

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**ОЛИЙ ТАЪЛИМ ТИЗИМИ ПЕДАГОГ ВА РАХБАР КАДРЛАРИНИ
ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ ОШИРИШНИ
ТАШКИЛ ЭТИШ БОШ ИЛМИЙ - МЕТОДИК МАРКАЗИ**

**ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ
ПЕДАГОГ КАДРЛАРНИ ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ
МАЛАКАСИНИ ОШИРИШ ТАРМОҚ МАРКАЗИ**

“ТАСДИҚЛАЙМАН”

ТКТИ ҳузуридаги “ПКҚТ ва МО” тармоқ
маркази директори

_____ проф. Х.Ч.Мирзакулов

“ _____ ” _____ 2015 йил

“ГЕН ВА ҲУЖАЙРА МУХАНДИСЛИГИ”

модули бўйича

ЎҚУВ УСЛУБИЙ МАЖМУА

Тузувчилар:

Р.М.Артикова - ТКТИ, “Биотехнология” кафедраси доценти,
биология фанлари номзоди.

Н.А. Хўжамшукуров - ТКТИ, “Биотехнология” кафедраси
муdiri, биология фанлари номзоди, доцент

Ғ.У.Қобилов - ТКТИ, “Биотехнология” кафедраси доценти,
биология фанлари номзоди.

Тошкент 2015

Мундарижа

1.ИШЧИ ЎҚУВ ДАСТУРИ.....	3
1-МАВЗУ: ГЕН ВА ҲУЖАЙРАЛАР МУХАНДИСЛИГИ ФАНИНИНГ АҲАМИЯТИ ВА ВАЗИФАЛАРИ. МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИЯ	10
2-МАВЗУ ГЕН МУХАНДИСЛИГИНИНГ МОДДИЙ АСОСЛАРИ.....	19
3-МАВЗУ: РЕКОМБИНАНТ ДНК ОЛИШ ТЕХНОЛОГИЯСИ. ТРАНСФОРМАЦИЯ	32
4-МАВЗУ: ХАЙВОНЛАР ВА ЎСИМЛИКЛАРНИНГ ГЕНЕТИК МУХАНДИСЛИГИ	42
5-МАВЗУ:ҲУЖАЙРА ВА ТЎҶИМЛАР БИОТЕХНОЛОГИЯСИ	47
6-МАВЗУ: ТИББИЁТ ВА ФАРМАЦЕВТИКА УЧУН ИККИЛАМЧИ СИНТЕЗ МОДДАЛАРИ ОЛИШ	58
7-МАВЗУ:ВИРУССИЗ ЎСИМЛИКЛАР ОЛИШ.ЎСИМЛИКЛАРНИ КЛОНЛИ МИКРОКЎПАЙТИРИШ. ХАЙВОН ҲУЖАЙРАЛАРИ КУЛТУРАСИ	61
АДАБИЁТЛАР.....	69
МУСТАҚИЛ ИШ МАВЗУЛАРИ.....	70
ГОЛОССАРИЙ	71

1.ИШЧИ ЎҚУВ ДАСТУРИ

Дастурнинг асосий мақсади ва вазифалари:

Ген ва хужайра муҳандислиги фани замонавий биотехнологик усуллардан фойдаланиб озиқ-овқат, энергетик ресурс, атроф-муҳит ифлосланишининг олдини олиш билан боғлиқ муаммолари ечимини топиш, ўсимлик ва хайвон хужайраларидан трансген организмлар, турли стресс омиллар, бактерия, замбуруғ ва вируслар, гербицидларга чидамли ўсимлик шакллари яратиш, хужайраларнинг ин витро тизимида яшаши ва кўпайиш хусусиятлари, регенерацияланиши ва уларнинг тотипотентлигини ўрганиш, ўсимликлар хайвонлар хужайралари культурасидан фойдаланиб, дори препаратлар, биологик фаол моддалар, озиқа кўшимчаларалар ва бошқаларни ишлаб чиқаришга асосланган.

Фанни ўқитишдан мақсад- ген ва хужайра муҳандислиги усуллари ёрдамида микроорганизмлар хужайрасига бошқа организмларни генларини киритиш ва шу генларнинг махсулотларини олиш, ўсимликларнинг атроф муҳитнинг стресс омилларига қарши курашиш қобилиятини ошириш имкониятлари билан таништиришдир.

Фаннинг вазифаси - рекомбинант ДНК ва РНКлар олиш, хужайраларадан генларни ажратиш, генлар устида манипулятсиялар ўтказиш, уларни бошқа организмларга киритиш орқали янги ирсий хусусиятга эга бўлган генетик структуралар ва организмлар яратиш, хужайраларни биосинтетик потенциалидан амалий фойдаланиш мумкинлигини асослаб бериш.

Курс якунида тингловчиларнинг билим, кўникма ва малакаларига қўйиладиган талаблар:

“Ген ва хужайра муҳандислиги” фани бўйича тингловчилар қуйидаги янги билим, кўникма, малака ҳамда компетенцияларга эга бўлишлари талаб этилади:

Тингловчи:

- геном ва хужайра муҳандислигининг вазифалари;
- оқсиллар биосинтезининг умумий схемаси;
- генетик код тушунчалари;
- ген муҳандислигининг моддий асослари;
- рекомбинант ДНК технологияси;
- ёт генларни ўсимлик хужайрасига киргизиш йўллари;
- ҳайвон хужайралари трансформатсияси;
- хужайра муҳандислиги;
- гибридома технологияси;
- геномни конструкия қилишнинг принциплари *билиши* керак;

Тингловчи:

- ген мухандислигида юқори сифатли векторларнинг хусусиятлари, рестрикция ва лигирлаш;
- керакли хусусиятларга эга бўлган ўсимликлар яратиш, ҳайвон хужайралари трансфекцияси;
- биотехнологик ишлаб чиқаришда хом ашё ва продутсентлар ҳақида;
- тўқималарни ўстирувчи пептид вакторлари ва бошқа биологик маҳсулотларнинг янги авлодлари бўйича *кўникмаларига* эга бўлиши;

Тингловчи:

- рекомбинант ДНКлар технологиясини яратиш;
- трансген ўсимликлар ва ҳайвонлар олиш;
- хужайралар биотехнологияси асосида қурғоқчиликга, шўрхоқликга, турли фитопатогенларга чидамли ўсимликлар олиш;
- *малакаларига* эга бўлиши зарур.

Тингловчи:

- қишлоқ хўжалиги учун биопрепаратлар ишлаб чиқариш технологияларини бошқариш ва назорат қилиш;
- биотехнологик маҳсулотлар ишлаб чиқариш жараёнларидаги мавжуд долзарб масалаларни ечиш учун инновацион технологиялардан фойдаланиш;
- биотехнологик маҳсулотлар ишлаб чиқариш жараёнида экспериментал тадқиқотларни ўтказиш ва олинган натижалар асосида уларга ишлов бериш *компетенцияларига* эга бўлиши лозим.

Фаннинг ўқув режадаги бошқа фанлар билан боғлиқлиги ва узвийлиги

Ген ва хужайра мухандислиги фани қайта тайёрлаш ва малака ошириш йўналишини “Биотехнология” мутахассислиги бўйича киритилган “Саноат биотехнологияси” ва “Муқобил энергия манбалари” фани билан узлуксиз боғлиқ бўлиб, ушбу фанларни ўзлаштиришда назарий асос бўлиб хизмат қилади. “Ген ва хужайра мухандислиги” фанини тўлиқ ўзлаштиришда ва амалий вазибаларни бажаришда “Таълимда мультимедиа тизимлари ва масофавий ўқитиш методлари”, “Электрон педагогика асослари ва педагогнинг шахсий, касбий ахборот майдонини лойиҳалаш”, ҳамда “Амалий хорижий тилни ўрганишнинг интенсив усуллари” фанлари ёрдам беради.

Фаннинг Олий таълимдаги ўрни

“Ген ва хужайра мухандислиги” фани қайта тайёрлаш ва малака ошириш йўналишини “Биотехнология” мутахассислиги бўйича маҳсус фанлардан дарс берувчи профессор ўқитувчилар учун муҳим ўринни эгаллайди. Ушбу фан Олий таълим муассасаларида талаба ва педагоглар томонидан ўқув-илмий ишларини олиб бориш учун асосий назарий ва амалий билимларни беради.

Модул бўйича соатлар тақсимоти

№	Мавзу	Назарий	Амалий	Кўчмамаш	Тажриба алм	Мустақил
1	Кириш. Ген ва хужайралар мухандислиги фанининг аҳамияти ва асосий вазифалари. Молекуляр биология.	2		-	-	2
2	Ген мухандислиги моддий асослари	2	2		-	
3	Рекомбинант ДНК олиш технологияси. Трансформация.	2		4		
4	Хайвонлар ва ўсимликлар ген мухандислиги	2	2			
5	Хужайра ва тўқималар биотехнологияси	2	2			
6	Тиббиёт ва фармацевтика учун иккиламчи синтез моддалари олиш	2				2
7	Вируссиз ўсимликлар олиш, клонли микрокўпайтириш. Хайвон хужайралари культураси	2		4		
	Жами	14	6	8	-	4

Маъруза машғулотларининг мазмуни

1 –мавзу. Кириш. Ген ва хужайралар мухандислиги фанининг аҳамияти ва асосий вазифалари. Молекуляр биология.

Ген ва хужайра мухандислигининг ривожланиш босқичлари. Ген ва хужайра мухандислиги фанининг ривожланишига ҳисса қўшган олимлар. Ҳозирги кунда ген ва хужайралар мухандислиги бўйича эришилган ютуқлар. Трансляция, транскрипция, репликация.

Ген, геном ва хужайра мухандислиги замонавий биомухандисликнинг асосий йўналишидир. Ген, геном ва хужайра мухандислигининг вазифалари.

2–мавзу. Ген мухандислиги моддий асослари

Штаммлар олиш. Векторлар ва уларнинг ген мухандислигидаги аҳамияти. Векторларни конструкция қилиш принциплари. Ген мухандислигида юқори сифатли векторларнинг хусусиятлари. Ген мухандислиги ферментлари, уларни классификацияси. Рестриктазалар, лигазалар.

ДНК бўлақларини қирқиш ва рестрикция хариталарни тузиш - физикавий харитасини тузиш усуллари.

3–мавзу. Рекомбинант ДНК олиш технологияси. Трансформация.

Рекомбинант ДНК технологияси. Ген-кўчиришнинг учта манбаи. Рестрикция ва лигирлаш, ёт генни векторга кўчириш. Векторни пробиркадан хужайрага кўчириш, трансформация. ДНК-векторни экспрессия тизимида трансфекцияси.

Прокариот генларнинг экспрессиясини ўзига хослиги. Алохида ва қариндош генларни клонлаш. Трансформациянинг аҳамияти ва асосий усуллари.

4–мавзу. Хайвонлар ва ўсимликлар ген муҳандислиги

Геннинг микроинъекцияси. Хайвон хужайраларига генларни кўчирувчи векторларнинг тавсифи. Хайвон хужайралари трансформациясининг методлари. СВ40 ДНК асосида яратилган вирус векторлари. Хайвон хужайралари трансфекцияси. Ёт оқсиллар стабил экспрессияси ёрдамида янги хужайра линиясини олиш. Ўсимликларда синтезланадиган, уларнинг озиқавийлиги ва техник қийматини белгилайдиган маҳсулотлар, яъни, оқсиллар, ёғлар, полисахаридлар ва бошқа моддаларнинг сифатини яхшилаш учун ген-муҳандислик усулларини қўллаш, геномига т фойдали генлар киритилган янги навларни яратиш.

5 –мавзу. Хужайра ва тўқималар биотехнологияси

Биотехнологияда ажратилган хужайра ва тўқималар културасини асосий йўналишлари. Ўсимлик хужайра ва тўқималарини ин витро тизимида культурлаш техникаси. Озуқа муҳитлар. Културалаш шароити. Каллус тўқималари култураси Хужайралар суспензияси култураси. Якка хужайралар култураси

6 –мавзу. Тиббиёт ва фармацевтика учун иккиламчи синтез моддалари олиш

Каллус хужайралари културасининг иккиламчи моддаларни синтез қилиш хусусияти. Ўсимликлар хужайралари културасидан олинадиган иқтисодий муҳит маҳсулотлар. Биореакторларда хужайралар културасини ўстириш технологияси.

7–мавзу. Вируссиз ўсимликлар олиш, клонли микрокўпайтириш.

Хайвон хужайралари култураси

Соғломлаштирилган, вирусдан ҳоли экиш материаллари олиш. Ўсимликларнинг клонли микрокўпайтириш шароитини оптималлаштириш. Ўсимликларни клонли микрокўпайтиришга генетик, физиологик, гормонал ва физик омиллар таъсири. Ўсимликларни клонли микрокўпайтиришнинг анъанавий усулларга нисбатан афзалликлари. Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари.

Хайвон хужайраларини културалаш тарихи. Хужайраларни културага киритиш, уларнинг келиб чиқиши. Ин витро тизимида култураланаётган хужайралар култураси. Хайвон хужайраларини културалаш учун озуқа муҳити ва културалаш шароити. Хужайраларни културалаш тизими. Органларни културалаш. Усул тарихи. Химер хайвонлар яратиш усуллари.

Амалий машғулотлар мавзулари

Амалий машғулотларда тингловчилар ўқув модуллари доирасидаги ижодий топшириқлар, кейслар, ўқув лойиҳалари, технологик жараёнлар билан боғлиқ вазиятли масалалар асосида амалий ишларни бажарадилар.

Амалий машғулотлар замонавий таълим услублари ва инновацион технологияларга асосланган ҳолда ўтказилади. Бундан ташқари, мустақил ҳолда ўқув ва илмий адабиётлардан, электрон ресурслардан, тарқатма материаллардан фойдаланиш тавсия этилади.

1 –мавзу. Микроорганизмларни ўстириш учун озуқа муҳитлари тайёрлаш, уларни ўстириш ва сақлаш усуллари ўрганиш

Бактериялар, замбуруғлар ва вирусларни ўстириш учун озуқа муҳити тайёрлаш ва стериллаш. Микроорганизмларни узоқ вақт сақлаш. Озуқа муҳити компонентлари миқдорини ҳисоблаш ўрганилади.

2 –мавзу. Хужайра ва тўқималарни сунъий озуқа муҳитларида ўстириш техникасини ўрганиш

Хужайра ва тўқималарни сунъий шароитда ўстириш учун озуқа муҳити тайёрлашда озуқа муҳити компонентлари миқдорини ҳисоблаш, уларни стериллаш ва стерил ўсимталар ўстириш ўрганилади.

3–мавзу. Хужайра органоидларини ажратиш жараёнларини ўрганиш.

Ўсимлик хужайрасидан ядроси, хлоропласт ва митохондрия олишда фойдаланиладиган озуқа муҳитлари таркиби. Уларни тайёрлаш, хужайралардан органоидларни ажратиш жараёнлари ўрганилади.

Кўчма машғулотлар мавзулари

1–мавзу. Хужайралардан умумий ДНК ажратиш

Ўсимлик баргидан ДНК ва РНК ажратиш ва тозалаш. Ажратиб олинган плазмид ДНКсини ген муҳандислиги мақсадларида фойдаланиш учун СсСл - градиентида тозалаш жараёнлари ўрганилади

2–мавзу. Ўсимликлардан апикал меристемасини ажратиш ва ўстириш

Вируссиз ўсимликлар олиш мақсадида картошка ўсимталаридан апикал меристемасини ажратиш ва ўстириш.

Мустақил иш мазмуни

Мустақил таълимни ташкил этишнинг шакли ва мазмуни

Мустақил таълим тегишли ўқув модули бўйича ишлаб чиқилган топшириқлар асосида ташкил этилади ва унинг натижасида тингловчилар битирув иши (лойиҳа иши) ни тайёрлайди.

Битирув иши (лойиҳа иши) доирасида ҳар бир тингловчи ўзи дарс бераётган фани бўйича электрон ўқув модулларининг тақдимотини тайёрлайди.

Электрон ўқув модулларининг тақдимоти қуйидаги таркибий қисмлардан иборат бўлади:

Силлабус;

Кейслар банки;

Мавзулар бўйича тақдимотлар;

Бошқа материаллар (фанни ўзлаштиришга ёрдам берувчи қўшимча материаллар: электрон таълим ресурслари, маъруза матни, глоссарий, тест, кроссворд ва бошқ.)

Электрон ўқув модулларини тайёрлашда қуйидагиларга алоҳида эътибор берилади:

- тавсия қилинган адабиётларни ўрганиш ва таҳлил этиш;

- соҳа тараққиётининг устивор йўналишлари ва вазифаларини ёритиш;

- мутахассислик фанларидаги инновациялардан ҳамда илғор хорижий тажрибалардан фойдаланиш.

Шунингдек, мустақил таълим жараёнида тингловчи касбий фаолияти натижаларини ва талабалар учун яратилган ўқув-методик ресурсларини “Электрон портфолио” тизимига киритиб бориши лозим.

Тавсия этилаётган малакавий иш мавзулари:

1. Ўсимликларнинг хосилдорлигини оширишда ген ва хужайралар муҳандислигининг аҳамияти.
2. ДНК нуклеотидлари кетма-кетлигини аниқлаш усуллари
3. Трансгенез назарияси ва унинг аҳамияти
4. Генлар экспрессиясининг биокимёвий бошқарилиши
5. Хужайралар селекциясида биотехнологиянинг аҳамияти.
6. Ўсимлик хужайраларини культуралашнинг иқтисодий аҳамияти.
7. Ўсимлик тўқималаридан фойдаланиб иккиламчи метоболитлар синтезини амалга ошириш.
7. Ўсимлик хужайра ва тўқималарида иккиламчи метоболитларнинг тўпланишига таъсир этувчи омиллар.
10. Ўсимликлар ресурслари генофондини сақлаб қолишда биотехнология.
11. Ўсимлик хужайралари культураларидан фойдаланиш истиқболлари.
12. Генофондни сақлаш усуллари.

Дастурнинг ахборот-методик таъминоти

Модулларни ўқитиш жараёнида ишлаб чиқилган ўқув-методик материаллар, тегишли соҳа бўйича илмий журналлар, Интернет ресурслари, мультимедиа маҳсулотлари ва бошқа электрон ва қоғоз вариантдаги манбаалардан фойдаланилади.

Фойдаланиладиган адабиётлар рўйхати

Асосий адабиёт

1. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi. Darslik. T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
2. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo . 2014y, -335 b.

3. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b

Қўшимча адабиётлар

1. Рахматов Н.А., Махмудов Т.М., Мирзаев С. Биокимё. Дарслик -Т.: Таълим, 2009.528
2. Мусаев Х.Н., Ахмедова Н.Х. Кимёвий микробиология.Дарслик. –Т. Фан ва технология. 2012.-428 б
3. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./Под. ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. М.: Высшая школа, 1997. – 228 с.

Internet saytlari

1. www.ziyonet.uz
2. www.molbiol.ru
3. www.molbiol.Com
4. www.biotex.com

1-МАВЗУ: ГЕН ВА ҲУЖАЙРАЛАР МУҲАНДИСЛИГИ ФАНИНИНГ АҲАМИЯТИ ВА ВАЗИФАЛАРИ. МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИЯ

Режа.

1. Кириш.
2. Ген ва ҳужайра муҳандислиги фанинг аҳамияти ва вазифалари.
3. Ген ва ҳужайра фанинг асосий йўналишлари
4. Молекуляр биология асослари

Таянч сўзлар: биотехнология, микроорганизмлар, ДНК қўш спирали, ген ва ҳужайра, генетик трансформация, молекуляр биология, генетик код, РНК ва ДНК, ДНК биосинтези, транскрипция жараёни.

Қадим даврданок биотехнология, ундаги жараёнлар кишиларнинг кундалик эҳтиёжларини қондириш мақсадида фойдаланиб келинган бўлсада, амалий фан сифатида XX асрда шаклланди. У ҳозирги вақтда инсониятнинг энг асосий долзарб муаммоларидан бири ҳисобланмиш – озиқ-овқат, энергетик ресурс, атроф-муҳит ифлосланишининг олдини олиш билан боғлиқ муаммолари ечимини топиш зарурияти туфайли юзага келди.

Биотехнологик жараёнлар микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари, сунъий озиқа муҳитларида ўстирилаётган ҳужайра, тўқима ва органларни биосинтетик потенциалдан амалий фойдаланишга асосланади. Ҳозирги вақтда дунёнинг кўплаб мамлакатларида биотехнологиянинг тараққиётига асосий эътибор қаратилмоқда, чунки бошқа технологияларга қараганда, биотехнологик жараёнлар энергия сарфининг камлиги, деярли чиқиндисизлиги, экологик софлиги жиҳатидан бир қатор афзалликларга эга. Бундан ташқари бу технологиялар муайян асбоб-ускуна, техник қурилма ва препаратлардан фойдаланишни талаб қилади, шунингдек, иқлим шароитларига қарамасдан кичик ҳажмни эгаллайдиган майдонларда ҳам тадқиқотлар ўтказиш мумкинлиги билан ажралиб туради.

Замонавий биотехнология фан сифатида ўтган асрнинг қирқинчи йиллари бошида шаклланиб, 1953 йилда Джеймс Уотсон ва Френсис Криклар томонидан ДНК қўш спиралининг фазовий тузилиши тўғрисидаги кашфиётдан сўнг жадал ривож топди. Бу соҳада янги стратегик йўналиш - ген муҳандислиги 1972 йилда, яъни, Пол Бэрг лабораториясида биринчи марта ДНК нинг рекомбинат молекуласи синтезлангач пайдо бўлди. Бу эса биотехнологияни унинг асосий бўғини биомуҳандислик (ядро биологияси) билан боғлаб замонавий фанда асосий ўрин эгаллади.

Юксак кашфиётлар оралиғидаги тадқиқотлар машҳур олимлар Г.Бойер, С.Коэн, Д.Морр, А.Баев, А.Белозерский, О.Эйвери, Г.Гамов, К.Коран, Ф.Жакоб,

Ж.Моно, Ж.Бэквист, Ю.Овчинников, А.Спирин, Р.Петров ва бошқалар томонидан генлар ва ферментларнинг идентификацияси, ўсимлик, микроб, ҳайвон хужайраларидан ДНК молекуласини ажратиш, генетик коднинг ўқилиши, прокариот ва эукариотларда генлар экспрессия механизмлари, оқсил биосинтезини кашф этилиши билан боғлиқ ишлар билан тўлдирилди.

Ўтган асрнинг 50- йилларига келиб биотехнологияда яна бир муҳим янги йўналиш – хужайра муҳандислиги вужудга келди. Унинг асосчилари П.Ф.Уайт (АҚШ) ва Д.Готре (Франция)лардир. Бу йўналишнинг давомчилари сифатида А.Курсанов, Р.Г.Бутенколар томонидан яратилган мактабга жуда кўплаб ёш мутахассисларни жалб этиш орқали амалга оширилган соҳага оид тадқиқотларни кўрсатиш мумкин.

Ген ва хужайра муҳандислиги замонавий биотехнологиянинг асосий йўналишларини белгилаб бердики, ундаги усуллар ўтган асрнинг 80- йилларида кенг ривожланиб фан ва ишлаб чиқаришнинг кўплаб соҳаларида кенг қўлланила бошланди.

Биотехнология фан сифатида замон ва моҳиятига кўра, замонавий ва анъанавий (классик) биотехнологияга бўлинади. Замонавий биотехнология (биомуҳандислик) ген ва хужайра муҳандислиги усуллари орқали генетик трансформация (модификация) қилинган ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлардан ишлаб чиқаришни интенсификациялаштириш, турли хил мақсадларга мўлжалланган маҳсулотларнинг янги турларини олиш технологияларини яратиш ва улардан фойдаланиш тўғрисидаги фандир.

Анъанавий биотехнологияни, оддий, нотрансген ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлардан (табиий ва селекцион йўли билан олинган) фойдаланиб табиий ва сунъий шароитларда қишлоқ хўжалик ва бошқа хил маҳсулотларни ишлаб чиқариш, сақлаш ва қайта ишлаш, уларни ташиш усуллари ва технологиялари ҳақидаги фан деб ҳам қараш мумкин.

Янги, замонавий биотехнологиянинг йирик ютуғи генетик трансформация, ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларнинг реципиент хужайраларига бегона (табиий ва сунъий яратилган) донор генларни киритиб, янги ёки кучайтирилган белги ва хусусиятларга эга трансген организмлар олишдир. Мазкур йўналиш ўз мақсад ва имкониятларига кўра, келажакдаги стратегик йўналишлардан бири бўлиб ҳисобланади. Бу ташқи муҳитнинг ноқулай стресс омилларига чидамлилиги юқори маҳсулдор ва сифатли ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларни яратиш, табиат ва ишлаб чиқаришнинг барча соҳаларидаги экологик вазиятни соғломлаштириш борасидаги мутлақо янги муаммоларни ҳал этиш имконини беради.

Бундай мақсадларга эришиш учун генетик трансформация самарадорлигини оширишда баъзи қийинчиликлар ва энг аввало, генларни идентификация қилиш ва

клонлаш, уларнинг банкини яратиш, биологик объектларнинг белги ва хусусиятларини полиген детерминацияси механизмларини мукаммал ўрганиш, ишончли вектор тизимларини яратиш ва генлар экспрессиясининг юқори даражада чидамлилигини таъминлаш кабиларни бартараф этиш лозим. Бугунги кунда дунёнинг кўплаб мамлакатлари лабораторияларида тижорат мақсадларида қўлланиладиган мутлақо янги хилдаги трансген ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар яратилган.

Хужайра биотехнологияси хужайраларнинг нодир хусусияти уларнинг тотипотентлиги, яхлит ўсимлик организмига қадар регенерация бўла олиш хусусияти, шунингдек, улар томонидан иккиламчи синтез бирикмаларининг ишлаб чиқарилиши, селекцияда: чидамлилик, ҳосилдорлик ва сифат; қимматли генотипларнинг кўпайиши; ўсимликларни вирус ва виroidларидан соғломлаштириш; тиббиёт ва озиқа мақсадларида қўлланиладиган биологик фаол препаратларни олишда фойдаланиладиган қишлоқ хўжалик ўсимликларининг янги шакл ва линияларини олиш имконини берди. Бу соҳада кўплаб қийинчиликлар юзага келди, уларнинг асосийлари хужайралар регенерацияси частотасининг камлиги ва организмнинг нормал онтогенезининг бузилиши, самоклонал вариацияларнинг тор спектри организмларнинг муҳим қимматли хўжалик аҳамиятига молик белгилари ва моддаларнинг иккиламчи метаболизмини назорат қилувчи генлар экспрессиясининг сустлиги кабилар ҳисобланади.

Дунё фанида биотехнология борасидаги кучли қўзғалиш ўтган асрнинг 80 – йилларида рўй берди, яъни, янги услубий ёндошишлар уларда фан ва амалиётда самарали фойдаланишга ўтиш имконини берди ва бундан катта иқтисодий самара олиш имконияти туғилди. Илмий асосланган тахминларга кўра, XXI асрнинг бошлардаёқ дунё бозорига келиб тушадиган маҳсулотлар умумий ҳажмининг қарийб 20 % ини биотехнологик маҳсулотлар ташкил этади.

Ген муҳандислиги, биомуҳандисликнинг тараққий этгани сари бу вақт мобайнида Ғарбий Европа, Америка, Россия матбуотида жамоатчиликнинг соҳага оид қарши фикрлари ҳам чоп этилди, бу борада ҳозирга қадар турли қарама-қарши ғоялар илгари сурилмоқда.

Жамоатчиликнинг ген муҳандислиги ривожига нисбатан бундай қарши ҳаракатлари негизида биотехнологиянинг янги ютуқ ва ғояларининг мазмун моҳиятини чуқур англаб етмасдан, ундаги оқибатлардан ҳадиксираш, яъни муайян табиати аниқланмаган янги касалликлар ўчоғи пайдо бўлишидан қўрқиш ва у орқали келажакда амалга оширилиши лозим ишларнинг фойдали ва самарали томонларини кўра олмаслик ётади. Биотехнология фани ривожига бундай тўсиқларни бартараф этишда кенг жамоатчилик оммасини соҳага оид маълумотлар билан таништириш, олиб борилаётган тадқиқотлар усулларини такомиллаштириб,

ген муҳандислиги фаолиятидаги ҳавфсизликни таъминлашга оид меъёрий – ҳуқуқий акт ва ҳужжатлар, қонунларга қатъий риоя этиб олиб бориш лозим бўлади.

Молекуляр биология ҳаётни пайдо бўлишини молекуляр даражада ўрганади, яъни тирик организмларнинг асосий хоссалари, ўсиши ва ривожланиши, кўпайиш ва дифференцияланиш, ирсият ва иммунитет, ҳаракатланиш ва ташқи муҳитга мослашиш ва бошқа жуда кўп биологик макромолекулаларнинг молекуляр асосини ўрганишга ва тушунтиришга қаратилган фан.

Молекуляр биологиянинг фан тариқасида дунёга келиши Жеймс Уотсон билан Жеймс Крикнинг кашфиётига боғлиқ. Бу олимлар томонидан ДНК дезоксирибонуклеин кислотасининг модели кашф этилган, яъни ДНК молекуласи кўш спирал тузилишга эга эканлигини исбот қилдилар (1953).

1953 йилда Гамов (АҚШ) генетик код 3 та нуклеотид тўпладан (триплетликдан) ташкил топган бўлиши керак, деган ғояни илгари сурди. Ҳақиқатан ҳам, бунда 4 хил нуклеотид ёрдамида 64 та комбинация ҳосил қилиш мумкин. 1961 йил бошларида инглиз олими Крик генетик код муаммосининг математик анализига асосланиб, код ҳақиқатда ҳам триплетли характерга эга, деган хулосага келган. Триплет Крик ифодасига кўра кодон деб номланган.

Нуклеин кислоталар янги биологик модда сифатида 1868йили швейцариялик биолог Фридрих Мишер томонидан кашф этилган. У йирингни ташкил қиладиган қон элементлари-лейкоцитлар (“йиринг хужайралари”) ядросидан фосфорга бой номаълум бирикмалар ажратиб олиб, унга нуклеин номини беради. Бу бирикма кислота хоссасига эга бўлганидан кейинроқ нуклеин кислота деб аталадиган бўлган. Нуклеин кислоталарни гидролиз қилиб, улар полимер бирикма ва мономерлари азот, углевод ва мономерлари азот асоси, углевод ва углевод ва фосфат кислотадан ташкил топган нуклеотидлар, бинобарин, РНК-рибозополунуклеотид ва ДНК-дезоксирибозополунуклеотид эканлиги тасдиқланди. Аммо 1950-йилларгача нуклеин кислота молекуласи тўрт хил нуклеотидларнинг тартибли такрорланиши-тетрануклеотидлардан иборат, деган фикр қабул қилинган эди. Бу тушунчанинг нотоғри эканлигини турли манбалардан ажратиб олинган ДНК молекулаларининг нуклеотил таркибини синчиклаб ўрганиб, улар орасида катта фарқ мавжуд эканлигини аниқлаган америка олими Э.Чаргафф исботлади. Нуклеин кислоталарнинг аниқ тузилиши 50-йиллардан кейин, уларнинг биологик функцияси, биосинтези ва бошқа хоссаларини тадқиқ этиш жараёнидагина тўла тушунила бошланди, ҳозирги кунда ҳам бу ишлар давом этади.

Ҳар бир тирик организмда нуклеин кислоталарнинг ҳар икки тури-рибонуклеин кислота (РНК) ва дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) мавжуд. Фақат вируслар буларнинг бир турини, ё ДНК, ёки РНК ни туттади. Нуклеин кислоталар оқсиллар билан бирга ҳаётнинг моддий асосини ташкил қилади. Улар бир-бири билан ҳар томонлама узвий боғлиқ, аммо уларнинг ҳужайрадаги ўрни ва функцияси тубдан фарқ қилади: оқсиллар ассосан қурилиш ва ҳужайранинг ишчи органлари материали, нуклеин кислота эса информацион материал, у организмнинг тузилиши, ўсиши, ривожланишига тегишли ахборатнинг сақланиши, такрорланиши, алмашинуви ва наслдан-наслга ўтишини таъминлайди.

Азот асослари-пуринлар ва пиримидинлар. РНК ва ДНК таркибига кирадиган азот асослари-пуринлар-аденин (А) ва гуанин (Г, G) ва пиримидинлар-цитозин (Ц, C), Тимин (Т) ва урацил (У, U) дир. Уларнинг структураси ва систематик номлари қуйида келтирилган:

Улар учун кето-енол таутомерия маълум. Асосий азот асосларидан ташқари, нуклеин кислоталар таркибида кам миқдорда бир нечта сийрак минор асослар ҳам учрайди. Улар қаторида ДНК таркибида топилган 5-метилцитозин, 6-метиладенин, 5-гидроксиметицитозин, транспорт РНК да топилган тиоурацил, дегидроурацил, нуклеотид, псевдоуридинлар киради:

Фосфат группа Нуклеотидлар таркибида ортофосфат киради. У молекулада битта (моно-), иккита (ди-) учта (три-) бўлиши мумкин.

2. Генетик жараёнларнинг молекуляр механизми. ДНК биосинтези-генлар репликацияси, яъни организм белгиларининг юзага чиқишидир. Гетерополимер бўлган информацион макромолекулалар генетик информацияни ўзининг бирламчи структураларида сақлайди ва ташийдди. ДНК молекуласида нуклеотидлар изчил жойлашган бу информация репликация ҳам транскрипцияда амалга ошади. Генетик информациянинг реализация қилиниши ДНК молекуласида нуклеотидлар тартиби шаклида ёзилган буйруқ (кўрсатма)ни оқсил молекуласи синтезида аминокислоталар тартибга айлантиришдан иборат. Информация оқими қуйидаги йўналишда кечади:
ДНК → РНК → оқсил → ҳужайра → организм

ДНК биосинтези ярим консерватив синтез деб аталади, чунки ҳар бир бола ДНК да фақат битта она занжир сақланади. Олинган натижалар репликациянинг консерватив усулини тўла инкор қилади, чунки акс ҳолда, бир бола ДНК си иккала бошланғич занжирни тутиши, бошқаси эса иккита янги синтезланган занжирдан иборат бўлиши керак. Унинг исботи қуйидаги мисолдан осон кўрилади.

Аввало ҳалқали ДНК тутадиган бактерияларда (*E.coli*), сўнгра эукариот ҳужайраларда ҳам радиоактив тимидин билан ўтказилган тажрибалар репликация жараёнида ДНКнинг иккала занжири ҳам бир вақтда синтезланишини тасдиқлади. Гап шу ердаки, агар *E.coli* ўсаётган муҳитга ³H-тимидин қўшилса у ҳужайрада dTTP га айланиб репликация давомида истеъмол қилинади. Бу тажрибаларни ўтказган Кейрнс ДНК репликациясининг моделини таклиф қилди. Бу моделнинг асосий хусусияти шундан иборатки, ДНК молекуласи репликация бошланишининг нуқтаси деб аталадиган специфик участкага эга.

ДНК репликацияси учун фақат ДНК-полимераза ферментининг ўзи етарли эмас. Бугунги кунда ҳам репликация жараёнининг тўла ва аниқ тасвири йўқ, бу жараёнда маълум функцияни бажарадиган йигирмадан ортқ фермент ва оксиллар иштирок этса керак. Репликациянинг ўзи бирин-кетин кечадиган бир қанча босқичлардан иборат. Бу босқичларнинг ҳаммаси жуда катта тезликда, олий даражада аниқ ўтади.

Йигирмадан ортқ репликатив ферментлар ва факторлардан иборат тўла комплекс ДНК-репликаза системаси ёки қисқача реплисома деб аталади. *E.coli* ҳужайраларида маълум даражада бир-биридан фарқ қиладиган учта ДНК-полимераза мавжуд. Улар I, II, III полимеразалар деб белгиланади. I ва III полимеразалар бола занжирининг узайишини таъминлашдан ташқари, экзонуклеазалик активлигига ҳам эга, яъни ДНК молекуласининг ҳар икки учидан ҳам охириги нуклеотидларни ажрата олади. *E.coli* ҳужайрасида ДНК занжири элонгациясига асосан III ДНК-полимераза жавоб беради. II ДНК – полимеразанинг функцияси ҳозирча аниқланган эмас.

Рибонуклеозид трифосфатлардан 5→3 йўналишидаги боғланиш *примаза* деб аталади. РНК затравка калта бир занжирли РНК бўлиб, унинг 3-учига изчилик билан дезоксирибонуклеотид қолдиқлари бирикади. Энг кейинги вақтда ҳар иккала занжир ҳам калта фрагментлар шаклида синтезланиши исботланди.

Бажарадиган функциясига қараб, РНК лар асосан уч синфга бўлинади: мессенжер (элчи)-информацион РНК (м-РНК), рибосомол РНК (р-РНК) ва транспорт (танишувчи) РНК (т-РНК). Улар ҳам иккиламчи ва учламчи структурага эга. Вируслар РНК си м-РНК га жуда ўхшаш бўлади.

Ичак таёқчасида РНК сининг типлари қуйидаги нисбатда бўлади: м-РНК~2, т-РНК~16% ва р-РНК~82%.

РНК нинг типлари

РНК ларнинг хоссалари				
Синф	Седиментация тезлиги	Молекуляр массаси	Нуклеотид қолдиқларининг тахминий сони	РНКнинг ҳужайрадаги умумий миқдори (%)
м-РНК	6—25 s	25000—1000000	75—3000	~2
т-РНК	4	23000—30000	73—93	~16
р-РНК	5	35000	100	~82
	16	550000	1500	
	23	1100000	3100	

РНК нинг ҳар уч типи ҳам оқсил синтезида иштирок этади, лекин уларнинг ҳар бирининг бу жараёнда махсус, такрорланмас функцияси бор.

Эукариот ҳужайраларда РНК нинг бошқа типлари ҳам топилган, лекин уларнинг функцияси ҳали аниқланган эмас, шунинг учун уларнинг белгилари ҳам йўқ. Уларнинг баъзилари ядрога, бошқалари цитоплазмада учрайди.

Транскрипция жараёни. Генлар транскрипцияси РНК ҳосил бўлишига олиб келади. РНК нинг ҳамма турлари ҳам ядрога синтезланади. ДНК матрицасида кечадиган ҳамма синтезлар ДНК да ёзилган ахборотга мувофиқ амалга ошади. РНК нинг барча турлари т-РНК, р-РНК ва м-РНК синтезланишида, ДНК асосларнинг тартиби РНК асослари тартибини белгилайди.

Полинуклеотид занжири фақат рибозонуклеотид трифосфатлардан синтезланади ва бу жараёнда аноргик пирофосфат молекулалари ажралиб чиқади. РНК синтези бир неча босқичда бажарилади: а) инициация (бошланғич), в) полимеризация ва з) ТЕРМИНАЦИЯ (тугаш). Реакциянинг бошланиши учун махсус оқсил – сигма фактор тугаши учун тугатувчи терминатор-кодон иштирок этади. Нухаси олинadиган шу занжир бўйича полимераза 5 дан 3 га томон йўналиб 3→5 шаклда борадиган РНК занжирини ҳосил қилади. ДНК матрицасида янги синтез қилинган махсулот (РНК молекулалари) *транскрипт* деб аталади.

Бирон бир маълумотни шартли белгилар ёрдамида ифодалаш, одатда, кодлаш ёки код деб аталади. 1961 йилда Крик генетик кодни математик анализ қилди. Оқсил молекуласидаги ҳар бир аминокислотани ифодаловчи код триплетли бўлиб, у Крик ифодасига кўра кодон деб номланган.

Оқсил молекуласига кирадиган аминокислоталар камида 20 хил бўлганидан кодонлар сони ҳам 20 дан кам бўлиши мумкин эмас. Демак 4 та нуклеотиднинг ўзи ёки иккита нуклеотиддан ҳосил бўладиган $16(4^2)$ комбинация ҳам етарли эмас. Турли тадқиқот ва мулоҳазалардан сўнг код уч

нуклеотиддан ибоат триплет табиатга эга эканлиги аниқланди. Албатта бунда ҳосил бўладиган комбинациялар сони $64(4^3)$, кодирланадиган аминокислоталар сонидан анча кўп маълум бўлдики, 20 та аминокислотадан 18 таси биттадан ортиқ (2,3,4 ва 6) кодон билан кодирланар экан.

Оқсилларнинг биосинтези. Оқсиллар биосинтези биохимия тарихида энг муҳим муаммолардан бири бўлиб келган. Бугунги кунда биз бу муаммо ҳақида кўп маълумотларга эгамиз лекин ҳозирча тўпланган ахборот бу соҳада билиши керак бўлган нарсаларнинг озгина қисмини қоплаши мумкин: оқсил синтези биосинтез жараёнлари орасида энг мураккаби бўлса керак, унинг айрим босқичларида полипептид занжир инициацияси, узайиши, тамомланиши ва оқсилларнинг етишишида юзга яқин ферментлар, махсус оқсил факторлар, умуман 200 яқин макромолекулалар иштирок этади. Бу макромолекулаларнинг кўпи рибосомалар уч ўлчовли мураккаб структурасининг ташкилий қисмларидир.

Оқсил синтез м-РНК ни декодирлаш, яъни РНК молекуласида тўрт хил асосларнинг изчил келиши ёзилган ахборотнинг 20 хил аминокислоталарнинг оқсил молекуласида изчил келиш тилига ўтказилишидир. Шунинг учун ҳам бу жараён трансляция (таржима қилиш) дейилади.

Трансляция. Оқсил синтезининг босқичлари. Бу жараён асосан 5 босқичда ўтади. Аминокислоталарнинг АТР ёрдамида активланиши ва тегишли транспорт РНК га кўчирилиши оқсил биосинтези учун энергетик асос яратади. Бу икки жарён узлуксиз боғланган бўлиб битта энзим Е-специфик аминоксил-т-РНК –синтеза таъсирида кечади. Френсис Крик бу жараёнда т-РНК адапторлик ролини ўйнашини аниқлади.

3. Ген муҳандислигининг пайдо бўлиши. Ген муҳандислигининг келиб чиқиши молекуляр биологиянинг тараққиёти билан боғлиқ. Бу соҳада олиб борилган сўнгги йиллардаги тадқиқотлар хужайранинг тузилиши ва вазифаларини изоҳлашдан ўтиб, уларда кечадиган жараёнларнинг молекуляр механизмларини органеллалар даражасида аниқлаш имконини беради.

Генетик ахборотнинг бир томонлама схемасини ифодаловчи ДНК→РНК→оқсил тартиби молекуляр биологиянинг асосий ақидаси ҳисобланади. Бу схеманинг асосий ҳолати ичак таёқчаси бактерияси *Esheria coli* учун кўрсатиб берилган бўлиб, у ҳақиқий ядроси бўлмайдиган прокариот организм ҳисобланади. Бироқ схеманинг мантиқийлиги ва соддалиги уни барча тирик мавжудотлар, жумладан, ядрога эга эукариот организмлар: одам ва ҳайвонлар учун ҳам қўллаш мумкин, деган фикрга олиб келган. Бу рўйхатга мезокариотлар (*Mezokaryotes*), замбуруғлар (фунги), ўсимликлар (*planta*) ва ҳайвонлар (*animalea*) киритилган. Прокариот организмлар молекуляр биологиясининг шубҳасиз

муваффақиятига қарамасдан, юксак организмлар геномини таҳлил этиш қийин кечди. Ҳозир ген муҳандислиги реципиент (генни қабул қилиб олувчи организм) ядро аппаратида ушбу организмга тегишли бўлмаган нафақат алоҳида янги генлар ва регулятор (бошқарувчи) кетма-кетликларни киритиш, балки яхлит хромосомалар, алоҳида органеллаларни кўчириб ўтказиш ёки ҳужайраларни бири-бирига қўшиши орқали организмларнинг янги шаклларни олиш имконини беради.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар.

1. Ген ва ҳужайра муҳандислиги фанинг ахамияти ва вазифалари нималардан иборат?.
2. Ген ва ҳужайра фанинг асосий йўналишлари
- 3.Замонавий биотехнология фан сифатида қачон шаклланди?
4. Нуклеин кислоталар янги биологик модда сифатида ким томонидан кашф этилган?
5. Нима учун ДНК биосинтези ярим консерватив синтез деб аталади?

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

- 1 Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
- 2 Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология Учеб. пособие для вузов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2000. -420 с.
- 3 Ашмарин И. Молекулярная биология. Ленинград 1977. – 366 с.
- 4 Бекер М.Е., Лиепиныш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.

2-МАВЗУ ГЕН МУХАНДИСЛИГИНИНГ МОДДИЙ АСОСЛАРИ

Режа:

1. Ген инженерлиги хақида маълумот
2. Рекомбинант ДНКлар технологияси
3. Клонлаш
4. Вектор молекулаларнинг функцияси
5. Векторлар турлари
6. Ген мухандислиги ферментлари

Таянч сўзлар: прокариот хужайралар, векторрекомбинат ДНК, клонлаш, соматик хужайралар, рестриктазалар

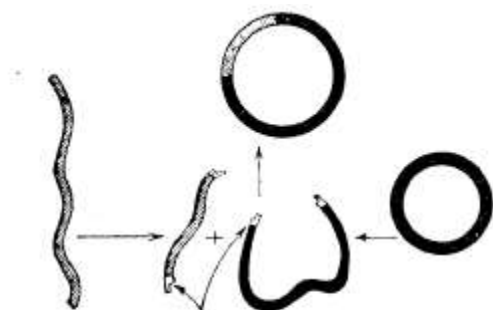
Вируслар билан прокариот хужайралар орасидаги материалнинг кўчирилишини, табиий шароитда бактерияларда ўтадиган рекомбинация механизмларини урганиш, плазмидлар ва мўътадил фагларнинг хужайрадаги хаётини тушуниш генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш имконини беради. Олимлар кўлида ДНК нинг керакли бир қисмини бактерия хужайрасига кўчириб ўтказадиган система — плазмидлар ҳам бор. Бундай трансмиссив кўчириб ўтказувчи халкали молекулалар — плазмидлар ва мўътадил вируслар *вектор* деб аталади. Улар табиатнинг ўзи биологларга такдим қилган совга бўлди. Шундай экан, энди бактерияларни культурада (улар ўсадиган мухитда) инсонлар учун керакли оксилларни, ферментларни синтезлашга мажбур қилиб бўлмасмикан?

Бу ғояларнинг амалда юзага чиқиши *ген инженерлиги* ёки *генетик инженерлик* деб аталган ва катта истиқболга эга бўлган янги сохани дунёга келтирди. Ген инженерлиги қисқача айтганда, генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш, уларни тўла ўрганиш асосида функционал қисмларига эга бўлиш, керакли жойидан кесиш, керакмас қисмини олиб ташлаб керак бўлган қисмларини бошқа генлардан ёки синтез йўли билан олиб улаш ва шу усулда тайёрланган *дурагай* ёки *рскомбинат* генини мувофик организмга киритиб (масалан, одамнинг инсулин генини микроб хужайрага ёки сичқоннинг ўсиш гормони генини каламушга), зарур турларни ёки препаратларни синтез қилиш ва хоказо ғоялар ва технологиянинг йнгиндисидир. Унинг қискадавр ичида босган хар бир кадамининг ўзи улуг кашфиёт.

Ген инженерлигининг пойдевори — *рекомбинат ДНКлар технологияси* — генетик структураларни бирга кўшиш техникаси — молекуляр биологиянинг энг мухим ютуқларидандир. Бу технологиядан фойдаланиб, зарур махсулот (оқсил) ни кодирлайдиган ДНК молекуласининг кичик бир қисми — генини кесиб олиш, унинг ёт ген билан комбинациясини яратиш, сўнгра бу янги геномни муносиб хужайраларга киритиб хўжайин-хужайра ДНК сининг синтез механизми ёрдамида кўп марталаб кўпайтириш мумкин.

Ген инженерлигининг пайдо бўлиши ДНКструктураси, унинг репликацияси, регуляцияси, молекуланинг айрим қисмлари, хатто, алоҳида нуклеотидларни таниш механизми, айрим нуклеин кислота, оксиллари минимал миқдорда ажратиб олиб, унинг миллионлаб нусхасини тайёрлаш техникаси ишлаб чиқилишига боғлиқ эди. Рекомбинат молекулалар олиш техникасини такомиллаштириш натижасида янги вируслар, микроблар, ўсимликлар, ҳайвонлар турларини яратиш, ирсий касалликларни даволаш, бузилган генларни тuzатиш, инсоният учун зарур генотипик конструкциялар тузиш имконияти туғилди. Бу соҳанинг тўла истикболи, жамият ривожланишига таъсири қандай бўлишини олдиндан айтиш қийин. Лекин инсон қўлига шундай қудратли қурол теккани аниқ.

Айрим ДНК молекулалари генлар бир турининг кўп нусхасини ҳосил қилиш учун илгаридан хужайраларнинг тоза линияларини олишда кўпдан бери ишлатиладиган *клонирлаш* техникасининг молекулаларга мослаштирилган варианты қўлланади. Хужайра линияларининг бир хиллигини клонирлаш усули билан кучайтириш мумкин. *Клон* деб бирдан-бир олд хужайрадан келиб чиққан хужайралар популяциясига айтилади. Клонирлаш асосан мутант хужайралар олиш учун ишлатилади.



59- расм. Рекомбинат ДНК ни олиш схемаси:

Юқорида — рекомбинат ДНК; ўртада — ёпишқоқ учлар; ўнгда — плазмид, ўртада (пасда) — рестриктаза билан кесиш; чапда — хромосома ДНК си.

Молекуляр клонирлаш ДНК нинг аниқ бир намунасини тоза ҳолда кўпайтиришдан иборат.

Кейинги йилларда соматик хужайраларнинг кўшилишига (дурагайланишига) ҳам эришиш мумкин бўлди. Бунда аввало иккита ядроли, битта комбинирланган хужайра — *гетерокарион* келиб чиқади. Вақт ўтиши билан гетерокарион митотик бўлиниб, бир ядроли *дурагай* (гибрид)

хужайра беради. Уни клонирлаш мумкин.

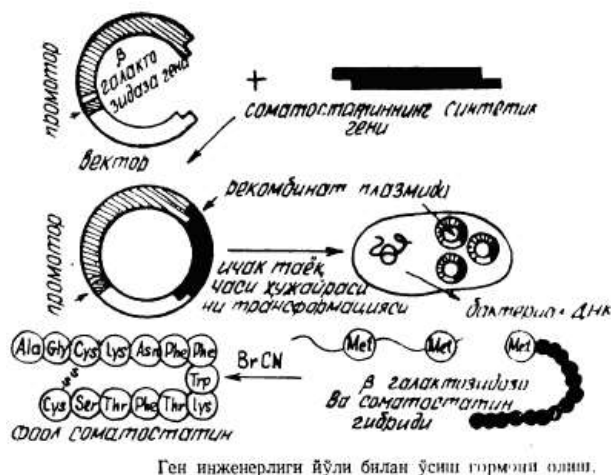
Бир турдан ажратиб олинган ДНК ни иккинчи тур хужайрасига бевосита киритиб, унинг экспрессиясига эришиб бўлмайди, чунки реципиент (кабул килувчи) тур ўзининг ДНК сани саклайдиган куролга эга. Улар модификация қиладиган метилазалар ва рестрикцияловчи эндонуклеазалардир.

ДНК ни фрагментларга кесиш ва уни бактерияга киритиш вазифасини олий даражада беҳато бажарадиган асбоб табиатнинг ўзйда тайёр, улар бактериялар — эндонуклеазаларнинг бир гурухи бўлиб чиқди. Албатта, бактерия ху-жайрасида ДНК молекуласини керакли жойидан кесадиган фермент инсонлар максоди учун тайёрланган эмас, бу асбобни бактериялар уз душмани — вирусларга карши курашиш учун яратган. Лекин табиатнинг донолиги туфайли қачонлардир пайдо бўлган вируслар ДНК сани чегаралайдиган (рестрикция) фермент бугунги кунда инсонлар максоди учун хизмат килмоқда. Рекомбинант молекуладар конструкция қилиш учун реструкцион эндонуклеазалардан фойдаланишни биринчи бўлиб 1972 йили Америка олимлари Стенли Коэн ва Герберт Бойер кашф этдилар. Бу олимлар у вақтгача ўзларининг плазмидлар устидаги тадқиқотлари билан машхур эдилар.

Коэн ва Бойер гоёсига мувофиқ, плазмидани рестриктазаларнинг бири ёрдамида кесиб ДНК фрагментларида бир занжирли учлар хосил килинади. ДНК нинг бу эркин учлари *ёпишқок учлар* дейилади, чунки бу учларда тўлатилмаган бир чизикли нуклеотидлар катори бор. Шу рестриктазанинг ўзибилан донор ДНК фрагментларга бўлинади. Уларнинг бирида бизни кизиқтирадиган гени саклайдиган участка хам бўлади. Энди мана шу фрагментларни кесилган плазмидалар билан аралаштирилса, ДНК молекуласининг бир занжири учиди рестриктазалар ёрдамида хосил бўлган нуклеотидлар затори, плазмидаларнинг ёпишқок учларига комплементар бўлганидан улар билан тегишли лигазалар иштирокида ковалент бог оркали уланади. Угай ДНК хўжайин ДНК сига уланиб ўкилиб кетмайди. Бунинг учун воситачи — вектор иштирок этиши зарур. Шундай векторлар сифатида плазмидийлар кулай қурол эканлиги юқорида таъкидланган.

Рекомбинат молекулаларни яратиш учун аввало зарур генининг хужайра ДНК сидаги ўрнини аниклаб, уни кесиб олиш керак. Энди кесиб олинган ДНК фрагментини клонирлаш ва векторга боғлаш керак. ДНК ни клонирлаш турли манбалардан ажратиб олинган ДНК фрагментларини плазмадий ёки вирус (бактерияфаг) га киритиб сўнграбу

генетикэлементларни бактерия ёки ачитки хужайраларида кўпайтиришусулидир. Шу усул билан ДНК нинг фрагменти векторга боғланади. Векторнинг асосий хоссаси шундан иборатки, у тегишли хўжайинда автоном реплицирланиш хусусиятига эга. Мана шу усулда олинган рекомбинирланган молекула клонирлаш учун жуда қулайдир, у реципиент хужайрада бемалол экспрессия қилинади. Навбатдаги босқичда плазмидий еки вирус геномига уланган ДНК молекуласи (рекомбинат молекула) бактерия ёки ачитки хужайрасига киритилади. Бундайсинтетик геномда бизни кизитирган ген вектор ДНК синингахамиятикам маълум участкасини алмаштирган бўлади. Бактерияхужайраси тез бўлиниб кўпайганидан, рекомбинат ДНК хамшу қадар кўпаяди ва тегишли оқсил синтезини кўп марталаб тезлатади ва



уни саноат миқёсида олиш имконини беради. Ген инженерлиги йўли билан бир қанча зарур гормонлар, иммул тамалар (инсулин, ўсиш гармонини, интерферон), иммуноглобулинлар, турли дорилар муваффақият билан олинмоқда.

Молекуляр биология ва ген инженерлигининг турли тармоқлари ниҳоятда жадаллик билан ривожланмоқда. Лекин хали хал килинмаган фундаментал илмий муаммолар, амалиёт учун жуда муҳим вазифалар кўп. Улар орасида биринчи даражали ахамиятга эга масала — инсоннинг жисмоний ва рухий ҳолати, функцияси, имконияти бошқарилишининг молекуляр асосини тушунишдир. Энди шубҳа йўқки, бу сирларнинг калити унинг геномида. Мана шунинг учун ҳам АКШда ва ривожланган бошқа мамлакатларда, бизнинг мамлакатимизда ҳам инсон геномининг тўла нуклеотид қаторини ўрганишни мақсад қилиб кўйган инсон геноми номли узок муддатга мўлжалланган, жуда қиммат турадиган, фавқуллодда буюк лойиҳани ишлашга киришилди. Лекин бу улкан вазифани бажариб

бўлармикин?

Маълумки, инсон геноми бутун бир дунё, унинг моддий асосини 3 млрд нуклеотид колдигидан иборат ва мингдан ортиқ ген ташкил килади. Лекин шундай бўлса ҳам, молекуляр биология ва ген инженерлигининг бугунги кундаги гоёлари, методик юксаклиги ва тажрибаси бу вазифани хал қилишга қурб истади, деб ишонса бўлади. Кейинги йилларда бутун хромосомалар ва уларнинг жуда катта фрагментларини генлардаги электрофорез усулида ажратиш олиш ва катта ДНК молекулаларининг структурасини тез аниқлаш усуллари ишлаб чиқилди, миллионлаб асосга эга бўлган гигант ДНКларни. эукариотлар хужайрасида клонирлашга эришилди. Шунини айтиш ўрни ҳам ўринли тарих шунини кўрсатадики, инсоният ўз олдида доимо хал қилиниши мумкин бўлган вазифани қўйиб келган. Шубҳа йўқки «одам геноми» дек мислсиз лойихани ўз олдида қўйган молекуляр биология ва ген инженерлиги хужайрадаги хар бир геннинг тузилиши, функциясини, хромосомада аниқ жойлашган ўрнини тайинлаш, уларга боғлиқ белгилар, хоссалар, бузгунликларни аниқлаш асосида ирсий касалликлар (геном касалликлари)нинг олдини олиш ва даволаш, турли оқсиллар, ферментлар, гормонлар, вакцина ва антителоларни ишлаб чиқариш, микроорганизмларнинг янги турларини яратиш, ўсимлик ва хайвон геномига одамлар учун фойдали хусусият берадиган генларни киритиш ва бошқа муаммоларни муваффақиятли хал килади.

Бегона ДНКнинг репликацияси, экспрессияси ва трансформациясини (бошқа организмга кўчишини) таъминловчи ДНК молекуласи *вектор* деб аталади. Вектор хужайрага қўшимча ирсий ахборот киритилишини амалга оширади. Вектор сифатида плазмидалар, бактериофаглар, мобил элементлар ва хайвонларнинг вирусларидан фойдаланиш мумкин. Ҳозирги вақтда жуда кўп векторлар яратилган бўлиб, уларни бир нечта типга бўлиш мумкин:

1. Клонлаш учун векторлар. Бундай векторларга бириктирилган ДНК фрагментларни репликациялаш орқали сонинини (амплификацияси) кўпайтириш учун фойдаланилади. Бундай мақсадлар учун бактерия плазмидалари ва фаглар қўлланилади. Геномнинг катта ўлчамдаги фрагментларини клонлаш учун эса бактерия ва ачитқи хромосомалари асосида яратилган (ВАС ва ЯС) сунъий векторларидан фойдаланилади.

2. Экспрессион векторлар. Улардан генларнинг муайян кетма-кетлиги аниқлаш ва уларнинг оқсил маҳсулотларини таҳлил қилиш, муайян оқсилни ишлаб чиқишда фойдаланилади. Кўп сонли экспрессион

тизимлар, айниқса прокариот организмлар учун мавжуд. Шунингдек сут эмизувчилар, ўсимликлар ва ачитқилар хужайраларида генлар экспрессиясини амалга оширувчи векторлар ҳам яратилган.

3. Трансформация учун векторлар. Реципиент геномига бегона ДНК фрагментларини киритиш учун фойдаланилади. Бундай векторлар одатда геномга интеграцияланишига ёрдам берувчи махсус изчилликлар тутати. Замонавий вектор тизимлар полифункционал бўлиб, бир нечта функцияни битта векторга жамлайди. Биринчи табиий векторлар бактериялардан ажратилган бўлиб, кўпчилиги тажриба мақсадидан келиб чиққан холда (экспрессион векторлар, клонлаш учун векторлар, трансформация учун векторлар) ген мухандислиги усуллари ёрдамида қайта яратилган.

Вектор молекулаларнинг таркибида маркер ген бўлиши, бу ген хужайрада вектор иштирок этаётгани хақида маълум қилувчи фенотип бериши яъни вектор селектив ирсий белгига эга бўлиши керак. Кўпинча селектив белги сифатида табиатда кенг тарқалган антибиотикка чидамлилик генидан фойдаланилади.

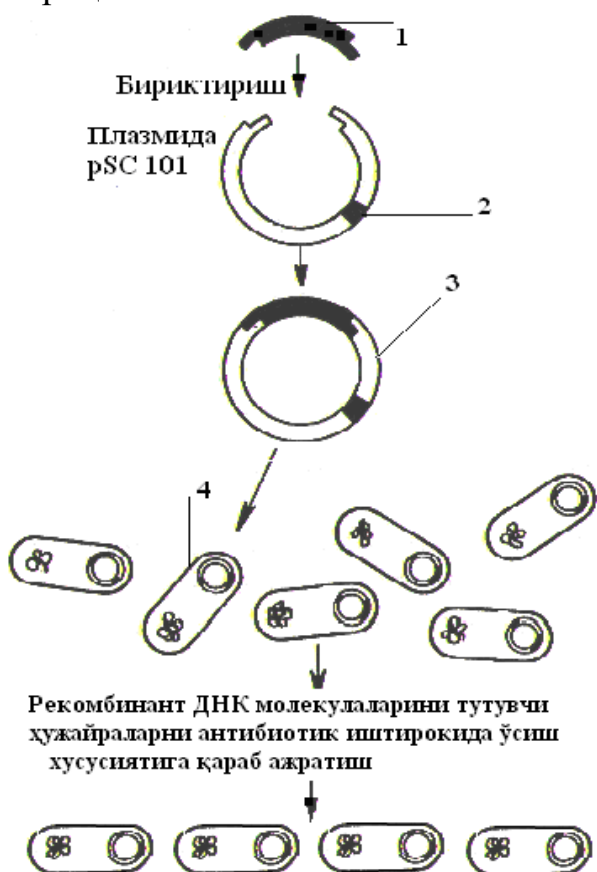
Е.солі хужайраларига вектор конструкциялар трансформацияси
Таркибида бегона ДНК фрагментлари тутувчи вектор конструкциялар Е.солінинг махсус штаммлари хужайраларига трансформация қилиш учун фойдаланилади. Вектор плазмидаларнинг бактерияларга трансформацияси хужайраларнинг ДНК молекулаларини қабул қилиш қобилятига асосланган (компитентлигига). Е.солі хужайраларига трансформациялаш асосан кальций шоки ёки электропорация усулларида бирини қўллаш орқали амалга оширилади. Иккала холатда ҳам бактерия мембранасининг ДНК молекулалари учун ўтказувчанлиги ошади.

Вектор молекуласи учун қуйидаги асосий талаблар қўйилади:

- 1) вектор бегона ДНК фрагментларини ўзига бириктириши учун бир нечта рестриктазалар учун ягона рестрикция сайтлари тутиши зарур.
- 2) вектор репликация бошланиш нуқтаси изчиллигини тутиши ҳисобига муайян хужайраларда репликацияланиши шарт.
- 3) вектор маркер ген изчиллигини тутиши зарур. Бу генлар вектор конструкцияни тутувчи хужайралар селекциясини енгиллаштирати.

Бактерия плазмидаларидан клонлашда фойдаланиш. Бактерия хужайрасида хромосома ДНКсидан ташқари, кўп нусхада халқасимон ДНК молекулалари ҳам мавжуд. (1-25 м.н.ж.). Бундай халқасимон молекулалар *плазмидалар* деб аталади. Баъзи плазмидалар таркибида антибиотикга чидамлилик генларини тутати.

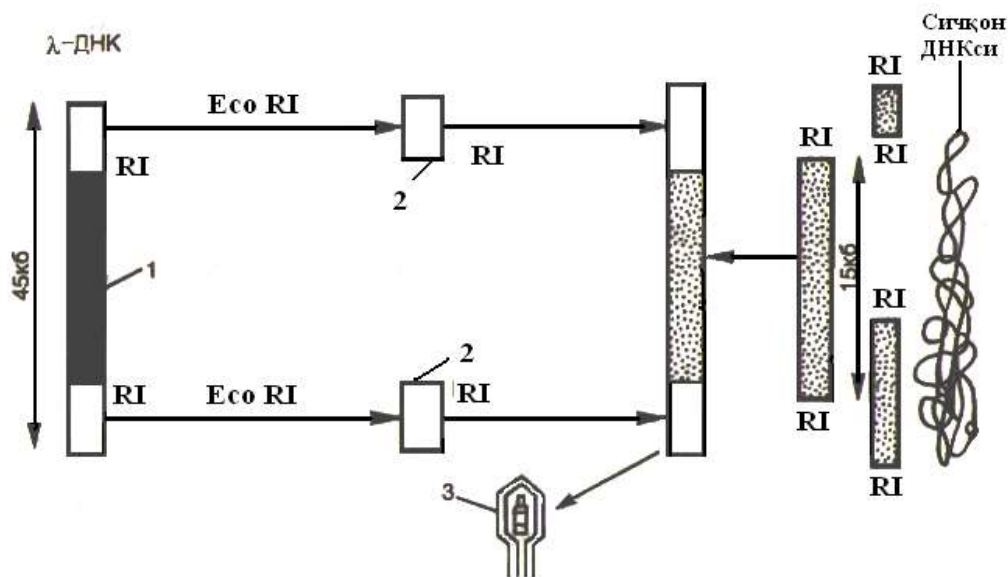
Плазмидалардан вектор сифатида биринчи марта 1973 йилда П.Берг лабораториясида фойдаланилган. Тажрибалар унча катта бўлмаган (~9 м.н.ж.), тетрациклинга чидамлик гени тутувчи E.coli плазмидаси pSC 101 да олиб борилган. Плазмида таркибида фақат бир дона EcoRI рестриктаза ферменти таниб кесадиган сайт (махсус нуклеотидлар изчиллиги) бўлганлиги сабабли, фермент плазмиданинг халқасимон қўш занжирини фақат бир жойидан кесиб «ёпишқоқ» учли очик халқа ҳолатига ўтказди. Плазмида pSC 101нинг ДНКси ичак таёкчаси учун бегона ДНКнинг EcoRI-фрагментлари билан аралаштирилади. ДНК-лигаза ферментлари ёрдамида бегона ДНК фрагментлари ва pSC 101 плазмида ягона рекомбинант молекулага бирлаштирилади. Сўнгра бу рекомбинант плазмидани E.coliнинг компитент ҳужайраларига қўшилганда у бактерия ҳужайрасига киради. Рекомбинант плазмидани тутувчи ҳужайралар тетрациклинли селектив муҳитда ажратилади.



ДНК фрагмент-ларини плазмидалар ёрдамида клонлаш бўйича тажриба схемаси.

1-Бириктирилаётган гетеро-логик ДНК; 2-антибиотикка чидамлик бўйича маркер; 3-ДНКнинг рекомбинант молекуласи; 4-Рекомбинант ДНКни бактерия ҳужайрасига киритиш.

Фаглар асосидаги векторлар. Космидлар. Вас- ва Уас- векторлар. Бактерия плазмидаларида ўртача 7-8 м.ж.н. узунликдаги фрагментларни клонлаш мумкин, эукариот генлари изчиллиги эса (~10-25 м.ж.н.) узунроқ бўлади. Бундан ташқари генларнинг кодирловчи қисми атрофида жойлашган регулятор изчилликларни ўрганиш учун геномни кенгрок клонлаш зарур. Бундай катта фрагментларни клонлаш учун λ бактериофаги асосида таркибига 22 м.ж.н. узунликдаги бегона ДНК фрагментларини тутувчи вектор конструкция яратилган. λ бактериофаг асосида клонлаш учун бундай векторларни яратишда фаг ДНК молекуласининг марказий қисми фагнинг Е.солі да кўпайиши учун зарур эмаслиги эътиборга олинган холда рестриктазалар ёрдамида фаг геномидан кесиб олинганда репликация учун зарур бўлган фагнинг ўнг ва чап елкаси ўзгармасдан қолиши керак. Фаг елкалари бошқа фрагментлардан алоҳида ажратилиб, клонлаш учун вектор сифатида қўлланилади. Кесилган фаг ДНКси ўрнига ўлчами 9-21 м.ж.н. бўлган бегона ДНК уланади. Бактерияларда фақат фагнинг иккала елкаси ва бегона ДНК тутувчи фаглар кўпаяди. Бунда олинган фаг рекомбинант ДНКси 30 м.ж.н. дан кам бўлмаслиги керак.



Бактериофаг асосидаги векторда ДНКни клонлаш.

1- Фагнинг репликацияси учун зарур бўлмаган ДНК фрагменти; 2-фагнинг бактерия хужайраларида репликацияланиши ва фагнинг кейинги тахланиши учун жавобгар генларни тутувчи ДНК фрагментлари; 3-бегона ДНК фрагментларини тутувчи бактериофаг.

Ген муҳандислиги ферментлари. Ген муҳандислиги ферментлари ДНК молекулалари билан турли хил муолажаларни ўтказишга ёрдам бериб, уларни тегишли жойидан қирқиш, турли хил бўлақларини улаш, табиатда мавжуд

бўлмаган янги хилдаги кетма-кетликларни синтез қилишда қўлланилади. қуйида ген муҳандислигида фойдаланиладиган асосий ферментларни кўриб чиқамиз.

ДНК полимеразалар. Ген муҳандислигида кенг қўлланиладиган ферментлардан бири Есолі нинг Т4 фагидан ажратиб олинган ДНК полимераза I ҳисобланади. ДНК полимераза I комплементар нуклетидларни бириктириш йўли билан ДНК занжирининг 5' -3' йўналишида узайтириш хусусиятига эга. ДНК полимеразанинг бу хусусияти ген муҳандислигида иккинчи комплементар занжирни ҳосил қилиш: бир занжирли матрица –ДНК сига қўшилганда праймер иштирокида икки ҳисса ортишида кузатилади. Бу хусусият кДНК-библиотекаларини тузишда қўлланилади. ДНК полимераза ДНК занжиридаги “бўшлиқ” ларни тўлдиришда ҳам фойдаланилади, масалан, 5' - учли бўлақларни тегишли тартибда уланишида ҳам иштирок этади. ДНК полимеразанинг экзонуклеаза фаоллигидан ДНК бўлагига радиоактив нишон киритишда қўлланилади.

Баъзи вируслардан РНК га боғлиқ ДНК полимераза, яъни тескари транскриптаза ёки *ревертаза* деб номланувчи махсус ДНК полимераза ажратиб олинган. Ревертазалар ДНК нинг комплементар занжирини матрица РНК сида ҳам синтезлай олади. Ревертазалар ёрдамида кДНК-мРНК нинг ДНК нусхаларини олиш мумкин. кДНК генларининг тузилишини ўрганиш бу генларнинг геномдаги тўлиқ нусхаларини аниқлаш имконини беради.

ДНК лигаза қўшни нуклеотидлар орасидаги фосфодиэфир боғларини тиклаш орқали ДНК бўлақларини боғлаш каби битта асосий вазифани бажаради. Бу жараён лигирлаш деб аталади. Ген муҳандислигида кўпинча лигирлаш учун Т4 фагининг ДНК-лигазасидан фойдаланилади. Т4 лигаза ёрдамида ДНК нинг ҳар қандай бўлаги “ёпишқоқ учли” ёки “тўмтоқ учли” қисмлари бириктирилади. Бу энг кўп қўлланиладиган ферментлардан биридир.

Нуклеазалар - нуклеин кислотлар молекулалари гидролизи реакцияларини катализловчи ферментларнинг йирик гуруҳи. ДНК ёки РНК молекулалари нуклеазалар таъсирида бўлақларга ёки алоҳида нуклеотидларга парчаланиб кетади. Нуклеазаларнинг хужайрадаги дастлабки вазифаси – ҳаётий жараённинг айни вақти учун кераксиз бўлган молекулалари (масалан, мРНК ни трансляциядан сўнг) деградациясини ва нуклеин кислотларни бегона молекулалардан ҳимоя қилиш (бактерия фаг билан зарарланганда фаг ДНК сини бактерия нуклеазалари томонидан парчалаб юборилиши) дан иборат.

Нуклеазаларни уларнинг таъсирига кўра, гуруҳларга ажратиш мумкин. Нуклеазалар нафақат ДНК молекулалари (ДНКазалар) ёки РНК (РНКазалар) молекулаларига, ёки ДНК ва РНК га бир вақтнинг ўзида (олтин

ранг ловия нуклеазаси) бир хилда таъсир этиши мумкин. Нуклеазалар бир занжирли (S1 нуклеазаси) ёки қўш занжирли (экзонуклеаза III) ДНК молекулалари, ёки гибрид ДНК-РНК молекуласи (рибонуклеаза H) га таъсир этиши мумкин.

Бундан ташқари нуклеазаларни икки типга: экзонуклеазалар ва эндонуклеазаларга бўлиш мумкин. Экзонуклеазалар, одатда, молекулаларни 5' ёки 3' эркин учларидан бошлаб гидролизласа, эндонуклеазалар ДНК молекуласи бўлаги ёки халқасимон ДНК молекуласининг ички кетма-кетликларидан бошлаб парчалайди.

Рестриктазалар. Ген муҳандислигида фойдалилиги нуқтаи назаридан махсус эндонуклеазалар алоҳида гуруҳни ташкил этади.

Генлар устида бевосита муолажалар ўтказиш усулларининг такомиллаштирилиши рестрикция эндонуклеазалар (рестриктазалар)нинг очилиши билан боғлиқдир. 1953 йилдаёқ E. coli нинг алоҳида штамми ДНК си бошқа штамми хужайраси (масалан, B штамми ДНКси C штамми хужайраси) га киритилганда, одатда, генетик фаоллик кўрсата олмайди. Чунки у махсус ферментлар-рестриктазалар билан тезда бўлақларга бўлиб юборилади. Ҳозирги вақтда турли хил микроорганизмлардан мингдан ортиқ ҳар хил рестриктазалар ажратиб олинган. Ген муҳандислигида 200дан ортиқ тури кенг қўлланилмоқда.

Рестриктазалар эндонуклеазаларнинг ДНКни муайян махсус кетма-кетликлари *рестрикция сайтлари* (нуқталари)ни ҳосил қилиб гидролиз қиладиган гуруҳи ҳисобланади. Ҳар бир рестриктаза ўзининг рестрикция сайтини танийди ва ДНКни рестрикция сайти изчилликлари ичидан ёки унинг атрофидан бошлаб қирқади (1.1-жадвал). Шундай қилиб, муайян бир рестриктаза таъсирида битта ва айнан ўша ДНК кетма-кетлиги ҳар доим ҳам бир хилдаги бўлақлар йиғиндисини ҳосил қиладди. Рестриктазаларни номлашда фермент ажратиб олинган бактерия турининг латинча номини бош ҳарфлари ва қўшимча белгиларидан фойдаланилади. Чунки бир турдаги бактериялардан бир неча хил рестриктазалар ажратиб олинган бўлиши мумкин. *Escherichia coli* – EcoP I, EcoP V, *Haemophilus influenzae* – Hinf I, *Streptomyces albus* – Sal I, *Thermus aquaticus* – Taq I. *Bacillus amyloliquefaciens* H

Баъзи рестриктазалар ва улар таниб кесадиган изчилликлар

Микроорганизм	Қисқа номи	Изчиллик 5'→3' 3'→5'
<i>Bacillus amyloliquefaciens H</i>	Bam HI	G [↓] GATCC CCT [↓] AG [↑] G
<i>Brevibacterium albidum</i>	Bal I	TGGCCA ACC [↑] GGT
<i>Escherichia coli RY13</i>	Eco RI	G [↓] ATTC CTTAA [↑] G
<i>Haemophilus aegyptius</i>	Hae II	PuGCGC [↓] Pu Pu [↑] CGCGPu
<i>Haemophilus aegyptius</i>	Hae III	GG [↓] CC CC [↑] GG
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	Hha I	GCG [↓] C C [↑] GCG
<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	Hind II	GTPu [↓] PuAC CAPu [↑] PuTG
<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	Hind III	A [↓] AGC TT TTCGA [↑] A
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hpa I	CTT [↓] AAC CAA [↑] TTG
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hpa II	C [↓] CGG GGC [↑] C
<i>Providencia stuarti 164</i>	Pst I	CTGCA [↓] G G [↑] ACG TC
<i>Streptomyces albus G</i>	Sal I	G [↓] TCG AC CAGCTG
<i>Xanthomonas arzyae</i>	Xor II	CGATC [↓] G G [↑] CTAGC

Рестриктазалар нуклеотид кетма-кетликларини қирқишига кўра, бир неча типга бўлинади. I-типтаги рестриктазалар рестрикция сайтларини танийди, лекин таниб олган сайтдан ихтиёрий масофада (бир неча ўндан то бир неча юз минг нуклеотид жуфтларга қадар) қирқади. Бундай рестриктазаларни ген муҳандислиги муаммоларини ҳал этишда қўллаб бўлмайди. III-типтаги рестриктазалар ҳам I-типтаги рестриктазаларга ўхшайди, улар ДНКни таниб олинган сайтдан 20-35 н.ж. масофада гидролиз қилади, шунинг учун ҳам амалий мақсадларда кам фойдаланилади.

Рекомбинант молекулалар олиш учун асосан II-типтаги рестриктазалар қўлланилади. Бундай рестриктазаларнинг асосий тавсифи шундаки, уларнинг таниш сайти ва қирқиш жойи бир-бирига мос келади.

II-типтаги рестриктазалар муайян нуклеотид кетма-кетликларни ДНК дан таниб олади ва уни рестрикция сайти изчиллиги ичидан бошлаб гидролизлайди. II-типтаги рестриктазаларнинг рестрикция сайтлари 180° айланишдаги симметрик кетма-кетликлар - палиндромлардан иборат.

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5' EcoP I рестриктазаси рестрикция сайти.

5' TAGA 3'

3' АТСТ 5' Тақ I рестриктазаси рестрикция сайти
II-типтаги рестриктазалар рестрикция сайтлари ўлчами ва олинадиган ДНК
бўлаклари узунлигига кўра, бир неча синфга бўлинади:

майда бўлакка бўлувчилар – рестрикция сайтлари тўртта нуклеотид
жуфтликлардан иборат;

ўрта бўлакка бўлувчилар – 6-8 н.ж. рестрикция сайтлари;

йирик бўлакка бўлувчилар - 10-14 н.ж. рестрикция сайтлари

II-типтаги рестриктазаларни ДНК кетма-кетликларини бўлакларга бўлишига
қараб икки гуруҳга киритиш мумкин, чунки улар. Бири танилган кетма-
кетликнинг симметрия ўқи бўйлаб, бошқаси эса силжиб, «поғоналар» ҳосил
қилади. Биринчи ҳолатда «тўмтоқ» учлар ҳосил бўлса, иккинчисида «ёпишқоқ»
учлар ҳосил бўлади; яъни бўлаклар ўз учларида бир занжирли ўзаро
комплементар қисмларга эга бўлади.

Рестриктазалар билан қирқилган «ёпишқоқ» учли бўлакларнинг ҳосил бўлиши:

5' G ↓ ААТТС 3' 5' C ↓ CGG 3'

EcoP I 3' СТТАА ↑ G 5' *Hpa II* 3' GGGC ↑ C 5'

Рестриктазалар билан қирқилганда «тўмтоқ» учли бўлакларнинг ҳосил
бўлиши:

Ta ↓ GA 3' 5' GTT ↓ AAC 3'

Taq 3' АТ ↑ СТ 5' *Hinc I* 3' САА ↑ ТТG 5'

Бир хил «ёпишқоқ» учларга эга ДНК бўлаклари бир-бири билан ДНК лигазалар
ёрдамида бириктирилиши мумкин, бунда рестрикция нуқталари қайта
тикланади. “Тўмтоқ учли” бўлаклар қандай рестриктаза билан ҳосил бўлган
бўлишига қарамасдан бир-бири билан бирика олади. “ёпишқоқ учли” бўлаклар
рекомбинант ДНКлар яратишда жуда қулайдир, чунки ДНК лигаза бўлакларини
ҳеч қандай истисносиз бир-бирига бирикишини таъминлайди.

Рестриктазаларнинг фермент фаоллиги фаоллик бирликларида ўлчанади. Бу
оптимал шароитда λ фаг ДНК сини 1мкг миқдорини 1 соат ичида тўлиқ
гидролизланиши учун сарф бўладиган фермент миқдориغا тенгдир.
Рестрикциянинг оптимал шароити ҳар бир рестриктаза учун алоҳида бўлиб, у
рН, ион кучи, тегишли ионлар мавжуд бўлиши, реакцияни амалга ошириш
ҳароратига боғлиқ бўлади. Рестриктазалар ген муҳандислигида
қўлланиладиган асосий ферментлар ҳисобланади.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар.

Вектор сифатида нималардан фойдаланиш мумкин?

Ген инженерлиги ҳақида маълумот беринг

Рекомбинант ДНКлар технологияси ҳақида маълумот беринг

Клонлаш нималар асосида амалга оширилади?

Вектор молекулаларнинг функцияси нималардан иборат ?

Векторлар турлари

7.Ген муҳандислиги ферментлари ҳақида маълумот беринг

Тавсия этиладиган адабиётлар рўйхати

- 1 Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./Под. ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова. М.: Высшая школа, 1997. – 228 с.
- 2 Волова Г. Биотехнология. Изд-во отделения Российской Академии наук. 1999. – 252 с.
- 3 Шевелуха В.С. ва бошқ. Сельскохозяйственная биотехнология. М.1999
- 4 Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молекулярное клонирование Москва. Мир. 1984. 4771

3-МАВЗУ: РЕКОМБИНАНТ ДНК ОЛИШ ТЕХНОЛОГИЯСИ. ТРАНСФОРМАЦИЯ

Режа:

1. Рекомбинант ДНК олишнинг ахамияти
2. Бир хил изчилликка эга «ёпишқоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули
3. «Тўмтоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули
4. «Ёпишқоқ» ва «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларни бириктириш усули
5. Ўсимлик ҳужайралари трансформацияси усуллари.

Таянч сўзлар: Рекомбинант ДНК, рестриктаза, комплементар участкалар, ДНК лигаза, λ бактерияф, лигирлаш, «тўмтоқ» учлар, «ёпишқоқ» учлар, вектор молекулалар.

1.Рекомбинант ДНК олишнинг ахамияти. Турли биологик манбалардан ажратилган икки ёки ундан кўп ДНК фрагментларининг бирикишидан ҳосил бўлган ДНК молекуласи рекомбинант ДНК дейилади. ДНКнинг муайян фрагментлари, шунингдек зарур генни тутувчи фрагментлар рестриктазалар ёрдамида олинади. Рестриктазалар «тўмтоқ» учли ва «ёпишқоқ» учли фрагментлар ҳосил қилади. ДНК фрагментларини битта молекулага бирлаштириш бу фрагментларнинг қандай учга эга эканлигига боғлиқ ҳолда, турли усуллар ёрдамида амалга оширилади.

1.Бир хил изчилликка эга «ёпишқоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули. Баъзи рестриктазалар, масалан EcoRI, ДНК занжирида таниб кесадиган сайт марказидан бир хил масофада зина ҳосил қилиб, симметрик узиш пайдо қилади. Бу бир-бирига комплементар участкалар асосини жуфтлашиши ҳисобига ёки «ёпишқоқ» учлари орқали бирлашиш тенденциясига эга бўлади. (1.4 расм).

Асосларнинг жуфтлашиши фақатгина комплементар изчилликлар ўртасида содир бўлади, шунинг учун EcoRI таъсирида пайдо бўлган AATT-учлар масалан Hind III томонидан ҳосил қилинган АГЦТ-учлар билан қовушмайди. Лекин бир рестриктаза таъсирида ҳосил қилинган ҳар қандай ДНК бўлаклари (келиб чиқишидан қатъий назар) комплементар нуклеотидларнинг бир занжирли участкалари орасида водород боғлари ҳосил қилиш ҳисобига бирикиши мумкин.

Лекин бундай жуфтлашишдан сўнг ҳам ДНК қўш занжирининг бутунлиги тўлиғича тикланмайди ва фосфодиэфир боғида иккита узилиш қолади. Уларни тиклаш, яъни тикиш ёки лигирлаш учун ДНК лигазадан фойдаланилади. Рекомбинант молекулалар ҳосил қилиш ишларини лигаза ферменти яқунлайди.

Бундай тажрибалар биринчи марта 1972 йилда (П.Берг. АҚШ) бажарилган ва «ёпишқоқ» учлар хосил қилувчи рестриктазалар билан ДНК лигазадан биргаликда фойдаланиш рекомбинант ДНК молекуласи олишнинг умумий усуллари яратишда асос бўлиб хизмат қилиши кўрсатилган. Шу лабораторияда биринчи марта SV40 вируси ва E.coli нинг галактоза оперонини тутувчи λ бактерияфаги рекомбинант ДНКга бириктирилган.

3. «Тўмтоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули. Рестрикция сайти ичида тўғри узиш (қайчи сингари шартта икки бўлакка бўлади) хосил қилувчи рестриктазалар таъсирида «тўмтоқ» учли ДНК фрагментлари пайдо бўлади, уларни ҳам ДНК-лигаза ферменти ёрдамида бириктириш мумкин. Бундай холларда лигирлаш реакцияси ўзига хос бўлиб, унинг самара даражаси «ёпишқоқ» учларни бириктиришга нисбатан бир оз пастроқ. Аммо «тўмтоқ» учли фрагментлар бириктиришининг «ёпишқоқ» учли фрагментларни бириктиришга нисбатан афзаллиги шундаки, «тўмтоқ» учли бу фрагментлар қайси рестриктаза таъсирида пайдо бўлишидан қатъий назар, турли рестриктазалар томонидан хосил бўлган фрагментлар осон бирикади. (1.5.расм)

4. «ёпишқоқ» ва «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларни бириктириш усули. ДНКнинг «ёпишқоқ» учли фрагментларини ферментатив йўл билан «тўмтоқ» учли ДНК молекуласига бириктириш мумкин. Бунинг учун «ёпишқоқ» учлар «тўмтоқ» учларга айлантирилади яъни ДНКнинг фақат бир занжирли участкаларини гидролизловчи S1 нуклеаза ферменти ёрдамида «ёпишқоқ» учлардаги нуклеотидлар кесилади ёки ДНК полимераза I ёрдамида бир занжирли «ёпишқоқ» учларидан иккинчи занжир синтезланади яъни қўшимча нуклеотидлар қўшилади.

Шундай усулда «ёпишқоқ» учли ДНК фрагментларидан «тўмтоқ» учли фрагментлар хосил қилинади ва у бошқа «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларига ДНК лигаза ферменти ёрдамида бирикади.

ДНК фрагментлари пробиркада бирлаштирилганидан сўнг, уларни тирик ҳужайраларга киритиш керак. Бунинг учун махсус вектор молекулалардан фойдаланилади.

Вектор молекулаларнинг вазифалари. Таркибида қўшимча ирсий ахборотлар тутувчи рекомбинант ДНК молекулаларини ҳужайраларга киритиш ва унинг барқарорлигини сақлаш ген мухандислигининг асосий калит операцияси ҳисобланади. Буни амалга ошириш учун вектор молекулалардан фойдаланилади. Агар, ДНК шундайлигича ҳужайрага киритилса, Масалан бактерия ҳужайраларида ферментлари уларни нуклеотидларга парчалаб ташлайди. Баъзи холларда ДНК ҳужайрага кириб

ўрнашиши мумкин, лекин ҳужайранинг бўлиниш жараёнида у наслдан–наслга берилмай йўқолиб кетади. Рекомбинант ДНК ҳужайранинг генетик аппаратининг ташкил қилувчи қисмига айланиши учун, у геномга бирикиши (хромосомага интеграцияси) ва шунинг ҳисобига репликацияланиши ёки автоном репликацияланиш хусусиятига эга бўлиши керак.

Бегона ДНКнинг репликацияси, экспрессияси ва трансформациясини (бошқа организмга кўчишини) таъминловчи ДНК молекуласи *вектор* деб аталади. Вектор ҳужайрага кўшимча ирсий ахборот киритилишини амалга оширади. Вектор сифатида плазмидалар, бактериофаглар, мобил элементлар ва ҳайвонларнинг вирусларидан фойдаланиш мумкин.

Вектор молекулаларнинг турлари. Ҳозирги вақтда жуда кўп векторлар яратилган бўлиб, уларни бир нечта типга бўлиш мумкин:

1. Клонлаш учун векторлар. Бундай векторларга бириктирилган ДНК фрагментларни репликациялаш орқали сонинини (амплификацияси) кўпайтириш учун фойдаланилади. Бундай мақсадлар учун бактерия плазмидалари ва фаглар қўлланилади. Геномнинг катта ўлчамдаги фрагментларини клонлаш учун эса бактерия ва ачитқи хромосомалари асосида яратилган (ВАС ва ҲАС) сунъий векторларидан фойдаланилади.

2. Экспрессион векторлар. Улардан генларнинг муайян кетма-кетлиги аниқлаш ва уларнинг оқсил маҳсулотларини таҳлил қилиш, муайян оқсилни ишлаб чиқишда фойдаланилади. Кўп сонли экспрессион тизимлар, айниқса прокариот организмлар учун мавжуд. Шунингдек сут эмизувчилар, ўсимликлар ва ачитқилар ҳужайраларида генлар экспрессиясини амалга оширувчи векторлар ҳам яратилган. Эукариот организмлар учун яратилган экспрессион векторлар полиаденилланиш сайти ва мазкур организмда ишлаш қобилиятига эга промотордан иборат экспрессион кассета тутади.

3. Трансформация учун векторлар. Реципиент геномига бегона ДНК фрагментларини киритиш учун фойдаланилади. Бундай векторлар одатда геномга интеграцияланишига ёрдам берувчи махсус изчилликлар тутади. Замонавий вектор тизимлар полифункционал бўлиб, бир нечта функцияни битта векторга жамлайди. Биринчи табиий векторлар бактериялардан ажратилган бўлиб, кўпчилиги тажриба мақсадидан келиб чиққан холда (экспрессион векторлар, клонлаш учун векторлар, трансформация учун векторлар) ген муҳандислиги усуллари ёрдамида қайта яратилган.

Вектор молекулаларнинг таркибида маркер ген бўлиши, бу ген ҳужайрада вектор иштирок этаётгани ҳақида маълум қилувчи фенотип бериши яъни вектор селектив ирсий белгига эга бўлиши керак. Кўпинча селектив белги сифатида табиатда кенг тарқалган антибиотикка чидамлик генидан

фойдаланилади. Бу генларнинг оксил маҳсулоти-ферментлар антибиотикларни модификациялайди ва уларнинг таъсирини инактивациялайди (кучсизлантиради).

Вектор молекуласи учун қуйидаги асосий талаблар қўйилади:

1) вектор бегона ДНК фрагментларини ўзига бириктириши учун бир нечта рестриктазалар учун ягона рестрикция сайтлари тутиши зарур.

2) вектор репликация бошланиш нуқтаси изчиллигини тутиши ҳисобига муайян хужайраларда репликацияланиши шарт.

3) вектор маркер ген изчиллигини тутиши зарур. Бу генлар вектор конструкцияни тутувчи хужайралар селекциясини енгиллаштиради.

1. Вектор молекулаларнинг турлари

Бактерия хужайрасида хромосома ДНКсидан ташқари, кўп нусхада халқасимон ДНК молекулалари ҳам мавжуд. (1-25 м.н.ж.). Бундай халқасимон молекулалар *плазмидалар* деб аталади. Баъзи плазмидалар таркибида антибиотикга чидамлик генларини тутди. Хужайрада плазмидаларнинг кўп нусхада ҳосил бўлиши натижасида антибиотикларни биокимёвий нейтралловчи ферментларнинг синтези ошади ва хужайранинг антибиотикка чидамлилиги ортади.

Хужайрадаги плазмидалар нусхасининг сони ўзгариб туради. Бу хужайранинг ва плазмидаларнинг ирсий хусусиятларига боғлиқ. Баъзи турдаги плазмидалар хужайрадаги сони 10-200 нусха бўлгунига қадар кўпайишни давом эттиради. Бошқа турлари эса бактерия хромосомасининг кўпайиш тезлигида репликацияланади. Бундай типдаги плазмидалар хужайрада бир дона ёки бир нечта бўлиши мумкин. Клонлаш учун фақат биринчи типдаги плазмидалар асосидаги векторлардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир.

100 м.ж.н.дан ортиқ узунликдаги ДНК фрагментларини клонлаш махсус яратилган ВАС ва УАС векторларида амалга оширилади. *ВАС-векторлар* бактериянинг F-плазмидаси асосида олинган бўлиб, бу плазмидаларнинг бактерия хужайраларидаги репликацияси ва нусхасининг кўпайишига жавобгар генларни ва клонлашни осонлаштирувчи қатор қўшимча нукулеотид кетма-келикларни тутди. ВАС –векторлар сиғими ўзининг унча катта бўлмаган ўлчамда (~7 м.ж.н) жуда катта -100-300 м.ж.н. Унинг сиғими геном библиотекасини яратишда клонлар сонини кўп марта камайтириш имконини беради.

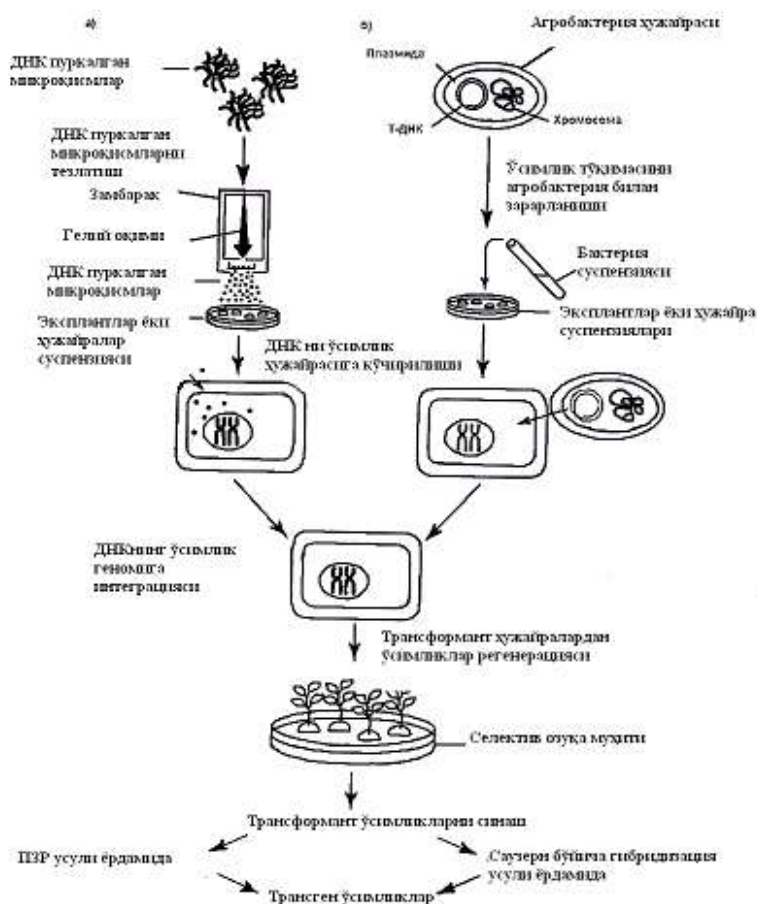
УАС-векторлар ҳам катта ўлчамдаги ДНК фрагментларини клонлашда фойдаланилади, ачиткининг сунъий минихромосомасини намоён қилади. УАС-вектор центромер, теломер ва репликация бошланиш нуқтасига эга. Бундай векторга бегона ДНКнинг 100 м.ж.н., дан ортиқ узунликдаги фрагментларни

хам улаш мумкин. Бундай минихромосома ачитқи хужайрасига киритилганда репликацияланади ва митоз бўлинишда ўзини бошқа ачитқи хромосомалари каби тутди.

Ўсимлик хужайралари трансформацияси усуллари. Икки паллали трансген ўсимликлар олишда энг кенг тарқалган усуллардан бири агробактериялар билан кокультивация қилиш усули ҳисобланади (2.9. - расм). У ўсимлик эксплантларини Т-ДНК ҳудудига бегона ген жойлаштирилган вектор конструкцияга эга агробактериялар билан трансформация қилишга асосланган. Унинг кенг тарқалганлигининг сабаби, трансформацияни амалга оширишнинг бирмунча соддалиги трансген ўсимликларни ажратиб олишда юқори (ўсимлик турига қараб, 10-60 %) самарадорлиги билан изоҳланади.

Дастлабки материал учун вектор (бинар, коинтегротив ёки муайян трансформация тури учун яроқли бошқа бирор) конструкцияга эга бўлган агробактерия штамми бўлиши лозим. Вектор ўсимлик геномига киритилиши лозим бўлган ген кетма-кетлигига эга бўлиши керак. Геннинг келиб чиқиши (прокариот ёки эукариот) трансформация учун аҳамиятсиздир, лекин у ўсимлик хужайрасига экспрессия бўла оладиган промотор назорати остида бўлиши лозим. Функционал гендан ташқари, вектор, албатта, трансформациянинг селектив нишон белгисини сақлаши шарт. Бундай нишон белги сифатида антибиотиклар: канамицин (*npt*-гени), гигромицин (*npt*-гени) ва ёки гербицидлар хлорсульфурон (*ALS*-гени), фосфинотрицин (*bar*- гени) (*BASTA*) га чидамлилиқ белгисини юзага чиқарадиган генлар ишлатилади. Бундан ташқари, реципиент – ўсимлик навларини танлаб олиш лозим. Трансформация учун эксплант сифатида стерил ўсимлик барг пластинкалари олинади. Бироқ бунинг учун ёш илдизлар (арабидопсисда), гипокотил (помидорда), уруғпалла (помидор, бақлажонда), бўғим оралиғи (картошкада) ҳам ишлатилиши мумкин.

Трансген ўсимликлар олиш



3. расм – Трансген ўсимликларни олиш схемаси.

а)-биобаллистикалар усули; б)-агробактериялар билан кокультивация

Эксплантларни вектор конструкцияли агробактериялар сақловчи суюқ муҳитида инокуляция қилинади. Инокуляция қилиш муддати ҳар бир тур ўсимлик учун алоҳида танлаб олинади. Бунда эксплантнинг жароҳатланган юзасида хужайраларнинг зарарланиши бошланиб, кокультивациядан сўнг 24 – 48 соат ўтгач, Т-ДНК бўлагини бегона (танлаб олинган) ген билан бирга ўсимлик геномига жойлашиши содир бўлади. Шундан сўнг, эксплантларни антибиотиклар (карбенициллин ёки цефотаксим) сақловчи озика муҳитига ўтказилади, бу агробактерия хужайраларнинг танлаб нобуд бўлишига сабаб бўлади. Бундан ташқари, озика муҳитига керакли (тўғридан-тўғри регенерация ёки каллус ҳосил бўлиши учун) фитогормонлар ва трансформант хужайраларни селектив танлаб олиш учун антибиотиклар, гербицид қўшилади. Антибиотик ёки гербицидга чидамлик генларининг экспрессиясини амалга оширувчи эга трансген ўсимликлар селектив агент қўшилган муҳитда ўса олса, трансген бўлмаган ўсимликлар бундай муҳитда нобуд бўлади. 2-5 хафтадан сўнг трансформант

эксплантлардан поялар ўсиб чиқа бошлайди, уларни ажратиб олинади ёки кейинги кўшимча молекуляр таҳлиллар учун тупроққа кўчириб ўтказилади (2.9. а – расм).

Протопластлар шу йўсинда трансформация қилинади, лекин бу усулдаги трансформация протопластларнинг ўзида регенерация қилиш қобилияти сустлиги учун кам самара беради.

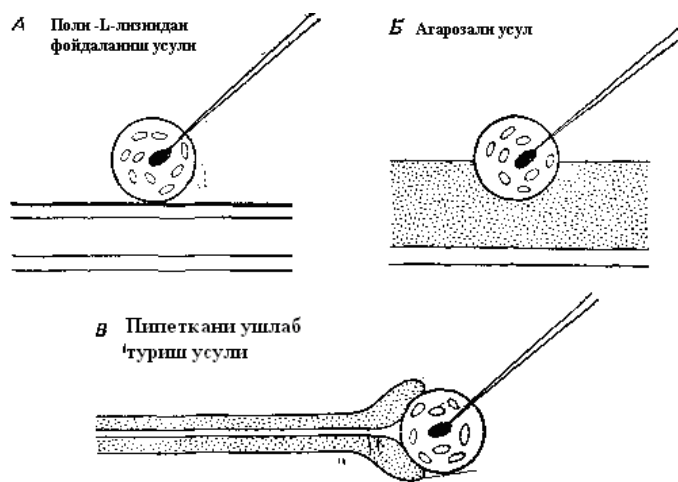
Агробактериялар билан кокультавация қилиш усули орқали ҳозирги кунга қадар деярли барча икки паллали қишлоқ хўжалик экинларидан трансген ўсимликлар олинган. Бу усул баъзи бир паллалилар (буғдой, маккажўхори, шоли)да ҳам ўз ифодасини топган.

Ўсимликларга генларни тўғридан - тўғри кўчириб ўтказиш. Ўсимлик хужайраларига генларни тўғридан-тўғри кўчириб ўтказишда ўсимлик протопластларининг трансформацияси кенг қўлланилади. Ўсимлик хужайра деворига ферментлар (целлюлаза, пектиназа) билан ишлов берилганда хужайра девори емирилиб, фақат протопласт қолади. ДНК иштирокида протопластларни тўғридан - тўғри трансформациялаш усули ишлаб чиқилган. Трансформациянинг бирмунча юқори самарадорлигига (10^{-2}) электропорация ва полиэтиленгликол кўшиш усули орқали эришиш мумкин. Агробактериялар билан трансформация қилишга нисбатан, тўғридан - тўғри кўчириб ўтказиш усулининг частотаси кам бўлса-да, бирмунча афзалликларга эга. Вектор махсус биологик сигналлар ва трансформация функциялари (Т-ДНК худуди билан чегараланган ва *vir*-худуди) га эга бўлмаслиги ҳам мумкин. Трансформация учун деярли ҳар қандай бегона ген тутувчи ДНК вектори қўлланилиши мумкин. Бунда гибрид ген (фақат тегишли регулятор худудлар мавжуд булганида) хужайра рекомбинацияси механизмларидан фойдаланиб, айниқса, протопласт ядросига тўғридан - тўғри инъекция қилишда ўсимлик ядро ДНКсига интеграция бўлади ва экспрессияланади.

Ҳозирги вақтда 140 дан ортиқ ўсимлик турлари вектор ДНКсини протопласт хужайраларига турли усуллар билан кўчириб ўтказиш орқали трансформация қилинган.

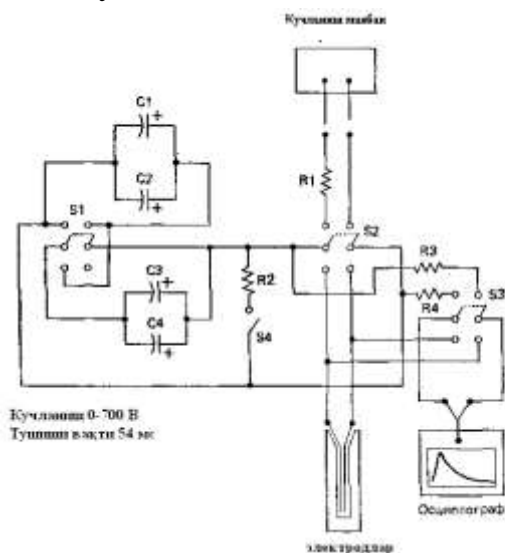
ДНК микроинъекцияси. Бир қатор тажрибаларнинг кўрсатишича, ўсимлик хужайралари трансформацияси учун ҳайвон хужайраларидаги микроинъекциялар сингари микроинъекциялари усулини қўллаш мумкин. Бунда инъекция учун протопластлар олишда уларни полилизинли шишаларга ёпиштириш усуллари ишлаб чиқилганлиги қатор техник қийинчиликларни бартараф этиш имкониятини берди (2.10-расм).

Вектор типига боғлиқ бўлмаган ҳолда ўсимлик протопластлари трансформацияси самарадорлиги 10-15 % дан ошмайди, у икки паллали ўсимликлар учун ҳам бир паллалилар учун ҳам бир хилда мувофиқ келади.



4 – расм. Микроинъекцияни амалга ошириш учун протопластларни иммобилизация қилиш усули

Электропорация. Бу усул юқори импульсли кучланишларнинг биомембраналар ўтказувчанлигини қайтар даражада оширишга асосланган. Ўсимлик протопластлари учун электропорация муолажалари жуда самарали ҳисобланади. Усулнинг моҳияти қуйидагича: ДНК- векторини сақловчи юқори концентрацияли эритмадаги ўсимлик протопластларига юқори вольтли импульс (кучланиш 200-350 В, импульс давомийлиги 54 мс) билан таъсир этилади (2.11-расм). Натижада ДНК молекулалари ҳужайра мембранасидаги поралар (тешикчалар) орқали ютилади. Эритма аралаштирилгандан сўнг протопластларни регенерация бўлиши учун етарли муҳитга экилади. Кўчириб ўтказишнинг самараси электр шокидан сўнг 24-28 соат ўтгач аниқланади.



5 - расм. Электропорацияни амалга ошириш учун паст кучланишли қурилманинг тузилиши

Липосомаларга жойлаштириш. Ўсимлик протопластларига ўтказиладиган экзоген генетик материални нуклеин кислоталарни парчалайдиган нуклеазалар

таъсиридан ҳимоя қилишда қўлланиладиган усуллардан бири липосамаларга жойлаштириш усули.

Липосомалар қобиғи фосфолипидлардан ташкил топган сферик шакллар ҳисобланади. Уларни фосфолипидларни сувли эмулсияларига ультратовушлар билан ишлов бериш ёки қаттиқ чайқатиш натижасида олиш мумкин. Липосомалар ёрдамида ўсимлик протопластларига тамаки мозаикаси вируси РНК си, *A.tumefaciens* бактерияси Тi – плазмидаси ДНК си, шунингдек, бутун метафаза даври хромосомалари киритилган. Липосомалар ёрдамида кўчириб ўтказиш тизимларнинг афзалликлари сифатида уларнинг хужайраларга нисбатан захарлигининг камлиги, липосомаларни парчалаш хусусиятига эга хужайралари бўлган кўплаб ўсимликларда ишлатиш мумкинлигини кўрсатиш мумкин. Ҳозирги вақтга келиб, мазкур усул техник жиҳатдан қийинлиги ва трансформациялаш фаоллигининг нисбатан кам (0,5-1 %) лиги учун тобора кам фойдаланилмоқда.

Биобаллистик трансформациялар усули. Биобаллистика усули бугунги кунга келиб, бир паллалилар учун энг самарали усуллардан ҳисобланади, шунингдек уни икки паллали ўсимликларда ҳам муваффиқият билан қўллаш мумкин. Трансформация учун дастлабки материал сифатида културалар суспензияси, каллус тўқимаси ёки бир паллалиларнинг етилмаган муртак ўсимталари олинади.

Мазкур усулнинг моҳияти шундан иборатки, диаметри 0,6-1,2 мкм бўлган вольфрам, олтин ёки платина бўлакчалари трансформация учун зарур ген конструкциялари сақловчи ДНК устидан пуркалади. ДНК тутувчи вольфрам, платина ёки олтин бўлакчалари целлофан қобик билан ўралиб, биобаллистик замбарак ичига жойлаштирилади. Каллус ёки хужайра суспензияси агарли озиқа муҳити солинган Петри лycopчасига ўтказилади ва биобаллистик замбарак рўпарасига 10-15 см масофада жойлаштирилади. Замбаракдаги босим вакуум насос билан 1,0 атм гача туширилади. Босим тушириладиган вақтда замбаракдан вольфрам ёки олтин бўлакчалари отилиб чиқиб, хужайра деворини ёриб ўтади ва цитоплазмага, хужайра ядросига ўтади.

Одатда бевосита марказда жойлашган хужайралар вольфрам ва олтин бўлакчаларининг кўплаб келиб урилиши ва жуда кучли босими туфайли нобуд бўлади, улардан 0,6-1 см марказдан узоқда эса трансформант хужайралар жойлашади. Шундан сўнг хужайраларни давомли экиш ва регенерация қилиш учун озиқа муҳитларига кўчириб ўтказилади.

Биобаллистик замбараклар ёрдамида бир паллали маккажўхори, шоли, буғдой, арпа ўсимликлари трансформация қилиниб, турғун трансген ўсимликлар олинган. Бундан ташқари биобаллистик трансформация ДНК ни эмбриоген чангчига тўғридан-тўғри кўчириб ўтказиш, трансген дигаплоид ўсимликлар олиш

учун қўлланилади ва у селекция ишларида муҳим босқич ҳисобланади. Бу усул билан тамаки ўсимлигининг трансформацияси амалга оширилиб, гаплоид ўсимликлар регенерациясидан сўнг турғун трансфор-мантлар олинган.

Ўсимликлар трансформациясининг далиллари. Ўсимликлар трансформацияси векторлари таркибига функционал гендан ташқари селектив нишон генлари киради. Бу ген одатда антибиотиклар канамицин (*nptII* -гени) ёки гигромицин (*nptII*- гени) га чидамликлик генларини кодирлайди, шунинг учун трансген ўсимликларни дастлабки танлов ишларини тегишли антибиотиклар сақловчи озиқа муҳитларида олиб борилади. Бундай муҳитда геноми таркибида селектив нишон гени бўлган ўсимликларгина регенерация қила олади. Бирок селектив муҳитда ўса олиш хусусиятининг ўзи ўсимликнинг трансген табиатини исботловчи ягона далил бўла олмайди.

T-ДНК кетма-кетликлари борлигини тўлиқ исботлашда полимераза занжир реакцияси (ПЗР) таҳлили ва T-ДНК бўлагини радиоактив зонд сифатида қўллаш орқали трансген ўсимлик хромосома ДНК сининг блот – гибридизациясига асосланган молекуляр таҳлили ўтказилади. Бундай таҳлилларни ўтказиш жуда қиммат турса-да, олинган натижалар трансформация амалга ошганлиги, T-ДНК – конструкцияларнинг қанчаси ўсимлик геномига ўрнаша олганлиги тўғрисида ишончли маълумот олиш имконини беради. Бундан ташқари, функционал ген экспрессиясининг қўшимча таҳлилин тегишли мРНК ёки оқсилни аниқлаш усуллари орқали амалга оширилади.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар

1. Рекомбинант ДНК олишнинг ахамияти нималардан иборат?
5. Бир хил изчилликка эга «ёпишқоқ» учли фрагментларникандай усуллар ёрдамида бирлаштирилади?
6. «Тўмтоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули қандай?
7. «Ёпишқоқ» ва «тўмтоқ» учли ДНК фрагментлар қандай бирлаштирилади?
5. Ўсимлик хужайралари трансформацияси усуллари хақида маълумот беринг

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

- 1 Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
- 2 Ашмарин И. Молекулярная биология. Ленинград 1977. – 366 с.
- 3 Бекер М.Е., Лиепиныш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.
- 4 Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./Под. ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова. М.: Высшая школа, 1997. – 228 с.

4-МАВЗУ: ХАЙВОНЛАР ВА ЎСИМЛИКЛАРНИНГ ГЕНЕТИК МУҲАНДИСЛИГИ

Режа:

1. Ўсимликлар ген муҳандислиги.
2. Генни танлаш ва уни клонлаш
3. Генни киритиш ва унинг реципиент ўсимлик геномидаги экспрессияси
4. Трансформант ҳужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш
2. Трансформациянинг ахамияти
3. Гриффитс тажрибаси
4. Бактериофаглар ирсий материали ҳам ДНК

Таянч сўзлар: Жинсий гибридизация, прокариот, эукариот, генни танлаш, клонлаш, реципиент – ўсимлик, T_i – плазида, тотипотентлик, пневмококклар, бактериофаг.

Ўсимликлар ген муҳандислиги. Жинсий гибридизация ва танлашга асосланган анъанавий селекция усуллари ўсимликларнинг янги генотипларини олиш имкониятини беради. Улар йирик ҳажмдаги қишлоқ хўжалик экинларининг гибрид ва навлари, шунингдек, селекциянинг нодир нусхаларини олишни таъминлайди. Янги навларни олишда анъанавий (классик), селекция усуллари бундан кейин ҳам асосий усуллардан бўлиб хизмат қилади. Ген муҳандислиги манипуляциялари қишлоқ хўжалик экинларининг патогенларга чидамли янги нав, шакл, линия ва гибридларини олиш ва янги навларни жорий этиш муддатларини қисқартириш каби қатор муҳим муаммоларни ечиш имкониятини беради.

Рекомбинант ДНКлар технологияси прокариот, шунингдек эукариот келиб чиқишга эга генларни ажратиш, бу ген (ёки бир неча генлар) реципиент ўсимлик хромосомасига кўчириб ўтказиш ва унинг экспрессиясини таъминлашга шароит яратади. Бу технологияни қўллаш изланишни бирмунча аниқ мақсадли қилади ва генетик аппарат билан манипуляция қилиш имкониятларини кенгайтиради.

Ўсимликларнинг битта ҳужайрасидан яхлит ўсимлик олиш мумкинлиги, яъни тотипотентлик хусусияти ҳайвонлар ҳужайраларига нисбатан уларнинг энг муҳим афзаллиги ҳисобланади. Ўсимликлар ген муҳандислигидаги натижалар ўсимлик тўқималари култураси усуллари, айниқса, турли хил ўсимликларни регенерация қилиш услубларини ишлаб чиқишга боғлиқ бўлади.

Ген муҳандислиги технологияси трансген ўсимлик олишнинг қуйидаги босқичларини ўз ичига олади: 1) генни танлаш ва уни клонлаш; 2) реципиент - ўсимлик генотипини танлаш; 3) генни киритиш ва унинг реципиент – ўсимлик геномига экспрессияси; 4) трансформант ҳужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш.

2.Генни танлаш ва уни клонлаш. Генни танлаш, ўсимликка хўжалик аҳамияти қимматли маълум бир белгини ўтказиш заруриятидан келиб чиқади. Ҳозирги вақтда, асосан, ўсимликлар трансформацияси учун моноген белгилар, яъни, пестицидларга чидамлик, ёки бошқа хил стресс омилларга чидамликни белгиловчи генлар кенг қўлланилади. Бу белгиларга жавобгар генларнинг кўпчилиги бактерия геномларидан ажратиб олинган. Кейинги вақтларда чидамлик белгиларига жавобгар донор сифатида ёввойи ўсимлик турлари геномлари танланмоқда. Турли хил тур, авлод ва ҳатто оилаларга мансуб ўсимликларнинг биологик жиҳатдан бир-бирига мос келмаслиги сабабли бундай генларни реципиент ўсимликлар геномига жинсий гибридизация усули орқалигина киритиш мумкин эмас. Ҳал этилиши янада мураккаб муаммо бир гуруҳ сифат белгилари: уруғ сифати, қурғоқчилик, юқори ва паст ҳароратга чидамлик белгиларини ажратиб олиш ҳисобланади.

Реципиент ўсимлик генотипини танлаш. Реципиент сифатида ишлаб чиқариш амалиёти талабларига ҳосилдорлиги, уруғ - меваси сифати, биотик ва абиотик стрессларга чидамлиги билан жавоб бера оладиган, лекин фақат биргина салбий белги, масалан, зараркунанда ҳашаротга чидамсиз нав ёки линиялар танлаб олинади. Бундай ўсимликлар геномига ҳашаротларни нобуд қилувчи прототоксин оқсили экспрессиясини таъминловчи в *bt2* бактерия генини киритиш танлаб олинган навда ҳосилдорликни сезиларли ошишига сабаб бўлади. Шунингдек, реципиент ўсимлик генотипини танлашда хужайраларнинг яхлит (фертил) етук ўсимликка қадар регенерация қилиш хусусияти ҳам инобатга олинади, чунки бу белги генотипга ҳам бир қадар боғлиқдир.

3.Генни киритиш ва унинг реципиент ўсимлик геномидаги экспрессияси. Ўсимликлар геномига бегона генларни кўчириб ўтказиш муаммоси бегона генларни икки паллали ва баъзи бир паллали ўсимликлар геномига кўчириб ўтказиш имконини берувчи тупроқ агробактериялари *Agrobacterium tumefaciens* таркибидаги *Ti* – плазмидларининг аниқланиши билан бирмунча енгиллашди. Сўнгги вақтларда ўсимлик хужайралари трансформациясида биобаллистик трансформация усули, айниқса, бир паллали ўсимликлар учун кенг қўлланилмоқда. Бегона генни реципиент ўсимлик геномига экспрессиясини амалга ошириш ва авлодларда белгининг наслдан – наслга турғун ўтишини таъминлаш муҳим масала ҳисобланади. Киритилган генни экспрессия бўлиши бир қатор сабаблар: генни ўсимлик геномига интеграция бўлган жойи, промотор қисмининг метилланиш изчиллиги, киритилган геннинг хусусиятлари ва ҳ.к. ларга боғлиқ.

4.Трансформант хужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш. Трансформант хужайралардан етук ўсимликни регенерация бўлиши хужайралар тотипотентлигига боғлиқ, аммо бу ҳар доим ҳам

амалга ошавермайди. Тотипотентлик белгиси икки паллали ўсимликлар: тамаки, картошка, лавлаги, соя, рапс, беда, помидор, сабзи, карам ва баъзи мевали дарахтларда яққол ифодаланган. Бир паллалилар, айниқса, бошоқдошларда бу белги кучсиз ифодаланган бўлиб, уларда хужайрадан етук ўсимликни регенерацияси жараёни жуда қийинчиликлар билан кечади. Ҳозирги вақтда ғалла экинларига мансуб баъзи ўсимликлар маккажўхори, шоли, буғдой, сули кабиларни регенерация қилиш усуллари ишлаб чиқилган.

Шуни қайд этиш лозимки, кўплаб ўсимликларни регенерация қилиш бўйича йилдан йилга бир қатор такомиллаштирилган усуллар ишлаб чиқилмоқда ва ривожлантирилмоқда.

Трансформациянинг аҳамияти. Ўтган асрнинг йигирманчи йилларнинг охирида хужайра ядросидаги хромосомада дезоксирибонуклеин кислота кўп миқдорда топилишига чуқур эътибор бера бошланди. Аввало гистохимиявий фёльген реакцияси (фуксин сульфит кислота билан қизил ранг ҳосил қилиш)дан фойдаланиб, ДНК хромосомаларда, РНК цитоплазмада жойланиши аниқланди. Худди шу йиллар ирсий белгиларнинг наслдан-наслга ўтиши хромосомаларда жойлашган генларга боғлиқ эканлигини тасдиқловчи фактлар ирсиятнинг хромосома назарияси узил-кесил қабул қилинишига олиб келади.

Гриффитс тажрибаси. Шунинг билан бирга генлар ферментларни идора қилиши, яъни биохимиявий жараёнларни бошқариши ҳақида кўлаб маълумотлар тўплана бошланди. Мана шу йиллар инглиз олими Фрэд Гриффитс пневмококкларнинг касаллик кўзғатмайдиган тури хужайраларни уларнинг касаллик кўзғатадиган , лекин қайнатиш йўли билан ўлдирилган, яъни касаллик кўзғатиш қобилиятини йўқотган хужайралари билан кўшиб каламуш танасига киргизилса, касаллик пайдо бўлишини кузатди. Бу тажриба бактериянинг бир турига хос хусусият (касалликни кўзғатиш) унинг нобуд қилинган хужайрасидан иккинчи турига ўтиб, унинг тирик хужайраларни ўзгартиришини тасдиқлади. Бу ҳодиса *микроблар трансформацияси* деб аталиб, нобуд қилинган хужайрада тирик хужайрани ўзгартира оладиган қандайдир омил (трансформация чақирувчи фактор) мавжуд деган хулоса туғилишига сабаб бўлади.

Бу фараз кенг тадқиқот қилиниб келса ҳам, трансформирловчи агентнинг химиявий табиати деярли яна 10 йилгача номаълум бўлиб қолди. Фараз этилган факторни тозалаш ва унинг химиявий табиатини аниқлаш устида олиб борилган тадқиқотлар 1944 йил улуғ кашфиётга олиб келди. Мана шу йили америкалик олим Эвери ўзининг касбдошлари Мак Леод ва Мак Картилар билан 10 йиллик ишлари якунини эълон қилди. Бу машҳур мақолада пневмококкларнинг бир турини иккинчи турга айлантирадиган модда ДНК эканлиги ҳақида хабар берилди. Демак, ДНК белгини ташувчи молекула, чунки

нобуд қилинган пневмококкларнинг касаллик қўзғатиш хусусияти ДНК молекуласига ва ДНК таъсирида бу хусусият тирик, лекин касаллик қўзғатиш хусусиятида маҳрум бактерияларга узатилади ва хужайра кўпайганда наслдан-наслга ўтади. Шубҳасиз бу кашфиёт туфайли молекуляр биология пойдеворига салмоқли хисса қўшди.

Бактериофаглар ирсий материали ҳам ДНК. Бу йиллар асосий тадқиқотлар бактериялар, вируслар ўтказилиб, улар ирсий хоссасининг сақланиши, кўчирилиши, трансформациясининг молекуляр механизмини аниқлашда қатор-қатор муҳим кашфиётларга олиб келди. 1941 йилда “бир ген-бир оқсил” формуласи фанда умумий қоида сифатида қабул қилинади. Бидл ва Татум кашф етган бу қоиданинг маъноси генлар оқсил (фермент)лар синтезини идора қилиши принципини аниқлаб беришдадир. Бактерияларни емирувчи, яъни *бактериофаг* деб аталувчи энг майда микроорганизмларнинг ирсий материали ҳам ДНК эканлиги исботланди.

Геном библиотекаси (генлар банки) - мазкур организмнинг ДНК изчилликлари тўлиқ тўпламининг вектор таркибида клонланишидир. Бутун геномни алоҳида қисмларга ажратиш (фрагментациялаш) ген муҳандислиги ишларини енгиллаштиради, алоҳида изчилликларни, турли геномларнинг муайян қисмларини қиёсий таҳлил қилиш ва асосийси индивидуал генларни ажр

Геном ДНКси фрагментларини олиш. Геном ДНКси фрагментлари юқори молекуляр хромосома ДНКсини рестриктазалар ёрдамида гидролизлаш йўли билан олинади. ДНК гидролизи учун рестриктазалар шундай танланиши керакки, олинган фрагментлар бир-бирини ёпиши ва уларнинг узунлиги вектор ўлчамига мос келиши лозим. Олинган фрагментлар фаг елкалари билан лигирланади ва фаг заррачаларининг олдиндан тайёрланган тайёр бошчаларига жойлаштирилади. Генлар банки шундай усулда олинади. Генлар банки фаг банки кўринишида 70 °С хароратда хлороформ тагида сақланади. Шундай усулда генлар банкини ўн йиллаб сақлаш мумкин.

Геном клонларини кўпайтириш. Олинган геном клонларини кўпайтириш, шунингдек керакли клонни қидириб топиш ишларини амалга ошириш учун фаг библиотекаси билан бактерия хужайралари зарарланади ва зарарланган хужайралар Петри ликобчасидаги агарли муҳитга экилади. Сут эмизувчилар хужайрасининг тўлиқ гаплоид тўплами $3 \cdot 10^9$ жуфт асос тутуди. 15 минг жуфт нуклеотид сифимдаги векторда библиотека 1 млн. атрофида фаг заррачалари тутуди. Миллионлаб фаг бляшкаларини текшириш, бутун геномдан зарур ген иштирокини текшириш имконини беради. Айнан шундай тарзда қидирилаётган ген изчиллигини тутувчи фаг заррачаларини аниқлаш,

фақат шу изчиллик ДНКсини кўпайтириш ва кейинги изланишларни амалга ошириш мумкин.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар.

1. Ўсимликлар ген муҳандислиги қандай векторлардан фойдаланилади?
 2. Генни танлаш ва уни клонлаш қандай амалга оширилади?
 3. Генни киритиш ва унинг реципиент ўсимлик геномидаги экспрессиясини аниқлаш усуллари
 4. Трансформант ҳужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш усуллари
1. Трансформациянинг аҳамияти нималардан иборат?
 2. Гриффитс тажрибасининг аҳамияти нимада?
 3. Бактериофаглар ирсий материали ним?

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

1. Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
2. Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология Учеб. пособие для вузов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2000. -420 с.

5-МАВЗУ:ХУЖАЙРА ВА ТЎҚИМЛАР БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

Режа;

- 1.Хужайра ва тўқималар культураси
- 2.Хужайра ва тўқималар культураси йўналишлари
- 3.Ўсимлик хужайра ва тўқималар культурасини ривожланиш тарихи
- 4.Ўсимлик хужайра ва тўқималарини *in vitro* культурлаш техникаси
5. Каллус тўқималари
6. Якка хужайралар

Таянч сўзлар: *in vitro* шароити, ажратилган тўқималар, стерил шароит, тўқималар культураси, дифференцияланиш, регенерация, ривожланиш потенциали, каллус тўқималари, суспензия.

1.Хужайра ва тўқималар культураси. Хужайралар биотехнологияси хужайраларнинг *in vitro* шароитида яшаш, кўпайиш ва регенерацияланиш хусусиятларига, ҳамда уларнинг тотипотентлигига асосланади. Ажратилган тўқималарни стерил шароитида, сунъий озиқа муҳитларда *in vitro* культуралаш усули биотехнологияда қимматли генотипларни сақлаш, кўпайтириш, уларнинг эмбриогенезини амалга ошириш ва экиш материалларини соғломлаштириш мақсадларида кенг фойдаланилади.

2.Хужайра ва тўқималар культураси йўналишлари Биотехнологияда ажратилган хужайра ва тўқималар культураси ролини учта йўналишда кўриш мумкин.

Биринчи йўналиш – ажратилган ўсимлик хужайраларининг тиббиёт, парфюмерия (атторлик), косметика ва саноатнинг бошқа тармоқлари учун иккиламчи синтез моддалар: алкалоидлар, стероидлар, гликозидлар, гормонлар эфир мойлари ва бошқа моддаларни синтез қилиш хусусияти билан боғлиқ. Иккиламчи синтез моддалар қаттиқ (агарли) ёки суяқ (суспензияли культура) озиқа муҳитларида ўстирилган каллус тўқималаридан олинади. Хужайралар технологияси асосида фойдали ўсимликлар хужайраларидан қувватни оширувчи ва тетиклаштирувчи моддалар олиниб, улар тиббиёт ва атторликда кенг қўлланилади.

Иккинчи йўналиш–ажратилган тўқималар культурасидан экиш материалларини вирусдан холи қилиш ва кўпайтиришда фойдаланиш. Бу усул ўсимликларни клонли микрокўпайтириш усули деб аталади ва бир йилда битта меристемадан юз минглаб ўсимликлар олиш имконини беради.

Учинчи йўналиш–ажратилган хужайралардан ўсимликлар селекциясида фойдаланиб, тез ривожланувчи, турли ташқи омиллар таъсирига қурғоқчилик, шўрланиш, паст ва юқори ҳарорат, фитопатогенлар,

оғир металллар ва бошқаларга чидамли тез ривожланувчи ўсимликлардан фойдаланиш.

Шунингдек, бу йўналиш орқали ажратилган протопластларни қўшиш ва жинссиз (соматик) дурагайлар олиш йўли билан янги ўсимликлар яратиш ишларини ҳам амалга ошириш мумкин. Ген мухандислиги усуллари ёрдамида ажратилган протопластларга ёт генларни киритиш келажакда янги хусусиятли ўсимликлар олиш имконини беради. Ажратилган чангдон ва уруғ куртакларни сунъий озиқа муҳитида културалаш орқали гаплоидлар олиш, пуч, унмайдиган (эндоспери яхши ривожланмаган) дурагай уруғлардан ўсимликлар олишга эришиш мумкин. Пробиркада чатиштириш орқали эса баъзи ўсимликларнинг ўзаро чатишмаслигини енгиш мумкин. Хужайра ва тўқималар културасидан фойдаланишда муваффақиятга эришиш учун, авваломбор хужайраларнинг нормал бўлиниши, дифференцияланиши ва регенерацияланиб, улардан етук ўсимлик ҳосил бўлиши каби физиологик жараёнларни оптималлаштириш зарур.

3.Ўсимлик хужайра ва тўқималар културасини ривожланиш тарихи. Ўсимликдан алоҳида ажратилган тўқималарни културалашга анча йиллардан буён ҳаракат қилиб келинган ва бу усулнинг ривожланиш тарихи бир неча босқичларни ўз ичига олади.

I- босқич (1882 –1902 йиллар) Г.Хаберландт, Фёхтинг, Рехингер каби немис тадқиқотчилари номлари билан боғлиқ. Улар томонидан сахароза эритмасида турли ўсимликларни културалашга ҳаракат қилинган. Қоқиўт ва терак пояси сегментларида биринчи каллус тўқималари олинган ва каллус ҳосил қилишга қобилиятли сегментларнинг минимал ўлчами аниқланган. Хаберландт ҳар қандай ўсимлик хужайрасининг тотипотентлигини яъни хужайра ўзининг ривожланиш потенциалини сарфлаб, маълум културалаш шароитида етук ўсимлик ҳосил қилиш қобилияти ҳақидаги илмий назарияларни илгари сурган.

II-босқич (1902 –1922 йиллар) ҳайвон тўқималарини културалаш учун озиқа муҳити яратилди. Бу озиқа муҳитлар табиий келиб чиқишга эга бўлиб, таркиби қон плазмаси ва эмбрион (пушт) суюқлигидан иборат бўлган. Бу даврда ажратилган ўсимлик тўқималарини ўсимлик экстракти тутувчи сунъий озиқа муҳитларда ўстиришга бўлган уринишлар муваффақиятсиз чиқди, чунки тажрибалар учун юксак ўсимликларнинг ўсиш фаоллигини кам намоеён қиладиган хужайра ва тўқималари танланган эди.

III-босқич (1922 – 1932 йиллар) Бу даврда америка олими В.Робинс ва немис олими Котте бир-бирига боғлиқ бўлмаган ҳолда помидор ва маккажўхори илдиз меристемаларини қаттиқ озиқа муҳитларида

культурлаш имкониятининг мавжуд эканлигини аниқлашди. Аммо маълум вақт ўтгандан сўнг, ўсимлик тўқималари қўнғир рангга кириб нобуд бўлган.

IV-босқич (1932-1940 йиллар) француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У ўсимлик тўқималарини *in vitro* шароитида узоқ вақт культурлашга тўқималарни вақти – вақти билан янги озиқа муҳитга кўчириб ўтказиш орқали эришиш мумкинлигини исботлади.

V-босқич (1940-1960 йиллар) 1955 йилда цитокинин фитогормонларининг янги синфи, аниқроғи кинетиннинг кашф этилиши муносабати билан, тамакини ўтказувчи тўқималари ва камбийдан ҳоли қилинган ўзак паренхима тўқимаси хужайраларининг бўлинишини стимуллаш имконияти пайдо бўлади. Ўсимлик стимуляторини миқдори ва нисбатига боғлиқ ҳолда эксплантдаги хужайралар бўлинишини тезлаштириш, каллус тўқимаси ўсишни давом эттириш ва морфогенезини индуцирлаш мумкинлиги аниқланди.

VI-босқич (1960 – 1975 йиллар) Бу даврдаги муҳим воқеалардан бири, Ноттингем университети профессори Э.К.Коккинг томонидан ферментатив йўл билан протопластларнинг ажратилиши бўлди. У хужайралар деворини гидролизловчи ферментлар ёрдамида помидор меваси ва илдизидан протопластлар ажратиб олди ва ва назоратдаги шароитда културалади. Кейинроқ 1970 йилда шу лабораторияда Пауэр ва унинг шогирдлари томонидан протопластларни қўшиш орқали, соматик дурагайлар олишнинг янги усули яратилди. Бу даврда яратилган яна бир усул, бу *in vitro* шароитида меристема културасидан фойдаланган ҳолда ўсимликларнинг микроқўпайтиришдир. Бу усул француз олими Ж.Морел томонидан дастлаб орхидея ўсимлигининг соғломлаштирилган кўчатларини кўпайтириш мақсадида ишлаб чиқилган.

VII-босқич (1975 йилдан ҳозирги кунга қадар) *in vitro* техникаси жадал ривожланиши давом этмоқда, култураланаётган объектлар биологияси ўрганилмоқда, ажратилган протопластларни электр токи ёрдамида қўшиш усуллари, хужайралар селекцияси ва мутагенези усуллари, гаплоид ўсимликлар яратиш усуллари яратилмоқда. Протопластлар ва *Agrobacterium tumefaciens* ва *A. rhizogenas*нинг Ti ва Ri плазмидалари асосидаги векторларидан фойдаланиб, хужайраларни чуқур културалаш усуллари мукамаллаштирилмоқда. Ген мухандислиги усуллари ёрдамида икки паллали ўсимликлар хужайрасига генларни кўчириб ўтказишнинг самарали усуллари ишлаб чиқилди.

4. Ўсимлик хужайра ва тўқималарини *in vitro* культурлаш техникаси. *Стериллаш.* Эксплант ва уруғлар 5-20 мин стерилловчи

эритмада стерилланиб, сўнг бир неча марта стерил сувда ювилади. Стериллаш вақти эксплантни табиатига ва стерилловчи эритманинг фаоллигига боғлиқ. Уруғлар 10–20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин стерилланади

Ташқи стериллаш фақат ташқаридаги инфекциялардан ҳоли қилади. Агар эксплантда ички инфекция мавжуд бўлса, у ҳолда антибиотиклар билан ишлов бериш зарур. Асосан тропик ва субтропик ўсимлик тўқималари ички инфекцияларга бой бўлади. Замбуруғ ёки бактериялар билан зарарланган културани экилганидан 1-14 кундан сўнг аниқлаш мумкин. Микроорганизмлар билан зарарланган култураларни хонага тарқалиб ҳавони ифлослантормасдан уларнинг олдини олиш зарур.

Озиқа муҳитлари автоклавда 120⁰С ҳароратда 0,75–1 атм босимда 20 минут давомида стерилланади. Агар озиқа муҳит таркибига юқори ҳароратда парчаланиб кетувчи моддалар киритилган бўлса, у ҳолда бу моддалар махсус бактериал филтрлардан ўтказиб тозаланади, сўнг автоклавланган ва 40⁰С га ча совитилган асосий озиқа муҳитга қўйилади.

Идишларни олдиндан зар қоғозга ёки оддий қоғозга ўраб, қуритиш шкафларида 160⁰С ҳароратда 2 соат давомида стериллаш лозим.

Озиқа муҳитлар. Ажратилган ҳужайра ва тўқималарни культуралаш учун озиқа муҳитлари таркибида ўсимлик учун зарур бўлган барча макроэлементлар (азот, фосфор, калий, кальций, магний, олтингугурт, темир) микроэлементлар (бор, марганец, рух, мис, молибден ва бошқалар) шунингдек витаминлар, углеводлар, фитогормонлар ёки уларнинг аналогларини тутиши зарур. Баъзи озиқа муҳитларга казеин гидролизати, аминокислоталар ҳам қўшилади. Бундан ташқари, ҳужайранинг темирга бўлган талабини қондириш учун озиқа муҳитлар таркибига ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки унинг натрийли тузи киритилади.

Културалаш шароити. Ажратилган ҳужайра ва тўқималарни культуралашни амалга ошириш учун ўстиришнинг зарурий шартларига амал қилиш лозим.

Аксарият каллус тўқималари ёруғликка муҳтож эмас, чунки уларнинг ҳужайраларида хлоропластлари бўлмади ва гетеротроф озиқланади. Баъзи яшил каллус тўқималари масалан, мандрагоралар бундан мустасно. Айрим ҳолларда каллус тўқималари авторотроф озиқланишга қодир бўлмасалар ҳам узлуксиз ёруғлик шароитида ўстирилади, бу муваффиқиятли морфогенез ҳосил бўлишининг зарурий шarti ҳисобланади Асосан каллус тўқималарини олиш учун қоронғулик ёки сочма ёруғлик шароити яратилади.

Шакллана бошлаган тўқималар ёруғликда 1000-4000 лк ёритиш остида культураланади.

Изоляцияланган меристемаларни културалаш ва уларни микроўпайтириш ёруғликда амалга оширилади. Хоналарни ёритиш даражаси културага боғлиқ ҳолда 3000-10000 лкни ташкил қилиши керак.

Каллус култураси-бу дедифференцияланган хужайраларнинг тарқоқ бўлинаётган тўқималаридир. *Каллус* - қадок маъносини билдириб, ўсимликларнинг шикастланган жойида ва *in vitro* култураланаётган ўсимлик тўқималарида (эксплантларда) хужайраларнинг бетартиб бўлиниши ва ўсишидан ҳосил бўлган кабарикдир.

in vitro каллус тўқимаси асосан оқ ёки сарғиш рангда, камдан – кам ҳолларда оч яшил ранг (мандагора ўсимлиги)да бўлади. Каллус тўқимаси қарий бошлаши билан унинг хужайрасида фенолли бирикмалар тўпланиши сабабли, тўқ қўнғир рангга кира бошлайди. Бунинг олдини олиш учун озика муҳитлари таркибига антиоксидантлар қўшилади.

Каллус тўқималарининг тузилиши. Каллусли тўқималар аморф бўлиб, аниқ анатомик тузилишга эга эмас, аммо келиб чиқиши ва ўстириш шароитига боғлиқ ҳолда улар турли хил консистенцияга эга бўлиши мумкин; 1) пўк, сувга тўйинган хужайралардан иборат, майда, алоҳида агрегатларга уваланиб кетувчи; 2) ўртача зичликда, меристематик маркази яхши кўринган; 3) камбий ва ўтказувчи система элементлари дифференцияланаётган зич тузилишга эга бўлади.

Агар гормонсиз озика муҳитга дифференцияланган хужайралардан иборат поя, барг, илдиз (учки меристемаси олинган) қисмлари ёки ўсимликнинг бошқа эксплантлари жойлаштирилса, хужайралар бўлинмайди ва каллусли тўқималар ҳосил бўлмайди, чунки дифференцияланган хужайралар бўлиниш хусусиятига эга эмас. Ҳар бир хужайра ўсишнинг учта давридан ўтади: 1) бўлиниш; 2) чўзилиши; 3) дифференцияланиш. Дифференцияланиш даврида хужайранинг иккиламчи қобиғи қалинлашади ва хужайра бўлиниш хусусиятини йўқотади. Дифференцияланган хужайралар бўлиниш хусусиятига қайта эга бўлишлари учун уларнинг дедифференциацияси юзага келиши яъни хужайралар меристематик ҳолатга қайтиши керак.

Эксплантларда пайдо бўлган бирламчи каллус тўқималари 4-6 ҳафта ўтгандан сўнг, хужайраларининг бўлиниш хусусиятлари йўқолиб, қариши бошланмасдан олдин, янги озика муҳитларга кўчириб ўтказилиши керак. Бу муолажани пассирлаш яъни қайта экиш дейилади. Мунтазам пассирлаш орқали хужайраларнинг бўлиниш қобилиятини ўн йиллаб сақлаб туриш мумкин.

Каллус ҳужайраларининг ўсиши S-симон шаклдаги эгри чизикқа эга. Ўсишнинг бундай характерини каллус ҳужайраларининг суспензияли културасида кузатиш мумкин. Ўсиш эгри чизиги бешта фазани ўз ичига олади. Биринчиси, латент ёки лаг-фазада ҳужайралар сони ёки массаси ўзгариши кузатилмайди. Бу фазада ҳужайралар бўлинишга тайёрланади. Навбатдаги иккинчи логорифмик ёки экспоненциал ўсиш фазаси-митотик фаоллиги ва каллус тўқималари массасининг ортиши билан характерланади, бундан ташқари ўсиши тезлашади. Учинчи доимий фазасида ҳужайралар ўсиши доимий бўлади. Шундан сўнг Тўртинчи ўсишнинг секинлашиш фазаси-ҳужайранинг митотик фаоллиги кескин камайганда юзага келади. Бешинчи стационар фазада ўсиш эгри чизиги платога чиқади. Бу даврда ҳужайралар деградацияси бошланади, аммо ҳужайралар бўлиниши ҳисобига ҳужайралар сонинг ортиши сабабли яна тенглашади: умуман олганда ҳужайра массасининг ошиш тезлиги нолга тенг бўлади.

Каллус ҳужайраларининг хусусиятлари. Каллус ҳужайралари *in vitro* шароитида ўсимлик организмнинг нормал ҳужайраларига хос бўлган барча физиологик ва биокимёвий хусусиятларига эга бўлади. Улар иккиламчи метаболитлар синтез қилиш қобилиятини ҳам сақлаб қолади. Совуқ ҳароратга чидамли ўсимликлардан олинган каллус тўқималари совуққа чидамлиликини намоён қилади. Тропик ва субтропик ўсимликлардан олинган каллус тўқималари эса бундай хусусиятга эга эмас. Демак, ҳужайранинг паст ҳароратга чидамлилики хусусияти каллус тўқимаси ҳосил бўлганда ҳам сақланиб қолар экан. Каллус тўқималарига фотопериодик реакциялар ҳам хос бўлиб, бу ундаги фитохром фаолликнинг сақланиши билан боғлиқдир.

Нормал ўсимлик ҳужайраларига хос бўлган юқори ҳароратга, осмотик актив моддаларга, шўрланишга чидамлилики белгилари каллус ҳужайралари учун ҳам умумийдир.

Каллус ҳужайралари организм назоратидан чиқиб кетиши туфайли уюшмаган ҳолда асинхрон равишда чексиз кўпайишига ўтади. Р. Горте томонидан олинган сабзи каллус тўқимаси култураси янги озиқа муҳитига мунтазам ўтказилиб турилиши сабабли 60 йилдан буён ҳозирги кунга қадар тўқималар тўпламида ўсиб турибди.

Каллус ҳужайраларининг энергия алмашилишида ҳам катта фарқ мавжуд. Улар нормал ҳужайраларга нисбатан кам кислород талаб қилади. Бу нафас олиш ва бижғиш орасидаги нисбатининг бижғиш томонига сурилиши, Пастер эффеқтини камайиб, бижғиш кучайишидан далолат беради. Пастер эффеқти деганда кислородли нафас олиш орқали бижғиш жараёнини тўхтатилишини тушуниш мумкин. Ўзгармас нафас олиш субстартида нафас

олиш коэффициентининг олиши шундан далолат берадики, каллус ҳужайраларининг нафас олиши хатто кислород иштирокида ҳам бижғишни тўхта олмайди, углеродларнинг кислородсиз парчаланиши яъни бижғиши амалга ошади. Уюшмаган тўқималарни ўсишида углеводларнинг кислородсиз парчаланиши-бижғиш натижасида бўлинаётган ҳужайралар таркибидаги этил спирти тўпланади. Шундай натижалар нўхатни интакт ўсимталарини уюшмаган холда ўсиши индукцияланганида олинган.

Каллус ҳужайралари генетикаси. Узоқ вақтлар мобайнида каллус ҳужайралари генетик бир хил деб ҳисобланган эди. Аммо 1960 йилда каллус тўқималарининг генетик гетерогенлиги аниқланди. Каллус ҳужайралари хромосомалар сони билан фарқ қилади. Меристема тўқималари *in vitro* генетик турғун ҳисобланади.

Каллус ва суспензия култураларида бошланғич ўсимликга хос хромосомаларнинг диплоид тўпламига эга ҳужайраларни, шунингдек 3,4,5 ва ундан ортиқ хромосомалар тўпламига эга полиплоид ҳужайраларни ҳам учратиш мумкин. Каллус тўқималари културасида полиплоидия билан бир қаторда анеуплоидлар (бир ёки бир неча жуфт гомологик хромосомалари камайган ёки кўпайган организмлар)ни ҳам кузатиш мумкин. Каллус ҳужайралари *in vitro*да қанча узоқ вақт култураланса, пloidлик бўйича шунчалик фарқ қилади. Тамакини каллус ҳужайралари 4 йил културланганидан сўнг, диплоид ҳужайралари умуман қолмайди, ҳамма ҳужайралар полиплоид ёки анеуплоид бўлади. Пloidликнинг ўзгариши културалаш ва озиқа муҳит таркибига кирувчи моддалар таркиби таъсирида юзага келади. Ёки буни бошқача изохлаш ҳам мумкин. Полиплоид ҳужайралар диплоид ҳужайраларга нисбатан қисқа лаг-фазага эга бўлади, шунинг учун тезроқ бўлинишга ўтади. Бунинг натижасида улар қайта экилиш имкониятига эга бўлади.

Ўсимлик ҳужайра ва тўқималарини *in vitro* шароитида културалаш уларнинг пloidлигидаги ўзгаришлардан ташқари, ҳужайраларида хромосомалар абберациясини ҳам пайдо қилади. Бунинг натижасида, култураланаётган тўқиманинг хусусияти, ташқи кўриниши, моддалар алмашилиши, ўсиш тезлиги ўзгаради. Каллус ҳужайраларининг генетик хилма – хиллиги уларни ҳужайралар селекциясида қўллаб, атроф муҳитнинг ноқулай омилларига, фитопатогенларга чидамли, ҳосилдорлиги юқори ҳужайралар олиш имконини беради.

Ҳужайралар суспензиясини олиш учун, каллус автоматик равишда аралаштириладиган суяқ озиқа муҳитга ўтказилади. Пектиназа ферменти ёрдамида эксплант тўқималаридан (барг, поя, илдиз ва бошқалар) суспензияли

културасини олиш мумкин. Бунда дастлаб эксплант юзасида каллус тўқимаси пайдо бўлади, сўнг ундан хужайралар ва хужайра агрегатлари ажралади ва натижада хужайралар суспензияси ҳосил бўлади.

100 мл хужайра суспензияси олиш учун 2-3 г янги каллус тўқимаси керак бўлади. Хужайралар суспензиясини тайёрлаш учун асосий зарур шароит–бу доимий равишда муҳитни чайқатиб, аралаштирилиб туришидир. Агар хужайра суспензияси ҳаракатсиз ҳолатда турса хужайра суспензиясини бўлиниши натижасида каллус ҳосил бўлади.

2.Хужайралар суспензиясининг бўлиниши ауксинлар ва цитокининлар, яъни каллус хужайралари ўсиши ва индукцияси учун зарур бўлган гормонлар ёрдамида амалга оширилади. Суспензия културалари каллус хужайраларига хос бўлган барча хусусиятларни ўзида намоён қилади.

Суспензиялар пўк каллусдан 2,4-Д тутувчи озиқа муҳитларида яхши ҳосил бўлади. Озиқа муҳит таркибида кальций ионларининг иштирок этмаслиги суспензиянинг суспендирланишини енгиллаштиради. Агар озиқа муҳитга пектиназа ферменти қўшилса (бу фермент алоҳида хужайраларни бир-бирига елимлаб турувчи пектат кальцийни парчалайди) ва бу жараён янада енгиллашади.

3.Хужайралар суспензиясидан биотехнологияда фойдаланиш. Биотехнологияда хужайралар суспензиясидан қимматли дори-препаратлари учун иккиламчи метаболитлар олишда, хужайралар биомассасини ўстиришда ва хужайралар селекциясида фойдаланилади. Шу билан биргаликда хужайралар суспензияси ажратилган протопластлар олиш учун бошланғич материал сифатида ҳам қўлланилади.

Хужайралар суспензияси билан ишлашда уларнинг хусусиятлари: яшовчанлиги, суспензия културасидаги хужайралар зичлиги, агрегирланиш даражаси, ўсиш тезлигини билиш зарур. Хужайраларнинг яшовчанлиги метилен кўки ва Эванс кўк бўёқларида уларнинг бўялишига қараб аниқланади. Тирик хужайралар бўялмайди, ўлик хужайраларга эса бўёқ осон киради ва кўк рангга бўялади.

4.Хужайра суспензияси ҳолатининг кўрсаткичларидан бири, хужайра популяцияларининг зичлигидир. Суспензиядаги хужайралар сонини хужайралар мацерациялангандан (хужайраларнинг бир-биридан ажратилиши) сўнг, микроскоп ёрдамида Фукс-Розентал ҳисоб камерасида аниқлаш мумкин. Хужайраларни мацерациялашда (10-20%ли) хром кислотадан фойдаланилади. У хужайраларни бириктириб турувчи пластинкаларни гидролизлайди.

Яхши ўсаётган суспензия каллус култураси каби ўсишнинг S-симон эгри чизиғига эга бўлади. Одатда пассажнинг давомийлиги 14-16 кундан иборат бўлади. Бунда суспензия зичлиги $5 \cdot 10^4$ дан $5 \cdot 10^6$ хуж/мл-гача ортади. Субкультурлаш учун суспензия ўсишнинг экспоненциал даври охирида олинади. Хужайралар сонини кўпайиши, уларни қуруқ ва ҳўл массаси суспензион културани асосий ўсиш даражасини ташкил этади.

Суспензиянинг сифати хужайранинг агрегирланиш даражасига боғлиқ. Агрегатларда хужайралар сони 10-12 дан кўп бўлмаслиги керак. Шунинг учун, суспензия дока, нейлон ёки метал филтлардан ўтказиш орқали йирик агрегатлар, эксплант қолдиқлари ёки каллус тўқималари бўлакларидан тозаланади.

Суспензия културалари қимматли иккиламчи метаболитлар манбаи бўлиб хизмат қилади, шунингдек улар таркибида янги ажойиб бирикмалар, масалан, компотетин, харрингтонин ва бошқа антиканцерогенлар, пептидлар, (протеазалар, фитовируслар ингибиторлари) тутати. Иккиламчи метаболитларнинг синтези ўсишни стационар фазасида максимал даражага етади.

Генетик ва физиологик изланишлар учун, шунингдек хужайралар селекциясида амалий фойдаланиш учун якка хужайраларни культурлаш муҳим аҳамият касб этади. Якка хужайраларнинг клонларини олиш, каллус хужайраларининг генетик бир хил эмаслиги сабабларини аниқлашда ёрдам беради, чунки бу ҳолатда кузатиш ишлари гетероген эксплантлардан эмас, балки якка хужайралардан олинган тўқималар устида олиб борилади.

Ажратилган протопластлар културасидан ажратилган якка дурагай хужайра, ўзининг бўлиниши натижасида дурагай хужайралардан иборат клон ҳосил қилади. Бу эса тадқиқотчиларнинг ажратилган протопластлар културасидан дурагай (гибрид) хужайраларни аниқлаб, ажратиш ишларини енгилаштирати. Бундан ташқари якка протопластларда соматик гибридизация жараёнини кузатиш осон кечади.

2. Якка хужайраларни олиш усуллари Якка хужайраларни хужайралар суспензиясидан, ўсимлик тўқималаридан, масалан, барг мезофилидан ферментлар ёрдамида мацерация қилинганидан сўнг, алоҳида протопластлардан эса хужайра девори тиклангандан сўнг ажратилади.

Шунингдек, баъзида суспензион културани 15-30 мин. колбада тиндириб қўйиш орқали ҳам бир хужайрали фракцияларини олиш мумкин. Бунда йирик агрегатлар колба тагига чўкади, чўкма устидаги фракция фақат якка хужайралар ва майда агрегатлардан иборат бўлади. Агар бу усул орқали якка хужайралар фракциясини олиш имконияти бўлмаса, у ҳолда

мацерацияловчи ферментлар ёрдамида сахароза градиентида центрифугалаш ёки филтрдан (нейлон ёки металл филтр) ўтказиш орқали олинади.

Якка хужайраларни клонлаш бир оз қийин. Чунки каллус тўқималари ўсадиган шароитда якка хужайралар бўлинмайди. Шунинг учун якка хужайраларнинг мажбурий бўлинишини амалга оширувчи махсус усуллар яратилган бўлиб, 1960 йилда Жонсон томонидан таклиф этилган «энага» усули шулар жумласидандир. Бу усулда якка хужайралар бўлинишини стимулловчи «энага» вазифасини алоҳида хужайралардан филтр қоғози ёрдамида ажратиб қўйилган каллус тўқималари бўлаклари бажаради. «энага» иштирокида алоҳида хужайралар бўлинади ва хужайранинг индивидуал колонияси – клонни ҳосил қилади.

Яна бошқа усул – жуда кам миқдордаги таркиби бойитилган озиқа муҳитидан фойдаланиб, якка хужайраларни ҳажми 20 мкл бўлган Купрак ликобчасидаги микротомчида културалашга асосланган. Бу усул академик Ю.Ю.Глеб томонидан тадбиқ қилинган. Микротомчиларда соматик дурагайлаш учун хужайраларнинг ҳосил бўлиши ва бўлинишини кузатиш жуда ҳам қулай.

Якка хужайралар бўлинишини индукциялаш учун «озиклантирувчи қатламлар»дан фойдаланиш мумкин («озиклантирувчи қатламлар» якка хужайра олинган ўсимлик турига мансуб суспензион културанинг фаол бўлинаётган хужайралари).

Жадал бўлинаётган хужайралар културасидан олинган озиқа муҳитидан қўшилса, хужайралар бўлиниши стимулланади ва озиқа муҳитни кондицирланади. Кондицирловчи омил хужайралар суспензиясини ўсишнинг экспоненциал фазасида бактериал филтрдан ўтказиш орқали олинади. Умуман олганда, юқорида берилган барча усуллар бўлинаётган хужайралар ажратган кондицирловчи омилдан фойдаланишга асосланган.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар

1. Хужайра ва тўқималар култураси билан ишлаш усуллари
2. Хужайра ва тўқималар култураси билан ишлашнинг асосий йўналишлари хақида маълумот беринг
3. Ўсимлик хужайра ва тўқималар културасини ривожланиш тарихи
1. Ўсимлик хужайра ва тўқималарини *in vitro* културлаш техникаси нималардан иборат?
2. Каллус тўқималари деганда нимани тушунасиз?
3. Якка хужайралар қандай олинади?
4. Хужайралар суспензияси ыандай мақсадлар учун фойдаланилади?

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

- 1 Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
- 2 Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология Учеб. пособие для вузов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2000. -420 с.
- 3 Ашмарин И. Молекулярная биология. Ленинград 1977. – 366 с.
- 4 Бекер М.Е., Лиепиныш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.

6-МАВЗУ: ТИББИЁТ ВА ФАРМАЦЕВТИКА УЧУН ИККИЛАМЧИ СИНТЕЗ МОДДАЛАРИ ОЛИШ

Режа:

1. Иккиламчи синтез моддаларни олишда каллус хужайралари культураси
2. *In vitro* каллус хужайраларининг иккиламчи метаболитлар синтези
3. Иккиламчи синтез моддаларнинг културал суспензиялари ўстириш

Таянч сўзлар: хужайра биомассаси, хужайралар суспензияси, ферментер, иккиламчи метаболитлар.

1. Иккиламчи синтез моддаларни олишда каллус хужайралари культураси. Ўсимликдан алоҳида ажратилган хужайраларни *in vitro* шароитида субкултуралаш усуллари мавжуд бўлиб, бу усуллар ёрдамида олинган каллус тўқималаридан назарий изланишлар учун, шунингдек амалий қўллаш учун ҳам фойдаланилади. Ажратилган хужайра, тўқима ва органларнинг иккиламчи метаболизм моддаларни синтезлаш хусусияти муҳим аҳамият касб этади. Улардан тиббиёт, ўсимликлар химояси, ветеринария, озуқа ем ишлаб чиқариш, озиқа-овқат саноати, парфюмерия учун зарур моддалар ишлаб чиқаришда фойдаланиш мумкин. Бу йўналишдаги ишларга тадқиқотчиларнинг қизиқиши тасодиф эмас, чунки физиологик фаол моддалар олиш учун хужайралар биотехнологиясининг анаъанавий тарзда ўсимликлар хом-ашёси олишга нисбатан: 1) хужайра биомассасини олиш мавсумга, иқлим ва тупроқ шароитларига боғлиқ эмас; 2) зарур миқдорда керакли моддаларни синтезлаб берувчи хужайралар суспензиясини културлашнинг шароитини оптималлаш имкониятининг мавжудлиги; 3) жараёни автоматлаштириш мумкинлиги каби бир қанча устунлик томонлари бор.

2. *In vitro* каллус хужайраларининг иккиламчи метаболитлар синтези. *In vitro* култураланилаётган каллус хужайраларининг интакт ўсимлик хужайралари каби иккиламчи метаболитлар синтез қилиши аниқланган. Шунингдек, миқдор ва сифат жихатидан улар ўхшаш бўлиши мумкин. Ҳозирги кунда саноатда кенг қўлланилаётган иккиламчи метаболитларни синтезловчи, турли оилаларга мансуб ўсимликлар хужайралари культурасини катта тўплами йиғилган. Булардан узоқ шарқ женшени – диосгеенин манбаи сифатида, дельтасимон дискорея – стероид гликозидлар, илонсимон равольфия – аймалиннинг антиаритмик алколоиди, стевия – стевонин манбаи бўлиб хизмат қилади. Кейинги вақтларда тадқиқотчиларда резавор тис хужайраларини биореакторларда културалашни амалга ошириш катта қизиқиш уйғотмоқда. Аниқланишича, бу ўсимликнинг хужайралари таксон-моддаларини синтезлар экан, бу модда саратон касаллигига қарши препарат тайёрлашда ишлатилади.

Хужайра биомассасининг *in vitro* ва *in vivo* шароитларда турлича тезликда ўсиши тажрибаларда аниқланган. Масалан, 1 йилда женшен илдизини ўсиши тайгада 1 г ни ташкил этса, плантацияларда эса 3 г. Илдиз хужайралари агарли (*in vitro*) озиқа муҳитда ўстирилганда бир кунда 1 л озиқа муҳитда 0,4 г қурук

массасини олиш мумкин. Женшен хужайраси суспензияда ўстирилганда 50 литрли ферментерда бир суткада бир литр озика муҳитда 2,0 гр га етади, бу плантацияда етиштирилганига нисбатан 1000 марта кўп демакдир. Женшеннинг қимматбаҳолигини ҳисобга олиб (плантацияда етиштирилган ўсимликнинг илдизининг 1 килограмми 100-150 АҚШ доллари, ёввойи ҳолда ўсувчиларининг баҳоси бир неча минг АҚШ доллори туриши мумкин) унинг хужайра култураси биомассасини олишни биотехнологик усули эътиборга моликдир. 4.3. жадвалда юксак ўсимликлар хужайра културалари синтезлаган баъзи иқтисодий муҳим маҳсулотлар келтирилган.

3. Иккиламчи синтез моддаларнинг културал суспензиялари ўстириш. Иккиламчи синтез моддаларнинг културал суспензиялари биореакторларда ўстириш йўли билан олинади. Биореакторлар ўзининг конструкцияси бўйича барбатажли бўлади, уларни аралаштириш кўтарилаётган ҳаво пуфаклари ҳисобига ҳаво аэрацияси орқали ва механик аралаштиргични қўллаш орқали амалга оширилади.

Тажрибалардан аниқланишига иккиламчи метаболитлар хужайра ичидаги органелларда: пластидлар, хлоропластлар, митохондриялар ва микопластларда синтезланади, қўшни хужайраларга, ёки озика муҳитга ташилмайди, хужайрани бўш қисми ва воқуласи кўпинча метаболитларни йиғишга хизмат қилади (Князьков И. 1996).

Хужайралар *in vitro* шароитида ўстирилганда иккиламчи моддаларнинг миқдор ва сифат ўзгариши озика муҳит таркиби боғлиқ. Масалан, женшен ўсимлиги културасида озика муҳитдаги турли шаклдаги азотларнинг нисбати стероид сапонинларнинг маҳсулдорлигига таъсир кўрсатиши аниқланди. Демак аммонийли ва нитратли азотнинг 1:3 нисбати биомассани ошишига, 2:3 нисбати маҳсулдорлигига таъсир кўрсатмади, аммо диосгенин тўпланишини камайишига олиб келди. Озика муҳитда сахароза миқдорининг оширилиши (5%) хужайра массасини ўсишига, сахароза миқдори камайирилганда эса (1,5 %) диосгениннинг маҳсулдорлигини ошишига таъсир кўрсатади (Шаталова 1998).

Биореакторларда хужайралар културасини ўстириш технологияси кенг ҳажмли жараён ҳисобланади, яъни катта ҳажмдаги биореакторларда хужайраларни ўстириш шароити ишлаб чиқилади. Ҳозирги кунда бир неча кубометр ҳажмли биореакторларда турли хужайралар култураларини муваффақиятли масштаблаштириш бўйича етарли миқдорда кўп омиллар йиғилган масалан, DJVERSA (ҳозирги вақтда FYTON) немис фирмаси мутахассислари бир қатор ўсимликлар хужайраларини 75000 литрли ҳажмга эга бўлган биореакторларда ўстиришга эришганлар.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар.

1. Иккиламчи синтез моддаларни олишда каллус хужайралари културасининг рли нимадан иборат?

2. *In vitro* каллус хужайраларининг иккиламчи метаболитлар синтези қандай амалга оширилади?

3. Иккиламчи синтез моддаларнинг культурал суспензиялари ўстириш шароитларига нималар киради?
4. Иккиламчи метаболитларга нималар киради?
5. Хужайра биомассаси ферментерларда қандай устирилади?

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

- 1 Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
- 3 Ашмарин И. Молекулярная биология. Ленинград 1977. – 366 с.
- 4 Бекер М.Е., Лиепиныш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.
- 5 Волова Г. Биотехнология. Изд-во отделения Российской Академии наук. 1999. – 252 с.

7-МАВЗУ:ВИРУССИЗ ЎСИМЛИКЛАР ОЛИШ.ЎСИМЛИКЛАРНИ КЛОНЛИ МИКРОКЎПАЙТИРИШ. ХАЙВОН ХУЖАЙРАЛАРИ КУЛТУРАСИ

Режа:

- 1.Клонли микрокўпайтириш усулининг анъанавий усулларига нисбатан афзалликлари
- 2.Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари
- 3.Соғломлаштирилган, вирусдан ҳоли экиш материаллари олиш
- 4.Ўсимликларни клонли микрокўпайтиришга генетик физиологик гормонал ва физик омиллар таъсири
- 5.Химер хайвонлар яратиш усуллари
- 6.Хайвон хужайралар культуралашнинг асосий тамойиллари ва улардан фойдаланиш.

Таянч сузлар: микрокўпайтириш, ювенил фаза, регенерант ўсимлик, донор ўсимлик, мериклонлар, морфогенез, адвентив куртаклар, меристема, соматик эмбриогенез, химер хайвонлар, хайвонлар культураси.

Клонли микрокўпайтириш усулининг ўсимликларни кўпайтиришнинг анъанавий усулларига нисбатан бир қатор афзалликларга эга:

генетик бир хил экиш материаллар олиш;

меристема културасидан фойдаланиши орқали ўсимликларни вирусдан ҳоли қилиш;

кўпайтиришнинг юқори коэффиценти (10^5 - 10^6 – ўтли, гулли ўсимликлар учун, 10^4 – 10^5 – бутасимон дарахтлар учун, нинабарглилар учун 10^4);

селекцион жараёни давомийлигини қисқариши;

ўсимликларни ювенил фазадан репродуктив фазага ўтишни тезлашиши;

ананавий усуллар билан кўпайиши қийин бўлган ўсимликларни кўпайтириш мумкинлиги;

бутун йил мобайнида иш олиб бориши мумкинлиги, экиш материаллари ўстириш учун майдонларнинг тежамлилиги.

ўстириш жараёнини автоматлаштириш имконияти.

Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш соҳасида биринчи муваффиқиятга ўтган асрнинг 50 йилларида француз олими Жорж Морел томонидан эришилган. У орхидеянинг-регенерант ўсимлигини олган. Бу вақтда ўсимликларни апикал меристемасини *in vitro* культуралаш техникаси яратилган эди. Тадқиқотчилар бирламчи эксплантлар манбаи сифатида ўтчил ўсимликлардан: чиннигул, хризантема, кунгабоқар, нўхат, маккажўхори, қоқиўт, салатдан фойдаланиб, бу ўсимликларни регенерация

жараёнига ва шаклланишига озиқа муҳитлари таркибининг таъсирини ўргандилар. Ж.Морел ўз тажрибаларида шунингдек, цимбидиум (орхидеялар оиласига мансуб) ўсимлигини ўсаётган учки конуссимон ва икки – уч барг асосига эга қисмини маълум бир шароитда ўстириб сферик сфералар-протокормнинг ҳосил бўлишини кузатган. Шаклланган протокормларни ажратиб, сўнг янги тайёрланган озиқа муҳитда барг примордийлари ва илдиз ҳосил бўлгунга қадар културалаш мумкин эди. Натижада, бу жараённинг хоҳлаганча давом эттириб кўп миқдорда, юқори сифатли, генетик бир хил, вируссиз экиш материаллари олиш мумкин эканлиги аниқланди.

2. Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари:

Клонли микрокўпайтириш жараёнини 4 та босқичга бўлиш мумкин. донор – ўсимлик танлаш, эксплантларни ўсимликдан алоҳида ажратиш ва стерил културада яхши ўсадиганини ажратиб олиш; максимал миқдорда мериклонлар олишга эришилгандан сўнг хусусий микрокўпайтириш; кўпайтирилган ниҳолларнинг илдиз отиши ва тупроқ шароитига кўникишини амалга ошириш, зарур ҳолатда регенерант ўсимликни паст ҳароратда (-2° , -10°C) сақлаш; ўсимликларни иссиқхона шароитида ўстириш ва уларни сотишга ёки далага экишга тайёрлаш.

Клонли микрокўпайтиришнинг бир неча усуллари мавжуд. Турли муаллифлар эксплантларни културалаш шароитлари морфогенез жараёнига таъсири бўйича индивидуал изланишлар ўтказиб, ўстириш шароитининг ўзгаришига жавобан турли морфогенетик реакцияларни кузатишлари натижаси клонли микрокўпайтириш усуллариининг янги классификацияси пайдо бўлишига олиб келди. Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш юзасидан адабиётларда берилган маълумотлардан келиб чиқиб, бу жараённи қуйидаги усуллар ёрдамида амалга ошириш мумкин; ўсимликда мавжуд бўлган меристемани фаоллаштириш (поя апекси, бўшлиқдаги ва тиним давридаги куртаклар); адвентив куртакларни бевосита эксплант тўқималарида пайдо бўлишини индукциялаш; соматик эмбриогенез индукцияси; бирламчи ва қайта кўчириб ўтказилган каллус тўқималаридаги адвентив куртакларни дифференцияланиши.

Ўсимликларни клонли микроўпайтиришда қўлланиладиган асосий усул, бу ўсимликда мавжуд бўлган меристемаларни ривожланишини апикал доминантликни тўхтатилиши ҳисобига фаоллаштиришдир.

Бунга икки хил йўл билан эришиш мумкин: а) пояни учки меристемаси олиб ташланади ва новда *in vitro* гормонсиз муҳитда микроқаламчаланари; б) озиқа муҳитига цитокинин типи таъсирга эга моддалар қўшиш орқали кўплаб ички бўшлиқдан чиққан новдаларнинг ривожланиши индуцирланади.

3. Соғломлаштирилган, вирусдан ҳоли экиш материаллари олиш.

Вирус билан зарарланган ўсимликларнинг меристема тўқималари вирусдан ҳоли эканлиги биринчи бўлиб Чунг (1938) ва П.Р.Уайт (1943) томонидан аниқланган, XX асрнинг 50 йилларда георгина ўсимлигини ўсиш нуқтасидан вируссиз ўсимлик олиш бўйича биринчи муваффақиятли тажриба амалга оширилди. Бу усул муаллифлари Ж.Морель ва С.Мартинларнинг тахминича, касалланган ўсимликларда вируслар тарқалиши бўйича тез ўсаётган ёш органлардан орқада қолади, айниқса дифференцияланмаган ёш тўқималарда вируснинг миқдори йўқ даражада бўлади. Бу усул асосига қўйилган назарий концепция сабаби кейинги вақтларда аниқлана бошлади.

Амалиётда қўлланиладиган ҳолатида структуравий асос бўлиб, ўсимлик ўсиш нуқтаси тузилишининг спецификаси хизмат қилади; унинг апикал меристема деб аталувчи дисталь қисми турли ўсимликларда турлича ўлчамга эга бўлиб, ўртача 200 мкм диаметрга ва 20-150 мкм узунликка эга бўлади. Дифференцияланаётган меристемани хужайраларни пастроқ қатламида ўтказувчи система боғламларини пайдо қилувчи прокамбий ҳосил қилади. Маълумки, клонли микроўпайтиришдаги муваффақият меристема эксплантини ўлчамига боғлиқ, барг асослари ва поя тўқималари қанча катта бўлса, морфогенез жараёни шунча енгил кечади ва нормал пробирка ўсимлиги ҳосил бўлиши билан тугайди. Шу билан биргаликда, вирус зарраларидан ҳоли зона турли вируслар учун турличадир. Бу ўсимликнинг турлари ва навларига билан боғлиқ. Донли экинлар колеоптилида, масалан, ўтказувчи найлардан ҳоли учки қисмининг ўлчами 250 мкм га етиши, мумкин. Апикал меристемани бундай ўзига хос тузилиши ўтказувчи тизимлар орқали вирусларни тез ташилишини истисно қилади, лекин плазмодезма орқали бириктирувчи меристема хужайраларига секин тарқалиш имкониятига йўл қўяди. Картошкани 200 мкм ўлчамдаги апикал меристемасини озиқа муҳитда културалаш ва кейинчалик регенерант ўсимлик олишда аниқланишича, олинган ўсимликлардан фақат 10 % гина Х- вирусдан, аммо 70 % У-вирусдан ҳоли экан.

4.Ўсимликларни клонли микрокўпайтиришга генетик физиологик гормонал ва физик омиллар таъсири. Клонли микрокўпайтириш усуллари яратишда албатта, генетик, физиологик, гормонал ва физик омилларнинг таъсирини ҳисобга олиш зарур. Маълум бир турнинг клони учун ишлаб чиқилган усул, ҳар доим ҳам шу турнинг бошқа вакиллари ёки бошқа турдаги ўсимликларни кўпайтиришда қўлланилмаслиги мумкин. Микрокўпайтиришга генотип, бошланғич ўсимликни ёши, ажратилган мавсуми, шунингдек бирламчи эксплантни ўлчаши таъсир кўрсатади. Гормонал таъсирлардан цитокинин ва ауксинларни нисбати, озика муҳитни минерал моддалар, витаминлар, сахароза бўйича таркиби, физик омиллардан эса муҳит консистенсияси (суяқ ёки агарланганлиги), кислоталилиги, ёритиш шароити, шунингдек, ҳарорат режими ва ҳавонинг намлиги таъсир кўрсатади.

5.Химер хайвонлар яратиш усуллари. Хужайраларни культуралаш - *in vitro* шароитида прокариот ва эукариотларнинг алоҳида хужайралари сунъий равишда назорат қилинаётган шароитда ўстиришдир. Қўйилган масадга қараб хайвон хужайраларини культуралашни иккита йўналишга бўлиш мумкин.:

-*хужайралар культураси;*

- *орган ва тўқималар культураси (органлар культураси).*

Структурани ташкилланишидан махрум бўлган хужайралар культураси гистиотипик архитектурани йўқотади, махсус шароит бўлмаганда мукамал ҳолатга кела олмайди. Культураларда хужайралар кўпайиб, катта миқдорда хужайралар массасини олиш имконини беради, сўнг мақсадга қараб ишлатилади.

Хужайралар культураси тарихи. XX асрда физиолог С.Рингер натрий, калий, кальций ва магний хлориднинг тузли эритмасини яратиб, унда хайвонларнинг юрагини организмдан ташқарида ишлаб туришига эришди. 1885 йилда Вильгельм РУ товук эмбрионини суяк илигини бир қисмини илиқ физ эритмада бир неча кун ушлаб турди. Росс Гранвилл Харрисон 1907 –1910 йилларда тўқималарни культуралаш бўйича олган натижаларини эълон қилди. 1910 йилда Пейтон Раус, жўжа саркомасини хужайралар культураси билан иш олиб бориб, соғлом хайвонларда шишларни ҳосил бўлишини индуцирлади. Кейинроқ онкоген вирусларни кашф этди. Хужайраларни культуралаш усули 1954-1950 йилларда вирусологиядаги изланишлар ҳисобига ривожлана бошлади.

6.Хайвон хужайралар культуралашнинг асосий тамойиллари ва улардан фойдаланиш. Хужайраларни ажратиш

Организмдан ташқарида культуралаш учун хужайралар бир неча хил усуллар билан олинади. Хужайралар қондан ажратилиши мумкин, лекин фақат лейкоцитлар культурада ўсиш хусусиятига эга. Юмшоқ тўқималардан кўп ядроли хужайралар хужайра матриксини парчаловчи ферментлар коллагеназа,

трипсин, проназа лар ёрдамида ажратилиши мумкин. Бундан ташқари озика мухити юзасида тўқима бўлақларини ҳам ўстириш мумкин. Объектдан олинган хужайралар культураси бирламчи хужайралар дейилади. Кўпчилик бирламчи хужайралардан фойдаланиш муддати чекланган. Маълум миқдорда бўлингандан сўнг бўлиниш тўхтади ва хаёт фаолиятини тўхтатади.

Хужайраларни культуралаш

Хужайралар махсус озика мухитларда, доимий хароратда ўстирилади, сут эмизувчилар хужайралари учун инкубатордаги хужайралар бўлинишини амалга ошириш учун махсус хаво мухити зарур. Хаводаги углекислота ва сув буғлари концентрацияси бошқарилади. Турли хужайралар культураси учун озика мухити турлича бўлиб, улар рН, глюкоза миқдори ва ўсиш факторлари таркиби билан фарқ қилади. Ўсиш факторлари озика мухитига қон зардоби билан бирга қўшилади. Хужайраларни культуралашда стерилликга қатъий эътибор бериш зарур. Хужайраларни суспензия ёки адгезив ҳолатларда ўстириш мумкин. Баъзи хужайралар масалан қон хужайралари озика мухитида муаллақ ҳолатда мавжуд бўлади. Адгезив хужайраларни ўстириш учун юза зарур бўлиб, масалан хужайралар тўқимаси ёки хужайрадан ташқари матрикс элементлари билан қопланган пластик зарур бўлади. Кўпчилик юмшоқ ва қаттиқ тўқималар хужайралари адгезивли бўлади. Адгезив типдаги культурадан органотипик хужайралар культураси ажратилади.

Хужайраларни ўстиришнинг ўзига хослиги

Хужайралар культурада ўстирилганда доимий бўлиниши натижасида культурада миқдори ортиб кетиши мумкин. Натижада қуйидаги муаммолар келиб чиқиши мумкин:

Озика мухитида хужайралар ажратган махсулотла, токсинларнинг тўпланиши.

Культурада хаёт фаолиятини тўхтатган ўлик хужайраларни тўпланиши.

Хужайраларнинг кўп миқдорда кўпайиши натижасида хужайра цикли, бўлиниши, ўсиши секинлашади, хужайралар ўсиши секинлашди ва ўлади

Хужайралар культурасининг нормал функцияланиши учун мунтазам равишда озика мухитини алмаштириб туриш зарур бўлади. Культуранинг микроорганизмлар билан ифлосланишини олидини олиш учун антибиотиклар қўшилади.

Хайвон хужайралар культурасидан фойдаланиш. Хужайралар культурасидан саноат асосида ферментлар, гаромлар, моноклонал антителолар, интерлейкинлар, лимфокинлар, ракга қарши препаратлар олинади. Кўпчилик оддий оқсилларни бактериялар культураларидан олиш мумкин бўлса ҳам мураккаб оқсиллардан масалан гликопротеинлар ҳозирги кунда фақат хайвон хужайраларидан олинади. Улардан бири эритропоэтин гормони шундай муҳим оқсиллардан бири ҳисобланади. Сут эмизувчилар хужайралар культурасини ўстириш анча кўп маблағ талаб қилгани учун ҳозирги кунда мураккаб оқсилларни ишлаб чиқаришда хашоротлар ёки юксак ўсимликлар хужайралар культурасидан фойдаланишни тақозо этади.

Хайвон хужайраларни дурагайлаш. Усул тарихи. Соматик хужайраларнинг бир-бирлари билан қўшилиши хақидаги фикрлар XIX асрнинг бошларида кўп ядроли хужайралар очилиши муносабати билан айтилган эди. Соматик хужайраларнинг дурагайларини 1960 йилда Барский шогирдлари билан биргаликда дурагай хужайралар тизимларини ажратганлиги хақидаги маълумотларни чоп этилди. Дурагай хужайралар сичқон саркомасидан ажратилган битта хужайрадан ажратилган иккита тизимни аралаштириш орқали олинган. Бошланғич тизимлар хромосомалар морфологияси ва сони билан ҳамда уларни сичқонларга юборилганда шиш ҳосил қилиш хусусияти билан фарқ қилган. Дурагай хужайралар бошланғич тизимлардан хромосомалар сони билан фарқ қилади, шунингдек иккиала ота-она хужайраларнинг юза антигенларини тутади. Турли турларга мансуб хайвонларнинг хужайраларидан дурагай хужайралар олиш мумкинлиги исботланди. Пролиферацияланиш хусусиятига эга бўлган турлараро дурагайларни ўрганиш натижасида иккита мухим кузатишлар амалга оширилди:

- дурагайларда иккала геном ҳам юзага чиқиши мумкин;
- узок яшовчи турлараро дурагайларда бир турнинг хромосомаси наслдан наслга берилади.

Хужайраларнинг қўшилишини стимуллаш шарт эмас. Бу жараён *in vivo* даги каби *in vitro* шароитида ҳам махсус агентлар қўшилмасдан амалга ошиши мумкин. Бундай турдаги хужайраларнинг қўшилиши тасодифий равишда юзага келади, улардан баъзилари онтогенез жараёнида эволюциядан дастурланган холда амалга ошади. Хужайра ичидаги мембраналар қўшилиши мумкин, лекин хужайрани чегаралаб турувчи мембраналарнинг қўшилиши hozirgi кунга қадар ечимини топмаган муаммолардан бири хисобланади

Шу билан бирга нормал хужайралар табиий шароитда камдан кам холларда бир-бирлари билан қўшилишиб кетади. Бундан уруғланиш жараёни мустасно.

Сут эмизувчиларнинг хужайралари табиий шароитда қўшилиши мумкин. Масалан, мускул трубкаларининг шаклланишида хужайралар қўшилиши, поликарионлар – бир ядроли миобластларнинг қўшилишидан ҳосил бўлади. Шиш хужайраларнинг қўшилиши одатий хол бўлиб, шиш хужайралари *in vivo* шароитида хатто нормал хужайралар билан ҳам қўшилиши мумкин. *in vitro* шароитида хужайраларнинг спонтан қўшилиши бўйича тажрибалар ўтказилганда тўқималарида турли генотиплар хужайрасини тутувчи “химер” ёки аллофен хайвонлар олинган.

7.Химер хайвонлар яратиш усуллари

1. **Агрегацион-** бу усулда хомиладор урғочи хайвоннинг бачадонидан 8та бластомер босқичидаги муртак олинади. Турли генотипга эга бўлган иккита хайвондан олинган бластомерлар махсус шароитда агрегацияланиб 16та хужайрали муртак ҳосил қилади. бундай таркибдаги муртаклар *in vitro* бластоциста босқичига ривожлантирилади, ёлғон хомиладорлик белгисини махсус гормонлар таъсир эттирилган урғочи хайвоннинг бачадонига юборилади. Натижада аллофен хайвонлар пайдо бўлади.

2. **Инъекцион** - бу усулда бластоциста босқичидаги эмбрионлардан фойдаланилади. Бластоцисталарнинг хужайра ичи массасига микроманипуляторлар ёрдамида бошқа организмдан олинган реципиент бластоцел юборилади.

Инъекция усули турлар аро химерлар олишда кенг қўлланилади. Биринчи турлараро химерлар бир-бирлари билан чатишмайдиган *M. musculus* и *M. Caroli* турларига мансуб сичқонлардан олинган. Лекин улар икки хафталик муддатда нобуд бўлган.

1973 йили Р. Гарднер ва М. Джонсон томонидан сичқон ва каламушнинг химер хайвони олинган. 1980 йилларда кишлоқ хўжалик хайвонларини химер хайвонларини олишга ҳаракат қилишган. Икки хил турга мансуб бўлган бузоқларнинг химер авлодини агрегацион усули ёрдамида олишга муяссар бўлишган. 1984 йилда қўй ва эчкининг иккала усулни қўллаш орқали бир вақтнинг ўзида Англия ва Германияда олинган. Химер хайвонлар генетик мозаикасини авлоддан авлодга бермайди. Лекин биринчи авлодда сут ва гўштга бўлган махсулдорлиги сақлаб қолинади.

Соматик хужайралар гибридизацияси. Усул асосида хужайралар қўшилиши ётади, натижада иккала ота-онанинг ядросини тутувчи гетерокарионлар ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган гетерокарионлардан иккита бир ядроли дурагай хужайралар ривожланади. 1965 йилда англя олими Г.Харрис биринчи бўлиб инсон ва сичқон хужайраларидан ҳосил бўлган гетерокарионларни олди. Бундай сунъий дурагайлашни бир-биридан узоқ бўлган турларга мансуб бўлган соматик хужайралардан олиш мумкин. Хатто ўсимлик инсон ва хайвон хужайралари дурагайларини ҳам олиш мумкин. Бу усул ёрдамида моноклонал антителолар олиш учун гибридомалар яратилган.

Хайвонот олами учун спермани музлатилган ҳолда узоқ вақт сақлаш, сунъий уруғлантириш усуллариининг яратилиши катта аҳамиятга эга бўлди. Ген ва хужайра муҳандислиги усуллари ёрдамида *in vitro* шароитида сут эмизувчиларни сунъий уруғлантириш ва етарли даражада риводланишнинг бошланғич даражасида бўлган муртақларни етарли миқдорда олиш мумкин. Хайвонларни генетик яхшилаш эмбрионларни трансплантациялаш ва микроманипуляция усуллари(бир тухум хужайрали эгизаклар олиш, эмбрионларни турлараро кўчириб ўтказиш, химерлар олиш)нинг яратилиши билан боғлиқ бўлди. 1996 йилда шотландияда инсон оқсили гени киритилган бешта кўзичоқлар олинди.

Гибридома нормал хужайранинг шишлар билан қўшилишидан ҳосил бўлган хужайра. Махсус оқсил масалан, антитела (нормал хужайрага хос) синтез қилиш ва чекланмаган ўсиш хусусиятига эга бўлган хужайралар. Гибридомалар синтез қиладиган моноклонал антителолар биология ва тиббиётнинг турли соҳаларида қўлланилади. Хозирги кунда бошқа оқсилларни масалан, қоннинг ивйтиш омилларини, гармонларни синтез қилувчи гибридомалар олиш бўйича илмий ишлар олиб борилмоқда.

Ўз – ўзини назорат қилиш учун саволлар.

1. Клонли микроўпайтириш усули анъанавий усулларига нисбатан қандай афзалликларга эга?
2. Ўсимликларни клонли микроўпайтириш тарихи ҳақида маълумот берин
3. Ўсимликларни клонли микроўпайтириш қандай босқичлар ва усуллардан иборат?
4. Соғломлаштирилган, вирусдан ҳоли экиш материаллари қандай олинади?
5. Ўсимликларни клонли микроўпайтиришга қандай генетик физиологик гормонал ва физик омиллар таъсир этади?
6. Химер хайвонлар яратишнинг қандай усуллари бор?
7. Хайвон хужайралардан қандай мақсадларда фойдаланилади?

Тавсия этиладиган адабиётлар руйхати

1. Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти, 2010
2. Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология Учеб. пособие для вузов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2000. -420 с.
3. Ашмарин И. Молекулярная биология. Ленинград 1977. – 366 с.
4. Бекер М.Е., Лиепиныш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.
5. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./Под. ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова. М.: Высшая школа, 1997. – 228 с.
6. Волова Г. Биотехнология. Изд-во отделения Российской Академии наук. 1999. – 252 с.
7. Шевелуха В.С. ва бошқ. Сельскохозяйственная биотехнология. М.1999
8. Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молекулярное клонирование Москва. Мир. 1984. 4771

1. www.molbio.ru
2. www.biotech.com
3. www.ziyonet.uz

АДАБИЁТЛАР

1. Артикова Р.М., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси Тошкент “Фан ва технология” нашриёти
2. Биотехнология растений: культура клеток / Под ред. Р.Г.Бутенко. М.: Агропромиздат, 1989
3. Большой практикум по генетике микроорганизмов. В.М. Глачер,
4. Маннатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молекулярное клонирование. М., Мир, 1984, с 107-117, 135.
5. Клонирование ДНК. Методы. Москва, Мир 198
6. Катаева Н. В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений / В.П. Момот ва бошқ. Киев. 1988.
7. Шевелуха В.С. ва бошқ. Сельскохозяйственная биотехнология. М.1999.
8. Бекер М.Е., Лиепиньш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: Агропромиздат, 1990. – 284 с.
9. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./Под. ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова. М.: Высшая школа, 1997. – 228
10. Волова Г. Биотехнология. Изд-во отделения Российской Академии наук. 1999. – 252 с.
11. Маннатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молекулярное клонирование Москва. Мир. 1984. 477
1. www.molbio.ru
2. www.biotech.com
3. www.ziyonet.uz

МУСТАҚИЛ ИШ МАВЗУЛАРИ

1. Ўсимликларнинг хосилдорлигини оширишда ген ва хужайралар муҳандислигининг аҳамияти.
2. ДНК нуклеотидлари кетма-кетлигини аниқлаш усуллари
3. Трансгенез назарияси ва унинг аҳамияти
4. Генлар экспрессиясининг биокимёвий бошқарилиши
5. Хужайралар селекциясида биотехнологиянинг аҳамияти.
6. Ўсимлик хужайраларини культуралашнинг иқтисодий аҳамияти.
7. Ўсимлик тўқималаридан фойдаланиб иккиламчи метаболитлар синтезини амалга ошириш.
7. Ўсимлик хужайра ва тўқималарида иккиламчи метаболитларнинг тўпланишига таъсир этувчи омиллар.
10. Ўсимликлар ресурслари генофондини сақлаб қолишда биотехнология.
11. Ўсимлик хужайралари культураларидан фойдаланиш истиқболлари.
12. Генофондни сақлаш усуллари.

ГОЛОССАРИЙ

Агар-агар-баъзи денгиз ўсимликларидан олинадиган маҳсулот; унинг энг муҳим таркибий қисми углеводлар қаторига киради, у совуқ сувга солинганида бўқади, қайноқ сувда батамом эрийди, эритмаси совиганда таъмсиз ва ҳидсиз, тиниқ, ивиқ чўкма ҳосил бўлади. Бу маҳсулот микроорганизмларга қаттиқ озиқа муҳити тайёрлашда, кандолатчиликда ширинликлар тайёрлашда ишлатилади. Турлари: ўт (сафро) суюқлиги ва бинафша ранг агар; жўхори уни қайнатмасидаги агар; пиво аталасидаги агар; ачитқи замбуруғли экстрактли агар; сув пептонли агар; глицеринли агар; узум шакарли агар; дезоксихолли агар; лактозали дезоксихолли агар; декстрозали агар; желатинали агар; сафроли агар; картошка ва қонли агар; крахмалли агар; қонли агар; лактоза-лакмусли агар маннитли агар; сут-пептонли агар; сийдикли агар; юмшоқ агар-микробларни икки қатламли озуқа муҳитида ундиришга ишлатиладиган агарнинг устки қатлами; гўшт-пептонли агар; озуқали агар; ярим суюқ агар; оддий агар; балиқ-желатинали агар; шакарли агар; кўрғошин-сиркали агар; қийшайтирилган агар; пиво аталали агар; зардобли агар; фенолфталеинли агар; фуксинли агар; тухум оксидидаги агар; тухум сарифидаги агар.

Агароза-денгиз сувўтларидан олинадиган полисахарид; электрофорез ва хроматографияда гелли муҳит сифатида фойдаланилади.

Агрегация-айрим организм ёки ҳужайраларнинг тўпланиши, ғуж бўлиб қолиши.

Адаптация-мослашиш-организмларнинг эволюция жараёнида юзага келган яшаш шароитига мослашуви.

Адвентив куртаклар-ўсимликлардаги куртаклар, улар одатда пайдо қилмайдиган ҳужайра ва тўқималардан ҳосил бўлади.

Аденилланиш- йўли билан ферментлар фаоллиги ўзгаришининг бир тури.

Аденин - (аминопурин)-азотли органик бирикма бўлиб, аденин нуклеотиди таркибига киради.

Азотобактер-эркин ҳолда яшаб, ҳаводан азот тўпловчи бактериялар тури.

Акропетал транспорт-ўсимликда моддаларнинг поя апикал меристемаси йўналиши бўйича ташилиши.

Амплификация-хромосома ДНК кетма-кетлигининг кўшимча нусхасининг ҳосил бўлиши.

Анаэроблар-кислородсиз муҳитда модда алмашилиши ва кўпайишини давом эттира оладиган микроорганизмлар; фақат анаэроб шароитда ўсадиган микроорганизмлар; факультатив анаэроблар кислородли ёки кислородсиз шароитда ўса оладиган микроорганизмлар.

Антагонист-рақиб-микроорганизмлар ҳаётини тўхтатувчи ёки бутунлай барбод қилувчи бошқа бир микроорганизм.

Антибиотиклар-микроорганизмлар ҳаёт фаолияти давомида ҳосил бўладиган кимёвий моддалар; жуда оз миқдори ҳам бошқа микроорганизмларга заҳарли таъсир этади. Антибиотиклар сони ҳозирда 2000 дан ортиб кетган бўлиб, уларнинг синтезланишида замбуруғлар (аспергиллар), шўъласимон

замбуруғлар ва бошқа микроорганизмлар хизмат қилади; антибиотиклар ишлаб чиқаришнинг *Penicillium*, *Cephalosporium* ва *Streptomyces* авлодларига мансуб турларида ишлаб чиқариладиган пенициллинлар-асосий тижорат антибиотиклар ҳисобланади;

Антигенлар-иммун тизимда антителалар ҳосил бўлишини индуцирловчи, антитела пайдо бўлишига таъсир этувчи специфик ҳамкорлик қилувчи оқсиллар.

Антитела-иммун тизим томонида ёки патоген агентлар; оқсилларни (антигенлар) йўқотувчи таъсирга эга оқсиллар.

Апикал доминантлик-апикал меристемадаги гормонлар ёрдамида ён навдаларнинг юқори меристемаси куртаклари ўсишини тўхтатилиши.

Аттрагирлаш хусусияти-стимулятор фитогармонларнинг озиқа моддаларни ўсувчи органга катта миқдорда ташилишини фаоллаш хусусияти.

Ауксотроф мутантлар-жинсий бўлмаган хромосомалар тўплами (1, 2, 3, ва ҳоказо сонлар билан белгиланади).

Базал-асосий, асосгатегишли; асосида ёки унинг тагида жойлашган-базал таначалар-эукариотик жониворлар (оддий жониворлар, сувўтлар) хивчинларини цитоплазманинг ташқи қаватига ёпишиб туришига ёрдам берадиган тузилма.

Базипетал транспорт-ўсимликдаги моддаларнинг илдизнинг апикал меристемасига транспорти.

Бактериофаглар-бактерияларни инфекцияловчи вируслар.

Бинар-икки қисмдан иборат; бинарли номенклатура-микроорганизмларда авлод ва тур номи билан аталиши; бинарли бўлиниш-хужайраларнинг кўпайиш вақтида иккига бўлиниши.

Биогенез-тирик организмлар томонидан органик бирикмаларнинг ҳосил бўлиши.

Биомасса- микроорганизмларни ўстирилганида хужайралари массаси ёки тирик организм массаси; фаол биомасса-биологик фаоллик кўрсатувчи масса; куруқ биомасса-организмларнинг куруқ биомассаси. У ҳўл биомассанинг 15-30% ини ташкил этади; ҳўл биомасса-сузиш ёки айлантириш, чўктириш натижасида суюқ озуқа муҳитидан ажратиб олинган хужайра массаси.

Биореактор-биологик реакцияларни амалга оширишга мўлжалланган сифим. Бу атама аэроб ва анаэроб организм хужайраларини ўстириш учун зарур бўлган сифимларда ҳамда хужайра ва ферментларни тўплашда фойдаланадиган найчаларга нисбатан ишлатилади.

Биосинтез-ферментлар таъсирида тирик организмларда оддий бирикмалардан мураккаб органик моддаларнинг ҳосил бўлиши.

Биотехнология-тирик организмлар ёки биологик қонуният ва хусусиятларнинг sanoat миқёсида ишлатилиши ҳақидаги фан йўналиши.

Вектор-генларни клонлашда фойдаланиладиган репликакон. Табиий векторлар-кичик плазмидалар, вируслар ва бактериофаглар. Сунъий векторлар эса ДНК-лигаза ёрдамида ҳар хил манбалардан олинган ДНКни бирлаштириш асосида тузилади; ўрнини олиш вектори-клонлаштирувчи вектор;

ўсимликларда клонлаш вектори-ўсимлик ҳужайрасига бегона ДНКни ўтказиш ва жойлаштириш билан шуғулланадиган ген муҳандислигида ишлатиладиган вектор; плазмида вектори-бегона, ёт ДНКдаги ген ёки бир неча генларни бу хилдаги генлари бўлмаган организмга ўтказиб қўйишида қатнашадиган плазмида.

Вируслар-бирорта тирик организмда ривожланиш қобилиятига эга бўлган, таркибида нуклеин кислоталар, оқсиллар, айримҳолларда липидлар бўлган заррачалар. Вируслар заррачалардан ташкил топган бўлиб, улар нуклеин кислоталар ва оқсиллар пўстлоқли ҳолда бўлади. Вируслар 1892 йилда Д. И. Ивановский томонидан очилган бўлиб, 1889 йилда “вирус” атамаси М. Бейеринк томонидан таклиф этилган. Вирус ҳамма тирик организмларда касаллик қўзғатади ва ҳамма ерда тарқалган.

Гаплоид-бир организм турига хос бўлган бутун тўпламининг ярми, хромосомалар тўпламининг билан характерланувчи ядро, ҳужайра, организм.

Ген – генетик ахборотларнинг ягона структураси муайян регулятор функция, бир ёки бир неча полипептид занжирлар, ёки РНК молекуласи структурасини кодирловчи хромосома қисми (ДНК молекуласи).

Ген муҳандислиги – усуллар ва технологиялар; рекомбинант рибонуклеин ва дезоксирибонуклеин кислоталар олиш технологияси, организмлардан генларни ажратиш, улар билан турли манипуляциялар ўтказиш ва уларни бошқа организмларга киритиш технологиялари.

Генетик код (ГК) – нуклеин кислоталар изчиллиги кўринишидаги нуклеин кислоталари молекулаларида наслий ахборотнинг ёзма тизими. ГК бирлиги бўлиб кодон ёки триплет хизмат қилади. ГК синтезланаётган полипептид занжирига аминокислоталарнинг бирикиш тартибини аниқлайди.

Нуклеин кислоталари молекулаларида кетма-кетлик кўринишида “ёзилган” ирсий ахборотнинг тирик организмларга хос ягона тизими. Генетик коднинг бирлиги кодондир.

Генетик модификацияланган трансген организмлар (ГМО) – ген – муҳандислиги усуллари ёрдамида геномига бегона генларни киритилиши орқали ирсияти ўзгарган ўсимлик, ҳайвон, микроорганизм ва вируслар.

Генетик ҳавф-инсонлар ҳаёти ва соғлиги, атроф-муҳит учун ҳавфли бўлган кутилмаган ирсий ўзгаришларнинг геномда пайдо бўлиши ва организмлар сифатининг ўзгариши.

Генлар библиотекаси-бутун геномни тутувчи клонланган ДНК фрагментлари тўплами.

Генлар экспрессияси – генда рибонуклеин кислота, оқсил ва фенотипик хусусиятлар шаклида ёзилган генетик ахборотларнинг юзага чиқиши.

Геном-мазкур организм протоплазмаси органеллаларида жойлашган хромосомалардан ташқари генларини тутувчи генлар йиғиндиси. Диплоид ҳолатдаги турлар гаметасида биттадан, соматик ҳужайраларда эса иккитадан геном бўлади.

Генотерапия-реципиент геномига бегона генларни киритиш ёки биологик объект тўқималарида генетик соғлом соматик ҳужайраларни олиш ёрдамида наслий касалликларини даволаш.

Генотип-асос генларининг тўплами. Ирсий асос–организмларнинг генетик (ирсий) конституциясининг ва унинг барча генларининг мажмуи.

Генофонд-организм турлари ёки популяциясидаги ҳар хил генлар турларининг сони ва тарихи.

Гетерозис – бир-биридан катор хусусиятлар ва белгилари билан фарқланувчи бошланғич шаклларни чатиштириш натижасида пайдо бўлган биринчи авлод дурагайлариининг яшаш қобилиятининг ошиши.

Гибрид-дурагай-генетик жиҳатдан ҳар хил бўлган турларни чатиштириш натижасида ҳосил бўлган гетерозигота жинси. Ота-она ирсий белгиларини ўзида мужассамлаштирган организм.

Гиногенез – муртак халтаси ҳужайраларидан ўсимлик пайдо бўлиш жараёни.

Гифлар-ипчалар-замбуруғ танасини ташкил этувчи бир ёки бир неча ҳужайрадан ҳосил бўлган, микроскопда аранг кўриш мумкин бўлган иплар.

Гормон рецептор комплекс-гормон ва оқсил рецепторининг бирикиши, гормон таъсири амалга ошишининг биринчи босқичи.

Гормон статуси – онтогенезда ўсимлик ва ҳайвон гормон тизимининг умумий ҳолати, эндоген ва экзоген таъсирларга нисбатан ҳосил бўлиш жараёнларида гормонлар миқдори ва улар орасидаги нисбати, ҳаракати, фойдаланилиш ва инактивацияси.

Деструкция – моддаларнинг парчаланиш орқали физиологик фаоллигини йўқотиши.

Дидифференция - ихтисослашган, бўлинмайдиган ҳужайраларнинг дифференцияланмасдан бўлинаётган каллус ҳужайраларига айланиш.

Диплоид – мазкур турга хос сонларни кўрсатувчи гомологик хромосомаларнинг иккита тўплами билан характерланувчи ядро, ҳужайра ва организм.

Диплоидлаш – хромосома тўпламини икки марта кўпайтирувчи модель. Хромосомаларнинг диплоид тўплами (автодигаплоид) ота ёки она хромосомаларини тутувчи иккита гаплоид хромосомалар тўплами.

Дифференциялаш – асосий ва янги ҳосил бўлган ҳужайралар орасида, шунингдек янги ҳосил бўлган ҳужайралар орасида фарқ юзага келтирувчи жараёнлар комплекси.

ДНК – дезоксирибонуклеин кислоталар молекуласи, нуклеотидлар (аденин, гуанин, цитозин, тимин), дезоксирибоза ва фосфор кислота қолдиқларидан ташкил топган.

ДНК репликацияси – ферментлар тўплами (ДНК полимераза, лигаза ва бошқалар) ёрдамида ДНК нусхасини ҳосил қилиш орқали унинг молекулаларини иккиланиши (икки марта кўпайиши).

Ёпиқ тизим – ташқи муҳит билан фақат энергия орқали алмашинувчи тизим.

Ёпишқоқ учлар-комплементлар ҳолдаги ДНК молекуласининг битта ипли учи бўлиб, эндонуклеазалар ёрдамида кесиб олинади.

Жинсий жараён – эркак (спермия) ва урғочи (тухум хужайра) жинсий хужайраларининг қўшилиш, натижада диплоид хужайра (зигота) ҳосил бўлади ва асоснинг жинси белгиланади.

Жинсий хромосомалар – асоснинг жинсини белгиловчи хромосомалар (X, Y, W, Z ва бошқа ҳарфлар билан белгиланади).

Затравка – ДНКнинг битта занжири билан комплементар ҳамкорлик қилувчи қисқа изчиллик (кўпинча РНК); эркин 3 – ОН – уч ҳосил қилиб, у асосида ДНК-полимераза дезоксирибонуклеотид занжир синтез қила бошлайди.

Идентификация - айнан ўхшатиш, тенглаштириш-модда ёки микроорганизмлар тури ва хилларини аниқлашга қаратилган тадқиқотлар тури.

Иммобилизация (тўплаш) – мембраналарда хужайра, ферментларни тўплашда фойдаланиладиган физик ва кимёвий жараён.

Инвертирланган такрорий изчилликлар – Бир молекула таркибидаги бир-бирига қарама –қарши томонларда жойлашган бир хил изчилликнинг иккита нусхаси. Бир-бирларига ёнма-ён жойлашган инвертирланган такрорий изчилликлар палиндром ҳосил қилади.

Ингибитор-тўхтатувчи-ферментлар, фаоллигини тўхтатувчи табиий ёки синтетик модда (сунъий олинган).

Индуктор-репрессор билан қўшилиб, уни оператор билан қўшилиш хусусиятини йўқотадиган, нофаол ҳолатга ўтказадиган паст молекулали модда.

Индукция-фермент синтези, фаглар ривожланиши ва мутацияга ўхшаган биологик жараённи ҳаракатга тушириш.

Инициация-молекуляр биологиядаги трансляция жараёнининг биринчи босқичи.

Инкубация-ўстириш-маълум шароитда, ҳароратда микробларни ушлаб туриш, ўстириш.

Инокулят-кўпайтириш усули-тирик организмлар, масалан, микроорганизмлар суспензияси озуқа муҳитга ўтказилгандан кейин янги авлод беради.

Интрон – геннинг транскрибцияланаётган “сукунат сақловчи” процессинг жараёнида РНК молекулалари ажралиб чиқаётган ва кодонлар мавжуд бўлмаган қисми.

Иссиқлик шоки оксиллари (ИШО) - ҳароратнинг нормадан ошишига организм томонидан ҳосил бўладиган оксиллар.

Клон – битта хужайра ёки молекуладан олинган хужайра ва молекулалар йиғиндиси.

Клонлаш – популяцияларнинг органлари билан генетик бир хил хужайралар олиш.

Клонли микрокўпайтириш – in vitro жинссиз усул ёрдамида бошланғич ўсимлик билан генетик бир хил ўсимликлар

Кодон – муайян аминокислоталар ёки комплементар терминацияловчи сигнални кодирловчи нуклеотидлар триплети.

Компетенция – хужайра, тўқима, орган ва организмнинг индуцирловчи таъсирларни қабул қилиши ва унга ривожланишини ўзгартириш орқали специфик таъсирланиш.

Комплементар занжир – РНК ва унга ҳамкорлик учун мос келадиган нуклеотидларни синтезлан учун фойдаланиладиган ДНК занжирларидан бири.

Лигаза-ДНК занжиридаги узилган қисмни фосфодиэфирбоғ ҳосил қилиш ёрдамида бирлаштирувчи фермент.

Лигирлаш – ДНКнинг бир занжирдаги узилиш орқали ажралган асослар орасидаги фосфодиэфир боғларининг ҳосил бўлиши. Бу ибора тўмтоқ учларни бириктириш ҳолларида ва РНК боғлар ҳосил бўлишида ҳам қўлланилади.

Лизис-эриб кетиш, парчаланиш-ферментлар, кислоталар ва ишқорлар таъсирида хужайраларнинг парчаланиши; бактерия хужайрасида бактериофагларнинг кўпайиши натижасида унинг эриб кетиши.

Маркер (ДНК) –электрофорез гелида фрагментлар ўлчамини аниқлашда фойдаланиладиган маълум ўлчамдаги ДНК фрагменти.

Маркер ген – жойлашган жойи аниқланган ва аниқ фенотипик кўринишга эга ген.

Матрица. 1) маълум бир тана (шакл) бўлиб, унга қараб янги шаклнинг ҳосил бўлиши; 2) (молекулали биологияда) ДНК ва РНК ипларини комплементлар синтезланиши учун асос сифатида хизмат қиладиган ва нуклеин кислоталардаги азот асосларининг кетлиги.

Маҳсулдорлик жараёни – моддалар ҳосил бўлиши ва метаболизмнинг ўсимликда бир вақтда кечаётган физиологик, биокимёвий, биофизик ва бошқа жараёнларнинг йиғиндиси, донор-акцептор муносабатлар ва генетик назорат асосида ўсимликларнинг ҳўжалик аҳамияти қимматли органларининг шаклланиши, иккиламчи алмашинишни таъминланиши.

Мейоз – хромосомалар сонини редукциясига ва генлар рекомбинациясига олиб келувчи жинсий хужайраларнинг бўлиниш жараёни.

Меристема – фаол бўлинаётган дифференцияланмаган хужайралардан иборат тўқималар.

Метаболизм- оралик алмашиниш, яъни моддаларнинг хужайра ичига тушган вақтидан охириги маҳсулотлар ҳосил бўлгунга қадар айланиши; катаболизм ва анаболизм жараёни йиғиндиси; қоронғуликда кечадиган метаболизм-микроорганизмларнинг (қирмизи бактериялар *Rhodospirillum*) қоронғида аэроб ҳолда ўсиш хусусияти. Бу хусусият бактерияларда нафас олиш занжирининг керакли қисмлари борлигидан далолат беради.

Метаболитлар-метаболизм жараёнида ҳосил бўладиган моддалар.

Микориза-юқори ўсимликлар илдизи билан замбуруғ ипчаларининг бирга яшаши.

Микроорганизмлар уюшмаси-ҳар доим бирга учрайдиган ва бир-бири билан боғлиқ ҳолда яшайдиган микроорганизмлар бирлашмаси.

Микрофлора-ҳар хил турдаги микроорганизмларнинг маълум яшаш муҳитидаги тўплами; автохтон микрофлораси; сув микрофлораси; ҳаво микрофлораси; балчиқ микрофлораси; одатдаги микрофлора; организм

микрофлораси; кўшимча микрофлора; тупроқ микрофлораси; ризосфера микрофлораси.

Митоз – эукариот соматик ҳужайраларнинг бўлиниш жараёни.

Мицеллий-замбуруғ тана-замбуруғ, жумладан шўъласимон замбуруғларнинг ўсадиган танаси бўлиб, бир ва кўп ҳужайрали ипчалар (гиф)дан иборат.

Модификация-микроорганизмларнинг фенотипик ўзгариши, яъни ҳужайранинг генетик аппаратларига алоқадор бўлмаган ўзгаришлар.

Морфогенез – орган (органогенез), тўқима(гистогенез) ва ҳужайраларнинг (цитогенез ёки ҳужайраларнинг дифференцияланиши) шаклланиш жараёни. Организмларнинг ривожланиши жараёнида тизимларнинг табақаланиши.

Мутагенез-мутагенез ўзгаришнинг (мутагенезнинг) рўй бериши-организмда ирсий ўзгаришлар-мутацияларнинг вужудга келиш жараёни. Бу жараён асосида ирсий ахборотни сақловчи ва наслга ўтказувчи нуклеин кислоталар молекуласининг ўзгариши ётади.

Мутагенлар – ДНК молекуласида мутацияларнинг пайдо бўлиш частоталарини оширувчи омил. Ирсиятни ўзгартирувчилар-мутациялар ҳосил қилувчи физикавий ва кимёвий омиллар;

Мутация – ген, хромосомадаги нуклеотид изчиллик, геномнинг бирорта белгининг ўзгаришига ва уларнинг авлодларда сақланишига олиб келувчи спонтан ва индуцирланган ўзгариши.

Нишон - ҳужайра– у ёки бу фитогармон рецепторини тутувчи ва фитогармоннинг концентрацияси ўзгарганда метаболизмни ўзгартирувчи ҳужайра.

Нозерн-блот-РНК бўлакчаларини геллардан элюиция қилишда ишлатилади.

Нуклеин кислоталар – турли нуклеотидлар қолдиқларидан ташкил топган юқори молекуляр табиий бирикмалар (полимерлар). Ҳужайра мағзининг асосини ташкил қилади. Нуклеин кислоталарнинг икки тури: РНК, ДНК ҳужайраларнинг доимий компонентларидир.

Оперон – генетик регулятор структуранинг бирлиги, таркибида битта ёки бир нечта ўзаро бириккан структура, оперон ва регулятор қисмлар генларини туттади.

Органогенез – уюшмасдан ўсаётган каллус ҳужайраларида органлар (илдиз, бошланғич барглар ва ниҳоллар) ҳосил бўлиш жараёни.

Очиқ тизим – ташқи муҳит билан энергия ва моддалар билан алмашинадиган тизим.

Партеногенез – асоснинг фақат она ҳужайра генлари иштирокида ривожланиши.

Плазида – автоном репликацияланишга қодир, таркибида реципиентларнинг бегона генларини ва бошқа ДНК изчиллигини тутиш ва геномга киритиш хусусиятига эга, икки занжирли ҳалқасимон ДНК плазмид вектори асоси.

Полиадениллаш – полиаденил кислота изчиллигининг эукариот РНК 3-учига унинг синтези тугаганидан сўнг бирикиши.

Полиплоидия – организм гаплоид хромосомалар йиғиндисининг каррали ортиши билан боғлиқ бўлган ирсий ўзгарувчанлик.

Пролиферация – хужайра ва тўқималарнинг кўпайиш йўли билан ҳосил бўлиши.

Промотор– геннинг транскрипцияси бошланиши учун жавобгар қисми.

Пронуклеус – уруғланган тухум хужайра ядроси.

Протон помпаси – махсус оқсиллар ёрдамида протонларнинг хужайра мембранаси орқали ўтиш жараёни.

Протопласт – механик йўл билан ёки ферментлар ёрдамида хужайралар қобиғидан маҳрум қилинган, мембрана ёрдамида шаклини ушлаб турувчи ўсимлик хужайраси.

Профаг – бактерия хромосомасига ўрнашган фаг геноми. Лизоген бактериялардан яширинган, юқмайдиган шаклдаги мўътадил бактериофаг.

Процессинг- этилиш жараёни бўлиб, унда бирламчи РНК- транскрипт модификацияси учрайди ва этилган РНКга айланади.

Регенерация-хужайралар тикланиши.

Рекомбинант ген – турли генлар компонентларидан таркиб топган ген.

Рекомбинант ДНК-турли манбалардан олинган ДНК қисмларидан иборат ДНК.

Рекомбинация-кроссинговер натижасида ота-оналар генларининг қайта гуруҳланиши(табақаланиши).

Репарация-ДНКнинг синтези вақтида ҳамда ҳар хил физик ва кимёвий омиллар таъсирида ДНК молекуласи узилиб қолган ёки шикастланган молекулаларни тузатишга бўлган хужайраларнинг махсус вазифаси.

Репрессия-ген экспрессиясини ва ёхуд ўшанга тааллуқли фермент синтезини тўхтатиш механизми.

Репрессор-маълум оперонда РНК синтезини тўхтатадиган бошқарувчи оқсил.

Рестриктазалар - кесувчи ферментлар, рестрикция ферментлари, ДНКни маълум бир нуклеотидлар қаторида кесадиган ферментлар. Ген муҳандислигида қўлланиладиган восита.

Ривожланиш детерминацияси – бошқа йўналишлардаги ривожланиш имкониятининг чеклаш билан бир вақтда борадиган организм, орган, тўқима ва хужайранинг муайян йўл билан ривожланишга тайёргарлик ҳолати. Детерминация даврида ривожланишнинг янги йўналиши учун ички зарурий шароитлар яратилади.

Ривожланишнинг ювенил фазаси – уруғ ёки вегетатив куртақдан вегетатив органларнинг репродуктив органлар ҳосил қилишга қобилятини намоён бўлишига қадар ўсиши ва ривожланиши.

Ризосфера-илдиз атрофидаги тупроқнинг микрофлораси-микроорганизмларнинг кўплиги билан фарқланадиган 2-3 мм қалинликдаги илдиз атрофида жойлашган тупроқ қатлами.

РНК – таркибига нуклеотидлар (аденин, гуанин, цитозин, урацил), рибоза ва фосфор кислотаси қолдиқлари кирувчи рибонуклеин кислота молекуласи.

РНК блоттинги - РНКни агарозали гелдан нитроцеллюлда филтрига комплементар ДНК билан дурагайлаш учун олиниши.

Сайт-ўрин, жойланиш-генлар харитасидаги нуқтали мутация ўрни.

Саузерн бўйича ДНК блоттинги-денатурланган ДНКни комплементар нуклеотид кетма-кетлик билан дурагайлаш учун агарозали гелдан нитроцеллюлда филтрига олиниши.

Сегмент-карж, бўлак.

Секвенирлаш-кетма-кетликни аниқлаш, секвенирлаш-оқсилдаги аминокислота қолдиғини ва нуклеин кислоталардаги нуклеотидларнинг кетма-кетлигини аниқлаш.

Селекция-танлаш-хайвон, ўсимлик ва микроорганизмларнинг янги зотлари, навлари ва штаммларини яратиш усули.

Синергизм – моддалар, жараёнлар ва бошқа омилларнинг ҳамкорликдаги таъсирини оширувчи самара.

Скрининг-битта ҳужайрадан клон олиш йўли билан микроорганизмларнинг аралаш популяциясидан керагини ажратиш.

Сомаклонал вариабеллик – култураланган соматик ҳужайралардан регенерацияланган ўсимликлардаги хусусиятларнинг ўзгариб туриши.

Сомаклонлар – бошланғич шаклларида муайян фарқлар билан фарқланувчи соматик ҳужайралардан олинган регерант ўсимликлар.

Соматик дурагай – соматик ҳужайралар қўшилиши (дурагайланиши) орқали олинган регерант ўсимлик.

Соматик дурагайлаш – жинсий жараёндан ташқарида ядро ва органеллалар генлари ва хромасомаларни генетик рекомбинацияга чақириш жараёни.

Соматик эмбриогенез – ҳужайра ва тўқималар културасида муртаксимон структуралар (эмбрионидлар) ҳосил бўлиш жараёни.

Стимуляторлар -ўсимликларнинг ўсишини кучайтирувчи омил-ўсимликларнинг ўсишини, ҳужайраларнинг бўлинишини тезлаштирадиган, кучайтирувчи моддалар.Улар табиий ёки синтетик ҳолда бўлиши мумкин. Табиийлари ауксинлар, гибберелинлар ва цитокининлар.

Стресс оқсиллар – ноқулай шароитларда организм томонидан синтезланувчи ва стресс омилларнинг организмга зарали таъсирини камайтириш имконини берувчи махсус оқсиллар.

Суббирлик – оқсил молекулаларини ташкил этувчи (тўртламчи структураси) оқсил глобулалари.

Субкултуралаш – трансплантларни (инокулумларни) бошқа културал идишга янги озиқа муҳитига ўтказиш.

Субстрат-озуқа муҳит-микроорганизмларнинг ўсиши учун керак бўлган озуқа муҳити.

Термодинамик тизим – энергияни ютиш, қайта ҳосил қилиш, тўплаш ва фойдаланиш хусусиятига эга ўзаро боғлиқ элементлар комплекси.

Тотипотентлик – муайян ўстириш шароитида ўсимликлар соматик ҳужайраларининг ўзининг онтогоник ривожланиши ирсий дастурини тўлиқ амалга ошириш.

Трансгеноз – турли векторлар ёрдамида донор, бегона генларни реципиент ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар ҳужайрасига киритиш жараёни. Трансдукцияга мойил фаглар ёрдамида генетик ахборотни бактерия ҳужайрасидан эукариотлар ҳужайрасига сунъий йўл билан ўтказиш.

Трансдукция-бактериофаглар ёрдамида генетик материални донор ҳужайрадан реципиент ҳужайрага олиб ўтиш.

Транскрипция – РНК полимераза ферменти ёрдамида ДНК матричасида РНК-нусхасининг ҳосил бўлиши.

Трансляция – ахборот, транспорт РНКси ва бошқа омиллар иштирокида рибосомаларда оқсиллар синтези.

Трансплант (инокулюм) – каллус (супензияли) културасининг бошқа янги озиқ муҳитига кўчириб ўтказишда фойдаланиладиган қисми.

Транспозонлар-ДНКнинг бир бўлаги бўлиб, молекула ичида бир жойдан иккинчи жойга ва бир молекуладан иккинчисига ўтишга қодир.

Трансформация-алоҳида ажратилган ДНК ёрдамида ҳужайрага генетик ахборотни киритиш. Трансформация ёрдамида олинган ҳужайрада ва ундан кейинги авлодларда янги белгилар ДНК ёрдамида олинган манбадагига ўхшаган бўлади.

Урацил-РНК таркибига кирадиган пиримидин асоси.

Ўсимликларни гормон тизими – фитогормонлар, уларнинг рецепторлари ваиккиламчи воситачиларидан иборат регулятор комплекс.

Фаглар-микроорганизмлар ичига кириб, унда кўпайиб, кейин уларни эритиб юбуровчи вируслар.

Фаоллаштириш-1) фаолликни кўзгатиш ва кучайтириш; **2)** молекулалар фаоллигини кўзгатиб кимёвий реакцияга киришни тезлатиш.

Фенотип-организмларнинг ривожланиши жараёнида юзага келган ҳамма белги ва хусусиятлар йиғиндиси.

Ферментер-айрим хомашёларни микроорганизмлар ёрдамида бижғитиш учун ишлатиладиган ҳамма томони берк асбоб.

Ферментлар-биологик тезлаткичлар,энзимлар-оқсилнинг ўзига хос тури; тирик ҳужайраларда ҳам тезлаткич ролини бажаради.

Фитоалексинлар – ўсимликларнинг касалликларга қарши чидамлик тизимининг патогенлар ривожланишини пасайтирувчи генотипик ва реал компонентлари.

Фитогормонлар биосинтези йўллариининг ажралиши – ташқи шароит комплекси билан аниқланган бир неча фитогармонлар учун асос бўлган ораликдан у ёки бу фитогармоннинг бир неча фитогармонларнинг ферментатив биосинтези йўли.

Фиторегуляторлар – ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишига таъсир этувчи, ўғитлар ва гербицидлар таъсирига эга бўлмаган табиий ва сунъий препаратлар.

Фосфоробактерин-фосфор органик бирикмаларни парчалаш хусусиятига эга бўлган бактериялардан ташкил топган бактерияли ўғит.

Фотосинтез-ёруғлик энергияси иштирокида ўсимликлар, сувўтлари ва айрим бактериялар ҳужайраларида CO_2 дан органик моддалар ҳосил бўлиш жараёни.

Фрагментлар-парчалар, қисмлар.

Хемосинтез-айрим микроорганизмларга хос бўлган озикланиш тури. Улар айрим анорганик моддалар (масалан, водород сульфат)ни оксидланиш натижасида ҳосил бўлиб, энергия ҳисобига анорганик моддалардан (масалан, кўмир кислотаси ва сув) органик моддалар ҳосил бўлади.

Хромосомалар – ДНК ва оқсиллардан иборат ҳужайра ядросини генетик структура ҳосиласи. Хромосомаларда организмнинг ирсий ахбороти берилган.

Ҳужайралар селекцияси – селектив шароитлар ёрдамида генетик модификацияланган мутант ҳужайралар ва сомоклонал вариантлар ажратиш усули.

Центрифуга-ажраткич, чўктиргич-марказдан қочиш кучига асосланган турли хил аралашмаларни қисмларга ажратувчи асбоб;аналитик (лаборатория) ажраткич; тебранувчи ажраткич; горизонтал ажраткич; буғлантирувчи ажраткич; чўктирувчи ажраткич; тиндирувчи ажраткич; препаратив ажраткич; ўз-ўзини бўшатадиган ажраткич; сузиш йўли билан ишлайдиган ажраткич; кўп бўлимли ажраткич; ўта тез айланадиган ажраткич; табақалаштирувчи, тафовутли ажраткич.

Цитозин-ДНК ва РНК таркибида бўлган пиримидин асоси.

Эксплант – озиқа муҳитида инкубация қилинаётган тўқима ёки орган, ёки каллус тўқимаси олиш учун фойдаланиладиган фрагментлар.

Электропорация – ҳужайра мембранасида қўшимча тешикларни ҳосил қилишга ёрдам берувчи электр токи ёрдамида ҳужайрага генларни киритиш усули.

Электрофорез-электр майдони ёрдамида аралашмаларнинг бир жойдан иккинчи жойга ўтиши, бўлакларга ажратиш.

Эндонуклеазалар-фосфодиэфир боғларининг ўзига хос бўлмаган парчаланиши орқали нуклеин кислоталарини парчаловчи ферментлар. ДНКни пурин ёки пиримидин қисмларидан кесувчи ферментлар.

In vitro – тирик материални пробиркада сунъий озиқа муҳитларда стерил шароитда ўстириш.

In vivo – тирик материални табиий шароитда ўстириш.