оқсил касалликлари, буларнинг барчасини ўрганиш учун қулай методлар керак бўлади. Гел электрофарез мана шундай усуллардан бири ҳисобланади. Энди ушбу усул ҳақида тушунчаларга эга бўлсак.

**Гел хроматография** - Бу кимёвий анализ усули, органик ва анорганик бирикмаларнинг ажратилиши ва идентификатсияси учун ишлатилади. Ушбу усулда проба бир жиловланган гел асосида ажратилади, бу гел еса молекулалар ўртасидаги айланиш ва ташқи та'сирлар билан бирга ишлайди.

**Катод ва анод** - Бу электр калитлари бўлиб, электрофарез усулида ишлатилади. Катод негатив электрга, анод еса позитив электрга боғланган.

**Электрофарез** - Бу усулда электр майдони орқали зарядланган молекулалар, ионлар ёки бошқа бирикмаларга та'сир қилиш орқали айланади ва ажратилади. Гел электрофарезия еса бир неча молекулалар асосларга ажратиш учун ишлатилади.

**Крахмал қувурлар** - Озиқ-овқат сифатида ишлатиладиган крахмал таркибидаги узун молекулалар. Электрофарезда алоҳида жилдан ёки қуриллашдан фойдаланилади.



**Капиллиар електрофарез** - Ушбу усул, електрофорез усулининг махсус усули бўлиб, жиловланган гел асосида ташкил топган капиллиар асосида амалга оширилади. Бу усул юқори ҳисобланади ва хусусиятсиз молекулаларни ажратишга имкон беради.

**ДНК (десоксирибонуклеик кислотаси)** - Биология соҳасида генетик ахборотни ўз ичига олган кимёвий бирикмалардан бири. Организмлар генетик хусусиятлари ДНК орқали ўтказадилар.

**Протеин** - Биология соҳасида ўз ичига ўтказувчи бирикма. Организмдаги бир қатор вазифаларни ўтайди ва ўзаро алоқалар яратиш учун асосий моддалардан бири ҳисобланади.

**Флорескамин** - Кимёвий анализ усулида ёруғлик ташиш орқали молекулалар ёки бирикмаларни кузатиш учун ишлатиладиган ма'лумот берадиган кимёвий бой.

**Шиша пластинка** - Кимёвий лабораторияларда кимёвий назорат ва анализ учун ишлатиладиган цилиндрига ўхшаш тўп рангида пластинка.

Бу сўзлар ва терминлар кимёвий ва биология соҳаларида оммалаштириладиган усуллар ва асбоблар билан боғлиқ.

**Электрофорез** - бу модданинг электр майдони остида ҳаракатланишига асосланган лаборатория усули. Ушбу техникада моддалар электр майдонига таъсир қилади ва фазода турли тезликларда ҳаракатланади. Электрофорез моддаларнинг электр зарядлари ва хоссаларига асосланган структура ва ажралиш тамойилларига асосланади.

Электрофорез усули биология ва тиббиёт соҳаларида, шунингдек, кимё ва биокимё каби илмий тадқиқотларда кенг қўлланилади. Ушбу техниканинг асосий мақсади моддаларнинг таркибий қисмларини ажратиш ва таҳлил қилишдир. Мисол учун, электрофорез усули ДНК, РНК, оқсиллар, қон компонентлари каби моддаларни ажратиш ва турли ўлчовларни амалга ошириш учун ишлатилади.

Электрофорез техникаси электрофорез қурилмаси, электр майдонини яратувчи қувват манбаи, электролитлар еритмаси ва намуналардан иборат. Намуналар электрофорез хужайрасига (гел) киритилади ва электр майдонига таъсир қилади. Электр майдони остида намуналар турли тезликларда ҳаракатланади ва шу билан ажралиб туради. Бу ажратиш намунадаги моддаларнинг хусусиятлари, ўлчамлари ва электр зарядларига асосланади.

Электрофорез техникасини қўллаш жуда кенг ва кўплаб лаборатория таҳлилларида асосий усул сифатида қўлланилади. Ушбу техника туфайли моддаларнинг таркибий қисмлари ажратилади ва таҳлил қилинади. У электрофорез, ДНК таҳлили, оқсил таҳлили, генетик тадқиқотлар, дори-дармонларни тадқиқ қилиш, тиббиёт ва бошқа кўплаб соҳаларда қўлланади.

Электрофорезни тушуниш учун, бир неча асосий концептларни кўрсатишим керак.

**1. Электрофорез аппарати:** Электрофорезни бажариш учун аппаратлар керак бўлади. Бу аппаратлар, электрофорез жараёнини амалга ошириш ва контрол қилиш учун ишлатилади. Аппаратнинг асосий қисмлари электрофоретик камералар, электрофоретик желларда, электрофоретик қоғозларда ёки давомида ётган бошқа



материалларда жойлашган электродлар ва электрик билан ишлайдиган бошқа қисмлардир.

**2. Электролитлар:** Электролитлар, электрофорез жараёнида ўзгарувчанлик яратиш учун ишлатиладиган ларва воситалардир. Бу воситалар, электрофоретик желлардаги молекуллар ва пробаларни электрик билан бир-бирига улашмасини таъминлаш учун керакли ионли муҳитни яратишда ишлатилади. Электролитлар одатда тампонлар ёки буферлар сифатида ишлатилади.

**3. Электрофоретик қоғоз:** Электрофорез жараёнида, электрофоретик қоғозлар ишлатилади. Бу қоғозлар, электрофоретик желларнинг устида жойлашган ва электрик билан ташқаридан билан боғланган электродлар билан боғланган пробаларни ўз ичига олади. Электрофоретик қоғозлар, пробаларнинг электрофоретик мигратсиясини кузатиш учун фойдаланилади.

**4. Электрик майдон:** Электрофорез жараёнида, электрик майдон электродлар орқали яратилади. Электрик майдон, электрофорез аппаратининг бир қисмидир ва электролитлар ёки электрофоретик желларнинг ичидаги пробалар ва молекуллар устида куч таъминлаш учун ишлатилади. Электрик майдоннинг мавжудлиги электромиграцияни ташкил этади, яъни молекуллар ва пробалар электрик билан бир-бирига улашишади ва ҳаракатланади.

Шу тарзда, электрофорезнинг асосий принципи электрик майдон яратиш, электродлар орқали электрофоретик желлардаги молекуллар ва пробалар устида куч таъминлаш ва уларнинг мигратсиясини кузатишдан иборат.

Электрофорез техникаси, шунингдек, ғайритабиий кўтарилган ёки камайган фермент изоформларини аниқлаш учун ҳам фойдаланиш мумкин. Турли клиник шароитлар тўқима аъзолар иштирокига асосланган ўзига хос фермент моделларини кўрсатади, бу еса клинисенга ташхис қўйиш ва касалликни даволаш режасини ишлаб чиқишда ёрдам беради.

Электрофорезнинг бир нечта турлари мавжуд бўлиб, уларнинг ҳар бирида қўлланиладиган режалари мавжуд:

Гидратланган гел тармоқлари электрофорез учун жуда кўп керакли хусусиятларга эга. Улар имкон беради горизонтал/вертикал каби механик жиҳатдан барқарор экспериментал форматларнинг хилма-хиллиги плита гелларида электрофорез ёки қувурлар ёки капиллярларда электрофорез. Механик барқарорликни таъминлаш учун қўлланилади.

Бундан ташқари, электрофорездан кейинги манипуляцияни осонлаштиради, бу еса кейинги тажрибаларни амалга оширишга имкон беради.

Блоттинг, электро-елутсия ёки МС идентификатсияси бузилмаган оқсилларни бармоқ босиб чиқариш ёки гел бўлакларида ҳазм қилинган оқсиллар. Чунки биокимёда ишлатиладиган геллар кўпроқ кимёвий ҳисобланади реактив емас, улар электрофорез пайтида биомолекулалар билан минимал даражада ўзаро таъсир қилади намуна компонентлари орасидаги кимёвий емас, физик фарқларга асосланган ажратиш ҳисобланади.

Гел турлари; Умуман олганда, макромолекулалар еритмаси қандайдир матритса орқали электрофорезланади, матритса молекулаларни катталигига қараб ажратишда



ёрдам берадиган молекуляр елак вазифасини бажаради. Электрофез ишлатиладиган қўллаб-қувватловчи матритсанинг тури ажратиладиган молекулаларнинг турига ва молекулаларга боғлиқ ажратиш учун керакли асос: заряд, молекуляр оғирлик ёки иккаласи (Долник, В.; 1997).

Ўрта шароитлардан асосий фойдаланиш.

Крахмал Қувурлар ёки плиталарга қўйма Протеинлар ажратиб олишда агароз гели найчалар ёки плиталарга қўйилади. Жуда катта оқсиллар, нуклеин ўзаро боғловчи кислоталар, нуклеопротеинлар ва бошқалар ёёқ бўлган акриламид гел найчалар ёки плиталарга қўйилади Протеинлар ва нуклеин кислоталар

Ўзаро боғъланиш

### **Электрофорез учун баъзи воситалар**

Агароза: Ҳозирги вақтда енг кўп қўлланиладиган полисаккарид гел матритсаси ҳосил бўлади агароз билан. Бу қайталанувчи дисахарид бирлигидан ташкил топган полимер галактоза ва 3,6-анҳидрогалактозадан ташкил топган агаробиоз. Агароза

крахмалдан кўра кўпроқ бир хил ғоваклик даражасини беради ва бу турлича бўлиши мумкин. Суспензиянинг бошланғич концентратсиясини ўзгартириш (паст концентратсиялар катта тешикларга, юқори концентратсиялар еса кичикроқ тешикларни беради). Ушбу гел кенг тарқалдиайниқса ДНК молекулаларини ажратишда фойдаланинг (гарчи у ҳам ишлатилиши мумкин).

Иммуноэлектрофорез каби протеин намуналарини ўз ичига олган баъзи электрофоретик протседуралар. Нуклеин кислоталарда бир хил заряд тақсимоти туфайли шундай агароздаги ҳаракатчанлик асосида ДНК молекуляр массаларини аниқ аниқлаш мумкин. Бироқ, агарознинг чекланган механик барқарорлиги ҳосил қилиш учун етарли бўлса-да барқарор горизонтал гел, пост-электрофоретик имкониятларни бузади. Бу еса манипулятсия.

Акриламид: Иккала оқсилни электрофоретик ажратиш учун мос келадиган анча кучли гел ва нуклеин кислоталар акриламиднинг полимеризатсияси натижасида ҳосил бўлиши мумкин. Унинг киритилиши Метилен кўприги (Н, Нъ метилен) билан боғланган оз миқдордаги акриламид ва нуклеин кислоталар акриламиднинг полимеризатсияси натижасида ҳосил бўлиши мумкин. нинг киритилиши

Метилен кўприги (Н, Нъ метилен) билан боғланган оз миқдордаги акриламид

Электрофорез камераси ва қувват манбаи

Турли ўлчамларда мавжуд бўлган ва УВ шаффоф пластмассада иборат бўлган жел қуйиш товоқлар. Товоқларнинг очиқ учлари жел бўлганда лента билан ёпилади қўйилади, кейин электрофорездан олдин олиб ташланади.

ДНКни ташқи флор 1-анилино8-нафталин сулфонат билан аниқланг.

Трансиллуминатор (ултрабинафша нур қутиси) бўялган ДНКни кўриш учун ишлатиладиган геллар

УВ нурлари таъсирида кўзларга зарар етказмаслик учун трансиллуминатор.

Электрофорезда гелни тайёрлаш, юклаш ва ишга тушириш.

Гел тайёрлаш учун агароз кукуни электрофорез буфери билан керакли даражада аралаштирилади концентратсияга солиб, еритиш учун микротўлқинли печда



иситилади. Этидий бромид қўшилади ектрофорездан кейин ДНКни визуализатсия қилишни осонлаштириш учун гел (якуний концентратсия 0,5 уг / мл).

Эритма тахминан 60oC га совутилгандан сўнг, у намунаси бўлган қуйма патнисга қуйилади. Хона ҳароратида қотиб қолишга рухсат берилади.

Гел қотиб қолгандан сўнг, тароқнинг пастки қисмини йиртиб ташламаслик учун олиб ташланади қудуқлар. Ҳали ҳам пластик патнисда бўлган гел электрофорез камерасига горизонтал равишда киритилади ва буфер билан қопланган. Кейин юклаш тампони билан аралаштирилган ДНКни ўз ичига олган намуналар олинади, намуна қудуқларига пипетка билан солинади, қопқоқ ва қувват симлари аппаратга ўрнатилади ва оқим қўлланилади. Ҳозирги оқимни пуфакчалар келаётганини кузатиш орқали тасдиқлаш мумкин электродларни ўчиринг. ДНК одатда ижобий электродга қўчирилади, унинг манфий зарядини ҳисобга олган ҳолда қизил рангга ега.

ДНК гелда кўчиб ўтган масофани мигратсияни визуал кузатиш орқали аниқлаш мумкин. Бромифенол кўк ва ксилен сианол бўёқлари каби кузатувчи бўёқлардан.

Полиакриламид гелларни тайёрлаш ва ишга тушириш

Рўйхатда келтирилган протокол ўлчамлари билан полиакриламидни тайёрлаш учун мўлжалланган, Кенглиги 15,5 см, узунлиги 24,4 см, қалинлиги 0,6 мм.

Полимеризатсияланмаган акриламид нейротоксин ва шубҳали кансерогендир; қочиш, нафас олиш ва тери билан алоқа қилиш. Акриламид билан ишлаганда ҳар доим қўлқоп кийинг, кукун ёки еритмалар.

Метакрилоксипропилтриметоксисилан (силанни боғлаш) заҳарли ҳисобланади ва уни даволашда ишлатиш керак. Кимёвий тутун қопқоғи.

Гел ёпишиб қолмаслиги учун битта шиша пластинка Гел Слик билан ишланади қисқароқ шиша пластинка гелни боғлаш учун силан билан ишлов берилади. Иккита пластинка бўлиши керак ўзаро контаминатсияни олдини олиш учун ҳар доим алоҳида сақланг. Шиша пластинка муолажаларини (Гел Слик ёки боғловчи силан) олиб ташлаш учун плиталарни сувга ботиринг. 10% NaOH еритмаси бир соат давомида. Плиталарни деионизатсияланган сув билан яхшилаб ювиб ташланг ва ювиш воситаси билан тозаланг.

Гел деионизатсияланган сув билан тўйинган қоғоз сочиқда бир кечада сақланиши мумкин гелнинг қуриб кетишига ёъл қўймаслик учун гелнинг қудуқ учига пластик ўрам қўйилади.

Намуналарни юклаш ва электрофорез

Гелни юклашдан олдин намуналарни денатуратсия қилинг. Агар ДНК намунаси қайта тикланиши мумкин юклашдан олдин узоқ вақт давомида денатўратсия қилинади ва ноаниқ бўлиши мумкин. 6% желда бромифенол кўк тахминан 25 асосда ва ксилен сиянолда ўтади, тахминан 105 та базада мигратсия қилади.

Бўяш, Протеин одатда коомасси кўк бўёқ билан бўялган. Камроқ сезгир протеин бўёқлари. Понсо қизил ва амидо қора киради. Понсо қизил рангнинг афзаллиги шундаки, у дог ь тескари ва кейинчалик таҳлил қилиш учун оқсилдан олиб ташланиши мумкин.

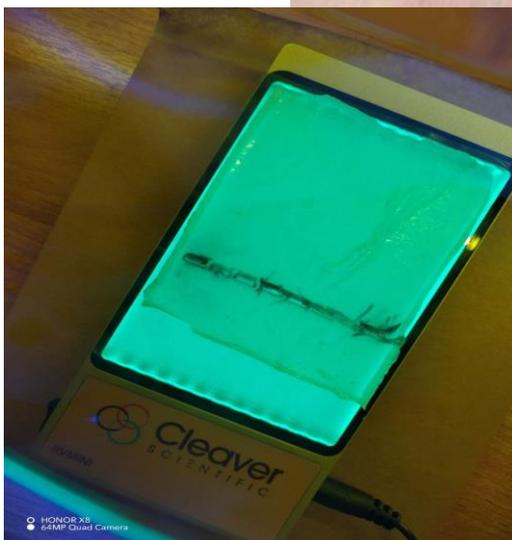
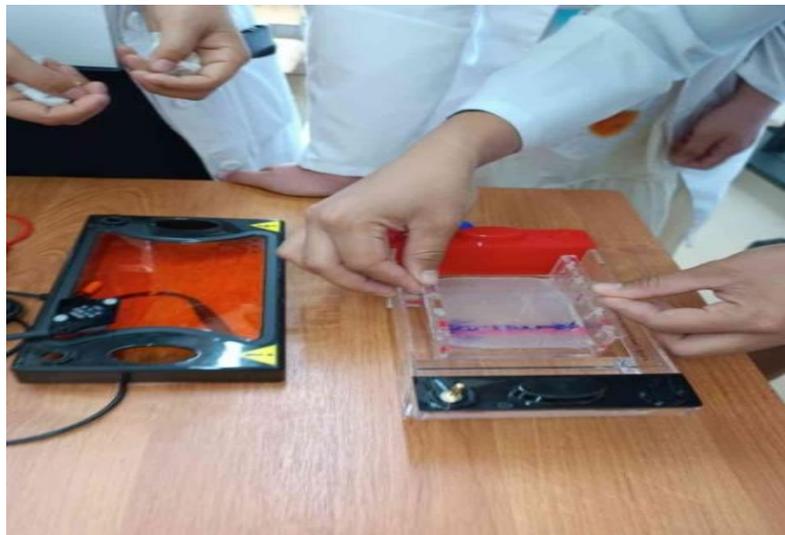
Кумуш бўяш: оқсил учун енг сезгир бўяш кумуш бўяшдир. Бу ўз ичига олади. Гелни Ag NO3 га сингдириш натижасида металл кумуш (AgO) чўкади.

оқ-қора фотосуратда ишлатиладиганга ўхшаш жараёнда қора конни ҳосил қилувчи оқсил ёки ДНКнинг жойлашиши.

Формалдегид еритмаларини ўз ичига олган қадамлар тутун қопқоғида бажарилиши керак. Ишлаб чиқарувчи еритмасини 4°C га совутиб олинг. Ҳар фойдаланишдан олдин дастурчини янги тайёрланг. Қўшиш учун кумуш бўяшнинг биринчи босқичидан тузатиш/тўхтатиш еритмасини сақлаб қўйганингизга ишонч ҳосил қилинг бантлар кўринадиган бўлса, ишлаб чиқувчи ечим.

10 сониялик деионизатсияланган сувни ювиш бу вақт оралиғидан ошмаслиги керак. Агар шундай бўлса, ётқизилган кумуш ювилиши мумкин ва яна бинони қилиш керак.

Биз юқорида та'риф берганимиздек барча оқсилларни ушбу усулда ажратиб олиш қулай ва яхши ўрганилган усул ҳисобланади. Шундан келиб чиққан ҳолда Микро сув ўтлари яъни устида Артҳоспира спинулина сув ўтидан ажратиб олинган оқсил ҳам айнан мана шу усул орқали ўрганилди.



## References:

1. Электрроҳоресис"Адамсон, Н. ж. & Рейнолдс, Э. С.; 1997



2. 'Генларни ажратиб олиш ва уларни ўрганиш' Ван Ҳолде, К. Э.; Жонсон, Ш. С. & Шинг Хо, П.; 1998. қайта нашр.
3. Мике Смитх, Пх.Д. ([ҳттпс://www.genome.gov/staff/Michael-Sh-Smith-PhD](http://www.genome.gov/staff/Michael-Sh-Smith-PhD))  
Формер Програм Директор, Геноме Течнологй Програм Дивисион оф Геноме Ссиенсес
4. [ҳттпс://www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) > НБ... Элестропҳоресис