

**БУХОРО ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ПЕДАГОГ
КАДРЛАРНИ ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ
МАЛАКАСИНИ ОШИРИШ МИНТАҚАВИЙ МАРКАЗИ**

БИОИНФОРМАТИКА

2021

**Гуламов М.И. биология фанлари доктори,
профессор**



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

**БУХОРО ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ПЕДАГОГ
КАДРЛАРНИ ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ
ОШИРИШ МИНТАҚАВИЙ МАРКАЗИ**

“БИОИНФОРМАТИКА”

МОДУЛИ БЎЙИЧА

ЎҚУВ-УСЛУБИЙ МАЖМУА

Биология

Модулнинг ўқув-услубий мажмуаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2020 йил 7 декабрдаги 648-сонли буйруғи билан тасдиқланган ўқув дастури ва ўқув режасига мувофиқ ишлаб чиқилган.

Тузувчи: **М.И.Гуламов** биология фанлари доктори, профессор.

Тақризчи: **С.Х.Умаров** физика-математика фанлари доктори, профессор.

**Ўқув -услубий мажмуа Бухоро давлат университети Илмий
Кенгашининг қарори билан нашрга тавсия қилинган
(2020 йил “30” декабрдаги 9-сонли баённома)**

МУНДАРИЖА

I. ИШЧИ ДАСТУР	5
II. МОДУЛНИ ЎҚИТИШДА ФОЙДАЛАНИЛАДИГАН ИНТЕРФАОЛ ТАЪЛИМ МЕТОДЛАРИ	12
III. НАЗАРИЙ МАТЕРИАЛЛАР	16
IV. АМАЛИЙ МАШҒУЛОТ МАТЕРИАЛЛАРИ	59
V. ГЛОССАРИЙ	69
VI. АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ	76

I. ИШЧИ ДАСТУР

Кириш

Дастур Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2015 йил 12 июндаги “Олий таълим муассасаларининг раҳбар ва педагог кадрларини қайта тайёрлаш ва малакасини ошириш тизимини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПФ-4732-сонли, 2017 йил 7 февралдаги “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги ПФ-4947-сонли Фармонлари, шунингдек 2017 йил 20 апрелдаги “Олий таълим тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ–2909-сонли қарорида белгиланган устивор вазифалар мазмунидан келиб чиққан ҳолда тузилган бўлиб, у замонавий талаблар асосида қайта тайёрлаш ва малака ошириш жараёнларининг мазмунини такомиллаштириш ҳамда олий таълим муассасалари педагог кадрларининг касбий компетентлигини мунтазам ошириб боришни мақсад қилади.

Жамият тараққиёти нафақат мамлакат иқтисодий салоҳиятининг юксаклиги билан, балки бу салоҳият ҳар бир инсоннинг камол топиши ва уйғун ривожланишига қанчалик йўналтирилганлиги, инновацияларни тадбиқ этилганлиги билан ҳам ўлчанади. Демак, таълим тизими самарадорлигини ошириш, педагогларни замонавий билим ҳамда амалий кўникма ва малакалар билан қуроллантириш, чет эл илғор тажрибаларини ўрганиш ва таълим амалиётига тадбиқ этиш бугунги куннинг долзарб вазифасидир. “Биоинформатика” модули айнан мана шу йўналишдаги масалаларни ҳал этишга қаратилган.

Ушбу дастурда турли организмлар геномларининг, хусусан, одам, ҳайвон, микроорганизмлар ҳамда ўсимликлар геномлари структурасининг шиддат билан секвенирланиши (ДНК кетма-кетликларининг аниқланиши) ва геномни таҳрирлаш технологиялари натижасида юзага келган янги, замонавий биоинформатика фани, унинг аҳамияти, долзарблиги, масад ва вазифалари ҳақида тушунчалар баён этилган.

Модулнинг мақсади ва вазифалари

Биоинформатика модулининг мақсади ва вазифалари:

- педагог кадрларни қайта тайёрлаш ва малака ошириш курси тингловчиларида молекуляр биология, биохимия, генетика, вирусология ва шунингдек биополимерлар тузилишини башорат қилиш имконини берувчи геномика ва протеомика маълумотлари компьютер таҳлилларининг алгоритмларини ва дастурларини ишлаб чиқиш бўйича кўп сонли тадқиқотлар натижаларини ҳисоблаш методологияси ёрдамида таҳлил қилишга йўналтирилган фан – биоинформатика ҳақида тасаввурни шакллантиришдан иборат. Шунингдек тингловчиларга дунё олимлари томонидан тирик организмлар геномларининг секвенирланиши натижасида генларнинг структура ва функцияларини ўрганиш бўйича олиб борилаётган биоинформатик илмий тадқиқотлар, биоинформатика методларидан фойдаланиб яратилаётган янги биотехнологик усуллар ва уларнинг қонуниятлари ҳамда принциплари тўғрисида билим бериш кўзда тутилади. Фан қишлоқ ва халқ хўжалиги амалиётларда генетика муаммоларини ечишда қўлланиладиган биоинформатика усуллари ва ютуқларини ёритиб беради.

Модул бўйича тингловчиларнинг билими, кўникмаси, малакаси ва компетенцияларига қўйиладиган талаблар

“Биоинформатика” курсини ўзлаштириш жараёнида амалга ошириладиган масалалар доирасида:

Тингловчи:

- биологик терминлар ва уларнинг инглизча номланиши;
- амалий математика, ахборот технологиялари ва дастурлаш асослари;
- нуклеин кислота ва оқсиллар кимёси ҳамда физикаси;
- прокариот ва эукариот организмлар ген элементларининг асосий тузилиши, улар геноми ўртасидаги фарқлар ҳақида билимларга эга бўлиши;

Тингловчи:

- биоинформатика соҳасидаги муаммолар, энг сўнгги ютуқлар ва янги

ишланмалар;

- биоинформатика асоси ва дастурлашнинг турли усуллари ҳамда соҳадаги муаммоларни бартараф этиш учун қўлланиладиган янги дастурлар;
- янги авлод секвенирлаш технологиялари иш принциплари бўйича **кўникма ва малакаларини эгаллаши;**

Тингловчи:

- геномлар, оқсиллар ва бошқа биологик ахборотлар бўйича маълумотлар базасида жайлаштирилган ахборотлардан оқилона фойдалана олиш;
- олинган натижаларни экспериментал ва статистик таҳлил қила олиш;
- Мавжуд ихтисослаштирилган биоинформацион сайтларни модификация қила олиш ва янгиларини ярата олиш **компетенцияларни эгаллаши лозим.**

Модулни ташкил этиш ва ўтказиш бўйича тавсиялар

“Биоинформатика” курси маъруза ва амалий машғулотлар шаклида олиб борилади. Курсни ўқитиш жараёнида таълимнинг замонавий методлари, педагогик технологиялар ва ахборот-коммуникация технологиялари қўлланилиши назарда тутилган:

- маъруза дарсларида замонавий компьютер технологиялари ёрдамида презентацион ва электрон-дидактик технологиялардан;

- ўтказиладиган амалий машғулотларда техник воситалардан, экспресс-сўровлар, тест сўровлари, ақлий ҳужум, гуруҳли фикрлаш, кичик гуруҳлар билан ишлаш, коллоквиум ўтказиш, ва бошқа интерфаол таълим усуллари қўллаш назарда тутилади.

Модулнинг ўқув режадаги бошқа модуллар билан боғлиқлиги ва узвийлиги

“Биоинформатика” фани биохимия, молекуляр биология, генетикадаги асосий билим ва тасаввурларга таяниб, молекуляр-биологик тадқиқотларда амалий математика, статистика ва информатика усулларидан фойдаланади. Фан юзасидан тайёргарлик – биологик муҳим ахборотни олиш мақсадида биологик макромолекулалар тузилиши бўйича экспериментал маълумотларни таҳлил қилиш учун компьютер технологияларидан назарий

ва амалий билим ва кўникмалар олиш имкониятини беради. Фан биологик объектлар билан боғлиқ бўлган математик алгоритмларни амалга оширади, физик-кимёвий биология, геномика ва протеомиканинг экспериментал ва ҳисоблаш маълумотларини қўллайди. Шу боис тингловчилар уни тўлиқ ўзлаштиришлари учун тирик мавжудотларни ўрганувчи умумбиологик фанлар: ботаника, зоология, биокимё, физиология, биофизика, ирсият қонуниятларини, генетика, молекуляр генетика, микробиология шунингдек, организмларни атроф муҳит билан ўзаро муносабатларни ўрганувчи экология, тирик организмни ички ва ташқи тузилишини ўрганувчи анатомия ва морфология фанлари билан биргаликда табиий фанлар: кимё, физика, математика ва замонавий компьютер техникаси замонавий услублар ёрдамида организмларда содир бўладиган мураккаб жараёнларни умумлаштириш учун етарли билим ва кўникмаларга эга бўлиши талаб этилади.

Модулнинг олий таълимдаги ўрни

Республикамизнинг иқтисодиёти фундаментал фанларнинг ривожланишига ва унинг ютуқларига ҳам боғлиқ. Ҳозирги замон биологиясининг кескин равишда ривожланувчи соҳаси бу геномика фанидир. Геномика соҳасини эса биоинформатика фанисиз тасаввур қилиб бўлмайди. Биоинформатика фани молекуляр биология, генетика, соғлиқни сақлаш, фармакология, биохимия ҳамда хужайра биологияси каби қишлоқ ва халқ хўжалиги соҳаларидаги муаммоларни ечишда муҳим аҳамият касб этади. Шу сабабли ҳам ушбу модулни ўзлаштириш орқали тингловчилар замонавий биоинформатика фанини амалда қўллаш ва генетика соҳасидаги мавжуд муаммоларни баҳолашга доир касбий компетентликка эга бўладилар.

Модул бўйича соатлар тақсимоти

№	Модул мавзулари	Аудитория ўқув юкلامаси			Кўчма машғулот
		Жами	жумладан		
			Назари й	Амалий машғул от	
1.	Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи.	2	2		
2.	Биоинформатикани предмети, вазифалари ва объектлари.	2	2		
3.	Геномни тахрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари.	2	2		
4.	Геном муҳандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши.	2		2	
5	Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базаси ресурслари билан танишиш.	2		2	
6	Геном маълумотлар базаси ресурслари билан танишиш.	2		2	
7	Кўчма машғулот: Бухоро давлат тиббиёт институниги “Сунъий интелект” лабораторияси билан танишиш.	4			4
Жами:		16	6	6	4

НАЗАРИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАЗМУНИ

1 - Мавзу: Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи.

Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи. Унинг предмети, вазифалари ва объектлари. Замонавий биологик тадқиқотларда биоинформатиканинг аҳамияти.

2 - Мавзу: Геномни тахрирлаш технологияларига асос солиниши.

Биоинформатика ривожланиш босқичлари ва ютуқлари. Ген

онтологияси. Геномни таҳрирлаш технологияларига асос солиниши. Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари.

3 - Мавзу: Геномни таҳрирлашнинг авлод технологиялари.

Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR. Геном муҳандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши.

АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАЗМУНИ

1-амалий машғулот:

Геном муҳандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши

Ҳозирги замон информацион восита ва технологиялар ёрдамида генетик кетма-кетликларни алгоритмини яратиш ва уларни анализига доир мисолларни қараб чиқиш.

2-амалий машғулот:

Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базаси ресурслари билан танишиш

Нуклеотидларни кетма кетликлар маълумотлар базаси: EMBL, DDBJ, NCBI, UniGene, STACK, EMBL-SVA билан танишиш ва уларга доир мисоллар анализи.

3 – амалий машғулот:

Геном маълумотлар базаси ресурслари билан танишиш.

Геном маълумотлар базаси Genomes Server, Proteome Analysis, Ensembl билан танишиш ва уларга доир мисоллар анализи.

МУСТАҚИЛ ТАЪЛИМ

Тингловчи мустақил ишни модулни хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда куйидаги шакллардан фойдаланиб тайёрлаши тавсия этилади:

- ўқув, илмий адабиётлардан ва меъёрий хужжатлардан фойдаланиш асосида

модул мавзуларини ўрганиш;

- тарқатма материаллар бўйича маърузалар қисмини ўзлаштириш;
- автоматлаштирилган ўргатувчи ва назорат қилувчи дастурлар билан ишлаш;
- махсус адабиётлар бўйича модул бўлимлари ёки мавзулари устида ишлаш;
- тингловчининг касбий фаолияти билан боғлиқ бўлган модул бўлимлари ва мавзуларни чуқур ўрганиш;
- фанга оид статистик маълумотларни ўрганиш, уларни таҳлил қилиш.

ЎҚИТИШ ШАКЛЛАРИ

Мазкур модул бўйича қуйидаги ўқитиш шаклларидан фойдаланилади:

- маърузалар, амалий машғулотлар (маълумотлар ва технологияларни англаб олиш, ақлий қизиқишни ривожлантириш, назарий билимларни мустаҳкамлаш);
- давра суҳбатлари (кўрилаётган лойиҳа ечимлари бўйича таклиф бериш қобилиятини ошириш, эшитиш, идрок қилиш ва мантиқий хулосалар чиқариш);
- баҳс ва мунозаралар (лойиҳалар ечими бўйича далиллар ва асосли аргументларни тақдим қилиш, эшитиш ва муаммолар ечимини топиш қобилиятини ривожлантириш).

II. МОДУЛНИ ЎҚИТИШДА ФОЙДАЛАНИЛАДИГАН ИНТЕРФАОЛ ТАЪЛИМ МЕТОДЛАРИ

«Хулосалаш» (Резюме, Веер) методи.

Методнинг мақсади: Бу метод мураккаб, кўптармоқли, мумкин қадар, муаммоли характеридаги мавзуларни ўрганишга қаратилган. Методнинг моҳияти шундан иборатки, бунда мавзунинг турли тармоқлари бўйича бир хил ахборот берилади ва айна пайтда, уларнинг ҳар бири алоҳида аспектларда муҳокама этилади. Масалан, муаммо ижобий ва салбий томонлари, афзаллик, фазилат ва камчиликлари, фойда ва зарарлари бўйича ўрганилади. Бу интерфаол метод танқидий, таҳлилий, аниқ мантикий фикрлашни муваффақиятли ривожлантиришга ҳамда ўқувчиларнинг мустақил ғоялари, фикрларини ёзма ва оғзаки шаклда тизимли баён этиш, ҳимоя қилишга имконият яратади. “Хулосалаш” методидан маъруза машғулотларида индивидуал ва жуфтликлардаги иш шаклида, амалий ва семинар машғулотларида кичик гуруҳлардаги иш шаклида мавзу юзасидан билимларни мустаҳкамлаш, таҳлили қилиш ва таққослаш мақсадида фойдаланиш мумкин.

Методни амалга ошириш тартиби:

тренер-ўқитувчи иштирокчиларни 5-6 кишидан иборат кичик гуруҳларга ажратади;

тренинг мақсади, шартлари ва тартиби билан иштирокчиларни таништиргач, ҳар бир гуруҳга умумий муаммони таҳлил қилиниши зарур бўлган қисмлари туширилган тарқатма материалларни тарқатади;

ҳар бир гуруҳ ўзига берилган муаммони атрофлича таҳлил қилиб, ўз мулоҳазаларини тавсияэтилаётган схема бўйича тарқатмага ёзма баён қилади;

навбатдаги босқичда барча гуруҳлар ўз тақдимотларини ўтказадилар. Шундан сўнг, тренер томонидан таҳлиллар умумлаштирилади, зарурий ахборотлар билан тўлдирилади ва мавзу якунланади.

Намуна:

Геном таҳрирлаш технологиясининг қўлланилиши					
Одам организмида		Ҳайвон организмида		Ўсимлик организмида	
афзаллиги	камчилиги	афзаллиги	камчилиги	афзаллиги	камчилиги
Хулоса:					

“Ассисмент” методи.

Методнинг мақсади: мазкур метод таълим олувчиларнинг билим даражасини баҳолаш, назорат қилиш, ўзлаштириш кўрсаткичи ва амалий кўникмаларини текширишга йўналтирилган. Мазкур техника орқали таълим олувчиларнинг билиш фаолияти турли йўналишлар (тест, амалий кўникмалар, муаммоли вазиятлар машқи, қиёсий таҳлил, симптомларни аниқлаш) бўйича ташҳис қилинади ва баҳоланади.

Методни амалга ошириш тартиби:

“Ассисмент” лардан маъруза машғулотларида тингловчиларнинг мавжуд билим даражасини ўрганишда, янги маълумотларни баён қилишда, семинар, амалий машғулотларда эса мавзу ёки маълумотларни ўзлаштириш даражасини баҳолаш, шунингдек, ўз-ўзини баҳолаш мақсадида индивидуал шаклда фойдаланиш тавсия этилади. Шунингдек, ўқитувчининг ижодий ёндашуви ҳамда ўқув мақсадларидан келиб чиқиб, ассесментга қўшимча топшириқларни киритиш мумкин.

“Тушунчалар таҳлили” методи

Методнинг мақсади: мазкур метод тингловчилар ёки қатнашчиларни мавзу бўйича таянч тушунчаларни ўзлаштириш даражасини аниқлаш, ўз билимларини мустақил равишда текшириш, баҳолаш, шунингдек, янги мавзу бўйича дастлабки билимлар даражасини ташҳис қилиш мақсадида қўлланилади.

Методни амалга ошириш тартиби:

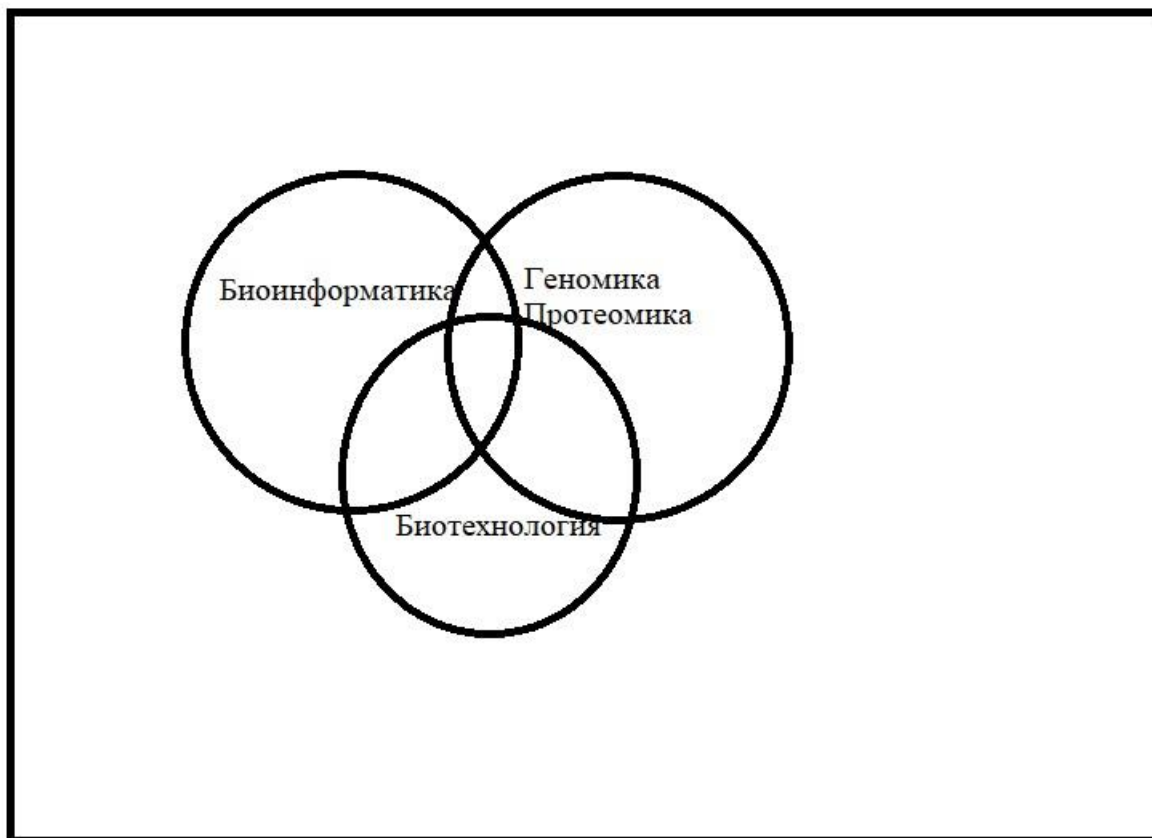
- иштирокчилар машғулот қоидалари билан таништирилади;
- тингловчиларга мавзуга ёки бобга тегишли бўлган сўзлар, тушунчалар номи туширилган тарқатмалар берилади (индивидуал ёки гуруҳли тартибда);

- тингловчилар мазкур тушунчалар қандай маъно англатиши, қачон, қандай ҳолатларда қўлланилиши ҳақида ёзма маълумот берадилар;
- белгиланган вақт якунига етгач ўқитувчи берилган тушунчаларнинг тўғри ва тўлиқ изоҳини ўқиб эшиттиради ёки слайд орқали намойиш этади;
- ҳар бир иштирокчи берилган тугри жавоблар билан ўзининг шахсий муносабатини таққослайди, фарқларини аниқлайди ва ўз билим даражасини текшириб, баҳолайди.

Тушунчалар	Сизнингча бу тушунча қандай маънони англатади?	Қўшимча маълумот
Геном	Геном – бу хужайрадаги барча ДНК лар йиғинди сидир.	
Секвенслаш	ДНК ва РНК молекула ларининг нуклеотид кет ма-кетлигини аниқлаш.	
Ген	Ген - классик генетика да - организмнинг маъ лум бир хусусияти ёки функцияси тўғрисида маълумот олиб боради ган ва ирсиятнинг тар кибий ва функционал бирлиги бўлган ирсий омилдир.	
TALEN	Транскрипцияни фаоллаш тирувчиларга ўхшаш эффек тор нуклеазалар.	
CRISPR	Мунтазам бир-биридан бир хил узокликда жой лашган қисқа палиндромик грухлар ни такрорланиши.	
Ген онтологияси	Ген Онтологияси - барча биологик турларнинг генла ри ва ген маҳсулотларини изоҳлаш учун ягона термин ологияни яратишга бағиш ланган биоинформатик лойиҳадир.	
Экспрессия	Намоён бўлиш - муайян ген томонидан аниқланувчи белгининг фенотипда орга низмнинг яшаш шароитига қараб намоён бўлиш дара- жаси.	

Изоҳ: Иккинчи устунчага қатнашчилар томонидан фикр билдирилади. Мазкур тушунчалар ҳақида қўшимча маълумот глоссарийда келтирилган.

Намуна: Биоинформатика тушунчаси ва унинг тарихи. Фан сифатида



III. НАЗАРИЙ МАТЕРИАЛЛАР

Таянч иборалар: *биоинформатика, секвенирлаш, геномика, протеомика, ДНК ва оқсил кетма-кетликлари.*

1.1. Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи.

Информатика фанининг XX асрнинг иккинчи ярмида пайдо бўлган даврдан бошлаб физика-математика, техника, гуманитар ва бошқа фанларга ҳам тадбиқ қилиниши ҳамда улар билан ҳамкорликда ишлаши тобора кенгайиб бормоқда. Ҳозирги кунда информатика фани усуллари четлаб ўтадиган бирон-бир фан соҳасини топиш мушкул. Табиий фанлар ҳам бундан мустасно эмас.

Ўтган асрнинг 60-йиллар охири 70-йиллар бошларида биологияда ЭҲМ (электрон ҳисоблаш машиналари) фаол қўлланила бошланди: шу билан биргаликда уларнинг хотиралари ва операцион тезликлари ошди ва ўлчамлари кичрайтирилди. Шу билан биргаликда биология соҳасида информатсион таҳлилларни талаб этувчи катта миқдордаги экспериментал маълумотлар тўпланиб қолди. Бунга мисол қилиб бир қанча давлат олимлари ҳамкорлигида 2003 йилдаёқ одам геномининг севенирланишини келтириш мумкин.

Шундай қилиб XXI аср бошларига келиб биоинформатика соҳаси жадал суръатда ривожлана бошлади. Бу эса ўз навбатида биологик тадқиқотлар бўйича олинган маълумотларнинг шу қадар кўпайиб кетганлиги ва бунда ҳар бир омилнинг эслаб қолиниши ва таҳлил қилинишида инсон имкониятлари чегараланиб қолганлиги ҳамда тобора кўпайиб бораётган ахборот ҳажмини саҳлаш зарурияти туғилганлиги билан боғланади. Илк кетма-кетликлари аниқланган бир неча юз оқсиллар ҳақида маълумотлар китоб-атлас шаклида нашр қилинганган эди (1-расм). 70 йиллар бошларига келиб аниқланган кетма-кетликлар миқдори шу қадар кўпайдики, уларнинг ҳажми туфайли бу маълумотларни китоб шаклида нашр қилишнинг умуман иложи йўқ эди.

Инсон мияси бундай ахборотларни таҳлил қила олмаслиги ва кетма-

кетликларни таққослаш учун махсус дастурлар керак бўла бошлади.

90-йилларда геномика фани пайдо бўла бошлади. Ҳозирги кунга келиб бир қанча организмлар, жумладан одам, сичқон, товуқ, қурбақа, бир қанча балиқ турлари, чувалчанглар, юзлаб вируслар ва бактериялар ҳамда юзлаб ўсимлик турларининг геном кетма-кетликлари аниқланди. Бактерия геномининг ўқилиши – бу 2-3 тадқиқотчидан ташкил топган гуруҳнинг вақт ҳисобида тахминан 1 йилдан кам муддатга тўғри келадиган вазифасидир. Одам геноми қарийб 3 млрд.га тенг харфлардан иборат бўлиб бу эса 15000 китоб томларига тўғри келади.² Уни “ўқиб чиқиш” эса биологлар учун Менделеевнинг химиклар учун яратилган даврийлик қонунини очиш билан тенглаштирилади.

Шу боисдан ҳам бундай ҳажмдаги биологик маълумотларни таҳлил қилишда компьютер технологиясидан фойдаланила бошланди. Ген кетма-кетликларини тенглаштириш бўйича биринчи алгоритм 1970 йилда яратилди. Компьютерлар ахборотларни виртуал маълумотлар базасида сақлаш ва улар устида юқори тезликда операциялар ўтказиш имконини берди. Биоинформатика ҳам бошқа замонавий фанлар сингари бир қанча фанлар, яъни молекуляр биология, генетика, математика ва компьютер технологиялари фанлари бирлашуви асосида вужудга келди. Унинг асосий вазифаси бу биологик молекулалар, энг аввало нуклеин кислоталар ва оксиллар структура ва функциялари бўйича маълумотларни таҳлил қилиш ва тизимлаштириш учун ҳисоблаш алгоритмларини ишлаб чиқишдир.

ДНК нуклеотид кетма-кетликларини секвенирлашнинг жадал усули ишлаб чиқилгандан сўнг маълумотлар базасида тўпланаётган генетик ахборотлар ҳажми юқори тезлик билан орта бошлади. Информатика, лингвистика ва информация назарияси ютуқлари генетик матнларни таҳлил қилиш имкониятларини очиб берди. Биоинформатиканинг бошқа фан соҳалари билан ўзаро боғлиқ ҳолдаги ривожланиши организм ва хужайрада юз бераётган биологик жараёнларни тушунишнинг янги даражаси шакллантиришга имкон беради.

Агарда биринчи шахсий компьютер 1981 йилда ва интернет (World Wide Web) – 1991 йилда, яъни яқиндагина яратилганлиги ҳисобга олинадиган бўлса, биоинформатика жадаллик билан ривожланаётганига гувоҳ бўлиш мумкин.¹ Биоинформатиканинг асосий принципларидан бири бу дунё олимлари томонидан олиб борилаётган тадқиқот натижаларини бирлаштирувчи ягона дунёвий ахборот маконлари принциpidир. Биоинформатиканинг яралиш тарихи 13 асрларга бориб тақалади. Математика тарихига Фибоначчи (Fibonacci) номи билан кириб келган ёш италян Пизалик Леонардо (Leonardo of Pisa) биологик жараённинг биринчи математик моделини тузган ҳолда кўнларниг кўпайиши тўғрисидаги масалани тавсифлаб берган. XX асрнинг 20 йилларига келиб эса яна бир италян олими Вито Вольтерра (Vito Volterra) “йиртқич-ўлжа” кўринишидаги икки биологик турнинг ўзаро ҳаракати моделини яратди. 40 йиллар охирида биологияга физик ва математиклар кириб кела бошлади. Биологиянинг замонавия тарихи 1953 йилдан, америка олимлари Жеймс Уотсон (James Watson) ҳамда Фрэнсис Крик (Francis Crick) томонидан ДНК нинг кўш спираллиги кашф қилинган даврдан бошланди.

1.2. Биоинформатиканинг предмети, вазифалари ва объектлари.

Бугунги кунга қадар биоинформатикага турлича таърифлар берилади, бироқ асосан биоинформатика деганда турли биологик ахборотларни таҳлил қилишда компьютердан фойдаланиш тушунилади.² Шунингдек «биоинформатика» термини майдони ҳам жуда кенгайди ва биологик объектлар билан боғлиқ барча математик алгоритмлардан ҳамда биологик тадқиқотларда қўлланиладиган ахборот-коммуникация технологияларидан фойдаланади. Биоинформатикада информатикдаги сингари амалий математик, статистика ва бошқа аниқ фанлар усуллари қўлланилади. Биоинформатика шунингдек биокимё, биофизика, экология, генетика ва қатор табиий фанлар соҳаларида фойдаланилади.

Биоинформатика ўз ичига қуйидагиларни олади:

- 1) қиёсий геномикада компьютер таҳлилининг математик усуллари (геном биоинформатикаси);
- 2) оқсил структураларини башорат қилиш учун алгоритм ва дастурларни ишлаб чиқиш (структуравий биоинформатика);
- 3) мувофиқ ҳисоблаш услубиятлари стратегияси тадқиқоти ҳамда информацион мураккабликнинг биологик тизимлар томонидан умумий бошқарилиши.

Амалий маънода биоинформатика – бу биологлар манфаатлари учун хизмат қиладиган амалий фандир. Маълумотларни бирламчи таҳлил қилиш техник биоинформатика соҳасига тегишлидир. Олинган маълумотларни қаердадир сақлаш ва улардан фойдаланиш имкониятларини таъминлаш лозим. Биоинформатикларнинг энг мураккаб ва шунинг билан бирга энг қизиқарли бўлган машғулоти бу геном ҳақидаги маълумотлар асосида аниқ тасдиқланган натижалар олиш, яъни масалан; А оқсил қандайдир функция бажаради, Б гени қайсидир жараёнда қатнашади ва ҳ.о.лар. бу эса биоинформатика фанининг амалий аҳамиятидан далолат беради.

Биоинформатика биология соҳасининг қуйидаги йўналишларида қўлланилади:

- геномика, транскриптомика ва протеомика;
- ривожланиш биологиясида компьютер моделлаштириш;
- ген тармоқларининг компьютер таҳлили;
- популяцион генетикада моделлаштириш.

Биоинформатика дори препаратларини лойиҳалаштириш муддатини 5-6 йилдан бир неча ойларга қисқартиш имкониятини яратиб фармакология соҳасига ҳам осонгина кириб борди. Шунингдек бу фан кўплаб бошқа тиббиётга ва биологияга оид фанлар билан интеграцияланди.

Бугунги кунда биоинформатиканинг қуйидаги бўлимлари мавжуд:

- умумий биоинформатика;
- клиник биоинформатика;
- структуравий геномика;

- функционал геномика;
- фармакогеномика;
- клиник протеомика;
- функционал протеомика;
- структуравий протеомика.

Биоинформатика усуллари ёрдамида катта ҳажмдаги биологик маълумотларни шунчаки таҳлил қилиш эмас, балки ҳар доим ҳам оддий тажрибаларда аниқлаб бўлмайдиган қонуниятларни исботлаш, генлар ва улар кодлайдиган оқсиллар функцияларини башорат қилиш, ҳужайрадаги генларнинг ўзаро таъсири моделини қуриш, дори препаратларини яратиш мумкин.

Phi-X 174 фагининг 1977 йилда секвенирланганидан буён кўплаб организмлар ДНК кетма-кетликлари аниқланди ва маълумотлар базасига жойлаштирилди.¹ Бу маълумотлар оқсил кетма-кетликларини ва регулятор участкаларни аниқлаш учун фойдаланилади. Маълумотлар микдорининг кўпайиши билан энди кетма-кетликларни қўлда (вручную) таҳлил қилиш мумкин бўлмай қолди. Ва ҳозирги кунда миллиардлаб жуфт нуклеотидлардан ташкил топган минглаб организмлар геномлари бўйича қидирувлар олиб бориш учун компьютер дастурларидан фойдаланилади.

Йирик геномлар учун ДНК фрагментларини йиғиш етарли даражада қийин вазифалардан ҳисобланади. Бу усул ҳозирда қарийб барча геномлар учун қўлланилади ва геномларни йиғиш алгоритмлари биоинформатика соҳасида бугунги куннинг долзарб муаммоларидан бири саналади. Геномда генларни ва регулятор элементларни автоматик тарзда қидириш генетик кетма-кетликларга компьютер таҳлилини қўллашда яна бир мисол бўла олади.

Геномика контекстида аннотация – бу ДНК кетма-кетлигида генларни ва бошқа объектларни маркировкалаш (нишонлаш) жараёнидир. Геномлар аннотации биринчи дастурий тизими Оуэн Уайт (Owen White) томонидан 1955 йилдаёқ яратилган эди. Эволюцион биология турларнинг келиб чиқиш

ва пайдо бўлишини, уларнинг даврлар бўйича ривожланишини ўрганади. Информатика эволюцияни ўрганувчи биологларга бир неча жиҳатларда ёрдам беради:

- 1) барча ДНКдаги ўзгаришларни ўрганган ҳолда кўп сонли организмлар эволюцияларини тадқиқ қилишда;
- 2) янада комплекс эволюцион ҳодисаларни ўрганиш имконини берувчи геномларни бир-бирига таққослашда;
- 3) популяциялар компьютер моделларини қуришда;
- 4) кўп миқдордаги турлар ҳақида маълумотни ўз ичига олувчи нашрларни кузатиб боришда.

Экотизимнинг биологик хилма-хилликлари гўёки бу бир томчи сув ёки бир ҳовуч тупроқ, ёки Ер сайёрасининг барча биосфераси каби барча тирик турлардан иборат бўлган маълум бир муҳитнинг тўла генетик йиғиндиси сифатида аниқланиши мумкин. Ихтисослаштирилган дастурий таъминот маҳсулотлари қидириш, визуализация қилиш, ахборотни таҳлил қилиш ва энг муҳими, натижаларни бошқа тадқиқотчилар билан бўлишда фойдаланилади.

Ҳозирги замон илмий биологик адабиётида биоинформатика билан биргаликда “ҳисоблаш биологияси” ибораси ҳам учраб туради. Ҳисоблаш биологияси – бу фан соҳаси эмас, балки биологик жараёнларни ўрганиш учун компьютерлардан фойдаланишга услубий ёндашув ҳисобланади. Гарчи “ҳисоблаш биологияси” кўпроқ алгоритмлар ва аниқ ҳисоблаш усулларини ишлаб чиқишлар билан шуғуллансада ҳозирча “биоинформатика” ва “ҳисоблаш биологияси” ибораларидан тез-тез маънодош (синоним) сўзлар сифатида фойдаланилмоқда. Ҳисоблаш биологиясида фойдаланиладиган барча усуллар яъни, масалан, гарчи биологик вазифалар билан боғлиқ бўлсада математик моделлаштириш – бу биоинформатика ҳисобланмайди.

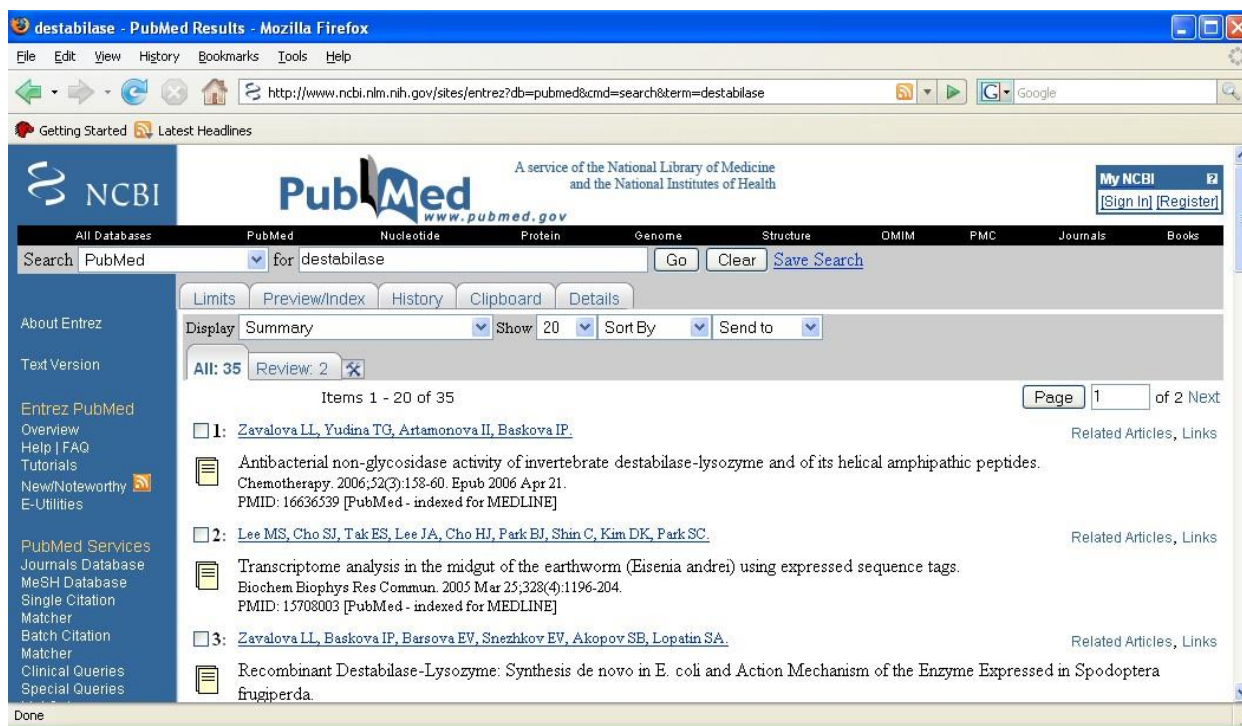
Бундан ташқари математик биология ҳам мавжуд бўлиб, у ҳам биоинформатика сингари биологик муаммоларни ечишда ишлатилади, бироқ унда қўлланиладиган усуллар натижаси сон билан ифодаланмайди ва уларни амалга оширишда дастурий ва жиҳоз таъминоти талаб этилмайди.

Оқсиллар фазовий тузилмаларини башорат қилишда ишлатиладиган алгоритм ва дастурлар ишлаб чиқиш билан шуғулланувчи сруктуравий биоинформатика бошқаларидан ажралиб туради.¹ Шундай қилиб биоинформатика ҳам анатомия, ботаника, вирусология, микробиология, цитология, палеонтология, физиология ва бошқ. каби биология бўлимлари каторига қўшилмоқда.

1.3. Замонавий биологик тадқиқотларда биоинформатиканинг аҳамияти.

Биоинформатика биологиянинг илмий тажрибалари асосида олинган натижаларни таҳлил қилади. Олинган маълумотларни тадқиқотчи маълумотлар базасида мавжуд бўлган барча тўпламлар билан солиштиради. Бордию, у ўзи аниқлаган кетма-кетликни маълумотлар базасидан топа олмаса бунда у бу маълумотни шу жойга киритиб қўяди ва бу билан базани янада бойитади. Маълумотлар базаси функцияларига сақлаш, тизимлаштириш, ахборотларни янгилаб туриш унга кириш ҳуқуқи билан таъминлашлар киради. Бу операциялар эса катта қудратлардаги компьютерларни талаб қилади.

Шунингдек биологик мавзулар мажмуидаги илмий нашриётлар базалари ҳам мавжуд. Биология бўйича исталган илмий журналнинг барча сонларида чиқадиган ҳар бир мақола маълумотлар базасига жойлаштирилади изланувчи уни интернет тармоғи орқали осон топиб олиши учун қисқа таъриф бериб қўйилади (1-расм). Энг катта тиббий-биологик нашрлар on-line кутубхонаси PubMed сўнгги 50 йил мобайнида 27 млн. дан ортиқроқ мақолаларни ўз ичига олади.



1-расм. Тиббий-биологик нашрлар on-line кутубхонаси (PubMed)

Интеграл маълумотлар базаси ва энциклопедиялар конкрет ген, оксил, органим ва ҳ.о. ҳақидаги барча маълумотларни ўзида жамлаш каби муҳим функцияларни амалга оширади. Улар катта миқдордаги бошқа маълумотлар базалари ахборотларини умумлаштиради ва уни ҳамиша янгилаб туради.

Ҳар қандай янгидан ўқилган геном ҳарфларнинг турли хил комбинацияларида такрорланувчи улкан кетма-кетликлар кўринишида намоён бўлади. Биоинформатика бундай хилма-хилликдаги матндан генларни ажратиб олиш имкониятини беради. Геномдан генни ажратиб олиш каби бундай операция геномни белгилаш деб аталади.

Барча генлар функцияларини тажрибалар асосида аниқлаш етарли даражада мураккабликни юзага келтиради. Бу ҳолатда биоинформатика функциялари аллақачон аниқланган генлар билан солиштириб кўришга таянган ҳолда уларни башорат қилишда кўмаклашади. Оксил молекуласида биологик вазифаларнинг ҳар хил турларига жавоб берувчи участкалар мавжуд. Биоинформатика усуллари ёрдамида ушбу участкаларни аниқлаш конкрет бир оксилнинг барча спектр функциясини очиб беради.

Оксил структураларини тажрибалар асосида, яъни масалан оксил молекулаларидан ташкил топган микроскопик кристални рентген нурлари

билан нурлантириш орқали аниқлаш мумкин. Бу эса етарли даражада узок ва кимматли жараён ҳисобланади. Айрим оксиллар кристалл тузилмаларга эга бўлмаганлиги сабабли уларни таҳлил қилишнинг умуман иложи йўқ. Биоинформатика компьютер моделлаштириш ёрдамида ҳеч бўлмаганда оксил структураси узокроқ ўхшаш кетма-кетлиги маълум бўлган ҳолатларда оксилнинг фазовий моделини ясашда ёрдам беради.

Биоинформатика методлари асосида олинган молекуланинг фазовий структурасини билган ҳолда унинг қандай ишлашини ва унинг ишлашига қандай таъсир эта олишни башорат қилиш мумкин.

Дори препаратларини фазода ҳар хил химийвий боғланишлар билан оксил-нишонларнинг ўзаро таъсирини моделлаштириш асосида тайёрлаш мумкин. Бунда катта миқдори боғланишларни саралаш ва энг мақбулларини танлаб олиш керак бўлади.

Биология, кимё, физика, математика ҳамда информатика фанларини бирлаштириш биологик тизимни ҳар томонлама тавсифлаш имконини беради. Компьютер ресурсларидан фойдаланиш таҳлил жараёнини бир неча маротаба тезлаштиради ҳамда олинган натижаларнинг аниқлигини ва тезлигини оширади.

Биоинформатика технологияларидан фойдаланиб қилинган биология соҳасидаги янги кашфиётлар тез суратда тиббиёт, фармакология, косметология, биотехнология, қишлоқ хўжалиги, экология ва бошқа соҳаларда жалб қилинади.

Биоинформатика мустақил равишда амалий аҳамиятга эга бўлган натижалар беради ва шунингдек биологиянинг турли соҳаларида ишлаш учун шароит билан таъминлайди.

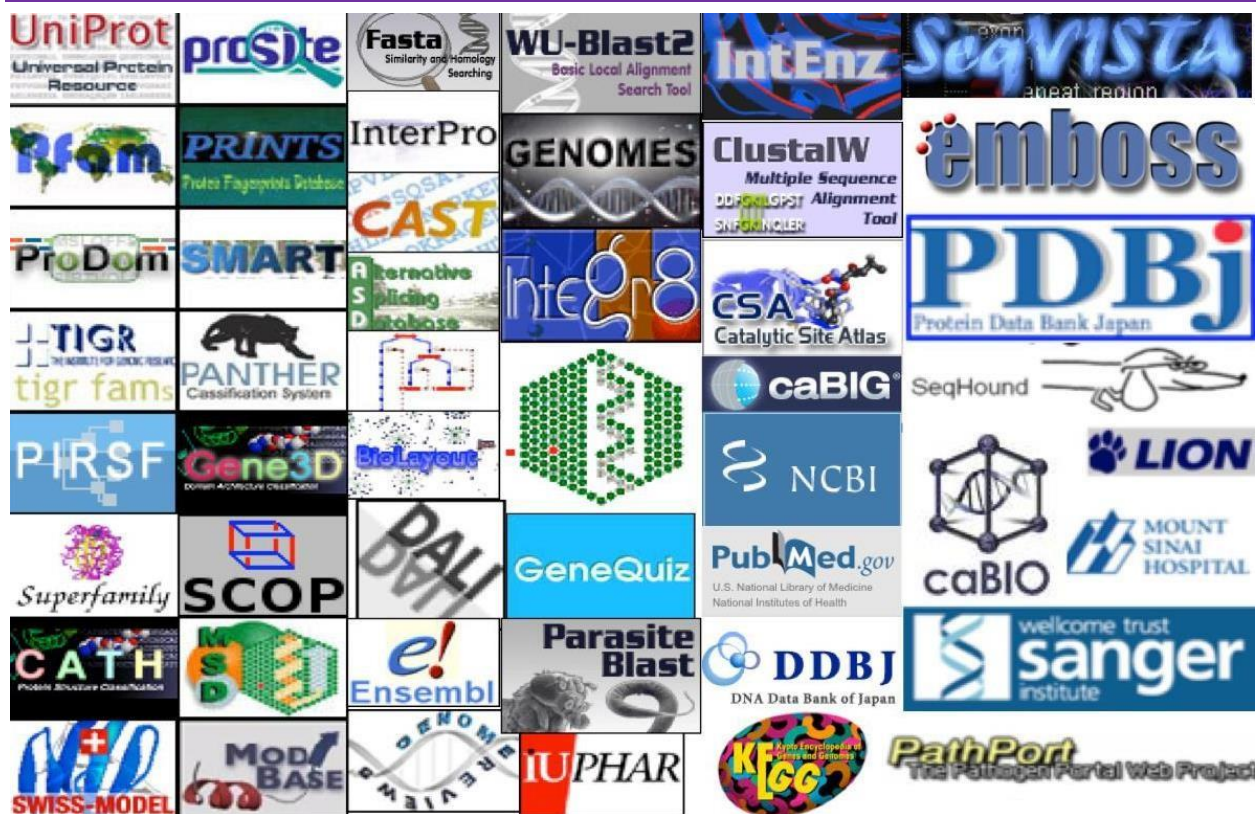
Биоинформатика бўйича ишнинг катта қисми биологик ахборотни сақлаш ва уни таҳлил қилиш учун маълумотлар базасидан фойдаланиш технологиялари атрофига жамланган. Бундай маълумотлар базаси оммабоп ёки шахсий бўлиши мумкин. Уларга очик стандартлар орқали оммавий кириш ҳуқуқини олиш эса муҳим аҳамият касб этади. Гарчи маълумотлар

базасидан фойдаланишга нисбатан бу усуллар анчагина кенг тарқалган бўлсада биологик ахборотларни таҳлил қилиш учун онтология ва мантикий усуллардан фойдаланиш ривожланиб бормоқда.

1.3. Биоинформатиканинг ривожланиш бочқичлари ва ютуқлари.

Бир қанча хорижий давлатларда 20-21 асрларда биоинформатика жадал суратда ривожланаётган дунё биотиббиде фанлари соҳасига айланиб борди. Биоинформацион технологиялар истеъмолчилари тадқиқотчилар, фундаментал ишланмалар муаллифлари билан бир қаторда тиббиде, фармакология, биотехнология ҳамда ўқув муассасалари ҳисобланади. Фаннинг бу соҳаси АҚШда ва шунингдек бошқа ривожланган давлатларда муҳим йўналиш сафатида қаралади.

Европа, Осиё, АҚШ ҳамда Австралия давлатларида биоинформатика марказлари сони йилдан-йилга кўпайиб бормоқда. Биоинформатика бўйича давлат, академик ҳамда таълим марказлари билан бир қаторда сўнгги йилларда соҳада олинган тадқиқот натижалардан тижорат мақсадида фойдаланишга йўналтирилган сезиларли даражадаги ташкилот ва лойиҳалар юзага келди (2-расм). Бу энг аввало геномларнинг, шунингдек одам геномининг структуравий, функционал ҳамда қиёсий таҳлили бўйича фаолият юритувчи ташкилотлардир. Биоинформатика соҳаси бўйича яратилган усулларни қўллаш билан бирга амалий муаммоларни ечиш йўлида, хусусан фармакологияда техник ҳамда дастурий базалар жадал суратда ривожланиб бормоқда. Бундай муаммоларни бартараф этишда дастурий таъминот саноати ҳам такомиллашиб бормоқда.



2-расм. Биоинформатика сервис марказлари ва ресурслари

Мамлакатимизда геномика ва биоинформатика фанларининг ривожланишига қаратилаётган алоҳида эътибор туфайли дунё фанида ўз ўрнига эга нуфузли илмий мактаб ва муҳит шакллантирилди, замонавий лабораториялар ташкил этилиб, кенг миқёсда халқаро илмий алоқалар йўлга қўйилди. Хусусан Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси Геномика ва биоинформатика марказида соҳада анчагина муваффақиятли дастурлар амалга оширилди. Марказда етакчи хорижий илмий марказ тажрибаларига эга, биоинформацион технологиялар бўйича билим ва кўникмаларни пухта эгаллаган илмий ходимларнинг фаолият олиб бориши ва шулар ҳисобга олинган ҳолда марказда биоинформатика лабораториясининг ташкил этилганлиги бунга яққол мисол бўла олади. Марказ илмий жамоаси ханузгача ноаниқ бўлган ғўза геномидаги рекомбинацион блоклар (яъни, авлоддан-авлодга кўчиб ўтадиган ген аллеллари тўплами) ўлчамларини топиб, замонавий тезкор “ассоциатив карталаштириш” усулини кашф этди. Натижада ғўза геномидаги генлардан фойдаланишнинг янги имкониятлари очилиб, ғўзада замонавий маркерларга асосланган селекция усуллари ишлаб

чиқилди.

Ген-нокаут ёки РНК интерференцияси молекуляр генетика ва биоинформатика усуллари махсули бўлиб, организмнинг белгиланган генлари фаоллигини тўхтатиш имконини беради. Шу тўғрисида генлари “ўчирилган” (нокаут қилинган) организм вужудга келади. Бу нуклеотид кетма-кетлиги маълум бўлган генларнинг функциясини аниқлашга ёрдам беради. Нокаут қилинган ва нормал организм намуналари орасидаги фарқлар, ўрганилаётган ген функциясини кўрсатиб беради. Қишлоқ хўжалиги экинларининг биологик кўрсаткичлари – ҳосилдорлик, эртапишарлик, зараркунанда ва ҳашаротларга чидамлилиқнинг намоён бўлишида иштирок этувчи геннинг таркиби ва функцияси аниқлангандан сўнг мақсадга мувофиқ равишда ушбу ген фаолиятини кучайтириш ёки аксинча уни тўхтатиш мумкин. Марказ олимлари эришган энг сўнгги ютуқлардан бири – бу улар томонидан гўза учун яратилган дунёдаги илк ген-нокаут технологиясидир.

Назорат саволлари:

1. Биоинформатика нима?
2. Биоинформатика бўлимларини айтиб беринг?
3. Геномларни аннотация қилиш деганда нималар тушунилади?
4. Ўзбекистонда биоинформатика фанининг ривожланиш ҳолати?

2 - мавзу: Геномни таҳрирлаш технологиялари

РЕЖА

- 2.1. *Биоинформатика ривожланиш босқичлари ва ютуқлари.*
- 2.2. *Ген онтологияси.*
- 2.3. *Геномни таҳрирлаш технологияларига асос солиниши.*
- 2.4. *Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари.*

Таянч иборалар: *Таҳрирлаш, антисенс, Zinc Finger, TALEN, CRISPR, тандем, Xanthomonas, домен, геном локуслари.*

2.1. Биоинформатика ривожланиш босқичлари ва ютуқлари.

Ўсимликлар, ҳайвонлар ва одам геномининг тўлиқ секвенирланиши натижасида олинган маълумотлар биоинформатика усуллари орқали биотехнология, молекуляр биология, қишлоқ хўжалиги ва тиббиёт соҳаларида кенг миқёсда қўллаш учун катта имкониятлар очиб бермоқда. Бироқ геномининг алоҳида элементларининг функционал ўзаро боғлиқларини ва уларнинг фенотипик белгиларини ҳамда алоҳида касалликларнинг патогенези шаклланишидаги ролини тушуниш учун геномларнинг фақатгина нуклеотид кетма-кетликлари тўғрисидаги маълумотлар етарли эмас.

Постгеном соҳасида геномлардаги ДНКларни манипуляция (бошқариш) қилиш, генлар экспрессиясини ва регулятор элементларнинг ишларини бошқариш ва визуаллаштириш имконини берувчи усуллар фаол ривожланиб бормоқда.¹ Аммо барча усуллар ҳам самарадорлиги, ҳавфсизлиги ҳамда кенг доирадаги тадқиқотчилар қўллаши учун юқори талабларга жавоб бермайди.

Сўнги бир неча йиллар ичида геномларни таҳрирлаш учун TALEN, Zinc Finger ва CRISPR/Cas9 (инглизча CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ўзбек тилида - мунтазам гуруҳларда жойлашган қисқа палиндромик такрорлар) каби янги технологиялар вужудга келди.³ Ушбу яқинда пайдо бўлган тизимлар аллақачон геном муҳандислигининг самарали ва ишончли технологияларига айланиб улгирди. Бу инновацион технологияларни замонавий биологиянинг асосий модел объектлари геномларини таҳрирлашда ҳамда геномларнинг функционал скрининги, одам ирсий касалликлари хужайра моделларини яратиш, эпигеномикасини ўрганиш ва хужайрада содир бўладиган жараёнларни визуализация қилишда қўлланилади.

Ген муҳандислиги соҳасининг тарихи 1972 йилда америкалик олим Пол Наим Берг (Paul Naim Berg) лабораториясида рекомбинант ДНК яратилиши билан бошланган. Бу тажрибада олимлар ичак таёқчаси геномини бактериофаг ва вирус (SV40) генлари билан бирлаштирган. Ушбу

кашфиётдан сўнг ген мухандислиги соҳасида улкан ютуқларга эришилди, молекуляр-генетик механизмлар ва ҳодисалар мукаммал ўрганилди ва кашф этилди, эндиликда бу ҳодисаларни *in vitro* шароитида амалга ошириш мумкин. Бактерия ҳамда вирусларнинг молекуляр генетикаси ва биокимёси соҳасидаги изланишлар биоинформатик усуллар ёрдамида ДНКни манипуляция қилиш (бошқариш) ва турли вектор тизимлари ишлаб чиқиш, уларни хужайрага киритиш усул ва услубларини яратиш имконини берди. Бунинг натижасида эса нафақат трансген микроорганизмлар, балки генетик модификацияланган ўсимликлар ва ҳайвонлар олишга эришилди.

Биоинформатика соҳасининг шиддат билан ривожланиши биотехнология ва селекция йўналишлари тараққиётига туртки бериб, ген мухандислигининг амалий соҳасини юзага келтирди. Бироқ анъанавий ген мухандислиги усуллари бир қатор камчилик эга бўлиб, булардан биттаси - одам ва ҳайвонларнинг катта геномларини манипуляция қилиш ўта мураккаблигидадир.

Ҳалқаро “Одам геноми” лойиҳаси доирасида 1990-2003 йиллар давомида одам ядро ДНКсининг нуклеотид кетма-кетлиги аниқланди ва 20,5 мингга яқин генлар идентификация қилинди. Бу каби кўплаб лойиҳалар ҳозирги вақтда ҳам олиб борилмоқда, асосий биологик модел объектлар геномлари - ичак таёқчаси, нематода, дрозофила пашаси, сичқон ва ҳ.о. нуклеотид кетма-кетлиги аллақачон ўқиб бўлинган. Бу лойиҳалар орқали ДНКнинг фақат нуклеотид кетма-кетликлари тўғрисидаги маълумотлар олиш имкони бор, аммо геном алоҳида элементларининг функцияси ва уларнинг ўзаро бутун геном тизимида боғлиқлари тўғрисидаги бирон маълумот олиш имкони йўқ. Одам геномидаги функционал ўзаро боғлиқларни англаш, нафақат ирсий патологияларнинг сабаб-оқибатларини, балки кўп омилларга боғлиқ бўлган касалликларнинг сабабларини аниқлаш ва уларни даволаш учун нишонлар ҳам топиш имконини беради.

Одам геноми Миллий тадқиқот институти 2003 йилда янги ҳалқаро лойиҳа ENCODE (ингл. Encyclopedia of DNA Elements, ўзб. ДНК

элементлари энциклопедияси) устида иш бошлади. Лойиҳадан мақсад – олимларнинг интилиш ва изланишларини бирлаштирган ҳолда РНК ва оқсиллар даражасида фаол бўлган элементлар, фундаментал генетик жараёнларни (транскрипция, трансляция ва репликация) назорат қилувчи регулятор элементлар ва одам геноми функционал элементларининг тўлиқ рўйхатини олиш эди. Бу каби функционал ўзаро алоқадорликларни аниқлаш учун қуйидаги икки стратегия қўлланилади: генни ўчириш (накоут ёки нокдаун) ҳамда ген фаолиятини ёки унинг эктопик экспрессиясини кучайтириш. Анъанавий усуллар - гомологик рекомбинациялар қўлланган трансгенез сичқонларда, бундан ташқари вирусли ва лентивурусли векторларнинг қўлланилиши нафақат қиммат, балки жуда катта меҳнат талаб этади, улар ўта қатъий белгиланган геном локусида аниқ ўзгаришлар киритиш имконини бермайди.

Ҳозирги кунда олимлар ихтиёрида бир неча технологиялар пайдо бўлди, булар орқали ўсимликлар, ҳайвонлар ва одам геномларини ўта юқори аниқликда таҳрирлаш имконини беради.

2.2. Ген онтологияси

Биологиянинг замонавий йўналишлари биотехнология, генлар инжинерлиги, геномика, биоинформатика каби йўналишларининг ривожланиши фанда янги “ген онтология” терминининг юзага келишига сабаб бўлди. Ген онтологияси предметларига микроорганизмлар, ўсимликлар, ҳайвонлар ва инсон генлари уларнинг маҳсулотлари маълумотлар баъзаси ва уларнинг аннотациялари киради.

Ген онтология лойиҳаси молекуляр ва хужайра биологиясида бир неча доменларни ичига олади ва генлар, ген маҳсулотлари ва кетма-кетликлар бўйича маълумотларини тушунишда жамоатчилик фойдаланиши учун кенг имкониятлар очиб беради. Кўпгина модел организмларнинг маълумотлар баъзалари ва геном аннотацияси гуруҳларини яратишда ген онтологиясидан фойдаланилади ва уларнинг аннотациясида ген онтология манбалари ўрни бекиёсдир.

Консорсиум ген онтология - бу “ген онтологияси” лойихасида фаол иштирок этаётган бир қатор биологик маълумотлар баъзалари ва тадқиқот гуруҳларидир. Бу турли хил модел организмлар учун бир қанча маълумотлар баъзалари, жами оқсиллар маълумотлар баъзаси, "ген онтологияси" дастурий таъминот ишлаб чиқувчилар ва муҳаррирлар гуруҳини ўз ичига олади.

Ген онтологияси биоинформатика дастурлар бўйича лойиҳа бўлиб, барча организмларнинг генлари ва ген маҳсулотлари стандартлаштирилган генетик маълумотлар баъзаларини йиғишга бағишланган. Лойиҳанинг мақсади генлар ва уларнинг маҳсулотлари сифатларидан бирини аниқ белгиланган рўйхатини маълумотлар базасига жойлаш ва янгилаш; генлар ва ген маҳсулотлар учун қўшимча аннотацияларни расмийлаштириш; ортиб бораётган маълумотлар базаси лойиҳасидан фойдаланиш учун маълумотлар тарқатиш. Ген онтологияси "Очиқ биотиббийот онтологияси" деб номланган классификацияси кенг қамровли қисми ҳисобланади.

Ген онтология деганда мураккаб биологик ҳодисаларни юзага келиши тасвирланган номаълум бир биологик объектларни тушиниш керак. Онтология дунёдаги объектлар ва улар орасидаги муносабатлар тўғрисидаги маълумотлар ёрдамида махсус билим йўналишларини расмийлаштиришда қўлланилади. Биология ва бошқа тегишли фанлар учун универсал намунавий терминалогия етишмаслиги юзага келди. Терминлар бу қийин мулоқот қилиш каби тушунчаларни ифодалайди, лекин анча бир биридан фарқ қилиши мумкин, турли тадқиқот соҳаларида ва хатто турли йўналиш олимлари ўртасида ишлатилади. Шу муносабат билан, "Ген онтология" лойиҳасининг вазифаси барча организмларнинг генларини ва уларнинг маҳсулотларини вазифалари, функциялари, структурасини ва амалдаги онтологик атамаларни яратишдан иборат.

Ген онтология бошқариладиган сўзлар терминларлардан тузилган. Терминлар онтология низомига мувофиқ уч йўналиш молекуляр функция, биологик жараёнлар ва хужайра компонентларига бўлинади. Хар бир онтология бирор ген ёки ген маҳсулотларини функционал жихатдан ҳамда

терминлар ўртасидаги алоқаларни тасвирлайди. Тартибга солувчи алоқалар икки қуйи синфлари бор: ижобий тартибга солувчи ва салбий тартибга солувчи.

Ген онтологияда тез-тез янги ўзгартиришлар бўлиб, атамалар ёки эскирган маълумотлар олиб ташланади. Агар терминлар онтологиядан ўчирилган бўлса белгиланган терминлар ўз кучида қолади лекин эскирган ёрлиқлар ва термин барча алоқалари олиб ташланади. Алоқаларни ўзгартириш аннотацияларга тасир қилмайди чунки уларнинг ген онтологияда жойлашган ўрнига эмас балки аннотациялар ўзига хос махсус терминларга йўналтирилган. Ген онтология лойиҳаси генлар функцияларини каталоглаштириш учун катта манба бўлади. Шундай бўлсада ундан ҳали ҳамма жойда фойдаланилмайди ва ханузгача мураккаблигича қолмоқда.

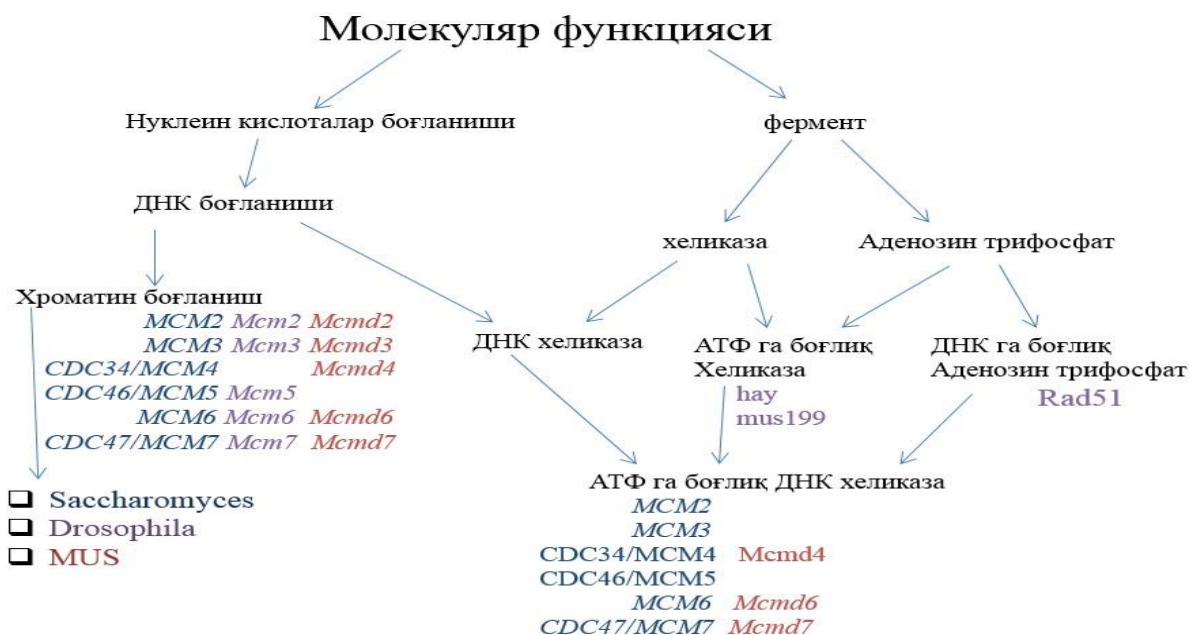
Ген онтологияси 1998 йилда тадқиқотчилар консорциум асосида уч модел организмлар *Drosophila melanogaster* (мева пашшаси), *Mus musculus* (сичқон) ва *Saccharomyces cerevisiae* (нон ачитқиси) геномлари ўрганилиб (4-расм), уларни ўқилиши ва генетик маълумотлар баъзаси яратилиши асосида ташкил этилган. Сўнгра бошқа модел организмлар учун кўр маълумотлар баъзасини шу тариқа кўриш ва маълумотларидан фойдаланиш, қўшимча аннотациялар баъзасини яратишни кенгайтириш, каби жараёнларда ген онтологиясидан фойдаланилди.

Ўсимлик, хайвон ва микроорганизмлар энг асосий генетик маълумотлар баъзалари бу лойиҳага хисса қўшмоқда. 2008 йил январь ҳолатига кўра, ген онтология дастури турли хил биологик организмларда қўлланиладиган 24.500 дан ортиқ терминларини ўз ичига олади. У маълумотлар ген онтологиясини ривожлантириш ва ундан фойдаланиш бўйича адабиётларда муҳим таянч ҳисобланади, ва у биоинформатика соҳасида тегишли стандарт воситаси бўлиб келган.

2011 йил сентябрь ҳолатига кўра, ген онтологияси 360 минг дан зиёд тирик организмлар учун 33 мингдан ортиқ терминлар ва 12 миллион атрофида ген маҳсулотлар аннотацияси мавжуд. Сўнгги бир неча йил

давомида, ген онтология консортсиум ген онтология сифати ва специфик аннотация миқдорини ошириш учун бир қатор ўзгаришлар амалга оширилди. 2013 йилга келиб, аннотациялар сони 96 миллиондан ошди. Аннотация сифати автоматлаштирилган сифат назорати йўли билан такомиллаштирилди.

Ген онтология консортсиум сўнгги пайтларда биологик жараёнларнинг бевосита кичик синфи сифатида, янги биологик босқичини жорий этди. Бу синф биологик жараёнлар содир бўлиши мумкин бўлган пайтида алоҳида даври ёки босқичини ифодалайди. Улар шунингдек, бошқа биологик жараёнлар билан тартибга солинади. Биологик жараёнлар мураккаб ходисалар бўлиб, организмлар ҳаёти учун зарур молекуляр функцияларни амалга оширилиши демакдир. Мисол учун турли биологик жараёнлар хужайра бўлиниш цикли метафаза ва профаза ҳамда хайз кўриш пайти, жинсий хужайраларни қўшилиши ва ривожланиш босқичи.



3-Расм

Учта турли модел организмлар намуналари ёрдамида ген онтологиясини тузилиши ва функциясини ифодалаш яъни бир онтология ичида генларни боғланиши мисол қилиб келтирилган (3-расм). Онтологиялар биологик калит сўзлардан тузилган.

Ген онтология биологик жараёнида "босқичларни" ифодалаш:

Ген онтологияси биологиянинг бошқа йўналишлари яъни, биотехнология, генлар инжинерлиги, геномика, биоинформатика, биокимё, физиология, протеомика каби йўналишларда олиб борилган тадқиқотларнинг маҳсули асосида йўналиш сифатида юзага келди. Юқорида кўрсатилган фанлар ген онтологияси маълумотлар баъзасидан фойдаланиб келмоқда. Биомедицинада турли генетик касалликларни даволаш, уларга ташхис қўйиш ишларида ген онтологияси мажмуига кирувчи инсон геноми маълумотлар баъзасидан кенг фойдаланилмоқда. Булардан ташқари қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини геномларини тадқиқ қилиб, янги ўсимлик навлари, ҳайвон зотлари яратилишида, уларни маҳсулдорлигини оширишда қўлланилмоқда.

2.3. Геномни тахрирлаш технологияларига асос солиниши

Икки занжирли ораликларни мақсадли равишда жорий этишнинг биринчи уринишларида табиий кам учрайдиган эндонуклеазалар (мегануклеазалар деб аталади), масалан, бактериал мобил генетик элементлардан олинган I-SceI ишлатилган [Plessis et al 1992].

Мегануклеазларни кенг таниб олиш жойлари (масалан, I-SceI учун 18 та нуклеотид), ҳатто битта ораликни сутэмизувчилар геномига киритишга имкон беради, бу мақсадли модификация қилишнинг ажралмас шартидир. Бироқ, бундай сайтлар геномнинг бир жойида жойлашган, бошқача қилиб айтганда, генетик модификация қаерда бўлишини тадқиқотчи эмас, фермент аниқлади. Ушбу чекловни бартараф этиш учун олимлар мақсадли мутагенез ёрдамида мегануклеазаларнинг ДНК билан боғлайдиган ўзига хослигини ўзгартиришга ҳаракат қилишди. Бироқ, бу тажрибалар ДНКни боғлайдиган ва нуклеазли минтақалари ёнма-ён, битта оқсил доменида жойлашган ушбу ферментларнинг тузилиши билан тўсқинлик қилди.

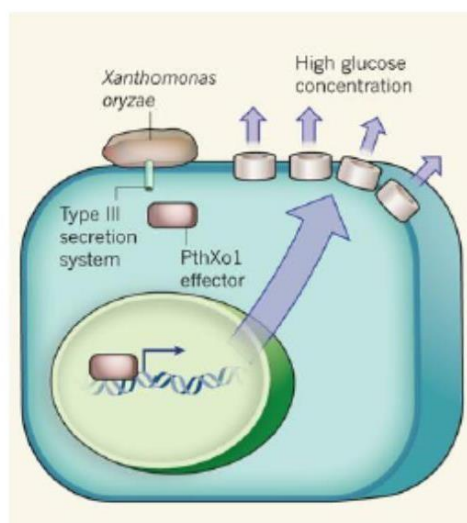
Шунинг учун, мегануклеазлар кўплаб мақсадли кетма-кетликлар учун ишлаб чиқилганига қарамай, ёндашув асосан юқори даражадаги ихтисослаштирилган лабораториялар томонидан қўлланиладиган технология бўлиб қолди.

1996 йилда Chandrasegaran ва унинг ҳамкасблари Fok-I парчаланиш

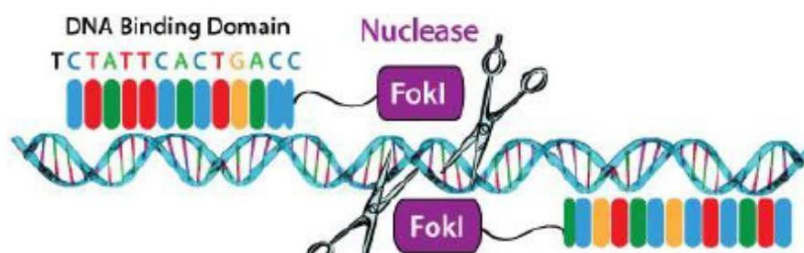
доменига боғланган биринчи цинк бармоқли гибрид рестрикция ферментларини тақдим этдилар.

Кейинчалик, худди шу гуруҳ биринчи марта бошқариладиган геномик муҳандислик учун цинк бармоқли нуклеазлардан (ZFN) фойдаланган. Ўшандан бери ZFN лар нафақат турли хил дастурлар учун жуда қулай геномик муҳандислик воситаларига айланди, балки йўналтирилган геномни таҳрирлаш бўйича клиник ишларга ҳам киришди. Бироқ, (ZFN) дизайни мураккаб ва кўп вақт талаб қиладиган бўлиб қолмоқда.

TALEN Transcription activator-like effector nuclease



Talbot, 2010

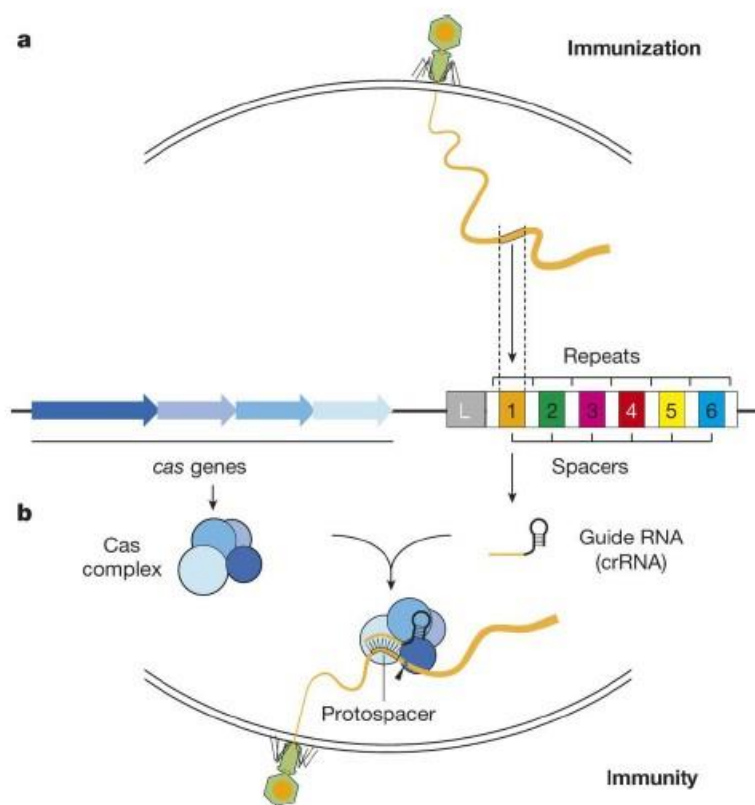


E. coli геномлари аниқ функцияси бўлмаган такрорланадиган кетма-кетликларнинг уюшган тузилмаларини ўз ичига олади, кейинчалик улар бошқа кўплаб бактерияларда ҳам топилган, бу консерватив (ва шу сабабли муҳим) функцияни кўрсатди. Ушбу ғалати генетик элементларнинг бактериялар геномидаги ажойиб функциясини аниқлаш ва исботлаш учун турли лабораториялардан кўплаб олимларга йигирма йил керак бўлди -

бактериялар мослашувчан иммунитет тизимига эга, бу уларга иккинчи марта юктиришга уринаётган вирусларни (бактериофагларни) таниб, йўқ қилишга ёрдам беради. Бунинг учун улар вирус геномининг қисқа кетма-кетликларини ўзларининг геномига киритишади (CRISPR минтақасида) ва уларни калит ва кулф принципи ёрдамида фаг геномини танийдиган қисқа комплементар РНКларни синтез қилиш учун шаблон сифатида ишлатишади.

Система CRISPR Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

1987 г. – открытие
2013 г. – первое
применение для
редактирования
генома



Ушбу муҳим кашфиётдан сўнг CRISPR/Cas нинг механизми ва муҳим элементлари тавсифланди, шунингдек тизим турли бактериялар ўртасида ўтказилиши мумкинлиги кўрсатилди.

CRISPR-Cas9 нинг РНК-йўналтирилган ДНК нинг эндонуклеаза фаоллиги тасдиқлангандан кўп ўтмай, унинг потенциали бутунлай янги турдаги муҳандислик нуклеазалари сифатида турли гуруҳлар томонидан намоёиш этилди.

Ўшандан бери биз CRISPR/Cas ни илм-фан, саноат ва агробιοтехнология ва биотиббιётда қўллашга катта қизиқиш билан ошаяпти.

Кўп жиҳатдан, CRISPR/Cas дастурини қўллаш бошқа муҳандислик нуклеазалари билан бир хил қийинчиликларга дуч келади, шу жумладан самарадорлик (барча тузилмалар ДНК парчаланининг юқори даражасини таъминламайди), ўзига хослик (мақсадга қараб, мақсаддан ташқари фаолликнинг юқори даражаси кузатилади, яъни геномнинг мақсадидан бошқа (тахмин қилинадиган ёки олдиндан айтиб бўлмайдиган) минтақадаги бўшлиқ), етказиб бериш (аниққи, яратилган фермент танланган хужайраларга самарали таъсир этган тақдирдагина ишлаши мумкин)), иммуногенлик (барча муҳандислик нуклеазаларида бактериялардан олинган элементлар мавжуд) ва функционалликни таҳлил қилиш.

2.4. Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари

ГЕНОМ ТАҲРИРЛАШНИНГ ПОТЕНЦИАЛ ИШЛАТИЛИШ СОҲАЛАРИ:

Ген нокаути (ўқиш доирасининг очик жой алмашиши)

Бутун генларни ёки геннинг айрим қисмларини (масалан, экзонлар) олиб ташлаш

Юқори аниқликдаги генларни тиклаш ("ген жарроҳлиги")

Мутацияларни тузатиш (масалан, битта нуклеотид полиморфизми - SNP) Айрим нуклеотидларни таҳрирлаш Хромосома транслокацияларини киритиш.

ГЕНОМ ТАҲРИРИ УЧУН ТАЛАБ ҚИЛИНАДИГАН ЭЛЕМЕНТЛАР:

- яратилган фермент (нуклеаз, никаза, деаминаза)
- цинк бармоқли нуклеаз
- TAL эффекторига асосланган ферментлар
- CRISPR/Cas асосидаги ферментлар.

ГЕНОМ ТАҲРИРИДА ИШТИРОК ЭТАДИГАН ҲУЖАЙРА ИЧИ ЙЎЛЛАРИ:

Бир занжирли узилишни таъмирлаш

Охирларнинг гомолог бўлмаган қўшилиш - гомологик рекомбинация

Икки қаторли узилишларни таъмирлаш - гомолог рекомбинация

Цитозинни деаминлаш индивидуал нуклеотидларни кесиш алмаштириш билан таъмирлаш.

Сўнгги бир неча йиллар ичида геномларни таҳрирлаш учун

Zinc Finger (Рух бармоқлари)

TALEN (Transcription Activator Like Effector Nucleases)

CRISPR/Cas9 (инглизча CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ўзбек тилида - мунтазам гуруҳларда жойлашган қисқа палиндромик такрорлар) каби янги технологиялар вужудга келди.

Шундай қилиб, CRISPR/ Cas9-га асосланган осон, арзон ва юқори самарадорликдаги методологиянинг пайдо бўлиши билан тобора кўпроқ клиник тадқиқотлар ушбу ёндашувнинг турли хил саратон ёки вирусли инфекцияларни даволашда хавфсизлигини синаб кўрмоқда. Яқин келажакда турли хил соматик касалликларни даволаш учун геномни таҳрирлашга асосланган қўшимча даволаш усуллари мавжуд бўлади деб тахмин қилиш керак.

3 - мавзу: Геном таҳрирлашнинг янги авлод технологиялари.

Режа:

3.1. Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.

3.2. Геном муҳандислигида TALEN ва CRISPR/Cas9 қўлланилиши.

3.1. Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR

Zinc-finger технологияси. *Fok I* – эндонуклеазалар домени билан боғланган оксил доменининг “Рух бармоқчалари” типини сайт-специфик нуклеаза сифатида фаол бўлиб ДНКни *in vitro* шароитида қатъий белгиланган участкаларини ўта аниқликда қирқиши аллақачон 1996 йилда биринчи марта кўрсатиб берилган эди. Шу каби химерик оксиллар модулли структурага эга бўлиб ҳар бир “рух бармоқчалари” домени бир нуклеотид триплетини танийди (Zinc-finger Nuclease, ZFN). Бу култураланадиган хужайралар жумладан плюрипотент тана хужайралари ҳамда модел ҳайвонлар ва

Ўсимликларда асосий таҳрирлаш усулига айланди. Аммо ZFN технологияси мураккаблиги ва ҳар бир аниқ геном локуслари учун оксил доменларининг конструкциясини тузишга юқори ҳаражат талаб этилиши, бир нуклеотидли алмашинув ёки доменлар аро ўзаро нотўғри таъсирлар сабабли ДНК-нишоннинг ноаниқ қирқилиши эҳтимолликлари каби бир нечта камчиликларга эга. Шунинг учун геномни таҳрирловчи янги технологиялар топиш мақсадида фаол изланишлар давом этди. Сўнгги йилларда бу изланишлар геномларни таҳрирлаш имконини берувчи янги инструментларнинг яратилишига сабаб бўлди.

TALEN технологияси. Бу тизимлар – TALEN (Transcription Activator- Like Effector Nucleases, яъни транскрипцияни фаоллаштирувчиларга ўхшаш эффектор нуклеазалар) ва CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, яъни - мунтазам бир-биридан бир хил узокликда жойлашган қисқа палиндромик гуруҳлар такрорлари). Ушбу тизимлар одам, ўсимликлар ва ҳайвонлар хужайрасида юқори самарали ишларни амалга ошириш ва улар учун конструкциялар тузишнинг нисбатан соддалиги билан фарқ қилади. Бу каби технологиялар геномлар устида турли хил манипуляцияларни амалга оширишда фаол қўлланилмоқда ва бу орқали трансген ва мутант ҳайвон ва ўсимликлар яратиш ҳамда култураланадиган одам плюрипотент хужайралари асосида касалликлар моделини яратиш ва тадқиқ этиш каби бир қатор мураккаб муаммоларни ҳал этиш учун имкон яратади. Бундан ташқари эпигеномикасини ўрганиш ва хромосома локусларини хужайра циклида ўтказиш учун TALEN ДНК- боғловчи доменлари асосидаги химерик оксиллар ва фаолияти тўхтатилган (инактивация) Cas9 нуклеазаларидан генлар транскрипциясини бошқариш бўйича олиб борилган тажрибаларда фойдаланилган.

2011 йилда геномларни юқори даражадаги аниқликда таҳрирлаш имконини берувчи усуллар қаторида TALEN тизими ҳам нуфузли “Nature Methods” халқаро журнали томонидан йил технологияси деб тан олинди. Бу технологиянинг яратилиш тарихи *Xanthomonas* авлоди бактерияларининг

ўрганилиши билан боғлиқ. Ушбу бактериялар шולי, қалампир, помидор каби ўсимликларнинг патогени ҳисобланиб қишлоқ хўжалигига катта иқтисодий зарар келтиради, бу эса уларнинг синчковлик билан ўрганилишига сабаб бўлди. Аниқланишича, бактериялар ўсимликлар хужайраларининг цитоплазмасига эффектор оқсилларни (TALE, Transcription Activator-Like Effectors) ажратиб чиқаради, бу эса ўсимликлар хужайрасидаги жараёнларга таъсир этиб патогенларга нисбатан чалинувчанлик даражасини оширади. Кейинчалик эффектор (таъсир этувчи) оқсилларнинг фаолият механизмларини ўрганиш натижасида, улар эукариотлардаги транскрипция омилларини такрорлаб ДНК билан боғлана олиш ва ўзларининг ген-нишонларининг экспрессиясини фаоллаштириш қобилиятига эга эканлиги аниқланди.

TALE оқсиллари ДНКга боғланиши, домен ва ядрога жойлашиш сигнали ҳамда мақсаддаги геннинг транскрипциясини фаоллаштириш учун жавобгар марказий домендан ташкил топган. Биринчи марта ушбу оқсилларнинг ДНКга боғлана олиш қобилиятлари 2007 йилда тавсифланган эди, бир йил ўтиб эса икки гуруҳ олимлар томонидан TALE оқсилларининг нишонланган ДНК изчилликларини таниб олиш кодлари аниқланди.² ДНКга боғланувчи домен мономерлардан ташкил топганлиги ва уларнинг ҳар бири битта нуклеотид билан нишонланган нуклеотид кетма-кемлигига боғланиши кўрсатиб берилди.

Мономерлар иккитаси юқори ўзгарувчан (Repeat Variable Di-residue, RVD) 12- ва 13- позицияларда жойлашган 34 аминокислоталар қолдиғидан иборат тандем такрорларни намоиш этади.¹ Бунда айнан ўша юқори ўзгарувчан аминокислоталар белгиланган нуклеотидларни таниб олишга жавобгар ҳисобланади. Бу код туғма (дегенератив вырожденный) ҳисобланади. Баъзи юқори ўзгарувчан аминокислоталар бир неча нуклеотидлар билан турли самарадорлик билан боғланиши мумкин. Бунда TALE мономерлари боғланадиган 5'- охир нуклеотид кетма-кетлиги олдида нишонланган ДНК молекуласида доим фақат тимидин нуклеотиди

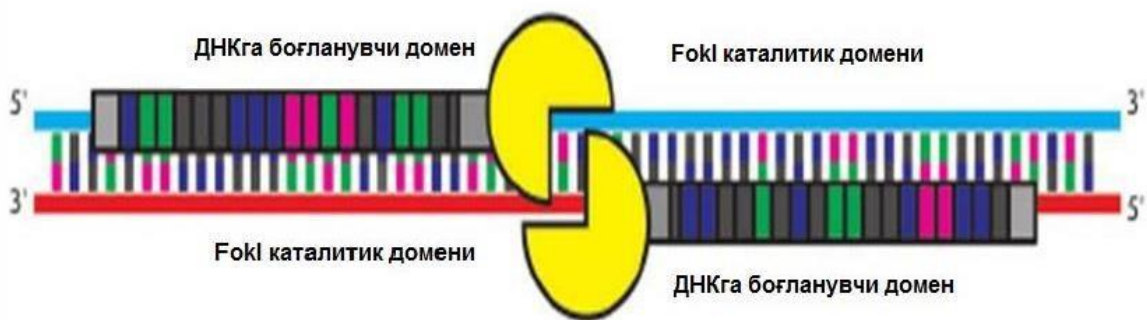
жойлашган бўлади, бу эса боғланиш самарадорлигига таъсир этади.² Сўнги 3-учи таниб олиш сайтига боғланувчи тандемли такрор 20 аминокислота қолдиғидан иборат бўлиб у ярим такрор деб номланади.

TALE оқсиллари ёрдамида ДНК кодларининг ўқилиши аниқланганидан сўнг ўзининг соддалиги (бир мономер- бир нуклеотид) билан бутун дунё олимларининг қизиқишини уйғотди ва TALEN - химерик нуклеазалар яратиш бўйича биринчи тажрибалар амалга оширилди.³ Шу мақсадда TALE доменига боғланиб ДНКни кодирловчи изчилликни плазмида векторига киритилди, бу вектор илгари ZFN технологиясини яратишда фойдаланилган. Натижада ДНКга боғланувчи доменни ва FokI рестрикциялари эндонуклеазаларининг каталитик доменини ўз ичига олган сунъий химерик нуклеазалар экспрессия қилувчи генетик конструкциялар яратилди. Бу технология ДНК-боғловчи домен турли юқори ўзгарувчан мономерларни (Repeat Variable Diresidue, RVD) бирлаштирган ҳолда исталган нуклеотид кетма-кетлиги нишон бўлган сунъий нуклеазалар яратиш имконини беради. Кўп ҳолларда А, Т, G, С нуклеотидларини мос равишда боғлаш учун Asn ва Ile (NI), Asn ва Gly (NG), икки Asn (NN), His ва Asp (HD) ларни ўз ичига олган юқори ўзгарувчан (RVD) мономерлардан фойдаланилади. Бунда юқори ўзгарувчан мономерлар-RVD NN, А ҳамда G сифатида боғланиши мумкин. Кўплаб тажрибаларда гуаниннинг янада спецификроқ боғланиши учун NH ёки NK мономерлари қўлланилганида кераксиз нишонга боғланиш хатоликларини камайтиради. Юқори ўзгарувчан мономерлардаги-RVD (H ёки N) биринчи аминокислота қолдиғи бевосита нуклеотидга боғланишда қатнашмайди, лекин фазовий конформацияни стабиллаш учун жавоб бериши аниқланди. Иккинчи аминокислота қолдиғи нуклеотид билан ўзаро боғланади, бунда боғланиш табиати турлича: D ва N азотли асослар билан водород боғларини ҳосил қилади, лекин I ва G Ван-дер-Ваальс кучи ҳисобига нишонланган нуклеотидлар билан боғланади.

Доменга боғланувчи сунъий ДНК ядро локализацияси сигналига, N-учи домени ва FokI каталитик доменига эга бўлган яримтакрор генетик

конструкцияга киргизилади. Сунъий нуклеазалар учун ишонланган сайтлар куйидагича танлаб олинади: улар ДНКнинг турли занжирларида бўлиши ва спейсер кетма-кетлигида кичик участкаларга (12-25 ж.н.) ажратилган бўлиши керак бўлади. Сунъий нуклеазаларнинг ядрога бориб жойлашиши билан улар нишонланган сайтлар билан боғланади, натижада С учларида жойлашган химерик оқсилларнинг FokI доменлари димеризацияланади ва спейсер кетма-кетлигига икки занжирли бўшлиқ ҳосил қилади. (1-расм)

Геномнинг мақсадли (нишонли) локуси



TALEN химерик оқсиллари жуфтлиги

Оқсил доменлари ёрдамида нуклеотидларни таниб олиш коди

NI = A

NG = T

NN = G

HD = C

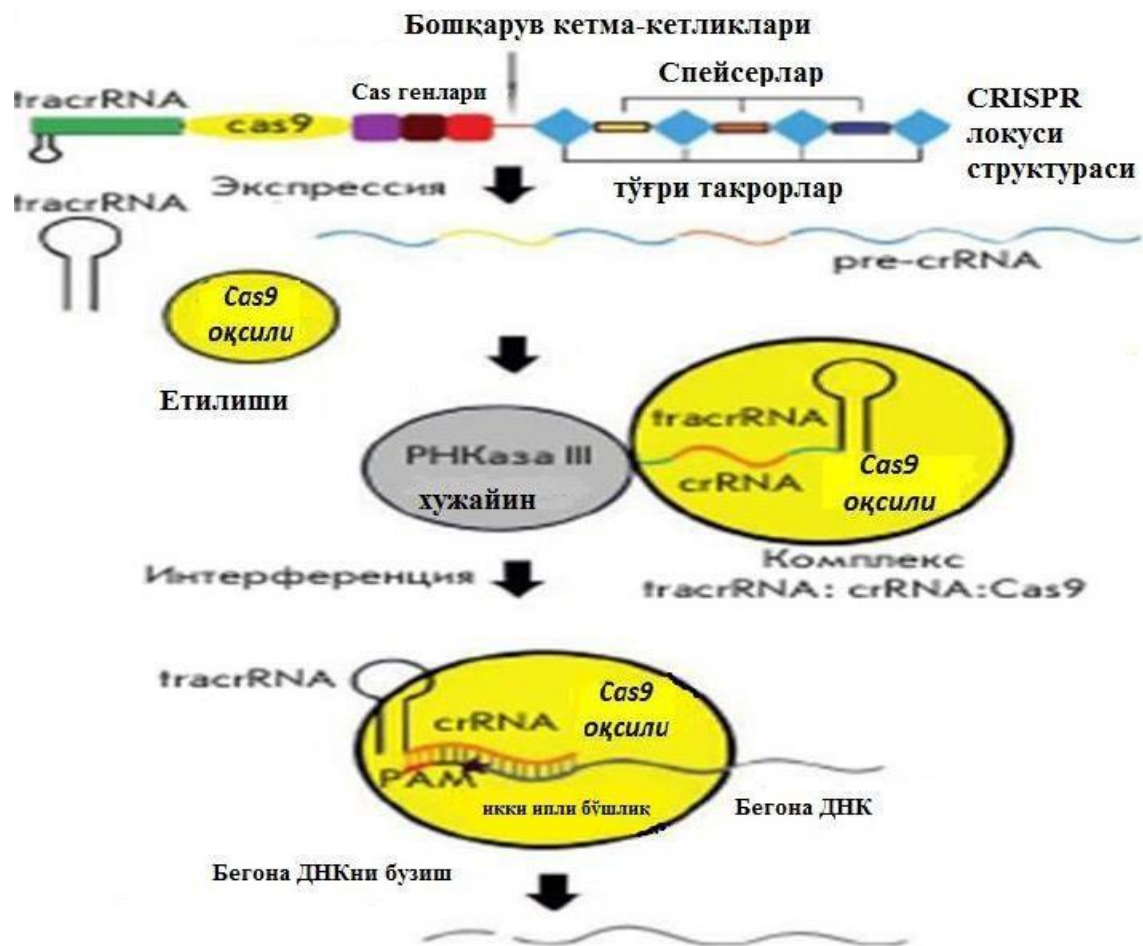
1-расм. TALEN химерик оқсиллари ёрдамида икки ипли (занжирли) бўшлиқ киритиш схемаси. ДНКга боғланувчи оқсил доменининг бир мономери ДНКнинг мақсадли (нишонли) кетма-кетлигида бир нуклеотидни таниб олади. Боғланиш учун мономердаги икки аминокислота қолдиғи жавоб беради, таниб олиш коди келтирилган (аминокислота қолдиқлари бир ҳарфда ифодаланади). Таниб олиш сайтлари масофада ДНКнинг турли занжирларида жойлашган, бу эса FokI каталитик доменлари димеризацияси учун етарлидир. FokI димери сифатида ДНКга икки занжирли бўшлиқ киритади.

Назарий жиҳатдан ДНКга боғланувчи доменларнинг маълум таниб олиш сайтлари билан геномнинг исталган участкасига TALEN сунъий нуклеазалари ёрдамида икки занжирли бўшлиқ киритиш мумкин. TALEN нуклеазалари сайтларини танлашдаги ягона чеклов, бу нишонланган кетма-кетликдаги 5'-учи олдидан T нинг мавжуд бўлиш заруриятидир. Аммо спейсер кетма-кетлиги узунлигини ўзгартириш билан кўп ҳолларда сайт

танловларини амалга ошириш мумкин. ДНКга боғланадиган доменнинг W232 қолдиғи N-охир участкасининг таркибида 5'- T билан ўзаро бирикади, бунда у TALEN нинг нишонланган сайтлар билан бирикиш самарадорлигига таъсир кўрсатиши аниқланган. Аммо A, G, ёки C билан боғлана олувчи TALEN N-охирли доменининг мутант вариантларининг селекцияси натижасида бу муаммони ҳал этиш имкони бор.

CRISPR технологияси. TALEN химерик оқсиллари тизими кашф қилинганидан икки йил ўтиб CRISPR геномни таҳрирлаш технологиясини фаол қўллаш ривожланди. Бу технологиянинг элементлари кодирламайдиган РНК ва Cas (CRISPR-associated) оқсиллари ҳисобланади. TALEN химерик оқсилларидан фарқли равишда CRISPR/Cas тизими ёрдамида таниб олиш хусусияти нишонланган ДНК ва кодирламайдиган РНКларнинг ўзаро комплементар боғланиши ҳисобига амалга оширилади.

Бунда нуклеаза фаоллигига эга кодирламайдиган РНК ва Cas оқсилларидан иборат комплекс ҳосил бўлади. Баъзи бактерия генларида 1987 йилда сирли такрорлар аниқланган, уларнинг функциялари қарийб 20 йил давомида номаълумлигича қолди. Бактерия генларининг секвенс қилиниши геномда аналогик нуклеотид кетма-кетлиги эга бўлган кўплаб микроорганизмларнинг аниқланишига сабаб бўлди, булар характерли структурага эга, яъни ноёб ДНК-спейсерларининг қисқа участкалари бир-биридан қисқа палиндром такрорлар билан ажралган (2-расм). Айнан ушбу хусусиятига кўра улар CRISPR деб номланди.



2-расм. Бактерия хужайраларида CRISPR/Cas9 ҳаракатланиши механизми

Бундан ташқари бу каби CRISPR кассеталари бевосита оқил маҳсулотлари нуклеаза ва хеликаза фаоллигига эга бўлган Cas генлари (CRISPR-associated- CRISPR билан ассоциацияланган) яқинида жойлашган бўлади. Бир-биридан беҳабар биоинформатикларнинг уч гуруҳи спейсер ДНК кўплаб фаг ва плазмидаларнинг ДНКсига гомолог эканлигини 2005 йилда маълум қилди. 2007 йилда CRISPR спейсер локусида мавжуд ва бактериофагга чидамли бўлиб бораётган *Streptococcus thermophilus* хужайралари бактериофагнинг геном ДНКсига комплементар эканлиги аниқланди. Шу тарзда CRISPR/Cas технологияси ноёб механизм бўлиб микроорганизмларни бегона ДНК киришидан химоялаши ва рестрикция-модификация тизими билан бир қаторда фаол бўлиб генетик маълумотларни горизонтал кўчирилишини чеклаши аниқланди.

CRISPR- тизимлари прокариот организмлар ўртасида кенг тарқалган:

улар 87% архей ва 48% эубактерияларда аниқланган. Шунинг учун ҳар хил организм турларида геномдаги (1-18) CRISPR-кассеталари миқдори каби такрорларнинг миқдори (ўртача 60) ва хажми (ўртача 23-37 н.ж.), шунингдек спейсерларнинг сони ва хажми (17-84 н.ж.) ўзгарувчан бўлади. Бунда бир кассета ичидаги спейсерлар ва такрорларнинг узунлиги ўзгармас ва такрорлар кетма-кетлиги эса бир хил бўлади.

Ҳимоя механизми уч асосий босқичдан иборатдир (2-расм). Биринчи адаптация босқичида бактерия хужайрасига кирган бегона ДНКнинг кичик фрагменти янги спейсер ҳосил қилиб хужайин геномининг CRISPR-локусига ўрнатилади. Вирус геномида бу фрагмент протоспейсер сифатида спейсерга комплементар ва қисқа (2-5 н.ж.) фланкирланган консерватив изчилликда мавжуд бўлади, бу PAM (Protospacer Adjacent Motif; протоспейсерга тегишли мотив) деб номланади. Янги спейсер доим CRISPR кассетаси олдидан АТ га бой лидер кетма-кетлик тарафидан ўрнашади, худди шу жойда промотор элементлари ва регулятор оқсилларнинг ўтказиш сайтлари жойлашган. Барча изланишларга кўра, айнан шу тарзда кўпчилик CRISPR/Cas-тизимларининг нишонлари ҳосил бўлади.

Транскрипциянинг иккинчи босқичида барча CRISPR локуслари pre-crRNA (poly-spacer precursor crRNA; CRISPR РНКнинг ярим спейсерли ўтмишдоши) узунлигида транскрипцияланади (2-расм). Етилмаган транскрипциянинг етилган crRNA ҳолатига процессинг қилиниши CRISPR/Cas-тизимларида кўп ҳолларда Cas6 эндонуклеазалари томонидан амалга оширилади. 39-45 нуклеотид узунлигидаги қисқа crRNA (CRISPR РНК) бир спейсер кетма-кетлигига эга бўлиб охирларида стержень-бигиз структурасининг шаклланишида иштирок этувчи такрорлар жойлашган: гидроксил гуруҳига эга такрорнинг сўнги саккиз нуклеотидлари 5' учида стержень ҳосил қилади, ва тўғноғичсимон структура 2, 3-циклик фосфат билан 3-учида илмоқли урчуқ (бигиз)ни ҳосил қилади.

Учинчи босқич – бегона РНК ёки ДНКни интерференция (фаолиятини сусайтириш) қилиш, бу жараён crnA ва cas-оқсиллари комплексининг ўзаро

таъсири ҳисобига амалга оширилади. CrnA комплементар ҳолда протоспейсернинг кетма-кетлигини таниб олади ва cas-оксиллари уларнинг бузилишини таъминлайди (2-расм).

ДНК-нишонларни эффектор мажмуаси билан деградация қилиш учун crnA нуклеотидларининг ДНК-нишонлари билан ўзаро -2, -3, -4 позицияларда (агар +1 протоспейсернинг биринчи асосига қабул қилинса) комплементар бирикиши рўй бермаслиги керак. CrnA ва ДНК-нишонларнинг ўзаро комплементар бирикиши ушбу позицияларда эффектор мажмуасининг шаклланишини бузади, бу эса геном ДНКсини қирқишга ва унинг кейинчалик деградацияга учрашига тўсқинлик қилади.

Вируслар ва уларнинг хўжайин организмларининг узоқ коэволюцияси вирусларда crISPr-интерференцияларга қарши ҳимоя механизмларининг пайдо бўлишига олиб келди.

Бу бактерия ва архейларда crISPr/cas-тизимларининг катта хилма-хилликларга эга эканлиги билан тушунтирилади.

Биоинформатик тадқиқотлар барча crISPr/cas-тизимларини асосий уч типга (I–III) ва бу типларни яна камида 10 та гуруҳларга бўлади. Ҳозирги кунда булардан *S. Pyogenes* патогенидан ажратиб олинган II-A типининг crISPr/cas-тизими геном муҳандислигида фаол қўлланилади. Бу бактерияда cas генининг минимал тўплами аниқланган. Биргина полуфункционал cas9 оксили pre-crnA процессингини ҳамда бегона ДНКнинг интерференциясини амалга оширади.

CrnA процессинги кодирламайдиган кичик РНК - tracrnA (trans-activating crnA; трансактивирующая crРНК) билан ҳам боғлиқ бўлади. TracrnA молекулалари pre-crnA кетма-кетликларининг такрорлари билан дуплекс ҳосил қилиб комплементар боғланади, хўжайин хужайраларнинг рибонуклеазаларидан бири -РНКаза III, cas9 иштирокида 5' учида 20-нуклеотидли спейсер кетма-кетлигига эга бўлган етук crnA нинг ҳосил бўлиши билан дуплексни қирқади. Бутун локусга Mg²⁺ ионлари иштирокида cas9 икки занжирли ажралиш киритади, бунда бу ферментнинг HnH нуклеаза

домени crRNA га комплементар ДНК ипни қирқади ва RuvC -домени нокомплементар ипни қирқади. Cas9 *S. pyogenes* учун ДНК-нишон ўзида бевосита қирқиш амалга ошириладиган уч нуклеотиддан сўнг 5'-nGG-3' PAM ни тутмоғи лозим. II типининг Cas9 учун *S. thermophilus* ва *Neisseria meningitidis* нишонлари мос равишда бошқа консенсусга эга- 5'-nGGnG-3' ва 5'-nnnnGAtt-3'.

Геном муҳандислигининг умумий стратегияси сайт-специфик нуклеазалар ёрдамида тўрт асосий босқичдан иборат:

1. Геномда мақсадли нуклеотид кетма-кетлигини танлаб олиш.
2. Танлаб олинган нишонга йўналтирилган нуклеаза конструкциясини яратиш.
3. Ушбу конструкцияни хужайра ядросига киритиш.
4. Олинган мутацияларнинг таҳлили.

TALEN ва CRISPR/Cas9 технологиялари ёрдамида ишлаганда икки занжирли бўлинмаларни специфик киритиш учун сайтларни синчковлик билан танлаб олиш зарур. Дастлабки боинформатик таҳлилларга кўра, геномга икки занжирли бўлинмаларни киритиш мақсадсиз эффектларнинг ҳам эҳтимоллиги борлиги билан тушунтирилади.

Керакли сайтларни танлашда кетма-кетликларнинг такрорланишидан ва геномнинг бошқа районидаги юқори гомологияларидан қочиш талаб этилади.

TALEN химерик оқсиллари тизимидан фойдаланилганда бир неча сабабларга кўра мақсадсиз эффектлари вужудга келади. Биринчидан, бу специфик нуклеотидлар ва RVD боғланишининг эффективлигидаги фарқлардир. NN ва HD мономерлари нуклеотидлар билан кучли водород боғлар ҳосил қилади, бу вақтда NG ва NI – кучсиз шаклланади. Бу ДНК-танийдиган доменларни мақсадли сайтлардан бир неча нуклеотидларга фарқланувчи сайтлар билан боғланишига имкон бериши мумкин. Иккинчидан, коднинг туғма бўлгани учун мономерларнинг нуклеотидлар билан боғланиш эҳтимоллиги мавжуд, масалан, NG ва A ларнинг ўзаро

боғланиши. Учунчидан, икки нуклеазаларнинг FokI доменлари бир хил ДНКга боғланувчи доменлари (гомодимерларнинг ҳосил бўлиши) билан димеризацияга учраши мумкин. Бу муаммо мажбурий гетеродимерлар сифатида ишловчи FokI доменларига эга TALEN тизимини яратиш орқали бир қатор ишларни амалга ошириш давомида ҳал этилган.² Эҳтимолли мақсадсиз эффектлар нуклеазалар таниш сайтлари орасидаги спейсер ДНКнинг хажми қайд этилмаганлиги натижасида содир бўлиши мумкин. Бу хусусият FokI доменлари димеризацияланиши учун етарли масофада жойлашган нуклеазаларнинг мақсадсиз сайтлар билан боғланишида икки занжирли бўшлиқ киритиш имконини беради.

S. pyogenes cas9 нуклеазалари 5'-NGG-3' консенсуси билан PAM ларнинг мажбурий иштирокини талаб этади, бунда кам миқдорда бўлса ҳам у нишонларни танлашни чеклайди. Хусусан, одам геномида мақсадли (нишон) сайтлар ҳар 8–12 н.ж. ларидан сўнг жойлашган бўлади. CRISPR/cas9 тизимининг асосий камчилиги – мақсадсиз мутациялар пайдо бўлишининг нисбатан юқори эҳтимоллигидадир. In vitro, бактерияларда ва одам хужайраларида олиб борилган тажрибаларда 20 нуклеотидли sgRNA (single guide RNA) ларнинг спейсер участкаларида баъзи бир нуклеотид алмашинувлари CRISPR/cas9 тизимининг сезиларли даражада фаоллигини сусайтиришга олиб келиши маълум қилинган, айниқса агар бу алмашинувлар sgRNA нинг сўнгги 10–12 нуклеотидлари 3'-охирларида жойлашган бўлса. Шу билан бир вақтда sgRNA нинг 5'-охирларидаги алмашинувлар тизимнинг фаолияти учун ҳеч қандай таъсир ўтказмайди. Аммо маълумки, агар sgRNA нинг 3'-охирларидаги бир ёки икки нуклеотидли алмашинувлар CRISPR/cas9 тизимининг фаолиятига таъсир этмайди, ва аксинча, агар 5'-охирларида жойлашган бўлса фаолиятга тўсқинлик қилади. Умуман олганда, мақсадсиз эффект cas9 учун 5'-охир нуклеотидларига нисбатан кам аҳамиятга эга кетма-кетликни йўналтирувчи 3'-охирларидаги –8–12 н.ж. алмашинувларнинг жойлашишлари бўйича аниқланади, бунда Cas9 и sgRNA ларга киритиладиган алмашинувлар ва айнан нишон-сайт хусусиятларининг

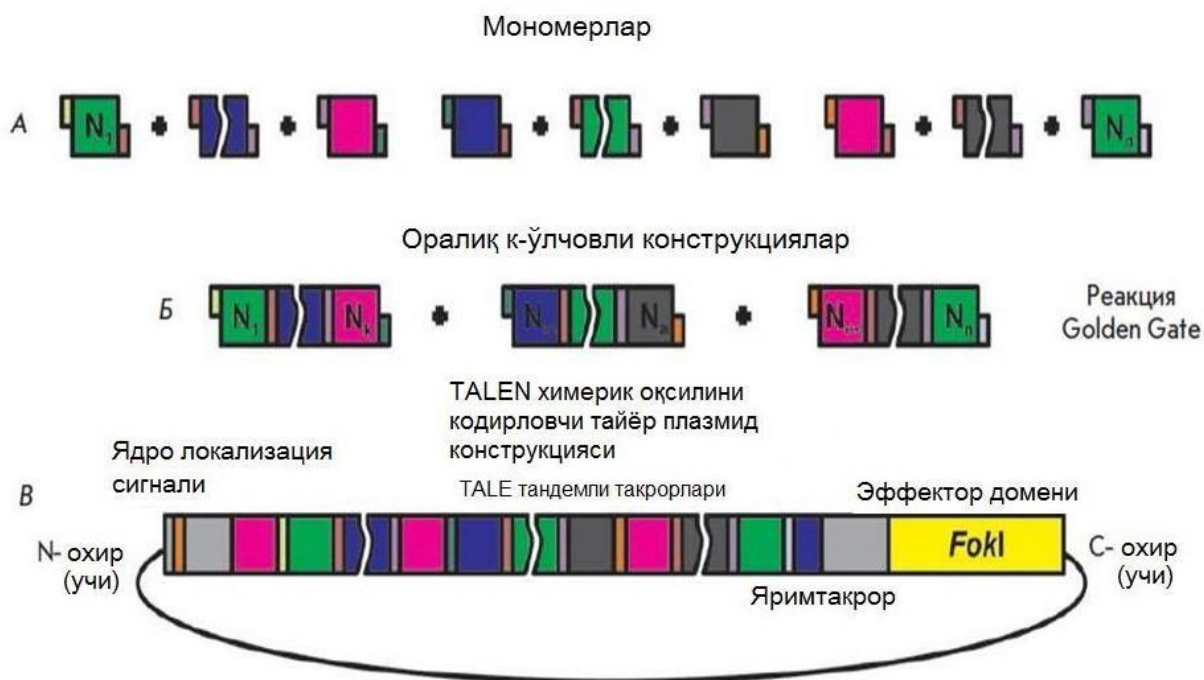
концентрацияси ва миқдори учдан ошмаслиги лозим. Кўрсатилган камчиликларни енгиш cas9 ортологларини қўллашга асосланган усулларни қидириш ва ишлаб чиқишга имкон беради. Буларнинг фаоллигини таъминлаш учун мураккаб консенсус кетма-кетликка эга PAM зарур ҳисобланади. Масалан, II тип *N. meningitidis* CRISPR/cas PAM ларни 5'-NNNNGATT-3', консенсуси билан танийди, бу жараёнда нишон танлаш имкониятини чеклаб спецификликни ошириши мумкин.

CRISPR/cas тизимлари ёрдамида геномни таҳрирлаш спецификлигини ошириш мақсадида sgRNA жуфлиги (ZFN ва TALEN жуфтлик аналоглари сингари) билан икки Cas9 никазаларидан фойдаланилади. Ушбу sgRNA жуфлиги FokI доменлари билан фақат икки мустақил оксилларнинг таъсири асносида ДНКга бўшлиқ (парчалаш) киритади.¹ Бир каталитик фаол доменларнинг мутацияси (HNНда D10A ва RuvCда H840A) Cas9 нуклеазасини ДНК-никазага айлантиради. Агар ДНКнинг иккала занжирини Cas9 никаза жуфтлиги билан қирқилса сайт специфик икки занжирли бўшлиқлар ҳосил қилишга олиб келади, бу бўшлиқлар ДНК учларининг (охирлари) ногомологик (NHEJ- non-homologous end joining) тикилиши ёрдамида қайта жуфтлашади, бунда алоҳида бўлган бир занжирли парчаланишлар юқори эксцизия (BER- base excision repair) асосида самарали равишда қайта жуфтлашади. Икки Cas9 никазаларини sgRNA жуфтлиги билан қўллаш мақсадсиз мутацияларнинг ҳосил бўлишини сезиларли даражада камайтириши ва бу жараёнда мақсадсиз мутацияларнинг чиқиши бутунлай нуклеазаларнинг қўлланилишига боғлиқлиги кўрсатиб берилган.

Келтирилган CRISPR/ Cas9 ва TALEN тизимлари ёрдамида мақсадли (нишонли) сайтларни таниб олиш имкониятлари шу каби сайтларни қидиришда қўллаш учун компьютер алгоритмларини тузишда эътиборга олинган. Ҳозирда турли компаниялар томонидан яратилган онлайн дастурлаш таъминотлари мавжуд бўлиб, улар CRISPR/ Cas9 ва TALEN тизимларининг потенциал сайтларини танлаш, ҳамда эҳтимолли мақсадсиз эффектларни аниқлаш учун ҳам мўлжалланган. ДНКга боғланувчи домен

деярли бир хил такрорлардан ташкил топган, шунинг учун TALEN ни экспрессия қилувчи генетик конструкция тузишда техник характерга эга муаммоларни ҳал этиш талаб этилади. Бу борада 20-30 ва ундан ортик мономерлардан иборат TALE ДНКга боғланувчи доменларини яратиш имконини берувчи бир қатор усуллар таклиф этилган. Ушба стратегиялардан бири ДНКни II типли рестрикция эндонуклеазалари ва лигирлаш-REAL (REstriction and Ligation) билан гидролизлаш орқали ДНКни стандарт клонлаштиришга асосланган.¹ Бунда биринчи босқичда 5'- ва 3'- охирларидан (учлари) рестрикция эндонуклеаза сайтлари киритилган мономерлар кутубхонаси тайёрланади. ДНК гидролизидан сўнг жуфтликдаги лигирлаш жараёнлари ўтказилади ва бунинг натижасида димерлар (N_1N_2 , N_3N_4 , $N_{2k-1}N_{2k}$) ҳосил бўлади, булар кейинчалик тетрамерларга бирлашади. Бунда тўғри кетма-кетликка турли рестрикция эндонуклеазаларини қўллаш орқали эришилади. Бу усул мураккаб ва узоқ вақт талаб этади, ҳар бир босқичда реакция маҳсулотларини тозалаш ҳамда йўналишнинг тўғрилигини тасдиқлаб бориш ҳам талаб этилади. Бу жараёнларни тезлаштириш мақсадида моно-, ди-, три- ва тетрамерларни ўз ичига олган 376 элементлардан иборат кутубхона яратилган.

Эффективликни ошириш ва йиғиш жараёнларини тезлаштириш мақсадида Golden Gate реакцияси қўлланилади, бу бир реакция аралашмасида бир вақтнинг ўзида лигирлаш ва рестрикция эндонуклеазалари ёрдамида гидролизлаш имконини беради (3-расм).



3-расм. TALEN химерик оқсилларини экспрессияловчи генетик конструкцияларни яратиш учун Golden Gate клонлаш тизими асосида модулли иерархик лигирлаш стратегиясининг схемаси. А- биринчи босқичда деталлар тўпламидан иборат ўзига хос “конструктор”ни тақдим этувчи мономерлар кутубхонаси яратилади. Ушбу деталлар специфик олигонуклеотид праймерлар ёрдамида амплификация қилинган мономерларнинг кетма-кетликларидир. праймерлар шу тарзда тузиладики, IIS типли эндонуклеаза рестрикцияларининг гидролизи натижасида ёпишқоқ учлар ҳосил бўлиши зарур, бу ёпишқоқ учлар тайёр конструкцияда мономер позициясини (жойлашувини) аниқлаб беради. Б- бир Golden Gate реакциясида бир вақтнинг ўзида бир неча мономерларни лигирлаш имконияти бор, буларнинг натижасида оралиқ к-ўлчовли конструкциялар олинади. В- сўнги босқичда Golden Gate реакцияси ўтказилади, бунинг натижасида бир неча оралиқ к-ўлчовли конструкцияларнинг ва TALEN нинг қолган элементларини ўзида тутган “асос” плазмидаларнинг рестрикция ва лигирлаш ҳодисаси содир бўлади.

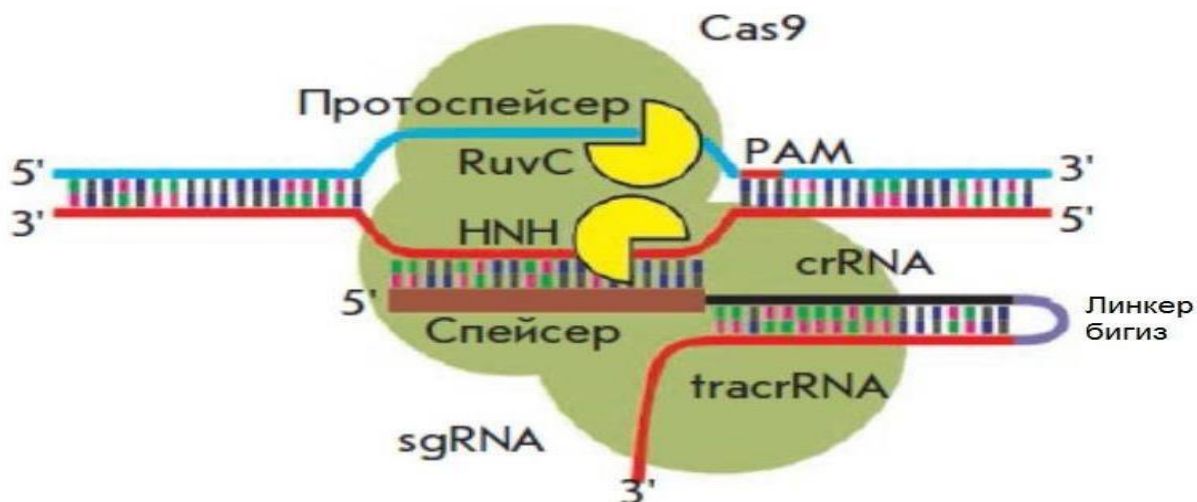
In vitro шароитларда ва бактерия хужайраларида CRISPR/ Cas9 ёрдамида ДНКни қирқиш учун қуйидаги компонентлар талаб этилади ва етарли ҳисобланади: кодирламайдиган РНК tracrRNA ва pre-crRNA, РНКза III ва Cas9 оқсили. Ушбу тизимни сут эмизувчилар хужайраларида қўллаш бир қатор афзалликларни беради.

Биринчидан, SpCase9 (Cas9 *S. pyogenes*) нуклеазаси кодонлар томонидан оптималлаштирилган юқори эукариотлар хужайрасидаги транскрипция жараёнига мослашиши зарур ҳамда ядро компарментализациясини таъминлаш учун ядро локализацияси сигналларини бирлаштириш лозим (NLS- nuclear localization signal). Икки NLS Cas9 ни ядрога самарали (эффектив) йўналтириш учун етарлидир.

Иккинчидан, эукариот хужайраларда pre-crRNA ларни тайёр бўлиши учун экзоген РНКаз III киритилиши талаб этилмайди, чунки бу вазифани ўз хужайра РНКазлари самарали амалга оширади.

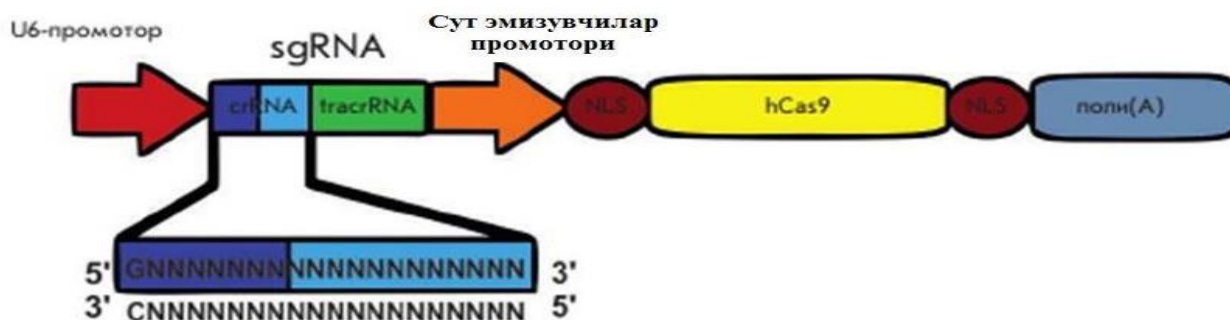
Учинчидан, кодирламайдиган икки РНК ўрнига кўпинча ягона химерик sgRNA киритилади, бунда синтетик структура “бигиз-асос” ёрдамида табиий crRNA-tracrRNA дуплексларни ўрнини босиш мақсадида етук crRNA tracrRNA қисми билан бирлашган бўлади (4-расм). sgRNA транскрипцияси учун мос келувчи промотор талаб этилади, масалан РНК-полимераза III алоқадор U6- промотори.

Фенг Занг (Feng Zhang) лабораториясида дастлабки плазида конструкциялари яратилган бўлиб бу конструкция CRISPR/Cas9 ишлаши учун талаб этиладиган элементларидан ташкил топган. PX260/pX334 плазмидалари таркибида уч экспрессияловчи кассеталар мавжуд бўлиб булар; Cas9-нуклеаза/никаза, CRISPR РНК-матрицаси ва tracrRNA (5-расм). Нишон- кетма-кетлигини ўзгартириш учун бу конструкциядан фақатгина дастлабки 30-нуклеотидли йўналтирувчи изчилликни кесиб олиш талаб этилади. Бу изчилликлар BbsI фланкирланган сайтлар ҳисобланиб, уни сунъий синтез қилинган изчилликлар билан алмаштирилади. Ушбу жараёни амалга ошириш учун мақсадли кетма-кетликка комплементар ва мос равишда ёпишқоқ учларни ўзида тутган 30-аъзоли олигонуклеотидлар бирга эриб ва плазидага лигирланади.



4-расм. Мақсадли (нишонли) локусларга икки занжирли бўшлиқ киритиш учун ягона химерик sgRNA. SgRNA мажмуаси ва Cas9 ДНКнинг танланган сайтларига икки занжирли бўшлиқ киритиш имкониятига эга. SgRNA- сунъий яратилган конструкция бўлиб у ўзи билан РНК нинг бир молекуласига бирлашган CRISPR/Cas9: crRNA-tracrRNA тизимининг элементларини тақдим этади. Протоспейсер - CRISPR/Cas9 тизими танийдиган сайт. Спейсер – sgRNA таркибдаги кетма-кетлик бўлиб, мақсадли сайтнинг ўзаро комплементар боғланиш принципи бўйича боғланишига жавоб беради. RuvC ва HNH – каталитик доменлар бўлиб, ДНК занжирларининг мақсадли сайтларида икки занжирли бўшлиқ киритади. PAM – қисқа мотив (NGG- CRISPR/Cas9 шароитида), унинг мавжудлиги протоспейсернинг 3'- охиридан (учидан) икки занжирли бўшлиқ киритиш талаб этилади.

PX330/pX335 плазмидалари икки экспрессияловчи кассеталарни ўзида туттади: Cas9-нуклеаза/никаза, 85-нуклеотидли tracrRNA ни ўз ичига олган химерик sgRNA. Йўналтирувчи кетма-кетликни алмаштириш принципи ўзгармаган, лекин унинг узунлиги қисқа – 20 нуклеотид, бунда 20-м гуанин бўлиши керак, ҳамда иб-промотор бу асосни транскрипция бошланиш нуқтасида ушлайди. Бундан ташқари бу плазмидаларга 2A-GFP ёки 2A-Puro сайтлари каби қўшимча элементлар киритилиши мумкин, буларнинг вазифаси - плазмидаларни ўзида тутган хужайраларни кейинчалик селекция қилишдан иборат.



5-расм. CRISPR/Cas9 тизимлари элементларини экспрессияловчи генетик конструкция схемаси. hCas9 – эукариот хужайраларда экспрессия қилиш учун оптималлаштирилган Cas9 оксилнинг кетма-кетлиги. sgRNA- фаол бўлиш учун crRNA ва tracrRNA қисмаларини ўзида тутган ягона химерик РНК. NLS – ядро локализацияси сигнали, унинг вазифаси конструкцияларни ядрога тушишини таъминлашдан иборат. Поли (А) – полиаденилланиш сигнали.

Одам, сичқон ва бошқа организмлар хужайра культураларининг трансформацияси учун кўпинча плазмидалардан фойдаланилади, бу плазмидалар cas9 ва in vitro sgRNA нуклеазаларнинг ишлаб чиқарилишини таъминлайди. Бутун организм трансформацияси учун Cas9 мРНК ларига ва

бир хужайрали эмбрионларнинг sgRNA ларига микроинъекция махсус усуллари ишлаб чиқилган. Бу усул сичқон, данио (*Danio rerio*) ва дрозofilаларда фаол қўлланилади. Кенг камровдаги ген нокаут учун sgRNAларнинг катта кутубхоналаридан фойдаланиб лентивирус векторлар қўлланилади. Хужайралари зич хужайра деворига эга ўсимликларда протопластларнинг плазмида трансформация усули ҳамда *Agrobacterium tumefaciens* ёрдамидаги агроинфилтрация усули қўлланилади.

3.2. Геном мухандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши

TALEN ва CRISPR/Cas9 тизимларини яратиш геном мухандислигининг ривожланишида муҳим босқичлардан ҳисобланади. Бу тизимларнинг яратилиши, уларнинг арзон ва содда тузилиши фундаментал ва шу қаторда амалий фанларнинг ривожланишига кучли туртки берди. Бу технологияларни озиқ-овқат, қишлоқ хўжалиги ва тиббиёт каби турли соҳаларда қўлланилиши ҳақиқатдан ҳам ҳайратланарли ютуқларга сабаб бўлмоқда.

Нуклеаза	Объект	Ген	Қўлланиши
	Одам хужайралари (<i>Homo sapiens</i>)	ccr5, akt2, e17k, angpt13, apob, atgl, cborf106, celsr2, cfr, ciita, foxo1, foxo3, gli1, glut4, hbb, hdac1, hdac2, hdac6, hmga2, hoxa13, hoxa9, hoxc13, hpvt, il2rg, jak2, kras, linc00116, maoa, map2k4, mdm2, met, mlh1, msh2, mutyh, myc, mycl1, mycn, nbn, ncor1, ncor2, nlrc5, ntf3, pdgfra, pdgfrb, phf8, plin1, pms2, ppp1r12c (aavs1), ptch1, pten, rara, rbbp5, recql4, ret, runx1, sdhb, sdhc, sdhd, setdb1, sirt6, smad2, sort1, sox2, klf4ss18, suz12, tfe3, tp53, trib1, tsc2, ttn, vhl, xpa, xpc, abl1, alk, apc, atm, axin2, bax, bcl6, bmpr1a, brca1,	нокаут, критиш

TALEN	Ачитки (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	URA3, ADE2, LYS3	нокаут, киритиш
	Нематода (<i>Caenorhabditis elegans</i>)	ben-1, tex-1, sdc-2	нокаут
	Дрозофила (<i>Drosophila melanogaster</i>)	yellow, crhdr1, ponzr1, bmil, cdh5, dip2a, elmo1, epas1b, fh, golden, gria3, hey2, hif1ab, ikzf1, jak3, moesina, myod, phf6, ppp1cab, ryr1a, ryr3, scl6a3, tbx6, tnkb, th, fam46c, smad5	нокаут, киритиш
	Ипак курт (Bombyx mori)	blos2	Нокаут
	Чигиртка (<i>Gryllus bimaculatus</i>)	lac2	нокаут
	Курбака (<i>Xenopus tropicalis</i>)	ets1, foxd3, grp78/bip, hhex, noggin, ptf1a/p48, sox9, vpp1	нокаут
	Сичкон (<i>Mus musculus</i>)	c9orf72, fus, lepr, pak1ip1, gpr55, rprm, fbxo6, smurf1, tmem74, wdr20a, dcaf13, fam73a, mlkl, mstn, pibf1, sepw1, rab38, zic2	нокаут, киритиш
	Каламуш (<i>Rattus norvegicus</i>)	bmpr2, IgM	нокаут
	Чўчка (<i>Sus scrofa</i>)	amely, dmd, gdf8, ggta, ghdrhdr, il2rg, ldlr, rag2, rela (p65), sry	нокаут
	Сигир (<i>Bos taurus</i>)	acan, gdf8, ggta, mstn, prnp	нокаут
	Арабидопсис (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	adh1	нокаут
	Тамаки (<i>Nicotiana benthamiana</i>)	surA, surB, hax3	нокаут, киритиш
	Тороёқ ўти (<i>Brachypodium distachyon</i>)	aba1, cxk2, coi1, hta1, rht, sbp, smc6, spl	нокаут
	Шоли (<i>Oryza sativa</i>)	avrxa7, pthxo3, badh2, ckx2, dep1, sd1	нокаут
CRISPR/ Cas	Ачитки (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	CAN1, ADE2	нокаут, киритиш

Одам хужайралари (Homo sapiens)	dnmt3b-tdTomato, pou5f1(oct4), emx1, dyrk1a, grin2b, egfp, ccr5, c4bpb, pvalb, aavs, akt2, celsr2, ciita, glut4, linc00116, sort1, ldlr	киритиш
Нематода (Caenorhabditis elegans)	dpy-11, unc-4, ben-1, unc-36, daf-2, klp-12, lab-1, egfp, dpy-11, lin-5, rol-1, dpy-3, unc- 1, dpy-13, unc-119, klp-12	нокаут, киритиш
Дрозофила (Drosophila elanogaster)	yellow, white, rosy, cg14251 (k81), cg3708cg17629 (kl-3), light	нокаут, киритиш
Данио (Danio rerio)	etsrp, gata5, etsrp, gsk3b, apoea, fh, fh1, th1, rgs4, tia11, tph1a, drd3, egfp, tyr, gol, mitfa, ddx19, sema3fb, dre-mir-126a, dre-mir- 126b, dre-mir-17a-1– dre-mir-92a-1, dre-mir- 17a-2–dre-mir-92a-2, fgd5, ensdarg00000070653, ensdarg00000076787, psmf1, dre-mir-126a, dre-mir-17a-2, dre-mir- 92a-2, tardbp, tardbpl, c13h9orf72	нокаут, киритиш, хромосомада қайта- қуриш
Курбақа (Xenopus tropicalis)	tyr, six3	нокаут
Чўчка (Sus scrofa)	gdf8, p65	нокаут, киритиш
Сичқон (Mus musculus)	tet1, tet2, tet3, sry, uty, rosa26, hprr, egfp, th, rheb, uhrf2	нокаут, киритиш
Каламуш (Rattus norvegicus)	dnmt1, dnmt3a, dnmt3b, tet1, tet2, tet3, mc3r, mc4r	нокаут, киритиш
Арабидопсис (Arabidopsis thaliana)	pds33, fls2, bri1, jaz1, gaj, chl, chl2, 5g13930	нокаут, киритиш
Тамаки (Nicotiana benthamiana)	pds	нокаут, киритиш
Шоли (Oryza sativa)	ods, badh2, mrk2, 02g2s3w8e2e3t, 1r1o, cs5w, esep1,4 ysa, myb1, cao1, lazy1	нокаут, киритиш

	Бугдой (Triticum aestivum)	mlo	нокаут
--	----------------------------	-----	--------

Аmmo ҳозиргача уларнинг қўлланиши бўйича специфик ва ҳавфсизлигига боғлиқ (ножўя таъсирлари эҳтимоллиги туфайли) бир неча муаммолар очиклигича қолмоқда, масалан, даволашда қўллаш учун организмга қандай киритиш мумкинлиги ва ушбу тизимлардан қайси бири самарали ва ҳавфсиз деган саволлар ҳанузгача очиклигича қолмоқда.

CRISPR/Cas9 технологияси ZFN ва TALEN усулларига нисбатан бир қанча афзалликларга эга, яъни уни яратиш бир мунча осон ва юқори самарадор бўлиб, турли хужайра линиялари ва организмлари геномларида юқори ишлаб чиқариш ва кўп тармоқли таҳрирлаш имкониятига эга.

Бугунги кунда технологияларнинг қайси бирини қўллаш кераклиги бўйича аниқ жавоблар мавжуд эмас. Бу технологияларни жуда яхши тушиниб баҳолаш учун уларни ўз афзалликларига эга кичик деталаригача бир-бирига солиштириб ўрганиш талаб этилади. Шунда ҳам бу саволларга универсал жавоб топиш имкони бўлади дейиш қийин ҳамда ҳар бир конкрет жараён учун турли ҳил вариантларни қўллаш ва уларнинг ичидан мақсад мувофиқларини танлаб олиш керак бўлади.

Назорат саволлари:

1. Геномни таҳрирлаш имконини берувчи қанақа технологиялар мавжуд?
2. Zinc Finger технологияси ҳақида гапириб беринг?
3. TALEN технологияси тўғрисида нималарни биласиз?
4. TALEN технологиясининг ишлаш механизми қанақа?
5. CRISPR технологиясининг мазмун-моҳияти қандай?
6. CRISPR технологиясининг ишлаш механизми қанақа?
7. Геномни таҳрирлаш технологияларининг афзалликлари ва камчиликлари нималардан иборат?
8. Геномни таҳрирлаш технологияларини қайси соҳаларда қўллаш мумкин?
9. Сунъий тузилган геном конструкцияларини организмга киритишнинг қандай усулларини биласиз?

10. Ҳозирги кунда дунё илм-фанида геномни таҳрирлаш технологиялари асосида қанақа тадқиқотлар амалга оширилмоқда (оширилган), нималарга эришилмоқда ва бу ҳақда омманинг фикри қанақа?

IV. АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАРИНИНГ МАЗМУНИ

1-амалий машғулот: Биоинформатиканинг асосий принциплари.

Ишдан мақсад: Геномларни карталаштиришда фойдаланиладиган ДНК маркерлари билан танишиш. Генетик бирикканлик карталарини тузиш дастури JoinMap 3.0 дастурий таъминоти ишлаш принципи билан танишиш. Ассоциацион карталаштириш ва уларнинг турлари LD (Linkage Disequilibrium), QTL (quantitative trait locus) ҳамда NAM (Nested Association Mapping) усуллари иш принциплари билан танишиш.

Масаланинг қўйилиши: Тингловчи амалий машғулотда келтирилган вазибаларни бажариши, таҳлил қилиши ва натижа олиши лозим.

Ишни бажариш учун намуна.

1-вазифа. ДНК маркерлари ёрдамида ПЗР скрининг қилинган маълумотдан фойдаланиб бир авлодга тегишли бўлган индивидларни генотипик баҳоланг ва Microsoft Excel дастури ёрдамида кодланг.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1		Phy_A	Phy_B	Phy_B2	BNL_119	BNL_169	BNL_252	BNL_285	BNL_341	BNL_409	BNL_542	BNL_625	BNL_686	BNL_786	BNL_840
5	1c	b	h	h	a	a	h	h	a	h	h	b	h	b	a
6	2c	a	b	b	a	a	h	h	h	h	2	h	b	h	h
7	3c	a	b	b	b	h	b	h	a	h	b	h	h	b	a
8	4c	a	h	h	b	b	a	h	h	a	h	h	a	a	h
9	5c	b	a	a	h	h	h	a	b	h	h	h	b	h	a
10	6c	h	a	a	h	h	b	b	h	h	h	h	h	h	h
11	7c	h	b	b	a	a	b	b	h	b	a	h	h	b	h
12	9c	a	b	b	h	h	h	h	h	h	h	a	h	h	h
13	10c	b	h	h	a	a	b	a	b	a	h	b	a	h	h
14	11c	h	h	h	b	b	h	h	a	h	b	h	b	h	a
15	12c	h	h	h	h	h	b	b	h	h	a	a	h	a	h
16	13c	h	h	h	h	h	h	h	a	b	a	h	h	h	a
17	14c	h	a	a	h	h	b	b	h	a	h	h	a	a	h
18	15c	h	h	h	h	h	b	a	h	b	h	h	h	h	h
19	16c	a	a	a	a	h	a	h	h	b	b	a	b	a	b
20	17c	h	b	b	h	h	h	b	a	b	h	h	a	b	h
21	18c	b	h	h	h	h	h	h	a	a	h	h	h	a	a
22	19c	h	h	h	h	a	a	h	h	h	h	h	h	a	b
23	20c	b	h	h	a	a	h	h	h	b	h	b	a	h	h
24	21c	h	h	h	a	a	b	h	h	a	h	h	a	a	a
25	22c	a	h	h	a	a	a	h	b	b	h	h	a	b	h
26	23c	h	h	h	h	h	b	h	h	b	b	h	b	h	b

2-вазифа. JoinMap 3.0 дастурида янги лойиҳа яратиб унга кодланган маълумот киритилган файлни юкланг.

JoinMap 3.0 - Photoper_F2_LOD1_LAST

SN	Nr	Locus	Group	LOD	Grouping	Node
1	15	BHL_1679	1	5.0(89)		
2	43	BHL_3835	1	5.0(89)		
3	79	CIR_148	1	5.0(89)		
4	83	CM_85	1	5.0(89)		
5	137	JESPR_270	1	5.0(89)		
6	147	NAU_1237	1	5.0(89)		
7	148	NAU_1278	1	5.0(89)		
8	167	NAU_8047	1	5.0(89)		
9	190	TMB_0799	1	5.0(89)		
10	98	GH_112	2	5.0(184)		
11	98	GH_27	2	5.0(184)		
12	113	GH_98	2	5.0(184)		
13	174	TMB_0184	2	5.0(184)		
14	14	BHL_1685	3	5.0(511)		
15	23	BHL_2765	3	5.0(511)		
16	26	BHL_2872	3	5.0(511)		
17	29	BHL_2960	3	5.0(511)		
18	81	CM_85	3	5.0(511)		
19	2	Phy_B	3	5.0(511)		
20	3	Phy_B2	3	5.0(511)		
21	179	TMB_0307	3	5.0(511)		
22	180	TMB_0325	3	5.0(511)		
23	184	TMB_0380	3	5.0(511)		
24	210	TMB_1745	3	5.0(511)		
25	62	BHL_3992	4	5.0(120)		
26	64	BHL_3995	4	5.0(120)		
27	62	BHL_542	4	5.0(120)		
28	72	CIR_373	4	5.0(120)		
29	84	GH_211	4	5.0(120)		
30	112	GH_83	4	5.0(120)		
31	135	JESPR_241	4	5.0(120)		
32	115	JESPR_85	4	5.0(120)		
33	148	NAU_2001	4	5.0(120)		
34	150	NAU_2140	4	5.0(120)		
35	153	NAU_2296	4	5.0(120)		
36	158	NAU_2014	4	5.0(120)		
37	160	NAU_3212	4	5.0(120)		
38	161	NAU_3225	4	5.0(120)		
39	162	NAU_3589	4	5.0(120)		
40	168	NAU_5015	4	5.0(120)		
41	168	NAU_5148	4	5.0(120)		
42	169	NAU_5160	4	5.0(120)		
43	143	NAU_2811	4	5.0(120)		
44	176	TMB_0191	4	5.0(120)		
45	25	BHL_285	5	5.0(218)		
46	44	BHL_3875	5	5.0(218)		
47	51	BHL_3977	5	5.0(218)		
48	60	BHL_4360	5	5.0(218)		
49	67	BHL_602	5	5.0(218)		
50	76	CM_293	5	5.0(218)		
51	78	CM_3	5	5.0(218)		
52	80	CM_42	5	5.0(218)		
53	85	GH_109	5	5.0(218)		
54	105	GH_71	5	5.0(218)		
55	129	JESPR_218	5	5.0(218)		
56	133	JESPR_236	5	5.0(218)		
57	163	NAU_3835	5	5.0(218)		
58	175	TMB_0189	5	5.0(218)		
59	182	TMB_0268	5	5.0(218)		
60	201	TMB_1489	5	5.0(218)		
61	203	TMB_1599	5	5.0(218)		
62	206	TMB_1645	5	5.0(218)		

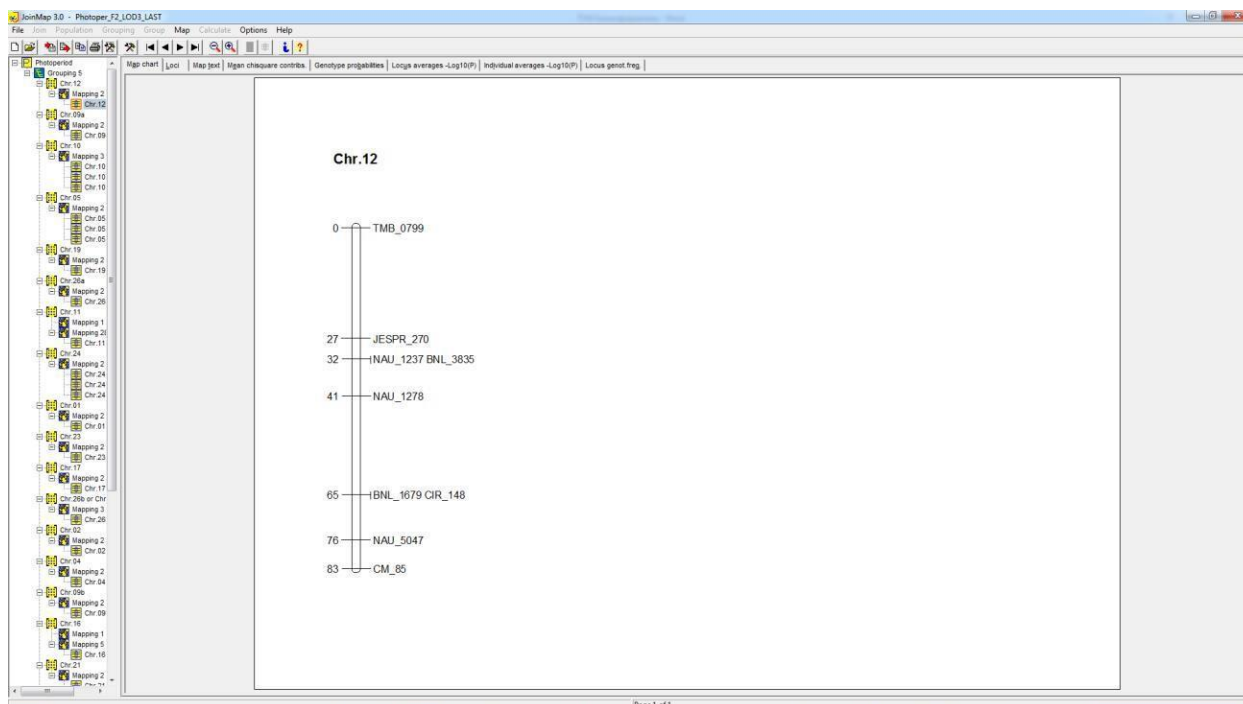
3-вазифа. Хар хил алгоритмлар буйича калкуляциялар ўтказинг.

JoinMap 3.0 - Photoper_F2_LOD1_LAST

LOD thresholds: 2.0 9.0 4.0 6.0 8.0 10.0 7.0 8.0 9.0 10.0

SN	Chr	Locus	Individual penit. freq.	Similarity of loci	Significance of individuals	LOD groupings (text)	LOD groupings (tree)					
43	Chr 12	BHL_3835	1	1	4	8	19	26	28	27	43 BHL_3835	
137	Chr 12	JESPR_270	1	1	4	8	19	26	28	27	137 JESPR_270	
147	Chr 99	NAU_1237	1	1	4	8	19	26	28	27	147 NAU_1237	
148	Chr 99	NAU_1278	1	1	4	8	19	26	28	27	148 NAU_1278	
15	Chr 10	BHL_1679	1	1	4	8	22	20	21	21	26	15 BHL_1679
70	Chr 10	CIR_148	1	1	4	8	22	20	21	21	26	70 CIR_148
83	Chr 95	CM_85	1	1	4	8	22	20	21	21	26	83 CM_85
167	Chr 95	NAU_8047	1	1	4	8	22	20	21	21	26	167 NAU_8047
190	Chr 85	TMB_0799	1	1	4	8	27	40	45	45	65	190 TMB_0799
98	Chr 19	GH_112	1	1	4	18	24	19	20	20	20	98 GH_112
98	Chr 26	GH_27	1	1	4	18	24	19	20	20	20	98 GH_27
113	Chr 26	GH_98	1	1	4	18	24	19	20	20	20	113 GH_98
174	Chr 11	TMB_0184	1	1	4	18	24	19	20	20	20	174 TMB_0184
14	Chr 20	BHL_1665	1	1	7	5	5	4	4	4	4	14 BHL_1665
23	Chr 11	BHL_2705	1	1	7	5	5	4	4	4	4	23 BHL_2705
24	Chr 24	BHL_2872	1	1	7	5	5	4	4	4	4	24 BHL_2872
29	Chr 24	BHL_2960	1	1	7	5	5	4	4	4	4	29 BHL_2960
81	Chr 01	CM_67	1	1	7	5	5	4	4	4	4	81 CM_67
2	Chr 01	Phy_B	1	1	7	5	5	4	4	4	4	2 Phy_B
3	Chr 23	Phy_B2	1	1	7	5	5	4	4	4	4	3 Phy_B2
179	Chr 17	TMB_0307	1	1	7	5	5	4	4	4	4	179 TMB_0307
180	Chr 17	TMB_0325	1	1	7	5	5	4	4	4	4	180 TMB_0325
184	Chr 26 or Chr 26	TMB_0380	1	1	7	5	5	4	4	4	4	184 TMB_0380
210	Chr 26	TMB_1745	1	1	7	5	5	4	4	4	4	210 TMB_1745
62	Chr 02	BHL_3992	1	2	1	1	1	1	1	1	1	62 BHL_3992
64	Chr 02	BHL_3995	1	2	1	1	1	1	1	1	1	64 BHL_3995
62	Chr 04	BHL_542	1	2	1	1	1	1	1	1	1	62 BHL_542
72	Chr 04	CIR_373	1	2	1	1	1	1	1	1	1	72 CIR_373
84	Chr 06	GH_211	1	2	1	1	1	1	1	1	1	84 GH_211
112	Chr 09	GH_83	1	2	1	1	1	1	1	1	1	112 GH_83
135	Chr 16	JESPR_241	1	2	1	1	1	1	1	1	1	135 JESPR_241
115	Chr 16	JESPR_85	1	2	1	1	1	1	1	1	1	115 JESPR_85
148	Chr 21	NAU_2001	1	2	1	1	1	1	1	1	1	148 NAU_2001

4-вазифа. Бириканилик картасида гуруҳларни аниқланг.



5-вазифа. Энди юкорида фойдаланилган индивидлар фенотипик хусусиятлари бўйича (тажриба дафтарида фойдаланиб) фенотипик баҳоланг ва Microsoft Excel дастури ёрдамида кодланг.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
6	1c	120	17	10	10	26	я	4-5	2/0	предел	1	сред	сред	раск	
7	2c	140	7	5	36	42	я	4-5	3/1	не пред	1-2	сред	сред	раск	
8	3c	30	не развивался												
9	4c	110	10	6	18	Опадение плодозлементов				не пред	2-3	слаб	голый	раск	
10	5c	200	10	-	36	45	я	4-5	28/1	не пред	2	сильн	голый	раск	
11	6c	100	вилка		не фотопер.		я	4-5	5/2	не пред	2	сред	голый	раск	
12	7c	140	10	4	26	35	я	4-5	7/0	не пред	1-2	сильн		раск	
13	9c	170	13	4	22	34	я	4-5	8/0	не пред	1-2	сильн	голый	раск	
14	10c	190	8	4	36	43	я	4-5	8/0	не пред	2-3	сильн	голый	раск	
15	11c	130	27	4	3	29	-	-	-	не пред	2	слаб	слаб	раск	
16	12c	110	8	-	26	33		3	1/0	не пред	1	слаб	голый	раск	
17	13c	90	7	3	16	22	ш	4-5	18/2	не пред	1	сред	слаб	раск	
18	14c	150	6	-	36	41	я	4-5	14/0	не пред	1	слаб	слаб	раск	
19	15c	80	7	-	22	28	я	4-5	10/2	не пред	1-2	слаб	голый	раск	
20	16c	100	5	2	24	28	я	4-5	8/1	не пред	1-2	слаб	голый	раск	
21	17c	90	6	5	14	19	я	3-4-5	12/5	не пред	2	сред	голый	раск	
22	18c	180	5	3	40	44	Опадение плодозлементов				сильн	голый	раск		
23	19c	190	25	6	22	46	я	4-5	5/0	не пред	1	сред	голый	раск	
24	20c	170	8	5	26	33	я	4-5	6/0	не пред	1	слаб	голый	раск	
25	21c	50	не развивался												
26	22c	160	7	1	36	42	я	4-5	8/1	не пред	1-2	сред	сильн	раск	

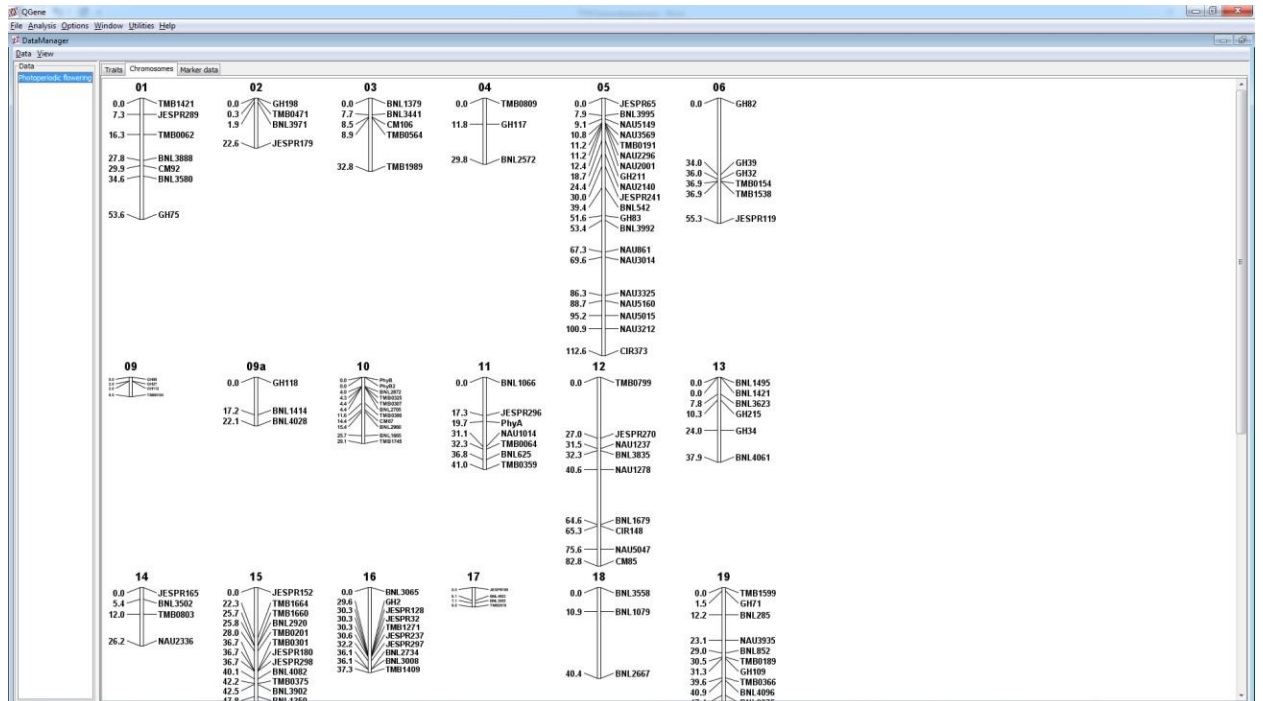
6-вазифа. WinQTL Cartographer 2.5 дастурида янги лойиха яратиб унга JoinMap 3.0 дастурий таъминоти натижасида яратилган файли ва кодланган фенотипик маълумот киритилган файли юкланг.

The screenshot shows the QGene software interface. The top menu bar includes File, Edit, View, Method, Tools, and Help. The main window is divided into several panels:

- Summary information:** Shows file name, ID number, source type, chromosome numbers, and trait numbers.
- Analysis:** Includes a 'GO' button and options for 'Test View' and 'QTL View'.
- Source data manipulations:** Includes buttons for 'Basic Info', 'Individual', 'Chromosome', 'Trait', and 'QTL'.
- Main Text Area:** Contains a QTL analysis result table and various parameters.

Chrom	Map	Pos	Loglik	Loglik - 1.96 SD	Loglik + 1.96 SD	Marker	Distance (cM)	Distance (Mb)
01	15	11.50	11.50	11.50	11.50	GH75	0.0	53.6
02	02	22.6	22.6	22.6	22.6	JESPR179	0.0	22.6
03	03	32.8	32.8	32.8	32.8	TMB1989	0.0	32.8
04	04	29.8	29.8	29.8	29.8	BNL2572	0.0	29.8
05	05	112.6	112.6	112.6	112.6	CIR373	0.0	112.6
06	06	55.3	55.3	55.3	55.3	JESPR119	0.0	55.3
09	09	17.2	17.2	17.2	17.2	GH118	0.0	17.2
09a	09a	22.1	22.1	22.1	22.1	BNL1414	0.0	22.1
10	10	17.3	17.3	17.3	17.3	JESPR296	0.0	17.3
11	11	31.1	31.1	31.1	31.1	PhyA	0.0	31.1
11	11	32.1	32.1	32.1	32.1	NAU1014	0.0	32.1
11	11	36.8	36.8	36.8	36.8	BNL625	0.0	36.8
11	11	41.0	41.0	41.0	41.0	TMB359	0.0	41.0
12	12	27.0	27.0	27.0	27.0	JESPR270	0.0	27.0
12	12	31.5	31.5	31.5	31.5	NAU1237	0.0	31.5
12	12	32.3	32.3	32.3	32.3	BNL3835	0.0	32.3
12	12	40.6	40.6	40.6	40.6	NAU1278	0.0	40.6
14	14	0.0	0.0	0.0	0.0	JESPR155	0.0	0.0
14	14	5.4	5.4	5.4	5.4	BNL3502	0.0	5.4
14	14	12.0	12.0	12.0	12.0	TMB0803	0.0	12.0
14	14	26.2	26.2	26.2	26.2	NAU2336	0.0	26.2
15	15	22.3	22.3	22.3	22.3	JESPR152	0.0	22.3
15	15	25.7	25.7	25.7	25.7	TMB1664	0.0	25.7
15	15	29.0	29.0	29.0	29.0	TMB1660	0.0	29.0
15	15	28.0	28.0	28.0	28.0	JESPR209	0.0	28.0
15	15	36.7	36.7	36.7	36.7	TMB0201	0.0	36.7
15	15	36.7	36.7	36.7	36.7	TMB0301	0.0	36.7
15	15	36.7	36.7	36.7	36.7	JESPR180	0.0	36.7
15	15	36.7	36.7	36.7	36.7	JESPR298	0.0	36.7
15	15	40.1	40.1	40.1	40.1	BNL4002	0.0	40.1
15	15	42.2	42.2	42.2	42.2	TMB0375	0.0	42.2
15	15	42.5	42.5	42.5	42.5	BNL3902	0.0	42.5
15	15	47.6	47.6	47.6	47.6	BNL4566	0.0	47.6
16	16	29.6	29.6	29.6	29.6	BNL3065	0.0	29.6
16	16	30.3	30.3	30.3	30.3	GH2	0.0	30.3
16	16	30.3	30.3	30.3	30.3	JESPR128	0.0	30.3
16	16	30.3	30.3	30.3	30.3	JESPR132	0.0	30.3
16	16	30.3	30.3	30.3	30.3	TMB1277	0.0	30.3
16	16	30.3	30.3	30.3	30.3	JESPR217	0.0	30.3
16	16	32.2	32.2	32.2	32.2	JESPR297	0.0	32.2
16	16	36.1	36.1	36.1	36.1	BNL2734	0.0	36.1
16	16	36.1	36.1	36.1	36.1	BNL3000	0.0	36.1
16	16	37.3	37.3	37.3	37.3	TMB1409	0.0	37.3
17	17	0.0	0.0	0.0	0.0	GH109	0.0	0.0
17	17	0.0	0.0	0.0	0.0	TMB0366	0.0	0.0
17	17	0.0	0.0	0.0	0.0	BNL4096	0.0	0.0
18	18	10.9	10.9	10.9	10.9	BNL3550	0.0	10.9
18	18	10.9	10.9	10.9	10.9	BNL1079	0.0	10.9
18	18	40.4	40.4	40.4	40.4	BNL2667	0.0	40.4
19	19	23.1	23.1	23.1	23.1	TMB1599	0.0	23.1
19	19	1.5	1.5	1.5	1.5	GH17	0.0	1.5
19	19	12.2	12.2	12.2	12.2	BNL285	0.0	12.2
19	19	29.0	29.0	29.0	29.0	BNL852	0.0	29.0
19	19	30.5	30.5	30.5	30.5	TMB0189	0.0	30.5
19	19	31.3	31.3	31.3	31.3	GH109	0.0	31.3
19	19	39.6	39.6	39.6	39.6	TMB0366	0.0	39.6
19	19	40.9	40.9	40.9	40.9	BNL4096	0.0	40.9

7-вазифа. Энди 6-вазифа бўйича тажрибаларни QGene 4.3.10 дастурида бажаринг. QGene 4.3.10 да янги лойиҳа яратиб унга JoinMap 3.0 дастурий таъминоти натижасида яратилган файлни ва кодланган фенотипик маълумот киритилган файлни юкланг. Бирикканлик карталарини текшириб олинг.



Назорат саволлари:

1. Карталаштириш ҳақида нималарни биласиз?
2. Бирикканлик карталари деганда нимани тушунасиз?
3. Геном карталари нималар ҳақида маълумотлар беради?
4. QTL карталаштиришда фойдаланиладиган қандай биоинформатик дастурларни биласиз?

2-Амалий машғулот.**Геномни таҳрирлаш технологиялари.**

Ишдан мақсад: Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базаси (EMBL, DDBJ, NCBI, UniGene, STACK, EMBL-SVA) ресурслари билан танишиш. Геном маълумотлар базаси (Genomes Server, Proteome Analysis, Ensembl) ресурслари билан танишиш. Оқсил кетма-кетликлари маълумотлар базаси ҳамда аминокислота кетма-кетликлари маълумотлар базаси (UniProtKB/Swiss-Prot, GOA, ENZYME) ресурслари билан танишиш. NCBI маълумотлар базаси BLAST таҳлили ва Ugene 1.21.0 дастурий таъминотидан фойдаланиб генларни анотация қилишни ўрганиш.

Масаланинг қўйилиши: Тингловчи амалий машғулотда келтирилган вазифаларни бажариши, таҳлил қилиши ва натижа олиши лозим.

Ишни бажариш учун намуна.

1-вазифа. 1-амалий машғулот натижасида аниқланган QTL маркерининг *G.hirsutum* ғўза тури тўлиқ геномидан фойдаланиб In silico PCR алгоритми билан Ugene 1.21.0 дастурида тегишли ДНК кетма-кетлигини аниқланг.

The screenshot displays a workflow editor with the following steps:

- Read Sequence:** Прочитать последовательности олигонуклеотидов из файла или программы x 1.0.0
- Последовательности:** Последовательности
- In Silico PCR:** Интерпретировать PCR для последовательности из Read Sequence или программы из NCBI BLAST
- Write Sequence:** Сохранить все последовательности из In Silico PCR в файл (или последовательности)

Parameters for the In Silico PCR step:

- Имя: **Д. Шварц**
- Путь до отчета: **GENOME SEQUENCE/BNL840.fa**
- Несоответствие: **3**
- Максимальная длина: **15**
- Максимальная длина продукта: **5000**
- Объект: **объекты**

```

1 LOCUS scaffold14921.1:1473505-473754 250 bp 13-NOV-2015
2 UNIMARK scaffold14921.1:1473505-473754 features
3 scaffold14921.1:1473505-473754
4 FEATURES Location/Qualifiers
5     misc_feature 1..20
6     /note="primer"
7     misc_feature complement(231..250)
8     /note="primer"
9 ORIGIN
10      1 GATGACCTCG AAAAAGGATG GGGTCCGATT CAGGTAAATT ACAATACATG ATACATACAT
11      61 AATACACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG
12      121 AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG AATACATG
13      181 AATGTTGTTT ATACACACAA GACCGGAAAC CATTACTAC AGTGGCGTGT GGAAGAATG
14      241 GAGACCTTGA
15
16
  
```

2-вазифа. In silico PCR маҳсулотидан олинган ДНК кетма-кетлигини NCBI маълумотлар базасига юкланг.

The screenshot shows the NCBI Nucleotide database entry for the Gossypium hirsutum cultivar TM1 vacuolar invertase 1 (VaciInv1) gene, complete cds. The entry includes the following information:

- GenBank:** GU252170.1
- FASTA:** [FASTA](#) [Graphics](#)
- LOCUS:** GU252170 5265 bp DNA linear PLN 02-NOV-2010
- DEFINITION:** *Gossypium hirsutum* cultivar TM1 vacuolar invertase 1 (VaciInv1) gene, complete cds.
- ACCESSION:** GU252170
- VERSION:** GU252170.1 GI:310722910
- KEYWORDS:**
- SOURCE:** *Gossypium hirsutum* (upland cotton)
- ORGANISM:** *Gossypium hirsutum*
Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetalae; rosids; malvales; Malvaceae; Malvoideae; *Gossypium*.
- REFERENCE 1 (bases 1 to 5265):**
Tallerico, E., Scheffler, J. and Scheffler, B. Characterization of two cotton (*Gossypium hirsutum* L.) invertase genes. *Mol. Biol. Rep.* 37 (8), 3915-3920 (2010)
- REFERENCE 2 (bases 1 to 5265):**
Tallerico, E. Direct Submission. Submitted (01-DEC-2009) USDA/ARS, 3127 Ligon St, Raleigh, NC 27695, USA
- FEATURES:**
 - source** Location/Qualifiers
1..5265
/organism="Gossypium hirsutum"
/mol_type="genomic DNA"
/cultivar="TM1"
/db_xref="taxon:3635"
1869..5265
/gene="VaciInv1"
 - gene** /note="GhVaciInv1"
 - mRNA** join(1869..2342,2520..2528,3237..4096,4192..4353,4436..4659,4741..4828,4962..5265)

5-вазифа. Тегишли (мос келувчи) ген/оқсил ёки локус кетма-кетликларини Ugene 1.21.0 дастурида ҳам таҳлил қилиб кўринг.

The screenshot shows the UGENE 1.21.0 software interface. The main window displays the sequence analysis of the Gossypium hirsutum cultivar TM1 vacuolar invertase 1 (VaciInv1) gene. The sequence is shown in the main window, and the analysis results are displayed in the bottom panel. The results show the gene structure with exons and introns, and the protein sequence. The protein sequence is shown in the bottom panel, and the analysis results are displayed in the bottom panel.

Мустақил таълим мавзулари:

- 1) 1 ва 16 капиллярли ABI Prizm 3100, ABI Prizm 3130 секвенаторлар ишлаш Принциплари.
- 2) Интернет тармоғида нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базасида ишлаш ва гомолог генларни топиш.
- 3) янги авлод секвенатори Roche/454 Life Sciences нинг ишлаш принципи.
- 4) UGene генларни аннотациялаш биоинформатик дастури билан ишлаш ва In silico PCR ўтказиш.
- 5) “Одам геноми” лойиҳаси.
- 6) Оксил кетма-кетликларини қиёслаш.
- 7) NCBI, ENTREZ ва BLAST – мақсади ва вазифалари.
- 8) Филогенетик шажаралар яратиш бўйича дастурий таъминотлар.
- 9) Тиббиёт геномикаси, ген диагностикаси ва генотерапия. Фармакоинформатика.
- 10) Биополимерлар фазовий структураси.

V. ГЛОССАРИЙ

Термин	Ўзбек тилидаги шарҳи	Инглиз тилидаги шарҳи
Аллель	Ген. Генлар ҳолатининг бири. Масалан: А ёки а.	One of several alternative forms of a gene that occur at a given locus on a chromosome. Most often there are two paired copies of a gene on homologous chromosomes. For each of your gene you get one copy (allele) from each parent. They may be nearly identical in DNA sequence or have slight variations (i.e. mutations).
Аминокислота	Органик кислота молекуласида бир ёки бир нечта водород атомини аминогруппа NH ₂ га алмашинишидан ҳосил бўлади. Бунда NH ₂ группа кўпинча карбоксил гурпуага кўшни углерод (альфа (α) углерод) атомининг водороди ўрнига киради ва α аминокислота ҳосил бўлади.	Any of a class of 20 molecules that are combined to form proteins in living things. The sequence of amino acids in a protein and hence protein function are determined by the genetic code
Антикодон	т РНК ўрта қисмидаги 3 та нуклеотид (триплет)дан иборат, и РНК нинг кодониға мос келади. Кодон ва антикодон комплементар бўлса, т РНК олиб келган аминокислота рибосоманинғ катта бирлиғида қолдирилади ва синтезланаётган занжириға уланади.	An anticodon is a unit made up of three nucleotides that correspond to the three bases of the codon on the mRNA. Each tRNA contains a specific anticodon triplet sequence that can base-pair to one or more codons for an amino acid. Some anticodons can pair with more than one codon due to a phenomenon known as wobble base pairing.

Биополимерлар	Юқори молекулали табиий брикмалар (оксиллар, нуклеин кислоталар, полисахаридлар) бўлиб, молекуласи кўп мартаба такрорланадиган кичик молекулали мономер ёки улар қисмларидан иборат.	Polymers produced by living organisms; in other words, they are polymeric biomolecules.
Генеалогия	«Genealogia» - сўздан олинган бўлиб, шажара деган маънони билдиради. Одамнинг бирор белги- хоссасининг авлодларда ирсийланишини тадқиқ этади.	Genealogy is a family history, is the study of families and the tracing of their lineages and history.
Генетик инженерия	Ген муҳандислиги рекомбинант ДНКлар технологияси. Генетик ва биокимёвий усуллар ёрдамида организм ёки ҳужайра биологик ахборотни ўзгартириш билан табиатда учрамайдиган, янги хусусиятга эга бўлган генлар тўпламини ва шу асосда янги штамм, нав ва зотларни яратиш.	Modification of the natural DNA sequence of a gene or genes. Genetic engineering is the basis of the modern biotechnological revolution, to which we owe such inventions as insulin-producing bacteria.
Генетик код	Нуклеин кислоталар молекуласида ирсий ахборотнинг нуклеотидлар кетма-кетлигида берилишидан иборат. Генетик код 3та харф нуклеотиддан иборат бўлади. Бу триплет дейилади.	Three bases (e.g. 5'CGC3') in a DNA or RNA sequence specify a codon, which codes for an amino acid (e.g. arginine) in a protein. Genes are frequently tens of thousands of base-pairs long. Usually the codons of an exon are in phase within an uninterrupted open reading frame giving rise to long chains of amino acids after

<p>Генлар дрейфи (генетик автоном жараёнлар)</p>	<p>Тасодифий омиллар таъсирида кичик популяцияларда генлар учраш тезлигининг ўзгариши. Одатда популяцияларда ирсий ўзгарувчанлик камайишга олиб келади. Қариндош-уруғлар орасидаги никоҳлар ортиб кетганида бу ҳолат кучаяди. Бунда популяцияда селектив аҳамияти бўлмаган генлар сақланиб қолиши ва кўпайиши мумкин.</p>	<p>Practice of "stimulating biased inheritance of particular genes to alter entire populations. It has been proposed as a technique for changing wild populations of harmful organisms such as mosquitoes to be less dangerous.</p>
<p>Геном</p>	<p>Генлар йиғиндиси. Хромосомаларнинг гаплоид тўплами. Геномнинг генотипдан фарқи шундаки, у айрим зот ёки навни эмас, балки бир турни характерлаб беради.</p>	<p>A complete set (n) of chromosomes (hence, of genes) inherited as a unit from one parent plus one sex chromosome from the other parent in heterogametic individuals. The full genome sequences are available for hundreds of bacteria and viruses, human, and model organisms like mouse, frog, worm and fruit flies.</p>
<p>Генотип</p>	<p>Организмнинг ирсий асоси. Диплоид тўпландаги барча генлар йиғиндиси.</p>	<p>the part (DNA sequence) of the genetic makeup of a cell, and therefore of an organism or individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/individual. Genotype is one of three factors that determine phenotype, the other two being inherited epigenetic factors, and non- inherited environmental factors.</p>

Гомологик хромосома	Катталиги, шакли, генлари бир хил бўлган жуфт хромосомалар.	A couple of homologous chromosomes, or homologs, are a set of one maternal and one paternal chromosomes that pair up with each other inside a cell during meiosis.
ДНК	Дезоксирибонуклеин кислота. Фақат одамдагина эмас, балки барча бошқа эукариотларда, шунингдек, прокариотларда ирсий ахборот сақловчи саналади.	The molecule that encodes genetic information. DNA is a double-stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of nucleotides. the four nucleotides in dna contain the bases stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of nucleotides. The four nucleotides in DNA contain the bases: adenine (A), guanine (G), cytosine (C), and thymine (T). In nature, base pairs form only between A and T and between G and C; thus the base sequence of each single strand can be deduced from that of its partner.
иРНК	информацион РНК. У ўзида ДНК дан кўчириб олинган ахборотни сақлайди ва оксил синтези жараёнида матрица (қолип, андаза) вазифасини бажаради. Шунинг учун у и- РНК, матрица-РНК си деб ҳам юритилади.	RNA that serves as a template for protein synthesis.
Интрон	и РНК ниг «ахборотсиз» қисмлар йиғиндиси.	The DNA base sequences interrupting the protein-coding sequences of a gene; these sequences are transcribed into RNA but are cut out of the message before it is translated into protein. Compare exons.

Ирсият	Ирсийланиш жараёни орқали организмларнинг авлодлар алмашиниши давомида ирсий маълумотларни авлоддан-авлодга ўтказиш жараёни.	The passing of familial elements from one generation to the next.
Модификатор генлар	Организмдаги белги ва хусусиятларнинг ривожланишида иштирок этмай, балки бошқа асосий генларнинг таъсирини ўзгартирувчи, яъни бевосита эмас, билвосита таъсир этувчи генлардир.	Genes that have small quantitative effects on the level of expression of another gene
Нуклеин кислота	Юқори молекуляр биополимер бўлиб, жуда кўп мономерлардан тузилган органик бирикма. Унинг мономерини нуклеотидлар бўлиб, нуклеин кислота полинуклеотид ҳисобланади.	A large molecule composed of nucleotide subunits.
Пиримидин	ДНК нинг биринчи занжиридаги пурин азотли асосига комплементар ҳолатда 2 чи занжирида жойлашган азотли асос.	Nitrogen-containing organic bases made from a single ring structure. Includes cytosine and thymine (DNA) and uracil (RNA) that base-pair with purines to form the rungs in the DNA double helical ladder.
Полиморфизм	Кўп шакллилик бир тур доирасида бир-биридан кескин фарқ қилувчи индивидларнинг мавжудлиги.	A Difference in DNA sequence among individuals. Genetic variations occurring in more than 1% of a population would be considered useful polymorphisms for genetic linkage analysis. Compare mutation.

Промотор	Оперондан олдинда жойлашган триплет гуруҳларидан бири бўлиб, РНК ва ДНК синтезини катализловчи РНК полимераза билан бирикиш хусусиятига эга.	A site on DNA to which RNA polymerase will bind and initiate transcription.
Пурин	Кўш занжирли ДНК молекуласининг 1-занжирида аденин ва тиминдан иборат асос. Комплементарлик қоида­сига биноан 1-занжирдаги пурин асоси қаршисида 2-занжирда пиримидин асоси туради.	A nitrogen-containing, single-ring, basic compound that occurs in nucleic acids. The purines in DNA and RNA are adenine and guanine.
рРНК	РНКлар рибосоманинг ҳар иккала суббирликлари таркибида бўлади.	A class of RNA found in the ribosomes of cells.
тРНК	Транспорт рибонуклеин кислота. РНК полимераза ферменти иштирокида ДНК матри­ца­си­да синтезланади. тРНК қуйи молекуляр массага эга бўлиб, 75-85 нуклеотиддан ташкил топган. У беда барги типидagi кўринишда бўлади. Рибосомаларга аминокислоталарни ташиш вазифасини ўтайди.	A class of RNA having structures with triplet nucleotide sequences that are complementary to the triplet nucleotide coding sequences of mRNA. The role of tRNAs in protein synthesis is to bond with amino acids and transfer them to the ribosomes, where proteins are assembled according to the genetic code carried by mRNA.

Урацил	Пиримидин асослари; РНК ва эркин нуклеотидлар таркибига киради.	A common pyrimidine found in RNA, it base pairs with adenine and is replaced by thymine in DNA. Methylation of uracil produces thymine. It turns into thymine to protect the DNA and to improve the efficiency of DNA replication. Uracil can base pair with any of the bases depending on how the molecule arranges itself on the helix, but readily pairs with adenine because the methyl group is repelled into a fixed position.
Цитозин	Нуклеин кислоталарнинг таркибий қисми бўлган нуклеотидларни ҳосил қилувчи 4 та азотли асоснинг биттаси. Комплементарлик принципига асосан цитозинли азотли асос қаршисида гуанин азотли асос туради.	Pyrimidine base found in RNA and DNA. Cytosine (C ₄ H ₅ N ₃ O) forms base-pairs with guanine only. It may become methylated where it occurs consecutively to guanine in the DNA sequence (see 5- methylcytosine).
Экзон	Ген (ДНК)нинг генетик ахборотга эга бўлган аминокислоталар кетма-кетлигини ифодаловчи (кодловчи) қисми. Экзонлар интрон билан галлашиб туради.	The protein-coding DNA sequences of a gene. Compare introns.
Экспрессия	Намоён бўлиш - муайян ген томонидан аниқланувчи белгининг фенотипда организмнинг яшаш шароитига қараб намоён бўлиш даражаси.	Production of observable/detectable characteristics of an organism, usually due to the synthesis of protein.

VI. АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

I. Ўзбекистон Республикаси Президентининг асарлари

1. Мирзиёев Ш.М. Буюк келажакимизни мард ва олижаноб халқимиз билан бирга қураимиз. – Т.: “Ўзбекистон”, 2017. – 488 б.
2. Мирзиёев Ш.М. Миллий тараққиёт йўлимизни қатъият билан давом эттириб, янги босқичга кўтарамиз. 1-жилд. – Т.: “Ўзбекистон”, 2017. – 592 б.
3. Мирзиёев Ш.М. Халқимизнинг розилиги бизнинг фаолиятимизга берилган энг олий баҳодир. 2-жилд. Т.: “Ўзбекистон”, 2018. – 507 б.
4. Мирзиёев Ш.М. Нияти улуғ халқнинг иши ҳам улуғ, ҳаёти ёруғ ва келажак фааровон бўлади. 3-жилд.– Т.: “Ўзбекистон”, 2019. – 400 б.
5. Мирзиёев Ш.М. Миллий тикланишдан – миллий юксалиш сари. 4-жилд.– Т.: “Ўзбекистон”, 2020. – 400 б.

II. Норматив-ҳуқуқий ҳужжатлар

6. Ўзбекистон Республикасининг Конституцияси. – Т.: Ўзбекистон, 2018.
7. Ўзбекистон Республикасининг 2020 йил 23 сентябрда қабул қилинган “Таълим тўғрисида”ги ЎРҚ-637-сонли Қонуни.
8. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2012 йил 10 декабрдаги “Чет тилларни ўрганиш тизимини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-1875-сонли қарори.
9. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2015 йил 12 июнь “Олий таълим муассасаларининг раҳбар ва педагог кадрларини қайта тайёрлаш ва малакасини ошириш тизимини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПФ-4732-сонли Фармони.
10. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февраль “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги 4947-сонли Фармони.
11. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 20 апрель "Олий таълим тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-2909-сонли қарори.
12. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 21 сентябрь “2019-

2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини инновацион ривожлантириш стратегиясини тасдиqlаш тўғрисида”ги ПФ-5544-сонли Фармони.

13. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 27 май “Ўзбекистон Республикасида коррупцияга қарши курашиш тизимини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПФ-5729-сон Фармони.

14. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 17 июнь “2019-2023 йилларда Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университетиде талаб юқори бўлган малакали кадрлар тайёрлаш тизимини тубдан такомиллаштириш ва илмий салоҳиятини ривожлантири чора-тадбирлари тўғрисида”ги ПҚ-4358-сонли Қарори.

15. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 27 август “Олий таълим муассасалари раҳбар ва педагог кадрларининг узлуксиз малакасини ошириш тизимини жорий этиш тўғрисида”ги ПФ-5789-сонли Фармони.

16. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 8 октябрь “Ўзбекистон Республикаси олий таълим тизимини 2030 йилгача ривожлантириш концепциясини тасдиqlаш тўғрисида”ги ПФ-5847-сонли Фармони.

17. Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2019 йил 23 сентябрь “Олий таълим муассасалари раҳбар ва педагог кадрларининг малакасини ошириш тизимини янада такомиллаштириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида”ги 797-сонли қарори.

Ш. Махсус адабиётлар

18. Асекретов О.К., Борисов Б.А., Бугакова Н.Ю. и др. Современные образовательные технологии: педагогика и психология: монография. – Новосибирск: Издательство ЦРНС, 2015. – 318 с. <http://science.vvsu.ru/files/5040BC65-273B-44BB-98C4-CB5092BE4460.pdf>

19. Белогуров А.Ю. Модернизация процесса подготовки педагога в контексте инновационного развития общества: Монография. — М.: МАКС Пресс, 2016. — 116 с. ISBN 978-5-317-05412-0.

20. Гулобод Қудратуллоҳ кизи, Р.Ишмухамедов, М.Нормухаммедова. Анъанавий ва ноанъанавий таълим. – Самарқанд: “Имом Бухорий халқаро илмий-тадқиқот маркази” нашриёти, 2019. 312 б.
21. Давронов Қ.Д. Биотехнология: илмий, амалий, услубий асослари. Тошкент. 2008. – 504 бет.
22. Мусаев Д.А., Турабеков Ш., Саидкаримов А.Т., Алматов А.С., Раҳимов А.К. Генетика ва селекция асослари. Тошкент. 2011. 485 б.
23. Муслимов Н.А ва бошқалар. Инновацион таълим технологиялари. Ўқув-методик қўлланма. – Т.: “Sano-standart”, 2015. – 208 б.
24. Усмонов Б.Ш., Ҳабибуллаев Р.А. Олий ўқув юртларида ўқув жараёнини кредит-модуль тизимида ташкил қилиш. Ўқув қўлланма. Т.: “Tafakkur” нашриёти, 2020 й. 120 бет.
25. Каменская Г.И. Биоинформатика. Москва. 2008.
26. Креативная педагогика. Методология, теория, практика. / под. ред. Попова В.В., Круглова Ю.Г.-3-е изд.–М.: “БИНОМ. Лаборатория знаний”. 2012. – 319 с.
27. Олий таълим тизимини рақамли авлодга мослаштириш концепцияси. Европа Иттифоқи Эрасмус+ дастурининг кўмагида. https://hiedtec.ecs.uniruse.bg/pimages/34/3._UZBEKISTAN-CONCEPT-UZ.pdf
28. Попов В.В. Геномика с молекулярно-генетическими основами.Изд. Либроком, 2014. 304 с.
29. Рахимов А.К. Эволюцион таълимот. Электрон дарслик. Интеллектуал мулк агентлиги. N DGU 04588. Тошкент 2017.
30. Леск А.М. Введение в биоинформатику /Introduction to Bioinformatics / пер. с англ. под ред. А.А.Миронова, В. К. Швядаса. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 318, [2] с. : цв. ил, рис.
31. Льюин Б. Гены. Пер. с англ. – М.: Бином, 2012. 400 с.
32. Игнатова Н. Ю. Образование в цифровую эпоху: монография. М-во образования и науки РФ. – Нижний Тагил: НТИ (филиал) УрФУ, 2017. – 128 с. http://elar.urfu.ru/bitstream/10995/54216/1/978-5-9544-0083-0_2017.pdf

33. Neal C. Stewart, Jr. Plant biotechnology and genetics: principles, techniques, and applications John Wiley & Sons, Inc. 2008. —416 p.
34. Natalie Denmeade. Gamification with Moodle. Packt Publishing – ebooks Account 2015. - 134 pp.
35. Neal C. Stewart, Jr. Plant biotechnology and genetics: principles, techniques, and applications John Wiley & Sons, Inc. 2008.—416 p.
36. Paul Kim. Massive Open Online Courses: The MOOC Revolution. Routledge; 1 edition 2014. - 176 pp.
37. William Rice. Moodle E-Learning Course Development - Third Edition. Packt Publishing - ebooks Account; 3 editions 2015. - 350 pp.
38. English for academics. Cambridge University Press and British Council Russia, 2014. Book 1,2.
39. Reiss M. J. Journal of Biological Education: A Personal Reflection on its First 50 Years Journal of Biological Education, 2016 Vol. 50, No. 1.

IV. Интернет сайтлар

40. <http://edu.uz> – Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлиги
41. <http://lex.uz> – Ўзбекистон Республикаси Қонун ҳужжатлари маълумотлари миллий базаси
42. <http://bimm.uz> – Олий таълим тизими педагог ва раҳбар кадрларини қайта тайёрлаш ва уларнинг малакасини оширишни ташкил этиш бош илмий-методик маркази
43. www.ziyonet.uz – Таълим портали
44. <http://biologymoscow.narod.ru>
45. <http://www.molbiol.ru>
46. <http://www.ctic.purdue.edu/CTIC/Biotech>.
47. <http://www.nysipm.cornell.edu/>