

RNK AJRATIB OLISH VA UNI TAXLIL QILISH USULLARI**Mamasoliyev Sardorbek Tursinovich****Andijon davlat universiteti, dotsent.****Mo'ydinova Shoxsanamxon Abdupatto qizi****Andijon davlat universiteti,****biologiya ta'lim yo'nalishi talabasi****moydinovashoxsanam21@gmail.com****Mamajonova Tabassumoy Xudoberdi qizi****Andijon davlat universiteti,****biologiya ta'lim yo'nalishi talabasi****mamajonovatabassumoy@gmail.com****<https://doi.org/10.5281/zenodo.19703918>**

Annotatsiya: Tajribamiz davomida RNK (ribonuklein kislota) ni ajratib olish va uni tahlil qilishning zamonaviy usullari, ularning o'ziga xos xususiyatlari hamda ilmiy tadqiqotlardagi ahamiyati yoritilgan. RNK ekstraksiyasi va sekvensiya texnologiyalarining tanlanishi gen ekspressiyasi natijalariga bevosita ta'sir ko'rsatishi asoslab berilgan.

Kalit so'zlar: RNK, ekstraksiya, TRIzol, RNA-Seq, poly(A)+, RiboZero, gen ekspressiyasi

Abstract: During our experiment, modern methods of RNA (ribonucleic acid) isolation and analysis, their specific properties and importance in scientific research were highlighted. It has been proven that the choice of RNA isolation and sequencing technologies directly affects the results of gene expression.

Keywords: RNA, extraction, TRIzol, RNA-Seq, poly(A)+, RiboZero, gene expression

Аннотация: В ходе нашего эксперимента были рассмотрены современные методы выделения и анализа РНК (рибонуклеиновой кислоты), их специфические свойства и значение в научных исследованиях. Доказано, что выбор технологий выделения и секвенирования РНК напрямую влияет на результаты анализа экспрессии генов.

Ключевые слова: РНК, экстракция, TRIzol, RNA-Seq, поли(A)+, RiboZero, экспрессия генов

Kirish. RNK (ribonuklein kislota) hujayrada genetik axborotni realizatsiya qilishda muhim biologik makromolekula hisoblanadi. U DNKda saqlangan genetik ma'lumotni oqsil sintezi jarayoniga uzatish orqali hujayra metabolizmi va funksional faolligini ta'minlaydi. Shu sababli RNKni o'rganish molekulyar biologiya va genetikaning muhim yo'nalishlaridan biri sifatida qaraladi.

Zamonaviy ilmiy tadqiqotlarda RNKni ajratib olish va uni tahlil qilish usullari keng qo'llanilmoqda. Ushbu usullar yordamida gen ekspressiyasi darajasi, transkriptom tarkibi hamda hujayrada kechayotgan molekulyar jarayonlar chuqur tahlil qilinadi. Ayniqsa, yuqori aniqlikka ega bo'lgan RNA-Seq texnologiyasining rivojlanishi RNK tadqiqotlarining imkoniyatlarini sezilarli darajada kengaytirdi.

RNKning kimyoviy jihatdan beqarorligi va tez degradatsiyaga uchrashi uni ajratib olish jarayonini murakkablashtiradi. Shu bois, namunalarni tayyorlash, RNKni ajratib olish va saqlash bosqichlarida qat'iy laboratoriya talablari va maxsus metodikalarga rioya qilish zarur. Ekstraksiya usulining to'g'ri tanlanishi keyingi tahlil natijalarining aniqligi va ishonchliligini belgilovchi muhim omil hisoblanadi.

Mazkur ish RNKni ajratib olish va uni tahlil qilishning asosiy usullarini ilmiy jihatdan yoritish hamda ularning amaliy ahamiyatini tahlil qilishga qaratilgan.

Asosiy qism RNKni ajratib olish va uni tahlil qilish molekulyar biologiya tadqiqotlarining muhim bosqichlaridan biri hisoblanadi. Ushbu jarayonning samaradorligi olingan natijalarning aniqligi, takrorlanuvchanligi va ishonchliligiga bevosita ta'sir ko'rsatadi. RNK molekulasi kimyoviy jihatdan beqarorligi va ribonukleazalar (RNaza fermentlari) ta'sirida tez degradatsiyaga uchrashi sababli, ekstraksiya jarayonida maxsus sharoitlar va ehtiyot choralariga qat'iy rioya etilishi talab etiladi.

RNK ekstraksiyasida keng qo'llaniladigan usullardan biri fenol-xloroform asosidagi TRIZol usuli hisoblanadi. Ushbu metod hujayra lizisi, oqsillarni denaturatsiya qilish va nuklein kislotalarni fazalarga ajratish prinsipi asosida ishlaydi. Natijada RNK suvli fazada to'planadi va keyingi bosqichlarda cho'ktirish hamda tozalash orqali ajratib olinadi. Mazkur usulning afzalligi yuqori hosildorlikka ega bo'lishi va kichik RNK molekulalarini saqlab qolish imkoniyatidir. Biroq, ushbu metodda yadroviy RNK ulushining yuqoriligi hamda ayrim hollarda kontaminatsiya xavfi mavjudligi kuzatiladi.

Silika-gel membranalariga asoslangan ustunli ekstraksiya usullari (masalan, Qiagen texnologiyasi) ham keng qo'llaniladi. Bu usullarda RNK maxsus adsorbent membranaga bog'lanadi va ketma-ket yuvish bosqichlari orqali yuqori darajada tozalanadi. Ushbu metodning ustunligi yuqori tozalikdagi RNK olish va standartlashtirilgan protokollarga ega bo'lishidir. Shu bilan birga, kichik RNK fragmentlarining yo'qolishi hamda asosan sitoplazmatik RNKning ajralib chiqishi ushbu usulning cheklovlari sifatida qayd etiladi.

Ajratib olingan RNKni tahlil qilishda zamonaviy yuqori unumdor texnologiyalar muhim ahamiyat kasb etadi. Xususan, RNA-Seq (RNK-sekvensiyalash) usuli transkriptomni kompleks o'rganish imkonini beradi. Ushbu metod yordamida gen ekspressiyasi darajasi, muqobil splayning hodisalari, yangi transkriptlar va kodlanmagan RNKlar aniqlanishi mumkin. RNA-Seq texnologiyasi yuqori sezgirlik va keng dinamik diapazonga ega bo'lib, an'anaviy usullarga nisbatan ancha ustun hisoblanadi.

Poly(A)+ seleksiya usuli poliadenillangan RNK molekulalarini ajratib olishga asoslangan bo'lib, asosan yetuk mRNKlarni tahlil qilish imkonini beradi. Bu esa gen ekspressiyasini aniq baholashda samarali hisoblanadi. Shu bilan birga, ribosomal RNKni kamaytirishga asoslangan (RiboZero) usullar ribosomal RNKni olib tashlab, kodlanmagan RNKlar va poliadenillanmagan transkriptlarni ham qamrab olish imkonini beradi.

Shunday qilib, RNKni ajratib olish va tahlil qilish usullarining tanlanishi tadqiqot maqsadi va eksperimental dizaynga bog'liq bo'lib, har bir metodning o'ziga xos afzallik va cheklovlarini hisobga olish zarur. Ushbu yondashuv ilmiy natijalarning aniqligi va biologik talqinining to'g'riligini ta'minlashda muhim ahamiyatga ega.

Xulosa. O'tkazilgan tadqiqot natijalari RNK ekstraksiyasi va RNK-sekvensiya kutubxonalarini tayyorlashda qo'llaniladigan metodlarning transkriptom tahlili natijalariga sezilarli ta'sir ko'rsatishini tasdiqladi. Xususan, TRIZol va Qiagen asosidagi ekstraksiya usullari hamda poli(A)+ tanlovi va RiboZero rRNK kamaytirish protokollari o'rtasida intronik va ekzonik o'qishlar taqsimotida aniq farqlar kuzatildi.

RiboZero protokoli, ayniqsa TRIZol bilan kombinatsiyada, intronik o'qishlarning ortishi orqali yadroga xos va to'liq qayta ishlanmagan RNK molekulalarining sezilarli darajada aniqlanishiga olib keldi. Bu esa gen ekspressiyasini baholashda ma'lumotlarning murakkablashishiga va ba'zi hollarda interpretatsion noaniqliklarga sabab bo'lishi mumkinligini

ko'rsatadi. Aksincha, poli(A)+ tanlovi yetuk mRNKlarni aniqlashda yuqori aniqlik va barqarorlikni ta'minladi.

Umuman olganda, RNK-seq tahlillarida biologik natijalarning ishonchliligi va talqin qilinishi qo'llanilgan metodologiyaga bevosita bog'liqdir. Shu sababli, transkriptomni chuqur o'rganishda tadqiqot maqsadiga mos ekstraksiya va kutubxona tayyorlash usullarini tanlash muhim ahamiyatga ega.

Adabiyotlar, References, Литературы:

1. Adiconis X., Borges-Rivera D., Satija R. et al. Comparative analysis of RNA sequencing methods for degraded or low-input samples // *Nature Methods*. – 2013. – Vol. 10, No. 7. – P. 623–629.
2. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Analytical Biochemistry*. – 1987. – Vol. 162, No. 1. – P. 156–159.
3. Cui P., Lin Q., Ding F. et al. A comparison between ribo-minus RNA sequencing and poly(A)-selected RNA sequencing // *Genome Biology*. – 2010. – Vol. 11, No. 5. – P. R58.
4. Illumina Inc. RNA Sequencing Methods Guide: Technical Report. – San Diego, 2020.
5. Mortazavi A., Williams B. A., McCue K., Schaeffer L., Wold B. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq // *Nature Methods*. – 2008. – Vol. 5, No. 7. – P. 621–628.
6. Qiagen. RNeasy Mini Handbook: RNA Purification Protocols. – Hilden: Qiagen, 2019.
7. Rio D. C., Ares M., Hannon G. J., Nilsen T. W. Purification of RNA using TRIzol (TRI reagent) // *Cold Spring Harbor Protocols*. – 2010.
8. Scholes A. N., Lewis J. A. Comparison of RNA isolation methods on RNA-Seq: implications for differential expression and meta-analyses // *BMC Genomics*. – 2020.
9. Trapnell C., Williams B. A., Pertea G. et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching // *Nature Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28, No. 5. – P. 511–515.
10. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics // *Nature Reviews Genetics*. – 2009. – Vol. 10, No. 1. – P. 57–63.
11. Zech T. J., Fürst R. In-depth comparison of methods to isolate RNA from common human cell lines // *BMC Genomics*. – 2026. – Vol. 27. – Art. 100.
12. Zhao S., Fung-Leung W. P., Bittner A., Ngo K., Liu X. Comparison of RNA-Seq by poly(A) capture, ribosomal RNA depletion, and DNA microarray for gene expression profiling // *BMC Genomics*. – 2014. – Vol. 15. – P. 419.