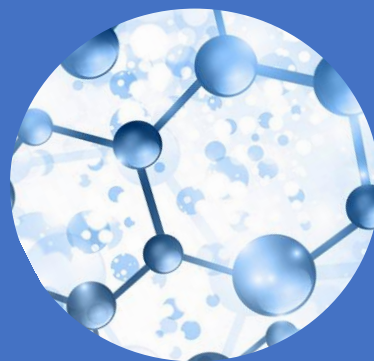


**TOSHKENT KIMYO - TEXNOLOGIYA INSTITUTI
HUZURIDAGI PEDAGOG KADRLARNI QAYTA
TAYYORLASH VA MALAKASINI OSHIRISH
TARMOQ MARKAZI**



BIOTEXNOLOGIYA
yoʻnalishi

**TOSHKENT
KIMYO-TEXNOLOGIYA
INSTITUTI**

**«GEN MUHANDISLIGI
VA NANOBIOLOGIYA»
moduli boʻyicha**

OʻQUV - USLUBIY MAJMUA

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA MAXSUS TA‘LIM
VAZIRLIGI**

**OLY TA‘LIM TIZIMI PEDAGOG VA RAHBAR KADRLARINI
QAYTA TAYYORLASH VA ULARNING MALAKASINI OSHIRISHNI
TASHKIL ETISH BOSH ILMIY - METODIK MARKAZI**

**TOSHKENT KIMYO-TEXNOLOGIYA INSTITUTI HUZURIDAGI
PEDAGOG KADRLARNI QAYTA TAYYORLASH MALAKASINI
OSHIRISH TARMOQ MARKAZI**

BIOTEXNOLOGIYA

yo‘nalishi

**«GEN MUHANDISLIGI
VA NANOBIOLOGIYA»**

moduli bo‘yicha

O‘QUV-USLUBIY MAJMUA

TOSHKENT - 2021

Mazkur o'quv-uslubiy majmua Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 2020 yil 7 dekabrda 648-sonli buyrug'i bilan tasdiqlangan o'quv reja va dastur asosida tayyorlandi.

Tuzuvchi: **T.O. Qarshiev** - M.V. Lomonosov nomidagi Moskva davlat universiteti Toshkent shahridagi filiali o'quv va ilmiy ishlar bo'yicha direktor o'rinbosari, Toshkent kimyo-texnologiya institutining «Biotexnologiya» kafedrasida dotsent, biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim, dotsent

Taqrizchi: **A.A. Sakovich** - Belorussiya davlat texnologiya universiteti, (Belorussiya Respublikasi), t.f.n., dotsent

S.N. Rishov - Belorussiya davlat texnologiya universiteti, (Belorussiya Respublikasi), t.f.n., dotsent

Ishchi o'quv dasturi Toshkent kimyo-texnologiya instituti Kengashining 2020 yil 30 dekabrda 4 - sonli qarori bilan nashrga tavsiya qilingan

MUNDARIJA

I. ISHCHI DASTUR.....	5
II. MODULNI O‘QITISHDA FOYDALANILADIGAN INTERFAOL TA‘LIM METODLARI.....	15
III. NAZARIY MATERIALLAR.....	19
IV. AMALIY MASHG‘ULOT MATERIALLARI.....	131
V. KEYSLAR BANKI.....	161
VI. MUSTAQIL TA‘LIM MAVZULARI.....	178
VII. BITIRUV MALAKAVIY ISH MAVZULARI.....	180
VIII. GLOSSARIY.....	182
IX. ADABIYOTLAR RO‘YXATI.....	207
X. MUTAXASSIS TOMONIDAN BERILGAN TAQRIZ.....	211

I. ISHCHI O‘QUV DASTURI

Kirish

Dastur rivojlangan mamlakatlardagi xorijiy tajribalar asosida “Kimyoviy texnologiyalar” qayta tayyorlash va malaka oshirish yo‘nalishi bo‘yicha ishlab chiqilgan o‘quv reja va dastur mazmunidan kelib chiqqan holda tuzilgan bo‘lib, u zamonaviy talablar asosida qayta tayyorlash va malaka oshirish jarayonlarining mazmunini takomillashtirish hamda oliy ta’lim muassasalari pedagog kadrlarining kasbiy kompetentligini muntazam oshirib borishni maqsad qiladi. Dastur mazmuni oliy ta’limning normativ-huquqiy asoslari va qonunchilik normalari, ilg‘or ta’lim texnologiyalari va pedagogik mahorat, ta’lim jarayonlarida axborot-kommunikatsiya texnologiyalarini qo‘llash, amaliy xorijiy til, tizimli tahlil va qaror qabul qilish asoslari, maxsus fanlar negizida ilmiy va amaliy tadqiqotlar, texnologik taraqqiyot va o‘quv jarayonini tashkil etishning zamonaviy uslublari bo‘yicha so‘nggi yutuqlar, global Internet tarmog‘i, multimedia tizimlari va masofadan o‘qitish usullarini o‘zlashtirish bo‘yicha yangi bilim, ko‘nikma va malakalarini shakllantirishni nazarda tutadi.

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani zamonaviy biotexnologik usullari yordamida turli organizm hujayralariga boshqa genlarini kiritish va mazkur genlarning mahsulotlarini olish, rekombinant DNK texnologiyasi, turli biologik ob‘ektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari, polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR), nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash (sekvens), oqsillar terapiyasi, genlar modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish, hujayralarni biosintetik potensialidan istiqbolli foydalanishga asoslangan.

Modulning maqsadi va vazifalari

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” modulining maqsadi: gen muhandisligi va nanobiotexnologiyafani usullari yordamida mikroorganizmlar hamda o‘simliklar hujayrasiga boshqa organizmlarni genlarini kiritish,

rekombinant DNK texnologiyasi, turli biologik ob'ektlardan nuklein kislotalar ajratish, genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish va shu genlarning mahsulotlarini olish, o'simliklarning atrof muhitning stress omillariga qarshi kurashish qobiliyatini oshirish imkoniyatlari bilan tanishtirishdir.

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” modulining maqsadi: -“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani zamonaviy biotexnologik usullari, rekombinant DNK va RNKlar olish, hujayralardan genlarni ajratish, turli organizm hujayralariga boshqa genlarini kiritish va mazkur genlarning mahsulotlarini olish, genlar ustida manipulyatsiyalar o'tkazish, ularni boshqa organizmlarga kiritish orqali yangi irsiy xususiyatga ega bo'lgan genetik strukturalar va organizmlar yaratish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish va shu genlarning mahsulotlarini olish, polimeraza zanjir reaksiyasi, nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash, genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish, hujayralarni biosintetik potensialidan amaliy foydalanish mumkinligini asoslab berishdan iborat.

Modul bo'yicha tinglovchilarning bilim, ko'nikma va malakalariga qo'yiladigan talablar:

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” kursi bo'yicha tinglovchilar quyidagi yangi bilim, ko'nikma, malaka hamda kompetensiyalarga ega bo'lishlari talab etiladi:

tinglovchi:

- gen muhandisligining zamonaviy biotexnologiyada qo'llanish istiqbollari va usullarini;
- turli biologik obyektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullarini;
- DNKda nukleotidlar ketma-ketligini aniqlashni;
- gen, genom va hujayra muhandisligi zamonaviy biomuhandislikning asosiy yo'nalishini;

- turli organizm hujayralariga boshqa genlarni kiritish va genlarni modifikatsiya qilishni *bilishi* kerak.

tinglovchi:

- gel elektroforez yordamida nuklein kislotalarni tahlil qilish;
- turli biologik ob'ektlar nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash;
- DNKni kimyoviy sintezlash;
- genlar modifikatsiya qilish *ko'nikmalariga* ega bo'lishi lozim;

tinglovchi:

- o'simlik hujayrasidan nuklein kislotalarni ajratish usullarini o'rganish;
- rekombinant DNK texnologiyasi;
- restriksiya va ligirlash, yot genni vektorga ko'chirish;
- transformatsiya ning ahamiyati va asosiy usullari;
- gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi;
- restriktazalar, ligazalar;
- polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR);
- yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish;
- hujayralarni biosintetik potensialidan istiqbolli foydalanish haqida malakalariga hamda *kompetensiyalariga* ega bo'lishi lozim.

Modulni tashkil etish va o'tkazish bo'yicha tavsiyalar

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” kursi ma’ruza va amaliy mashg‘ulotlar shaklida olib boriladi.

Kursni o‘qitish jarayonida ta’limning zamonaviy metodlari, pedagogik texnologiyalar va axborot-kommunikatsiya texnologiyalari qo‘llanilishi nazarda tutilgan:

-ma’ruza darslarida zamonaviy kompyuter texnologiyalari yordamida prezentatsion va elektron-didaktik texnologiyalardan;

-o‘tkaziladigan amaliy mashg‘ulotlarda texnik vositalardan, ekspress-so‘rovlar, test so‘rovlari, aqliy hujum, guruhli fikrlash, kichik guruhlar bilan ishlash, kollokvium o‘tkazish va boshqa interaktiv ta’lim usullarini qo‘llash nazarda tutiladi.

Modulning o‘quv rejadagi boshqa fanlar bilan bog‘liqligi va uzviyligi

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani qayta tayyorlash va malaka oshirish yo‘nalishini “Biotexnologiya” mutaxassisligi bo‘yicha kiritilgan “Amaliy mikrobbiotexnologiya” va “Muqobil ekobiotexnologiyalar” fani bilan uzluksiz bog‘liq bo‘lib, ushbu fanlarni o‘zlashtirishda nazariy asos bo‘lib xizmat qiladi.

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fanini to‘liq o‘zlashtirishda va amaliy vazifalarni bajarishda “Ta’limda multimedia tizimlari va masofaviy o‘qitish metodlari”, “Elektron pedagogika asoslari va pedagogning shaxsiy, kasbiy axborot maydonini loyihalash” hamda “Amaliy xorijiy tilni o‘rganishning intensiv usullari” fanlari yordam beradi.

Modulning oliy ta’limdagi o‘rni

“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani qayta tayyorlash va malaka oshirish yo‘nalishini “ Biotexnologiya” mutaxassisligi bo‘yicha maxsus fanlardan dars beruvchi professor o‘qituvchilar uchun muhim o‘rinni egallaydi. Ushbu fan Oliy ta’lim muassasalarida talaba va pedagoglar tomonidan o‘quv-ilmij ishlarini olib borish uchun asosiy nazariy va amaliy bilimlarni beradi.

Modul bo'yicha soatlar taqsimoti

№	Modul mavzulari	Tinglovchining o'quv yuklamasi, soat				
		Hammasi	Auditoriya o'quv yuklamasi			Mustaqil ta'lim
			nazariy	jumladan		
				Amaliy mashg'ulot	Ko'chma mashg'ulot	
1	“Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani zamonaviy biotexnologik usullari. Turli organizm hujayralariga boshqa genlarini kiritish va mazkur genlarning mahsulotlarini olish. <i>Plazmid DNKsini ajratish va tozalash uslublari</i>	4	2	2		
2	Rekombinant DNKlar texnologiyasi. Gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar. <i>Gel elektroforez yordamida nuklein kislotalarni tahlil qilish.</i>	6	2	2	2	
3	DNKda nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash. DNKni kimyoviy sintezlash. Turli biologik ob'ektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari. <i>Turli biologik ob'ektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari.</i>	6	2	4		
4	Oqsillar terapiyasi. Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati va turlari. DNK, RNK va oqsil biosintezi. <i>DNK-replikatsiyasi va oqsillar biosintezi jarayonini molekulyar metodlar orqali o'rganish.</i>	4	2	2		

5	Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish. Hujayralarni biosintetik potensialidan istiqbolli foydalanish. <i>Polimeraza zanjir reaksiyasi usuli.</i>	6	2	2	2	
6	<i>DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash usullari.</i>	2		2		
	Jami	28	10	14	4	

NAZARIY MASHG‘ULOTLAR MAZMUNI

1- Mavzu: “Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani zamonaviy biotexnologik usullari. Turli organizm hujayralariga boshqa genlarini kiritish va mazkur genlarning mahsulotlarini olish

1. Gen, genom va hujayra muxandisligi, zamonaviy biomuxandislikning asosiy yo‘nalishidir.
2. Genni ajratish usullari. Genni ko‘chirib o‘tkazish usullari.
3. Gen muxandisligining moddiy asoslari. Nuklein kislotalar.
4. DNK bo‘laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash).
5. Prokariot va eukariot hujayralar genomi.
6. Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari.
7. O‘simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi.
8. Bakteriofaglar. Genni ajratish usullari. Genni ko‘chirib o‘tkazish usullari.
9. Gen muhandisligi usullari.
10. Mikroorganizm – produtsentlarni gen muxandisligi usullari yordamida yaratish.

2-Mavzu: Rekombinant DNKlar texnologiyasi. Gen muhandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar.

1. Rekombinant DNK texnologiyasi. Restriksiya va ligirlash, yot genni vektorga ko‘chirish.
2. Restriksiyalovchi endonukleazalar.
3. Plazmida vektorlari va plazmid vektor pBR322.
4. Transformatsiyaning ahamiyati va asosiy usullari. Shtammlar olish. Vektorlar va ularning gen muhandisligidagi ahamiyati. Vektorlarni konstruksiya qilish prinsiplari.
5. Gen muxandisligida yuqori sifatli vektorlarning hususiyatlari.
6. Gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar.

3-Mavzu: DNKda nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash. DNKni kimyoviy sintezlash. Turli biologik obyektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari.

1. Mikrobiologik tizimlarning molekulyar biotexnologiyasi.
2. Molekulyar diagnostika.
3. Immunodiagnostika usullari.
4. Monoklonal antitelalar.
5. DNKni kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma-ketligini aniqlash.
6. DNKni sekvenirlash usullari va genlarni sintezlash.
7. DNK interferonlarini ajratib olish.
8. Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi.
9. Insonning ko‘p klonli antitellalari.

4-Mavzu: Oqsillar terapiyasi. Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati va turlari. DNK, RNK va oqsil biosintezi.

1. Oqsillar terapiyasi. Rekombinantli DNK texnologiyalarining paydo bo‘lishidan olingi davr.
2. Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati.
3. Nuklein kislotalarning turlari.
4. DNK, RNK biosintezi va oqsil biosintezi
5. Oqsil biosintezi

5-Mavzu: Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish. Hujayralarni biosintetik potensialidan istiqbolli foydalanish.

1. Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish.
2. Yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish.
3. GO‘M mahsulotlarning qanday ziyoni bor?
4. O‘zbekistonda GMO masalasi qanday tartibga solinadi.
5. Transgen o‘simlik yoki hayvon birinchi marotaba qayerda va qachon paydo bo‘lgan?

AMALIY MASHG'ULOTLAR MAZMUNI

1-Mavzu: Plazmid DNKsini ajratish va tozalash usublari.

1. Qaynatish usuli yordamida preparativ plazmid DNKsini ajratish.
2. Etidiy bromidli CsCl – gradientida plazmid DNKsini tozalash.
3. CsCl gradientini tayyorlash va sentrifugalash.
4. Agrobakteriyalar Ti va Ki plazmid DNKlarini ajratish.

2-Mavzu: Gel elektroforez yordamida nuklein kislotalarni tahlil qilish

1. Gel elektroforez usullari. Agarozali va poliakrilamidli gel tayyorlash.
2. Elektroforez apparati va uning ishlash prinsipi.
3. DNK va PZR mahsulotlarini hamda restriksion tahlillarda gel elektroforez usulining ahamiyati.

3-Mavzu: Turli biologik ob'ektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari.

1. Gen muhandisligida genlarni ajratib olishning umumiy usullari
2. O'simlik bargidan DNK va RNK ajratish va tozalash.
3. STAV usulida o'simliklardan umumiy nuklein kislotalar ajratish usuli.

4-Mavzu: DNK-replikatsiyasi va oqsillar biosintezi jarayonini molekulyar metodlar orqali o'rganish.

1. Transkripsiya jarayoni. Genlar transkripsiyasi RNK xosil bo'lishi.
2. Polinukleotid zanjiri. RNK sintezi bosqichlari: a) initsiatsiya (boshlang'ich), v) polimerizatsiya z) terminatsiya (tugash). Oqsillarning biosintezi.
3. Oqsil sintez m-RNK ni dekodirlash. Oqsil sintezining bosqichlari. Rekombinant DNKlar texnologiyasi. Restriksiyalovchi endonukleazalar.

5-Mavzu: Polimeraza zanjir reaksiyasi usuli

1. Polimeraza zanjir reaksiyasi usulining umumiy ta'rifi.
2. Amplifikator. PSR Real Time. DNK polimerazalar.
3. DNK fragmentini amplifikatsiya qilish.

6-Mavzu: DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash usullari.

1. DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlashning turli usullari.
2. DNKni sekvenirlash usullari.
3. Senger sekvens usuli. Sekvenator qurilmasi va genlarni sintezlash.

KO'CHMA MASHG'ULOT MAZMUNI

Modul bo'yicha mustaqil ishlar "Boshqaruvda axborot-kommunikatsiya texnologiyalari" sohasi bo'yicha qisqa nazariy ma'lumotlar hamda ta'lim muassasasida hozirgi vaqtda bu sohada amalga oshirilayotgan ishlar haqida ma'lumot keltirilishi zarur. Modul doirasidagi mustaqil ta'lim mavzulari portfolio topshiriqlari ko'rinishida tinglovchilarga taqdim etiladi va bajariladi.

Ko'chma mashg'ulot mavzusi

1. Rekombinant DNKlar texnologiyasi.
2. Polimeraza zanjir reaksiyasi usuli

O'zR FA Ilmiy tadqiqot institutlari va Ilg'or texnologiyalar markazida olib boriladi.

O'QITISH SHAKLLARI

Mazkur modul bo'yicha quyidagi o'qitish shakllaridan foydalaniladi:

- ma'ruzalar, amaliy mashg'ulotlar (ma'lumotlar va texnologiyalarni anglab olish, aqliy qiziqishni rivojlantirish, nazariy bilimlarni mustahkamlash);
- davra suhbatlari (ko'rilayotgan loyiha echimlari bo'yicha taklif berish qobiliyatini oshirish, eshitish, idrok qilish va mantiqiy xulosalar chiqarish);

- bahs va munozaralar (loyihalar yechimi bo'yicha dalillar va asosli argumentlarni taqdim qilish, eshitish va muammolar yechimini topish qobiliyatini rivojlantirish).

II. MODULNI O'QITISHDA FOYDALANILADIGAN INTERFAOL TA'LIM METODLARI

“Keys-stadi” metodi

«**Keys-stadi**» - inglizcha so'z bo'lib, («case» – aniq vaziyat, hodisa, «stadi» – o'rganmoq, tahlil qilmoq) aniq vaziyatlarni o'rganish, tahlil qilish asosida o'qitishni amalga oshirishga qaratilgan metod hisoblanadi. Mazkur metod dastlab 1921 yil Garvard universitetida amaliy vaziyatlardan iqtisodiy boshqaruv fanlarini o'rganishda foydalanish tartibida qo'llanilgan. Keysda ochiq axborotlardan yoki aniq voqea-hodisadan vaziyat sifatida tahlil uchun foydalanish mumkin. Keys harakatlari o'z ichiga quyidagilarni qamrab oladi: Kim (Who), Qachon (When), Qaerda (Where), Nima uchun (Why), Qanday/ Qanaqa (How), Nima-natija (What).

“Keys metodi” ni amalga oshirish bosqichlari

Ish bosqichlari	Faoliyat shakli va mazmuni
1-bosqich: Keys va uning axborot ta'minoti bilan tanishtirish	<ul style="list-style-type: none"> ✓ yakka tartibdagi audio-vizual ish; ✓ keys bilan tanishish (matnli, audio yoki media shaklda); ✓ axborotni umumlashtirish; ✓ axborot tahlili; ✓ muammolarni aniqlash
2-bosqich: Keysni aniqlashtirish va o'quv topshirig'ni belgilash	<ul style="list-style-type: none"> ✓ individual va guruhda ishlash; ✓ muammolarni dolzarblik ierarxiasini aniqlash; ✓ asosiy muammoli vaziyatni belgilash
3-bosqich: Keysdagi asosiy muammoni tahlil etish orqali o'quv topshirig'ining yechimini izlash, hal etish yo'llarini ishlab chiqish	<ul style="list-style-type: none"> ✓ individual va guruhda ishlash; ✓ muqobil yechim yo'llarini ishlab chiqish; ✓ har bir echimning imkoniyatlari va to'siqlarni tahlil qilish; ✓ muqobil echimlarni tanlash

4-bosqich: Keys yechimini shakllantirish va asoslash, taqdimot.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ yakka va guruhda ishlash; ✓ muqobil variantlarni amalda qo'llash imkoniyatlarini asoslash; ✓ ijodiy-loyiha taqdimotini tayyorlash; ✓ yakuniy xulosa va vaziyat echimining amaliy aspektlarini yoritish
--	---

Keys. DNK ni restriksion endonukleazalar bilan kesish usuli ishlab chiqildi. O'simlikdan DNK ajratib olindi va restriktazalar bilan ishlov berildi. Lekin elektroforezda tekshirilganda DNK umuman yo'q bo'lib ketganligi aniqlandi ya'ni xatolik kelib chiqdi. Ishlab chiqilgan usul ishlamadi.

Кейсни бажариш босқичлари ва топшириқлар:

- Кейсдаги муаммони келтириб чиқарган асосий сабабларни белгиланг (индивидуал ва кичик гуруҳда).
- ДНКни рестрикция қилиш учун бажариладиган ишлар кетма-кетлигини белгиланг (жуфтликлардаги иш).

«FSMU» metodi

Texnologiyaning maqsadi: Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi umumiy fikrlardan xususiy xulosalar chiqarish, taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarida, mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

Texnologiyani amalga oshirish tartibi:

- qatnashchilarga mavzuga oid bo'lgan yakuniy xulosa yoki g'oya taklif etiladi;
- har bir ishtirokchiga FSMU texnologiyasining bosqichlari yozilgan qog'ozlarni tarqatiladi:

F	• fikringizni bayon eting
S	• fikringizni bayoniga sabab ko`rsating
M	• ko`rsatgan sababingizni isbotlab misol keltiring
U	• fikringizni umumlashtiring

- ishtirokchilarning munosabatlari individual yoki guruhiiy tartibda taqdimot qilinadi.

FSMU tahlili qatnashchilarda kasbiy-nazariy bilimlarni amaliy mashqlar va mavjud tajribalar asosida tezroq va muvaffaqiyatli o`zlashtirilishiga asos bo`ladi.



Test DNK-polimeraza qanday funksiyani bajaradi?
 A). DNKni gidrolizlovchi ferment.
 B). Polinukleotidlarni gidrolizlovchi ferment.
 V). Turli hil DNKni sintezlovchi ferment.
 G). Matrisa asosida alohida nukleotidlardan polinukleo- tidlarni sintezlovchi ferment.



Qiyosiy tahlil

- DNK va RNKning farqini taxlil qiling ?



Tushuncha tahlili

- DNK qisqarmasini izohlang...



Amaliy ko`nikma

- O`simlik xujayralariga genlarni kiritishga misol keltiring

Namuna. Har bir katakdagi to`g`ri javob 5 ball yoki 1-5 balgacha

baholanishi mumkin.

“Insert” metodi

Metodning maqsadi: Mazkur metod o‘quvchilarda yangi axborotlar tizimini qabul qilish va bilimlarni o‘zlashtirilishini engillashtirish maqsadida qo‘llaniladi, shuningdek, bu metod o‘quvchilar uchun xotira mashqi vazifasini ham o‘taydi.

Metodni amalga oshirish tartibi:

- o‘qituvchi mashg‘ulotga qadar mavzuning asosiy tushunchalari mazmuni yoritilgan input-matnni tarqatma yoki taqdimot ko‘rinishida tayyorlaydi;
- yangi mavzu mohiyatini yorituvchi matn ta’lim oluvchilarga tarqatiladi yoki taqdimot ko‘rinishida namoyish etiladi;
- ta’lim oluvchilar individual tarzda matn bilan tanishib chiqib, o‘z shaxsiy qarashlarini maxsus belgilar orqali ifodalaydilar. Matn bilan ishlashda talabalar yoki qatnashchilarga quyidagi maxsus belgilardan foydalanish tavsiya etiladi:

Belgilar	1-matn	2-matn	3-matn
“V” – tanish ma’lumot.			
“?” – mazkur ma’lumotni tushunmadim, izoh kerak.			
“+” bu ma’lumot men uchun yangilik.			
“- ” bu fikr yoki mazkur ma’lumotga qarshiman?			

Belgilangan vaqt yakunlangach, ta’lim oluvchilar uchun notanish va tushunarsiz bo‘lgan ma’lumotlar o‘qituvchi tomonidan tahlil qilinib, izohlanadi, ularning mohiyati to‘liq yoritiladi. Savollarga javob beriladi va mashg‘ulot yakunlanadi.

III. NAZARIY MATERIALLAR

1- Mavzu: “Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya” fani zamonaviy biotexnologik usullari. Turli organizm hujayralariga boshqa genlarini kiritish va mazkur genlarning mahsulotlarini olish

Reja:

1. Gen, genom va hujayra muxandisligi, zamonaviy biomuxandislikning asosiy yo‘nalishidir.
2. Genni ajratish usullari. Genni ko‘chirib o‘tkazish usullari.
3. Gen muxandisligining moddiy asoslari. Nuklein kislotalar.
4. DNK bo‘laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash).
5. Prokariot va eukariot hujayralar genomi.
6. Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari.
7. O‘simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi
8. Bakteriofaglar. Genni ajratish usullari. Genni ko‘chirib o‘tkazish usullari.
9. Gen muxandisligi usullari.
10. Mikroorganizm – produtsentlarni gen muxandisligi usullari yordamida yaratish .

Tayanch iboralar: gen, genom, hujayra muxandisligi, zamonaviy biomuxandislik, genni ajratish usullari, genni ko‘chirib o‘tkazish, gen muxandisligi, nuklein kislotalar, DNK bo‘laklari, qirqish, restriksion xaritalar, fizikaviy xaritalash, prokariot, eukariot hujayralar, genom. gen muxandisligi usullari, genni ko‘chirib o‘tkazish usullari, o‘simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi.

Gen yunoncha so‘zdan olingan bo‘lib **genos – urug‘, kelib chiqish** – irsiyatini elementar birligi va moddiy asosi. Gen organizm belgi va xususiyatlarini nasldan naslga o‘tkazish funksiyasini bajaradi.

Gen tushunchasini genetikaga daniyalik olim V. Iogansen (1909) kiritgan. U DNK (ba’zi vruslarda RNK) molekulasining bir qismi bo‘lib, tirik hujayra oqsillaridan birining tuzilishini belgilab beradi va shu oqsillar orqali ayrim belgi yoki xossalarning rivojlanishini ta’minlaydi. Organizmning turga xos va shaxsiy

xususiyatlari to'g'risidagi jami genetik axborot, ya'ni genlar yig'indisi – genotipda bo'ladi.

Barcha organizmlar, jumladan, bakteriya va viruslarning irsiyati gen dagi nuleotidparning DNKda joylashishi tartibiga va ularning soniga bog'liq. YUksak rivojlangan organizmlarda gen maxsus nukleoproteid tuzilmalar – xromosomalar tarkibiga kiradi. Genning asosiy vazifasi ferment va boshqalar oqsillar sintezini hujayra RNKsi ishtirokida belgilab berishdir. Uning bu vazifasi kimyoviy tuzilishiga bog'liq.

Genning tuzilishi o'zgarganda hujayralardagi muayyan biokimyoviy jarayonlar buziladi, natijada mavjud jarayonlar yoki belgilar kuchayadi, susayadi yoki yo'qolib ketadi. Masalan, inson ko'zining qora yoki moviy, atirgulning qizil yoki oq rangi, paxta tolasining uzun yoki qisqa bo'lishi, qishloq xo'jaligi hayvonlarining mahsuldorligi va ekinlarning hosildorligi, shuningdek, tirik mavjudotlarda boshqa turli morfologik, fiziologik, biokimyoviy belgi va alomatlarining yuzaga kelishi hamda tegishli xususiyatlarga ega bo'lishi maxsus genlarning ta'siriga bog'liq.

Organizmda belgilar ko'p, ularning rivojlanishini ta'min etuvchi genlar soni yanada ko'p, chunki aksariyat belgilarning rivojlanishini ko'p genlar ta'min etadi. Masalan, insonda 100000 ga yaqin gen mavjud. Ular mutatsiyalar natijasida o'zgarishi mumkin. Bir juft nukleotidning boshqa bir juft nukleotid bilan almashinishi, nukleotidlarning kamayishi, ikki baravar ortishi yoki o'rin almashinishi ana shunday o'zgarishga sabab bo'ladi. Mutatsiya tufayli organizmlarda fenotipik tafovutlarni keltirib chiqaradigan gen, ya'ni allellar paydo bo'ladi, ular o'zining biror ta'siri jihatidan boshqasiga qaraganda ustun turishi (dominant allel), biror ta'sirotni yuzaga chiqarmaydigan bo'lishi (retsessiv allel) mumkin.

Tabiiy sharoitda, inson ishtirokisiz, atrof muhit omillari ta'sirida organizmlarda irsiy o'zgaruvchanlik, ya'ni spontan mutatsiya kelib chiqadi. Bunday irsiy o'zgaruvchanlik organizmlar evolyusiyasi jarayoni uchun manba bo'ladi. Sun'iy sharoitda radiatsiya nurlari va kimyoviy moddalar ta'sir ettirish

usuli bilan irsiy o'zgaruvchanlikni tezroq va ko'plab olish mumkin. Mutagenezning bu hidini eksperimental yoki induksion mutagenez deb ataladi. Uning kashf etilishi genetikaning muhim yutug'i bo'lib, seleksiyada katta amaliy ahamiyat kasb etadi. Organizm va hujayraning irsiy xossalari tegishli genlarga bog'liq. Ular orasidagi munosabatlar juda murakkab bo'lib, bir belgining paydo bo'lishiga bir necha genlar ta'sir ko'rsatishi (polimeriya) yoki ko'pgina belgilarning paydo bo'lishi bitta genga bog'lik bo'lishi ham mumkin. Masalan: genetik kod, irsiyatning xromosoma nazariyasi.

Gen, genom va hujayra muxandisligi, zamonaviy biomuxandislikning asosiy yo'nalishidir.

Ma'lumki, bir molekula oqsil moddasining biologik sinteziga javobgar bo'lgan, DNK zanjiridagi nukleotidlar qatoriga **gen** deb ataladi. Murakkab biologik jarayon ketma-ketligi boshqarishda ishtirok etadigan, genetik tuzilishi bo'yicha deyarli bir-biriga o'xshash bo'lgan bir necha genlar-**genlar majmuasi** yoki oilasini tashkil etadi.

Organizmlar genlari yoki genlar majmuasini inson manfaatlarini ko'zlagan holda manipulyasiya qilinishiga **gen injeneriyasi** yoki genetik injeneriya deb ataladi. Gen injeneriyasi sohasining masadi genlarning ichki tuzilishini va xromosomada tutgan o'rnini etiyojga mos ravishda o'zgartirib, ularning faoliyatini idora etishdir. Natijada har qanday tirik mavjudotni, albatta imkoniyat darajasida, masadga yana ham ko'piroq muvofilashtirish yo'li bilan sanoat miyosida oqsil moddalar ishlab chiqarish, o'simlik va hayvon turlarini inson etiyojiga mos ravishda o'zgartirish, irsiy va yuqumli kasalliklarni aniq va tez tashxiz qilish, hamda sabablarni aniqlash usullari yaratilmoqda.

XX asrning 70 – yillarida molekulyar genetika va biokimyoda yangi tajriba texnologiyasi – **genetik (gen) muhandislik** yaratildi. Bu usulning asosida hujayradan tashqarida rekombinant DNK yaratish yotadi. Bu texnologiyadan foydalanish oqibatida genlarni sof holda ajratish, ularni modifikatsiya qilish, birini ikkinchisiga ulab “genlar majmuasi” yaratish, oqibatda butunlay yangi xususiyatiga ega bo'lgan oqsil sintez qilish imkoniyati yaratildi va uni oqsillar muhandisligi deb ataldi. Vektor gen bilan ligaza fermenti yordamida

birikkandan keyin rekombinant DNK hosil bo‘ladi. So‘ng bu birikma (vektor gen) mikroorganizm hujayrasiga yuboriladi (*transformatsiya*) va u erda *amplifikatsiya* (ko‘payish) amalga oshadi. Natijada, bir genning bir necha nusxasi – **klon** hosil bo‘ladi. Shuning uchun ham bu yo‘lni **klonlash** deb ataladi.

Biroq bu usulda bakteriyalarga klonlashtirilgan inson, hayvon yoki o‘simlik genlari to‘g‘ridan-to‘g‘ri bakteriyada faoliyat ko‘rsata olmaydi.

Bugungi kunda har xil genlar saqlovchi va kerakli mahsulot sintez qiluvchi bir qator transgen bakteriyalar yaratilgan va muvaffaqiyat bilan ishlatilib kelinmoqda.

DNK klonlarini yaratish usullari hamda rekombinant DNK texnologiyasi tibbiyot uchun zarur bo‘lgan inson organizmida sintez bo‘ladigan va dorivor modda sifatida ishlatiladigan oqsil va peptidlarni sintez qilishni yo‘lga qo‘yish katta ahamiyat kasb etadi. Gen muhandisligi usullari yordamida aminokislotalar (treonin, prolin va h.k.), fermentlar, gormonlar (insulin, samototrop), antibiotiklar va boshqa biologik faol moddalarning super-produtsentlari olingan.

Hozirda Amerikaning Embreks kompaniyasi va milliy instituti bilan birgalikda fan va texnikani rivojlantirish maqsadida 4,7 millionlik grand asosida tovuq tuxumini klonlari yaratildi. Ko‘p tuxum beradigan tovuq tuxumining yadrosini normal tuxum xujayraga kiritib implantatsiya qilish asosida 95 -100 % gacha klonlar yaratildi. Bundan tashqari, xozirda soya, makkajo‘xori, paxta, kanop, pamidor o‘simliklari ustida ish olib borishmoqda. Maskova instituti kartoshkaning immunitetni oshiruvchi tarkibida interferron saqlagan navlarini klonlashtirish ustida ish olib bormoqdalar. SHu asosida o‘simliklarning pestetsid, gerbetsidlarga, qurg‘oqchilikka, sovuqqa, tuproqdagi og‘ir metal tuzlariga chidamli, tarkibida vitaminlar saqlagan navlarini yaratish ustidagi ishlari davom etmoqda.

Genni ajratish usullari. Genni ko‘chirib o‘tkazish usullari.

– Genlarni ajratib olish genetik injeneriyaning bosh etaplaridan biri hisoblanadi. Genlarni ajratib olishni ikkita yo‘li bor. Genlar sintez qilinadi yoki Rekombinant DNKdan kerakli gen ajratib olinadi. Komplementar DNK sintez qilishda transkriptaza yoki revertaza fermenti katta rol uynaydi.

- har bir gen xromosomaning ma'lum bir joyi (lokus)da joylashadi;
- gen nukleotidlari ma'lum bir tartibda joylashgan DNK molekulasiining bir qismi, gen tarkibiga kiruvchi nukleotidlarning soni xar bir gen uchun xar xildir;
- struktura va funksional genlar mavjud bulib, struktura genlari ishtirokida ma'lum xossaga ega bulgan sintez kilinsa, funksional genlar ta'sirida esa struktura genlarining ishi boshkarilib turiladi;
- gen ichidagi nukleotidlarda kayta kurulish bulishi mumkin;
- bitta gen ikki xil xolatda uchrashi mumkin, bunday genlari allel genlar deyiladi;
- xar bir gen ma'lum bir belgining rivojlanishini yuzaga chikaradi, ya'ni DNK(gen) – RNK – oksil(ferment) – belgi;
- genlar irsiy belgilarni uzlarida saklaydilar: bulinayotgan xujayralarda genlarning soni doimo ikki marta oshadi va xosil bulgan yangi xujayralar barcha genlar bilan ta'minlanadi;
- gen tarkibidagi DNK molekulasi tashki va ichki omillar ta'sirida uzgarishi mumkin, lekin bu uzgarishlar ma'lum fermentlarning ishtirokida yana oldingi xolatiga kaytishi mumkin, ya'ni genda buladigan uzgarishlarning barchasi xam mutatsiyaga aylanavermaydi.

Gen injeneriyasining dastlabki yutuqlari odam uchun foydali maxsuotlari, jumladan, dori moddalarini sintezlab beradigan yangi mikroorganizm formalarini yaratish bilan boglikdir.

Gen injeneriyasi yordamida nukleotidlar tarkibi o'zgargan DNK molekulasi hosil qilinadi va uni ishlab turgan hujayra genomiga o'tkaziladi va shu bilan yangi irsiy belgili hujayralar olinadi.

Gen injeneriyasi uchta bosqichda olib boriladi:

- 1 - kerakli gen ajratish yoki sintez qilish;
- 2 - kerakli geni bo'lgan DNKni kuchiruvchi (vektor) DNKsiga ulash;
- 3 - kerakli gen ulangan vektor DNKsini hujayraga yoki organizmga o'tkazish.

Gen injeneriyasi buyicha muljallangan maqsadga erishish quyidagi asosiy masalalarning qanday echilishiga bog‘lik:

1 - har xil organizmlardan olingan DNK molekulasini mayda bo‘laklarga (genlarga) ajratish;

2 - genlar ichidan keraklisini topib, shu geggi tashib yuruvchiga (vektorga) birlashtirish;

3 - DNKsida kerakli gen bulgan vektorni xujayraga kirgizish;

4 - kuppina xujayralar orasidan kuchirib utkazilgan genni olgan retsipient xujayralarni ajratish.

Xar bir organizmdan olingan DNK molekulasini mayda bulaklarga (genlarga) ajratish – endonukleaza, transferaza va ligaza fermentlari topilgandan keyin xal etildi. Genlar ichidan keraklisini topib, shu genni tashib yuruvchi vektor sifatida plazmidlar DNKsidan foydalanildi. DNKsida kerakli gen bulgan vektorni xujayraga kirgizishda kalsiy tuzlaridan foydalanildi. Kalsiy tuzlari ta’sirida vektorni kabul kiluvchi xujayralar membranasining utkazuvchanligi oshar ekan.

Ko‘pgina xujayralar orasidan kuchirib utkazilgan genni olgan retsipient xujayralarini ajratish genetik va biokimyoviy usullardan foydalanib, kerakli gen bulgan xujayralarni (klon) ajratib olish bilan xal etildi.

Gen muxandisligining moddiy asoslari. Nuklein kislotalar.

Gen injeneriyasida xujayradan ajratib olingan kerakli gen kuchirib utkazuvchi DNKsiga, ya’ni vektor DNKsiga ulanadi. Odatda lyambda bakteriofagi xayvonlarning ayrim onkogen viruslari; bakteriyalarning plazmidasi va episomalari vektor sifatida ishlatiladi.

Restriktaza fermentlari yordamida plazmida DNK zanjiri bir-biridan ajratilib, uning yakka DNK ipi mayda bulaklarga bulinadi. Restriktaza fermentlarining 50dan ortik xili bulib, xar birining DNK molekulasida uzining ta’sir kursatadigan, ya’ni uzadigan joyi bor. SHular ichida eng kup ishlatidadigani restriktaza EcoRI. Bu restriktazani ishlatishning kulayligi shundaki, u DNK molekulasining ma’lum bir joyini, ya’ni anikrogi adenin va

timin orasidagi bog'ni uzadi. Natijada yakka ipli DNKning boshka DNK bulagi bilan oson birlashadigan mayda bulaklar paydo buladi va bu bulaklarda nukleotidlarning joylashishi bittasida fakat adeninli asosdan boshlansa, ikkinchisi fakat timindan boshlanadi.

Boshka DNK bulagini uziga osongina birlashtiradigan DNK bulagi va ajratilgan, ya'ni kerakli genni ligaza fermenti bulgan eritmaga solinadi. Ligaza fermenti kerakli geni shu genni kuchiruvchi plazmida DNKsiga ulaydi.

Natijada xar xil DNKli (ximer) plazmida xosil buladi. Ular endi shunday plazmidalarni uziga kabul kiluvchi xujayralari (retsipientlar) bulgan sovuk xoldagi kalsiy xlor eritmasiga tushiriladi. Agar eritmani tezlik bilan kizdirilsa, xujayralar pustining xujayra uchun begona bulgan moddalarni kiritmaslik xususiyati yukoladi. SHuning uchun xar xil DNKsi bulgan plazmida bakteriya xujayrasiga osongina kirib, uning DNKsiga birlashib oladi. SHu bakteriya xujayrasi bulganda undan xosil bulgan yangi xujayralar endi oldingilariga uxshash bulmaydi.

Kerakli genlarni olish uchun:

Gen injenerligi 3 ta guruxga bo'linadi.

1. Rekombinat DNK ga genlarni to'g'ri utkazish
2. Butun genlar xromosomani yoki genlarning ma'lum kismini o'tkazish - xromosomalar
3. Genetik materialning bir kismini yoki barisini bir xujayradan o'tkazish genomlar

Xozirgi zamon gen injeneriyasida 4 ta asosiy etaplar:

1. kerakli genni olish
2. uni genetik elementga (vektor) utkazish, replikatsiya – kobiliyatli
3. organizm – retsipientga vektor tarkibida kirgan genni kiritish

A) DNKdan uni ajratish:

B) ximiko-fermentativ sintez kilish yuli:

V) Revertazlar RNK-zavisimi yordamida, matritsali RNKni izolyasiya kilish asosida DNK-polimerazani kayta yaratish.

A) *DNK dan genlarni ajratish*. Izolyasiya kilingan DNK fragmentatsiyaga uchratiladi. Buning uchun DNK zanjirida anik ketma-ket joylashgan nukleotidlar (4-7 juft nukleotidlar joylashgan uzunlik) DNK ni parchalanishini tezlashtiruvchi restriksion endonuleoza (restriktizalar) ishlatiladi.

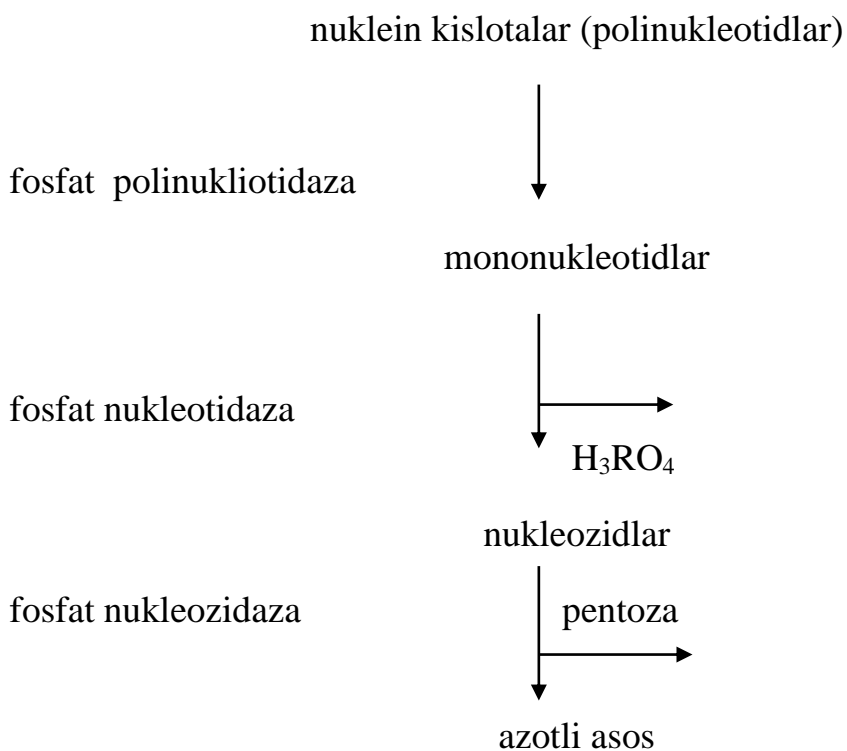
Xozirgi vaktida 400 dan oshik restriktaza ma'lum, ular 85 ta xar xil nukleotidlarning ketma-ketlikni aniklaydi. Parchalanishi aniklangan nukleotidlarning urtasidan bo'lish mumkin, u vaktida DNKning ikkala zanjiri bir xilda kesiladi. Xosil bulgan fragment (bulak) ikki zanjirli uchi o'tmas bo'ladi.

Boshka restriktazalar DNKning zanjirini bir yordan kesmasdan xar xil joydan kesadi, ya'ni zinapoyalar xosil kilishadi. Bunda bitta zanjirda bir nechta nukleotidlar utadi. Bunda bir zanjirda oxiri yopishkokli xosil buladi.

Nuklein kislotalar - ko'p sonli nukleotidlarning birikishidan hosil bo'lgan makromolekula. U 1868 yilda shveysariyalik biolog olim Fridrix Misher tomonidan kashf etilgan. U qon elementi leykotsitlar yadrosidan fosforga boy noma'lum birikmani ajratib olib, unga *nuklein* nomini beradi. Lekin uzoq yillar bu yangilik biolog olimlarni e'tiborini jalb qilmadi. 1891 yilda nemis olimi **Kossel** bu moddalarni gidroliz qilib, ular uch xil komponentdan: *purin* va *primidinlar* qatoriga kiradigan geterotsiklik azotli asoslar, uglerod va fosfat kislotadan tashkil bo'lganligini aniqladi. Nuklein kislotalarga DNK (dezoksiribonuklein kislota) va RNK (ribonuklein kislota) molekulari kiradi. Uning miqdori o'simliklarda umumiy oqsil miqdorining 10 % dan oshmaydi. Masalan, oqsil ko'p bo'lgan o'simlik loviyada oddiy oqsil 20-30% bo'lsa, murakkab oqsil 2-3 % ni tashkil etadi. SHunga qaramasdan, nuklein kislotalar shu organizmda sintezlanadigan oqsillarning aminokislota tarkibi va strukturasi belgiluvchi informatsiyani saqlaydi, hamda uning sintezini ta'minlaydi.

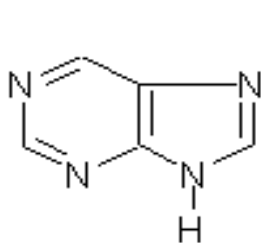
Nuklein kislotalarning kimyoviy strukturasi birinchi marta 1929 yil **Kossel** va 1931 yilda **Leven** tomonidan aniqlangan. Nuklein kislotalar mononukleotidlardan tashkil topgan. Nukleotidlar esa gidrolizlanganda (kislota, ishqor yoki ferment ta'sirida) bir molekula fosfat kislota ajratib nukleozidlarga

aylanadi, nukleozid esa bir molekula pentoza (DNKda dezoksiriboza, RNKda riboza) va bir molekula azotli asosning birikmasidir.

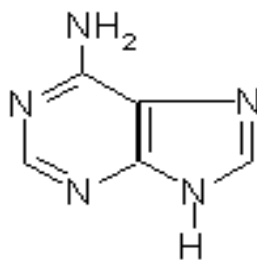


Nuklein kislotalar tarkibiga kiruvchi azotli asoslar ikki xil bo‘ladi: **purinli** va **pirimidinli** asoslar.

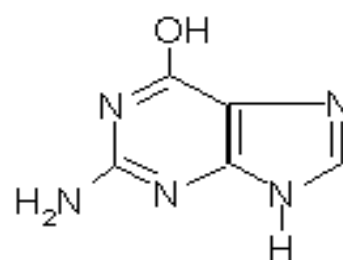
Purinli asoslar - purin, adenin, guanin:



Purin

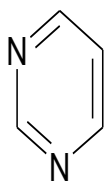


Adenin (A)

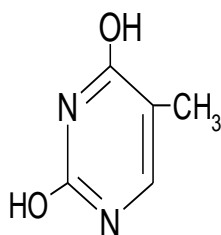


Guanin (G)

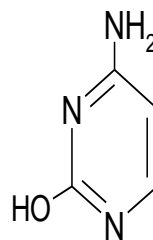
Pirimidinli asoslar - timin, sitozin, uratsil:



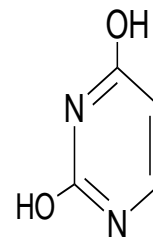
Pirimidin



Timin (T)

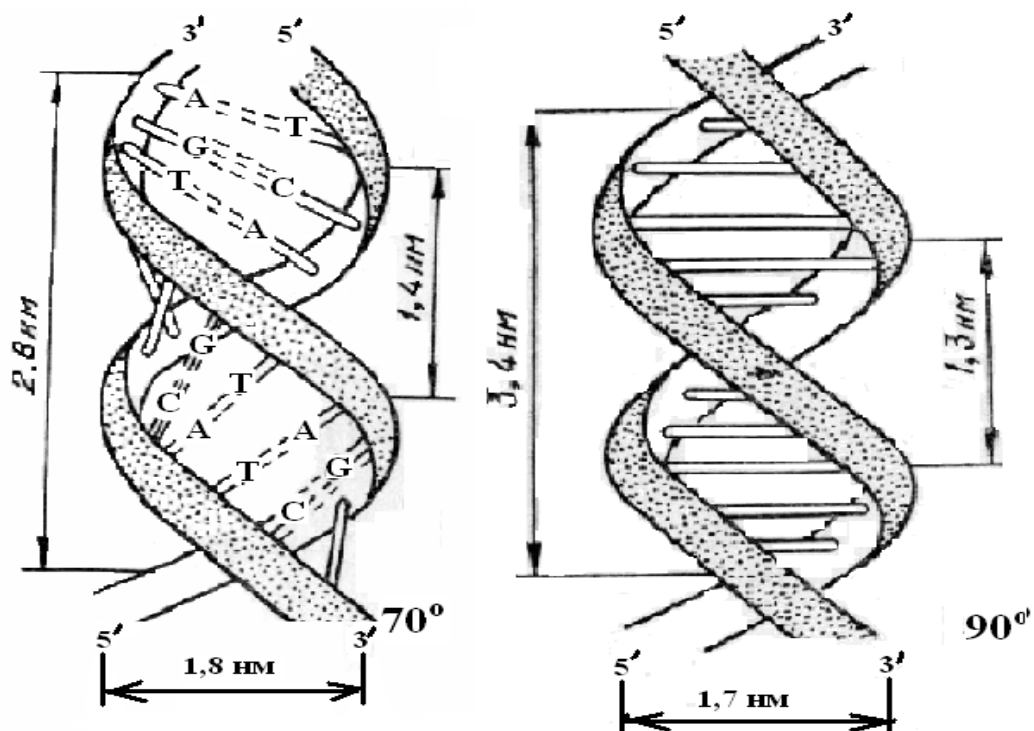


Sitozin (S)



Urotsil (U) Modda

Almashinish jarayonida azotli asoslar boshqa bir mahsulotlarga aylanadi. Masalan, odam organizmida purinli asoslar adenin yoki guanin mochevina kislotasiga aylanadi, bu odam organizmida azot almashinishining oxirgi mahsulotidir.



1-rasm. DNK ning qo'sh spiralsimon ko'rinishi.

Ayrim o'simliklarda ko'p miqdorda purinning metilli hosilasi bo'lgan - kofein to'planadi (kofe va choy o'simliklarida).

Nuklein kislotalarning tarkibi.

1-jadval.

Komponentlar	RNK	DNK
Fosfat kislota	Fosfat kislota	Fosfat kislota
Uglevod-monosaxarid pentoza	Riboza	Dezoksiriboza
Azot asoslari	Adenin, Guanin	Adenin, Guanin
Purin asoslari	Sitozin, Uratsil	Sitozin, Timin
Pirimidin asoslari		

DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash)

Restriksiya fermentlari tadqiqotlar uchun asosiy qurolga aylandi. Ular juda yirik DNK bo'laklari (10^6 - 10^{11} n.j.) ni bir necha yuzdan bir necha ming

nukleotid juftlarga qadar o'lchamdagi bo'laklarga bo'ladi. Agarozali gelda *DNK elektroforezi usuli* bilan bir-biridan o'lchami bo'yicha farq qiladigan DNK bo'laklarini oson ajratib olish va har bir bo'lakni alohida tadqiq etish mumkin. Elektroforez usuli elektr maydonida turli xil tezlikda harakat qilayotgan DNK molekulalari (bo'laklarini) ajratilishiga asoslangan. DNK eritmada anion shaklida uchrab, uning eritmasi elektr maydonida musbat zaryadlangan qutb (katod)ga tomon harakat qiladi.

DNK bo'laklarining ajralishi agaroz polimeri eritmasi hisoblangan tashuvchida amalga oshadi. Usulning nomi ham shundan kelib chiqqan. Agarozali gel uch o'lchamli polimer yacheykali tuzilmani hosil qiladi. U elektroneytral va DNK ga nisbatan kimyoviy inert, shuning uchun har doim DNK ning zarur bo'lagini geldan biologik faolligini saqlab qolgan holda ajratib olish (ellyuitsiya qilish) mumkin.

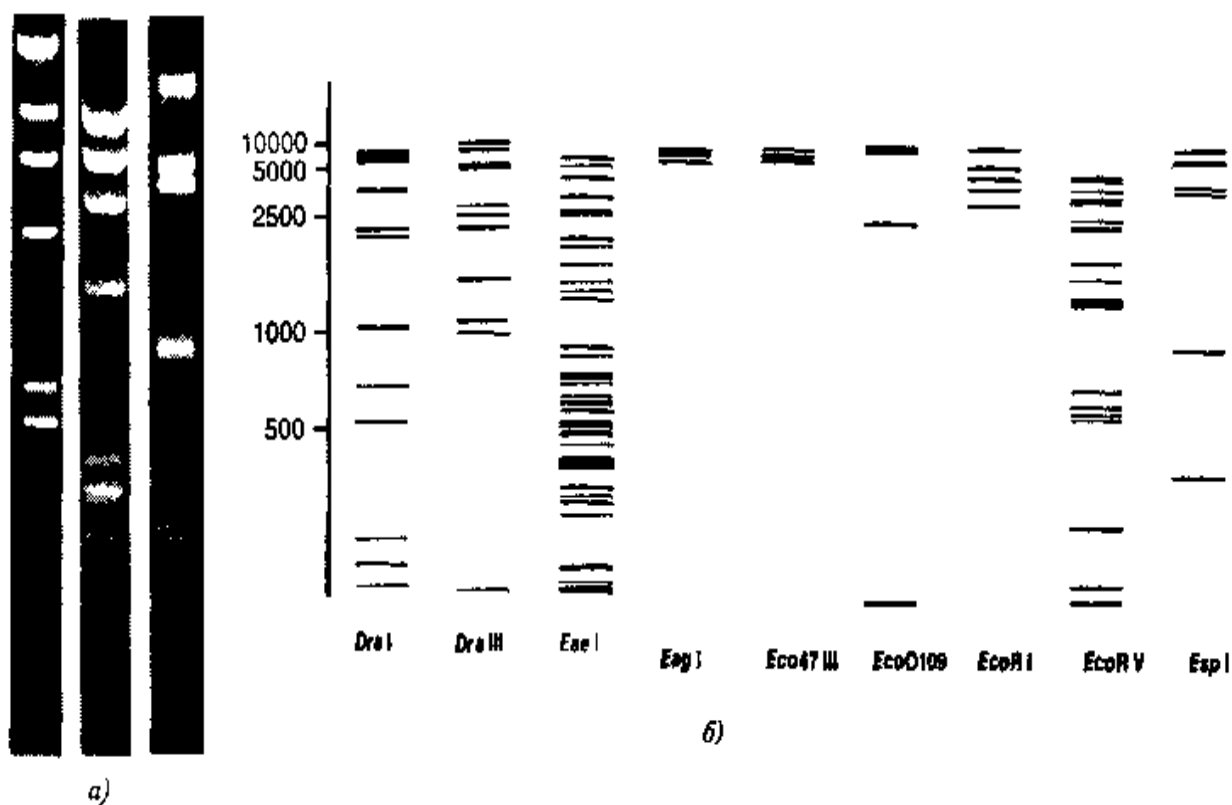
Geldan elektroforez muhit sifatida foydalanib, DNKni bo'laklarga bo'lish va undan muayyan bo'lakni ajratib olish mumkin. (1-rasm)

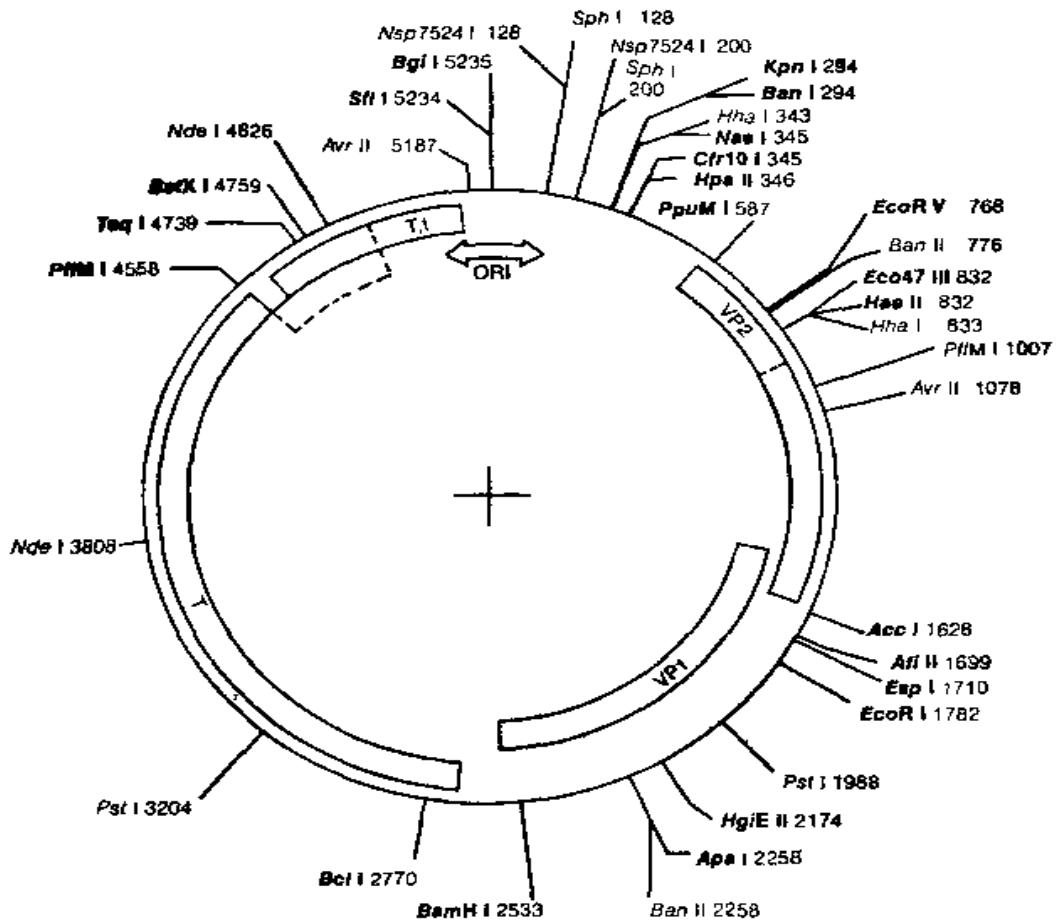
Agarozali gelda mayda bo'laklar yiriklariga nisbatan tez harakat qiladi, bunda DNK bo'laklarining harakati ushbu bo'lakning og'irligi (zaryadi) logarifmiga nisbatan teskari proporsional bo'ladi. Gelni bo'yoqlar (masalan, etidiy bromid) bilan bo'yalganda ular bo'yoq bilan birikib chiziqchalar to'plamini hosil qiladi, ularning har biri restriksiya bo'lagiga mos keladi. Fermentning molekulyar og'irligi ilgari aniqlangan DNK bo'laklariga nisbatan kolibrovka qilish asosida aniqlanadi.

Elektroforezdan restriksion fragmentlarni bo'lish maqsadida foydalanish *restriksion xaritalar* – turli restriktazalar uchun qirqish nuqtalari kiritilgan DNK ketma-ketliklari yig'indisini olish imkonini beradi (1- rasm). Bunday xarita birinchi marta 5423 juft asosga ega SV40 virusi uchun olingan Bunda virusning xalqasimon DNKsini 11 ta bo'lakka bo'luvchi Hind III restriktazasi qo'llanilgan. Ularning joylashish tartibi hosil bo'lgan bo'laklar yig'indisini tekshirish orqali o'rnatilgan. Birinchi qirqish molekulani xalqasimon shakldan chiziqli shaklga o'tkazib, keyin yana mayda bo'laklarga bo'lgan. Dastlab bir-

birini qoplovchi bo‘laklar yig‘indisi o‘rganilgan bo‘lsa, keyin to‘liq parchalanish mahsulotlari o‘rganilgan. SHunday qilib, virusning xalqasimon DNKsi restriksiya xaritasi olingan bo‘lib, unga Hind III restriktazasi bilan qirqish nuqtalari kiritilgan. Bunday tajribalarni boshqa restriktazalar ishtirokida amalga oshirish bir necha xil restriktazalar uchun belgilangan restriksiya saytlaridan iborat to‘liq xaritani olish imkonini beradi. Xaritalash uchun qancha ko‘p restriktaza qo‘llanilsa, xarita shuncha to‘liq bo‘ladi.

(2- rasm). Elektoroforez yordamida restriktazalar ishtirokida hosil bo‘lgan DNK bo‘laklarining ajralishi. a- λ /HindIII fagi bo‘laklari, ϕ X 174/HaeIII fagi DNKsi, pBR322/Bstn1 plazmidasi (-belgidan so‘ng restriktaza fermenti nomi keltirilgan). b- λ fagi DNKsining turli xil restriktazalar ta‘sirida bo‘laklarga bo‘linishining sxemasi. SHkala bo‘yicha bo‘lingan bo‘laklarning o‘lchami keltirilgan.





2- rasm. SV 40 virusining genetik va restriksion xaritasi. (ORI – replikasiyaning boshlang‘ich nuqtasi; raqamlar bilan restriksiya nuqtalarining holati ifoda etilgan.

Hujayraning genetik materiali asosan xromosomalardagi DNKda yadroda, yana membranada, mitoxondriyalarda, xloroplastlarda, bakteriyalarda, viruslarda ham mavjud. Organizmlar hujayralarining barcha genlari yig‘indisi genom deb ataladi, Turli organizmlarda DNKning miqdori, binobarin, hujayralarda genlarning soni jiddiy farq qiladi, ammo bir organizmning barcha hujayralaridagi DNK ning miqdori bir xil bo‘ladi.

Prokariot hujayralar genomi. Prokariot hujayralar genomi ikki zanjirli yagona DNKning yopiq halqasidan iborat bo‘lib, hujayraning kattaligiga nisbatan u juda ulkan.

Bakteriya DNK sining millionlab odatiy asoslari (A, T, G va S) orasida qo‘shimcha metil gruppalar tutadigan asoslar ham uchraydi. Bakteriyaning har bir

turi uchun metillangan asoslarning o'ziga xos ko'rinishi, xarakterli. Bir qator muhim tekshirishlarda metillangan asoslarning biologik ahamiyati aniqlandi.

Prokariotlarda genom struktura jihatdan ham ancha sodda tuzilgan, ularning genomida DNK regulyator va signal asoslar qatoridan tashqari, translyasiya qilinmaydigan jim-jit turadigan uchastkalar ham ancha siyrak.

Bundan tashqari, ba'zi bakteriya hujayralarida plazmidiy deb ataladigan halqa shaklidagi bir nechta, mayda sitoplazmada erkin yashaydigan DNK molekulalari ham mavjud. Xromosomadan tashqari, erkin genetik element deb ataladigan bu strukturalar hujayraning juda ko'p bo'linish sikllarida o'zining xususiy ritmlarida yashayveradi. Binobarin, plazmidiy DNK ning turli segmentlaridan tashkil topgan, turlicha kelib chiqqan replikonlardir. Ular DNK dan juda kichik, 5-100 million dalton massaga ega, osonlik bilan o'z egasining genomiga va boshqa hujayralar DNKsiga ham ulanib oladi. Ularning bunday xossasi genetik injenerlikda yot hujayraga kerakli genni joylashtirib ishlatishga majbur qilish uchun juda qo'l keldi.

Eukariot xujayra genomining tuzilishi. Xar xil turlarga mansub eukariot xujayralarda bitta xujayraning o'zidagi DNKning miqdori turlicha. Tirik organizm kancha murakkab bo'lsa, unda genetik axborot shuncha kup bo'ladi. YAgona odam xujayrasidagi DNKning umumiy uzunligi 2 metr ga teng xisoblanadi. Odam xujayralarida 46 ta xromosoma bo'lib, ular xap birining uzunligi 4 sm ga teng. DNK da 1 million «xarf» (nukleotidlar) 0,034 sm uzunlikda joylashadi. Boshkacha aytganda, odam organizmining diametri 20 mkm ga teng bo'lgan tipik xujayrasida, bitta gaploid genomda axborotning yarmini saklaydigan urug xujayrasidagi 3-109 nukleotidlarda joylashgan genetik axborot, colishtirish uchun aytish mumkinki, bunday axborot kitobda $3 \cdot 10^9$ xarf, 1 mln betni egallar edi.

Umuman bitta xromosomada nechta gen joylashgan, degan savol xam olimlarni kiziktirib kelgan. Bu savolga javob berish uchun xam molekulyar biologiyaning sevimli ob'ekti E.coli ga murojaat kilishga to'g'ri keldi. Tez orada turli yo'llar bilan bitta xromosomada juda ko'p genlar joylashganligi aniklandi.

Odam, xayvonlar va yuksak o'simliklar xujayralarida DNKning miqdori bakteriyalarnikiga qaraganda 10000 marta ko'p, genlar miqdori esa faqat 1000, ba'zan undan ham ko'proq. Xujayradagi DNKning miqdori million genga etadi, lekin xar bir ayni daqiqada 100000 dan kami ishlaydi, qolganlari tinch xolatda bo'ladi.

Ba'zi eukariot genlar xujayrada juda ko'p nusxalarda uchraydi. Bunga to'rt xil r-RNK ni kodirlaydigan genlar yigindisi yorqin misoldir. Gistonlarni kodirlaydigan genlar xam 1000 tagacha nusxada uchraydi. Lekin bunday voqea uncha ko'p tarqalgan emas. Masalan, eukariotlarning bir qancha to'imalari va xujayralarida juda ko'p miqdorda uchraydigan oqsillar» masalan, zardob albumini, gemoglobin, kollagen va tuxum albumini genlari bir yoki bir nechta nusxada bo'ladi.

Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari.

Viruslar bilan prokariot xujayralar orasidagi materialning ko'chirilishini, tabiiy sharoitda bakteriyalarda o'tadigan rekombinatsiya mexanizmlarini o'rganish, plazmidlar va mo''tadil faglarning xujayradagi xayotini tushunish genlar ustida turli manipulyasiyalar o'tkazish imkonini beradi. Olimlar qo'lida DNK ning kerakli bir kismini bakteriya xujayrasiga ko'chirib o'tkazadigan sistema - plazmidlar xam bor. Bunday transmissiv ko'chirib o'tkazuvchi xalkali molekulalar - plazmidlar va mo''tadil viruslar *vektor* deb ataladi. Ular tabiatning o'zi biologlarga takdim qilgan sovga bo'ldi. SHunday ekan, endi bakteriyalarni kulturada (ular o'sadigan muxitda) insonlar uchun kerakli oqsillarni, fermentlarni sintezlashga majbur qilib bo'lasmikan?

Bu g'oyalarning amalda yuzaga chiqishi *gen injenerligi* yoki *genetik injenerlik* deb atalgan va katta istiqbolga ega bo'lgan yangi sohani dunyoga keltirdi. Gen injenerligi qiskacha aytganda, genlar ustida turli manipulyasiyalar o'tkazish, ularni to'la o'rganish asosida funksional

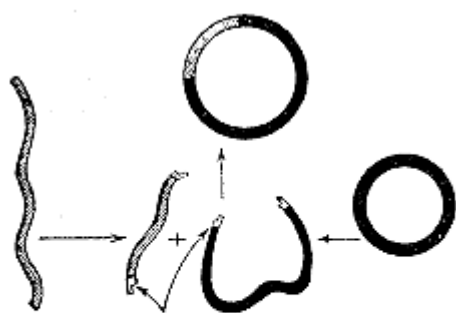
kismlariga ega bo'lish, kerakli joyidan kesish, kerakmas qismini olib tashlab kerak bo'lgan qismlarini boshka genlardan yoki sintez yo'li bilan olib ulash va shu usulda tayyorlangan *duragay* yoki *rskombinat* genni muvofik organizmga kiritib (masalan, odamniig insulin genini mikrobu xujayraga yoki sichqonning o'sish gormoni genini kalamushga), zarur turlarni yoki preparatlarni sintez qilish va xokazo goyalar va texnologiyaning yungindisidir. Uning kiskadavr ichida bosgan xap bir qadamining o'zi ulug' kashfiyot.

Gen injenerligining poydevori - *rekombinat DNKlar texnologiyasi* - genetik strukturalarni birga ko'shish texnikasi - molekulyar biologiyaning eng muxim yutuklaridandir. Bu texnologiyadan foydalanib, zarur maxsulot (oqsil) ni kodiraydigan DNK molekulasini kichik bir qismi - genni kesib olish, uning yot gen bilan kombinatsiyasini yaratish, so'ngra bu yangi genomni munosib xujayralarga kiritib xo'jayin-xujayra DNK sining sintez mexanizmi yordamida ko'p martalab ko'paytirish mumkin.

Gen injenerligining paydo bo'lishi DNKstrukturasi, uning replikatsiyasi, regulyasiyasi, molekulaning ayrim kismlari, xatto, alohida nukleotidlarni tanish mexanizmi, ayrim nuklein kislota, oqsillarii minimal miqdorda ajratib olib, uning millionlab nusxasini tayyorlash texnikasi ishlab chikilishiga bogliq edi. Rekombinat molekular olish texnikasini takomillashtirish natijasida yangi viruslar, mikroblar. o'simliklar, xayvonlar turlarini yaratish, irsiy kasalliklarni davolash, buzilgan genlarni tuzatish, insoniyat uchun zarur genotipik konstruksiyalar tuzish imkoniyati tug'ildi. Bu sohaning to'la istikboli, jamiyat rivojlanishiga ta'siri qanday bo'lishini oldindan aytish qiyin. Lekin inson qo'liga shunday qudratli qurol tekkani aniq.

Ayrim DNK molekulari genlar bir turining ko'p nusxasini hosil qilish uchun ilgari xujayralarning toza liniyalarini olishda ko'pdan beri ishlatiladigan *klonlash* texnikasining molekularlarga moslashtirilgan

variantda qo‘llanadi. Xujayra liniyalarining bir xilligini klonlash usuli bi-



Рекомбинат ДНК ни олиш
схемаси:

Юқорида — рекомбинат ДНК; ўр-
тада — ёпишқоқ учлар; ўнеда — плазми-
да, ўртада (пастда) — рестриктаза билан
кесиш; чапда — хромосома ДНК си.

lan kuchaytirish mumkin. *Klon* deb birdan-
bir old xujayradan kelib chikkan xujayralar
populyasiyasiga aytiladi. Klonlash asosan
mutant xujayralar olish uchun ishlatiladi.
Molekulyar klonlash DNKning aniq bir
namunasini toza holda ko‘paytirishdan
iborat.

Keyingi yillarda somatik
xujayralarning ko‘shilishiga

(duragaylanishiga) ham erishish mumkin bo‘ldi. Bunda avvalo ikkita
yadroli, bitta kombinirlangan xujayra - *geterokarion* kelib chikadi. Vaqt
o‘tishi bilan geterokarion mitotik bo‘linib, bir yadroli *duragay* (gibrid)
xujayra beradi. Uni klonlash mumkin.

Bir turdan ajratib olingan DNKni ikkinchi tur xujayrasiga bevosita
kiritib, uning ekspressiyasiga erishib bo‘lmaydi, chunki retsipient (kabul
kiluvchi) tur o‘zining DNKsini saklaydigan kuroлга ega. Ular
modifikatsiya qiladigan metilazalar va restriksiyalovchi
endonukleazalardir.

DNKni fragmentlarga kesish va uni bakteriyaga kiritish vazifasini
oliy darajada bexato bajaradigan asbob tabiatning o‘zida tayyor, ular
bakteriyalar - endonukleazalarning bir guruxi bo‘lib chiqdi. Albatta,
bakteriya xujayrasida DNK molekulasini kerakli joyidan kesadigan fer-
ment insonlar maksadi uchun tayyorlangan emas, bu asbobni bakteriyalar
uz dushmani - viruslarga karshi kurashish uchun yaratgan. Lekin
tabiatning donoligi tufayli kachonlardir paydo bo‘lgan viruslar DNKsini
chegaralaydigan (restriksiya) ferment bugungi kunda insonlar maksadi
uchun xizmat kilmoqda. Rekombinant molekuladar konstruksiya qilish
uchun restruksion endonukleazalardan foydalanishni birinchi bo‘lib 1972

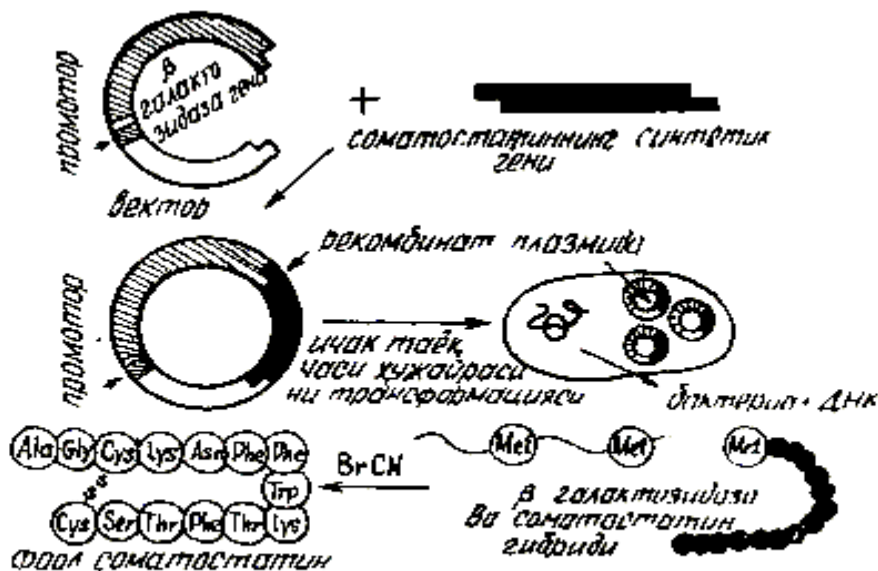
yili Amerika olimlari Stenli Koen va Gerbert Boyer kashf etdilar. Bu olimlar u vaqtgacha o'zlarining plazmidlar ustidagi tadqiqotlari bilan mashxur edilar.

Koen va Boyer goyasiga muvofiq, plazmidani restriktazalarning biri yordamida kesib DNK fragmentlarida bir zanjirli uchlar xosil kilinadi. DNK ning bu erkin uchlari *yopishkok uchlar* deyiladi, chunki bu uchlarda to'latilmagan bir chizikli nukleotidlar katori bor. SHu restriktazaning o'zibilan donor DNK fragmentlarga bo'linadi. Ularning birida bizni kiziqtiradigan genni saklaydigan uchastka xam bo'ladi. Endi mana shu fragmentlarni kesilgan plazmidalar bilan aralashtirilsa, DNK molekulasi bir zanjiri uchida restriktazalar yordamida xosil bo'lgan nukleotidlar zatori, plazmidalarning yopishkoq uchlariga komplementar bo'lganidan ular bilan tegishli ligazalar ishtirokida kovalent bog orkali ulanadi. Ugay DNK xo'jayin DNK sig ulanib o'kilib ketmaydi. Buning uchun vositachi - vektor ishtirok etishi zarur. SHunday vektorlar sifatida plazmidiyalar kulay qurol ekanligi yuqorida ta'kidlangan.

Rekombinat molekulalarni yaratish uchun avvalo zarur genning xujayra DNK sidagi o'rnini aniklab, uni kesib olish kerak. Endi kesib olingan DNK fragmentini klonirlash va vektorga boglash kerak. DNK ni klonirlash turli manbalardan ajratib olingan DNK fragmentlarini plazmadiy yoki virus (bakteriyafag)ga kiritib c'yngra bu genetik elementlarni bakteriya yoki achitki xujayralarida kupaytirish usulidir. SHu usul bilan DNK ning fragmenti vektorga bog'lanadi. Vektorning asosiy xossasi shundan iboratki, u tegishli xo'jayinda avtonom replitsirlanish hususiyatiga ega. Mana shu usulda olingan rekombinirlangan molekula klonlash uchun juda kulaydir, u retsipient xujayrada bemalol ekspressiya qilinadi. Navbatdagi bosqichda plazmidiy eki virus genomiga ulangan DNK molekulasi (rekombinat molekula) bakteriya yoki achitki xujayrasiga kiritiladi. Bunday sintetik genomda bizni kiziqtirgan gen vektor DNK sining axamiyati kam ma'lum

uchastkasini almashtirgan bo‘ladi. Bakteriya xujayrasi tez bo‘linib ko‘payganidan, rekombinat DNK xam shu qadar ko‘payadi va tegishli oqsil sintezini ko‘p martalab tezlatadi va uni sanoat miqyosida olish imkonini beradi.

Gen injenerligi yuli bilan bir qancha zarur gormonlar, immun tanalar (insulin, o‘shish garmoni, interferon), immunoglobulinlar, turli dorilar muvaffaqiyat bilan olinmokda. Molekulyar biologiya va gen injenerligining turli tarmoklari nixoyatda jadallik bilan rivojlanmokda. Ular orasida birinchi darajali axamiyatga ega masala - insonning jismoniy va ruxiy xolati, funksiyasi, imkoniyati boshkarilishining molekulyar asosini tushunishdir. Endi shubxa yo‘qki, bu sirlarning kaliti uning genomida. Mana shuning uchun xam AKSHda va rivojlangan boshka mamlakatlarda, biziig mamlakatimizda xam inson genomining to‘la nukleotid qatorini o‘rganishni maksad qilib qo‘ygan inson genomi nomli uzoq muddatga mo‘ljallangan, juda qimmat turadigan, favqulodda buyuk loyihani ishlashga kirishildi. Lekin bu ulkan vazifani bajarib bo‘larmikin?



Gen injenerligi yuli bilan ushbu gormonni olinib.

Ma'lumki, inson genomi butun bir dunyo, uning moddiy asosini 3 mlrd nukleotid koldig'idan iborat va mingdan ortiq gen tashkil qiladi. Lekin shunday bo'lsa ham, molekulyar biologiya va gen injenerligining bugungi kundagi g'oyalari, metodik yuksakligi va tajribasi bu vazifani hal

qilishga qurbi etadi, deb ishonsa bo‘ladi. Keyingi yillarda butun xromosomalar va ularning juda katta fragmentlarini genlardagi elektrofores usulida ajratib olish va katta DNK molekulalarining strukturasi tez aniqlash usullari ishlab chiqildi, millionlab asosga ega bo‘lgan gigant DNKlarni. eukariotlar xujayrasida klonirlashga erishildi. Shuni aytib o‘tish ham o‘rinli tarix shuni ko‘rsatadiki, insoniyat o‘z oldiga doimo hal qilinishi mumkin bo‘lgan vazifani qo‘yib kelgan.

Gen muhandisligi fermentlari DNK molekulalari bilan turli xil muolajalarni o‘tkazishga yordam berib, ularni tegishli joyidan qirqish, turli xil bo‘laklarini ulash, tabiatda mavjud bo‘lmagan yangi xildagi ketma-ketliklarni sintez qilishda qo‘llaniladi. quyida gen muhandisligida foydalaniladigan asosiy fermentlarni ko‘rib chiqamiz.

DNK polimerazalar. Gen muhandisligida keng qo‘llaniladigan fermentlardan biri E.coli ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimeraza I hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukletidlarni biriktirish yo‘li bilan DNK zanjirining 5' -3' yo‘nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjirni hosil qilish: bir zanjirli matritsa - DNKsiga qo‘shilganda praymer ishtirokida ikki hissa ortishida kuzatiladi. Bu xususiyat kDNK - bibliotekalarini tuzishda qo‘llaniladi. DNK polimeraza DNK zanjiridagi “bo‘shliq”larni to‘ldirishda ham foydalaniladi, masalan, 5' - uchli bo‘laklarni tegishli tartibda ulanishida ham ishtirok etadi. DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo‘lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo‘llaniladi.

Ba’zi viruslardan RNKga bog‘liq DNKpolimeraza, ya’ni teskari transkriptaza yoki *revertaza* deb nomlanuvchi maxsus DNK polimeraza ajratib olingan. Revertazalar DNK ning komplementar zanjirini matritsa RNK sida ham sintezlay oladi. Reveratazalar yordamida kDNK-mRNK ning DNK nusxalarini olish mumkin. DNK genlarining tuzilishini o‘rganish bu genlarning genomdagi to‘liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

DNKligaza qo'shni nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'larini tiklash orqali DNK bo'laklarini bog'lash kabi bitta asosiy vazifani bajaradi. Bu jarayon ligirlash deb ataladi. Gen muhandisligida ko'pincha ligirlash uchun T4 faginging DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo'lagi "yopishqoq uchli" yoki "to'mtoq uchli" qismlari biriktiriladi. Bu eng ko'p qo'llaniladigan fermentlardan biridir.

Nukleazalar - nuklein kislotlar molekulari gidrolizi reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarning yirik guruhi. DNK yoki RNK molekulari nukleazalar ta'sirida bo'laklarga yoki alohida nukleotidlarga parchalanib ketadi. Nukleazalarning hujayradagi dastlabki vazifasi - hayotiy jarayonning ayni vaqti uchun keraksiz bo'lgan molekulari (masalan, mRNKni translyasiyadan so'ng) degradatsiyasini va nuklein kislotlarni begona molekulalardan himoya qilish (bakteriya fag bilan zararlanganda fag DNKsini bakteriya nukleazalari tomonidan parchalab yuborilishi) dan iborat.

Bundan tashqari nukleazalarni ikki tipga: ekzonukleazalar va endonukleazalarga bo'lish mumkin. Ekzonukleazalar, odatda, molekularni 5' yoki 3' erkin uchlaridan boshlab gidrolizlasa, endonukleazalar DNK molekulasini bo'lagi yoki xalqasimon DNK molekulasining ichki ketma-ketliklaridan boshlab parchalaydi.

Restriktazalar. Gen muhandisligida foydaliligi nuqtai nazaridan maxsus endonukleazalar alohida guruhni tashkil etadi.

Genlar ustida bevosita muolajalar o'tkazish usullarining takomillashtirilishi restriksion endonukleazalar (restriktazalar)ning ochilishi bilan bog'liqdir. 1953 yildayoq E.coli ning alohida shtammi DNKsi boshqa shtammi hujayrasi (masalan, V shtammi DNKsi S shtammi hujayrasi) ga kiritilganda, odatda, genetik faollik ko'rsata olmaydi. Chunki u maxsus fermentlar-restriktazalar bilan tezda bo'laklarga bo'lib yuboriladi. Hozirgi vaqtda turli xil mikroorganizmlardan mingdan ortiq har xil restriktazalar ajratib olingan. Gen muhandisligida 200 dan ortiq turi keng qo'llanilmoqda.

O'simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi

Jinsiy gibrizatsiya va tanlashga asoslangan an'anaviy seleksiya usullari o'simliklarning yangi genotiplarini olish imkoniyatini beradi. Ular yirik hajmdagi qishloq ho'jalik ekinlarining gibriz va navlari, shuningdek, seleksiyaning nodir nusxalarini olishni ta'minlaydi.

Rekombinant DNK lar texnologiyasi prokariot, shuningdek eukariot kelib chiqishga ega genlarni ajratish, bu gen (yoki bir necha genlar) retsipient o'simlik xromosomasiga ko'chirib o'tkazish va uning ekspressiyasini ta'minlashga sharoit yaratadi. Bu texnologiyani qo'llash izlanishni birmuncha aniq maqsadli qiladi va genetik apparat bilan manipulyasiya qilish imkoniyatlarini kengaytiradi.

O'simliklarning bitta hujayrasidan yaxlit o'simlik olish mumkinligi, ya'ni totipotentlik xususiyati hayvonlar hujayralariga nisbatan ularning eng muhim afzalligi hisoblanadi. O'simliklar gen muhandisligidagi natijalar o'simlik to'qimalari kulturasi usullari, ayniqsa, turli xil o'simliklarni regeneratsiya qilish uslublarini ishlab chiqishga bog'liq bo'ladi.

Gen muhandisligi texnologiyasi transgen o'simlik olishning quyidagi bosqichlarini o'z ichiga oladi:

- 1) genni tanlash va uni klonlash;
- 2) retsipient - o'simlik genotipini tanlash;
- 3) genni kiritish va uning retsipient – o'simlik genomiga ekspressiyasi;
- 4) transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlash.

Genni tanlash va uni klonlash. Genni tanlash, o'simlikka ho'jalik ahamiyati qimmatli ma'lum bir belgini o'tkazish zaruriyatidan kelib chiqadi. Hozirgi vaqtda, asosan, o'simliklar transformatsiyasi uchun monogen belgilar, ya'ni, pestitsidlarga chidamlilik, yoki boshqa xil stress omillarga chidamlilikni belgilovchi genlar keng qo'llaniladi. Bu belgilarga javobgar genlarning ko'pchiligi bakteriya genomlaridan ajratib olingan. Keyingi vaqtlarda chidamlilik belgilariga javobgar donor sifatida yovvoyi o'simlik turlari genamlari tanlanmoqda. Turli xil tur, avlod va hatto oilalarga mansub o'simliklarning biologik jihatdan bir-biriga mos kelmasligi

sababli bunday genlarni retsipient o‘simliklar genomiga jinsiy gibridizatsiya usuli orqaligina kiritish mumkin emas

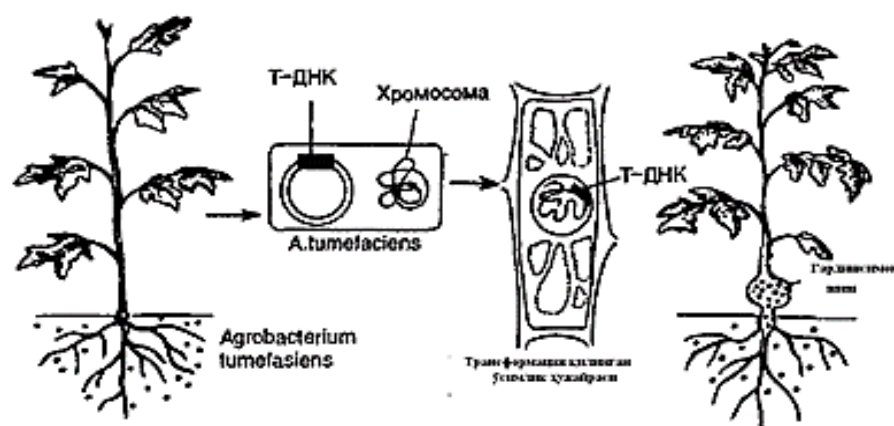
Retsipient o‘simlik genotipini tanlash. Retsipient sifatida ishlab chiqarish amaliyoti talablariga hosildorligi, urug‘ - mevasi sifati, biotik va abiotik stresslarga chidamliligi bilan javob bera oladigan, lekin faqat birgina salbiy belgi, masalan, zararkunanda hasharotga chidamsiz nav yoki liniyalar tanlab olinadi. Bunday o‘simliklar genomiga hasharotlarni nobud qiluvchi prototoksin oqsili ekspressiyasini ta‘minlovchi v *bt2* bakteriya genini kiritish tanlab olingan navda hosildorlikni sezilarli oshishiga sabab bo‘ladi. SHuningdek, retsipient o‘simlik genotipini tanlashda hujayralarning yaxlit (fertil) etuk o‘simlikka qadar regeneratsiya qilish xususiyati ham inobatga olinadi, chunki bu belgi genotipga ham bir qadar bog‘liqdir.

Genni kiritish va uning retsipient o‘simlik genomidagi ekspressiyasi. O‘simliklar genomiga begona genlarni ko‘chirib o‘tkazish muammosi begona genlarni ikki pallali va ba‘zi bir pallali o‘simliklar genomiga ko‘chirib o‘tkazish imkonini beruvchi tuproq agrobakteriyalari *Agrobacterium tumefaciens* tarkibidagi Ti - plazmidlarining aniqlanishi bilan birmuncha engillashdi. So‘nggi vaqtlarda o‘simlik hujayralari transformatsiyasida bioballistik transformatsiya usuli, ayniqsa, bir pallali o‘simliklar uchun keng qo‘llanilmoqda.

Transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o‘simliklarni tanlash. Transformant hujayralardan etuk o‘simlikni regeneratsiya bo‘lishi hujayralar totipotentligiga bog‘liq, ammo bu har doim ham amalga oshavermaydi. Totipotentlik belgisi ikki pallali o‘simliklar: tamaki, kartoshka, lavlagi, soya, raps, beda, pomidor, sabzi, karam va ba‘zi mevali daraxtlarda yaqqol ifodalangan. Bir pallalilar, ayniqsa, boshoqdoshlarda bu belgi kuchsiz ifodalangan bo‘lib, ularda hujayradan etuk o‘simlikni regeneratsiyasi jarayoni juda qiyinchiliklar bilan kechadi. Hozirgi vaqtda g‘alla ekinlariga mansub ba‘zi o‘simliklar makkajo‘xori, sholi, bug‘doy, suli kabilarni regeneratsiya qilish usullari ishlab chiqilgan.

Agrobakteriyalar asosida o‘simliklar transformatsiyasi. Ba‘zi tuproq bakteriyalari turlari (*Agrobacteria*)ning ikki pallali o‘simliklarni zararlashi va bunda

o'ziga xos shish – gardishsimon bo'rtma hosil qilishi oldindan ma'lum edi. Bu shishlar zararlangan joyda muntazam ravishda bo'linib o'sadigan dedifferentsiallashgan hujayralardan tashkil topgan. In vitro sharoitida o'stirilganda shish hujayralari normal o'simlik hujayralari o'sishi uchun zarur gormonlar uchramaydigan muhitda ham o'sa oladilar. Agar zararlantirilgandan so'ng barcha agrobakteriyalarni antibiotiklar qo'shib inaktivatsiya qilinsa ham shish hujayralari tartibsiz (nazorat qilinmaydigan) bo'linish xususiyatini saqlab qoladilar. SHish hosil qiluvchi kuchli induktorlardan biri Agrobacterium tumefaciens misolida shish chaqiruvchi vosita Ti – plazmida deb nomlangan (ingliz tilidan Tumor inducing – shish chaqiruvchi) maxsus plazmida bo'lib, uning bir qismi o'simlik hujayrasi xromosomasiga o'rnashib olishi aniqlangan



O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. Begona genlarning o'simlik genomiga ekspressiyasi natijasida bir qator muammolar kelib chiqadi. Birinchi marta o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan genlar bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, ularni o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun to'g'ridan –to'g'ri ishlatib bo'lmasdi.

Bakteriya genlari eukariot hujayralarda transkripsiya bo'lishi uchun ularning promotor ketma-ketliklarini o'simlik genlari promotorlari yoki boshqa o'simlik hujayrasida transkripsiyani initsatsiya qila oladigan prmotorlariga almashtirish lozim bo'ladi. Bundan tashqari, bakterial genning 3 - qismiga poliadenillanish signalini saqlovchi fragmentni ulash lozim. Bunday modifikatsiyalar eukariot RNK – polimerazaning bakterial ketma-ketlikni transkripsiyalashi va undan so'ng mRNK o'simlik hujayrasida bakterial oqsilni translyasiya qilish uchun kerak bo'ladi.

Mikroorganizm – produtsentlarni gen muxandisligi usullari yordamida yaratish O‘tgan asrning 1970 - yillarida biotexnologiyada yangi tajriba texnologiyasi – genetik (gen) muxandislik yaratildi. Bu usulning asosida hujayradan tashqarida rekombinant DNK yaratish yotadi. Bu texnologiyadan foydalanish oqibatida genlarni sof holda ajratish, ularni modifikatsiya qilish, birini ikkinchisiga ulash, “genlar majmuasi” yaratish, oqibatida butunlay yangi xususiyatiga ega bo‘lgan oqsil sintez qilish imkoniyati yaratildi va uni oqsillar muhandisligi deb ataladi

Vektor gen bilan ligaza fermenti yordamida birikkandan keyin rekombinant DNK hosil bo‘ladi. Keyin, bu birikma (vektor gen) mikroorganizm hujayrasiga yuboriladi (transformatsiya) va u erda amplifikatsiya (ko‘payish) amalga oshadi.

Natijada bir genning bir necha nusxasi – klon paydo bo‘ladi. SHuning uchun ham bu yo‘lni klonlash deb ataladi.

Agar klonlash maqsadida hamma genlar saqlovchi odam DNKsi ishlatilsa, odamning gen kutubxonasi (klonoteka) hosil bo‘ladi.

Bu usulda bakteriyalarga klonlashtirilgan inson, hayvon yoki o‘simliklar genlari to‘g‘ridan-to‘g‘ri bakteriyada faoliyat ko‘rsata olmaydi.

Ishlash uchun esa, ularni bakteriyadan ajratish, bakteriya genini boshqaruvchisi (regulyatori) bilan jihozlash va qaytadan bakteriyaga kiritish zarur.

Bugungi kunda har xil genlar saqlovchi va kerakli maxsulot sintez qiluvchi bir qator transgen bakteriyalar yaratilgan va muvaffaqiyat bilan ishlatilib kelinmoqda.

SHu sababli ham tabiiy shtammlar yordamida olinadigan maxsulotlar (birinchi avlod maxsulotlari) bilan bir qatorda transgen shtammlar yordamida rekombinant oqsillar (ikkinchi avlod maxsulotlari)ni sanoat miqyosida ishlab chiqarish yo‘lga qo‘yilgan. Biologik maxsulotlarni uchunchi avlodi – tabiiy oqsillarning vazifalarini to‘liq bajara oladigan, ammo tabiiy bo‘lmagan maxsulotlarni sintez qilish natijasida paydo bo‘ladi.

Gen-muxandisligi usullari (rekombinant DNK texnologiyasi) tibbiyot uchun zarur bo‘lgan, qimmatbaho oqsil moddalari ishlab chiqarish yoki ko‘p tonnalik oqsil moddalari ishlab chiqarish jarayonlarida keng qo‘llanib kelinmoqda. Eng

avvalo inson organizmida sintez bo'ladigan va dorivor modda sifatida ishlatiladigan oqsil va peptidlarni sintez qilishni yo'lga qo'yish katta ahamiyat kasb etadi.

Gen muxandisligi muammolari bilan shug'ilanadigan omillarni asosiy vazifalaridan biri ham shunday birikmalarni etarlicha sintez qila oladigan bakteriyalar shtammlarini yaratishga bag'ishlangan. Bu jarayonni asosiy qiyinchiliklari, shtamm yaratish bilan bog'liq emas, balki, yaratilgan shtammda sintez qilingan oqsil moddalarini kerakli me'yorda ushlab turish, ularni modifikatsiyaga uchrab, mikroorganizm hujayrasida parchalanib ketmasligi uchun sharoit yaratish bilan ham uzviy bog'liqdir.

Hozirgi vaqtda qaysi produtsent (mikroorganizm) dan foydalangan holda foydali maxsulotlar sintez qilish mumkinligini aniq ko'rsatib berish mumkin. Agarda bunday produtsent bo'lmasa, qay tariqa va qanday sharoitda yuqori darajada, istalgan turdagi maxsulotni olish xususiyatini namoyon qiluvchi produtsentni yaratish mumkinligini oldindan aytib berish imkoniyatlari mavjuddir. Biotexnologik ishlab chiqarishda bugungi kunda mikroorganizmlarni minglab shtammlaridan foydalanilmoqda.

Oziq-ovqat sanoati biotexnologiyasida gen muxandisligi sohasini o'rganishdan maqsad:

- ✓ tirik organizmlar irsiy belgilari xaqidagi axborot joylashgan DNK molekulasi tuzilishi, roli hamda uning molekulyar biologiyasi;
- ✓ genetik muxandislikning moddiy asoslari: transformatsiya, transduksiya, ko'chib yuruvchi genetik elementlar-transpozonlar, plazmidalar, viruslar, bakteriofaglar, restriktazalar, rekombinant DNK olish, genlarni klonlash, hujayra muxandisligi, hujayra va to'qimalarni sun'iy sharoitda o'stirish texnologiyasi;
- ✓ genetik muxandislikning oziq-ovqat sanoatida, hayvonlar va o'simliklar seleksiyasida qo'llanilishi;
- ✓ gen muxandisligiga asoslangan biotexnologiyaning oziq-ovqat sanoatidagi ilmiy-texnik taraqqiyotni tezlashtirishdagi roli;

- ✓ gibridomalar olish texnologiyasi va uning yuqorida keltirib o'tilgan maxsulotlarni ishlab chiqarishda qo'llashni hamda genetik muxandislikning istiqbollari haqida aniq bilimlarni o'zlashtirishdan iborat.

Ushbu fanning asosiy vazifasi zamonaviy gen muxandisligi yutuqlarini xalq xo'jaligi amaliyotida keng ko'lamda qo'llashdan iborat. Gen muxandisligi an'anaviy tanlash (seleksiya) usullarini inkor qilmasdan, aksincha uning imkoniyatlarini yanada kengaytiradi.

Gen muxandisligi usullari quyidagi vazifalarni hal qila oladi:

- ✓ produtsentlarning alohida olingan genlarini o'zgartirish, ularni kerakli funksiyalarini kuchaytirish, ya'ni yangi genetik axborot kiritmasdan, o'zida mavjud inshaklsiyani modifikatsiya qilish orqali shtammning samaradorligini oshirish yoki yaxshilash;
- ✓ aniq vazifaga javobgar bo'lgan, alohida genni ajratib olish va uni o'zgartirish (mutatsiya qilish), hujayra ichida uning nusxalarini ko'paytirish va shu orqali ma'lum maxsulot sintezini kuchaytirish;
- ✓ promotorlarni genning faolligini aniqlovchi mutatsiyaga uchragan turini olish, enxanserlar (promotorlar faolligini kuchaytiruvchilar) kiritish;
- ✓ ishlatiladigan substratlar spektrini kengaytirish. Masalan, sut zardobi, sellyuloza saqlovchi chiqindilarda tez rivojlanib, oqsil sintez qiluvchi mikroblarning shtammlarini yaratish;
- ✓ ksenobiontlar (inson yaratgan biologik faol moddalar), neft qoldiqlari, har xil toksinlar va atrof muhitni ifloslantiruvchi kimyoviy moddalarni va boshqa keraksiz birikmalarni utilizatsiya qilish imkoniyatiga ega bo'lgan mikroorganizmlar shtammlarini yaratish;
- ✓ qo'shila olmaydigan mikroorganizmlarga qo'shilishni ta'minlab beruvchi plazmidalar kiritish va shu tufayli shtammlarning xossalarini yaxshilash maqsadida rekombinatsiya usullaridan foydalanish;
- ✓ boshqa guruh organizmlar genini kiritish va shu orqali kiritilgan gen maxsulotini olish. Masalan, o'simliklardan shirinligi saxarozadan 3000 marotoba ortiq

bo'lgan polipeptid genini E.coli ga yoki Sacch.cerivisiae kulturalariga o'tkazish va shu orqali shirin ta'm beruvchi maxsulotlar tayyorlash;

- ✓ Yangi gen konstruksiya qilib, yangi oqsil olish, keyinchalik oqsil molekulasini "arxitekturasi" (birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi strukturalari) va ularning biokimyoviy xossalari aniq bo'lgandan keyin, sun'iy genlar sintez qilish va ularni klonlash orqali yangi oqsillar yaratish va h.k.

Hozirgi davrda E.coli, Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae kabi mikroorganizmlarning genetikasi juda ham yaxshi o'rganilganligi sababli, ular gen muxandisligida keng ishlatilmoqda.

Mikroorganizmlar hujayralaridan eng muhim birikmalar, masalan, gormonlar (insulin, somatostatin va somatotropin), immunitetni kuchaytiruvchi moddalar (α -tirozin, interferon, interleykin, viruslar qobiqlarining oqsillari, - ulardan o'ta xavfli kasalliklar – qutirish, oqsim, gepatit V, shuningdek, hozirgi vaqtda parrandalarga qirg'in solayotgan parranda grippining qo'zg'atuvchisi N5N1-virusi va boshqa yuqumli kasalliklarga qarshi emlash (vaksinatsiya) vositalari olishda foydalanilmoqda.

Gen muxandisligi usullari yordamida aminokislotalar (treonin, prolin va h.k.), fermentlar, antibiotiklar va boshqa biologik faol moddalarning superprodutsentlari olingan. Bu usul gen faolligini boshqarish, uning funksiyasini, tuzilishini o'rganish, prokariot va eukariot organizmlarda genetik materiallarni tashkil qilish masalalarida chegaralanmagan imkoniyatlarni ochib beradi.

Tirik organizmlar irsiy axborotini sun'iy yo'l bilan ma'lum maqsadga muvofiq o'zgartirish jarayoni genetik muxandislik fanining asosiy ustqurmasi hisoblanadi.

Genetik muxandislik hujayra, xromosoma va gen darajasida amalga oshiriladi:

1. Hujayra darajasidagi genetik muxandislik - ikki hujayrani o'zaro qo'shish yo'li bilan amalga oshiriladi.

2. Xromosoma darajasidagi genetik muxandislik -hujayra yadrosiga qo'shimcha xromosomalar kiritish orqali amalga oshiriladi.

3. Gen darajasidagi genetik muxandislik yoki gen muxandisligi - eng murakkab bo‘lib, quyidagi bosqichlar asosida amalga oshiriladi:

- ✓ aniq maqsaddan kelib chiqqan holda, shu maqsadga javob beraoladigan gen, uning funksiyasini o‘rganish orqali qidirib topiladi, ajratib olinadi, klonlanadi va tuzilishi o‘rganiladi.
- ✓ ajratib olingan gen xromosoma DNK si bilan rekombinatsiyalanuvchi biror fag genomi, transpozon yoki plazmida DNK si bilan biriktirilib vektor konstruktsiya yaratiladi.
- ✓ vektor konstruktsiya transformatsiya usuli bilan hujayraga kiritiladi va transgen hujayra olinadi.

Transgen hujayradan sun‘iy ravishda etuk organizm o‘stiriladi. Ushbu usuldan foydalanib o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayralaridan transgen shakllar olish mumkin. Hujayra muxandisligi usullaridan foydalanib, tirik organizmlardan gibrid hujayralar olish biotexnologiyasi yaratildi va bu asosida monoklonal antitelalar olish yo‘lga qo‘yildi. Biotexnologiyaning bu sohasiga dastlabki qadamlar 1973 yil birinchi gen klonlangan vaqtdan boshlab qo‘yilgan edi (2-jadval).

Zamonaviy biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari 2-jadval

Кашф этилган вақти	Бажарилган ишлар
1973 йил	Биринчи ген клонланган
1974 йил	Биринчи бактерия генларини клонлаш экспрессияси амалга оширилди
1975 йил	Биринчи гибридома яратилган
1976 йил	Рекомбинант ДНК технологиясидан ишлаб чиқаришда фойдаланиш бошланган
1980 йил	Ген мухандисли усуллари ёрдамида олинган микроорганизм штамmlарини патентлаш ҳақидаги қарор қабул қилинган
1981 йил	Моноклонал антителла тўпламларидан фойдаланиш мумкинлиги тўғрисидаги қарор қабул қилинган. Биринчи марта генларни автоматик синтезатори сотувга чиқарилди
1982 йил	Тиббиётда рекомбинант ДНК - инсулини ва ҳайвонлар учун биринчи рекомбинант ДНК дан фойдаланишга рухсат берилди
1983 йил	Биринчи маротаба ген экспрессиясидан бир ўсимликдан бошқа турида фойдаланиш мумкинлиги исботланди

Ilmiy ishlar davom ettirilmoqda. Hozirgi vaqtda kun tartibida OITS (SPID) va parranda grippining qo'zg'atuvchisi N5N1 virusiga qarshi vaktsina yaratish masalasi ko'ndalang turibdi.

Gen muxandisligi biotexnologiyasining yutuqlari sanoat ko'lamida va qishloq xo'jaligida keng qo'llanilmoqda.

Xususan, antibiotiklar, aminokislotalar, vitaminlar va gormonlar ishlab chiqarilmoqda, nasldor qoramol klonlari yaratilmoqda, tuproq va suvda zaharli pestitsid qoldiqlarini parchalaydigan mikroorganizmlarni transgen shtamlari olingan, atmosfera azotini o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar genlari asosida tuproqni azotli o'g'itlar bilan boyitish muammosi echilmoqda, zararli xasharotlarga va patogen mikroorganizmlarga chidamli, ekologiyani asrovchi transgen o'simlik navlari etishtirilmoqda, irsiy kasalliklarni tezkor tashxis qilish uchun diagnostikumlar tayyorlanmoqda, shuningdek, gen terapiya usullari takomillashtirilmoqda.

Bugungi kunda genetik muxandislikka asoslangan biotexnologiya tezkor oshib borayotgan, inson ehtiyojlarini qondirish uchun klassik texnologiyalardan o'ta samarali ekanligini to'la namoyon qilmoqda.

Gen muxandisligining mohiyati va vazifalari

Viruslar bilan prokariot hujayralar orasidagi materialning ko'chirilishini, tabiiy sharoitda bakteriyalarda o'tadigan rekombinatsiya mexanizmlarini o'rganish, plazmidalar va mo'tadil faglarning hujayradagi hayotini tushunish genlar ustida turli manipulyasiyalar o'tkazish imkoniyatini beradi. Olimlar qo'lida DNKning kerakli bir qismini bakteriya hujayrasiga ko'chirib o'tkazadigan sistema -plazmidalar ham bor. Bunday transmissiv ko'chirib o'tkazuvchi xalqali molekulalar - plazmidalar va mo'tadil viruslar vektor deb ataladi (3-jadval). Ular tabiatning o'zi biologlarga taqdim qilgan sovg'a bo'ladi. SHunday ekan, endi bakteriyalarni kulturada (ular o'sadigan muhitda) insonlar uchun kerakli oqsillarni, fermentlarni sintezlashga majbur qilib bo'lmasmikan degan savol tug'iladi? Bu g'oyalarning amalda yuzaga chiqishi gen

muxandisligi yoki genetik muxandislik deb ataladigan va katta istiqbolga ega bo'lgan yangi sohani dunyoga keltirdi.

3-jadval

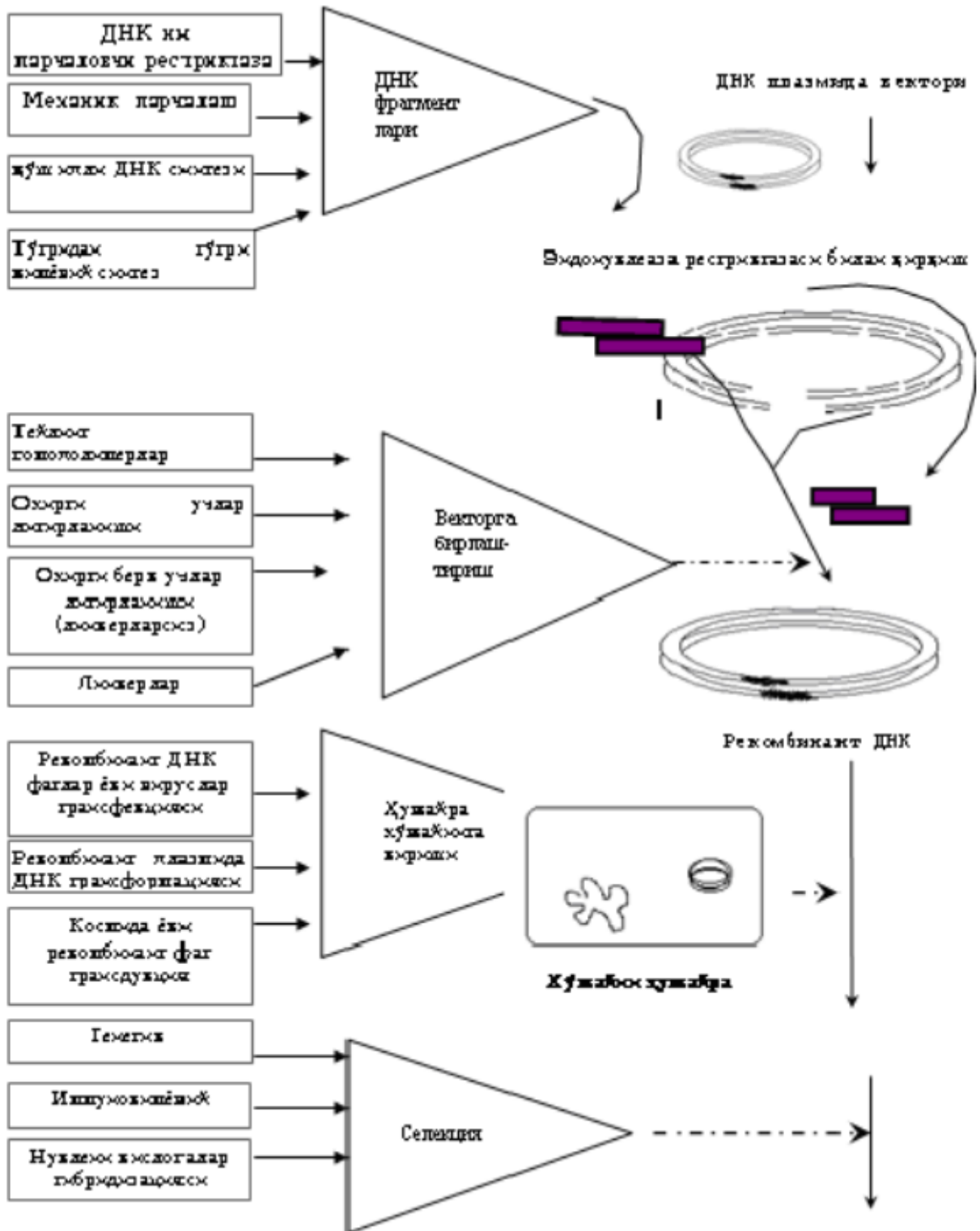
Biotexnologiyada keng qo'llaniladigan ba'zi bir vektorlar tavsifi

Векторлар	Нусхалар миқдори	Ўлчами, минг нуклеотидлар
клонлаш учун плазмида векторлари: pBR 322 pACU 184	40-50 ~20	4,4 4,0
клонлашда махсус катталиқдаги векторлар: λ Chron 4A космида pHC 79	100-200 ~20	41,8 6,4
генлар экспрессияси учун плазмида векторлари: p trp ED5-1	40-50	6,7

Gen muxandisligi qisqacha aytganda, genlar ustida turli manipulyasiyalar o'tkazish, ularni to'la o'rganish asosida funksional qismlarga bo'lish, kerakli joyidan kesish, kerak bo'lmagan qismini olib tashlash, kerak bo'lgan qismlarini boshqa genlardan yoki sintez yo'li bilan olib ulash va shu usulda tayyorlangan duragay yoki rekombinant genni muvofiq organizmga kiritib (Masalan, odamning insulin genini mikroob hujayraga yoki sichqonning o'sish gormoni genini kalamushga), zarur turlarni yoki preparatlarni sintez qilish va hakoza g'oyalar va texnologiyalarning yig'indisidir (2-rasm).

Ayrim DNK molekulalari - genlarning bir turini ko'p nusxasini hosil qilish maqsadida ilgaridan hujayralarning toza liniyalarini olishda ko'pdan beri ishlatiladigan, klonlanish texnikasini molekulalarga moslashtirilgan varianti qo'llanilmoqda.

Hujayra liniyalarining bir xilligini, klonlash usuli bilan ham kuchaytirish mumkin. Klon - deb birdan-bir old hujayradan kelib chiqqan hujayralar populyasiyasiga aytiladi. Klonlash asosan mutant hujayralar olish uchun ishlatiladi. Molekulyar klonlash DNK ning aniq bir namunasini toza holda ko'paytirishdan iborat.



1-чизма. Gen muxandisligi manipulyasiyalari mexanizmi

2-mavzu: Rekombinant DNKlar texnologiyasi. Gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar.

Reja:

1. Rekombinant DNK texnologiyasi. Restriksiya va ligirlash, yot genni vektorga ko‘chirish.
2. Restriksiyalovchi endonukleazalar.
3. Plazmida vektorlari va plazmid vektor pBR322
4. Transformatsiyaning ahamiyati va asosiy usullari. Shtammlar olish. Vektorlar va ularning gen muxandisligidagi ahamiyati. Vektorlarni konstruktsiya qilish prinsiplari.
5. Gen muxandisligida yuqori sifatli vektorlarning hususiyatlari.
6. Gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar.

Tayanch iboralar: rekombinant DNK, restriksiy, vektor, plazmida vektorlari, restriksiyalovchi endonukleazalar, transformatsiya, restriktazalar, restriktazalar klassifikatsiyasi, gen muxandisligi fermentlari.

Rekombinant DNKlar texnologiyasi

Rekombinant DNKlar texnologiyasi (molekulyar klonlash ham deb ataladi) - tajriba muolajalari yig‘indisi bo‘lib, bir organizm genetik materialini (DNK) boshqa organizmga o‘tkazish usulidir. Rekombinant DNK olish bo‘yicha universal usullar mavjud emas, lekin ko‘pincha quyidagi sxema asosida olinadi (1rasm).

* Kerakli genlar olinadigan donor organizmdan nativ DNK ekstraksiyalanadi, fermentlar yordamida gidrolizlanadi va boshqa DNK(vektor)ga ligaza fermenti yordamida birlashtirilib rekombinant DNK hosil qilinadi.¹

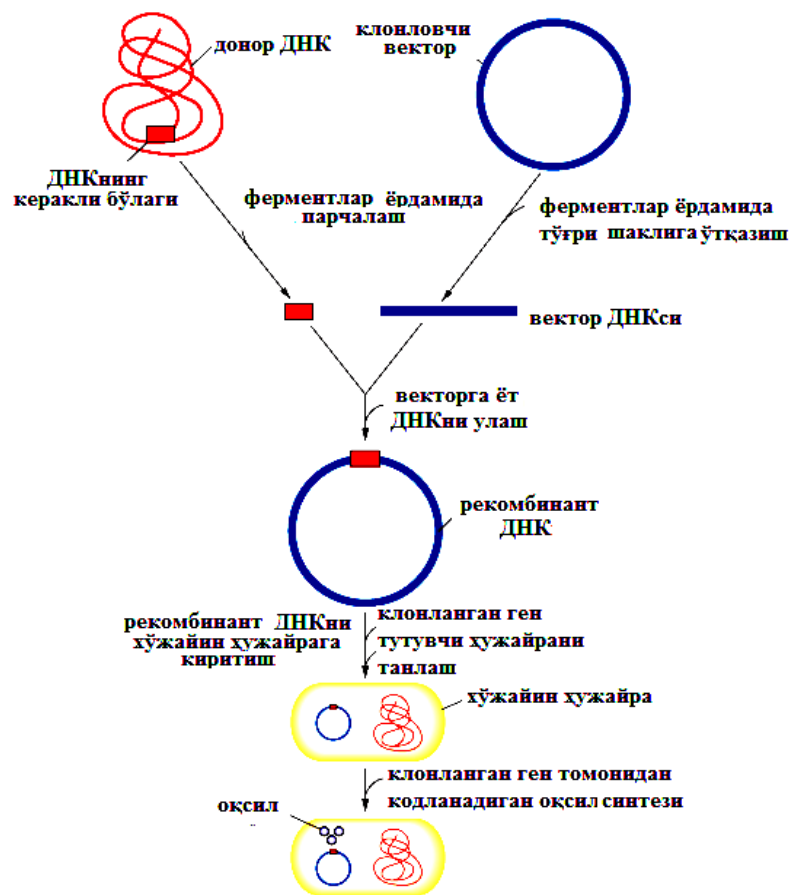
* Bu konstruktsiya xo‘jayin hujayraga kiritiladi, u erda replikasiyalanib keyingi avlodlarga beriladi. Bu jarayon transformatsiya deyiladi.¹

- Rekombinant DNK tutuvchi hujayralar aniqlanadi va tanlab olinadi.

¹Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology –Washington 447-58p

- Klonlangan gen kodlagan spetsifik oqsil xo‘jayin hujayradan ajratiladi. Olinadi va bu oqsil gen klonlanganligini dalili bo‘lib xizmat qiladi.

Rekombinant DNK yaratish uchun asos bo‘lib molekulyar biologiya, nuklein kislotalar enzymologiyasi va bakterial viruslar molekulyar genetikasi, shuningdek bakteriyalarning xromosomalardan tashqari elementlari hizmat qildi. Rekombinant DNKni yaratish bu murakkab jarayonning barcha bosqichlarining asosiy asbobi bo‘lgan fermentlar yordamida amalga oshiriladi. Ayniqsa ikki zanjirli DNK molekulasidan spetsifik nukleotid izchilliklarni tanib kesadigan restriksiya fermentlari (restriksiyalovchi endonukleazalar, restriktazalar) ning o‘rni beqiyosdir.



1- Rasm. Donor organizmdan kerakli DNK ajratib olinadi, fermentativ gidroliz orqali kerakli gen ajratiladi. Bakteriy yoki boshqa hujayra s strukturalaridan vektor (plazmidu) olinadi va va kesiladi. Vektorga DNK fragmenti o‘rnatiladi.

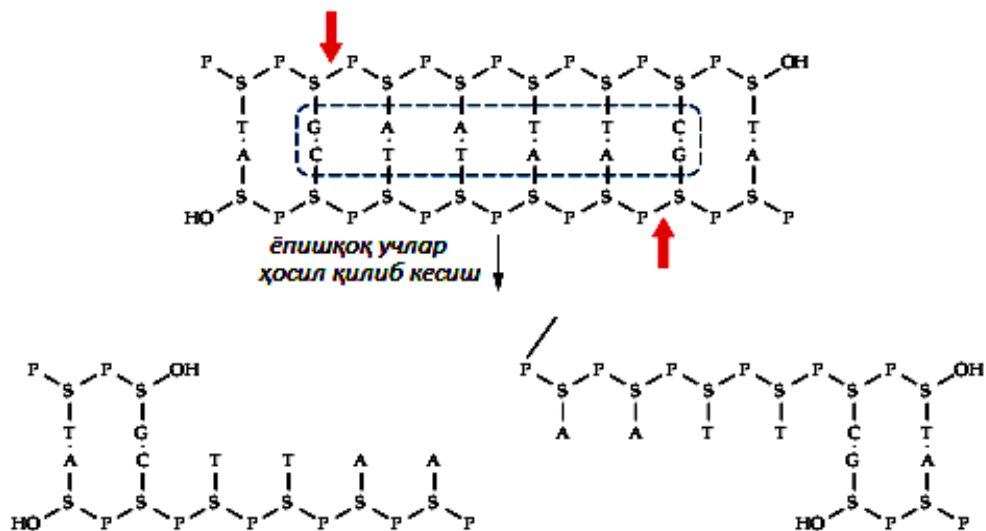
Olingan konstruksiya xo‘jayin hujayraga kiritiladi va u erda nasl beradi.

Klonlangan gen kodlovchi oqsil aniqlanadi.

Restriksiyalovchi endonukleazalar. Molekulyar klonlashda donor va vektor DNKsini ma'lum joy (sayt)dan fragmentlarning diskret to'plamlarini hosil qilishi zarur. Agar xromosoma DNKsini kichik diametrli ninali shpritsdan o'tkazsak yoki ultratovush bilan ishlov bersak, uxolda biz 0,3 dan 5 gacha m.n.j. uzunlikdagi fragmenlar olishimiz mumkin. Afsuski bu oddiy operatsiyalar natijasida ikkinchi zanjirli DNK molekulasidagi uzilishlar tasodifiy xolda amalga oshadi, chunki har gal ishlov berilganda umuman yangi fragmentlar to'plami hosil bo'ladi. Molekulyar klonlashni amalga oshirish bakteriyalarning yuqori spetsifik fermentlari ajratilganidan so'ng amalga oshirish mumkin bo'ldi. Bu fermentlar ikki zanjirli DNK molekulasidagi ma'lum izchilliklar asosini tanib DNKning ikkita zanjirida ham uzish hosil qiladi. Bu fermentlar II tipdagi restriksiyalovchi endonukleazalar deyiladi.

Birinci II tipdagi restriksiyalovchi endonukleazalardan biri *Escherichia coli* bakteriyasidan ajratilgan bu ferment *EcoRI* deb nom olgan. Bu ferment DNKning spetsifik palindrom izchillik tutuvchi oltita nukleotid juftidan iborat qismidagi adenin va guanin qoldiqlari orasidan uzish hosil qiladi ya'ni DNK zanjirida tanib kesadigan sayt markazidan bir xil masofada zina xosil qilib, simmetrik uzish paydo qiladi. Bu bir-biriga komplementar uchastkalar asosini juftlashishi hisobiga yoki «yopishqoq» uchlari orqali birlashish tendensiyasiga ega bo'ladi. (2- rasm).

EcoRI dan tashqari bakteriyalardan yuzlab II-tip restriksiyalovchi endonukleazalar olingan. Restriktazalarni nomlashda ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olingan bo'lishi mumkin. *Escherichia coli*-*EcoR I*, *EcoR V*, *Haemophilus influenzae* –*Hinf I*, *Streptomyces albus* – *Sal I*, *Thermus aquaticus* – *Taq I*.



2-Rasm. DNK ning qisqa fragmentini II tipdagi EcoRI restriksiyalovchi endonukleaza yordamida yopishqoq uchlar hosil qilib kesish. Strelkalar DNK zanjirining kesilish joylarini ko‘rsatgan.

II–tip restriksiyalovchi endonukleazalar tomonidan tanilib DNK molekulasi parchalanadigan joy uzish sayti deb ataladi. YOpihqoq uchlar hosil qiluvchi restriktazalardan tashqari to‘mtoq uchlar hosil qiluvchi restriktazalar ham mavjud. Ularning uzish sayti 4-6ta nukleotiddan iborat bo‘lishi mumkin. (1-jadval) Restriksiya sayti ichida to‘g‘ri uzish (qaychi singari shartta ikki bo‘lakka bo‘ladi) xosil qiluvchi restriktazalar ta’sirida «to‘mtoq» uchli DNK fragmentlari paydo bo‘ladi, ularni ham DNK-ligaza fermenti yordamida biriktirish mumkin. Bunday xollarda ligirlash reaksiyasi o‘ziga xos bo‘lib, uning samara darajasi «yopishqoq» uchlarni biriktirishga nisbatan bir oz pastroq. Ammo «to‘mtoq» uchli fragmentlar biriktirishining «yopishqoq» uchli fragmentlarni biriktirishga nisbatan afzalligi shundaki, «to‘mtoq» uchli bu fragmentlar qaysi restriktaza ta’sirida paydo bo‘lishidan qat’iy nazar, turli restriktazalar tomonidan xosil bo‘lgan fragmentlar oson birikadi.(3-rasm)

II–tip restriksiyalovchi endonukleazalargenlarni klonlashdagi asosiy fermentlardan hisoblanadi. DNK namunasiga ma’lum restriktaza bilan ishlov berilganda uzish saytlaridan kesilib ,fragmentlarning bir xil to‘plami hosil

bo'ladi. Agar bir necha restriksiya fermentlardan foydalanilsa oldin har bitta restriktaza bilan ishlov beriladi, so'ngra ularning kombinatsiyasi bilan ta'sir ettirilib mazkur DNKning fizik kartasini tuzish mumkin ya'ni molekula bo'ylab restriksiya saytlarini aniqlash mumkin. Hosil bo'lgan fragmentlar o'lchamini gel elektroforez yordamida aniqlanib, restriksiya saytlarini topish mumkin.

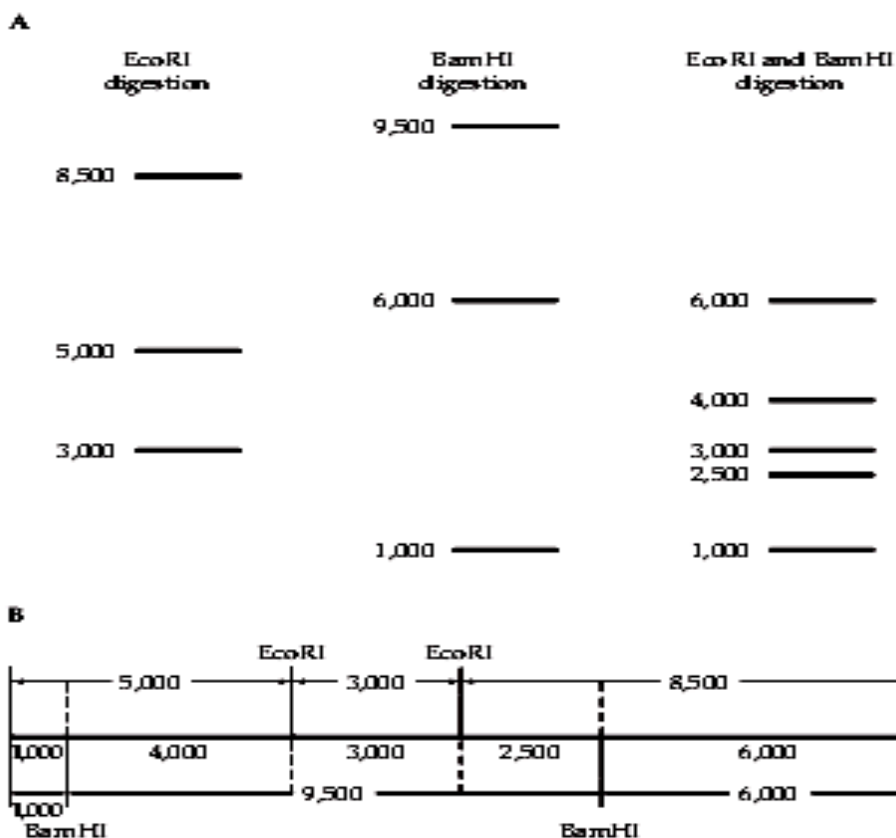
1-jadval

Ba'zi restriktazalarning nukleotidlar ketma-ketlikdagi tanib uzadigan izchilliklari

фермент	Узиш сайтлари	ҳосил бўладиган учлари характери
EcoRI	G1A-A-T-T-C C-T-T-A-ATG	5'-фосфат гуруҳи учлари
BamHI	G1G-A-T-C-C C-C-T-A-GTG	5'-фосфат гуруҳи учлари
PstI	C-T-G-C-A1G GfA-C-G-T-C	3'-гидроксил гуруҳи учлари
Sau3AI	1G-A-T-C C-T-A-Gf	5'-фосфат гуруҳи учлари
PvuII	C-A-G1C-T-G G-T-CfG-A-C	тўмтоқ учлар
HpaI	G-T-T1A-A-C C-A-AfT-T-G	тўмтоқ учлар
HaeIII	G-G1C-C C-CfG-G	тўмтоқ учлар
NotI	G1C-G-G-C-C-G-C C-G-C-C-G-G-CfG	5'-фосфат гуруҳи учлари

Restriksiya xaritasini tuzish uchun aloxida restriksiyalash va aralash restriksiyalash natijasida hosil bo'lgan fragmentlar o'lchamini taqqoslash zarur bo'ladi. Bunday taqqoslash natijasi 4B rasmda berilgan. Agar DNK har ikala restriktazalar (EcoRI iVatHI) bilan gidroliz qilinganda uchta fragment hosil bo'lsa, demak DNK ning boshlang'ich DNK fragmentida xar bir ishlatilgan ferment uchun ikkitadan sayt mavjud ekan. *EcoRI* gidrolizi natijasida xosil bo'ladigan 300 n.j. o'lchamdagi fragment *EcoRI* i *VatH* ikkita aralashmasi ta'sirida gidrolizlanmansa demak, ikkita *EcoRI*-sayt bir biridan 300 nukleotid juft oraliqda bo'lib, ular orasida *VatHI*-sayt mavjud emas ekan, 850 va 500

n.j.uzunlikdagi *EcoRI*-fragmentlarda bittadan *VatHI*-saytlar mavjud ekan. *Vat HI* restriktazasi natijasida hosil bo‘lgan 950 n.j uzunlikdagi fragment *EcoRI* bilan ikki karali ishlov berilganda uchta fragmentga (250 + 300 +400 - 950 p.n.) parchalanadi.



3-rasm. Restriksiya saytlarini xaritalash.

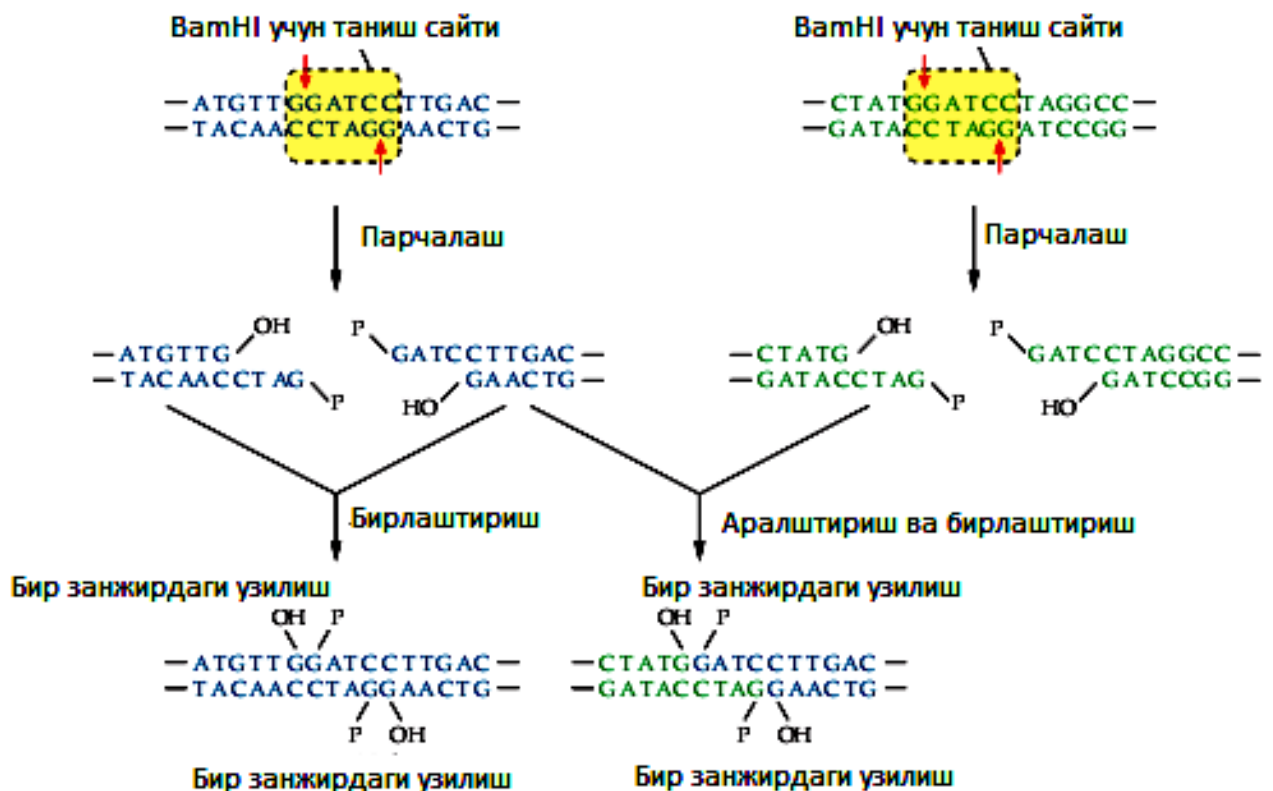
A. Ko‘rsatilgan fermentlar yordamida hosil bo‘lgan DNK fragmentlarni gel-elektroforez natijalari. Tozalangan DNK *EcoRI* va *VatHI* fermentlari yordamida alohida-alohida , so‘ngra ularning aralashmasi yordamida gidrolizlanadi, gel-elektroforez o‘tkazilib, etidiy bromid yordamida bo‘yalgan mahsulot o‘rganiladi. Gorizontol poloskalarining chap tomonida fragmentlar uzunligi juft asoslarda berilgan.

B. elektroforez natijalari bo‘yicha tuzilgan restriksion harita. Mos fermentlarning tanish saytlari orasidagi sonlar.

4 rasmdagi xaritadan har bir gidrolizda hosil bo‘ladigan restriksiya saytlari joylashishi va fragmentlari o‘lchamlari orasidagi moslikni yaqqol ko‘rish mumkin.

Demak, ikkita *VatHI*-saytlar *EcoRI* saytdan qarama qarshi tomonga 250 va 400 n.j masofada joylashgan. *VatHI*- fermenti 850 n.j. uzunlikdagi *EcoRI*-fragmentni 250 va 600 n.j. uzunlikdagi fragmentlarga kesadi, *EcoRI* uchun saytlardan biri esa *VatHI* saytidan 250 n.j masofada joylashgan, demak 600n.j DNK boshlang'ich molekulasining qaysidir oxirini tutishi kerak. So'ngra, *VatHI* 500n.j fragment *EcoRI*-fragmentni ikkita 100 va 400 n.j fragmentlarga parchalaydi, *Vat HI*, saytlaridan biri *EcoRI* saytdan 400 n.j. bilan ajralgan, demak 100 n.j fragment boshlang'ich DNK molekulasining ikkinchi uchini namoyon qiladi.

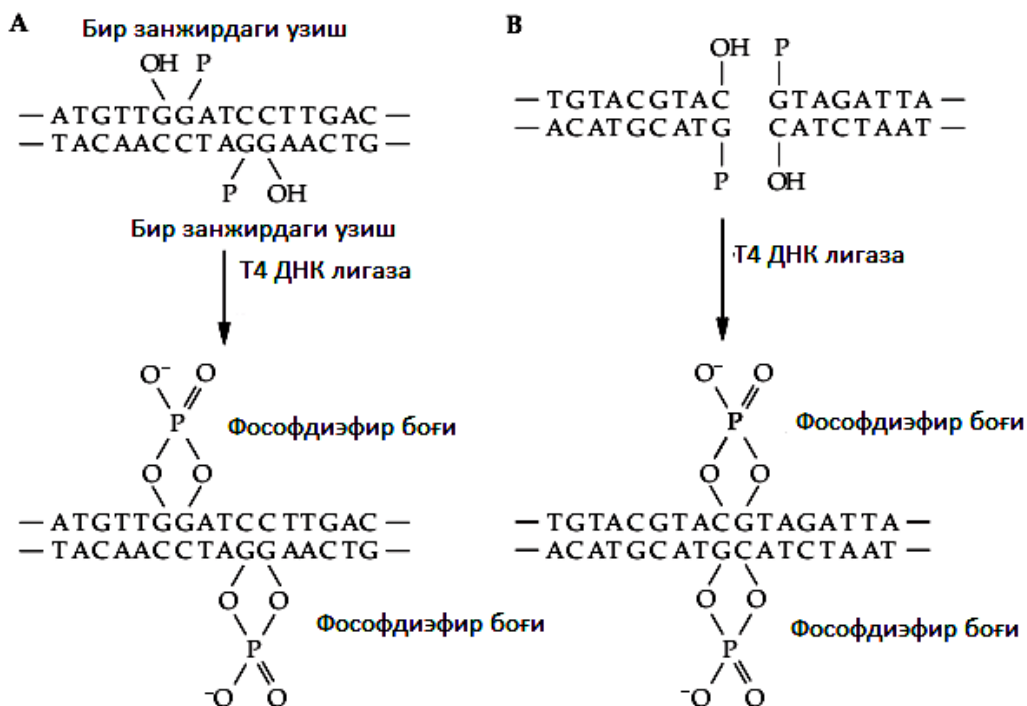
Restriksiyalovchi endonukleazalarni qo'llashning yana bir qo'llanilish soxasi mavjud. DNKning ikkita har hil namunasi yopishqoq uchlar hosil qiluvchi bir hil restriktaza bilan ishlov berib aralashtirilganda komplementar juftlashishga binoan yopishqoq uchlar juftlashib, genlarning yangi kombinatsiyasini- rekombinant DNK larni hosil qiladi (4 rasm).



4-rasm, DNKning turli namunalarini *VatHI*, restriksiyalovchi endonukleazalar yordamida parchalanganda hosil bo'lgan yopishqoq uchlarni birlashtirish. Rasmda ko'rsatilgan to'rtta fragment bir-birlari bilan birlashib oltita turli DNK molekulasini hosil qilishi mumkin. YOpishqoq uchlarning

to'rtta asoslari hosil vodorod bog'lari orqali fragmentlar bir-biriga bog'lanadi, bu bog'lar etarli darajada mustaxkam bo'lganligi uchun molekulalar eritmada uzoq vaqt turg'un xolatda qoladi.

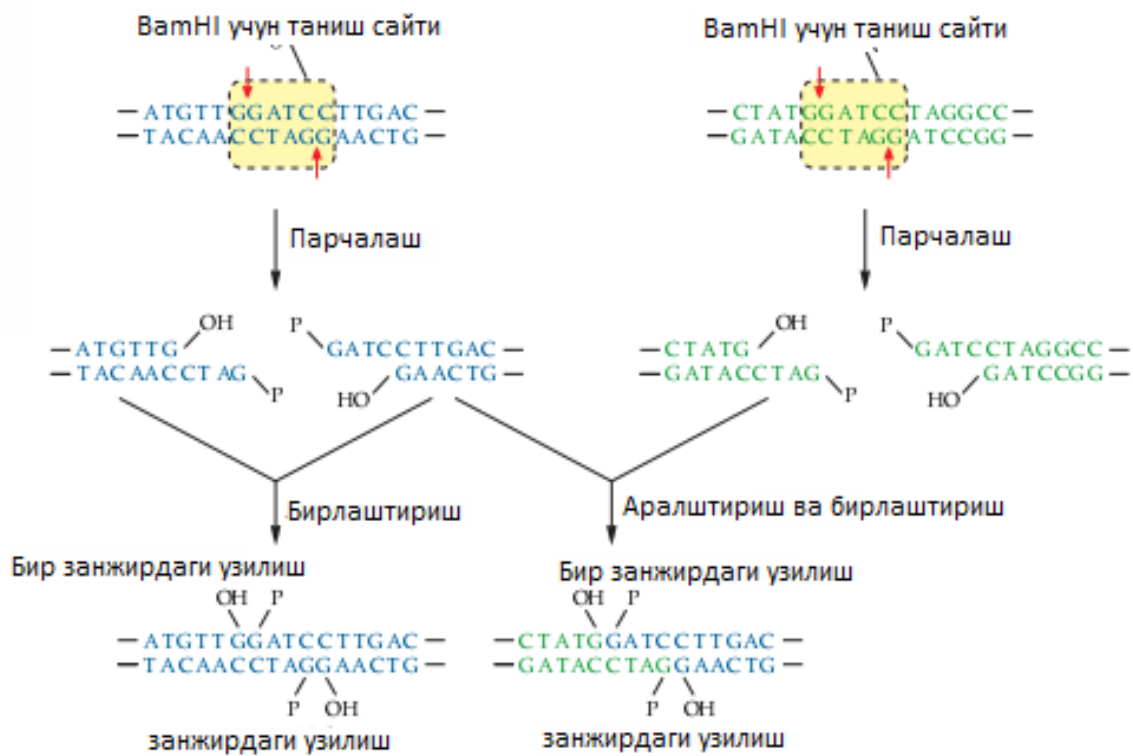
Molekulyar klonlash uchun restriksiya fermentlarining o'zi kifoya qilmaydi. Birinchidan, ikkita birlashgan fragmentlarni ushlab turish uchun yopishqoq uchlarning vodorod bog'lari yordamida birikishi unchalik etarli emas, bu erda yana ligaza fermenti ham zarur bo'ladi. DNK ligaza qo'shni nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'larini tiklash orqali DNK bo'laklarini bog'lash kabi bitta asosiy vazifani bajaradi. Bu jarayon ligirlash deb ataladi. Gen muhandisligida ko'pincha ligirlash uchun T4 faginging DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo'lagi "yopishqoq uchli" yoki "to'mtoq uchli" qismlari biriktiriladi. Bu eng ko'p qo'llaniladigan fermentlardan biridir.²



5-rasm. T4 DNK-ligaza ikki zanjirli DNKning uzilgan joyida 5'-fosfat va 3'-gidroksil guruxlar orasida fosfodiefir bog'lar hosil qiladi. T4. A. YOpishqoq uchlarni biriktirish, B. To'mtoq uchlarni biriktirish.

²Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology –Washington 47-68 p

Ikkinchidan, agar, ular xo‘jayin hujayrada replikasiyalanmasa, turli molekulalarni birlashtirish befoyda. SHunday qilib, agar rekombinant DNKning bir qisi o‘zida klonlanishi zarur bo‘lgan genni tutsa, ikkinchi qismi esa replikasiyalanishi uchun zarur bo‘lgan qismini tutishi zarur. Bu muammoni hal qilish uchun klonlovchi vektorlardan foydalaniladi. Uchinchidan, restriksiya natijasida DNK turli tuman fragmentlar aralashmasini hosil qiladi, ularni vektor bilan birlashtirilgandan so‘ngko‘plab turli kombinatsiyalar hosil bo‘ladi. Endi kerakli izchillik tutuvchi retsipient hujayrani topish zarur bo‘ladi. Buning uchun turli skrining sistemalardan foydalaniladi.



6-rasm. *VatHI*, restriksiyalovchi endonukleazasi ta'sirida turli namunalarda hosil bo'ladigan yopishqoq uchlarni biriktirish.

Vektorlar. Begona DNKning replikasiyasi, ekspressiyasi va transformatsiyasini (boshqa organizmga ko‘chishini) ta’minlovchi DNK molekulasi vektor deb ataladi. Vektor hujayraga qo‘shimcha irsiy axborot kiritilishini amalga oshiradi. Vektor sifatida plazmidalar, bakteriofaglar, mobil elementlar va hayvonlarning viruslaridan foydalanish mumkin.

Hozirgi vaqtda juda ko'p vektorlar yaratilgan bo'lib, ularni bir nechta tipga bo'lish mumkin:

1. Klonlash uchun vektorlar. Bunday vektorlarga biriktirilgan DNK fragmentlarni replikatsiyalash orqali sonini (amplifikatsiyasi) ko'paytirish uchun foydalaniladi. Bunday maqsadlar uchun bakteriya plazmidalari va faglar qo'llaniladi. Genomning katta o'lchamdagi fragmentlarini klonlash uchun esa bakteriya va achitqi xromosomalari asosida yaratilgan (VAS va YAC) sun'iy vektorlaridan foydalaniladi.

2. Ekspressiya vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligi aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Ko'p sonli ekspressiya tizimlar, ayniqsa prokariot organizmlar uchun mavjud. SHuningdek sut emizuvchilar, o'simliklar va achitqilar hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan.

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Retsipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspressiya vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan. Vektor molekullarning tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani xaqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi. E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi Tarkibida begona DNK fragmentlari tutuvchi vektor konstruksiyalar E.colining maxsus shtammlari hujayralariga transformatsiya qilish uchun foydalaniladi. Vektor plazmidalarning bakteriyalarga transformatsiyasi hujayralarning DNK molekullarini qabul qilish qobiliyatiga asoslangan (kompetentligiga). E.coli

hujayralariga transformatsiyalash asosan kalsiy shoki yoki elektroporatsiya usullaridan birini qo'llash orqali amalga oshiriladi. Ikkala xolatda ham bakteriya membranasi DNK molekulari uchun o'tkazuvchanligi oshadi.

Vektor molekulasini uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

1) vektor begona DNK fragmentlarini o'ziga biriktirishi uchun bir nechta restriktazalar uchun yagona restriksiya saytlari tutishi zarur.

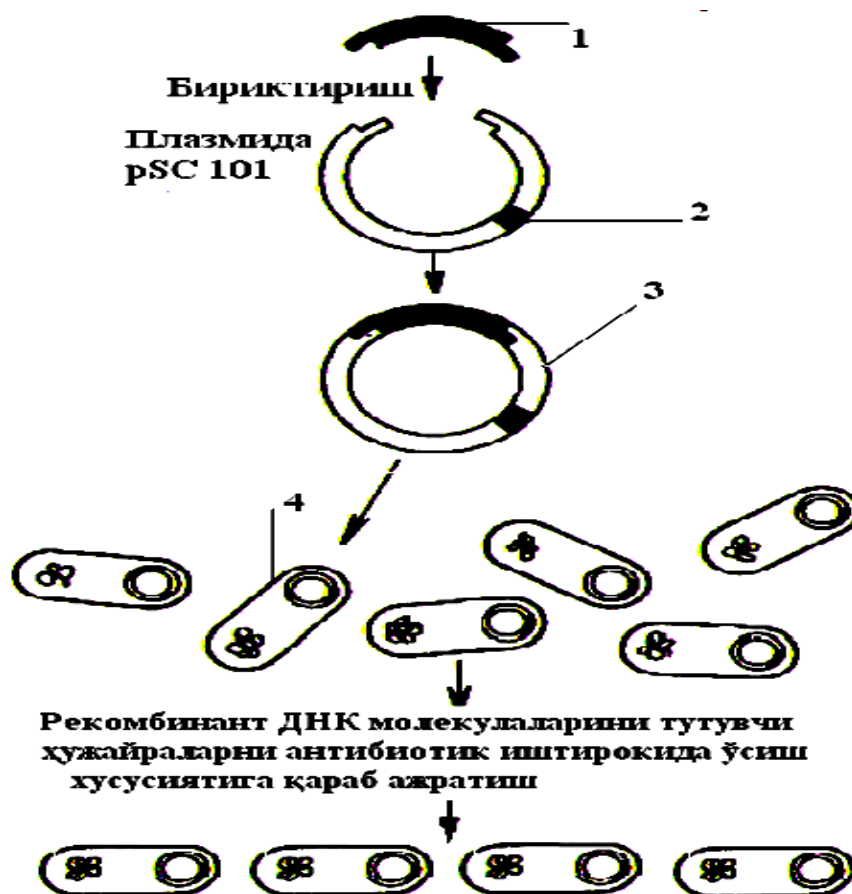
2) vektor replikasi boshlanish nuqtasi izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikasiyanishi shart. 3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruktsiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini engillashtiradi.

Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNKsidan tashqari, ko'p nusxada xalqasimon DNK molekulari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekular plazmidalar deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikga chidamlilik genlarini tutadi. Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973 yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan.

Tajribalar uncha katta bo'lmagan (~9 m.n.j.), tetratsiklinga chidamlilik geni tutuvchi E.coli plazmidasi pSC 101 da olib borilgan. Plazmidada tarkibida faqat bir dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning xalqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq xalqa xolatiga o'tkazadi.

Plazmidada pSC 101ning DNKsi ichak tayoqchasi uchun begona DNKning EcoRI- fragmentlari bilan aralashtiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pSC 101 plazmidada yagona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani E.colining kompetent hujayralariga qo'shilganda u bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar tetratsiklinli selektiv muhitda ajratiladi. Faglar asosidagi vektorlar. Kosmidlar. Vas- va Yas- vektorlar. Bakteriya plazmidalarida o'rtacha 7-8 m.j.n. uzunlikdagi fragmentlarni klonlash mumkin, eukariot genlari izchilligi esa (~10-25 m.j.n.) uzunroq bo'ladi. Bundan

tashqari genlarning kodirlovchi qismi atrofida joylashgan regulyator izchilliklarni o‘rganish uchun genomni kengroq klonlash zarur.



7-rasm. DNK fragmentlarini plazmidalar yordamida klonlash bo‘yicha tajriba sxemasi.

1-Biriktirilayotgan getero-logik DNK; 2-antibiotikka chidamlilik bo‘yicha marker; 3- DNKning rekombinant molekulasini; 4-Rekombinant DNKni bakteriya hujayrasiga kiritish.

Bunday katta fragmentlarni klonlash uchun λ bakteriofagi asosida tarkibiga 22 m.j..n. uzunlikdagi begona DNK fragmentlarini tutuvchi vektor konstruktsiya yaratilgan. λ bakteriofag asosida klonlash uchun bunday vektorlarni yaratishda fag DNK molekulasining markaziy qismi fagning E.coli da ko‘payishi uchun zarur emasligi e‘tiborga olingan xolda restriktazalar yordamida fag genomidan kesib olinganda replikatsiya uchun zarur bo‘lgan fagning o‘ng va chap elkasi o‘zgarmasdan qolishi kerak. Fag elkalari boshqa fragmentlardan alohida ajratilib, klonlash uchun vektor sifatida qo‘llaniladi. Kesilgan fag DNKsi o‘rniga o‘lchami 9-21 m.j..n. bo‘lgan begona DNK ulanadi. Bakteriyalarda faqat fagning

ikkala elkasi va begona DNK tutuvchi faglar ko‘payadi. Bunda olingan fag rekombinant DNKsi 30 m.j.n. dan kam bo‘lmasligi kerak.

Plazmida vektorlari va plazmid vektor pBR322

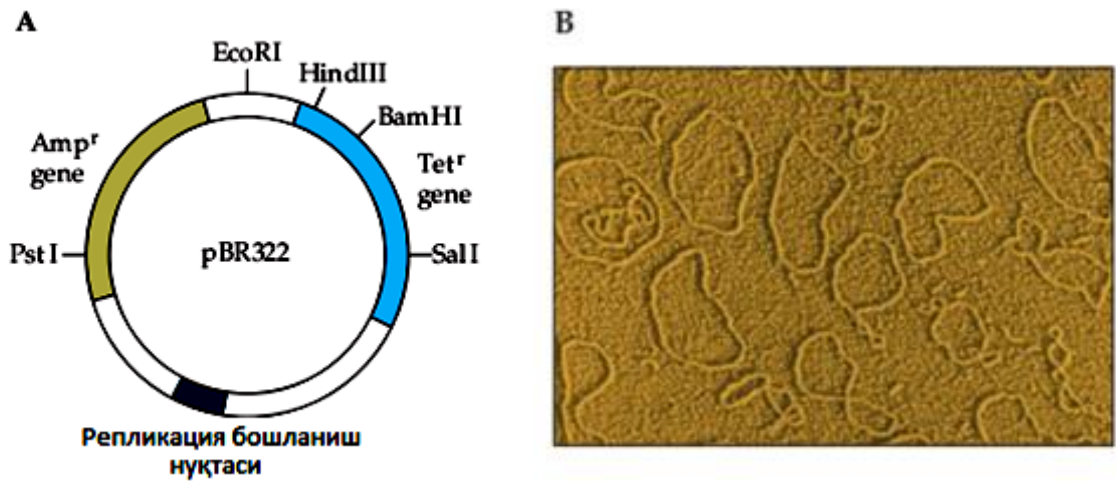
Plazmidlar avtonom holda replikatsiyalanuvchi xromosomadan tashqari ikki zanjirli xalqasimon DNK. Plazmidlar deyarli barcha bakteriyalarda mavjud. Ba‘zi birlari o‘zining bir hujayradan boshqasiga ko‘chirishini ta‘minlash axborotini (F-plazmidlar) tutadi, boshqalari antibiotiklarga chidamlilik genini (R-plazmidlar) tutadi yoki noanaviy metabolitlar utilizatsiyasiga javobgar spetsifik genlar to‘plamini tutadi plazmidlar o‘lchami 1dan 500 m.n.j. bo‘lishi mumkin. Ularning har biri replikatsiya saytini (*ori*) tutadi, ularsiz hujayrada plazmidalarning replikatsiyasi amalga oshmaydi.

Ba‘zi plazmidlar hujayrada 10-100 nusxada bo‘lishi mumkin.. ular yuqorinusxali deyiladi. Ba‘zilari kamnusxali bo‘lib hujayrada 1-4 nusxada bo‘lishi mumkin. Umumiy hujayra DNK sining 0,1-5,0%ni plazmidlar tashkil etishi mumkin. Turli guruxlarga tegishli plazmidlar nusxasidan qat’iy nazar bitta hujayrada mavjud bo‘lishi mumkin. Ba‘zi mikroorganizmlarda bitta hujayrada 8-10 turli plazmidalar aniqlangan, ularning har biri o‘zining funksiyasini bajaradi.

Klonlangan DNK ni ko‘chirish uchun avtonom xolda replikatsiyalanuvchi plazmidlar vektor sifatida foydalanish uchun barcha zaruriy xususiyatlarga ega. Ammo ko‘pincha tabiiy plazmidlarda “yuqori sifatli” vektorga hos ba‘zi xususiyatlar mavjud bo‘lmaydi.

Bunday muhim hususiyatlarga quyidagilar kiradi:

- 1) unchalik katta bo‘lmagan o‘lcham, *E. coli* ekzogen DNK ni ko‘chirish samarasi plazmidlar uzunligi 15 m.n.j.dan ko‘p bo‘lganda pasayadi.
- 2) kerakli gen o‘rnatiladigan yagona restriksiya saytining bo‘lishi;
- 3) Rekombinant DNK tutuvchi retseptient hujayralarni aniqlash uchun bitta yoki bir nechta selektiv genetik markerlarning bo‘lishi. SHuning uchun plazmid vektorlarini gen injenerligi yordamida yaratish zarur bo‘ladi.



8-rasm. A. *pBR322* plazmidining genetik xaritasi. Tetratsiklinga (*Tet^r*) va ampitsilinga (*Amr^r*) chidamlilik hosil qiluvchi gen *HindIII*, *Sall*, *BamHI* i *PstI* uchun yagona saytlar tutadi. *EcoRI*-sayt bu genlardan tashqarida joylashgan. Vektorning uzunligi — 4361 j. n. B. *pBR322* plazmidining elektron mikroskopdagi ko‘rinishi.

Plazmid vektor *pBR322* -o‘tgan asrning 80 yillarida plazmid vektor *pBR322* eng mashxur universal vektorlardan biri edi. Odatda plazmid vektor p (ingl., plasmid) xarfi bilan belgilanadi va vektorni ta’riflashga, uni yaratish tarixiga oid tegishli bo‘lgan bir nechta xarflar bilan belgiladi. *pBR322* plazmidini belgilashda BR xarflari bu plazmidani konstruksiyasini yaratgan mualliflar F. Bolivar va R. Rodriges sharafiga, 322 soni esa ularning tadqiqot bayonnomalari raqamiga qo‘yilgan. *pBR322* plazmidi uzunligi— 4361 j. n. U ikkita antibiotikga chidamli gen tutadi (7-rasm), ampitsilinga (*Amp^r*) va tetratsiklinga (*Tet^r*), shuningdek *Tet^r*a genida *BamHI*, *HindIII* va *Sall* uchun yagona saytlar^r, *Amr^r* geni uchun bitta *PstI*-sayt, kodlovchi izchilliklardan tashqarida blgan *EcoRI* uchun bitta sayt tutadi, va faqat *E. colida* replikatsiyalanishini amalga oshirishi uchun replikatsiya boshlanish signalini tutadi. Plazmidlar ko‘p sonli nusxa hosil qilib replikatsiyalanadi.

Klonlovchi vektor *pBR322* qanday ishlaydi. Agar tozalangan xalqasimon *pBR322* plazmidiga yoki bu antibiotikga chidamlilik genida joylashgan saytga faqat bir joyidan kesuvchi restriktaza bilan ishlov berilsa yopishqoq uchli to‘hri chiziq shaklidagi DNK molekulasini hosil bo‘ladi. Bunday molekular yuqoridagi

kabi restriktaza bilan ishlov berilgan, zarur gen tutvchi donor DNK bilan aralastiriladi. Bu ikkala DNKning yopishqoq uchlari o'zaro bir-biriga komplementar bo'lganligi uchun ular birlashib duragay molekulalar hosil qiladi.

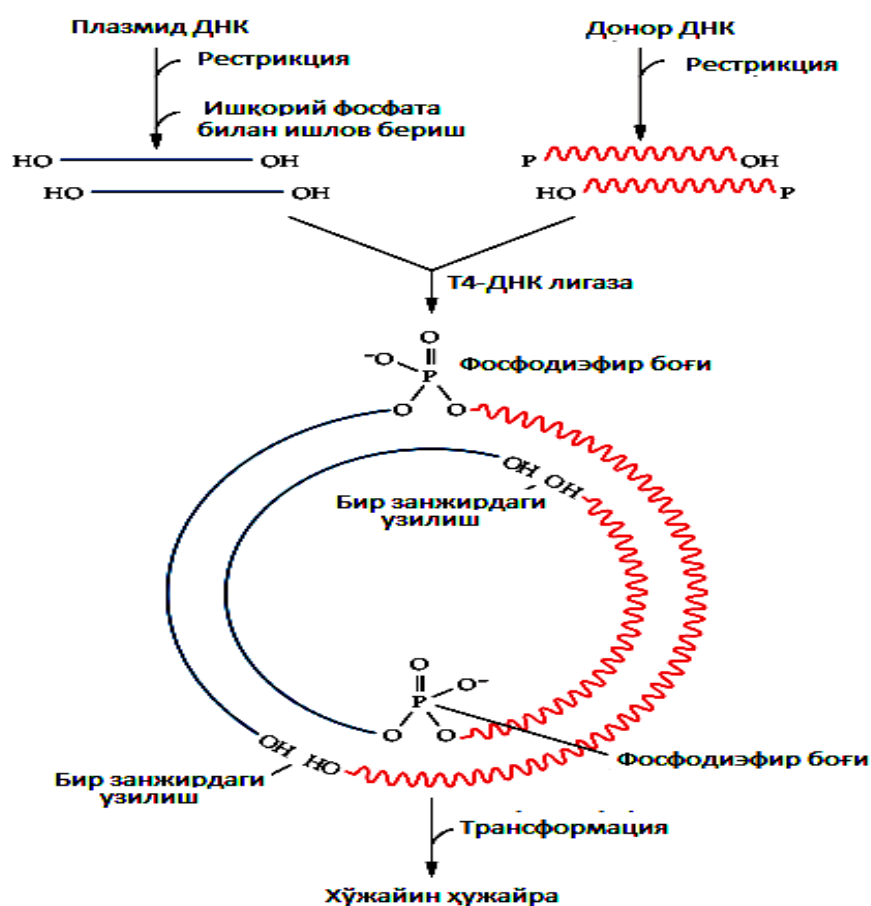
So'ngra aralashm T4 fagning DNK-ligaza fermenti bilan ishlov beriladi, natijada turli kombinatsiyadagi fragmentlar hosil bo'ladi, bazan donor DNK, yoki kerakli gen fragmentlari o'zaro birlashadi. Bu xolat yuzaga kelmasligi uchun restriksiyalangan plazmid DNKsi to'g'ri chiziq shaklidagi molekulaning 5'-fosfat guruxini yo'qotish uchun ishqoriy fosfataza bilan ishlov beriladi. Bunda DNK ligaza fosfat guruxi bo'lmagan uchlarni DNK ligaza birlashtira olmaydi. DNK molekulalarining rekombinatlariga keladigan bulsak, ular bitta zanjirli uzilishdan iborat, ular difosforli DNK plazmasi va restitsirlangan DNK donoridan tashkil topgan. Replikatsiyadan so'ng transformatsiyalangan hujayrada bir zanjirdagi uzilish xo'jayin hujayra ligirlash tizimi orqali bartaraf etiladi.

Transformatsiya va tanlash - Endi rekombinant DNK ni xo'jayin hujayraga kiritish zarur. Bu jarayon transformatsiya deb ataladi. Buning amalga oshirish uchun mahsus ishlab chiqilgan usullar, masalan hujayralarga yuqori harorat ta'sir ettiriladi va kalsiy xlor (CaCl_2) bilan ishlov beriladi. Ammo transformatsiya samarasi pastligicha qolmoqda, odatda mingta hujayradan bittadan ortiq hujayra transformatsiyalanmaydi. SHunday qilib, ko'pchilik hujayralar transformatsiyadan so'ng rekombinant DNK tutmaydi. Ulardan ba'zilar ishqoriy fosfataza ta'siriga berilmagan o'zaro birlashgan xalqasimon plazmid DNKsini, ba'zilarida plazmida bo'lmagan DNK va ba'zi birlarigina yot DNK fragmenti kiritilgan plazmid tutadi.

Oldin aytib o'tganimizdek, replikatsiya boshlanish nuqtasi bo'lmagan xromosomadan tashqari DNK bakteriya hujayrasida replikatsiyalana olmaydi. SHunday qilib, Ekzogen DNK ning hujayraga kirgani bu xo'jayin hujayra tomonidan qo'llab-quvvatlanadi degani emas.

Rekombinant saqlanishi uchun xo‘jayin hujayrada restriktazalarni siteziga javobgar genlar bo‘lmasligi kerak, aks holda uni degradatsiyalaydi, buning uchun hujayra RecA⁻ (bunday hujayralar umumiy rekombinatsiyaga qodir bo‘lmaydi, demak, ekzogen DNK gomologik rekombinatsiya natijasida modifikatsiyalanmaydi).

So‘ngra rekombinant DNK tutvchi hujayralar aniqlanadi. Identifikatsiyalash usuli iloji boricha sodda oddiy bo‘lishi zarur, chunki ko‘p sonli hujayralarni tekshirish zarur bo‘ladi. *VamHI* saytiga yot gen o‘rnatiladigan pBR322 tizimida identifikatsiyalash ikki bosqichda olib boriladi.



9-rasm. Yot DNK bo‘lagini plazmidaga o‘rnatish. Restriktaza va ishqoriy fosfata bilan ishlov berilgan plazmid DNK si restriksiyalangan donor DNK si bilan aralashtiriladi va DNK ligaza qo‘shiladi.

Oldin hujayralar transformatsiyadan so‘ng ampitsilin tutuvchi oziqa muxitiga ekiladi. Bunday sharoitda faqatgina intakt Amr^r gen tutuvchi yoki intakt plazmidalar tarkibida, yoki gibrid plazmidlar tarkibidagi hujayralargina

o'sishi mumkin. *BamHI* sayti netransformirovannye kletki chuvstvitelny k ampitsillinu. Sayt *BamHI* pBR322 plazmidida Tet^r genida joylashgan (9-rasm), bu genga o'rnatilgan DNK fragmenti kodlovchi izchillikni uzadi va tetratsiklinga chidamlilik xsksiyati yo'qoladi. Shunday qilib, gibril plazmidani tutuvchi hujayra ampitsilinga chidamli, ammo tetratsiklinga sezgir bo'ladi. Intakt pBR322 plazmidalar kirgan hujayralar esa Tet^r genini tutadi va ham ampitsilinga, ham tetratsiklinga chidamli bo'ladi.

Ikkinchi bosqichda bu ikkala variantni ajratish amalga oshiriladi. Ampitsilin tutuvchi oziqa muxitida o'sgan hujayralar qayta muxrlash usuli orqali tetratsiklin tutuvchi oziqa muhitiga o'tkaziladi. Tetratsiklin tutuvchi likobchalarda hosil bo'lgan koloniyalar pBR322 plazmidasini tutadi, yuqorida aytib o'tganimizdek ular ham ampitsilinga ham tetratsiklinga chidamlidir. Tetratsiklin tutuvchi Petri likobchasida o'smagan hujayralar bu antibiotikga sezgir, demak ular gibril plazmidasini tutadi. Ampitsillinli oziqa muhitida o'sgan koloniyalar orasidan tetratsiklinga sezgir bo'lganlari ajratiladi va har bir koloniyadan individual hujayra klonlari olinadi yoki barcha ampitsilinga chidamli va tetratsiklinga sezgir koloniyalar birlashtirilib, birgalikda o'stiriladi. So'ngra qo'shimcha skrining o'tkazib, ampitsilinga chidamli va tetratsiklinga sezgir maxsus qo'shimcha gen kiritilgan gibril plazmid tutuvchi hujayralarni identifikatsiya (tanlash) qilish mumkin.

Gen muhandisligi fermentlari

Gen muhandisligi fermentlari DNK molekulalari bilan turli xil muolajalarni o'tkazishga yordam berib, ularni tegishli joyidan qirqish, turli xil bo'laklarini ulash, tabiatda mavjud bo'lmagan yangi xildagi ketma-ketliklarni sintez qilishda qo'llaniladi. quyida gen muhandisligida foydalaniladigan asosiy fermentlarni ko'rib chiqamiz.

DNK polimerazalar. Gen muhandisligida keng qo'llaniladigan fermentlardan biri *E. coli* ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimeraza I hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukletidlarni biriktirish yo'li bilan DNK zanjirining 5' -3' yo'nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK

polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjirni hosil qilish: bir zanjirli matritsa –DNK sig qo‘shilganda praymer ishtirokida ikki hissa ortishida kuzatiladi. Bu xususiyat kDNK-bibliotekalarini tuzishda qo‘llaniladi. DNK polimeraza DNK zanjiridagi “bo‘shliq” larni to‘ldirishda ham foydalaniladi, masalan, 5' - uchli bo‘laklarni tegishli tartibda ulanishida ham ishtirok etadi. DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo‘lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo‘llaniladi.

Maxsus termostabil DNK polimerazalar Tth va Taq- polimerazalar issiq geyzerlarda yashovchi bakteriyalardan ajratib olingan bo‘lib, polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) usuli yordamida DNKning istalgan bo‘lagi ustida ko‘plab ishlar - amlifikatsiyani amalga oshirish imkonini berdi. PZR usuli asosida Taq - polimeraza yotadi, u gen muhandisligining eski usullarini nafaqat soddalashtirish, balki, alohida genlarni va yaxlit genomni ham molekulyar nishonlashni amalga oshirishga sharoit yaratdi.

Ba’zi viruslardan RNK ga bog‘liq DNK polimeraza, ya’ni teskari transkriptaza yoki *revertaza* deb nomlanuvchi maxsus DNK polimeraza ajratib olingan. Revertazalar DNK ning komplementar zanjirini matritsa RNK sida ham sintezlay oladi. Reveratazalar yordamida kDNK-mRNK ning DNK nusxalarini olish mumkin. kDNK genlarining tuzilishini o‘rganish bu genlarning genomdagi to‘liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

DNKligaza qo‘shni nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog‘larini tiklash orqali DNK bo‘laklarini bog‘lash kabi bitta asosiy vazifani bajaradi. Bu jarayon ligirlash deb ataladi. Gen muhandisligida ko‘pincha ligirlash uchun T4 fagining DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo‘lagi “yopishqoq uchli” yoki “to‘mtoq uchli” qismlari birlashtiriladi. Bu eng ko‘p qo‘llaniladigan fermentlardan biridir.

Nukleazalar - nuklein kislotlar molekullari gidrolizi reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarning yirik guruhi. DNK yoki RNK molekullari nukleazalar ta’sirida bo‘laklarga yoki alohida nukleotidlarga parchalanib ketadi. Nukleazalarning hujayradagi dastlabki vazifasi – hayotiy jarayonning ayni vaqti

uchun keraksiz bo'lgan molekulalari (masalan, mRNK ni translyasiyadan so'ng) degradatsiyasini va nuklein kislotlarni begona molekulalardan himoya qilish (bakteriya fag bilan zararlanganda fag DNK sini bakteriya nukleazalari tomonidan parchalab yuborilishi) dan iborat.

Nukleazalarni ularning ta'siriga ko'ra, guruhlarga ajratish mumkin. Nukleazalar nafaqat DNK molekulalari (DNKazalar) yoki RNK (RNKazalar)molekulariga, yoki DNK va RNK ga bir vaqtning o'zida (oltin rang loviya nukleazasi) bir xilda ta'sir etishi mumkin. Nukleazalar bir zanjirli (S1 nukleazasi) yoki qo'sh zanjirli (ekzonukleaza III) DNK molekulalari, yoki gibrid DNK-RNK molekulasi (ribonukleaza H) ga ta'sir etishi mumkin. Bundan tashqari nukleazalarni ikki tipga: ekzonukleazalar va endonukleazalarga bo'lish mumkin. Ekzonukleazalar, odatda, molekulalarni 5' yoki 3' erkin uchlaridan boshlab gidrolizlasa, endonukleazalar DNK molekulasi bo'lagi yoki xalqasimon DNK molekulasining ichki ketma-ketliklaridan boshlab parchalaydi.

Restriktazalar. Gen muhandisligida foydaliligi nuqtai nazaridan maxsus endonukleazalar alohida guruhni tashkil etadi.

Genlar ustida bevosita muolajalar o'tkazish usullarining takomillashtirilishi restriksion endonukleazalar (restriktazalar)ning ochilishi bilan bog'liqdir. 1953 yildayoq E.colining alohida shtammi DNK si boshqa shtammi hujayrasi (masalan, V shtammi DNKsi S shtammi hujayrasi) ga kiritilganda, odatda, genetik faollik ko'rsata olmaydi. Chunki u maxsus fermentlar-restriktazalar bilan tezda bo'laklarga bo'lib yuboriladi. Hozirgi vaqtda turli xil mikroorganizmlardan mingdan ortiq har xil restriktazalar ajratib olingan. Gen muhandisligida 200dan ortiq turi keng qo'llanilmoqda.

Ba'zi restriktazalar va ular tanib kesadigan izchilliklar

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

Restriktazalar endonukleazalarning DNKni muayyan maxsus ketma-ketliklari *restriksiya saytlari* (nuqtalari)ni hosil qilib gidroliz qiladigan guruhi hisoblanadi. Har bir restriktaza o'zining restriksiya saytini taniydi va DNKni restriksiya sayti izchilliklari ichidan yoki uning atrofidan boshlab qirqadi (3-jadval). SHunday qilib, muayyan bir restriktaza ta'sirida bitta va aynan o'sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi bo'laklar yig'indisini hosil qiladi. Restriktazalarni nomlashda ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olingan bo'lishi

mumkin. *Escherichia coli*-EcoR I, EcoR V, *Haemophilus influenzae* –Hinf I, *Streptomyces albus* – Sal I, *Thermus aquaticus* – Taq I.

Restriktazalar nukleotid ketma-ketliklarini qirqishiga ko‘ra, bir necha tipga bo‘linadi. I-tipdagi restriktazalar restriksiya saytlarini taniydi, lekin tanib olgan saytdan ixtiyoriy masofada (bir necha o‘ndan to bir necha yuz ming nukleotid juftlarga qadar) qirqadi. Bunday restriktazalarni gen muhandisligi muammolarini hal etishda qo‘llab bo‘lmaydi. III-tipdagi restriktazalar ham I-tipdagi restriktazalarga o‘xshaydi, ular DNKni tanib olingan saytdan 20-35 n.j. masofada gidroliz qiladi, shuning uchun ham amaliy maqsadlarda kam foydalaniladi.

Rekombinant molekulalar olish uchun asosan II-tipdagi restriktazalar qo‘llaniladi. Bunday restriktazalarning asosiy tavsifi shundaki, ularning tanish sayti va qirqish joyi bir-biriga mos keladi.

II-tipdagi restriktazalar muayyan nukleotid ketma-ketliklarni DNK dan tanib oladi va uni restriksiya sayti izchilligi ichidan boshlab gidrolizlaydi. II-tipdagi restriktazalarning restriksiya saytlari 180° aylanishdagi simmetrik ketma-ketliklar - palindromlardan iborat.

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5' EcoR I restriktazasi restriksiya sayti.

5' TAGA 3'

3' ATCT 5' Taq I restriktazasi restriksiya sayti

II-tipdagi restriktazalar restriksiya saytlari o‘lchami va olinadigan DNK bo‘laklari uzunligiga ko‘ra, bir necha sinfga bo‘linadi:

1) mayda bo‘lakka bo‘luvchilar – restriksiya saytlari to‘rtta nukleotid juftliklardan iborat;

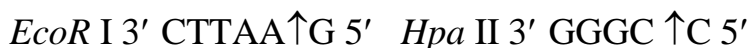
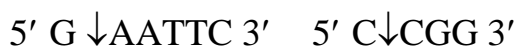
2) o‘rta bo‘lakka bo‘luvchilar – 6-8 n.j. restriksiya saytlari;

3) yirik bo‘lakka bo‘luvchilar - 10-14 n.j. restriksiya saytlari

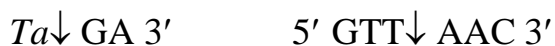
II-tipdagi restriktazalarni DNK ketma-ketliklarini bo‘laklarga bo‘lishiga qarab ikki guruhga kiritish mumkin, chunki ular. Biri tanilgan ketma-ketlikning simmetriya o‘qi bo‘ylab, boshqasi esa siljib, «pog‘onalar» hosil qiladi. Birinchi

holatda «to‘mtoq» uchlar hosil bo‘lsa, ikkinchisida «yopishqoq» uchlar hosil bo‘ladi; ya’ni bo‘laklar o‘z uchlarida bir zanjirli o‘zaro komplementar qismlarga ega bo‘ladi.

Restriktazalar bilan qirqilgan «yopishqoq» uchli bo‘laklarning hosil bo‘lishi:



Restriktazalar bilan qirqilganda «to‘mtoq» uchli bo‘laklarning hosil bo‘lishi:



Bir xil «yopishqoq» uchlarga ega DNK bo‘laklari bir-biri bilan DNK ligazalar yordamida birlashtirilishi mumkin, bunda restriksiya nuqtalari qayta tiklanadi. “To‘mtoq uchli” bo‘laklar qanday restriktaza bilan hosil bo‘lgan bo‘lishiga qaramasdan bir-biri bilan birika oladi. “Yopishqoq uchli” bo‘laklar rekombinant DNKlar yaratishda juda qulaydir, chunki DNK ligaza bo‘laklarini hech qanday istisnosiz bir-biriga birikishini ta’minlaydi.

Restriktazalarning ferment faolligi faollik birliklarida o‘lchanadi. Bu optimal sharoitda λ fag DNK sini 1mkg miqdorini 1 soat ichida to‘liq gidrolizlanishi uchun sarf bo‘ladigan ferment miqdoriga tengdir. Restriksiyaning optimal sharoiti har bir restriktaza uchun alohida bo‘lib, u pH, ion kuchi, tegishli ionlar mavjud bo‘lishi, reaksiyani amalga oshirish haroratiga bog‘liq bo‘ladi. Restriktazalar gen muhandisligida qo‘llaniladigan asosiy fermentlar hisoblanadi.

Nazorat savollari:

1. Gen-ko'chirishning uchta manbai Begona genlarni hujayraga transformatsiyalashning gen muxandisligidagi ahamiyati
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish qanday amalga oshiriladi?
3. Binar vektorlarining kointegrativ vektorlarga nisbatan afzalligi nimada?
4. Genlar izchilligini identifikatsiya qilish va ajratish haqida ma'lumot bering
5. DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish qanday amalga oshiriladi?
6. Vektor molekulasi uchun qo'yilgan talablar
7. Genom DNKsi fragmentlarini olish usullari
8. Genomni alohida qismlarga ajratish haqida tushuncha bering DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash) qanday amalga oshiriladi?
9. Genom klonlarini ko'paytirish qanday amalga oshiriladi?
10. Mikroblar transformatsiyasi haqida ma'lumot bering
11. Prokariot va eukariot hujayralarining tuzilishidagi farqi nimadan iborat?
12. Hujayra komponentlarini ajratib olish qanday amalga oshiriladi

Foydalaniladigan adabiyotlar :

1. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology/ Washington 2010. 1020 r
2. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi. Darslik. T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
3. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
4. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.: Tafakkur bo‘stoni. 2013.-223b
5. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik-T.: Ta’lim, 2009. -528b.
6. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology - Washington 2010. 1020 r.
7. Deniz Ekinci “Biotechnology” Croatia, 2015
8. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi. Darslik. T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
9. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo . 2014y, -335 b.
10. Musaev X.N., Axmedova N.X. Kimyoviy mikrobiologiya. Darslik. –T. Fan va texnologiya. 2012.-428 b

3-Mavzu: DNKda nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash. DNKni kimyoviy sintezlash. Turli biologik ob'ektlardan nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari.

Reja:

1. Mikrobiologik tizimlarning molekulyar biotexnologiyasi.
2. Molekulyar diagnostika.
3. Immunodiagnostika usullari.
4. Monoklonal antitelalar.
5. DNKni kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma-ketligini aniqlash.
6. DNKni sekvenirlash usullari va genlarni sintezlash.
7. DNK interferonlarini ajratib olish.
8. Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi.
9. Insonning ko'p klonli antitellalari.

Tayanch iboralar: DNK, nukleotidlar, kimyoviy sintez, turli biologik ob'ektlar, nuklein kislotalar, ajratish, zamonaviy usullari, molekulyar diagnostika, immunodiagnostika usullari, monoklonal antitelalar, nukleotid ketma-ketligini aniqlash, DNKni sekvenirlash, genlarni sintezlash, interferonlar, interferonlarini ajratib olish, gen ekspressiya, optimizatsiya.

Mikrobiologik tizimlarning molekulyar biotexnologiyasi.

Rekombinant DNK larning texnologiyasi rivojlanishi bilan ko'plab mikroorganizmlarning foydali xususiyatlaridan unumli foydalanish imkoniyatlari tug'ildi. Zamonaviy genetik uslublar yordamida biologlar bakteriyalarni oqsil preparatlarini ishlab chiqaruvchi "biologik fabrika" larga aylantirishni o'rganishdi, jumladan restriksiyalovchi endonukleazalar turli kimyoviy birikmalar aminokislota antibiotik va boshqalar. O'ziga xos xususiyatga ega bo'lgan genlarning bakterial hujayralarini (to'qimalarni) klon

qilish natijasida turli g'aroyib metabolitlar olish biosintezining yangi usullari kashf etildi.

Klon qilingan kasallik qo'zgatuvchi mikroorganizm genlaridan inson va uy jonivorlarining kasalliklarini diagnostika qiluvchi zondlar sifatida qo'llaniladi, izolatsiya qilingan genlardan esa xavfsiz va foyda beruvchi vaksinalar tayyorlanadi.

Gen muhandisligi uslublari yordamida aniq turdagi bakterialarning tabiiy qobiliyatlarini kuchaytirish mumkin. Bu tabiiy qobiliyatlar ba'zi biologik jarayonlarni amalga oshirishda yordam beradi. Masalan, atrof muhitni ifloslantiruvchi zaxarli chiqindilarni unumli yo'q qiluvchi qishloq ho'jalik o'simliklarini o'stiruvchi, sellyulozani past molekulyar uglerod brikmalari darajasigacha erituvchi, zarar etkazuvchi xashoratlarga qarshi kurashuvchi bakteriyalarning muhrlari olindi.

Ko'pincha katta hajmdagi mikroorganizmlarni etishtirish zerikarli jarayon deb hisoblaniladi. Biroq rekombinant oqsillarni sanoat hajmida muvaffaqiyatli amalga oshirish uchun ko'pgina parametr (o'lcham) larni nazoratga olish zarur. Bu o'lchamlarni sintez qiluvchi mikroorganizmlar va olinadigan mahsulotning sofligiga tasir ko'rsatadi.

Molekulyar diagnostika - Zamonaviy tibbiyot va qishloq ho'jaligining muvaffaqiyati o'ziga hos hususiyatlariga ega bo'lgan virus, bakteriya, zamburug, parazit mikroorganizm, inson va jonivorlar organizmi o'simlik, suv yoki tuproqda uchraydigan oqsil va past molekulyar birikmalarni izlab topish bilan bog'liqdir. Masalan, agar barcha yuqumli kasalliklarni qo'zgatuvchi patogen mikroorganizmlarni vaqtida va aniq identifikatsiya qilinsa, u holda bu kasalliklarini oldini olish va davolash ancha engil kechadi. Ko'pgina diagnostik muolajalarni olib borish uchun avvalom bor, potensial patogen mikroorganizmlarning turini o'stirish va shundan so'ng uning fiziologik hususiyatlari spektrini tahlil qilish zarur. Bunday testlar ancha unumli va yuqori hususiyatga ega bo'lishiga qaramay ular ko'p vaqt va mablag' sarf qilinishini talab etadi. Bu bakteriyalar parazitik mikroorganizmlarni identifikatsiya qilishga

ham taalluqli. Parazitik mikroorganizmlar tomonidan kelib chiqqan yuqumli kasalliklar diagnostikasini taqqoslash usullaridan biri:

Bundan tashqari o'simliklarda mavjud bo'lgan yoki umuman bo'lmagan potogen mikroorganizmlarni aniqlash imkoniyati chegaralanganligi, na'muna sifatida shimoliy amerika va evropada keng tarqalgan va jinsiy aloqa orqali yuqadigan hlamidioz kasalligini chaqiruvchi obligat hujayra ichidagi parazitlarni keltirish mumkin.

Bunda qalbaki salbiy natijalarni olinadi, yani mikroorganizmlarning yo'qligi haqidagi diagnostikada hatolikga yo'l qo'yiladi natijada kerakli davo qilinmaydi. Agar mikroorganizmlarning mavjudligini aniqlash uchun uni bir turda o'stirish lozim bo'lsa uholda barcha aniq bo'lgan potogen mikroorganizmlari identifikatsiya qilish jarayoni ancha vaqtni egallaydi. SHu sababli bu chegaralarni bartaraf etish uchun molekulyar diagnostika usullari ishlab chiqilgan. Bu usullarga asos bo'lib immunologik yoki o'ziga xos xususiyatlarga ega bo'lgan DNKni topish usullari hizmat qiladi.

Immunodiagnostika usullari. Ko'pgina immunologik deteksiya tizimlari sodda bo'lishiga qaramay, o'ta yuqori sezgirlikga va o'ziga xos hususiyatga ega. Ular dori preparatlarini testdan o'tkazishda, turli onkologik kasalliklarga baho berishda va uni nazorat (manitoring) qilishda o'ziga xos bo'lgan hususiyatga ega metabolitlarni aniqlashda, potogen mikroorganizmlarni identifikatsiya qilishda keng qo'llaniladi. Biroq ular o'zining chegarasiga ega. Agar izlanayotgan (mishen) molekula sifatida oqsil hizmat qilsa, u holda uning genlarini determinatsiyalovchi ekspressiya bilan ta'minlash lozim, negaki shu holdagina bu genlarda maskirovka yoki antitellalar bilan bog'lovchi saytning blokirovkasi kuzatilmaydi.

Kasallik qo'zg'atuvchi infeksiyalarning diagnostikasi an'anaga ko'ra potogen mikroorganizmlar tavsifi majmuasiga yoki ajoyib hususiyatga tayanadi. Klinik mikrobiologlar aynan ana shu biologik tavsifni minimal majmuasini qidirishadi, negaki mana shu majmua (nabor) yordamida potogen

mikroorganizmlarni garantiyaviy topib identifikatsiya qilish mumkin. Masalan, ba'zi kasal qo'zg'atuvchilar o'zlaridan biokimyoviy birikmalar

Ajratib chiqaradilar aynan ana shu birikmalarni biologik na'munalarda topish zarur. Ko'pincha shu kabi marker molekulani yuqori hususiyatga ega bo'lgan biokimyoviy analiz yordamida aniqlash mumkin. Biroq bunday yondashuv potogen mikroorganizmlarning individual deteksiya tizimini keltirib chiqaradi, eng samarali yondashuv bu kimyoviy tabiatidan qat'iy nazar istalgan marker molekulasini topuvchi universal usuldir. Aynan bunday usul bo'lib, antigen – antitel majmuasi (kompleksi)ni identifikatsiya qiluvchi usul hizmat qiladi.

Ferment immunosorbent analizi.

Hozirda antitelani izlanayotgan antigen bilan bog'liqligini aniqlovchi bir qator yondashuvlar mavjud. Bulardan biri diagnostikada ko'p qo'llaniladigan ferment immunosorbent analizi. Muolaja quyidagi bosqichlarni o'z ichiga olgan.

1. O'ziga xos xususiyatga ega bo'lgan molekula yoki mikroorganizm na'munasini qattiq asosga, masalan odatda 96 ta teshikchasi bo'lgan mikrotitroval idishcha mahkamlashadi. Mahkamlangan na'munaga o'ziga xos hususiyatli markerli molekula (1-antitela) qo'shiladi kiyin 1-antitelaga bog'liq bo'lmagan molekulalar teshikchadan yuvib yuboriladi.

2. 1- antitela bilan bog'liq bo'lgan o'ziga xos hususiyatli 2-antitella qo'shiladi, biroq bu holda marker molekula bilan o'zaro ta'sir ko'rsatmaydigan bo'lishi shart (9.1V rasm) bu antitelaga ferment (masalan ishqorli fashfataza, perioksidaza yoki uretaza) biriktirilgan bo'lib, u bo'yalmagan susbstratni bo'yalgan mahsulotga aylantirish uchun katalizator vazifasini bajaradi. Ikkinchi antitella –fermentni bog'lanmagan konyugata molekulasini yo'q qilish maqsadida teshikcha yuviladi.

3. Bo'yalmagan substrat qo'shiladi.

4. Bo'yalgan mahsulotga sifatli yoki son jihatidan tavsif beriladi.

Agar 1-antitella izlanayotgan na'muna bilan bog'lanmasa, uholda uni birinchi yuvishdayoq ajratib olinadi, bu holda 2- antitela –ferment konyuganti

hech narsa bilan bog'lanmaydi, shu sababli uni 2-yuvishda ajratib olishadi. Va namuna bo'yalmaganicha qoladi. Agar izlanilayotgan molekula bog'lanish sodir bo'lsa, u holda 2- antitelo 1- antiteloga birikadi va kon'yugirli ferment yangi ro'yhatga olinadigan mahsulotni kataliz qiladi.

ELISAni asosiy maqsadi 1- antitelani mo'ljal bilan o'ziga hos xususiyat yordamida bog'lashdir. Agar mo'ljal o'zida oqsil kasb qilsa, u holda uni tozalangan preparatini odatda antitella olish uchun foydalanadi. Bu antitelalar yordamida esa berilgan mo'ljalni ajratib olishadi. Immunitetlangan jonivor odatda uy quyonining qonidagi zardobda xosil bo'ladigan antitelalar mo'ljal-molekulasidagi turli antigen determinant (epitopa) lar bilan bog'lanadi, bunday antitelalarning aralashmasini poliklonal preparat deb atashadi. Ba'zi diagnostik usullarida poliklonal antitelalarni qo'llash 2 ta kamchilikka ega; 1-poliklonal preparatda mavjud bo'lgan alohida antitelalar 1 partiyadan 2 partiyaga o'tishi mumkin. 2- agar 2 ta bir hil mo'ljalni ajratish yani potogen va nopotogen ajratish kerak bo'lsa u holda poliklonal potogenlardan foydalanish mumkin emas, negaki ularning shakllari faqatgina yolg'iz determinant bilan farq qiladi biroq, hozirda bu muammolarni echimi topilgan jumladan hozirgi paytda bir antigen determinantida ishlab chiqilgan monoclonal antitela preparatlarini olishi yo'lga qo'yilgan.

Monoklonal antitelalar. Evolyusiya (rivojlanish) jarayonida sut emizuvchilarda organizmni zaharli moddalar va yuqumli agentlardan himoya qiluvchi murakkab to'qima tizimi shakllangan. Himoya ta'sirining o'ziga xos xususiyatga ega bo'lgan oqsil (antitelalar) tizimi tomonida ishlab chiqariladigan induksiyalangan limfa to'qimalaridir. Ular immun tizimidagi boshqa oqsillar yordamida yot (begona) moddalar bilan birikib, zaharli moddalarning ta'sirini yo'qotadi. Bunga komplimenttizimi ham kiradi. Immunologik maqsadga javoban har bir antitela chiqaruvchi to'qima sintezdan o'tib, bir turdagi antitela chiqaradi. Bu antitelalar yuqori xususiyatga ega bo'lib, antigen molekulalarini alohida qismlarini taniydi (epiton, antigen determinant qismlarini). Antigenn molekulasida odatda bir necha har hil epitop antitellalar mavjud bo'lganligi

sababli, ularga qarshi immuntizimi tomonidan alohida to'qimalar ishlab chiqiladi. Bunday antitelalarning har biri berilgan antigen bilan o'zaro kirishganligi sababli poliklonal deb ataladi. Hozirgi asrning boshlarida hali poliklonal antitelalar haqidagi ma'lumotlar etarli darajada bo'lmasa ham ularning o'ziga hos xususiyatlari yordamida infeksiyalar bilan kurashishgan. Keyinroq esa antitelalardan klinik na'munalaridagi zaharli birikmalarni aniqlash uchun diagnostik qurol sifatida foydalanishgan. Afsuski poliklonal antitela preparatlarining samaradorligi bir partiyadan ikkinchisiga o'tishi mumkin, negaki 1-sharoitda immunizatsiya paytida antitela ishlab chiqaruvchi to'qimalar birikkan antitelalarning determinantlari bilan to'yinadi (stimulirovetsya), 2-sharoitda esa immun tizimi boshqa epitopning huddi shu antigeniga faol javob beradi. Bu turli preparatlarning antigenlarini kuchsizlantirishi qobiliyatiga ta'sir ko'rsatishi mumkin, negaki ayrim epitoplar turli qobiliyatga ega bundan kelib chiqqan holda berilgan partiyadagi poliklonal antitelalar asosiy epitoplarga qarshi yo'naltirilgan kam miqdordagi molekulalarga ega bo'ladi, natijada oldingisiga qaraganda kam ta'sir ko'rsatadi. Shundan hulosasi chiqaramizki, diagnostik qurol yoki terapiya qo'llanmasi komponentlari sifatida hujayralarning shunday tizimini yaratish keraki u bir sharoitda bir turdagi antitela ishlab chiqarsin. Bu bir turdagi antitela o'ziga hos xususiyatga ega bo'lgan antigen mo'ljalga o'xshash –monoklonal antitela bo'lsin. Shu kabi hujayra tizimi o'xshash antitela molekulalarining tuganmas manbai bo'lishi mumkin edi. Afsuski antitelalarning tez qiluvchi limfositlari o'simlikda ishlab chiqilmaydi. Berilgan muammoning echimi gibridd to'qimalarini yaratishdadir. Genetika B-to'qimadan olinsa, u antitela ishlab chiqarishi mumkin bo'lardi. Ba'zi paytda B-limfositlar qayta shakllanib, saraton to'qimalariga aylanadi va ko'pgina xususiyatlarini saqlab qolgan xolda o'simlikda o'sish qobiliyatiga ega bo'lishi mumkinligi ma'lum. ¹

DNKni kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma-ketligini aniqlash

Fanning har qanday sohasida texnologik o'sish uning kelgusidagi rivojlanishini ta'minlaydi. Yangi texnologiyalarning paydo bo'lishi bilan yangi

tajribalar o‘tkazish imkoniyati paydo bo‘ladi va eskilarini o‘tkazish osonlashadi. Molekulyar biotexnologiyaning fan sifatidagi rivojlanishi bir qator texnologik ishlanmalarga bog‘liq bo‘ldi: Hozirgi kunda ularning ko‘pidan yirik tadqiqotchilik markazlarida va uncha katta bo‘lmagan ilmiy jamoalarda foydalaniladi. Endilikda DNK bitta molekulasini kimyoviy sintezlash, boshqasining nukleotid ketma ketligini aniqlash, uchinchisini polimeraz zanjir reaksiyasi yordamida amplifikatsiyalash unchalik katta mehnatni talab qilmaydi. Bularning barchasiga DNK ning o‘zi va uni replikatsiyalash mexanizmlarini asosiy tadqiq qilish jarayonida olingan ma’lumotlar 2 tufayli imkon tug‘ildi. Ushbu eksperimental yondashuvlar molekulyar klonlash -DNK dan kerakli fragmentlarni ajratib olish, ularni tavsiflash va ular bilan turli manipulyasiyalar o‘tkazish imkonini beruvchi muolajalarning ajralmas qismi bo‘lib qoldi.¹

DNK ni kimyoviy sintezlash - Bir buyrakli DNK fermentlarini kimyoviy sintezlashning tez va uncha qimmat bo‘lmagan usullari ishlab chiqilgandan so‘ng molekulyar klonlash va DNK ni tavsiflash metodologiyasi bir muncha o‘zgardi. Kimyoviy sintezlangan oligonukleotidlardan bir bosh genlar yoki ularning fragmentlarini tuzish, DNK maxsus fragmentlarini amplifikatsiyalash, ajratib qo‘yilgan DNK larni yo‘naltirib mutatsiya qilish, shuningdek gibridlashda zond sifatida va klonlashni osonlashtiruvchi linkerlar sifatida foydalanish imkoni tug‘ildi.

DNKni (DNK sintezatorlar) avtomatik kimyoviy sintezlash uchun uskunalar paydo bo‘lgandan so‘ng <50 zveno uzunlikdagi bir zanjirli oligonukleotidlarni olish bir oz murakkab ishga aylandi. Har qanday DNK sintezatorning asosiy komponenti klapan va nasoslar tizimi hisoblanadi. Ular yordamida reaksiyaga kirishuvchi qorishmaga o‘rnatilgan dastur bo‘yicha nukleotidlar va reagentlar yuboriladi va ular o‘sayotgan zanjirga zarur monomer birliklarning birikishi imkonini yaratadi. Biologik sintezdan farqli o‘laroq DNK ni kimyoviy sintezlash jarayonida har bir yangi nukleotidni zanjirning 5' gidroksilli oxiriga biriktirish mumkin. Barcha reaksiyalar ketma ket bitta reaksiyon kolonkada amalga

oshiriladi, ularning har birining davomiyligi va yuvish vaqti esa kompyuter yordamida nazorat qilinadi.

Fosforamiditli usul - Hozirga vaqtda bu DNK ni kimyoviy sintezlashda eng keng tarqalgan usuldir. Modifikatsiyalangan dezoksiribonukleozidlar unda birlamchi qurilish bloklari hisoblanadi. Modifikatsiyalash benzol guruhidagi dezoksiadenozin va dezoksitsitidinni amin guruhlariga biriktirish, amin guruhiga esa izobutiral dezoksiguanozinni biriktirishdan iboratdir. Amin guruhi bo'lmagan timidin modifikatsiyalanmaydi. Bunday modifikatsiya zanjir o'sishida nukleozidlarni keraksiz ta'sirlardan himoya qilish uchun zarur.

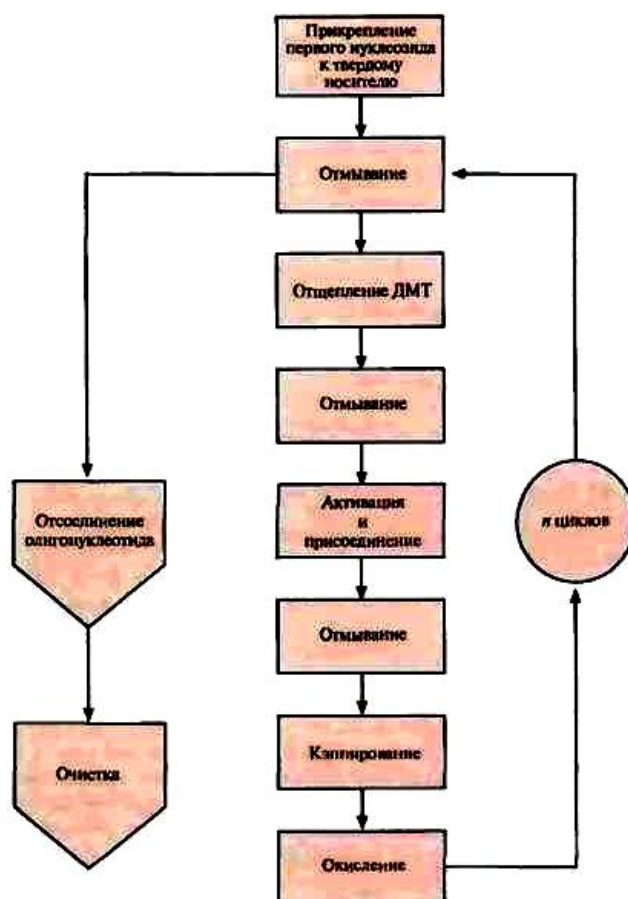
DNK kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma ketligini aniqlash va amplifikatsiyalash

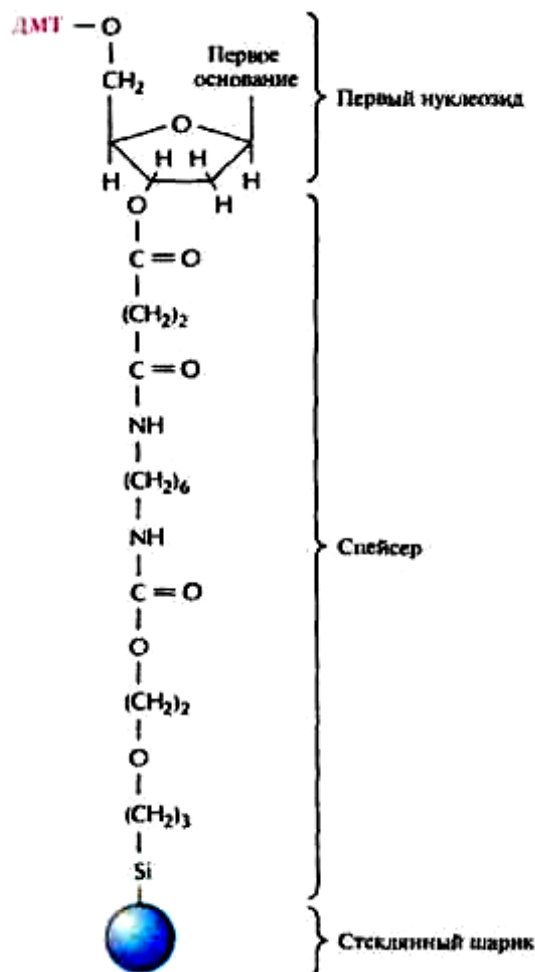
Sintez qattiq fazada (DNK ning o'suvchi zanjiri qattiq tashuvchida qotadi) amalga oshiriladi, bu esa barcha reaksiyalarni bitta sig'imga amalga oshirish, har bir bosqichdan so'ng keraksiz reagentlarni yuvib tashlash va yangilarini reaksiyaning to'liq bajarilishini ta'minlovchi miqdorda qo'shish imkonini beradi.

Ko'p bosqichli sintezlash bosqichlari 5.1 rasmda keltirilgan. Birinchi nukleozid (azotli asos + shakar) qattiq inert tashuvchiga qotiriladi, odatda ular bir xil o'lchamdagi teshikchalari bo'lgan shisha sharchalardir.

Sintezlanayotgan zanjirning 3'- uchli nukleotidi bo'ladigan birinchi nukleozidning 3'- gidroksilli guruhi tashuvchi bilan kovalent bog'langan speyserli molekulaga biriktiriladi. Birinchi nukleotidning 5' gidroksilli guruhini ikkinchi nukleotidning reaksiyaga kirishuvchi qorishmasiga qo'shishdan avval noto'g'ri o'zaro ta'sirini oldini olish uchun uni dimetoksitritilli (DMT) guruh yordamida himoya qilinadi (5.2 rasm.) Bunday guruh o'suvchi zanjirga biriktirilayotgan har bir nukleotid tarkibida mavjud, bundan tashqari u 3' fosfitli guruhga biriktirilgan diizopropilaminli guruhni tashiydi, u esa o'z navbatida metalli qoldiq bilan himoyalangan. (1 rasm).

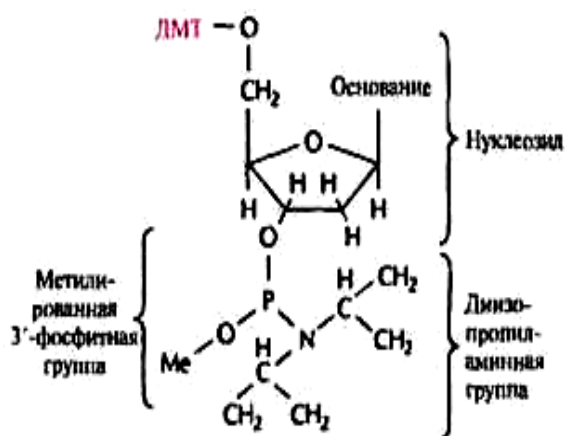
1-rasm. Oligonukleotidni kimyoviy sintezlash. n sikllaridan so'ng $n + 1$ nukleotiddan DNK ning bir zanjirli fragmenti hosil bo'ladi.





2-rasm. DNK zanjirini kimyoviy sintezlash boshlanadigan kompleks. Birinchi nukleozid dezoksiribozasining 5' gidroksilli guruhiga dimetoksitritil (DMT) guruhi biriktirilgan, 3'-gidroksilli guruhga esa speyserli molekula biriktirilgan. Oxirgisi o'z navbatida qattiq tashuvchi (teshikchali shisha sharcha) bilan bog'langan.

Bunday molekulyar konfiguratsiya fosfiramidit deyiladi.



3-rasm. Fosforamiditning uzilmaviy formulasi. Barcha to'rt sos- A, T, G i S ning keltirib hiqaruvchilari DNK ni kimyoviy intezlash uchun ishlatiladi. DMT - imetoksitritil, Me - metal guruhi.

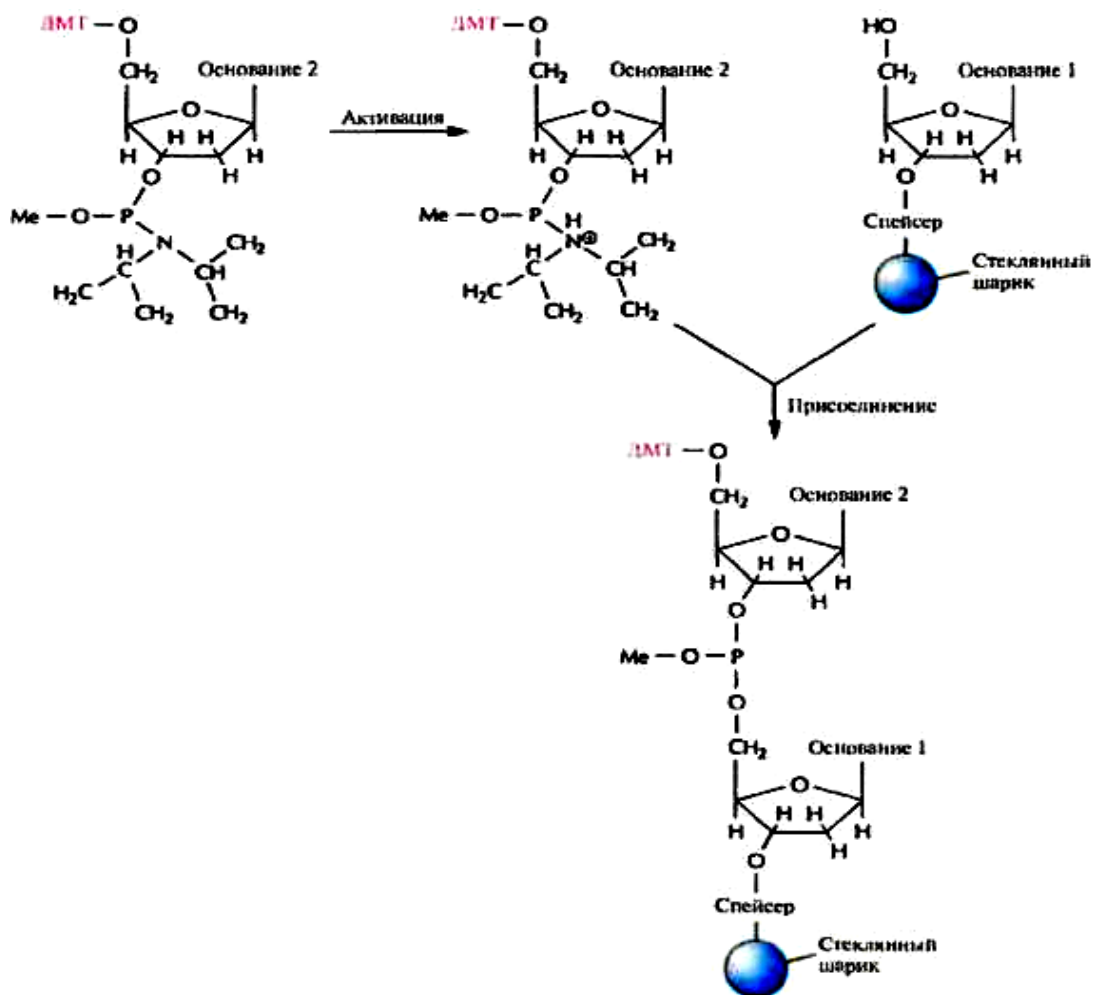
Birinchi nukleozid shisha sharchaga birikkandan so'ng sikl boshlanadi. SHundan so'ng kolonka suv va boshqa nukleofilli moddalarni chiqarib tashlash maqsadida biror suvsiz reagent (masalan, atsetonitril) bilan yaxshilab yuviladi va u orqali atsetonitrilni chiqarish uchun puflanadi. Keyin reaksiyaga kirishish xususiyatiga ega bo'lgan 5'-gidroksilli guruhni birikkan nukleotiddan bo'shatib

olish uchun uchxlorsirka (TXU UXS) kislotasi yordamida 5'-DMT (detritillash) ajratib olinadi (5.4 rasm). Kolonka TXU UXUni yo‘qotish uchun yana atsetonitril bilan yuviladi, hamda atsetonitrilni bartaraf etish uchun argon bilan puflanadi. Jarayon shunday dasturlanganki, ikkinchi bosqichda kolonkaga bir vaqtning o‘zida keyingi nukleozid (fosforamidit ko‘rinishida) va tetrazol (faollashtirish va biriktirish) yuboriladi. Tetrazol fosforamiditni faollashtiradi, shuning uchun 3'- fosfitli guruh birinchi nukleozidning 5'-gidroksilli guruhi bilan kovalent bog‘lanadi. (5 rasm). Kirishmagan fosforamidit va tetrazol argon puflash yo‘li bilan chiqarib tashlanadi.

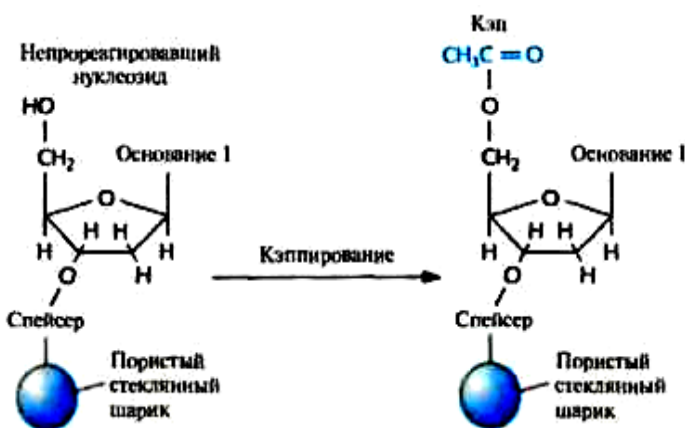
Birinchi bosqich tugagach, tashuvchiga biriktirilgan nukleozidlarning haiiasi hai fosforamiditbilan bog‘langan bo‘lmasligi sababli ularning ikkinchi bosqichda qo‘shilgan nukleozid bilan o‘zaro ta’sirini bartaraf etish zarur. Buning uchun ta’sir etmagan 5'- gidroksilli guruh sirkali anhidrid va dimetilaminopiridin yordamida atsetillanadi (keppirovanie) (5.6 rasm). Agar bu ish amalga oshirilmasa, bir necha bosqichdan so‘ng sintezlanayotgan oligonukleotidlar uzunligi va nukleotid ketma ketligi bo‘yicha farqlanadi.

4 rasm.
 Detritillash -5'-
 dimetoksitritilli (DMT)
 guruhni uchxlorsirka
 (TXU UXS) kislotasi
 yordamida ajratib olish





5-rasm. Faollashtirish va biriktirish, Faollashgan fosforamiditning 3'-fosfitli guruhi shisha sharchaga biriktirilgan detritillangan nukleozidning 5' gidroksilli guruhi bilan kovalent bohliqlik hosil qiladi, DMT — dimetoksitritilliguruh, Me - metilliguruh.

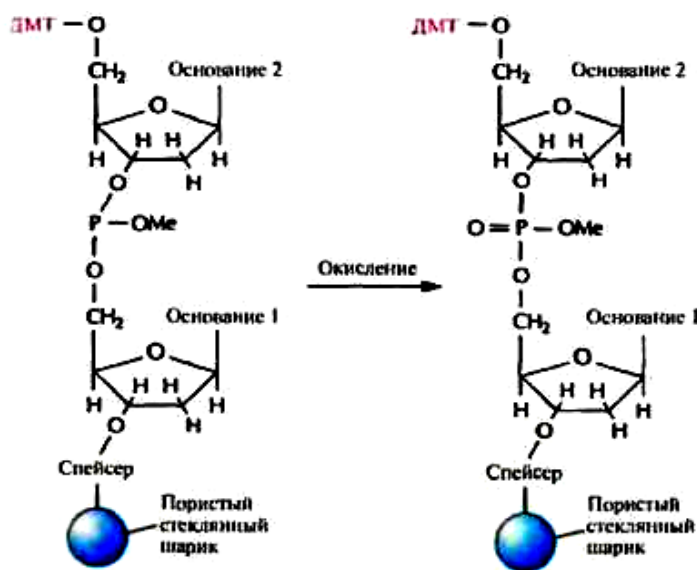


6-rasm. Keppirlash. Detritillangan nukleozidlarning birinchi siklda ta'sirga kirishmagan 5'-gidroksilli guruhini keyingi siklda ishtirokini oldini olish uchun atsetillanadi

Shuning uchun fosfit tri efiri yod aralashmasi yordamida barqaror beshvalentli fosfatriefir hosil bo'lgunga qadar oksidlanadi (7 rasm). So'ng

kolonka yuviladi va butun sikl takrorlanadi (detritillash, faollashtirish va birlashtirish, keppirlash, oksidlash; 1 rasm). Tasvirlangan barcha operatsiyalar o‘sayotgan zanjirga dastur asosida oxirgi nukleozid birikmagunga qadar bajariladi. Sintezlangan oligonukleotidlar shisha sharchalar bilan bog‘langan; har bir fosfatguruh metalli guruhni tashiydi; har bir guanin, sitozin va adenin tarkibida himoyalangan aminguruhi bor, so‘nggi nukleotidning 5'- uchida DMT guruh joylashgan.

Metalli guruhlar bevosita reaksiya kolonkasida kimyoviy qayta ishlash yo‘li bilan chiqarib yuboriladi. So‘ng oligonukleotidlarni 3'- gidroksilli uchi bilan birga speyzer molekulasidan ajratiladi va ularni kolonkadan elyuiriladi; keyin birin ketin benzoilli, izobutirilli va DMT guruhlar chiqarib tashlanadi. Zanjirning 5'- uchi fermentativ (polinukleotidkinaza T4+ATR) yoki kimyoviy usul bilan fosforillanadi.



7-rasm.Oksidlash.

Fosfitguruh besh valentli fosfatguruh darajasigacha oksidlanadi,

Bu esa fosfatguruh bog‘liqligining barqarorligiga olib keladi va uni kislota hamda ishqorlar ta‘siriga chidamlroq qiladi. DMT - dimetoksitritilli guruh, Me - metalli guruh.

Ushbu reaksiyani oligonukleotid hali tashuvchisi bilan bog‘liq bo‘lganda, lekin detritillashdan so‘ng ham o‘tkazish mumkin.

Mahsulotning chiqishi yuqori bo‘lishi uchun nukleotidlarning har bosqichda birikish samaradorligi 98% dan past bo‘lmasligi zarur, samaradorlik spektrometrik usullar bilan, chiqarib tashlanayotgan tritilli guruhlar sonini aniqlab nazorat qilinadi. Agar, masalan 20 a‘zoli oligonukleotidni sintezlash vaqtida har bir sikl samaradorligi 99% ga teng bo‘lsa, 82% (ya‘ni $0,99^{20} \cdot 100$) oligonukleotidlar aynan shunday uzunlikka ega bo‘ladi. Agar 60 a‘zoli

oligonukleotid sintezlanayotgan bo'lsa, shunday samaradorlikda oligonukleotidlarning faqat 55% 60 tadan nukleotid saqlaydi. Agar siklning o'rtacha samaradorligi 98% dan oshmasa, keltirilgan uzunlikdagi oligonukleotidlarning ulushi ancha past bo'ladi (1 jadval). Tijorat DNK sintezlovchilarini tayyorlab beruvchi firmalar odatda birikish samaradorligining o'rtacha 98% ligini kafolatlaydi. Lekin buning uchun juda yuqori darajadagi tozalikka ega bo'lgan reagentlar va ximikatlardan foydalanish kerak, buni esa har doim ham iloji bo'lmaydi. Real birikish samaradorligi odatda 95% bo'ladi, lekin ba'zida 99% samaradorlikka ham erishish mumkin. Belgilangan uzunlikdagi oligonukleotidlarni olish uchun kimyoviy sintezlashning ko'pgina birlamchi mahsulotlarini yuqori samaradorlikka ega bo'lgan suyuq xromatografiya bilan yuqori bosim ostida yo'naltirilgan faza bilan, yoki poliakrilamidli gelda elektrofarez bilan tozalash zarur. "omadsiz" ketma ketliklar olinmoqchi bo'lgan oligonukleotiddan kaltaroq bo'lganligi sababli buni amalga oshirish unchalik qiyin emas.¹

1. jadval. Sikl o'rtacha samaradorligining turli xil belgilarida berilgan uzunlikdagi (l) oligonukleotidlarning o'rta chiqishi

	Samaradorlik, %		O'rta chiqish, %		
	n = 20	n = 40	n = 60	n = 80	n = 100
90	12	1,5	0,18	0,02	0,003
95	36	13	4,6	1,7	0,6
98	67	45	30	20	13
99	82	67	55	45	37
99,5	90	82	74	67	61

Sintezlangan oligonukleotidlarni qo'llash

Kimyoviy usullar bilan sintezlangan oligonukleotidlar molekulyar biotexnologiyada keng qo'llanadi. Ular DNK gibridlashda zond sifatida, klonlash tajribalarida DNK turli molekulalarini birlashtiruvchi linkerlar, DNKni sekvenirlashda praymer sifatida, yoki klonlashtirilgan o'lja genlarning maxsus mutagenezini amalga oshirishda foydalaniladi.

1. Maxsus oligonukleotidli zondlarning (uzunligi 20 40 zveno) nukleotidketma ketligini muvofiq oqsillarning aminokislotali ketma ketligi haqidagi ma'lumotlardan topiladi.

2. Linkerli ketma ketliklar "adapter"larning variantlaridan biri ikkita va undan ortiq restriksirlovchi endonukleaza uchun saytlarni saqlaydi (5,8, V rasm). Bu holda vektor *SmaI*- saytlarga ega bo'lishi mumkin emas, na vektor, na DNK *VamHI*- saytlarni tashishi kerak emas.

3. 17 24 zvenodan iborat bir zanjirli oligonukleotidlar DNKni senkvenirlashda praymerlar sifatida va PSR o'tkazishda ishlatiladi.

4. Bir zanjirli oligonukleotidlar in vitro maxsus sayt mutagenezi uchun praymer sifatida ishlatiladi.

5. Qaysidir aniq oqsilni kodlovchi nukleotid ketma ketlikni kimyoviy sintez qilish zarurati muvofiq genni klonlash qiyinlashganda paydo bo'lishi mumkin. Bunda genning nukleotid ketma ketligini oqsilning aminokislotali ketma ketligi haqidagi ma'lumotlardan topiladi. Ushbu gen tashkil topgan kodonlar ega organizm tomonidan yaxshi o'qilmaganda va translyasiya darajasi juda past bo'lganda kimyoviy sintezga murojaat qilinadi. Bu holda genni kodonlarning shunday to'plami bilan sintezlanadiki (kodonlarni optimallashtirish), bunda kodlanayotgan oqsillarning aminokislotali ketma ketligi o'z holida qoladi, kodonlar esa ega organizm tomonidan samaraliroq o'qiladi.

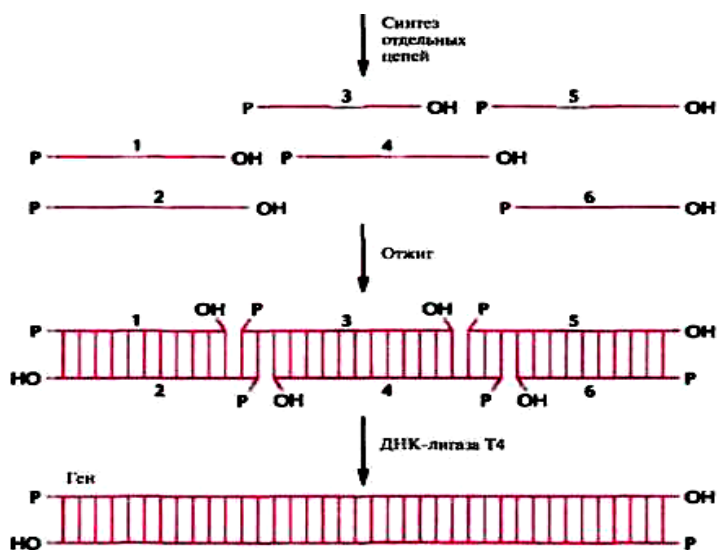
DNKni sekvenirlash usullari va genlarni sintezlash

Agar kimyoviy sintezlangan ikki zanjirli DNKdan gen yoki uning fragmenti sifatida foydalanish nazarda tutilayotgan bo'lsa, zanjirlarning har biri alohida sintezlanishi zarur. Kalta genlarni (60 80 p.n) olish texnik jihatdan murakkab emas: buning uchun komplementar zanjirlar sintezlanadi, so'ng ular yondiriladi. Yirik genlar uchragan holda maxsus strategiya qo'llanadi, chunki kimyoviy sintezning har bir sikli samaradorligi aslo 100% bo'lmaydi. Masalan, agar gen 999 juft nukleotidlardan iborat bo'lsa va har bir siklning samaradorligi 99% bo'lsa, u holda to'liq o'lchamli bir zanjirli DNK ulushi jarayon tugagach 0,004%dan oshmaydi. Bu muammoni hal etish uchun sintetik (ikki zanjirli

)genlar modullardan (bir zanjirli) uzunligi 20 dan 100 nukleotidgacha bo‘lgan fragmentlardan yig‘iladi.

Sintetik genlarni tuzish usullaridan biri har qaysisi bir birini yopadigan uchli, uzunligi 20 60 nukleotid bo‘lgan oligonukleotidlar yig‘indisini olishdan iborat.

Zanjirlarning nukleotid ketma ketligi shunday bo‘ladiki, yondirilgandan so‘ng genning uchidagi segmentlari o‘tmas bo‘lishi kerak. Har bir ichki segment 3'- va 5'- bo‘rtib chiqib turgan uchlarga ega, ular qo‘shni segmentlarga komplementardir (9 rasm).



9 - rasm. Kalta oligonukleotidlardan tashkil topgan sintetik genlarni yig‘ish.

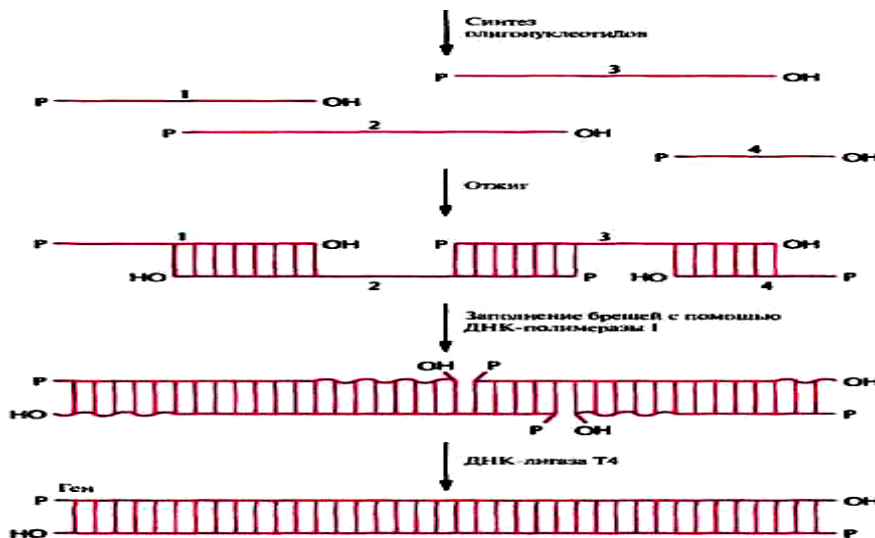
Uzunligi 20 dan 60 zvenogacha bo‘lgan alohida oligonukleotidlar yondirilgan vaqtda ulardan ikki zanjirli molekula hosil bo‘lishi uchun har biri xuddi shunday nukleotid ketma ketliklar bilan sintezlanadi. Qolgan bir zanjirli uzilishlari T4 DNK ligaza yordamida tikiladi.

Gen yig‘ib bo‘lingach T4 DNK – ligaza yordamida bir zanjirli uzilishlarni tikib chiqish qoladi. Sintetik genlar shunday tuzilgan bo‘lishi mumkinki, oqsil kodlovchi ketma ketlikdan tashqari ularning klonlashtiruvchi vektorga (restritsirlovchi endonukleazlar uchun saytlar) tuzilishini ta‘minlovchi uchli maydonga, shuningdek agar bu zarur bo‘lsa to‘g‘ri initsiatsiya va terminatsiya, transkripsiya va translyasiya uchun signal ketma ketliklarga ega.

To‘liq o‘lchamli genlarni boshqa usul bilan olish uchun uzunligi 40 dan 100 zvenogacha bo‘lgan yopilgan oligonukleotidlarning maxsus to‘plami

sintezlanadi. Yondirilayotganda 3'- i 5'- uchli o'zarokomplektar nukleotidlarning 6-10 juftlanishi sodir bo'ladi, ularning orasida esa katta teshiklar qoladi. Butun tuzilmani stabillashtirish uchun juftlashgan maydonlarning uzunligi katta bo'ladi. Teshiklar fermentativ yo'l bilan DNK polimeraza I *Escherichia coli* yordamida to'ldiriladi, u initsiatsiyalash replikatsiyalash uchun 3'- gidroksil guruh va bir zanjirli maydonlardan matritsa sifatida foydalanadi. Qolgan bir zanjirli uzilishlarni T4 DNK ligaza yordamida tikiladi. (10 - rasm).

Uzunroq genlar (>1000 p. n.) odatda ikki zanjirli fragmentlardan yig'iladi, ularning har biri o'z navbatida 4-6 bir birini yopadigan oligonukleotidlardan (har biri 20 dan 60 p.n gacha) iborat. Agar sintez va yoqilgandan so'ng etarli miqdorda fragmentlar hosil bo'lsa, ular bir biriga shunchaki ulanadi. Aks holda har bir fragment klonlashtiriladi va amplifikatsiyalanadi. Ikki zanjirli fragmentlar ketma ketlikda to'liq o'lchovli gen hosil bo'lguncha bir biriga bog'lanadi.



10 - rasm. in vitro uzun genning fermentlar ishtirokida yig'ilishi. Avval kimyoviy usullar bir alohida oligonukleotidlar shunday nukleotid ketma ketliklar bilan sintezlanadiki, yondirish vaqtida ularning orasida uzunligi 6 -10 juft nukleotidlar bo'lgan juftlashgan maydonlar hosil bo'lishi kerak. Ularning orasidagi qolgan teshiklar DNK – polimeraza I *E.coli* yordamida to'ldiriladi, bir zanjirli uzilishlar esa T4 DNK ligaza yordamida tikiladi.

Kimyoviy sintezlangan genning nukleotid ketma ketligi to'g'riligini kafolatlash uchun har bir ikki zanjirli fragment, keyin esa butun gen sekvenirlanadi. DNK ni sekvenirlash usullari - DNK molekulasi haqidagi to'liq ma'lumotni faqatgina uning nukleotid ketma ketligini aniqlagandan so'ng olish mumkin. SHunday qilib genni sekvenirlash orqali uning vazifasini , nukleotid ketma ketligini vazifasi aniqlangan genlar uchun solishtirib aniqlash mumkin. Nukleotid ketma ketlik haqidagi ma'lumotlarsiz molekulyar klonlashtirish bo'yicha tadqiqotlar o'tkazib bo'lmaydi. DNK u yoki bu fragmentini sekvenirlashni A. Maksam va V. Gilbertlar tomonidan ishlab chiqilgan kimyoviy usul, yoki F.Sanger tomonidan taklif etilgan fermentativ usul bilan o'tkazish mumkin, ammo hozirgi vaqtda ko'proq didezoksinukleotid usul keng tarqalgan.

Yangi usullarni yaratish – bu fanning istalgan tarmog'ining rivojlanishi uchun turtkidir. Ular ilgari ma'lum bo'lmagan ma'lumotlarni olish imkonini beradi, bu esa o'z navbatida kuzatilayotgan voqea, hodisalarning mohiyatini chuqurroq tushunishga olib keladi va yangi kashfiyotlarni keltirib chiqaruvchi tadqiqotlarni rag'batlantiradi. Molekulyar biotexnologiyaga kelsak, uning asosi sifatida shunday usullardan foydalanildiki, ular DNK va PSR ni sekvenirlash. DNKning nukleotid ketma ketligini DNK polimeraza bilan amalga oshiriladigan zanjirning uzayishini to'xtatish yo'li orqali fermentativ nusxa ko'chirish usuli bilan aniqlash –tez, juda sodda va ishonchli usul. DNK fragmentining nukleotid ketma ketligi molekulyar darajada uning to'liq tavsifi bo'lishidan tashqari, uning kodlanayotgan maydonini tenglashtirish, PSR uchun potensial praymer tanlash, gendagi mutatsiya o'zgarishlarini aniqlash imkonini beradi. 1977 yilda Sangerning DNKni sekvenirlash uchun didezoksi usuli paydo bo'lgunga qadar zanjirning maxsus sayt kimyoviy parchalanish usulidan foydalanilgan (A. M, Maxani, W. Gilbept, *Ppoc. Natl. Acad. Cei. UCA* 74: 560-564, 1977). Yana ilgari nuklein kislotalarni sekvenirlash RNKning nuklein ketma ketligini aniqlash demak edi. Buning uchun DNKning kerakli fragmenti RNK ga RNK – jins imeraza yordamida ko'chirib o'tkaziladi (transkribirovat), keyin esa

soʻngisining nukleotid ketma ketligi aniqlanadi. Jarayon juda murakkab va uzoq davom etardi. U quyidagidan iborat edi: radioaktiv moʻljallangan RNK turli ribonukleazalar bilan qayta ishlangan, keyin hosil boʻlgan mahsulotni xromatografik boʻlinishi amalga oshirilgan., takroran fermentlar bilan qayta ishlangan, ikkinchi parchalanishdagi mahsulotlarning ishqoriy gidrolizi amalga oshirilgan, gidroliz natijasida olingan mahsulotlarning xromatografik boʻlinishi amalga oshirilgan, oligonukleotidlarning ketma ketligi ularning uch maydonlarini bir biriga yopishishiga asoslanib aniqlangan va boshlangʻich molekula qayta tiklangan. Didezoksi usulning paydo boʻlishi bilan bu jarayondan deyarli foydalanilmay qoʻyildi. Hozirda RNKning oʻzini emas, balki unga xuddi matritsadagi kabi qayta transkriptaza yordamida sintezlangan DNK sekvenirlanadi hamda Maksam va Gilbert usullaridan emas, balki M13 faga asosida klonlashtirish tizimi yaratilgandan soʻng paydo boʻlgan Sanger usulidan foydalaniladi. DNK ni toʻgʻridan toʻgʻri sekvenirlash inson turli kasalliklarining molekulyar asoslarini tadqiq etish, tashxis qoʻyish va davolash usullarini ishlab chiqishda haqiqiy inqilob sodir etdi. Tadqiqotlarning juda koʻp sohalariga, shu jumladan molekulyar biotexnologiyaga PSR usulining ishlab chiqilishi katta taʼsir koʻrsatdi (Kapy Mullic; U.C. patent 4,683,202).. Klonlashtirilgan yoki genom DNKning segmentlarini amplifikatsiya qilish orqali katta miqdorda DNK olish imkoni yaratilgach, RNK noyob molekulalarining DNK nusxalarini klonlashtirish, genom kutubxonalarining skriningi, gen mutatsiyalarini aniqlash, xromosomalarni jismoniy kartirlash (kartirovanie) va boshqa muammolar hal boʻldi. PSR ning birinchi bor amaliyotda qoʻllanishi serpovidhujayrali anemiyani tashxislash test tizimini yaratish boʻlgan (Caïki et al., *Ccience* 230: 1350-1354, 1985). PSR shunday noyob usulki, boshqa barchaga yaxshi maʼlum boʻlgan usullar ichida uning tengi yoʻq. 1986 yildan boshlab, uning yordamida 10000 dan ortiq tadqiqotlar oʻtkazildi, va ularning turli xil boʻlishiga qaramasdan, PSR dan foydalanishning istiqbollari yana ham odamni rom qilmoqda.

DNK interferonlarini ajratib olish

Inson oqsilining geni yoki kDNKsini ajratib olish uchun turli yondashuvlardan foydalanish mumkin. Bir qator xolatlarda kerakli bo'lgan oqsil ajratib olinadi va uning tegishli maydonidagi aminokislotali ketma-ketligi aniqlanadi. Shulardan kelib chikib uning kodlovchi ketma-ketligini topadilar, tegishli oligonukleotidni sintezlaydilar va undan genomli yoki bibliotekalik DNK dan kerakli gen yoki kDNK ajratib olish uchun gibrizatsion zond sifatida foydalanadilar.

Boshqa yondashuvni tozalangan oksilga antitelalar ishlab chikarish va ularni ma'lum bir genlar ekspressiyasi sodir bo'layotgan bibliotekalar uchun ishlatadilar. Ko'pincha qandaydir bitta to'qimada sintezlanayotgan inson oqsili uchun shu to'qimadan ajratib olingan mRNK asosida olingan kDNK-biblioteka DNK-nishon bilan to'yintirilgan bo'ladi. Masalan, oshqozon osti bezi Langerans orolchalari hujayralarida sintezlanadigan asosiy oqsil insulin bo'lib, bu hujayralardan ajratilgan 70 % mRNK ni aynan u kodlaydi. Biroq kDNK ni to'yintirish prinsiplarini insonning miqdori juda kam yoki sintezlanish joyi noma'lum bo'lgan oqsillari uchun qo'llash mumkin emas. Bu holatda boshqa eksperimental yondashuvlar zarur bo'ladi. Tarkibida α -, β - va γ -interferonlari (IF α , H Φ β , IF γ) bo'lgan inson interferonlari –tabiiy oqsillar bo'lib, ularning har birini terapevtik maqsadlarda qo'llash mumkin (4 jadv.). Ularning kDNK si ajratib olinganda ular tarkibida etarlicha tegishli mNRK va oqsillar yo'qligi sababli bo'lgan qiyinchiliklarni engishga imkon beruvchi yangi yondashuvlarni ishlab chiqishga to'g'ri keldi.

3-jadval. Inson kasalliklarini davolash uchun qo'llanishga oziq –ovqat mahsulotlari, medikamentlar va kosmetika vositalarini nazorat qilish bo'yicha Departament(AQSH) ro'xsatini olgan ba'zi bir rekombinantli oqsillar :

Interferonlarning kDNK ajratib chiqarish protsedurasi quyidagilardan iborat:

1. Inson leykotsitidan mRNK ajratib olishdi va ularni o'lchamlariga ko'ra fraksiyalarga ajratishdi; teskari transkripsiya o'tkazishdi va plazmida pBR322n *Pst*I saytiga kiritildi.

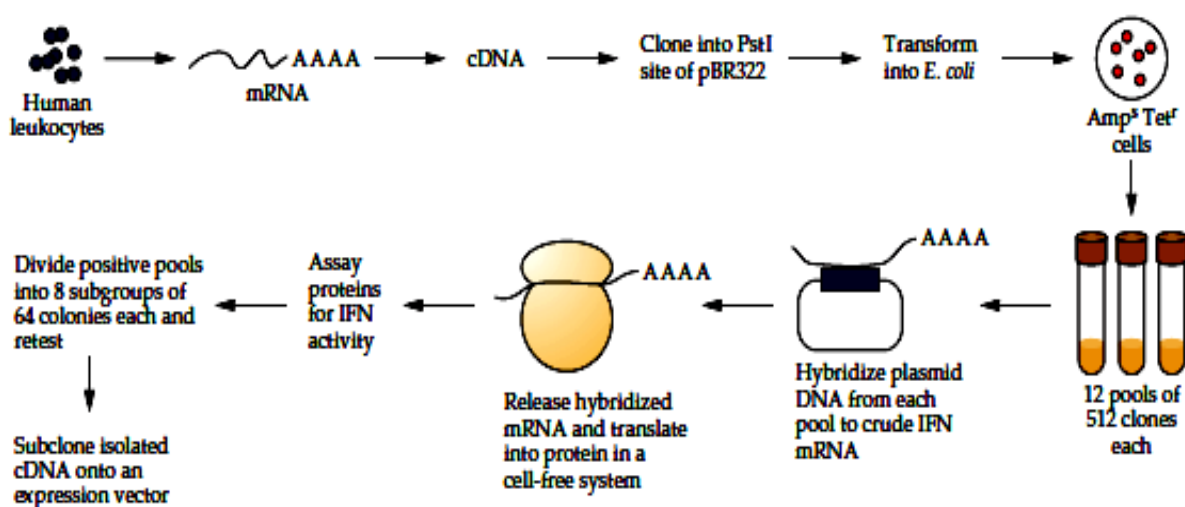
2. Olingan mahsulot bilan *Escherichia coli* ni transformatsiyalashdi, hosil bo'lgan 6000 klonni 12 guruhga ajratdilar har biriga 512 klondan to'g'ri keldi.
3. Klonlarning har bir guruhi tozalanmagan preparat IF-mRNK bilan gibridizlandi.
4. Tarkibida klonlangan DNK va mRNK bo'lgan gibridlardan mRNK ajratib olindi va u oqsilni hujayrasiz sintezlash sistemasida translyasiya qilindi.
5. Tryanslyasiya natijasida olingan har bir qorishmaning virusga qarshi interferonli faolligi belgilandi. Interferonli faollik ko'rsatgan guruxlar tarkibida IF-MRNK bilan gibridlashgan kDNK kloni mavjud bo'lgan.
6. Pozitiv gruppalar har birida 64 tadan klon bo'lgan 8 ta nim guruhlarga ajratildi va testdan o'tkazildi. Nim guruhlarga ajratishni tarkibida insonning to'liq o'lchamdagi IF-kDNKsi bo'lgan guruh qolmagunga qadar davoi ettirdilar. Tegishli kDNKga mos bo'lgan ko'p miqdordagi IF olish zarur bo'lsa ekspressiyaning yuqori darajasiga etish imkonini beruvchi *E. soli*-vektorda subklonlashtirish mumkin.

Insonlar interferonlari - Interferonning birinchi geni 1980-x yy.boshlarida olingan bo'lib, o'shandan beri bir necha turdagi interferonlar topilgan.YUqorida aytib o'tilganiday,ularning biologik va kimyoviy hususiyatlariga ko'ra uch guruhga ajratish mumkin: IF α , IF β va IF γ . IF α va IF β viruslar yoki virusli RNK preparatlari bilan ishlov berilgan hujayralar bilan sintezlanadilar, IF γ esa hujayralarni o'sishini stimullashtiruvchi moddalarga javoban ishlab chikariladi. IF α minimum 15 ta neallel genlarni o'z ichiga olgan genlar oilasi bilan kodlanadi. IF β va IF γ har biri alohida bir gen bilan kodlanadilar. IF α podtiplari turli spetsifikaga ega. Masalan, virus bilan ishlov berilgan buqa hujayralari liniyasidagi IF α_1 va IF α_2 larning samaradorligi tekshirib ko'rilganda bu interferonlar o'xshash virusga qarshi faollik ko'rsatadilar, insonning virus bilan ishlov berilgan hujayralarida esa IF α_2 interferoni IF α_1 ga qaraganda ko'proq faollik ko'rsatadi. Agar virusga qarshi faollik sichqon hujayralarida tekshirib ko'rilsa, unda IF α_2 interferoni IF α_1 ga qaraganda 30 marta kamroq faollik ko'rsatadi. Kombinatsiyalangan hususiyatga

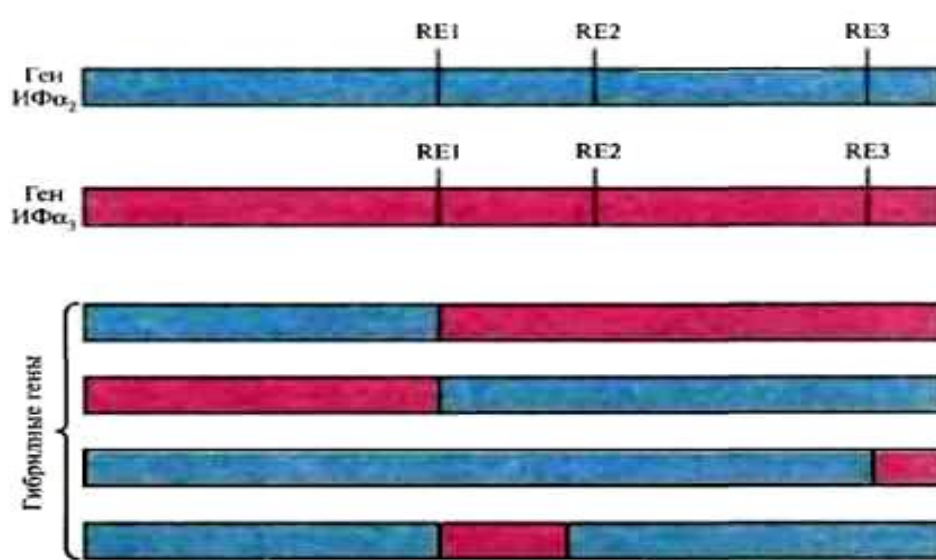
ega If yaratishga IF α interferon turlicha ekanligini e'tiborga olib bir necha marotaba o'rinib ko'rildi.¹

Nazariy jihatdan turli IF larning ketma-ketliklari qismlarini birlashtirib bunga erishish mumkin. Bu har bir boshlang'ich oqsilga nisbatan boshqacha xususiyatlarga ega bo'lgan gibril oksilni hosil bo'lishiga olib keladi. IF α_1 va IF α_2 lar ning kDNK si solishtirilganda shuni ko'rsatdiki, ular 60,92 va 150 pozitsiyalarda bir hil restriksiya saytlarini ko'rsatadilar. Ularning har birining kDNK si parchalanib ketgandan so'ng bu saytlarda va bundan keyingi legirlanish fragmentlarida bir necha gibrilgenlar olindi (11-rasm)

FIGURE 10.1 Overview of the protocol used to isolate IFN cDNA.



Bu genlar ekspressirovaliv *E. coli*, da sintezlangan oqsillarni ekspressiyaladilar, tozaladilar va ularning biologik funksiyalarini tadqiqot kildilar. Gibril IF lar ning himoya qilish xususiyatlarini sut emizuvchilarning hujayralarida tekshirib ko'rilganda shu narsa ma'lum bo'ldiki, ulardan ba'zi birlari bosh molekulalarga nisbatan ko'proq faollik ko'rsatar ekanlar. Undan tashqari, ko'pgina gibril IF lar nazorat hujayralarda 2'—5'-oligoizoadenilat-sintetazalar induksiyaladilar. Buferment 2'—5'-bog'langan oligonukleotidlar sintezida ishtirok etadilar va ular o'znavbatida, virusli mRNK ni parchalab yuboruvchi latent hujayrali endoribonukleazani faollashtiradilar. Boshqa gibril IF lar insonning turli xil rak hujayralaridagi turli mikroorganizmlarda bosh molekulalarga nisbatan ko'proq antiproliferativ faollik ko'rsatadi.



12-rasm. $IF\alpha_2$, $IF\alpha_3$ va to'rt hibrid genlarning strukturasi.. Sraivnenie nukleotidnyx posledovatel'nostey genov $IF\alpha_2$ i $IF\alpha_3$ genlarining nukleotid ketma-ketliklari solishtirilganda ularda restitsirloydigan (RE1, RE2, RE3) endonukleazalar uchun saytlar mavjudligi aniqlandi.

Bu saytlardagi restriksiya va olingan fragmentlarning ligirlanishi turli hildagi hibrid genlar paydo bo'lishiga olib keladi. Rasmning quyi qismida ularning to'rttasi aks ettirilgan.¹

Insonlarning o'sish gormoni

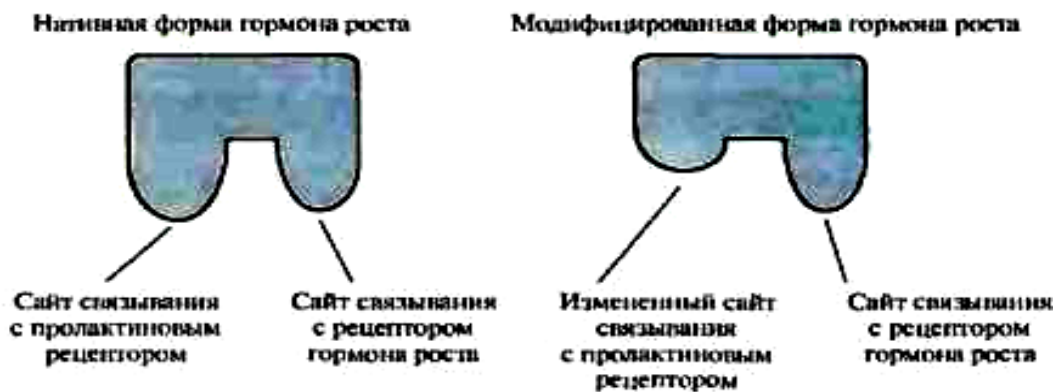
YAngi oksillarni strategiyu konstruirovaniya novyx belkov putem zameny funktsional domenlar yoki yo'naltirilgan mutagenez yordamida almashtirish yo'li bilan konstruksiyalash strategiyasidan oqsilning biologik ta'siri kuchaytirish yoki susaytirish da foydalanish mumkin. Masalan, inson bo'yini o'sish gormoni (GRCH) turli hildagi hujayralar bilan ya'ni retseptorli o'sish gormoni va prolaktinli o'sish gormoni bilan ham bog'lanishi mumkin. Davolash jarayonida turli nojo'ya effektlarni oldini olish maqsadida GRCHni prolaktinli retseptor bilan bog'lanishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Ushbu retseptor bilan bog'lanuvchi o'sish gormoni molekulari maydonchasi o'zining aminokislotali ketma-ketligi bilan prolaktinli retseptorlar o'zaro ta'sirga kirishuvchi maydoncha bilan faqat qisman to'g'ri kelganligi sababli u bilan bog'lanuvchi gormonni tanlab olingan hollda kamaytiriladi. Buning uchun spetsifik mutagenez saytidan foydalanildi. Natijada, GRCHni prolaktinli retseptor bilan yuqori affinli

bog‘lanishi uchun zarur bo‘lgan ba’zi bir aminokislotalarning yonbosh guruhlarini (His-18, His-21 i Glu-174) - Zn^{2+} ionlari uchun ligandlarda ma’lum bir o‘zgarishlar ro‘y berdi. Modifikatsiyalangan o‘sish gormonlari faqatgina” o‘zining” retseptori bilan bog‘lanadi. Olingan natijalar shubhasiz qiziqish uyg‘otadi, lekin modifikatsiyalangan GRCH lardan klinikada foydalanish mumkinmi yo‘qmi bu hali noaniq.

Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi

Yangi oqsil olish etarli emas uning geni ekspressiyasini optimallashtirish muhimdir. Avvaliga tadqiqotchilar ekspressiyaning prokariotik yoki eukariotik sistemalarida etarli miqdorda autentik oqsil olish imkonini tekshirib ko‘radilar. Prokariotik sistemalar ular bilan ishlash arzonga tashishi va ishlab chiqarish unumdorligi yuqori bo‘lishi sababli ustunlikka egadirlar. Afsuski, barcha mikroorganizmlar ham bir hilda geterologik oqsillarning funksional shaklini sintezlay olmaydilar, shu bois tegishli solishtirish baholanilishini olib borish zarur. Insonning interleykin-3 geni ekspressiyasiturlari xujayin-hujayralarda o‘rganib chiqilganda eng yaxshi “xo‘jayin” bo‘lib *Bacillus licheniformis* (jadv. 10.4) chiqdi. *E. coli* ning bitta sistemasida ekspressiyaning birmuncha yuqori darajasiga erishildi, 20 kDa massada olingan oqsil massasi 15 kDa bo‘lgan etilgan autentik oqsil emas, balki interleykin-3 ning β -galaktozidaza *E. coli* maydonchasi bilan qo‘shilib ketishini o‘zida aks ettiradi. Odatda bunga o‘xshash ximerli oqsildan dori sifatida foydalanib bo‘lmaydi.

Kluyveromyces lactis va *Saccharomyces cerevisiae*, achitqilari hujayralari, shuningdek inson hujayralari ham interleykin-3 ni glikozirlashi mumkin, biroq ulardagi ekspressiya darajasi juda past bo‘ladi. Glikozilirlash interleykin-3 ning faolligiga ta’sir ko‘rsatmaydi, lekin ularning molekullari o‘lchamida sezilarli farq bo‘ladi.

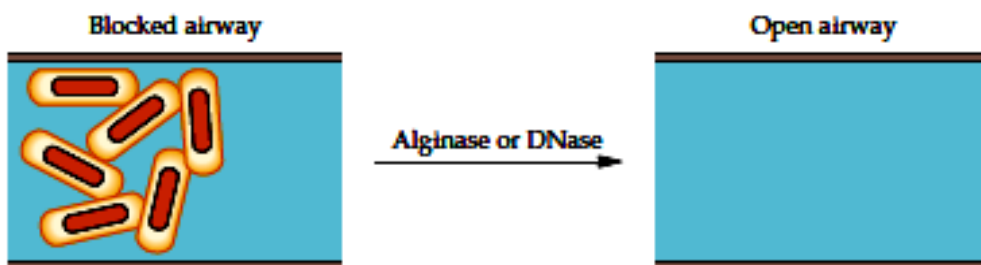


Rasm 13. Insonning o‘shish gormoni ning modifikatsiyalangan va nativnoy shaklining sxemacheskoe tasviri (GRCH). Oligonukleotid-yo‘naltirilgan mutagenez yordamida poluchena forma GRCH shakli olindi, prolaktinli retseptor bilan bog‘lanish qobiliyatini yo‘qotgan, biroq o‘shish gormoni retseptoriga spetsifikani saqlab qolgan.

Alginate-lyaza

Alginate – bu bir qator dengiz o‘tlari, shuningdek tuproq va dengiz bakteriyalari bilan sintezlanadigan polisaxariddir. Uning monomer birliklari ikkita saxarid – β -D-mannuronat va α -L-guluronat bo‘lib, ularning miqdori va taqsimlanishi konkret bir alginatning xususiyatlarini belgilaydi. Masalan, α -L-guluronat qoldiqlari kalsiy ionlarini bog‘lash yo‘li bilan buyraklar o‘rtasidagi va buyrak ichidagi choklarni xosil qiladi; β -D-mannuronat qoldiqlari esa boshqa metallar ionlarini bog‘laydilar.

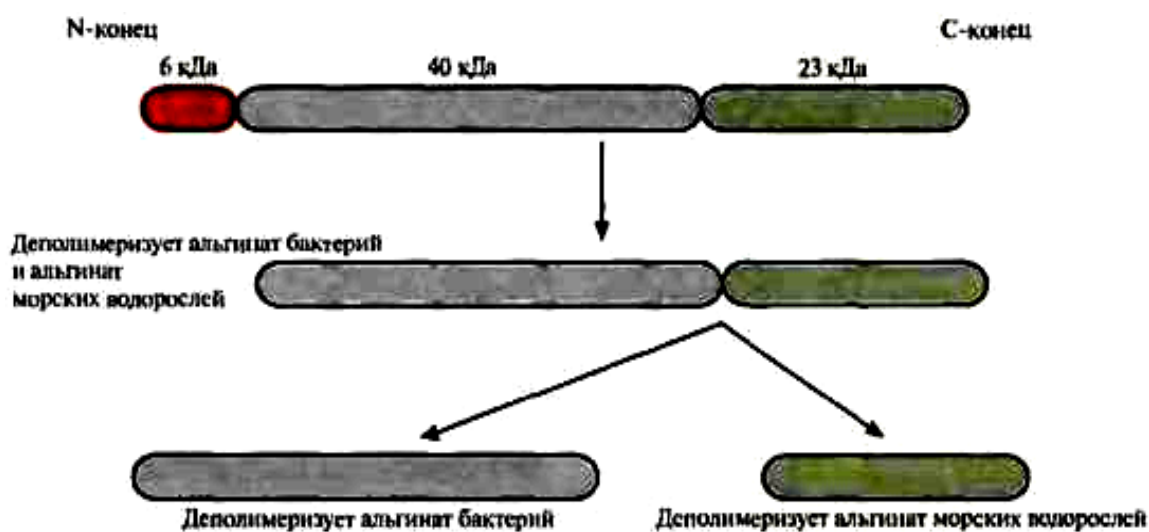
FIGURE 10.11 Schematic representation of a portion of a human lung occluded by a combination of live alginate-secreting bacterial cells, lysed bacterial cells, and leukocytes and their released DNA. This matrix may be digested by alginate lyase or DNase I.



Shunday choklari bo‘lgan alginate qayishqoqligi polisaxarid molekulalariga to‘g‘ri proporsional bo‘lgan elastik gel hosil qiladi. *Pseudomonas aeruginosa*

shilimshiq shtammlar mukovissidozom bilan kasallangan bemorlardagi shilimshiqning qayishqoqligini sezilarli darajada oshiradi.

Gidrolizlangan alginat chok xosil qilish xususiyatini yo‘qotadi .shuning uchun alginat-liazani sintezlaydigan koloniya atrofidagi muxit shaffof bo‘lib qoladi. Mavjud bo‘lgan koloniyalarning biridagi klonlangan DNK fragmenti mol. massasi 69000 ga yaqin bo‘lgan polipeptidni kodlaydigan ochiq xisoblash ramkasi borligini ko‘rsatdi. Yanada batafsil o‘tkazilgan biokimyoviy va genetik tadqiqotlar shuni ko‘rsatdiki,



Rasm. 14. *E. coli*. dan kelib chiqqan rekombinantli alginat-liaza *Flavobacterium* dan avvalgi oqsil protsessingi, mol. massi 69 kDa bo‘lgan peptid 6 kDa oqsil parchalanishi natijasida mol. massi 63 kDa, bo‘lgan, bakterial alginat va dengiz suv o‘tlari alginatini depolimerlash xususiyatiga ega oqsil protsessingi. 63 kDa oqsil parchalanganda mol .massasi 23 kDa bo‘lgan, dengiz suv o‘tlari alginatini faol depolimerizatsiyalovchi oqsil va bakterial alginatni gidrolizlovchi ,mol massasi 40 kDa bo‘lgan oqsil beradi.

Ushbu polipeptid *Flavobacterium* sp. (rasm. 14). tomonidan ishlab chiqariluvchi uchta alginatdan avvalgi polipeptid bo‘lishi mumkin. Avvaliga qandaydir bir proteolitik ferment undan massasi 6000ga yaqin bo‘lgan N-konsevoy peptidni ajratib oladi. Qolgan mol. massasi 63 000 ga teng bo‘lgan ferment bakteriyalar va dengiz suv o‘tlari tomonidan ishlab chiqariluvchi alginatni depolimerlash xususiyatiga ega.

Uni shundan soʻng kesilganda. Pri ego posleduyuyem razrezanii obrazuetsya produkt mol. massasi 23 000 boʻlgan, dengiz oʻtlari alginatini depolimerlovchi mahsulot va mol. massasi 40000 boʻlgan, bakteriyalar alginatini parchalaydigan ferment xosil boʻladi. Mol. massasi 40 000 boʻlgan, fermentlarni katta miqdorda olish uchun uni kodlovchi DNK ni polimerazli zanjirli reaksiya metodida (PSR) amplifitsirlashdi, shundan soʻng *V. subtilis* dan ajralib chiqqan, α -amilazasi *V. sitbtüis* ning signal peptidini kodlovchi plazmidali vektorga kiritadilar

α -amilazasi *V. sitbtüis*. Transkripsiya penitsillinaza genining ekspressiyasi sistemasi yordamida nazorat qilindi. (rasm. 14). Plazmidadan olingan *V. Subtilis* hujayralar transformatsiyasi va ularni tarkibida alginat boʻlgan qattiq muxitga kalsiy ionlari qoʻshib sohib yuborilgan paytda katta oreolli koloniyalar xosil boʻldi. Bunday koloniyalar suyuq muhitda etishtirilganda rekombinantli alginat-liaza kultural muxitga ajralib chiqqan. Keyingi testlar shuni koʻrsatdiki, bu ferment mukovissidoz bilan ogʻrigan bemorlarning oʻpkasidan ajralib chiqqan *P. Aeruginosa* shilimshiq shtammlar bilan sintezlanuvchi alginatlarni suyultirish xususiyatiga ega.

Rekombinantli alginat – liazaning klinik testdan oʻtkazilishi maqsadga muvofiqmi yuqmi, shuni aniqlash uchun qoʻshimcha tadqiqotlar oʻtkazish lozim.

Insonning koʻp klonli antitellalari

Immunoterapiyaning tahmin qilinayotgan istiqboliga qaramay ushbu metod koʻp klonli xayvon antitelalaridan foydalanish va ularga kerakli molekulalarni bogʻlash bilan bogʻliq boʻlgan bir qator cheklolarga ega.

Kimyoviy bogʻlanish jarayonining oʻzi unchali samarali emas, bogʻlanish tasodifiy tarzda boʻladi undan tashqari, bunda terapiyada qoʻllaniladigan plazminogen yoki boshqa moddalar aktivvatorining ferment aktivligi pasayishi mumkin. Va nihoyat, preparat koʻp matotaba kiritilishi koʻzda tutilayotgan boʻlsa, qarama –qarshi immun reaksiyalar paydo boʻlishining va bemor sensibilizatsiyasining oldini olish maqsadida hayvonning emas, balki insonning antitelasidan foydalanish zarur. Qarama-qarshi reaksiya chaqirmaydigan maxsus

antiteoaoar yaratish mushkul ish. Sababi an'anaviy gibriidom texnologiyasi bilan inson antitelasini olishda bir qator muammolarga duch kelinadi.

- Insonning sichqon mislomasini hujayralari bilan qo'shib olingan hujayralar barqaror emas va shu sababli, kup klonli inson antitelasini ishlab chiqara oluvchi hujayra olish qiyin.

- Sichqon mielomasini o'rnini bosuvchi inson mielomasining samarali hujayra liniyalarini olishga hozircha muvaffaq bo'linmadi.

- Insonning turli antigenlar yordamida immunizatsiyalash etika nuqtai nazaridan o'tkazilmaydi. Shunday qilib, inson antitelasini olish uchun boshqa yondashuvlar ishlab chiqish zarur. Sxemalarning birida faol ravishda spetsifik antitelalarni ishlab chiqaruvchi, insonning B-limfotsitlariga fluoressentli belgilangan antigen bilan ishlov berildi, so'ngra hujayrali sorter yordamida shu antitelalarni ishlab chiqaruvchi V-limfotsitlar na'munasini bilan to'yintirildi. V-hujayralar mikroorganizmlarda o'sishini tezlashtirish uchun ularga Epshteyna—Barr virusi o'tkazildi. V –hujayralar bilan transformatsiyalangan ba'zi bir klonlar seleksiyalanovchi antigenlar bilag o'zaro ta'sir qilluvchi ko'p klonli inson antitelalarini ishlab chiqaradi. Afsuski, ko'p klonli antitelalar chiqishi uncha ko'p bo'lmadi va ularning bog'lanish aktivligi past edi.

Nazorat savollari:

1. kDNK interferonlarini ajratib olish qanday amalga oshiriladi?
2. Insonlar interferonlari qanday maqsadlarda foydalaniladi?
3. Insonlarning o‘shish gormoni olish imkoniyatlari?
4. Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi qanday amalga oshiriladi?
5. DNKaza I fermenti qanday maqsadlarda foydalaniladi?
6. Alginat-liaza fermenti qanday olinadi?
7. Insonning ko‘p klonli antitelalari qanday olinadi?
8. Gen-ko‘chirishning uchta manbai Begona genlarni hujayraga? transformatsiyalashning gen muxandisligidagi ahamiyati?
9. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritishqanday amalga oshiriladi?
10. Binar vektorlarining kointegrativ vektorlarga nisbatan afzalligi nimada?
11. Genlar izchilligini identifikatsiya qilish va ajratish xaqida ma’lumot bering?
12. DNK bo‘laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish qanday amalga oshiriladi?
13. Vektor molekulasini uchun qo‘yilgan talablar?
14. Genom DNKsi fragmentlarini olish usullari?
15. Genomni alohida qismlarga ajratish haqida tushuncha bering DNK bo‘laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash) qanday amalga oshiriladi?
16. Genom klonlarini ko‘paytirish qanday amalga oshiriladi?
17. Mikroblar transformatsiyasi xaqida ma’lumot bering?
18. DNKni sekvenirlash usullariga izox bering?
19. Genlarni sintezlash qanday amalga oshiriladi ?
20. Sintezlangan oligonukleotidlarni qo‘llash qanday amalga oshiriladi?
21. Fosforamiditli usulning mohiyati nimada?
22. DNK ni kimyoviy sintezlash qanday amalga oshiriladi?

Foydalaniladigan adabiyotlar :

1. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology/ Washington 2010. 1020 r
2. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
3. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
4. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
5. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik-T.: Ta'lim, 2009. -528b.
6. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology -Washington 2010. 1020 r.
7. Deniz Ekinci "Biotechnology" Croatia, 2015
8. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
9. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
10. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
11. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik-T.: Ta'lim, 2009. -528b.
12. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology/ Washington 2010. 1020 r
13. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.

14. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
15. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b

4-Mavzu: Oqsillar terapiyasi. Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati va turlari. DNK, RNK va oqsil biosintezi.

1. Oqsillar terapiyasi. Rekombinantli DNK texnologiyalarining paydo bo'lishidan olingi davr.
2. Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati.
3. Nuklein kislotalarning turlari.
4. DNK, RNK biosintezi va oqsil biosintezi
5. Oqsil biosintezi

Tayanch iboralar: oqsillar terapiyasi. rekombinantli DNK, nuklein kislotalar, nuklein kislotalarning turlari. DNK, RNK biosintezi, oqsil biosintezi, nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati.

Oqsillar terapiyasi. Rekombinantli DNK texnologiyalarining paydo bo'lishidan olingi davr.

Rekombinantli DNK texnologiyalarining paydo bo'lishidan avval inson oqsili asosidagi ko'pgina dorivor preparatlarni fakat uncha ko'p bo'lmagan miqdorda olish mumkin bo'lgan, sababi ularni ishlab chikarish juda qimmatga tushgan va biologik ta'siri mexanizmi ba'zida yaxshi o'rganib chiqilmagan edi. Yangi texnologiya yordamida preparatlarning barcha spektrlarini samarali testdan o'tkazish va klinikada qo'llash uchun etarli bo'lgan miqdorda olish mumkin deb tahmin qilingan. Vabuumidruyobgachikdi .Bugungakelibinsonning 400 dan ortikgenlar i (asosan DNK ko'rinishida) turli oksillari klonlashtirilgan bo'lib, amalda ular dorivor preparat bo'lishlari mumkin.Ushbu genlarning ko'p kismi xo'jayin hujayrada ekspessiyalandi va xozirda ularning mahsulotlari insonning turli kasalliklarini davolashda ko'llash extimoliga tekshiruvdan o'tkazilmokda (2 jadval). AKSHda xozirda, 30dan ortik shunday biologik preparatlar ma'qullandi (3 jadval). Biroq xali ularning keng mik'yosda

qo'llanilib, sotuvga chikarilishiga hali ko'p yillar bor; avvaliga ular xayvonlarda tekshirib ko'riladi shundan so'ng, klinik sinovdan o'tkaziladi, biroq, farmatsevtik firmalar hozirdanoq ularga qiziqishmoqdalar.

Mutaxassislarning hisob kitoblariga ko'ra inson oqsili asosidagi dorivor preparatlarning dunyo bozoridagi hajmi 150 mlrd dollarga etgan va doimiy ravishda o'sib bormoqda. rekombinantli oksillar asosidagi dorivor preparatlar ning dunyo bozoridagi hajmi yiliga 12-145% ga o'smoqda. Insonning ko'pgina kasalliklarini davolash va profilaktika qilishning yangi metodlari XX asrda insonlarning farovon yashashlarini o'sishiga ulkan hissa qo'shdi. Biroq bu jarayon tugadi deb aytib bo'lmaydi. Eski deb atalmish kasalliklar (masalan, sil kasalligi) profilakti tadbirlar susayishi bilanoq yoki bo'lmasa, yangi rezistentli shtammlari paydo bo'lganida yana yuzaga kelishi mumkin. Terapevtik vositalar sifatida spetsifik antitelolardan foydalanish istiqboli juda e'tiborli; ulardan kelgusida toksinlarni neytralizatsiya qilishda, bakteriyalar, viruslar bilan kurashishda va hatto, rakni davolashda ham foydalanish mumkin. Antitelsoni o'z-o'zini boshqaradigan raketaga o'xshatish mumkin u yoki yot agentni neytrallaydi, yoki spetsifik nishon-hujayrani emirib yuboradi. Afsuski, antiteladan, uning imkoniyati juda keng deyilishi qaramasdan boshka kasalliklar va ularning patologiyalarini davolashda foydalanilmagan. Fakat so'nggi paytdagina rekombinant DNK va ko'p klonli antitelalar olish metodikasi rivojlangandan so'ng va molekulyar strukturasi va immunoglobulin funksiyalari rasshifrovkalangandan so'ng spetsifik antitelolardan turli kasalliklarni davolashda ko'llashga bo'lgan qizikish yana ortdi.¹

Nuklein kislotalarning hujayradagi ahamiyati

Biotexnologik jarayonlar mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralari, sun'iy oziqa muhitlarida o'stirilayotgan hujayra, to'qima va organlarni biosintetik potensialidan amaliy foydalanishga asoslanadi. Hozirgi vaqtda dunyoning ko'plab mamlakatlarida biotexnologiyaning taraqqiyotiga asosiy e'tibor qaratilmoqda, chunki boshqa texnologiyalarga qaraganda, biotexnologik jarayonlar energiya sarfining kamligi, deyarli chiqindisizligi,

ekologik sofliги jihatidan bir qator afzalliklarga ega. Bundan tashqari bu texnologiyalar muayyan asbob-uskuna, texnik qurilma va preparatlardan foydalanishni talab qiladi, shuningdek, iqlim sharoitlariga qaramasdan kichik hajmi egallaydigan maydonlarda ham tadqiqotlar o'tkazish mumkinligi bilan ajralib turadi.³

Molekulyar biologiya va nanobiotexnologiya zamonaviy biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlarini belgilab berdiki, undagi usullar o'tgan asrning 80 - yillarida keng rivojlanib fan va ishlab chiqarishning ko'plab sohalarida keng qo'llanila boshlandi.

Biotexnologiya fan sifatida zamon va mohiyatiga ko'ra, zamonaviy va an'anaviy (klassik) biotexnologiyaga bo'linadi. Zamonaviy biotexnologiya (biomuhandislik) molekulyar biotexnologiyausullari orqali genetik transformatsiya (modifikatsiya) qilingan o'simlik, hayvon va mikroorganizmlardan ishlab chiqarishni intensivlashtirish, turli xil maqsadlarga mo'ljallangan mahsulotlarning yangi turlarini olish texnologiyalarini yaratish va ulardan foydalanish to'g'risidagi fandır.

An'anaviy biotexnologiyani, oddiy, notransgen o'simlik, hayvon va mikroorganizmlardan (tabiiy va seleksion yo'li bilan olingan) foydalanib tabiiy va sun'iy sharoitlarda qishloq ho'jalik va boshqa xil mahsulotlarni ishlab chiqarish, saqlash va qayta ishlash, ularni tashish usullari va texnologiyalari haqidagi fan deb ham qarash mumkin.⁴

YAngi, zamonaviy biotexnologiyaning yirik yutug'i genetik transformatsiya, o'simlik, hayvon va mikroorganizmlarning retsipient hujayralariga begona (tabiiy va sun'iy yaratilgan) donor genlarni kiritib, yangi yoki kuchaytirilgan belgi va xususiyatlarga ega transgen organizmlar olishdir.

Mazkur yo'nalish o'z maqsad va imkoniyatlariga ko'ra, kelajakdagi strategik yo'nalishlardan biri bo'lib hisoblanadi. Bu tashqi muhitning noqulay

³Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology -Washington 2010.3-45 p.

⁴Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology -Washington 2010.3-45 p.

stress omillariga chidamliligi yuqori mahsuldor va sifatli o'simlik, hayvon va mikroorganizmlarni yaratish, tabiat va ishlab chiqarishning barcha sohalaridagi ekologik vaziyatni sog'lomlashtirish borasidagi mutlaqo yangi muammolarni hal etish imkonini beradi.

Bunday maqsadlarga erishish uchun genetik transformatsiya samaradorligini oshirishda ba'zi qiyinchiliklar va eng avvalo, genlarni identifikatsiya qilish va klonlash, ularning bankini yaratish, biologik ob'ektlarning belgi va xususiyatlarini poligen determinatsiyasi mexanizmlarini mukammal o'rganish, ishonchli vektor tizimlarini yaratish va genlar ekspressiyasining yuqori darajada chidamliligini ta'minlash kabilarni bartaraf etish lozim. Bugungi kunda dunyoning ko'plab mamlakatlari laboratoriyalarida tijorat maqsadlarida qo'llaniladigan mutlaqo yangi xildagi transgen o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar yaratilgan.

Nuklein kislotalarning turlari

Har bir tirik organizmda nuklein kislotalarning har ikki turi-ribonuklein kislota (RNK) va dezoksiribonuklein kislota (DNK) mavjud. Faqat viruslar bularning bir turini, DNK, yoki RNK ni tutadi. Nuklein kislotalar oqsillar bilan birga hayotning moddiy asosini tashkil qiladi. Ular bir-biri bilan har tomonlama uzviy bog'liq, ammo ularning hujayradagi o'rni va funksiyasi tubdan farq qiladi: oqsillar assosan qurilish va hujayraning ishchi organlari materiali, nuklein kislota esa informatsion material, u organizmning tuzilishi, o'sishi, rivojlanishiga tegishli axboratning saqlanishi, takrorlanishi, almashinuvi va nasldan-naslga o'tishini ta'minlaydi.⁵

Genetik jarayonlarning molekulyar mexanizmi. DNK biosintezi-genlar replikatsiyasi, ya'ni organizm belgilarining yuzaga chiqishidir. Geteropolimer bo'lgan informatsion makromolekulalar genetik informatsiyani o'zining birlamchi strukturalarida saqlaydi va tashiydi. DNK molekulasida nukleotidlar izchil joylashgan bu informatsiya replikatsiya ham transkripsiyada amalga

⁵Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology -Washington 2010. 4-15 p.

oshadi.⁶ Genetik informatsiyaning realizatsiya qilinishi DNK molekulasida nukleotidlar tartibi shaklida yozilgan buyruq (ko'rsatma)ni oqsil molekulasida sintezida aminokislotalar tartibga aylantirishdan iborat. Informatsiya oqimi quyidagi yo'nalishda kechadi: DNK → RNK → oqsil → hujayra → organizm

DNK, RNK biosintezi va oqsil biosintezi

DNK biosintezi yarim konservativ sintez deb ataladi, chunki har bir bola DNK da faqat bitta ona zanjir saqlanadi. Olingan natijalar replikasiyaning konservativ usulini to'la inkor qiladi, chunki aks holda, bir bola DNK si ikkala boshlang'ich zanjirni tutishi, boshqasi esa ikkita yangi sintezlangan zanjirdan iborat bo'lishi kerak. Uning isboti quyidagi misoldan oson ko'riladi.

Avvalo halqali DNK tutadigan bakteriyalarda (*E.coli*), so'ngra eukariot hujayralarda ham radioaktiv timidin bilan o'tkazilgan tajribalar replikasiya jarayonida DNKning ikkala zanjiri ham ir vaqtda sintezlanishini tasdiqladi. Gap shu erdagi, agar *E.coli* o'sayotgan muhitga ³N-timidin qo'shilsa u hujayrada dTTP ga aylanib replikasiya davomida iste'mol qilinadi. Bu tajribalarni o'tkazgan Keyrns DNK replikasiyasining modelini taklif qildi. Bu modelning asosiy xususiyati shundan iboratki, DNK molekulasida replikasiya boshlanishining nuqtasi deb ataladigan spetsifik uchastkaga ega. DNK replikasiyasi uchun faqat DNK-polimeraza fermentining o'zi etarli emas. Bugungi kunda ham replikasiya jarayonining to'la va aniq tasviri yo'q, bu jarayonda ma'lum funksiyani bajaradigan yigirmadan ortiq ferment va oqsillar ishtirok etsa kerak. Replikasiyaning o'zi birin-ketin kechadigan bir qancha bosqichlardan iborat. Bu bosqichlarning hammasi juda katta tezlikda, oliy darajada aniq o'tadi.

Yigirmadan ortiq replikativ fermentlar va faktorlardan iborat to'la kompleks DNK-replikaza sistemasi yoki qisqacha replisoma deb ataladi. *E.soli* hujayralarida ma'lum darajada bir-biridan farq qiladigan uchta DNK-

⁶Deniz Ekinci "Biotechnology" Croatia, 2015

polimeraza mavjud. Ular I, II, III polimerazalar deb belgilanadi. I va III polimerazalar bola zanjirining uzayishini ta'minlashidan tashqari, ekzonukleazalik aktivligiga ham ega, ya'ni DNK molekulasi har ikki uchidan ham oxirgi nukleotidlarni ajrata oladi. E.soli hujayrasida DNK zanjiri elongatsiyasiga asosan III DNK-polimeraza javob beradi. II DNK – polimerazaning funksiyasi hozircha aniqlangan emas.

Ribonukleozid trifosfatlardan 5→3 yo'nalishidagi bog'lanish *primaza* deb ataladi. RNK zatrovka kalta bir zanjirli RNK bo'lib, uning 3-uchiga izchilik bilan dezoksiribonukleotid qoldiqlari birikadi. Eng keyingi vaqtda xar ikkala zanjir xam kalta fragmentlar shaklida sintezlanishi isbotlandi.

RNK biosintezi, bajaradigan funksiyasiga qarab, RNK lar asosan uch sinfga bo'linadi: messenjer (elchi)-informatson RNK (m-RNK), ribosomol RNK (r-RNK) va transport (tanishuvchi) RNK (t-RNK). Ular xam ikkilamchi va uchlamchi strukturaga ega. Viruslar RNK si m-RNK ga juda o'xshash bo'ladi. Ichak tayoqchasida RNK sining tiplari quyidagi nisbatda bo'ladi: m-RNK~2, t-RNK~16% va r-RNK~82%.

RNK ning har uch tipi ham oqsil sintezida ishtirok etadi, lekin ularning har birining bu jarayonda maxsus, takrorlanmas funksiyasi bor.

Euakariot hujayralarda RNK ning boshqa tiplari ham topilgan, lekin ularning funksiyasi hali aniqlangan emas, shuning uchun ularning belgilari ham yo'q. Ularning ba'zilar yadroda, boshqalari sitoplazmada uchraydi.

Oqsil biosintezi

Transkripsiya jarayoni. Genlar transkripsiyasi RNK xosil bo'lishiga olib keladi. RNK ning xamma turlari xam yadroda sintezlanadi. DNK matritsada kechadigan xamma sintezlar DNK da yozilgan axborotga muvofiq amalga oshadi. RNK ning barcha turlari t-RNK, r-RNK va m-RNK sintezlanishida, DNK asoslarning tartibi RNK asoslari tartibini belgilaydi.

Polinukleotid zanjiri faqat ribozonukleotid trifosfatlardan sintezlanadi va bu jarayonda anorgik pirofosfat molekulalari ajralib chiqadi. RNK sintezi bir necha bosqichda bajariladi: a) initsiatsiya (boshlang'ich), v) polimerizatsiya v)

TERMINATSIYA (tugash). Reaksiyaning boshlanishi uchun maxsus oqsil – sigma faktor tugashi uchun tugatuvchi terminator-kodon ishtirok etadi. Nusxasi olinadigan shu zanjir bo'yicha polimeraza 5 dan 3 ga tomon yo'nalib 3→5 shaklda boradigan RNK zanjirini hosil qiladi. DNK matritsasida yangi sintez qilingan mahsulot (RNK molekulalari) *transkript* deb ataladi.

Biron bir ma'lumotni shartli belgilar yordamida ifodalash, odatda, kodlash yoki kod deb ataladi. 1961 yilda Krik genetik kodni matematik analiz qildi. Oqsil molekulasidagi har bir aminokislotani ifodalovchi kod tripletli bo'lib, u Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Oqsil molekulasiga kiradigan aminokislotalar kamida 20 xil bo'lganidan kodonlar soni ham 20 dan kam bo'lishi mumkin emas. Demak 4 ta nukleotidning o'zi yoki ikkita nukleotiddan hosil bo'ladigan $16(4^2)$ kombinatsiya ham etarli emas. Turli tadqiqot va mulohazalardan so'ng kod uch nukleotiddan iborat triplet tabiatga ega ekanligi aniqlandi. Albatta bunda hosil bo'ladigan kombinatsiyalar soni $64(4^3)$, kodirlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko'p ma'lum bo'ldiki, 20 ta aminokislotadan 18 tasi bittadan ortiq (2,3,4 va 6) kodon bilan kodirlanar ekan.

Oqsillarning biosintezi. Oqsillar biosintezi bioximiya tarixida eng muhim muammolardan biri bo'lib kelgan. Bugungi kunda biz bu muammo haqida ko'p ma'lumotlarga egamiz lekin hozircha to'plangan axborot bu sohada bilishi kerak bo'lgan narsalarning ozgina qismini qoplashi mumkin: oqsil sintezi biosintez jarayonlari orasida eng murakkabi bo'lsa kerak, uning ayrim bosqichlarida polipeptid zanjir initsiatsiyasi, uzayishi, tamomlanishi va oqsillarning etishishida yuzga yaqin fermentlar, maxsus oqsil faktorlar, umuman 200 yaqin makromolekulalar ishtirok etadi. Bu makromolekulalarning ko'pi ribosomalar uch o'lchovli murakkab strukturasi tashkiliy qismlaridir.

Oqsil sintez m-RNK ni dekodirlash, ya'ni RNK molekulasida to'rt xil asoslarning izchil kelishi yozilgan axborotning 20 xil aminokislotalarning oqsil molekulasida izchil kelish tiliga o'tkazilishidir. SHuning uchun ham bu jarayon translyasiya (tarjima qilish) deyiladi. Oqsil sintezining bosqichlari. Bu jarayon

asosan 5 bosqichda o‘tadi. Aminokislotalarning ATR yordamida aktivlanishi va tegishli transport RNK ga ko‘chirilishi oqsil biosintezi uchun energetik asos yaratadi. Bu ikki jaryon uzluksiz bog‘langan bo‘lib bitta enzim E-spetsifik aminoatsil-t-RNK –sinteza ta’sirida kechadi. Frensis Krik bu jarayonda t-RNK adaptorlik rolini o‘ynashini aniqladi.

Nazorat savollari:

1. Oqsillar terapeyasiga izox bering
2. DNKning spetsifik fizik kimyoviy xususiyatlari xaqida ma’lumot bering
3. Nuklein kislotalarning tuzilishi va fizik-kimyoviy xossalari
4. DNKning spirallanishi nima uchun kerak va nima beradi?
5. Nuklein kislotalarning birlamchi strukturasi qanday xosil bo‘ladi?
6. DNK ni tuzilishi xaqida ma’lumot bering
7. DNKni funksiyasi nimalardan iborat?
8. Replikatsiya nima?
9. Replikatsiya mexanizmi Transkripsiya mexanizmi.
10. Translyasiya mexanizmi.
11. DNK va RNKlarning fizik-kimyoviy xususiyatlaridagi farq
12. DNK va RNK larning strukturaviy tuzilish darajalari

Foydalaniladigan adabiyotlar :

1. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology/ Washington 2010. 1020 r
2. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
3. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
4. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo‘stoni.2013.-223b
5. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik-T.: Ta’lim, 2009. -528b.
6. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology - Washington 2010. 1020 r.
7. Deniz Ekinci “Biotechnology” Croatia, 2015
8. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
9. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo . 2014y, -335 b.
10. Musaev X.N., Axmedova N.X. Kimyoviy mikrobiologiya. Darslik. – T. Fan va texnologiya. 2012.-428 b

5-Mavzu: Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish, yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish. Hujayralarni biosintetik potensialidan istiqbolli foydalanish.

1. Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish.
2. Yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish.
3. GO‘M mahsulotlarning qanday ziyoni bor?
4. O‘zbekistonda GMO masalasi qanday tartibga solinadi.
5. Transgen o‘simlik yoki hayvon birinchi marotaba qaerda va qachon paydo bo‘lgan?

Tayanch iboralar: GMO, transgen, genlarni modifikatsiya qilish, genetic modifikatsiya, genlarni boshqa organizmlarga kiritish, transgen o‘simlik yoki hayvon birinchi marotaba qaerda va qachon paydo bo‘lgan, genetik o‘zgartirilgan, gen, genom.

Yangi ming yillik insoniyat tarixida butunlay yangicha bir bosqichni, ya’ni, tirik organizmlarning, jumladan, inson organizmining irsiy asoslari - irsiyat kodini (alifbosini) o‘qish imkoniyatini boshlab berdi. XX asr o‘rtalaridan boshlab genetika va molekulyar biologiya fanlarining nazariy va uslubiy birlashuvi natijasida yangicha bir yondashuv — «gen injenerligi va nanobiotenoogiya» deb nomlangan tadqiqotlar yo‘nalishi yuzaga keldi.

Ushbu yo‘nalishning bosh maqsadi - fan va amaliyot uchun kerak bo‘lgan irsiyatning yangi-yangi modellarini yaratish va kelgusida uni tirik organizmlarda ro‘yobga chiqarishdan iboratdir. Ro‘y berayotgan ko‘pgina global muammolar

echimini topishda «gen injenerligi» juda asqatishi mumkin, degan orzu-umidlar ham yo‘q emas... ammo bular hozircha orzular, xolos.

Ma'lumki, ona zaminimiz insonning biologik talablarini qondiruvchi yagona manba hisoblanadi. Inson va tabiat o'rtasidagi bog'liqlik nihoyatda nozik masala. Daqiqalar ichida sodir bo'ladigan ofatlar va keskin o'zgarishlarning oldini olish, ularni bartaraf etish juda mushkullashib borayotir (Chernobil AESi va yaqinda sodir bo'lgan Yaponiyadagi fojialar, bunga misol bo'la oladi).

Er yuzidagi hayot tizimi, shu jumladan, inson ham, barcha-barcha tirik organizmlar (hayvonlar, o'simliklar va barcha mikroorganizmlar irsiyati (genofondi va genomi) uzoq evolyusiya jarayonida, tabiiy tiklanish bilan million yillar mobaynida toza havo, tiniq suv, tabiiy sof ozuqa, yam-yashil olam, yorug'lik, mo'tadil haroratga moslashib, rivojlanib kelgan. Biroq, achinarli jihati shundaki, ko'pgina sabablarga ko'ra, bunday hayotiy muhim va zarur bo'lgan tabiiy omillardan ko'p hollarda mahrum bo'lib qolyapmiz. Ayniqsa, hozirgi davrda sayyoramizdagi haydaladigan erlar degradatsiyaga uchrab, unumsiz bo'lib bormoqda.

BMTning FAO va YUNEP ekspertlari keltirgan ma'lumotlarga ko'ra, er yuzida:

- 5 800 000 kv.km.dan ortiq er maydoni daraxtlarning kesib yuborilishi;
- 6 800 000 kv.km.dan ortiq er maydoni chorva mollari betartib boqilishi;
- 1 370 000 kv.km.dan ortiq er maydoni o'tin uchun kesilgan daraxt va butalar hisobiga;
- 1 095 000 kv.km.dan ortiq er maydoni yo'llar qurilishi sababli;
- 500 000 kv.km.dan ortiq er maydoni sug'orish va irrigatsiya ishlarini noto'g'ri yuritish tufayli tanazzulga yuz tutgan.

Axir, bu er maydonlari insoniyatni boqish, kiyintirish va yashashi uchun xizmat qilib kelgan-ku! Bundan tashqari, oxirgi yillarda radiatsion, kimyoviy hamda boshqa ksenobiotik omillarning qishloq xo'jaligida, ishlab chiqarishda, tibbiyotda ko'plab qo'llanishi oqibatida turli-tuman allergik va boshqa

kasalliklarni keltirib chiqarish holatlari mavjud. Ular suv orqali, havo va iste'mol ozuqalariga tushishi natijasida inson organizmi va boshqa tirik organizmlarga o'tadi, buning oqibatida etkazilgan teratogen, kan serogen va mutagen ta'sirini tuzatib bo'lmaydi. Ya'ni yuqorida aytib o'tilganidek, o'ta nozik «hayot ipi» uzib qo'yilishi mumkin. Bu barcha tirik organizmlar uchun katta tahlika tug'diradi. Bir so'z bilan aytganda, bugunga kelib, inson irsiyati xavfsizligini ta'minlash murakkab va eng dolzarb masalaga aylandi. Avvalgi davrlarga nisbatan, oxirgi 50 yil ichida biologik turlarning yo'qolish jarayoni 100-1000 barobarga ortib bormoqda.

Ma'lumot uchun aytish mumkinki, er yuzida 13 millionga yaqin biologik turlar mavjud bo'lib, hozirgacha olimlar ularning 1,75 million turini aniqlashgan, xolos.

Ushbu muammo BMTning «Odam genomi va inson huquqlari» Umumjahon Deklaratsiyasida yaxshi yoritilgan. Uning 12-moddasida davlatlar tajribalarni demokratik qonunlar doirasida olib borilishini ta'minlashi, qadr-qimmat va shaxsiy daxlsizlik, ijtimoiy salomatlik va atrof-muhitni saqlashdan iboratligi qayd etilgan. 13-moddasida esa, javobgarlik mas'uliyati olimning intellekti darajasi va vijdoniga havoladir, deya ta'kidlangan.

Biz osiyoliklar uchun misolni uzoqdan qidirish shart emas. Birgina Orol fojiasi millionlab insonlar hayotini izdan chiqarib, yuzlab biologik turlarning yo'q bo'lib ketishiga sabab bo'ldi.

-Domla, shu o'rinda «Genetik o'zgartirilgan organizmlar va mahsulotlar» degan tushuncha yoki ibora nimani anglatishi haqida ham kengroq to'xtalib o'tsak?

-Genetik o'zgartirilgan organizmlar va ularning mahsulotlari ilk bor o'tgan asrning 50-70 yillarida tarqala boshladi. Hozirgi kunda bunday mahsulotlardan eng ko'p foydalanayotgan mamlakatlar AQSH, Kanada, Avstraliya, Argentina, Meksika, Urugvay, Turkiya, Eron, Afg'oniston, Iroq va boshqa davlatlardir. Evropa, Xitoy, Yaponiya, Hindiston kabi bir qator davlatlar esa bunday mahsulotlarni o'z hududlariga olib kirishni taqiqlaganlar.

Genetik o'zgartirilgan organizmlar va ularning mahsulotlarini etishtirish tannarxi pastroq va ko'proq hosil olish maqsadida ishlab chiqiladi. Bu orqali oziq-ovqat mahsulotlari etishmasligi muammosini hal etish uning ijobiy jihati bo'lsa, uning bioxilma-xillikka tahdid solishi, iste'mol bozorlariga to'liq nazoratdan o'tmagan urug'lar hamda mahsulotlar kirib kelishi kabi salbiy tomonlaridan ham ko'z yumib bo'lmaydi. **Transgen o'simlik yoki hayvon birinchi marotaba qaerda va qachon paydo bo'lgan?**

-Genetik o'zgartirilgan ekinlarni yaratish borasidagi tajribalar o'tgan asrning 60-yillarida boshlangan. Transgen mahsulotning birinchi namunasi, tarkibiga kambala balig'ining geni kiritilgan pomidor 1994 yilda dunyoda birinchi marta AQSH savdo do'konlarida paydo bo'ldi. Bu geni o'zgartirilgan pomidor Amerikaning «Monsanto» korporatsiyasining olimlari tomonidan etishtirilgan edi. Ayni kunlarda dunyo bo'yicha 80 dan ortiq geni o'zgartirilgan mahsulotlar etishtirilmogda. Jumladan, bug'doy, sholi, soya, g'o'za kabi ekinlarning transgen turlari keng miqyosda ekilmogda.

1996 yildan 2003 yilgacha bo'lgan davrda transgen o'simliklar dunyoning 18 mamlakatida 67,7 million gektar maydonga ekilib, 40 barobarga ko'paydi. SHundan 42,8 million gektari AQSHga to'g'ri kelgan.

Geni o'zgartirilgan ekinlarni etishtiruvchi davlatlar soni 1996 yilda 6 ta, 2003 yilda 18 ta, 2008 yilda 25 taga etdi. 2015 yilga kelib, 40 dan ortiq davlat shu mahsulotlarni etishtirish bilan shug'ullanishi kutilmogda.

Agarda ilgari ma'lum genlarga ega bo'lgan o'ziga xos fenotipik va biologik xususiyatga ega yangi navlarni yaratish uchun 6-10 yillab vaqt talab qilingan bo'lsa, ayni paytda bu jarayon ilm-fanning zamonaviy taraqqiyoti sababli 2 yoki 3 yilda amalga oshirilishi mumkin.

-Bugun jahon afkor ommasini genetik o'zgartirilgan mahsulotlar bora-bora inson irsiyatiga ham ta'sir qilish oqibatida jiddiy genetik o'zgarishlargi olib kelishi mumkinligi xavotirga solmogda. Mutaxassis olim sifatida bu borada nima deya olasiz?

Genetik o'zgartirilgan mahsulotlarning insonga zararli ta'sirini aniqlash hozircha juda qiyin muammo. SHuning uchun bunday mahsulotlarni ishlab chiqarayotgan AQSH, Kanada, Lotin Amerikasi va boshqa mamlakatlarda genetik o'zgartirilgan o'simliklardan olingan oziq-ovqatlarga majburiy maxsus belgi qo'yib sotish joriy etilgan. SHunnigdek, Butunjahon sog'liqni saqlash tashkilotining (WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION) ma'lumotiga ko'ra, ko'pgina davlat tashkilotlari genomi o'zgartirilgan mahsulotlarni maxsus baholash jarayonidan o'tkazish lozim, deb hisoblaydi. Bugungi kunda Amerika va Evropaning ko'pla mamlakatlari do'konlarida bir turdagi mahsulotlarning ham tabiiy, ham irsiy o'zgartirilganlari sotuvga chiqarilmoqda.

Transgen oziq-ovqatlarning narxлари tabiiy mahsulotga qaraganda biroz arzonroq. Biroq ularning mazasi, ta'mi va biologik tarkibi deyarli bir xil ekanligini ayrim olimlar alohida ta'kidlamoqdalar.

Lekin yana bir guruh olimlar transgen mahsulotlar va inson salomatligi borasida jiddiy, tashvishlanarli fikrlarni aytishmoqda. Ayrim olimlarning ijobiy fikrlari bilan birga, ko'pchilik olimlar bunday mahsulotlar kelajakda odam irsiyatiga ham ta'sir qilib, insonning o'z insoniylik qiyofasini yo'qotib yuborishi mumkin, deya bong urishmoqda.

Ularning ta'kidlashlaricha, transgen oзуqalarning inson salomatligiga asosan quyidagi jihatdan ta'sir qilish ehtimoli bor: allergik reaksiyalar, gen ko'chishlari, autkrossing va mutatsiyalanishlar.

Rossiya olimlari tomonidan sichqon va kalamushlarga transgen oзуqalar berib tajribalar o'tkazilganda, birinchi avlodda o'limning 50 foizga ortgani, qolganlarida bepushtlikning kelib chiqishi, shuningdek, bu jonivorlarning xususiyatlarida ham kuchli qo'zg'aluvchanlik, agressivlik va tug'ma instinktlarida ham o'zgarishlari aniqlashgan.

Saratov shahrida olib borilgan kuzatishlarda transgen mahsulotlar bilan oziqlantirilgan sichqonlar o'z bolalarini eb qo'yishi kuzatildi. Aslida bu xususiyat jonivorlarning bu turi uchun xos emas. Bundan olimlar transgen

mahsulotlar jonivorlarning ruhiy holati (psixikasi)ga ta'sir ko'rsatadi, degan fikrga kelmoqdalar.

-Transgen ekinlar mahsulotlari geni o'zgartirilmagan turlardan nimasi bilan farq qiladi?

-Hozircha biologik xususiyatlariga ko'ra, bunday o'simliklar bir qancha afzalliklarga ega. Ularning tabiiy navlarga qaraganda hosildorligi ancha yuqori bo'lish bilan birga turli kasalliklarga, sovuq va shurlanishga chidamlidir. Masalan, Amerikadagi birinchi transgen pomidoriga kambalaning sovuqqa chidamlilik xususiyati o'tganligi sababli sovuq muzlamalarda ham nobud bo'lmaydigan, aksincha rivojlanaveradigan hosildor nav dunyoga keldi. Uning asosiy xususiyati kasalliklar, zararkunandalar va boshqa noqulay tabiiy sharoitlarga o'ta chidamliligining oshib ketishidir. SHuning uchun geni o'zgartirilgan ekinlarni kasallik va zararkunandalarga qarshi pestitsidlar bilan ishlashga umuman hojat yo'q. Masalan, transgen kartshkaning kattaligi qovunday bo'lishi bilan birga, hatto qolorado qo'ng'izi ham zararmaydi. SHuning o'zidan ham ko'rinib turibdiki, qo'ng'iz ham uni hazm qilolmaydigan bioximik o'zgarishlar sodir bo'lgan.

Bir so'z bilan aytganda, genetik o'zgartirilgan organizmlar (GMO) va ularning mahsulotlari muammosi ayrim nashrlar burayotganidek, insoniyat kelajagiga jiddiy xavf solish yoki solmasligi butun dunyo olimlari tomonidan o'rganilmoqda va hali-hozircha bir xulosaga kelingani yo'q. SHu kunlarda O'zbekiston Respublikasi Oliy Majlisining Qonunchilik palatasi Agrar va suv xo'jaligi masalalari qo'mitasi, Ekologiya va atrof-muhitni muhofaza qilish masalalari qo'mitasi, ekologik harakat faollari, mutahassislar va taniqli olimlar, Sog'liqni saqlash vazirligi, «O'zstandart» vakillari ishtirokida o'tgan amaliy seminar va davra suhbatini aynan shu masalalarga bag'ishlangan edi. Bundan qilingan xulosalar ham asosan ushbu yo'nalishga katta e'tibor berilayotganligi va yurtimizda birmuncha ijobiy yutuqlar qo'lga kiritilayotgani bilan bir qatorda, ushbu sohalarning qonunchilik bazasini yaratish vaqti kelganligi va buning uchun, avvalambor, alohida bir ilmiy-amaliy konferensiya

o‘tkazish, undan olingan xulosalar asosida geni o‘zgartirilgan mahsulotlarning respublikamizga turli qing‘ir yo‘llar bilan kirib kelishiga «qonuniy qalqon» mexanizmini yaratish haqida amaliy fikrlar bildirildi.



Hozirgi vaqtda GO‘M (GMO, geni o‘zgartirilgan mahsulotlar) haqida ko‘p eshityapmiz. Xo‘sh, bu mahsulotlar nima o‘zi? Qanday etishtiriladi? Oziq-ovqatlarning ham genini o‘zgartirish mumkinmi? Ular nimaga kerak va nimasi bilan xavfli? Keling, bu savollarga mutaxassis yordamida javob topamiz.

Geni o'zgartirilgan mahsulotlar bugun dunyo bozorlarida juda ko'p uchramoqda. Ular yurtimiz bozor va do'konlariga kirib kelganiga ham ancha bo'lgan. Qizig'i shundaki, ayrim rivojlangan mamlakatlarda ularni ichki bozorga chiqarishga yo'l qo'yilmaydi. SHuning uchun yoppasiga xorijga, rivojlanayotgan davlatlarga eksport qilish avj olib ketgan.

Ichida qattiq o'zagi bor pomidor, po'sti qalin plastmassa kabi olmalarni eslang. Ular uzoq shaharlarga tashishda ezilib ketmaydi, 3-4 kunda aynib qolmaydi do'konda tez sotilmasa ham endi bandidan uzilganday bo'lib, yaltirab turaveradi. Ammo salomatlikka jiddiy ta'sir ko'rsatadi.

Afsuski, hozirda mamlakatimizda xorijdan olib kelinayotgan oziq-ovqat mahsulotlarini tekshirib, geni o'zgartirilganmi yoki yo'qligini aniqlaydigan maxsus laboratoriyalar mavjud emas. SHu sababdan ulardan ehtiyot bo'lish hayoti uchun jiddiy qayg'uradigan har bir fuqaroning o'z mas'uliyati hisoblanadi.

GO'M nima o'zi?

Geni o'zgartirilgan mahsulot - bu gen injeneriyasi asosida o'simlik bilan biron bir tirik jonzot yoki mikroorganizmning DNKsini qo'shish, ba'zi biror xususiyatini o'zgartirish asosida vujudga kelgan mahsulotdir.

Savdo bozorida raqobatbardoshligini oshirish, tashqi ko'rinishini yaxshilash, saqlanish muddatini oshirish maqsadida mahsulotlar geniga o'zgartirish kiritiladi. Ya'ni o'simliklar, meva-sabzavotlar "begona" gen yordamida zararkunanda hasharotlarga chatishtiriladi. Buning natijasida noqulay iqlim sharoitlariga chidamliligi, hosildorligi oshadi, xona haroratida saqlanganda uzoq turadi.

Masalan, barchamiz yaxshi ko'rib iste'mol qiladigan kartoshka, pomidor yoki qulupnay geniga boshqa bir sovuqqa chidamli, hasharotlarni jalb qilmaydigan o'simlik yoki jonzotning geni qo'shiladi. Buning natijasida pomidorni shimolning eng olis burchaklarida ham etishtirish mumkin bo'ladi, kartoshka hosili esa Kolorado qo'ng'izidan jabr chekmaydi.

GO'M (GMO) mahsulotlar ilk bor 1990 yilda paydo bo'lgan edi.

GO‘M mahsulotlarning qanday ziyoni bor?

Magazinlarda chiroyli qadoqlarda sotiladigan mahsulotlar ko‘zni quvontiradi. Ammo, ming afsuski, ular orasida inson organizmiga ziyon etkazadigan GO‘Mlar ham mavjud. Olib borilgan tadqiqotlarda GO‘M oziqlarni iste‘mol qilish jiddiy allergik reaksiyalarga, eng yomoni immun tizimi ishdan chiqishiga olib kelishi tasdiqlandi. Bunday mahsulotlarni doimiy tarzda iste‘mol qilish oqibatida oshqozon shilliq pardasi jiddiy zararlanadi, natijada tuzalmaydigan yara paydo bo‘lishi mumkin. Shuningdek, ular ta‘sirida ichaklardagi mikroblarning antibiotiklarga chidamliligi oshadi.



Tekshirishlar shuni ko‘rsatdiki, geni o‘zgartirilgan mahsulotlar ayol va erkaklarda naslsizlik (bepushtlik) muammosini keltirib chiqarar ekan. Ayniqsa geni o‘zgartirilgan turli go‘sht mahsulotlarida ayollar reproduktiv tizimiga salbiy ta‘sir ko‘rsatuvchi fitoestrogen moddalar mavjud.

Yosh bolalarni geni o‘zgartirilgan soyadan tayyorlangan mahsulotlar bilan oziqlantirish esa ularda qalqonsimon bez (umuman endokrin bez muammolari)

hamda onkologik xastaliklarga zamin yaratishi aniqlangan. Shuning uchun mahsulotlarni sotib olganda quyidagilarni e'tiborga olishlarini maslahat beramiz.

- GO'M ko'pincha kolbasa mahsulotlarida uchraydi. Ayniqsa, qaynatilgan kolbasalar, sardelkalar, sosiskalar tarkibida geni o'zgartirilgan soya ko'p miqdorda bo'ladi;
- Import mahsulotlarining qadoqlaridagi yozuvlarga e'tibor qiling. Ularda asosan ingliz yoki rus tillarida ma'lumot beriladi. "Tarkibida genetik o'zgartirilgan soya bor" degan yozuvga ko'zingiz tushsa, sotib olmang.

Ingliz olimlari o'tkazgan tajribaga ko'ra, tadqiqotchilar kalamushlarni ma'lum vaqt davomida geni o'zgartirilgan kartoshka bilan boqishgan. Shundan so'ng kalamushlar organizmida g'ayriodatiy o'zgarishlar, shu bilan birga jigar, buyrak va bosh miya kasalliklari paydo bo'lgan. Chunki geni o'zgartirilgan oziq-mahsulotlar hujayralar mutatsiyasiga zamin yaratadi. Aynan hujayralar mutatsiyasi saraton rivojlanishiga olib kelishi aniqlangan.

Demak, ortiqcha muammolarga duch kelmaslik uchun oziq-ovqatlarni tanlash va sotib olishda ehtiyotkor bo'lish kerak. Chetdan kirib kelayotgan oziq-ovqat mahsulotlarini to'liq o'rganish, sotuvga chiqarishdan oldin chuqur laboratoriya tekshiruvlaridan o'tkazish maqsadga muvofiqdir.

- Genetik o'zgartirilgan ekinlarni yaratish borasidagi tajribalar o'tgan asrning 60-yillarida boshlangan. Transgen mahsulotning birinchi namunasi, tarkibiga kambala balig'ining geni kiritilgan pomidor 1994 yilda dunyoda birinchi marta AQSH savdo do'konlarida paydo bo'ldi. Bu geni o'zgartirilgan pomidor Amerikaning «Monsanto» korporatsiyasining olimlari tomonidan etishtirilgan edi. Hasharotlarga va tabiat injiqliklariga bardoshli bo'lishi uchun poliz o'simliklarining geni o'zgartiriladi.

Amerikadagi birinchi transgen pomidorga kambalaning sovuqqa chidamlilik xususiyati o'tganligi sababli muzlaganda ham nobud bo'lmaydigan, aksincha sovuqda ham rivojlanaveradigan hosildor nav dunyoga kelgan. Uning asosiy xususiyati kasalliklar, zararkunandalar va boshqa noqulay tabiiy sharoitlarga o'ta chidamliligining oshib ketishidir. SHuning uchun geni

o'zgartirilgan ekinlarni kasallik va zararkunandalarga qarshi chidamliligini ta'minlash uchun pestitsidlar bilan ishlashga umuman hojat qolmaydi.

Ayni kunlarda dunyo bo'yicha 80 dan ortiq geni o'zgartirilgan mahsulotlar etishtirilmoqda. Jumladan, bug'doy, sholi, soya, g'o'za kabi ekinlarning transgen turlari ekilmoqda.

Transgen oziq-ovqatlarning mazasi, ta'mi va biologik tarkibi deyarli bir xil, lekin ko'pchilik olimlar bunday mahsulotlarning inson salomatligi, nasliga ta'siri bo'lishini o'ylab tashvishlanyapti.

Bunday ozuqalar inson salomatligiga asosan allergik reaksiyalar, gen ko'chishlari va mutatsiyalanish ko'rinishida ta'siri ko'rsatishi mumkin. Ammo kelajakda odam irsiyatiga ham ta'sir qilib, insonning insoniylik qiyofasini yo'qotishiga olib kelishi ehtimoli ham yo'q emas.

Rossiya olimlari GO'M berib boqilgan kemiruvchilarning irsiyati va ruhiy holati o'zgarib qolganini kuzatishgan. Transgenlar bilan boqilgan kalamushlarning keyingi avlodida o'lim holati 50 foizga oshgan, qolganlarida bepushtlik kelib chiqqan, jonivorlarda o'ta agressivlik ko'zga tashlangan. Xususan transgen eb katta bo'lgan sichqonlar o'z bolalarini eb qo'yishgan. Aslida bu xususiyat jonivorlarning bu turi uchun xos emas.

Bundan GO'M tarkibli oziqalarning odam genetikasiga ham tahdid qilishini xulosa qilish mumkin.

Xulosa o'rnida biz aksariyatimiz bozorlardagi arzon milliy mahsulotlar o'rniga qimmatbaho supermarketlardagi plastmassaga o'xshash meva va sabzavotlarni bolalarimizga ediramiz. Aziz mehmon kelganda ham pulni ayamay, chiroyli ammo ta'mi sal g'alati import eguliklarni dasturxonga qo'yishga oshiqamiz. Ularning organizmga zararini hatto o'ylamaymiz. Lekin aslida qurtlagan yoki g'adir-budir bo'lsa ham o'zimizning milliy meva va sabzavotlar tabiiy, xavfsiz va sof bo'lishini mutaxassislar ko'p marta takrorlagan.

Jahon statistikasiga ko'ra, oziq-ovqatdan keladigan kasalliklar tufayli yiliga salkam 600 million kishi kasallanadi, 420 ming kishi vafot etadi. Bu

iste'molchilarga taqdim etilayotgan oziq-mahsulotlar sifati va tarkibiga alohida e'tibor qaratish lozimligini anglatadi.

Genetik modifikatsiyalangan organizmlar foydalimi yoki zararli?



So'nggi yillarda O'zbekistonda amalga oshirilayotgan ulkan islohotlar qishloq xo'jaligini tubdan diversifikatsiya qilish va aholini asosiy oziq-ovqat mahsulotlari bilan to'liq ta'minlash, ularni katta miqdorda eksport qilishni yo'lga qo'yish imkonini berdi.

Bu borada ko'rilgan chora-tadbirlar tufayli g'o'za ekiladigan maydonlar ikki barobar qisqardi va paxtadan bo'shagan erlar oziq-ovqat ekinlari uchun ajratib berildi. Mamlakatimizning ko'plab mintaqalari qisqa muddatda jahon bozorida xaridorgir bo'lgan meva va sabzavot mahsulotlari etishtiradigan va eksport qiladigan hududlarga aylandi. Yurtimizda yuqori hosil beradigan intensiv bog'lar tashkil qilindi, tomchilatib sug'orish tizimi joriy etildi.

Aholini sifatli oziq-ovqat mahsulotlari bilan ta'minlash uchun ularning mazkur yo'nalishdagi bir qator konstitutsiyaviy huquqlari, jumladan, iste'molchi

huquqlari ustuvorligini ta'minlashning, ya'ni tashkiliy, ijtimoiy, iqtisodiy va huquqiy shartlari yaratildi.

Joriy yilning 14 oktyabr kuni qabul qilingan "O'zbekiston Respublikasining biologik xilma-xillik haqidagi konvensiyaning bioxavfsizlik bo'yicha Kartaxena protokoliga qo'shilishi to'g'risida"gi (Monreal, 2000 yil 29 yanvar) qonuni ham ushbu yo'nalishdagi qadamlardan biri bo'ldi, desak mubolag'a bo'lmaydi.

Kartaxena protokolining asosiy maqsadi mazkur bayonnoma tomonlariga atrof-muhit va inson salomatligiga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin bo'lgan geni modifikatsiyalangan organizmlarni xavfsiz topshirish, qayta ishlash, ulardan foydalanish va import-eksport sohasida himoyani ta'minlashda yordam berishga qaratilgan.

GMOning atrof-muhit va inson salomatligiga zararli ta'sirini baholash uchun BMT yordamida ishlab chiqilgan Biologik xilma-xillik to'g'risidagi konvensiya va Bioxavfsizlik bo'yicha Kartaxena protokoliga 171 davlat hamda xalqaro tashkilot sifatida Evropa Ittifoqi (EI) qo'shilgan. Shu erda savol tug'iladi, genetik modifikatsiyalangan organizmlardan foydalanish qay darajada foyda yo zararli? Mutaxassislar o'rtasida bu borada qarama-qarshi fikrlar mavjud.

Avvalo, GMOga ta'rif bersak. GMO – gen muhandisligi yordamida organizmga yangi xossalari (alohida gerbitsidlarga, zararkunandalarga, kasalliklarga, yuqori va past harorat ta'siriga barqarorlik, hosildorlik, kaloriyalik) va sifatlar (rangi, tarkibi, saqlash davomiyligi, etilish muddati va boshqalar) berish uchun genotipi o'zgartirilgan o'simlik yoki hayvonot organizmidir.

Hozirgi kunda dunyoda ishlab chiqilayotgan mahsulotlar umumiy miqdoridan soyaning 80 foiz, makkajo'xorining 70 foiz, kartoshkaning 60-70 foiz, guruchning 50 foiz, lavlagining 30 foiz geni modifikatsiyalangan mahsulotlar hissasiga to'g'ri keladi.

Oziq-ovqat ishlab chiqaruvchi yirik transmilliy kompaniyalar, jumladan, “Nestle”, “Unilever”, “Heinz Foods”, “Hershey’s”, “Sosa-Cola”, “McDonalds”, “PepsiCo”, “Danon”, “Similac”, “Cadbury” va “Mars” GMOdan foydalanadi.

Ma’lumotlarga ko’ra, oziq-ovqat mahsulotlarining 80 foizdan ortig’i GMO mahsulotlar bo’lgan AQSHda 70,5 foiz aholi allergiyaga moyil bo’lsa, transgenlar taqiqlangan SHvetsiyada bu ko’rsatkich 7 foizni tashkil etadi.

GMOning atrof-muhit va inson salomatligiga potensial xavf tug’dirishi mumkinligini inobatga olib, “Greenpeace” tashkiloti geni modifikatsiyalangan mahsulotlar ishlab chiqaruvchilarning qora ro’yxati bo’yicha 43 ishlab chiqaruvchining 70 dan ortiq mahsulotini rad qilishga chaqirgan.

Evropa ittifoqi davlatlarida mahsulotlarda GMOning yo’l qo’yilgan ulushi 0,9 foizgacha belgilangan bo’lsada, Sloveniya, Avstriya, Gretsiya, Fransiya, Lyuksemburg davlatlarida GMO mahsulotlari foydalanilmaydi.

Endi GMOning foydali taraflariga to’xtalsak. Hozirgi kunda qishloq xo’jalik ekinlarining genetik modifikatsiyalangan navlari dunyo miqyosida qariyb 190 million gektar er maydonini egallab, yiliga 190 milliard dollar foyda keltirmoqda. CHunonchi, 1996 yildan 2017 yilgacha genetik modifikatsiyalangan mahsulotlarning umumiy bozor qiymati 186,1 milliard dollarni tashkil etdi. Pestitsidlar va gerbitsidlardan foydalanish 18,4 foizga kamaygan, bu esa atrof-muhitga ijobiy ta’sir ko’rsatmoqda. Karbonat angidridning atrof-muhitga chiqishi 27,1 million tonnaga kamaygan.

O’zbekistonda esa shakllangan an’anaviy sabzavotchilik va bog’dorchilik madaniyati genlarni modifikatsiya qilish texnologiyalarini qo’llamasdan ham juda mazali ta’mg’a va iste’mol xususiyatlariga ega bo’lgan ekologik toza meva va sabzavotlar etishtirish hamda uni 80 dan ortiq davlatga eksport qilish imkonini bermoqda.

Darhaqiqat, O’zbekiston Respublikasi yuqorida qayd etilgan Biologik xilma-xillik to’g’risidagi konvensiyaga O’zbekiston Respublikasi Oliy Majlisining 1995 yil 6 maydagi qaroriga asosan qo’shilgan.

O‘zbekiston Respublikasi mazkur konvensiyaning Kartaxena protokoliga qo‘shilishi biotexnologiya rivojlanishi va GMOdan foydalanish bilan bog‘liq ekologik holatni yaxshilash, aholi salomatligiga, atrof-muhitga, o‘simlik va hayvonot dunyosiga etishi mumkin bo‘lgan salbiy holat va ularning oqibatlarini bartaraf qilish, protokolda ko‘zda tutilgan muayyan moliyaviy resurslar va texnologiyalardan foydalanish, Evropa Ittifoqining preferensiyalar Bosh tizimiga potensial qo‘shilish hisobiga mahalliy mahsulot eksport hajmini va geografiasini kengaytirish imkoniyatlarini beradi.

Umuman olganda, qonunning qabul qilinishi atrof-muhitni muhofaza qilish bo‘yicha vazifalarni inobatga olgan holda genetik modifikatsiyalangan organizmlar va ularni qayta ishlash mahsulotlaridan foydalanish masalasini xalqaro darajada qonuniy tartibga solish uchun muhim qadamdir.

O‘zbekistonda GMO masalasi qanday tartibga solinadi 22.10.2019

Mamlakatimiz bioxavfsizlik bo‘yicha Kartaxena protokoliga qo‘shilishi bunda qanday rol o‘ynaydi (14.10.2019 yildagi O‘RQ-569-son Qonunga qarang)?

Biologik xilma-xillik haqidagi Konvensiyaga (Rio-de-Janeyro, 1992 yil 5 iyun) Monrealda 2000 yil 29 yanvarda Protokol imzolangan. Protokol biologik xilma-xillikni saqlash va undan barqaror foydalanishga noxush ta’sir ko‘rsatishga qodir bo‘lgan, o‘zgartirilgan barcha tirik organizmlarni transchegaraviy olib o‘tish, tranziti, ularga ishlov berish va foydalanish borasida inson sog‘lig‘iga xavf solishi mumkinligi ham hisobga olingan holda qo‘llaniladi.

Hujjatni imzolagan mamlakatlar genetik modifikatsiyalangan organizmlarga ishlov berish, o‘rab joylash va tashishda xavfsizlik choralariga rioya etishi zarur. Ular chegaradan tashqariga olib chiqilganda oluvchi uchun identifikatsiya ma’lumotlari va aloqa bog‘lash manzili qayd etilgan qo‘shimcha axborotlar keltirilgan hujjatlar bilan kuzatib boriladi. Import qiluvchi mamlakat xavfni ilmiy ishonchli tarzda baholash asosida qaror qabul qiladi, baholashni o‘tkazish tartib-taomillari va usullari hujjatda qayd etilgan. Ilmiy asoslangan

ma'lumot mavjud bo'lmaganda, davlat ehtiyotkorlik choralari ko'rishi kerak: importdan voz kechishi yoki qaror qabul qilishni kechiktirib turadi. SHuningdek ishtirokchi davlatlar o'rtasida tezkor ma'lumot almashish uchun erishilgan kelishuvlar doirasida zamonaviy internet-texnologiyalar qo'llaniladi.

Senatning 11 oktyabrdagi yalpi yig'ilishida ishtirok etgan Ekologiya davlat qo'mitasi raisi Bahrom Qo'chqorov O'zbekistonda protokol talablarini amalga oshirish uchun zarur taxminiy summani – qariyb 20 mln AQSH dollari miqdorida ekanligini ma'lum qildi. Moliyalashtirish manbalari sifatida davlat byudjeti mablag'lari, vakolatli idoralarning byudjetdan tashqari mablag'lari va tashqi manbalardan olingan mablag'lar, shu jumladan Konvensiyaning 21-moddasida nazarda tutilgan moliyalashtirish mexanizmlari ko'rib chiqiladi. Bioxavfsizlik, ma'muriy organlar tizimi faoliyat yuritishi, protokolda ishtirok etuvchi milliy mexanizmlarni amalga oshirish, menejment tavakkalchiligi tizimini joriy etish, sinov laboratoriyalari tarmog'ini (bitta shunday laboratoriya 5-7 mln dollarga tushadi) va tegishli infratuzilmani tashkil etish, shuningdek malakali mahalliy kadrlarni tayyorlash sohasidagi normativ bazani ishlab chiqish uchun resurslar talab etiladi.

Kartaxena protokoliga qo'shilish mamlakatimizdagi GMO bilan bog'liq holatga qanday ta'sir ko'rsatishi haqidagi parlamentariyning savoli yuzasidan Sog'liqni saqlash vaziri Alisher Shodmonov quyidagilarni ma'lum qildi: O'zbekistonda Fanlar akademiyasi, Innovatsion rivojlanish vazirligi va Sog'liqni saqlash vazirligi bo'linmalari singari vakolatli organlar mavjud. Ular ushbu yo'nalishda ilmiy-tadqiqot ishlarini olib boradi. Normativ talablar, xususan, oziq-ovqatlarda GMO tarkibining ruxsat etilgan cheklangan me'yori – 0,9%dan yuqori bo'lmagan miqdorda belgilandi, bolalar ovqatlarida – bunday tarkibga yo'l qo'yilmaydi. «Oziq-ovqat mahsulotlariga nisbatan gigienik xavfsizlik talablari» 0283-10-son SanQNga 2017 yil dekabrda tegishli o'zgartirishlar kiritildi.

Kartaxena protokoliga qo'shilish, vazirning fikricha, xalqaro tajriba asoslanib, milliy qonunchilikni xalqaro huquq bilan uyg'unlashtirgan holda

O‘zbekistonda tarkibida GMO bo‘lgan mahsulotlar oborotini tartibga soladigan huquqiy mexanizmlar ishlab chiqilishi uchun asos bo‘ladi.

Vazirlik rahbari ichki qonun ijodkorligi ishlariga oid rejalar haqida axborot berdi. YAqin istiqbolda bir qator vakolatli vazirliklar va idoralarning birgalikdagi sa’y-harakatlari bilan ishlab chiqilgan GMO va gen muhandisligi to‘g‘risidagi qonun loyihasini parlamentga kiritish o‘ljallanmoqda.

Senat raisi Tanzila Norboevaning ta’kidlashicha, ushbu masalaning normativ tartibga solinishi – jamiyatda salomatlik va sog‘lom ovqatlanish muammolariga e’tiborni hisobga olgan holda muhokama uchun alohida mavzudir. Bundan tashqari, axborot-targ‘ibot ishlarini faollashtirish, fuqarolarning hayotiy manfaatlariga daxldor mavzularni yanada batafsil yoritish lozim. Senat rahbarining aytishicha, ko‘pchilik GMO nimaligini bilmaydi ham.

Ma’lumot uchun: o‘zgartirilgan tirik organizm zamonaviy biotexnologiyalardan foydalanish orqali hosil bo‘lgan genetik materialning yangi kombinatsiyasiga ega istalgan tirik organizmni ifodalaydi (Kartaxena protokolining 3-moddasi).

Genetik modifikatsiyalangan organizmlar (GMO) – bular organizmga yangi xususiyatlarni (ayrim gerbitsidlar, zararkunandalar, kasalliklar va sho‘rlanishga, yuqori va past harorat ta’siriga chidamlilik, hosildorlik, kaloriyalilik va boshqalar) berish maqsadida gen muhandisligi usuli yordamida genotipi tabiatda imkoni bo‘lmagan uslubda o‘zgartirilgan o‘simlik yoki hayvonot dunyosidagi organizmlar; pirovard mahsulot sifatining o‘zgarishi (rangi, tarkibi, saqlash davomliligi, etilish muddatlari); atrof muhitni ifloslantiruvchi organik moddalar va og‘ir metallardan tozalash muammolarini hal etish; o‘simlik organizmidagi muayyan birikmalar (shu jumladan farmpreparatlar) sintezini ta’minlash hamda o‘simliklardan ushbu birikmalar hosil qilinadigan fabrika sifatida foydalanish («Oziq-ovqat mahsulotlariga nisbatan gigienik xavfsizlik talablari» 0283-10-son SanQN).

Qonun Qonun hujjatlari ma’lumotlari milliy bazasida e’lon qilingan va 14.10.2019 yildan kuchga kirdi.

https://www.norma.uz/qonunchilikda_yangi/uzbekistonda_gmo_masalasi
qanday tartibga solinadi

Nazorat savollari:

1. Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritishni tushuntiring?.
2. Yangi irsiy xususiyatga ega organizmlar qanday yaratiladi.
3. GO‘M mahsulotlarning qanday ziyoni bor?
4. O‘zbekistonda GMO masalasi qanday tartibga solinadi?
5. Transgen o‘simlik yoki hayvon birinchi marotaba qaerda va qachon paydo bo‘lgan?

Foydalaniladigan adabiyotlar :

1. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology/ Washington 2010. 1020 r
2. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
3. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
4. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo‘stoni.2013.-223b
5. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik-T.: Ta’lim, 2009. -528b.
6. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology - Washington 2010. 1020 r.
7. Deniz Ekinci “Biotechnology” Croatia, 2015
8. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.

9. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo . 2014y, -335 b.
10. Musaev X.N., Axmedova N.X. Kimyoviy mikrobiologiya. Darslik. – T. Fan va texnologiya. 2012.-428 b

IV. AMALIY MASHG‘ULOT MATERIALLARI **1-AMALIY MASHG‘ULOT.**

Plazmid DNKsini ajratish va tozalash uslublari.

1-ish. Qaynatish usuli yordamida preparativ plazmid DNKsini ajratish.

Material va asbob uskunalari: 4 ta studentga 400 ml tungi rTi plazmidli *Agrobacterium tumefaciens* S58 va rRi plazmidli *Agrobacterium rizogenes* kulturasi.

2 ta talabaga: 10 ml STET buferi; 0,9 ml TES-buferi; 50 ml-li kolba; 1 ml lizotsim eritmasi (20mg/ml); sekundomer, 1 ml-li avtomat pipetkalar.

Guruhga: 0,65 g. agaroz, 0,5 l elektroforez buferi, 12-21V "Bekman" sentrifugasi, 18-80 M "Bekman" ultratsentrifugasi, -20⁰ S haroratli muzlatgich kamera yoki -18⁰ S haroratlili muzlatgich, 100⁰ S haroratli suv hammomi, muz hammomi, elektroforez apparati, doimiy tok manbai, xe-miskop.

Shtamm va ozuqa muhitlar: *Agrobacterium tumefaciens* S58 va *Agrobacterium rizogenes* Ri A₄ shtammlari, biomassa o‘stirish uchun (agarli) Xottikler yoki LV buloni.

Tushuntirish. Hozirgi vaqtda plazmid DNKsini olishning ko‘pgina uslublari mavjud. Barcha uslublar muolajalarida asosiy 3 ta jarayon amalga

oshiriladi: bakterial hujayrlarni o‘stirish (iloji boricha plazmid DNKsi amplifikatsiyasini kuchaytirish), bakterial hujayralar lizisi va plazmid DNKsini tozalash. Plazmid DNKsini ajratish va tozalashning barcha uslublari xromosoma va plazmid DNKlarining fizik-kimyoviy xususiyatlarining farqiga asoslangan. Ikkinchidan plazmidlar xujayralardan kovalent yopiq shaklda ham ajratilishi mumkin, bunda xromosoma DNKsi ajratish jarayonida bir zanjirli bo‘laklarga bo‘linib ketadi. Bu DNK bo‘laklari odatda katta molekulyar og‘irlikka ega bo‘lib, ular ajratish jarayonida denaturatsiyaga uchragan oqsillar va hujayra qobiqlari bilan birga cho‘kmaga tushadi, plazmid DNKsi esa suyuqlik qismida qoladi (tiniq hujayra lizatida). Agar hujayralar lizisi hromosoma DNKsini tanlab denaturatsiya qiluvchi sharoitda olib borilsa plazmid DNKsining ko‘p miqdorda chiqishi ta‘minlanadi. Buning uchun bakterial hujayralarga ishqor va issiqlik bilan ishlov beriladi. So‘ng denaturatsiyalanish mahsulotlar differensial sentrifugalash usuli yordamida cho‘ktiriladi. Bir qancha uslublar orqali hujayra lizatini tiniqlashtirib, so‘ng kerakli miqdorda plazmid DNKsining toza preparatlari olishdi va ularni transformatsiyalash va restriksiyalash tajribalarida ishlatish mumkin.

Gen muhandisligi maqsadlari uchun yuqori tozalikka ega plazmid DNKsi kerak. Buning uchun plazmid DNKsini preparati etidium bromidli CsClning zichligi gradientida ultratsentrifugalanadi. Etidium bromid DNKga o‘rnashib olib, seziiy xlorid zichligi gradientida DNKniig suzish zichligini kamaytiradi. Etidiiy bromadidning DNK bilan bog‘lanishi DNKning qaysi shakldaligiga bog‘liq DNKning to‘g‘ri shaklli molekulari ko‘p miqdordagi, kovalent yopiq shakllari esa kamroq miqdordagi etidiiy bromidid bilan birikadi. SHuning uchun etidiiy bromididli CsCl gradientida DNKning to‘g‘ri shaklli va ochiq xalqali shakllariing suzish zichligi kamayadi, aksincha esa xalqali kovalent yopiq DNK molekulari zichligi kam miqdorda o‘zgaradi. SHunday qilib, etidiiy bromididli CsCl gradientida ultratsentrifugalash DNK molekularini shakliga qarab ajralishiga olib keladi va shu bilan plazmida DNKsining tozaligini ta‘minlaydi.

Ishdan maqsad - Agrobakteriyalar Ti va Ki plazmid DNKlarini ajratish.

Tajriba rejasi. Bakterial hujayralar sentrifugada cho'ktirilib, STET - buferida suspendirlanadi. Hujayradagi xromosoma DNKsi va oqsillarni cho'ktirish uchun suspenziyaga lizotsim solib, qaynatiladi. Sentrifugalanib, denaturatsiyaga uchragan oqsillar va xromosoma DNKsi cho'ktiriladi. Suyuq qismiga RNKaza fermenti bilan ishlov beriladi va plazmida DNKsi etanolda cho'ktiriladi, so'ng TES-buferida eritiladi va agarozali gel elektroforezda taxlil qilinadi.

Ishning borishi. Bu tajribani bajarish uchun talabalar ikkitadan birlashadi. Har bir juft bitta shtammdan DNK ajratadi. Bir kun o'stirilgan kultura (400 ml) 3000 aylana/daq. tezlikda 30 daqiqa sentrifugalanadi. Har bir kultura cho'kmasi 10 ml STET - buferida suspendirlanadi va 50 ml-li Erlenmeyer kolbasiga solinadi. Suspenziyaga 1 ml lizotsimning suvdagi eritmasi (20 mg/ml) qo'shiladi va tez aralashdirib aralashma isitgichga qo'yiladi. Birinchi qaynash alomatlari ko'rinishi bilan kolbani, 40 sekundga qaynab turgan suv hammomiga joylanadi, so'ng olib tezlik bilan muz hammomiga 5 daqiqaga qo'yiladi. Hosil bo'lgan yopishqoq (shilimshiq) lizatni sentrifuga probirkalariga teng miqdorda solinib 25000 ayl/daq. tezlikda 4⁰S da 30 daqiqa sentrifugalanib, xromosoma DNKsi va denaturatsiyalangan oqsillardan tozalanadi. So'ng tiniq suyuqlik shisha sentrifuga probirkalariga solinadi va 10 mg/ml miqdordagi RNKaza bilan xona haroratida 1 soat inkubatsiyalanadi. Suyuqlikka teng miqdorda izopropanol qo'shib, muzlatgichga -20⁰S ga 1 soat qo'yiladi. So'ng 3000 ay/daq, tezlikda 20 daqiqa sentrifugalanadi. Cho'kma havoda quritiladi va 0,9 ml TES -buferida eritiladi. SHu eritmadan 20 mkl olib agarozali gelda elektroforez ko'yiladi va plazmidning borligi tekshiriladi.

DNK eritmasiga 1g seziy xlorid solib, eritiladi va -4⁰S da saqlanadi.

2-ish. Etidiy bromidli CsCl - gradientida plazmid DNKsini tozalash.

Material va asbob-uskunalar. **1-mashg'ulot.** Ikkita talaba uchun: 0,1 ml etidiy bromid eritmasi (5mg/ml); refraktometr; 1, 20, 200 mkl-li avtomat

pipetkalar; 50 Ti-rotori uchun sentrifuga polliallomer probirkalari qopqoqlari bilan; 5 ml vazelin yog‘i; 5 ml-li shprits.

Guruh uchun: 1 g seziy xlor, 1 ml TES buferi, sentrifuga tarozisi, Bekman ultratsentrifugasi, 50 Ti-rotori.

2-mashg‘ulot. Guruh uchun: ximeskop; 2--3 ta fen; J2-21 V "Bekman" sentrifugasi; 7 g agaroz; 1 l elektroforez buferi; -20°S haroratli muzlatgich; elektroforez apparati; doimiy tok manbai; refraktometr; 3 ml zichligi $1,772 \text{ g/sm}^3$ va 3 ml zichligi $1,446 \text{ g/sm}^3$ bo‘lgan CsCl eritmalari

Ikkita talaba uchun: shisha himoya ko‘zoynagi; 5 ml-li shprits; 10 ml-li shisha sentrifuga probirkalari; 1 ml-li avtomat pipetkalar; 4 ta parafilm plenkasi (2x2 sm); 25-50 ml-li shisha stakan; 2 ml distillangan suv; 5 ml butanol; 0,7 ml 3 M li natriy atsetat (rN 6,0); 50 mkl TE-buferi,

Tushuntirish. Makromolekulalar va viruslarning fizik-kimyoviy tahlilida CsCl gradienti zichligida ultratsetrifugalash usuli samarali foyda beradi. Tahlil qilinayotgan material CsCl eritmasi bilan aralashtirilib, aralashma gedimentatsion - diffuzion muvozanat hosil bo‘lgunicha setrifugalanishi, CsCl gradienti zichligining shakllanishining keng tarqalgan usuli hisoblanadi. Burchak rotorlardan foydalanilganda DNK ning suzish zichligida bo‘linishi uchun sentrifugalash vaqti 36-50 soatni tashkil etadi. Teng miqdorli gradient zichligi tezda shakllansa ham lekin asosiy vaqt DNK molekulasi teng og‘irliqdagi qatoriga yig‘ilishiga sarf bo‘ladi. Tahlil qilinayotgan material CsCl ning yuqorigi yoki pastki qatlamiga qatlamlanadigan zinasimon gradietining shakllanishi sentrifugalash vaqtini 12 soatga qisqarishini ta‘minlashi mumkin. Zinasimon gradient uslubini qo‘llab vertikal rotorlardan foydalanilganida esa senrifugalash vaqtini 2 soatga qisqartirish mumkin. Burchak rotorlarida DNKniig suzish zichligi bo‘yicha tez bo‘linishining uslublari ishlab chiqilgan (6 soatda) [2]. Shu maqsadda, CsCl ning uch qatlamli o‘rta qatlamning yani arifmetik zichligi yuqorigi va pastki qatlamlarning zichligiga muallaq bo‘lgan gradienti shakllantiriladi va tahlil qilinayotgan material o‘rta qatlamga

joylashtiriladi. Bunda makromolekullarning teng og'irligidagi zichlikkacha migratsiya masofasi qisqarishi hisobiga makromolekular ajralishi tezlashadi.

Ishning maqsadi: har bir juft talabalar oldingi darslarda ajratilgan plazmid DNKlari bilan ishlaydi. (1-ishni bajarishda). Sentrifuga probirkasiga uch qatlamli CsCl gradienti shakllantiriladi. Gradient sentrifugalanib plazmid DNKsi fraksiyasi shprits yordamida tortib olinadi. Etidiy bromid butanolda ekstraksiya qilinadi, tozalangan plazmada DNKsi etanolda cho'ktiriladi, cho'kma TES-buferida eritiladi va agarozali gelda elektroforez qilinadi.

Ishning borishi. **1-mashg'ulot.** CsCl gradientini tayyorlash va sentrifugalash.

Avvalgi darslarda olingan 1 g CsCl li DNK preparatiga (0,9 ml) 0,1 ml etidiy bromid eritmasi (TES buferida 5 mg/ml) solinadi. Etidiy bromid kuchli katserogen bo'lganligi sababli teriga tushishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Refraktometr yordamida eritmaning zichligi aniqlanadi, bunda refraktometr ko'rsatkichini 1,391 ga etkazish uchun quruq CsCl yoki TES-buferi solinadi. Refraktometr ko'rsatkichi 0,003 ga farqlanishi mumkin. CsCl ning hamma eritmaları TES - buferida tayyorlangan bo'lib, tarkibida 0,5 mg/ml etidiy bromid bo'lishi kerak. Pastki qatlamning zichligi 1,77 (1,406); o'rta qatlam zichligi 1,610 (1,391); yuqori qatlam zichligi 1,446 (1,376) g/sm³ ga teng bo'lishi kerak (qavs ichida eritmaların refraksiya ko'rsatkichlari ko'rsatilgan). Zichligi 1,772, 1,610 va 1,446 g/sm³ bo'lgan eritmalar uch qatlamli gradient shakllantirish uchun asta sekinlik bilan zichligiga mos ravishda sentrifuga probirkasiga avtomat pipetkalar yordamida qatlamlanadi. Tahlil qilinayotgan material o'rta qatlamiga solingan bo'ladi. CsCl qatlamlarining pastki, o'rta va yuqorigi qatlamlarining miqdori: ml-da 3:1:3 nisbatda bo'lishi kerak. Eritmalarni qatlamlashda har xil zichliqdagi eritmaların aralashib, bir-biriga o'tib ketishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Sentrifuga poliallomer probirkasi tagiga 3 ml zichligi 1,772 g/sm³ bo'lgan CsCl eritmasi, ustiga zichligi 1,610 g/sm³ bo'lgan tarkibida DNK preparati bor ikkinchi eritma qatlamlanadi va uning usiga 3 ml zichligi 1,446 g/ sm³ CsCl eritmasi asta-sekinlik bilan solinadi.

Gradient shakllangandan so'ng probirkalarni juda ehtiyotlik bilan chayqatib yubormasdan qopqoqlar bilan yopiladi va shpirts yordamida qopqoq teshiklari orqali vazelin yog'i bilan to'ldiriladi. Probirkalar juft-juft qilib sentrifuga tarozida vazelin yog'i yordamida tenglashtiriladi, qopqoq teshiklari vintlar bilan burab yopiladi va rotorga bir-biriga qarama-qarshi qo'yiladi. 42000 ayl./daqiqqa 18⁰S haroratda 6-8 soat davomida senrifugalanadi.

Senrtifugalash tugashi bilan gradientdan plazmid DNKsini olish kerak, agar buning iloji bo'lmasa kecha davomida sentrifugalanadi.

2-Mashg'ulot. Plazmid DNKsi fraksiyalarini CsCl gradientidan olish va etidiy bromiddan tozalash.

Sentrifuga to'xtaganidan so'ng gradient ximeskopda (to'lqin uzunligi 254 nm bo'lgan qisqa to'lqinli ultrabinafsha nurlari yordamida yoritiladi) ko'riladi. UB-nurlari manbai bilan ishlaganda albatta himoya ko'zoynagidan foydalanish kerak. Sentrifuga probirkasida normal bo'linish yuzaga kelganda ikkita chiziq ko'rinishi kerak: yuqori chizig'ida xromosoma DNKsi va to'g'ri shaklli plazmid DNKsi joylashgan, pastki chizig'ida esa xalqa shakldagi kovalent birlashgan plazmid DNKsi joylashgan. Ochiq xalqa shaklli plazmida DNKsi xromosoma DNKsi bilan bir chiziqda yoki sal pastroqda joylashgan bo'ladi. Sentrifuga probirkalaridan markaziy vintlar olinib, shpirts yordamida plazmid DNKsi so'riladi va 10 ml-li sentrifuga shisha probirkasiga solinadi So'ngra plazmid DNKsi preparati etidiy bromaddan butanol yordamida ekstraksiya qilinib tozalanadi. Buning uchun DNK eritmasiga teng miqdorda butanol qo'shiladi (5 M CsCl bilan to'yintirilgan bo'lsa yanayam yaxshi), probirka og'zi parafilm yoki shisha tiqin bilan yopiladi va qo'lda probirkani to'nkarish va asl holiga qaytarish yo'li bilan aralashtiriladi. 1-2 daqiqadan so'ng aralashma qatlamlarga ajraladi, yuqorigi faza (etidiy bromidli butanol) avtomat pipetka orqali olib tashlanadi. Pastki faza (DNKning CsCl eritmasi) rangsizlangunga qadar bu muolaja 3-4 marta qaytariladi. DNK eritmasi etidiy bromiddan tozalangandan so'ng unga teng hajmda distillangan suv, 1/10 hajm 3 M rN 6,0 natriy atsetat va 2 hajm sovuq etanol aralashtirib, muzlatgichga -20⁰Sga 1-2 soatga qo'yiladi.

DNK 3000 ayl/daq. tezliqda 15-20 daqiqa davomida past haroratada sentrifugalanib, cho'ktiriladi. Etanol hidini yo'qotish uchun probirkani vakuum eksikatoriga 10-15 daqiqaga qo'yiladi. Agar buning iloji bo'lmasa probirkani 10-15 daqiqa to'nkarib qo'yish mumkin. Qurigan DNK cho'kmasi 40 mkl TE-buferida erkitiladi va Eppendorf probirkasiga olinadi.

Olingan eritmalardan 3 mkldan olinib agarozali gel elektroforezda tekshiriladi. Plazmid DNKsi preparatlarini -20°S haroratda muzlatgichlarda saqlash mumkin.

Adabiyotlar.

1. Brunk C.F.Leick V.Rapid equtlibrium isopicnic CsCl gradients. Biochem.Biophus. Asta, 1996, vol.179. p.136-144.
2. Babukin M.M.Zinchenko V.V. Rapid separation of DNA s by buoyant donsity in three-CsCl gradients. Biochemistry, 1984, vol.137 p.175-181.
3. Q.Davronov, R.Artiqova, T.YUsupov. Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi (Amaliy – laboratoriya mashg'ulotlari) Toshkent 2001

4. R.M.Artikova, N.A.Xo‘jamshukurov “Molekulyar biologiya” fanidan laboratoriya mashg‘ulotlari uchun uslubiy qo‘llanma
Toshkent.:TKTI.2013.62 b.
5. R.M.Artikova, Gen va hujayra injenerligi fanidan laboratoriya mashg‘ulotlari uchun o‘quv-uslubiy qo‘llanma. Toshkent.: TKTI.2013.20 b.
6. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan amaliy mashg‘ulotlar uchun o‘quv-uslubiy qo‘llanma; Toshkent.: TKTI.2013. 32b.

2-AMALIY MASHG‘ULOT:

Gel elektroforez yordamida nuklein kislotalarni tahlil qilish

Ishdan maqsad: DNK va PZR mahsulotlarini hamda rekstriksion tahlillarda gel elektroforez usulida tahlil qilishdan iboratdir.

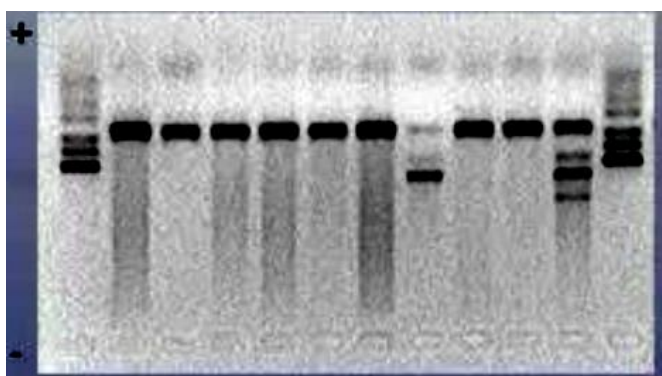
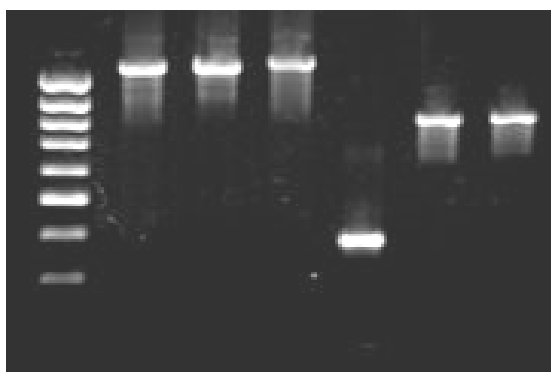
DNK elektrofarezi moleklyar biologiyaning tadqiqot o‘tkazishdagi asosiy asboblardan biridir. Elektrofarez usuli qo‘llanilishi:

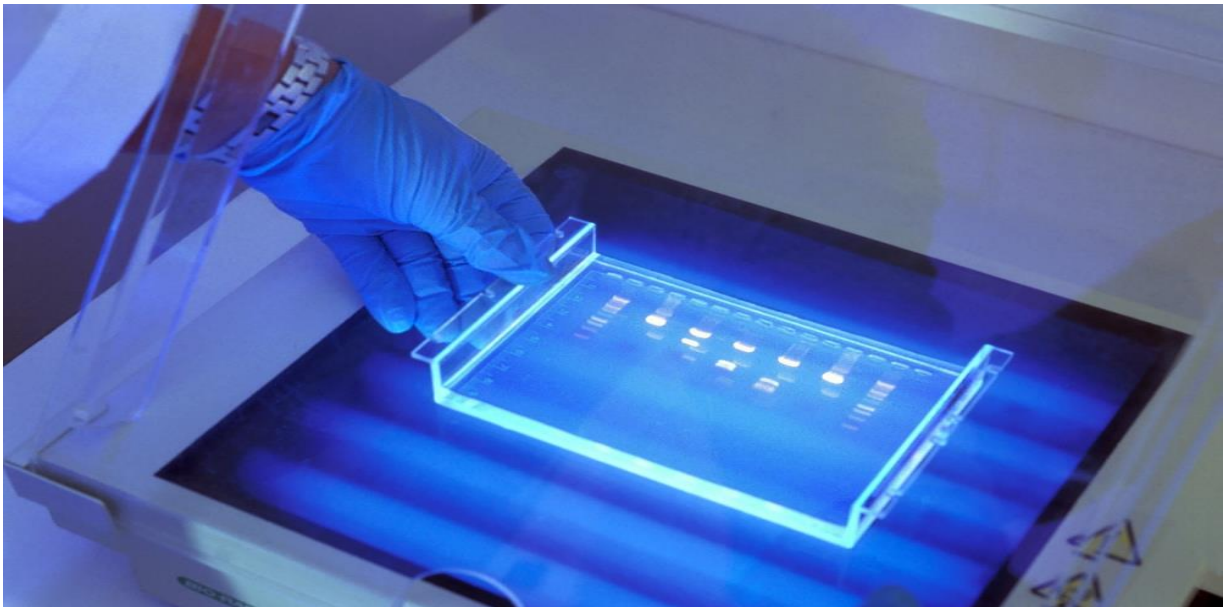
- DNK va RNK moleklalarini ularning uzunligi markerlar yordamida aniqlab ajratib olish.
- DNK ni taxminiy uzunligini nurni qaytarishi xisobiga aniqlash
- Kerakli DNK izchilligini geldan kesib olish va kelasi tajribalarda ishlatish
- PZR mahsulotini tahlillarini amalga oshirish

DNK molekulasini fragmentlarga ajralish sababi zaryadlanganligi sababidandir. DNK molekulasi manfiy zaryadni fosfat qoldig'i bog'langan nukleotidlardan oladi. Bu esa ularni suvda eruvchan qilib tok ta'sirida musbat elektrod tomon xarakatlanishga majbur qiladi. DNK molekulasi sekin xarakatlanishi uchun uni qovushqoqligi yuqori agarozga geliga solinadi.

Agarozga gelining yuqori konsentratsiyasi DNK molekulasini xarakatini sekinlashtiradi va kichik fragmentlarga ajralishi kuzatiladi.

Mazkur usul orqali o'simlik namunalardan ajratilgan DNKni deteksiya qilish va PZR mahsulotining nukleotidlar sonini aniqlash uchun qo'llanildi.





10-rasm Gel elektroforez yordamida nuklein kislotalarni tahlil holati

Genom DNKni deteksiya qilishda 0,8 foizli, PZR mahsulotining nukleotidlar sonini aniqlash uchun esa 3 foizli agarozaga gelidan foydalaniladi. Gel-elektroforez genom DNKni deteksiya qilishda 20 daqiqa mobaynida 120 vt li elektr tokida, PZR mahsulotining nukleotidlar sonini aniqlash uchun esa 40 daqiqa mobaynida 120 vt li elektr tokida davom ettiriladi.

Foydalanilgan reaktivlar:

1. Agarozaga;
2. 10xTBE bufer;
3. 0,5xTBE bufer;
4. Etidium bromid;
5. Bromfenol ko'ki;
6. Ksilensianol;
7. 30 % glitserin;
8. 100 juft nukleotid DNK marker RTU (Ready-to-Use) GeneDireX (Tayvan).

0,8 % agarozaga geli tayyorlash (100 ml):

1. 0,8 gr agarozaga;
2. 99,2 ml 0,5xTBE bufer.

Mikroto'qinli isitgichda eritildi. 40 °S bo'lganda unga 7 mkl etidium bromid (1mg/ml) solindi (xona temperaturasida saqlanadi).

3 % agarozaga geli tayyorlash (100 ml):

1. 3 gr agarozaga;
2. 97 ml 0,5x TBE bufer.

Mikroto'qinli isitgichda eritildi. 40 °S bo'lganda unga 7 mkl etidium bromid (1 mg/ml) solindi (xona temperaturasida saqlanadi).

10xTBE bufer tayyorlash (1 litr):

1. 121 gr Tris;
2. 55 gr bor kislotasi;
3. 7,55 gr EDTA;
4. 1000 ml dH₂O.

Magnitli aralashtirgichda 500 ml dH₂O da Tris va bor kislotasi eritildi so'ngra unga 1 litrgacha etguncha yana dH₂O qushildi (xona xaroratida saqlanadi).
0,5xTBE bufer tayyorlash (1 litr):

1. 50 ml 10xTBE bufer;
2. 950 ml dH₂O.

Bufer va dH₂O yaxshilab aralashtirildi (xona xaroratida saqlanadi).

Gelga namunani solish uchun bo'yoq tayyorlash (5mg/10 ml):

1. 2,5 gr bromfenol ko'ki;
2. 2,5 gr ksilensianol;
3. 10 ml 30 % glitserin.

Vorteksda aralashtirildi (4 °S da saqlanadi).

Etidium bromid tayyorlash (1mg/ml):

1. 1 mg etidium bromid;
2. 1 ml dH₂O.

Vorteksda aralashtirildi (xona xaroratida saqlanadi).

Nazorat savollari:

1. DNK va oqsil elektroforezi qanday uskunalarda amalga oshiriladi?
2. Elektroforez apparati tarkibiga nimalar kiradi?
3. Oqsilni elektroforez qilishdan maqsad nima?
4. DNK va oqsillarni elektroforezi uchun buferning tarkibi nimalardan iborat?

Foydalaniladigan adabiyotlar

1. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
2. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
3. R.M.Artikova, N.A.Xo'jamshukurov "Molekulyar biologiya" fanidan laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy qo'llanma Toshkent.: TKTI.2013.62 b.
4. R.M.Artikova, Gen va hujayra injenerligi fanidan laboratoriya mashg'ulotlari uchun o'quv-uslubiy qo'llanma. Toshkent.: TKTI.2013.20 b.
5. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan amaliy mashg'ulotlar uchun o'quv-uslubiy qo'llanma; Toshkent.: TKTI.2013. 32b.

3-AMALIY MASHG‘ULOT

Turli biologik ob’ektlardan (o‘simlik hujayrasidan) nuklein kislotalar ajratishning zamonaviy usullari.

Ishdan maqsad: STAV usulida o‘simliklardan umumiy nuklein kislotalar ajratishdan iboratdir.

Rekombinant DNK texnologiyasiga asoslangan gen muhandisligi tajribalarida ajratilgan DNK genom klonlariniig bankini yaratishda, ajratilgan RNK xususan mRNK kDNK bibliotekasini yaratib, birinchidan foydali genlarni aniqlashda, ikkinchidan genom bankidagi klonlardan shu genlarni topish uchun zondlarga ega bo‘lish uchun zarurdir.

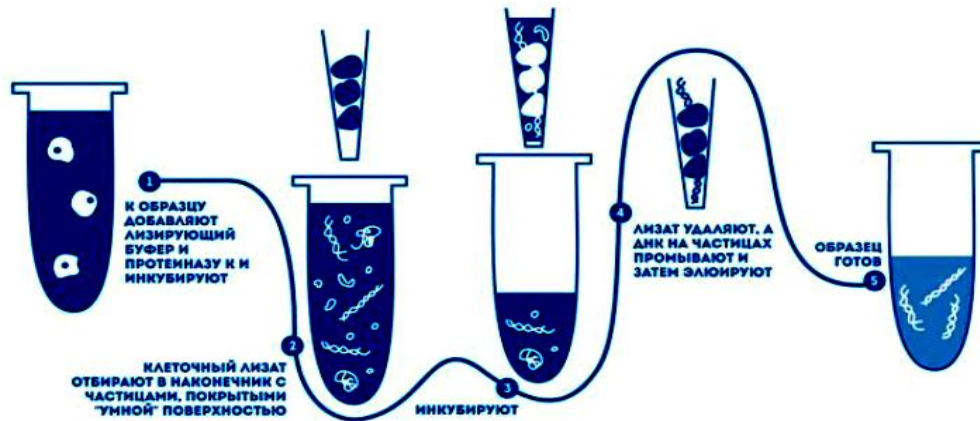
Qiziqtiruvchi gen klonlashtirilib, shu gennin strukturasi va xususiyatlari o‘rganilgandan so‘ng, shu klonlashtirilgan genni yana o‘simlik hujayrasiga transformatsiya qilish mumkin. DNK va RNK olish muolajalari transformatsiyalangan o‘simlik to‘qimalarida va butun regeniratsiyalangan o‘simliklarda ekzogen DNK ekspressiyasini o‘rganishda asosiy qurol bo‘lib xizmat qiladi.



Rasm. Nuklein kislotalarni fenol-xloroformda ajralishi



Rasm. Nuklein kislotalarni ferment va harorat tasirida ajralishi.



Rasm. Nuklein kislotalarni inkubatsiya usulida ajralishi.

Gen muhandisligila genlarni ajratib olish. ularning strukturasi, ekspressiyasini o'rganishda DNKni toza holda ajratib olish muhim ahamiyatga ega. DNKni ajratib olishda cho'kma va hujayralarni maydalash asosiy omillardan biri hisoblanadi. Bundan tashqari, o'simlik ekstrakti tarkibidagi juda katta miqdordagi taninlar, polisaxaridlar, pigmentlar yuqori molekulyar og'irlikdagi DNK molekulasini ajratib olishda qiyinchiliklar tug'diradi.

Bularning hammasi DNKning miqdorini spektrofotometrda o'lchashda noto'g'ri natija chiqishiga olib keladi. Undan tashqari restriksiya-modifikatsiya fermentlarining faolligini chegaralaydi. Bu Sauzern gibridizatsiyalashda, genlarni klonlanshtirishda xalaqit beradi.

Hujayra maydalangandan so'ng sentrifuga yordamida maydalangan hujayra membranalari va oqsillar denaturatsiya qilinib, cho'ktiriladi. Buning uchun xloroform-fenol-izoamil spirti aralashmasi ishlatiladi.

Masalaning qo‘yilishi: Ko‘p miqdordagi DNKni tozalash zarur bo‘lsa seziy xloridning suzish zichligida ultratsentrifugalash uslubida maqsadga erishish mumkin. DNK dializ yordamida tuzlardan tozalab olinadi na etil spirtida cho‘ktiriladi. SHu bosqichda DNKni RNKdan va boshqa ortiqcha narsalardan tozalab olinadi na TE buferida eritilib Spektrofotometrda miqdori o‘lchanadi, so‘ng agarozali gel elektroforezi yordamida tozaligi aniklanadi.

1-ish. O‘simlik bargidan DNK ajratish.

Material va asbob-uskunalar: 4 gr 14-kunlik g‘o‘za barglari, havoncha, setrifuga, sentrifuga stakanlari, 2 ta kolba, 2 ta stakan, shisha tayoqcha, refraktometr, dializ qog‘ozi, magnitli aralashtirgich, spektrofotometr, muzlatgich.

Ishni bajarish uchun namuna:

1. 4 g barg havonchada suyu azot yordamida kukun holiga kelguncha maydalanadi.
2. Kukunni 50 ml bufer V bilan birga kolbaga solinadi, 20 daqiqa davomida aralashtirib turiladi.
3. 30 ml fenol qo‘shiladi va yana aralashtiriladi (30 daq.)
4. K-23 sentrifugasida 10^0 Sda 5000 ayl./daq tezlikda 1 soat aylantiriladi.
5. Ustki qismi toza kolbaga olinib teng miqdorda fenol-xloroform aralashmasi solinib, 10 daqiqa aralashtiriladi.
6. 30 daq. 10^0 da 5000 ayl./daq tezlikda sentrifugalanadi.
7. Ustki qismini olib teng miqdorda xloroform qo‘shilib, 10 daqiqa aralashtiriladi va yana sentrifugalash yo‘li bilan fazalarga bo‘linadi.
8. Suyuq qismi, 2 miqdor etil spirti solingan stakanga asta sekinlik bilan aralashtirilib muzlatgichga qo‘yiladi. «Meduza» hosil bo‘lgandan so‘ng tayoqchaga o‘rab olinib 10 ml DNK erituvchi (TE) buferida stakanda eritiladi.

9. DNK eritmasiga etidiy bromid 02 mg/ml va 1,55 g/ml seziiy xlor solinadi (sinish ko'rsatkichi 1,3860).
10. Suyuqlik sentrifuga probirkalariga solinadi tenglashtirib og'zi mahkamlangandan so'ng 20 soat 50000 ayl./daq. tezlikda (15⁰S) sentrifugalanadi.
11. UF nurlari ostida DNK shprints yordamida tortib olinadi.
12. DNKni etidiy bromididdan izoamil spirtida 5 marta ekstraksiya qilib tozalanadi.
13. Seziy xlordan TE buferidan 4⁰S da 24 soat agnitli aralashtirgichda buferni bir necha marta almashtirib dializ qilish yo'li bilan tozalanadi.
14. DNK miqdorini spektrofotometrda 260 nm to'liqin uzunligida kvarsli kyuveta o'lchanada.

V buferi: 0,2 M NaCl 0,05 I HCl 0,01 M EDTA

0,01 M DDT 0,2% SDS

Fenol, 0,1 M NaCl; 0,1 M tris-HCl, pH 8,0; 0,01 M EDTA bilan to'yintiriladi

Xloroform: izoamil spirti (24:1)

TE-buferi: 10 mM tris-HCl, rN 8,0, 1 mm EDTA

4,5 g seziiy xloridning TE buferda eritmasi.

Etidiy bromid eritmasi 10 mg/ml.

Dializ uchun bufer: 10 mM tris rN 8,0, 1 mm EDTA

2-ish. O'simlik hujayrasidan RNK ajratish.

Material va asbob-uskunalar: 5 g barg, suyuq azot, havoncha, 2 ta 250 ml kolba, 100 ml stakan, 1 m doka, stol sentrifugasi, sentrifuga probirkalari, magnitli aralashtirgich, rezina nokchaga ulangan pipetka, muzlatgich, muz xammomi, spektrofotometr.

Ishni bajarish uchun namuna:

1. 5 g o'simlik materiali suyuq azot yordamida muzlatiladi va havonchada kukun holiga keltiriladi va 250 ml-li tagi yumaloq kolbaga solinadi.

2. 50 ml bufer G solinadi va tez aralashtirib, 4 qavat dokadan o'tkaziladi. 8000 ayl/daq. Tezlikda 10 daqiqa -4°S sentrifugalanadi.
3. Ustki suyuq qismini olib 1/20 hajmi 10% li SDS (oxirgi konsentratsiyasi 0,5%) solinadi.
4. Teng miqdorda suv bilan to'yintirilgan fenol, teng miqdorda xloroform: izoamil spirti aralashmasi (24:1) solinadi va magnitli aralashtirgichlida 20 daqiqa xona xaroratida aralashtiriladi. So'ng sentrifuga probirkalariga solib stol sentrafugasida 2500 g –da 10 daqiqa davomida sentrafugalanadi. Denaturatsiyaga uchragan oqsillar organik suyuqlik va suv qavatlarini o'rtasida interfaza hosil qiladi.
5. Ustki suyuq qismi va interfaza rezina nokga ulangan pipetka yordamida 250 ml kolbaga tortib olinadi va teng miqdorda xloroform solib 10 daq. davomida aralashtiriladi.
6. Sentrifugalanib fazalarga ajratiladi va ustki suyuq qismi toza 100 ml-li stakanga olinib, 1/20 hajm 3 M natriy atsetat va 2 hajm etanol solib 20°S haroratda kecha davomida nuklein kislotalar cho'ktiriladi.
7. Sentrifugalanib, cho'kma -4°S da ikki marta 1-2 ml rN 6, 0,3 M natriy atsetat bilan yuviladi (etanol va DNK dan tozalash uchun)
8. Cho'kma ikki marta tarkibida 0,1 M kaliy atsetat bo'lgan 80%li etanol bilan yuviladi va shu eritmada -20°S da saqlanadi. RNKning miqdorini cho'kmani oldindan quritib, distillangan suvda eritib spektrofotometrda aniqlash mumkin. Olingan eritmaning optik zichligini 260 nm ($103_{260}=40 \text{ mkg/ml}^2$) o'lchanadi. Preparatning tozaligini baholash uchun Uf nurlarining yutilishi spektri o'lchanadi: toza RNK uchun - $03_{260}: 03_{260}=2,0$ bo'lishi kerak.

Bufer eritmalar va reaktivlar:

Bufer G: 0,2 M tris-HCl, pH 8,5; 0,2 M saxaroza; 30 mM magniy atsetat; 60 mM KCl. Eritmalar avtoklavda sterillanib suyuq holda yoki -20°S da muzlatib saqlanadi. Ishlatishdan oldin 1% gacha polivinilpirolidon va 0,31% gacha 2-merkaptotanol qo'shiladi.

Xloroform: izoamil spirti (24:1), suvda to'yintirilgan fenol, 3 M natriy atsetat, 0,1M kaliy atsetat.

Nazorat savollari:

1. Nuklein kislotalar ajratishning qanday usullarini bilasiz?
2. O'simlik bargidan DNK ajratish qanday amalga oshiriladi?
3. O'simlik hujayrasidan RNK ajratish qanday amalga oshiriladi?
4. DNK ajratish uchun foydalaniladigan buferning tarkibi nimalardan iborat?
5. RNK ajratish uchun foydalaniladigan buferning tarkibi nimalardan iborat?

Foydalaniladigan adabiyotlar

1. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
2. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
3. R.M.Artikova, N.A.Xo'jamshukurov "Molekulyar biologiya" fanidan laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy qo'llanma Toshkent.: TKTI.2013.62 b.
4. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan laboratoriya
5. mashg'ulotlari uchun o'quv-uslubiy qo'llanma. Toshkent.: TKTI.2013.20 b.
6. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan amaliy mashg'ulotlar uchun o'quv-uslubiy qo'llanma; Toshkent.: TKTI.2013. 32b.

4-AMALIY MASHG‘ULOT:

DNK replikatsiyasi va oqsillar biosintezi jarayonini molekulyar metodlar orqali o‘rganish.

Mashg‘ulot o‘tkazishdan maqsad. Replikatsiya jarayonini molekulyar darajada tadqiq etish. Oqsil biosintezi molekulyar metodlar yordamida o‘rganish.

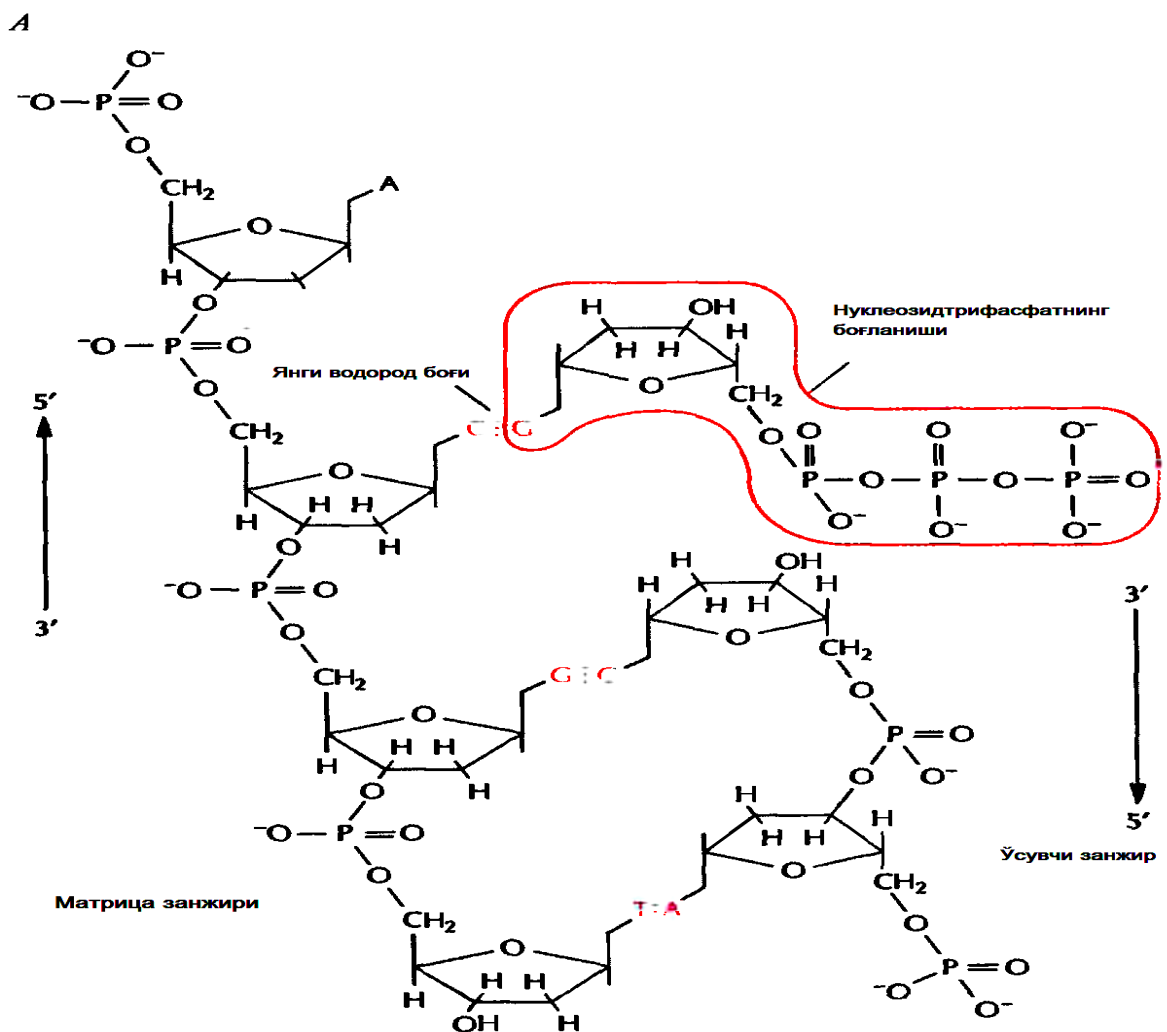
DNK replikatsiyasi - DNK biosintezi-genlar replikatsiyasi, ya’ni organizm belgilarining yuzaga chiqishidir. Geteropolimer bo‘lgan informatsion makromolekulalar genetik informatsiyani o‘zining birlamchi strukturalarida saqlaydi va tashiydi. DNK molekulasida nukleotidlar izchil joylashgan bu informatsiya replikatsiya hamda transkripsiya jarayonida amalga oshadi. Genetik informatsiyaning realizatsiya qilinishi DNK molekulasida nukleotidlar tartibi shaklida yozilgan buyruq (ko‘rsatma)ni oqsil molekulasida sintezida aminokislotalar tartibga aylantirishdan iborat. Informatsiya oqimi quyidagi yo‘nalishda kechadi:

DNK→ RNK→ oqsil→ hujayra→ organizm

Hozirgi zamon biologiyasining asosiy postulati DNK→RNK ni yaratadi, RNK esa oqsilni. DNK ning o‘zi informatsiya xazinasi, u oqsil sintezida

bevosita ishtirok etmaydi. DNK faqat hujayra siklida, bola hujayralar paydo bo'lishidagina ikkita zanjirga ajraladi va bunda har bir zanjirga muvofiq etishmagan komplementar zanjir sintezlanib, bitta DNK molekulasidan ikkita molekula yaratiladi. Bu fundamental jarayon hujayralar bo'linishi, belgilarning nasldan-naslga o'zgarmay o'tish asosida bo'lib, replikatsiya, nusxa olish deb ataladi. Irsiy informatsiya amalga oshirishning ikkinchi bosqichi oqsil sintezini boshqaradigan uch xil RNK molekulalarini sintez qilishidir. Bu jarayon transkripsiya (ko'chirib yozish) deyiladi. Molekulyar biologiyaning "markaziy dogma"si

DNK → DNK → RNK → oqsil prinsipiga muvofiq, informatsiya oqsilga o'tar ekan, uning orqaga qaytmasligi qayd qilinadi.



DNK replikatsiyasi. Komplementar DNK matritsiyasi bilan keyingi dezoksinukleozidtrifosfatning bog‘lanishi.

DNK biosintezi yarim konservativ sintez deb ataladi, chunki har bir bola DNK da faqat bitta ona zanjir saqlanadi. Olingan natijalar replikasiyaning konservativ usulini to‘la inkor qiladi, chunki aks holda, bir bola DNK si ikkala boshlang‘ich zanjirni tutishi, boshqasi esa ikkita yangi sintezlangan zanjirdan iborat bo‘lishi kerak. DNK replikatsiyasi uchun faqat DNK-polimeraza fermentining o‘zi etarli emas. Yigirmadan ortiq replikativ fermentlar va faktorlardan iborat to‘la kompleks DNK-replikaza sistemasi yoki qisqacha replisoma deb ataladi. E.soli hujayralarida ma’lum darajada bir-biridan farq qiladigan uchta DNK-polimeraza mavjud. Ular I, II, III polimerazalar deb belgilanadi. I va III polimerazalar bola zanjirining uzayishini ta’minlashidan tashqari, ekzonukleazalik aktivligiga ham ega, ya’ni DNK molekulasining har ikki uchidan ham oxirgi nukleotidlarni ajrata oladi. E.soli hujayrasida DNK zanjiri elongatsiyasiga asosan III DNK-polimeraza javob beradi. Ribonukleozid trifosfatlardan $5^1 \rightarrow 3^1$ yo‘nalishidagi bog‘lanish *primaza* deb ataladi. RNK zatrovka kalta bir zanjirli RNK bo‘lib, uning 3^1 -uchiga izchilik bilan dezoksiribonukleotid qoldiqlari birikadi. Keyingi vaqtda xar ikkala zanjir xam kalta fragmentlar shaklida sintezlanishi isbotlandi.

Oqsil biosintezi - Transkripsiya jarayoni. Genlar transkripsiyasi RNK xosil bo‘lishiga olib keladi. RNK ning xamma turlari xam yadroda sintezlanadi. DNK matritsasida kechadigan xamma sintezlar DNK da yozilgan axborotga muvofiq amalga oshadi. RNK ning barcha turlari t-RNK, r-RNK va m-RNK sintezlanishida, DNK asoslarning tartibi RNK asoslari tartibini belgilaydi.

Polinukleotid zanjiri faqat ribozonukleotid trifosfatlardan sintezlanadi va bu jarayonda anorgik pirofosfat molekulalari ajralib chiqadi. RNK sintezi bir necha bosqichda bajariladi: a) initsiatsiya (boshlang‘ich), v) polimerizatsiya va z) TERMINATSIYA (tugash). Reaksiyaning boshlanishi uchun maxsus oqsil – sigma faktor tugashi uchun tugatuvchi terminator-kodon ishtirok etadi. Nusxasi olinadigan shu zanjir bo‘yicha polimeraza 5 dan 3 ga tomon yo‘nalib $3 \rightarrow 5$ shaklda

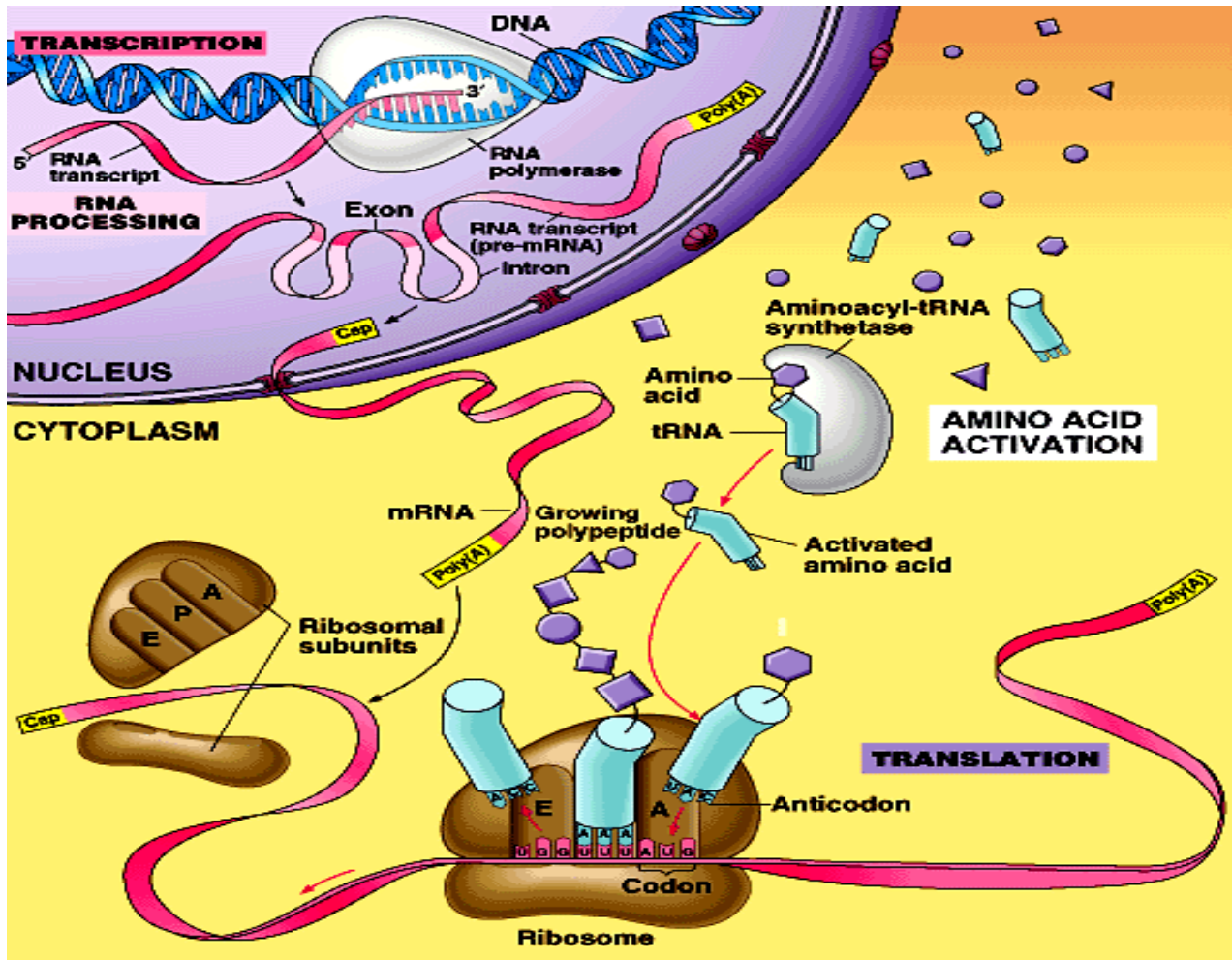
boradigan RNK zanjirini hosil qiladi. DNK matritsasida yangi sintez qilingan mahsulot (RNK molekulalari) *transkript* deb ataladi.

Biron bir ma'lumotni shartli belgilar yordamida ifodalash, odatda, kodlash yoki kod deb ataladi. 1961 yilda Krik genetik kodni matematik analiz qildi. Oqsil molekulasidagi har bir aminokislotani ifodalovchi kod tripletli bo'lib, u Krik ifodasiga ko'ra kodon deb nomlangan.

Oqsil molekulasiga kiradigan aminokislotalar kamida 20 xil bo'lganidan kodonlar soni ham 20 dan kam bo'lishi mumkin emas. Demak 4 ta nukleotidning o'zi yoki ikkita nukleotiddan hosil bo'ladigan $16(4^2)$ kombinatsiya ham etarli emas. Turli tadqiqot va mulohazalardan so'ng kod uch nukleotiddan iborat triplet tabiatga ega ekanligi aniqlandi. Albatta bunda hosil bo'ladigan kombinatsiyalar soni $64(4^3)$, kodirlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko'p ma'lum bo'ldiki, 20 ta aminokislotadan 18 tasi bittadan ortiq (2,3,4 va 6) kodon bilan kodirlanar ekan.

Oqsil sintez m-RNK ni dekodirlash, ya'ni RNK molekulasida to'rt xil asoslarning izchil kelishi yozilgan axborotning 20 xil aminokislotalarning oqsil molekulasida izchil kelish tiliga o'tkazilishidir. Shuning uchun ham bu jarayon translyasiya (tarjima qilish) deyiladi.

Oqsil sintezining bosqichlari. Bu jarayon asosan 5 bosqichda o'tadi. Aminokislotalarning ATF yordamida aktivlanishi va tegishli transport RNK ga ko'chirilishi oqsil biosintezi uchun energetik asos yaratadi.



Rasm. Yuqoridagi rasmda hujayrada kechuvchi oqsil sintezi jarayoni keltirilgan.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

1. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
2. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b

3. R.M.Artikova, N.A.Xo‘jamshukurov “Molekulyar biologiya” fanidan laboratoriya mashg‘ulotlari uchun uslubiy qo‘llanma Toshkent.: TKTI.2013.62 b.
4. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan laboratoriya
5. mashg‘ulotlari uchun o‘quv-uslubiy qo‘llanma. Toshkent.: TKTI.2013.20
6. R.M.Artikova Gen va hujayra injenerligi fanidan amaliy mashg‘ulotlar uchun o‘quv-uslubiy qo‘llanma; Toshkent.: TKTI.2013. 32b.

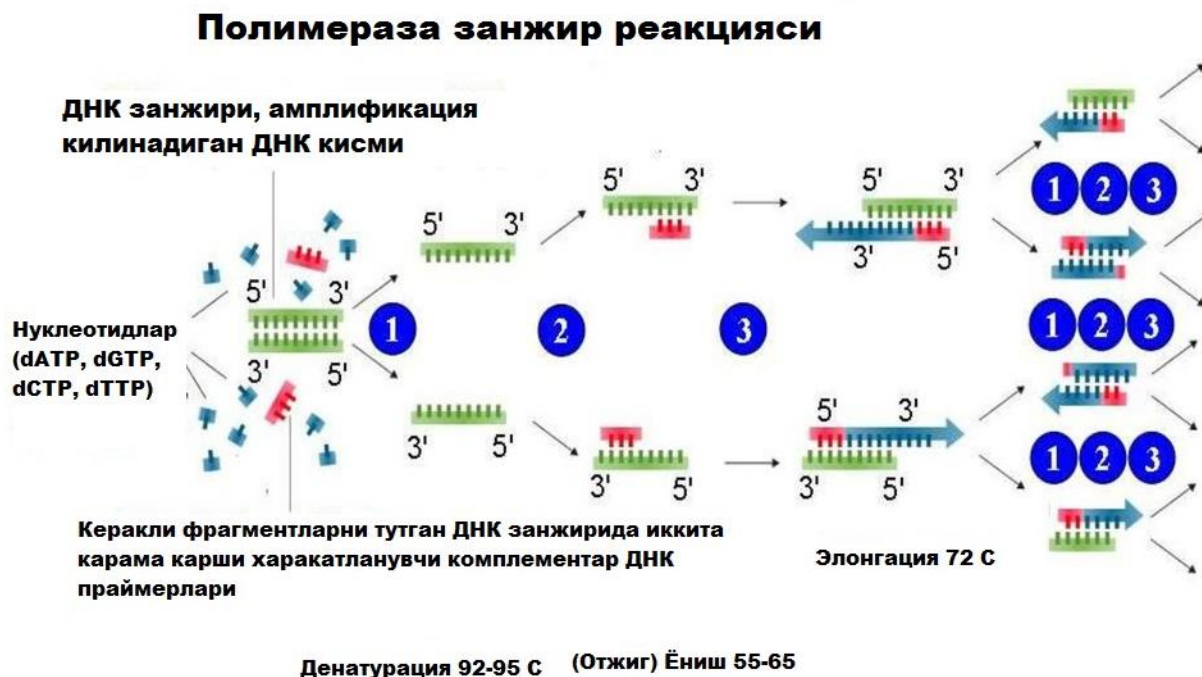
5-AMALIY MASHG‘ULOT:

Polimeraza zanjir reaksiyasi usuli

Ishdan maqsad: DNK fragmentini amplifikatsiya qilishdan iborat.

Polimeraza zanjir reaksiyasi – DNK ning muayyan qismini *in-vitro* muhitda ko‘p marotaba nushtalashtirishga asoslangan. Unda faqat kerakli

bo'lgan DNK bo'lagining nusxalashuvi muhitda spetsifik bog'lanish tekshirilayotgan namuna bo'lsagina ro'y beradi.



DNK fragmentini PZR jarayonida eksponensial ko'payishi aks ettirilgan.

Reaksiya komponentlari. PZRni o'tkazishda quyidagi komponentlar talab qilinadi:

- Matritsa DNK, ya'ni amplifikatsiya qilinishi talab qilinadigan DNK qismini tutadigan molekula;
- Ikkita praymerlar. Talab qilinayotgan DNK fragmenti turli zanjirlarini qarama qarshi uchlariga komplementar bo'lgan praymerlar;
- DNK polimeraza – DNK polimerezatsiyasi reaksiyasini katalizlaydigan ferment. PZR uchun ishlatiladigan polimeraza uzoq vaqt davomida yuqori haroratda aktivligini saqlashi kerak. Buning uchun termofillar - *Thermus aquaticus* (Tag-polimeraza), *Pyrococcus furiosus* (Pfu-polimeraza), *Pyrococcus woesei* (Pwo-polimeraza) va boshqalardan ajratilgan fermentlardan foydalaniladi;
- Dezoksinukleozidtrifosfatlar (dATP, dGTP, dCTP, dTTP);
- PZRda ishtirok etadigan ionlar shu jumladan Mg^{+2} ionlari;

Bufar eritma – u reaksiyani zarur shartlaridan - pH, eritmani ion kuchini ta'minlaydi. Tarkibida tuzlar, buqa zardobi albumini mavjud.

PZR da ishlatiladigan buferlar. Tris-HCl, KCl va Triton X-100 dan iborat bo'ladi.

Denaturatsiya - Unda DNK zanjirlarining ajralishi ikki zanjirlari DNK matritsa 94-96°C 0,5 - 2 daqiqa qizdiriladi. Denaturatsiya bosqichida adenin va timin orsaidagi 2ta, guanin va sitozin rasidagi 3ta vodarod bog'i uziladi, natijada qo'sh zanjir ikkita yagona zanjirga aylanadi.

Yonish (otjig) - Bu bosqichda yagona zanjirga praymer kelib bog'lanishi kerak. DNK zanjirlari ajralgandan so'ng praymerlar ona zanjir bilan bog'lanishi uchun harorat pasaytiriladi. Bu bosqichda harorat praymerlar tarkibiga bog'liq bo'lib bosqichni davom etish vaqti 2-5daqiqa. Haroratni noto'g'ri tanlash ona zanjirga nooto'g'ri bog'lanishi va nospetsifik mahsulotlarni hosil bo'lishiga olib keladi.

Elongatiya - DNK polimeraza tomizg'i sifatida praymerlarni ishlatib matritsa zanjirini replikatsiyalaydi. Bu elongatsiya bosqichidir. Polimeraza ona zanjir bilan bog'langan praymerni 3¹ uchidan boshlab komplementar bola zanjirni sintez qila boshlaydi va ona zanjir bo'ylab xarakatlanadi. Ko'pincha ishlatiladigan Tag va Pfu polimerazalari 72°C da faolroq bo'ladi. Elongatsiya vaqti DNK polimeraza turiga hamda aplifikatsiyalanadigan fragmentning uzunligiga bog'liq. Barcha sikllar tugagandan so'ng final elongatsiya qo'shimcha bosqichi o'tkaziladi. Bu bosqichda bir zanjirli fragmentlarni oxirigacha qurishga xizmat qiladi. O'simlikdan ajratib olingan DNK moleklasidan tadqiqot uchun kerakli bo'lgan *rbcL* genining PZR sini amalga oshirish uchun quyidagi tarkibiy qismlar ishlatildi:

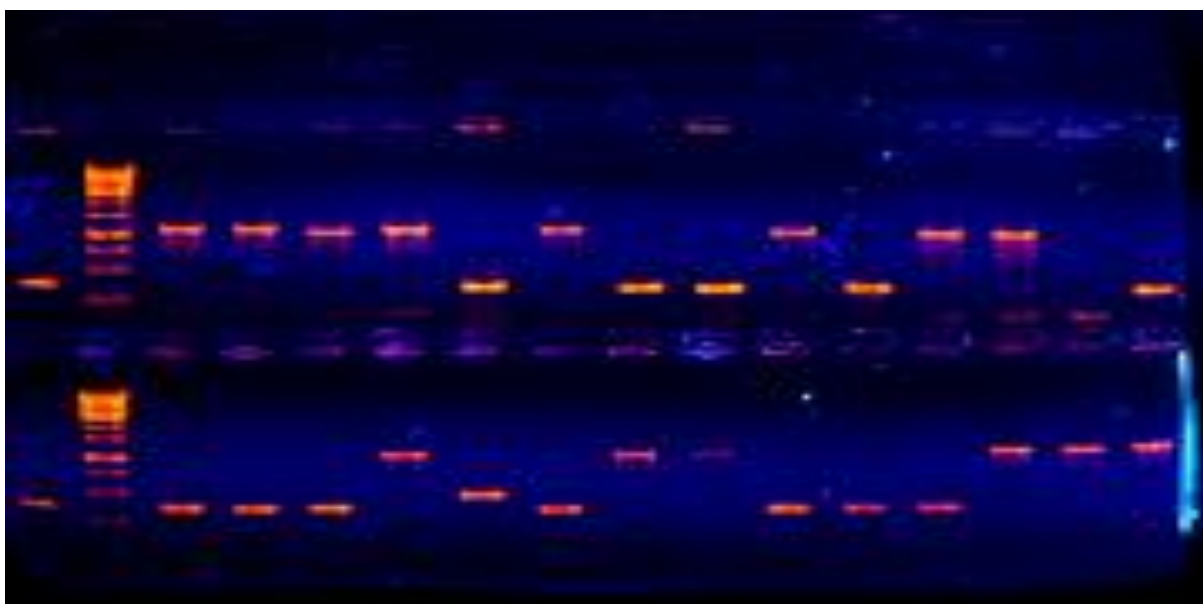
Foydalanilgan reaktivlar:

Tarkibiy qismlar	Miqdori, µL 1 reaksiya uchun
------------------	---------------------------------

DNK matritsa	1
Praymerlar: 10 μ M Forward 10 μ M Reverse	0.1 0.1
DNK polimeraza (Phusion High Fidelity Fisher Scientific #-530 (5U/ μ L)	0.125
10 mM dezoksiribonukleozidtrifosfatlar (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)	0.056
5X HF Buffer (MgCl ₂ ionlari)	2
100% DMSO	0.3
ddH ₂ O	6.32
JAMI	10

rbcL geni amplifikatsiyasi uchun PZR termotsiklik dasturi: boshlang'ich denaturatsiya bosqichi 98°S 40 daqiqa 1 sikl; denaturatsiya 98°S 10 daqiqa, yonish (otjig) 55°S 25 daqiqa va elongatsiya 72°S 35 daqiqa davomida bosqichlar ketma-ket 35 siklda takrorlanadi; yakuniy elongatsiya bosqichi 72°S 10 daqiqa davom etadi. PZR mahsuloti 4°C haroratda saqlandi.

Olingan PZR mahsuloti gel elektrofarez qurilmasida necha juft nukleotidlardan tashkil topganiga qarab fragmentlarga ajratiladi.



8 - Rasm. Olingan PZR mahsuloti gel elektrofarez ko'inishi.

Nazorat savollari:

1. PZR nima?

2. Amplifikatorning ishlash prinsipi nimadan iborat?
3. PCR Real Time qo'llanish sohalari
4. DNK polimerazalar va ularning turlari.
5. DNK fragmentini amplifikatsiya qilish bosqichlari nimalardan iborat?

Foydalaniladigan adabiyotlar

1. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
2. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
3. R.M.Artikova, N.A.Xo'jamshukurov "Molekulyar biologiya" fanidan laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy qo'llanma Toshkent.: TKTI.2013.62 b.

6-AMALIY MASHG'ULOT:

DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash usullari

Ishdan maqsad: DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlashning turli usullari o‘zlashtirishdan iboratdan.

Senger sekvens reaksiyasi usuli

Senger usulidagi sekvens reaksiyasi BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, AQSH) to‘plami yordamida amalga oshiriladi. BigDye to‘plami yordamidagi sekvens prinsipi terminator sifatida fluoressent nishonlangan (fluorescent labelled) nukleotid asoslaridan foydalanish va siklik sekvens reaksiya hisoblanadi.

Har bir gen/region sekvens reaksiyasi uchun praymerlar turli tavsiya qilingan bayonnoma asosida tanlandi hamda reaksiya har bir praymer uchun alohida bayonnoma asosida amalga oshiriladi. Masalan, CBOL Plant Working Group va “Plant DNA barcode project” (2009) tavsiyasi asosida o‘simliklardagi *rbcL* va *matK* genlari hamda *psbB-psbH* regionini sekvens reaksiyasini amalga oshirishda foydalanilgan praymlar jadvalda keltirilgan.

jadval

O‘simliklardagi *rbcL* va *matK* genlari hamda *psbB-psbH* regionini sekvens reaksiyasini amalga oshirishda foydalanilgan praymerlar

Genlar	Praymerlar
<i>rbcL</i>	<i>rbcLa-F</i> 5`-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3` <i>rbcLa-R</i> 5`-GTAAAATCAAGTCCACCRCG-3`
	<i>rbcLa-F</i> 5`-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3` <i>rbcLajf634-R</i> 5`-GAAACGGTCTCTCCAACGCAT-3`
<i>matK</i>	<i>matK-1RKIM-F</i> 5`-ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3` <i>matK-3FKIM-R</i> 5`-CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3`
<i>psbB-psbH</i> regioni	<i>psbB-psbH-F</i> 5`-AGATGTTTTTGTGTTTATTGA-3` <i>psbB-psbH-R</i> 5`-TTCAACAGTTTGTGTAGCCA-3`

rbcL, *matK* genlari va *psbB-psbH* regionining sekvens reaksiyasini amalga oshirish uchun quyidagi tarkibiy qismlar ishlatiladi:

Tarkibiy qismlar	Miqdori, µL 1 reaksiya uchun
Suyultirilgan DNK	2
5x sekvens bufer	1.875
100% DMSO	0.355

10 μ M praymer	1
BigDye	0.250
ddH ₂ O	5.520
JAMI	11

rbcL geni sekvens reaksiyasi uchun termotsiklik dasturi: boshlang'ich denaturatsiya bosqichi 94°S 10 daqiqa 1 sikl; denaturatsiya 94°S 20 daqiqa, otjig 50°S 20 daqiqa va elongatsiya 60°S 4 daqiqa davomida bosqichlar ketma-ket 35 siklda takrorlanadi.

matK geni *matK*-1RKIM-Forward sekvens reaksiyasi uchun termotsiklik dasturi: boshlang'ich denaturatsiya bosqichi 94°S 10 daqiqa 1 sikl; denaturatsiya 94°S 20 daqiqa, otjig 48°S 20 daqiqa va elongatsiya 60°S 4 daqiqa davomida bosqichlar ketma-ket 35 siklda takrorlanadi.

matK geni *matK*-MALP-Reverse sekvens reaksiyasi uchun termotsiklik dasturi: boshlang'ich denaturatsiya bosqichi 94°S 10 daqiqa 1 sikl; denaturatsiya 94°S 20 daqiqa, otjig 50°S 20 daqiqa va elongatsiya 60°S 4 daqiqa davomida bosqichlar ketma-ket 35 siklda takrorlanadi.

psbB-psbH regionini sekvens reaksiyasi uchun termotsiklik dasturi: boshlang'ich denaturatsiya bosqichi 94°S 10 daqiqa 1 sikl; denaturatsiya 94°S 20 daqiqa, otjig 48°S 20 daqiqa va elongatsiya 60°S 4 daqiqa davomida bosqichlar ketma-ket 35 siklda takrorlanadi.

Sekvens reaksiyasi Applied Biosystems Gene Amp 9700 (AQSH) amplifikatoridan amalga oshirishadi.

Sekvens reaksiyasining mahsuloti 4°C haroratda saqlanadi.

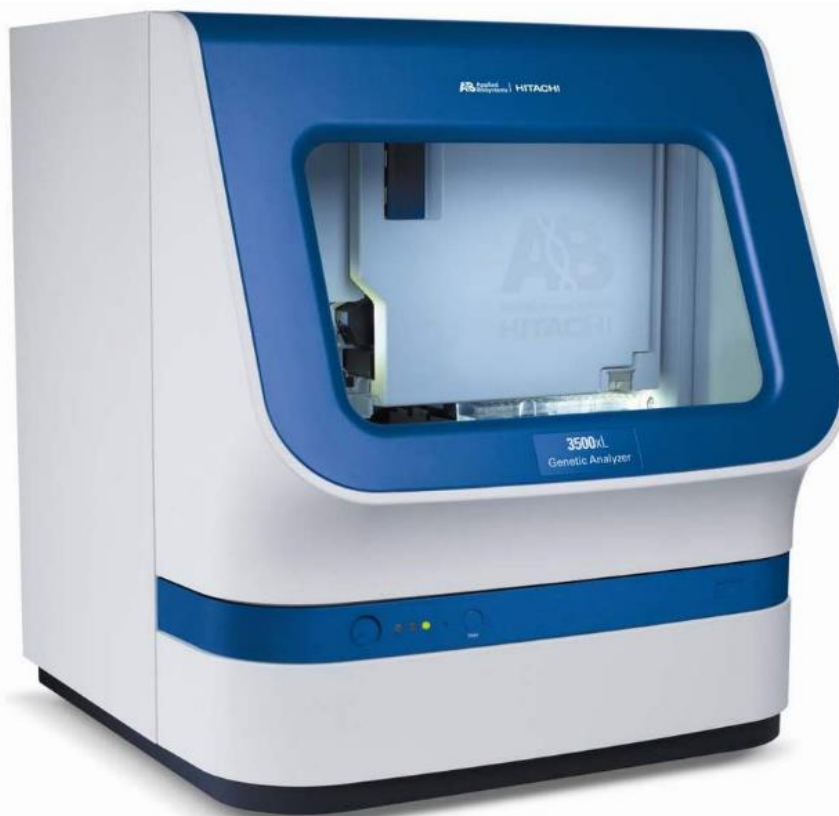
Sekvens reaksiya mahsulotini tozalash usuli

Sekvens reaksiya mahsuloti tuzlar va zanjirga boglanmagan fluorescent nishonlangan terminator nukleotidlardan **BigDye® XTerminator™** Purification Kit (Applied Biosystems, AQSH) to'plami yordamida tozalanadi.

Tozalash tartibi to'plam yo'riqnomasida keltirilgan tartibda amalga oshiriladi.

Sekvens reaksiyasi maxsulotini nukleotidlar ketma-ketligining birlamchi tuzilishini aniqlash usuli

Sekvens reaksiyasi maxsulotini nukleotidlar ketma-ketligining birlamchi tuzilishini aniqlash avtomatik genetik analizatorida amalga oshiriladi.



Sekvens natijalarni bioinformatik dasturlarda tahlil qilish va ma'lumotlar bazasi bilan taqqoslash usullari

Sekvens mahsulotining kapillyarlardagi bo'linishining grafik ko'rinishi ab1 formatidagi fayllarda ifodalanadi. Sekvens natijalar va mazkur fayllardagi ma'lumotlar bilan ishlashda CodonCodeAligner (AQSH) bioinformatik dasturidan foydalaniladi.

So'ngra o'rganilgan har bir gen/regionlarning aniqlangan nukleotidlar ketma-ketligi National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) va European Nucleotide Archive

(<https://www.ebi.ac.uk>) saytlaridagi BLAST ma'lumotlar bazasi bilan taqqoslaniladi.

Nazorat savollari:

1. DNK nukleotidlar ketma-ketligini aniqlashning turli usullari.
2. DNKni sekvenirlash usullarining mohiyati nimadan iborat?
3. Senger sekvens usulining bosqichlari
4. Zamonaviy sekvenator qurilmasining ishlash prinsipi nimaga asoslangan?

Foydalaniladigan adabiyotlar

1. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
2. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2013.-223b
3. R.M.Artikova, N.A.Xo'jamshukurov "Molekulyar biologiya" fanidan laboratoriya mashg'ulotlari uchun uslubiy qo'llanma Toshkent.: TKTI.2013.62 b.

Ko'chma mashg'ulot mavzusi

1. Rekombinant DNKlar texnologiyasi.
2. Polimeraza zanjir reaksiyasi usuli
3. *O'zR FA Ilmiy tadqiqot institutlari va Ilg'or texnologiyalar markazida olib boriladi*

V. KEYSLAR BANKI

«Keys-stadi» (Case-study) – modellashtirilgan va real vaziyatlarni echish va muxokama qilish uchun taxlillarga asoslangan, o‘qitish tizimi. “Keys-stadi” metodi o‘ziga individual, guxux va kollektiv rivojlanish o‘z ichiga olgan, rivojlanayotgan o‘qitish texnologiyasini integratsiyalaydi, bu esa o‘qitilayotganlarni shaxsiy sifatlarini shakllantiradi.

“Keys-stadi” metodi deganda o‘qitishning aktiv metodi tushuniladi, bunda o‘quvchilar guruxida vazifani muxokama qilishni o‘qituvchi tomonidan tashkillashtirishiga asoslanadi, bu vazifa o‘zida ma’lum yoki noma’lum aniq bir vaziyatni ifodalaydi.

Keysni muxokama va analiz qilishda “aqliy xujum” nomini olgan g‘oyalar ishlab chiqish metodi muxim o‘rin egallaydi. O‘qitish jarayonida “aqliy xujum” metodi ishtirokchilarning ijodiy faolligini rivojlantirishda muxim o‘rin egallaydi. “Aqliy xujum” 3 bosqichni o‘z ichiga oladi.

Birinchi bosqich psixologik tinch xolatga kirish, odatiy xolatni, kulgili va omadsiz ko‘rinishdan qo‘rqishni rad etishni o‘zida aks ettiradi; bunga qulay psixologik sharoit va o‘zaro ishonchni yaratish orqali erishiladi, fikrlar o‘z muallifligini yo‘qatganida, umumiyga aylanadi. Bu bosqichning asosiy vazivasi – tinchlantirish va erkin xolatga o‘tish.

Ikkinchi bosqich – bu xujumni o‘zi; bu bosqichning vazifasi – fikrlar oqimi, ko‘chkisini xosil qilish; bu bosqichda “aqliy xujum” qayidagi prinsiplar asosida amalga oshiriladi:

- fikr bo‘lsa – gapiraman, fikr bo‘lmasa – jim o‘tirmayman;
- istalgan fikr rag‘batlantiriladi, qanchalik kutilmagan fikr bo‘lsa, shuncha yaxshi;
- taklif qilingan fikrlar iloji boricha ko‘p bo‘lishi kerak;
- bildirilgan xamfikrlarni istalgancha birlashtirish, o‘zgartirish va yaxshilashga ruxsat etiladi;

- tanqid qilinmaydi, istalgan fikrni, yomon deb tan olishlaridan qo‘rqmasdan bildirish mumkin, tanqid qiluvchilarga so‘z berilmaydi;
- ishtirokchilarning ijtimoiy xolatining hech qanday axamiyati bo‘lmaydi, bu absolyut demokratiya va bir vaqtning o‘zida fikrlar avtoritarizmidir;
- barcha fikrlar - fikrlar ro‘yxati bayonnomasiga yozib boriladi;
- so‘zlash vaqti – 1-2 daqiqadan oshmaydi.

Uchinchi bosqich quyidagi qoidalar bo‘yicha, muammoni konstruktiv echimini topish uchun fikrlarni ijodiy taxlil qilishni o‘zida aks ettiradi:

- barcha fikrlarni hech birini kamsitishsiz tahlil qilish;
- fikrga tizimdan mos joy topish va fikrga mos tizim topish;
- mohiyatni kerak bo‘lmaganda oshirmaslik;
- olingan natijaning go‘zallik va nafisligi buzilmasligi lozim;
- mutlaqo yangi qarash bo‘lishi kerak («axlatdagi dur»).

“Keys-stadi” metodi bo‘yicha vazifa.

Mavzu: “Case-study – pedogog faoliyatining zamonaviy quroli”

Maqsad: Keys metodini qo‘llash orqali pedogogning professional maxoratini takomillashtirish zaruratiga ishonitirishni dolzarblashtirishga sharoit yaratish.

Vazifalar: 1. Keys-stadi interaktiv metodini pedagogning professional maxoratini takomillashtirishdagi axamiyatini aniqlash.

2. O‘rganilayotgan metodni o‘ziga xosligi va uni professional o‘qitishni tashkillashtirish shartlarini aniqlash.

3. Pedagogik faoliyatga keys - stadini kiritish jarayonini modellashtirish.

O‘qitishning samaradorligi:

- ishtirokchilar keys metodining o‘z faoliyatini takomillashtirish uchun interaktiv ta’siri xaqida fikrga ega bo‘lishadi;

- kuzatuv, tajriba, o‘ylash yoki fikrlardan olingan ma’lumotni tushunish, baxolash, taxlil va sintez qilishga tanqidiy yondashadilar, bu keyingi xarakatlarga asos bo‘lib xizmat qiladi.

Muvaffaqiyat me’zonlari:

- pedagogik maxoratni oshirishning zaruratini tushunish;
- boshqarish strategiyasini isloh qilish zarurligida o‘ziga ishonchni shakllantirish;
- professional mahoratni oshirish doirasida keys metodi xaqidagi ma’lumotga ega bo‘lish;
- amaliyotda o‘quv jarayonini boshqaruvida ushbu interaktiv metodni qo‘llashning muximligini isbotlay olish;
- o‘quv-metodik faoliyatni zamonaviy asbobi (instrument) keys-stadi orqali rejalashtirish qobiliyati.

Asosiy g‘oya: Case-studyinteraktiv metodining mohiyati. Pedagogning o‘zini takomillashtirishi uslubiy xamkorlikni samaradorligini oshirishga imkon beradi.

Resurslar, materiallar va uskunalar :Flipchart, markerlar, stikerlar, qog‘oz varaqlar, proektor va “Keys-stadi – interaktiv xamkorlik texnologiyasi” mavzusida taqdimot.

I-Bosqich. Muammoga sho‘ng‘ish

Salomlashish. Vizualashtirish

Xurmatli xamkasblar!

Kelinglar o‘zimizni tanishtiramiz va tanishib olamiz.

Tashrif qog‘ozi sifatida rangli qog‘ozlar ishlatish taklif qilinadi. Tashrif qog‘oziga o‘z ismingizni yozib flichartga yopishtiring. (rangli qog‘ozlar keyingi rotatsiya uchun kerak)

Muammoni aktuallashtirish.

“Qora quti”

Hurmatli xamkasblar!

Sizni qarshingizda mashxur qora quti. Nima deb o‘ylaysiz?: qora quti bilan qanday savol xamroxlik qiladi? (ishtirokchilar javoblari)

Taxminiy javob: Qora qutida nima bor?

- Bu odatiy javob, lekin biz boshqa yo‘ldan boramiz.
- Aytingchi qora qutini nima bilan bog‘lasa bo‘ladi?
- Odamni qora quti bilan bog‘lasa bo‘ladimi? Nima uchun?

Taxminiy javob: insonni fikrlash jarayoni shunday tuzilganki, inson miyasida qanday fikr, g‘oyalar borligini hech kim bilmaydi. Bu xam aslida qora quti: o‘zining topishmoqlari bor, oldindan aytib bo‘lmaydi, o‘ziga xos.

Biz uni faqat tadqiq qilishimiz mumkin: ushlab ko‘rib, eshitib, og‘irligini...

- Agar ta’lim va pedagogning faoliyatiga bevosita e’tibor qaratiladigan bo‘lsa, o‘zaro ta’sir jarayonini ko‘r-ko‘rona boshqarishga to‘g‘ri kelishini aniq ko‘rish mumkin...

Xulosa: Bizning pedagog sifatida vazifamiz, xar bir o‘quvchining salohiyati va professional jamoadagi konstruktiv xamkorlikka qiziqishini o‘rganishdir.

Qora quti va uni ichida nima borligi to‘g‘risidagi savolga qaytishimiz, uni ichida nima borligini bilishimiz mumkinmi? Uni ochib ko‘rishimiz mumkinmi?

Agar inson to‘g‘risida gaplashsak, uni o‘z fikrlarini bayon qilishiga ko‘ndirish uchun nima qilish kerak?

Xulosa: Ishonch – katta kuch. Buning uchun boshqa insonlar kabi o‘z fikrlarini bayon qilish uchun manfaatdor bo‘lishi kerak: ma’naviy, jismoniy, va moddiy.

Biz o‘z ish tizimimizni shunday qurishimiz kerakki, bunda xar bir pedagog o‘z faoliyatini taqdimotidan manfaatdor bo‘lishi kerak. Bunga erishish uchun xozirgi tez o‘zgarayotgan zamonda doimiy o‘z ustimizda ishlashimiz lozim.

Muxokama qilish uchun savollar.

- Buning uchun nima qilish kerak? Ish tizimini qanday yaratish kerak?
- Avvalo, stereotiplardan qutulish kerak, faoliyatni yangi shakl, metod va usullar bilan innovatsion rejimda rejalashtirish kerak.

Sizlarga o‘quv-metodik faoliyatning bir yo‘nalishini ko‘rib chiqishni taklif qilaman.

Ish tizimi taqdimoti.

Biz shartli ravishda ish shakllarini 3 guruxga bo'ldik:

An'anaviy (oldindan belgilangan)

Innovatsion (zamonaviy shakllar, faoliyatning zamonaviy quroli sifatida keng foydalaniladi)

Taxrirlangan (shakllantirilgan) (bu guruxga keng qo'llanilmaydigan shakllarni kiritdik)

Keling metodik faoliyatning yorqin shakllaridan bo'lgan – Keys-stadi metodiga to'xtalamiz. Lekin, taqdimotga o'tishdan avval muammoli savol beramiz:

- Ba'zida noxush voqealar sodir bo'ladi: testlar va normativlar vaqtida topshirilmaydi, vazifalar noto'g'ri bajariladi, ishda qatnashishdan bosh tortiladi, loyixalarni amalga oshirishda pand beradi... va x.k. Va xar doim baxona topiladi. Aybdor o'z qadrini tushirmagan xolda o'z aybini tan olishi uchun nima qilish kerak?

Taxminiy javob: unda hamdardlik bildira oladigan vaziyatga sun'iy ravishda tushirish kerak.

Xulosa. Keys texnologiyasining mohiyati aynan shunga asoslanadi.

1-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – DNK va RNKning hujayradagi roli o'rganish.

Genlar transkripsiyasi RNK hosil bo'lishiga olib keladi. RNK ning hamma turlari yadroda sintezlanadi. DNK matritsiasida kechadigan hamma sintezlar DNK da yozilgan axborotga muvofiq amalga oshadi. RNK ning barcha turlari tRNK, rRNK va mRNK sintezlanishida, asoslarning komplementar bo'lishi prinsipiga binoan, DNK asoslarining tartibi RNK asoslari tartibini belgilaydi.

Polinukleotid zanjir faqat ribozonukleotid trifosfatlardan sintezlanadi va bu jarayonda anorganik pirofosfat molkulalari ajralib chiqadi. RNK sintezi bir necha bosqichda: a) initsiatsiya (boshlang'ich), v) polimerazatsiya va z) terminatsiya (tugash).

DNK replikatsiyasi. DNK biosintezigenlar replikatsiyasi, ya'ni organizm belgilarining yuzaga chiqishidir. Geteropolimer bo'lgan informatsion makromolekulalar genetik informatsiyani o'zining birlamchi strukturalarida saqlaydi va tashiydi. DNK molekulasida nukleotidlar izchil joylashgan bu informatsiya replikatsiya ham transkripsiyada amalga oshadi. Genetik informatsiyaning realizatsiya qilinishi DNK molekulasida nukleotidlar tartibi shaklida yozilgan buyruq (ko'rsatma)ni oqsil molekulasi sintezida aminokislotalar tartibga aylantirishdan iborat. Informatsiya oqimi quyidagi yo'nalishda kechadi:

DNK → RNK → oqsil → hujayra → organizm

Hozirgi zamon biologiyasining asosiy postulati DNK RNK ni yaratadi, RNK oqsilni. DNK ning o'zi informatsiya xazinasini, u oqsil sintezida bevosita ishtirok etmaydi. DNK faqat hujayra siklida, bola hujayralar paydo bo'lishidagina ikkita zanjirga ajraladi va bunda har bir zanjir muvofiq etishmagan komplementlar zanjir sintezlanib, bitta DNK molekulasidan ikkita molekula yaratiladi. Bu fundamental jarayon hujayralar bo'linishi, belgilarning nasldan-naslga o'zgarmay o'tish asosida bo'lib, replikatsiya, nusxa olish deb ataladi. Irsiy informatsiya amalga oshirishning ikkinchi bosqichi oqsil sintezini boshqaradigan uch xil RNK molekulalarini sintez qilishidir. Bu jarayon transkripsiya (ko'chirib yozish) deyiladi. Molekulyar biologiyaning "markaziy dogma"si

DNK → DNK → RNK → oqsil prinsipiga muvofiq, informatsiya oqsilga o'tar ekan, uning orqaga qaytmasligi qayd qilinadi

Gen muhandisligi fermentlari. Gen muhandisligi fermentlari DNK molekulalari bilan turli xil muolajalarni o'tkazishga yordam berib, ularni tegishli joyidan qirqish, turli xil bo'laklarini ulash, tabiatda mavjud bo'lmagan yangi xildagi ketma-ketliklarni sintez qilishda qo'llaniladi. quyida gen muhandisligida foydalaniladigan asosiy fermentlarni ko'rib chiqamiz.

DNK polimerazalar. Gen muhandisligida keng qo'llaniladigan fermentlardan biri Ecoli ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimeraza I

hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukletidlarni biriktirish yo‘li bilan DNK zanjirining 5' -3' yo‘nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjirni hosil qilish: bir zanjirli matritsa –DNK siga qo‘shilganda praymer ishtirokida ikki hissa ortishida kuzatiladi. Bu xususiyat kDNK-bibliotekalarini tuzishda qo‘llaniladi. DNK polimeraza DNK zanjiridagi “bo‘shliq” larni to‘ldirishda ham foydalaniladi, masalan, 5'- uchli bo‘laklarni tegishli tartibda ulanishida ham ishtirok etadi. DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo‘lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo‘llaniladi.

Ba’zi viruslardan RNK ga bog‘liq DNK polimeraza, ya’ni teskari transkriptaza yoki *revertaza* deb nomlanuvchi maxsus DNK polimeraza ajratib olingan. Revertazalar DNK ning komplementar zanjirini matritsa RNK sida ham sintezlay oladi. Reveratazalar yordamida kDNK-mRNK ning DNK nusxalarini olish mumkin. kDNK genlarining tuzilishini o‘rganish bu genlarning genomdagi to‘liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

Har bir tirik organizmda nuklein kislotalarning har ikki turi-ribonuklein kislota (RNK) va dezoksiribonuklein kislota (DNK) mavjud. Faqat viruslar bularning bir turini, yo DNK, yoki RNK ni tutadi. Nuklein kislotalar oqsillar bilan birga hayotning moddiy asosini tashkil qiladi.Ular bir-biri bilan har tomonlama uzviy bog‘liq, ammo ularning hujayradagi o‘rni va funksiyasi tubdan farq qiladi:oqsillar assosan qurilish va hujayraning ishchi organlari materiali, nuklein kislota esa informatsion material, u organizmning tuzilishi, o‘sishi, rivojlanishiga tegishli axboratning saqlanishi,takrorlanishi, almashinuvi va nasldan-naslga o‘tishini ta’minlaydi

1. RNK irsiy axborotni o‘zida tashishi mumkinmi? Agar mumkin bu jarayon qanday amalga oshadi?

2. Hujayrada DNK sintezi amalga oshadimi, Agar sintezlansa qanday qanday amalga oshadi?.

3. Restriktaza fermenti nuklein kislotalarni kesadimi? Agar kessa bu qanday amalga oshiriladi?

4. DNK bilan RNKning farqi nimada? Farqiniko'rsating

2-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad –Genetik kod, genmuxandisligimoddiy asoslarixaqidama'lumot berishdir.

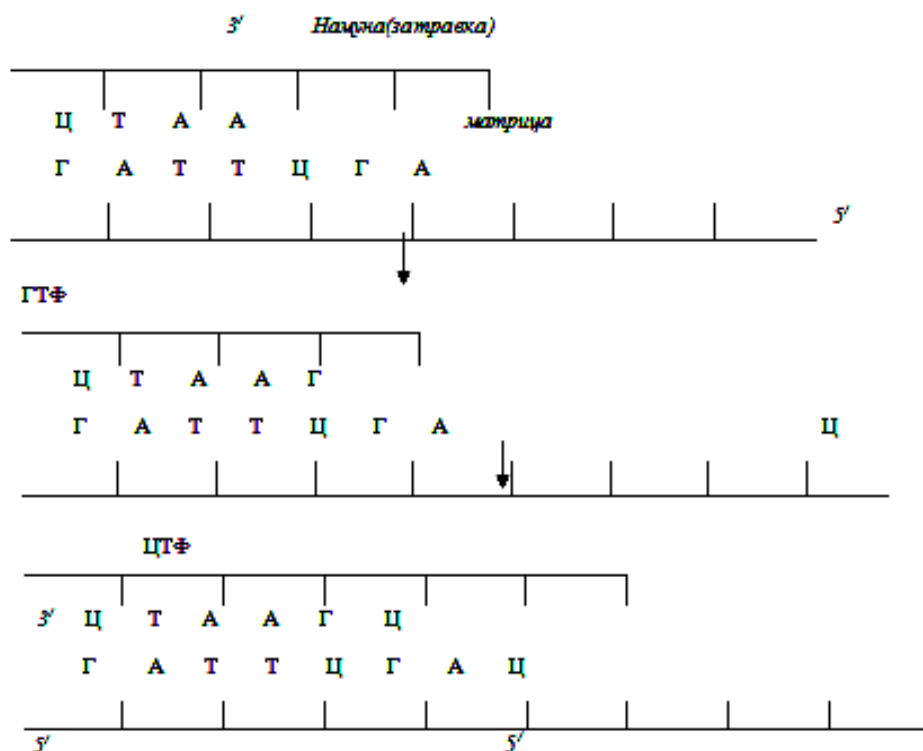
4 xil nukleozidtrifosfat (dATP, dGTP, dTTP, dSTP) bo'lish shart. Birorta nukleozidtrifosfat etishmasa reaksiya bormaydi. Difosfatlar yoki monofosfatlar ishtirokida DNK sintezi reaksiyasi amalga oshmaydi.

2. Bu reaksiya, albatta oz miqdorda tayyor holdagi namuna (zatravka) ishtirok etishni talab qiladi. Bu reaksiyada DNK «nusxa» vazifasini bajaradi. Yangi sintezlanayotgan DNK tarkibidagi nukleotidlarning ketma-ket joylashishi –nusxa DNK tomonidan belgilanadi. DNK sintezida ionlar ham ishtirok etadi. Namuna bilan matritsa zanjirining yo'nalishi antiparalleldir.

Navbatdagi, nukleotid DNK-polimeraza uchun substratdir, reaksiyaga yuqori energetik aktivlangan formada kirishadi. Polimerizatsiya namunaning 3' - tomonidan o'sib boradi, ya'ni sintez 3' 5' yo'nalishda boradi. 3' - ON - gruppasi navbatdagi dezoksiribonukleozid trifosfatning komplementar bo'lgandagi - fosfat bilan reaksiyaga kirishib, trifosfatni hosil qiladi. Trifosfatni hujayradagi trifosfataza fermenti parchalab yuboradi.

SHunday qilib, DNK – polimeraza fermenti ishtirokida, namuna matritsaga antiparallel holatda o'sib boradi va ma'lum vaqtdan so'ng qo'sh spirali struktura hosil qiladi.

DNKning matritsali sintezi



Eukariot hujayralarda DNK – polimerazalarni 3 ta tipii ma’lum: α , β , γ . Hujayradagi DNKning replikatsiyasi asosan polimeraza - α ishtirokida boradi, reparatsiya – polimeraza – β , mitoxondriyada DNKning replikatsiyasi polimeraza – γ ishtirokida boradi.

Genetik kod universaldir. Hamma organizmlarda-eukariotlarda, prokariotlarda va viruslarda ham barcha kodonlar uchun birday belgilardan foydalaniladi.Binobarin,genetik kod dunyoda hayot paydo bo’lgandan beri o’zgarmay hukmronlik qilmoqda.Bunga 3mlrd yil bo’ldi.Ammo eng keyingi yillarda bu dogmaga bir oz o’zgartirish kiritishga to’g’ri keldi.Mitoxondriyalarning genetik sistemasi ma’lum biologik kodga to’la to’g’ri kelmadi.Uning DNKsi (15669 nukleotid) ning ayrim genlari nukleotid tartibi

polipeptidlarning aminokislota tartibi bilan solishtirilganda koddan chetlashishlar mavjud ekanligi aniqlandi. Lekin bu ajoyib fenomenning kelib chiqishi va ma'nosi hali tushunilgani yo'q.

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, bir xil aminokislotalarni ifodalovchi tripletlar bir-biriga o'xshash bo'ladi. Masalan: valin aminokislotasini ifodalovchi tripletlarning barchasi GU dipleti, Alaninni ifodalovchi tripletlar GS dipleti bilan boshlangan bo'ladi.

U axborotni to'g'ri o'qishga xiloflik kilmaydi, balki replikatsiya yoki transkripsiya jarayonida paydo bo'lishi mumkin bo'lgan xatolarni chetlatishga yordam beradi.

Genetik kod lo'g'ati

Триплетнинг 1-харфи	Триплетнинг 2-харфи				Триплетнинг 3-харфи
	У	Ц	А	Г	
У	УУУ] фен УУЦ] УУА] лей УУГ]	УЦУ] сер УЦЦ] УЦА] УЦГ]	УАУ] тир УАЦ] УАА] терм- назорлар УАГ]	УГУ] цис УГЦ] УГА] термонат УГГ] трп	У Ц А Г
Ц	ЦУУ] лей ЦУЦ] ЦУА] ЦУГ]	ЦЦУ] про ЦЦЦ] ЦЦА] ЦЦГ]	ЦАУ] гис ЦАЦ] ЦАА] глу ЦАГ]	ЦГУ] арг ЦГЦ] ЦГА] ЦГГ]	У Ц А Г
А	АУУ] илей АУЦ] АУА] мет АУГ]	АЦУ] тре АЦЦ] АЦА] АЦГ]	ААУ] асп ААЦ] ААА] лиз ААГ]	АГУ] сер АГЦ] АГА] арг АГГ]	У Ц А Г
Г	ГУУ] вал ГУЦ] ГУА] ГУГ]	ГЦУ] ала ГЦЦ] ГЦА] ГЦГ]	ГАУ] асп ГАЦ] ГАА] глу ГАГ]	ГГУ] гли ГГЦ] ГГА] ГГГ]	У Ц А Г

Genetik kod universaldir. Barcha organizmlarda – eukariotlar, prokariotlarda va viruslarda ham barcha kodonlar uchun birday belgilardan foydalaniladi. Barcha kodon uchta nukleotiddan (tripletdan) iborat. YOnma-yon turgan kodonlar bir-birini qoplamaydi, ya'ni birinchi kodonning oxirgi nukleotidi undan keyingi kodonning boshlang'ich nukleotidi bo'la olmaydi. Informatsiya ma'lum nuqtadan boshlanadi.

Bir xil aminokislotalarni ifodalovchi tripletlar bir-biriga o'xshaydi. Aminokislotalar kodi lug'atida, kodirlanayotgan oqsil informatsiyasi i-RNKda yozilgan buladi.

Kodonlar 5' → 3' yo'nalishda o'qiladi.

Kodonlardagi uchinchi azot asos, birinchi va ikkinchi azot asoslariga qaraganda kamroq spetsifiklikka egadir. Metionin aminokislotasini ifodalovchi kodon 1 ta bo'lib, initsirlovchi kodondir. Ahamiyat berib qaralsa, metionin va triptofandan tashqari karyib hamma aminokislotalar bittadan ortiq kodonlarda ifodalanadi.

DNKdagi aminokislotalar kodi shunday yozilganki, u i-RNKdagi kod so'zlariga komplementar bo'lib antiparalel holatdir, ya'ni T qoldig'iga A koldig'i komplementardir va A koldig'ining holati U qoldig'iga komplementardir.

Masalan: Metionin uchun: iRNK va DNK kodonlar quyidagi holatda ko'rinadi:

iRNK(5) AUG(Z)

DNK (3) TATS

Odatda kodonlar va antikodonlar 5 — > 3, chapdan o'ngga qarab yoziladi.

Plazmidalar Bakteriya va tuban eukariot organizmlar hujayralarida asosiy xromosomadan tashqari, kichik o'lchamga ega bo'lgan xalqasimon yoki chiziqsimon strukturaga ega bo'lgan qo'shimcha xromasomalar mavjuddir bu mini-xromosomalar plazmidlar deb ataladi. Plazmid DNKasi ko'pi bilan 3-10 tagacha genlarni o'zida saqlaydi. Bu genlar, asosan antibiotik yoki zaharli toksinlarni parchalovchi fermentlarni sinteziga javobgardir. Shu tufayli plazmidlar bakteriya, achitqi va zamburug'larning antibiotik va zaharli toksinlarga chidamliligini ta'minlaydi.

Plazmidning antibiotik parchalovchi genlari bir plazmidan ikkinchisiga transpozonlar bilan birikkan holatda ham ko'chib o'ta oladi. Bu molekulyar jarayon kasal chaqiruvchi mikroblarning antibiotiklarga chidamliligini nixoyatda oshiradi. Plazmidalar o'z xususiyatiga ko'ra ikkiga bo'linadi. Birinchisi

transpozon yoki bakteriofag irsiy molekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasining maxsus DNK izchilligini kesib, rekombinatsiya bo'la oladigan plazmidlar. Bunday rekombinatsiyalanuvchi plazmidlar transmissibl, ya'ni nasldan-naslga o'tuvchi plazmidlar deb ataladi. Transmissibl plazmid asosiy xromosomaga birikkandan keyin o'z mustaqilligini yo'qotadi. Asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikatsiya qila olmaydi. Ayni paytda bunday plazmidlarda joylashagan genlar asosiy xromosomada o'z faoliyatini bajaradi. Hujayra bo'linganda rekombinatsiyalanuvchi plazmid genlari asosiy xromosoma genlari birikkan holda nasldan-naslga beriladi. Ikkinchi toifa plazmidlar avtonom holda replikatsiyalanuvchi plazmidlar deb ataladi. Bunday plazmidlar asosiy xromosomaga birika olmaydi, asosiy xromosomalardan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikatsiya yo'li bilan o'nlab va hatto yuzlab marta ko'paytira oladi. Avtonom plazmidlar bakteriya yoki zamburug' bo'linganda qiz hujayralar orasida tasodifiy ravishda taqsimlanadi. SHu bilan birga avtonom plazmid bir hujayradan ikkinchisiga hujayra qobig'i va membranasining teshiklaridan o'ta oladi.

Gen injenerligining poydevori - *rekombinat DNKlar texnologiyasi* — genetik strukturalarni birga ko'shish texnikasi — molekulyar biologiyaning eng muxim yutuklaridandir. Bu texnologiyadan foydalanib, zarur mahsulot (oqsil) ni kodirlaydigan DNK molekulasi piiiig kichik bir kismi — genni kesib olish, uning yot gen bilan kombinatsiyasini yaratish, so'ngra bu yangi genomni munosib hujayralarga kiritib xo'jayin-xujayra DNK sining sintez mexanizmi yordamida ko'p martalab ko'paytirish mumkin.

1. DNK polimeraza reaksiyalarni katalizlaydimi? Uning qanday hususiyatlari bor?

2. Genetik kod universalmi? Agar universal bo'lsa sababalarini ko'rsating.

3. Plazmidalarni gen muxandisligida qo'llash mumkinmi? Mumkin bo'lsa qanday qo'llash mumkin?

4. Turli organizmlar DNKsini birlashtirish mumkinmi? Mumkin bo'lsa qanday

DNK-polimeraza ishtirokida katalizlanadigan reaksiya bir qancha o'ziga xos xususiyatlarga ega:

Reaksiya nukleozidtrifosfatlar ishtirokida boradi.

3-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – gnlarni klonlash uchun foydalaniladigan vektorlar, fermentlarning rekombinant DNK olishdagi rolini o'rganish.

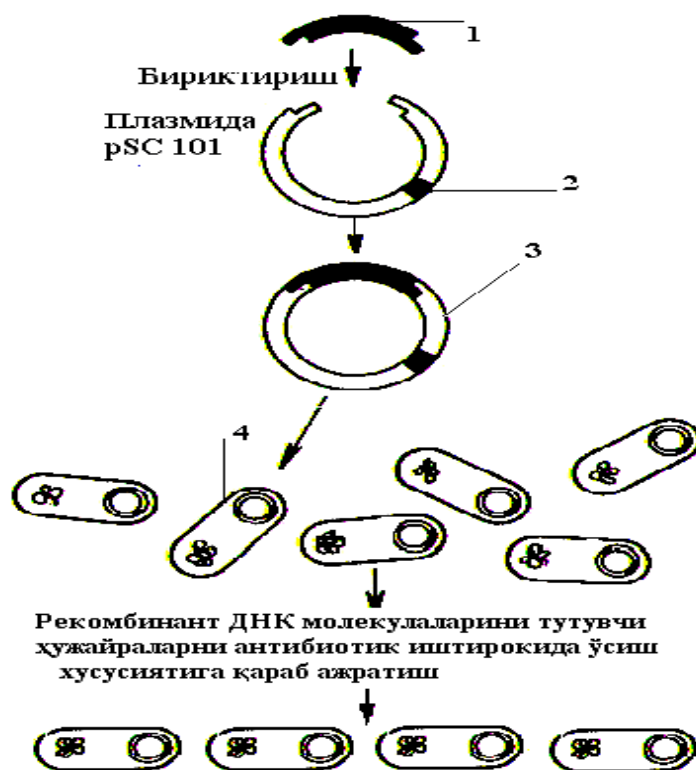
Begona DNKning replikatsiyasi, ekspressiyasi va transformatsiyasini (boshqa organizmga ko'chishini) ta'minlovchi DNK molekulasini *vektor* deb ataladi. Vektor hujayraga qo'shimcha irsiy axborot kiritilishini amalga oshiradi. Vektor sifatida plazmidalar, bakteriofaglar, mobil elementlar va hayvonlarning viruslaridan foydalanish mumkin. Hozirgi vaqtda juda ko'p vektorlar yaratilgan bo'lib, ularni bir nechta tipga bo'lish mumkin:

1. Klonlash uchun vektorlar. Bunday vektorlarga biriktirilgan DNK fragmentlarni replikatsiyalash orqali soninini (amplifikatsiyasi) ko'paytirish uchun foydalaniladi. Bunday maqsadlar uchun bakteriya plazmidalari va faglar qo'llaniladi. Genomning katta o'lchamdagi fragmentlarini klonlash uchun esa bakteriya va achitqi xromosomalari asosida yaratilgan (VAS va YAC) sun'iy vektorlaridan foydalaniladi.

2. Ekspression vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligi aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Ko'p sonli ekspression tizimlar, ayniqsa prokariot organizmlar uchun mavjud. Shuningdek sut emizuvchilar, o'simliklar va achitqilar hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan.

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Retsipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda

genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo‘lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo‘lib, ko‘pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspression vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan. Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo‘lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani haqida ma’lum qiluvchi fenotip berishi ya’ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo‘lishi kerak. Ko‘pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNKsidan tashqari, ko‘p nusxada xalqasimon DNK molekulalari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekulalar *plazmidalar* deb ataladi. Ba’zi plazmidalar tarkibida antibiotikka chidamlilik genlarini tutadi. Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973 yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan. Tajribalar uncha katta bo‘lmagan (~9 m.n.j.), tetratsiklinga chidamlilik geni tutuvchi E.coli plazmidasi pSC 101 da olib borilgan.



DNK fragment-larini plazmidalar yordamida klonlash bo‘yicha tajriba sxemasi.

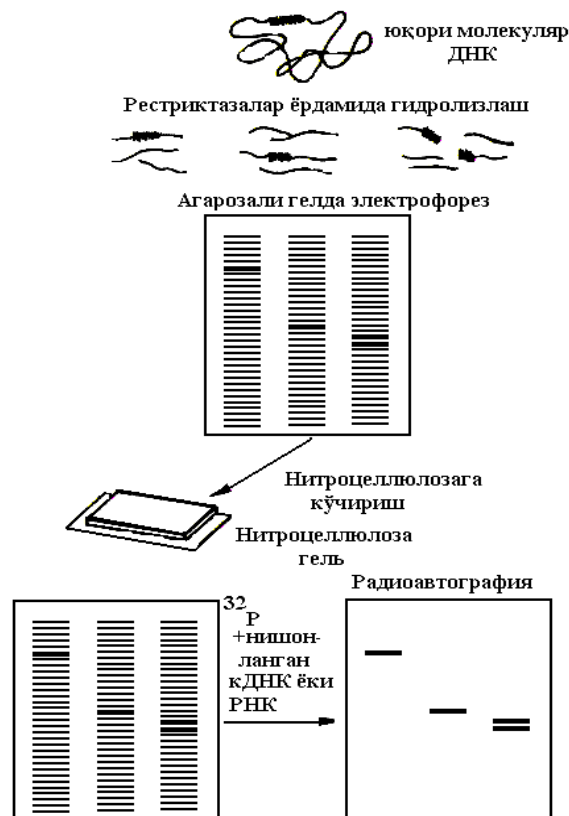
1-Biriktirilayotgan getero-logik DNK; 2-antibiotikka chidamlilik bo'yicha marker; 3-DNKning rekombinant molekulasi; 4-Rekombinant DNKni bakteriya hujayrasiga kiritish.

Plazmida tarkibida faqat bir dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning xalqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq xalqa xolatiga o'tkazadi.

Plazmida pSC 101ning DNKsi ichak tayoqchasi uchun begona DNKning EcoRI–fragmentlari bilan aralashtiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pSC 101 plazmida yagona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani E.colining kompetent hujayralariga qo'shilganda u bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar tetratsiklinli selektiv muhitda ajratiladi.

DNK-ligaza qo'shni nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'larini tiklash orqali DNK bo'laklarini bog'lash kabi bitta asosiy vazifani bajaradi. Bu jarayon ligirlash deb ataladi. Gen muhandisligida ko'pincha ligirlash uchun T4 fagining DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo'lagi “yopishqoq uchli” yoki “to'mtoq uchli” qismlari biriktiriladi. Bu eng ko'p qo'llaniladigan fermentlardan biridir.

DNK tahlilining blot-duragaylash usuli nafaqat kDNK va genom bibliotekalari skringida, shuningdek genom DNKsini tahlil qilishda ham foydalaniladi. SHu usul yordamida genomda muayyan DNK izchilligi ishtirokini aniqlash mumkin (masalan, transgen o'simliklar genomida begona gen ishtiroki, gen nusxalarining ko'payishi, genning nukleotid izchilligidagi o'zgarishlarni tahlil qilish mumkin). Blot-duragaylash usuli bilan DNKni tahlil qilish muayyan DNK fragmentlarining ularni spetsifik nishonlangan zondlar bilan duragaylash yo'li orqali aniqlashga asoslangan. U quyidagi bosqichlardan iborat: 1) DNK restriksiyasi; 2)restriksiyalangan DNK fragmentlarini geldan neylon filtrga ko'chirish va ularni immobilizatsiyalash; 3) nishonlangan zond bilan duragaylash.



Sauzern bo'yicha blot-duragaylash usuli prinsipi.

Yuqori molekulyar xromosoma DNKsi bitta yoki bir nechta restriktazalar bilan kesiladi. Xosil bo'lgan fragmentlar agarozali gelda elektroforez qilish orqali ajratiladi va oldindan denaturatsiyalangan (0,4 M NaOH) gelning ustiga neylon filtr, uning ustidan filtr qog'ozlar qo'yiladi Kapillyar kuchlar ta'sirida DNK fragmentlari perpendikulyar ravishda filtrga o'tib, u bilan bog'lanadi (immobilizatsiyalanadi). Bunday ko'chirish blotting (blot –so'rish) deb ataladi. Bunda filtrda gelning replikasi xosil bo'ladi. So'ng filtr radoaktiv nishonlangan bir zanjirli zond solingan eritmaga joylashtirilganda filtrga birikkan xromosoma DNKsi fragmentlari bilan qo'shib duragaylanadi. Zond faqat o'ziga gomologik DNK izchilligi tutuvchi fragmentlar bilan duragaylanadi. Nishon bilan bog'langan fragmentlar radioavtografiya orqali aniqlanadi. Sauzern (Southern blotting) bo'yicha blot-duragaylashning sxemasi berilgan.

Radioavtografiyada xosil bo'lgan chiziqchalar orqali genomda tahlil qilinayotgan fragmentlar mavjudligini, bu izchilliklardagi o'zgarishlarni

(deletsiya, insersiya), chiziqchalarning och yoki to‘q rangi orqali genning genomdagi nusxalari sonini aniqlash mumkin. Demak, bu usul butun genom va alohida genlarni tahlil qilish uchun ham qo‘llaniladi.

VI. MUSTAQIL TA'LIM MAVZULARI

Mustaqil ta'limni tashkil etishning shakli va mazmuni

Mustaqil ta'lim tegishli o'quv moduli bo'yicha ishlab chiqilgan topshiriqlar asosida tashkil etiladi va uning natijasida tinglovchilar bitiruv ishi (loyiha ishi) ni tayyorlaydi.

Bitiruv ishi (loyiha ishi) doirasida har bir tinglovchi o'zi dars berayotgan fani bo'yicha elektron o'quv modullarining taqdimotini tayyorlaydi. Elektron o'quv modullarining taqdimoti quyidagi tarkibiy qismlardan iborat bo'ladi: Sillabus; Keyslar banki; Mavzular bo'yicha taqdimotlar; Boshqa materiallar (fanni o'zlashtirishga yordam beruvchi qo'shimcha materiallar: elektron ta'lim resurslari, ma'ruza matni, glossariy, test, krossvord va boshq.) Elektron o'quv modullarini tayyorlashda quyidagilarga alohida e'tibor beriladi:

- tavsiya qilingan adabiyotlarni o'rganish va tahlil etish;
- soha taraqqiyotining ustivor yo'nalishlari va vazifalarini yoritish;
- mutaxassislik fanlaridagi innovatsiyalardan hamda ilg'or xorijiy tajribalardan foydalanish.

SHuningdek, mustaqil ta'lim jarayonida tinglovchi kasbiy faoliyati natijalarini va talabalar uchun yaratilgan o'quv-metodik resurslarini "Elektron potrfolio" tizimiga kiritib borishi lozim.

Mustaqil ta'lim mavzulari

1. Gen, genom va hujayra muxandisligi, zamonaviy biomuxandislikning asosiy yo'nalishlari?
2. Genni ajratish usullari. Genni ko'chirib o'tkazish usullari?
3. Gen muxandisligining moddiy asoslari. Nuklein kislotalar?
4. DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash) ?
5. Prokariot va eukariot hujayralar genomi?
6. Gen injeneriya ishlarini rejalashtirish sxemasi va prinsiplari?
7. O'simliklar va mikroorganizmlar gen injeneriyasi?
8. Bakteriofaglar. Genni ajratish usullari. Genni ko'chirib o'tkazish usullari?
9. Gen muxandisligi usullari?
10. Mikroorganizm – produtsentlarni gen muxandisligi usullari yordamida yaratish?

- 11.Rekombinant DNK texnologiyasi. Restriksiya va ligirlash, yot genni vektorga ko‘chirish?
- 12.Restriksiyalovchi endonukleazalar?
- 13.Plazmida vektorlari va plazmid vektor pBR322?
- 14.Transformatsiyaning ahamiyati va asosiy usullari. SHTammlar olish?
- 15.Vektorlar va ularning gen muxandisligidagi ahamiyati. Vektorlarni konstruksiya qilish prinsiplari?
- 16.Gen muxandisligida yuqori sifatli vektorlarning hususiyatlari?
- 17.Gen muxandisligi fermentlari, ularni klassifikatsiyasi. Restriktazalar, ligazalar?
- 18.Mikrobiologik tizimlarning molekulyar biotexnologiyasi?
- 19.Molekulyar diagnostika?
- 20.Immunodiagnostika usullari?
- 21.Monoklonal antitelalar?
- 22.DNKni kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma-ketligini aniqlash?
- 23.DNKni sekvenirlash usullari va genlarni sintezlash?
- 24.DNK interferonlarini ajratib olish?
- 25.Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi?
- 26.Insonning ko‘p klonli antitellalari?
- 27.Mikrobiologik tizimlarning molekulyar biotexnologiyasi?
- 28.Molekulyar diagnostika?
- 29.Immunodiagnostika usullari?
- 30.Monoklonal antitelalar?
- 31.DNKni kimyoviy sintezlash, nukleotid ketma-ketligini aniqlash?
- 32.DNKni sekvenirlash usullari va genlarni sintezlash?
- 33.DNK interferonlarini ajratib olish?
- 34.Gen ekspressiyasining optimizatsiyasi?
- 35.Insonning ko‘p klonli antitellalari?
- 36.Genlarni modifikatsiya qilish, ularni boshqa organizmlarga kiritish?
- 37.YAngi irsiy xususiyatga ega organizmlar yaratish?
- 38.GO‘M mahsulotlarning qanday ziyoni bor?
- 39.O‘zbekistonda GMO masalasi qanday tartibga solinadi?
- 40.Transgen o‘simlik yoki hayvon birinchi marotaba qaerda va qachon paydo bo‘lgan?

VII. BITIRUV MALAKAVIY ISHI MAVZULARI

1. Molekulyar biologik tadqiqotlarni amalga oshirishda zamonaviy usullar va ularning ahamiyati
2. “Biotexnologiya” ta’lim yo‘nalishi talabalariga “Molekulyar biologiya” fanini o‘qitishda zamonaviy pedagogik texnologiyalarni qo‘llash
3. “Biotexnologiya” ta’lim yo‘nalishi talabalariga “Molekulyar biologiya” fanini o‘qitishda animatsion roliklardan foydalanish usullari
4. O‘zbekistondagi molekulyar biologik tadqiqotlarning yutuqlarini ta’lim jarayoniga qo‘llash
5. Nanobiotexnologiya va uning biotexnologik tadqiqotlarga roli
6. Nanobiotexnologiyaning asosiy usullarini talabalarga o‘qitishdagi o‘ziga xos pedagogik xususiyatlari
7. DNK ajratish, PZR va genning birlamchi strukturasi o‘id mashg‘ulotlarni olib borishda zamonaviy pedagogik usullarni qo‘llash
8. Biologik faol moddalarni olishda zamonaviy molekulyar biotexnologik usullardan foydalanishning avzalliklari
9. Nanobiotexnologiyaning uslublarini oziq ovqat sanoatiga qo‘llash va uning bugungi kundagi xolati
10. PZR usuli yordamida o‘simliklarni aniqlash va ularning barkodi
11. Genlarning birlamchi tuzilishini aniqlashda bioinformatik dasturlarning qo‘llanilishi.
12. Madaniylashtirilgan o‘simlik hujayralari bilan mikroorganizmlarning sun’iy assotsiatsiyasini yaratish.
13. O‘simliklarning xosildorligini oshirishda biotexnologiya.
14. DNK nukleotidlari ketma-ketligini aniqlash va DNK bo‘laklarini sintezlash.
15. Transgenез nazariyasi va uning ahamiyati.
16. Prokariot va eukariot hujayralar genomining biokimyoviy xususiyatlari.
17. Oqsil biosintezi va uning genetik darajadagi regulyasiyasi

- 18.Genlar ekspressiyasining biokimyoviy boshqarilishi
- 19.Biokimyoviy jarayonlarning genetik regulyasiyasi
- 20.DNK va genetik kodning mohiyati hamda uning biokimyoviy isbotlari.
- 21.Hujayralar
- 22.Genofondini saqlab qolishda biotexnologiya.
- 23.O'simlik hujayralari seleksiyasida biotexnologiyaning ahamiyati.
- 24.O'simlik hujayralarini kulturalashning iqtisodiy ahamiyati.
- 25.O'simlik to'qimalaridan foydalanib ikkilamchi metabolitlar sintezini amalga oshirish.
- 26.O'simlik hujayra va to'qimalarida ikkilamchi metabolitlarning to'planishiga ta'sir etuvchi omillar.
- 27.Biotexnologiyaning ekologik aspektlari.
- 28.O'simliklar resurslari kulturalaridan foydalanish istiqbollari.
- 29.Somatik hujayralar kulturasi.
- 30.Genofondni saqlash usullari.
- 31.Biologik azotfiksatsiya samaradorligini oshirish.

VIII. GLOSSARIY

TERMINLAR	UZBEKCHA	Terminlar	INGLIZCHA
Agaroza	dengiz suvo‘tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.	Agarose	Polysaccharides which receive from algae; It is used as a gel medium in electrophoresis and chromatography
Agregatsiya-	ayrim organizm yoki hujayralarning to‘planishi, g‘uj bo‘lib qolishi.	Aggregation	Education in a pile of some organisms and cells
Adaptatsiya-	moslashish-organizmlarning evolyusiy jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi	Adaptation	the adaptation of organisms to a habitable environment in the process of evolution
Azotobakter-	erkin holda yashab, havodan azot to‘plovchi bakteriyalar turi.	Azotobacter	a type of bacteria that live freely and gain nitrogen from the air
Anaerobioz- -	Organizmlarning erkin kislorod bo‘lmagan muhitda hayot kechirishi	Anaerobiosis	Vital activity of organisms in the environment where there is no free oxygen
Antagonist	raqib-mikroorganizmlar hayotini to‘xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.	Antagonist	Rival – microorganisms which stop vital functions or kill other microorganisms
Antigenlar-	immun tizimda antitelalar hosil bo‘lishini indutsirlovchi, antitela paydo bo‘lishiga ta’sir etuvchi spetsifik	Antigens	specific proteins that induce and influence the formation of

	hamkorlik qiluvchi oqsillar.		antibodies in the immune system
Adsorbsiya	qattiq birikma – adsorbent bilan suyuqlik yoki gaz komponentlarning yutilish jarayonidir	Adsorption	Absorption process liquid and gas components into a solid compound - adsorbent
Bazal	asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo‘tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.	Basal	Main; basal calves that help keep the flagella of eukaryotic animals (simple animals, algae) on the outer layer of cytoplasm
Bazipetal transport	o‘simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.	Basipetal transport	Transport of plant substances to the root apical meristem
Bakteriofaglar	bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.	Bacteriophage	Viruses that infect bacteria
Binar-	ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo‘linish-hujayralarning ko‘payish vaqtida ikkiga bo‘linishi.	Binary	consisting of two parts; binary nomenclature - the name of the microorganisms with the name of generation and type; binary fission - the fission of cells during multiplication
Biogenez-	tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo‘lishi.	Biogenesis	release of organic substances from living organisms

<p>Biomassa-</p>	<p>mikroorganizmlarni o‘stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko‘rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho‘l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho‘l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho‘ktirish natijasida suyuq ozuqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.</p>	<p>Biomass</p>	<p>Biomass is organic matter derived from living, or recently living organisms. Biomass can be used as a source of energy and it most often refers to plants or plant-based materials which are not used for food or feed, and are specifically called lignocellulosic biomass. As an energy source, biomass can either be used directly via combustion to produce heat, or indirectly after converting it to various forms of biofuel. Conversion of biomass to biofuel can be achieved by different methods which are broadly classified into: thermal, chemical, and biochemical methods.</p>
<p>Biofiltr</p>	<p>-oqava suvlarni biologik jihatdan tozalaydigan inshoot</p>	<p>Trickling filter</p>	<p>Biological wastewater treatment</p>

<p>Bioreaktor-</p>	<p>biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.</p>	<p>Bioreactor</p>	<p>A bioreactor may refer to any manufactured or engineered device or system that supports a biologically active environment. In one case, a bioreactor is a vessel in which a chemical process is carried out which involves organisms or biochemically active substances derived from such organisms. This process can either be aerobic or anaerobic. These bioreactors are commonly cylindrical, ranging in size from litres to cubic metres, and are often made of stainless steel.</p>
<p>Biosintez-</p>	<p>fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.</p>	<p>Biosynthesis</p>	<p>Biosynthesis (also called biogenesis or anabolism) is a multi-step, enzyme-catalyzed process where substrates are converted into more complex products</p>

			in living organisms. In biosynthesis, simple compounds are modified, converted into other compounds, or joined together to form macromolecules. This process often consists of metabolic pathways.
Biorekultivatsiya-	qazilma boyliklar olinganidan so'ng joylarni tekislab o'simlik o'stirish	Reclamation	Plant cultivation after the excavation of minerals
Biotexnologiya-	tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.	Biotechnology	Biotechnology is the use of living systems and organisms to develop or make products
Vektor-	genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi; o'rnini olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o'simliklarda klonlash vektori-o'simlik	Vector	In molecular cloning, a vector is a DNA molecule used as a vehicle to artificially carry foreign genetic material into another cell, where it can be replicated and/or expressed. A vector containing foreign DNA is termed recombinant DNA. The four

	<p>hujayrasiga begona DNKni o‘tkazish va joylashtirish bilan shug‘ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmida vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo‘lmagan organizmga o‘tkazib qo‘yishida qatnashadigan plazmida.</p>		<p>major types of vectors are plasmids, viral vectors, cosmids, and artificial chromosomes. Of these, the most commonly used vectors are plasmids. Common to all engineered vectors are an origin of replication, a multicloning site, and a selectable marker.</p>
Genoterapiya-	<p>retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob’ekt to‘qimalarida genetik sog‘lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.</p>	Gene therapy	<p>Gene therapy is the therapeutic delivery of nucleic acid polymers into a patient's cells as a drug to treat disease.</p>
Genotip-	<p>asos genlarining to‘plami. Irsiy asos–organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.</p>	Genotype	<p>The genotype is the part (DNA sequence) of the genetic make up of a cell, and therefore of an organism or individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/individual.</p>

Genofond-	organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.	The gene pool	The gene pool is the set of all genes, or genetic information, in any population, usually of a particular species.
Geterozis –	bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang‘ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo‘lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.	Heterosis	Heterosis, hybrid vigor, or outbreeding enhancement, is the improved or increased function of any biological quality in a hybrid offspring. The adjective derived from heterosis is heterotic.
Gibrid-	duragay-genetik jihatdan har xil bo‘lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo‘lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o‘zida mujassamlashtirgan organizm.	Hybrid	In biology a hybrid, also known as cross breed, is the result of mixing, through sexual reproduction, two animals or plants of different breeds, varieties, species or genera.[1] Using genetic terminology, it may be defined as follows.
Ginogenez –	murtak xaltasi hujayralaridan o‘simlik paydo bo‘lish jarayoni.	Gynogenesis	Offspring are produced by the same mechanism as in

			parthenogenesis, but with the requirement that the egg merely be stimulated by the presence of sperm in order to develop.
Giflar-	ipchalar-zamburug‘ tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo‘lgan, mikroskopda arang ko‘rish mumkin bo‘lgan iplar.	Gifral	A threads – of molds
Gormon retseptor kompleks-	gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta’siri amalga oshishining birinchi bosqichi.	Hormone receptor complex	Connect hormone and protein receptors, the first degree of the influence of the hormone
Gormon statusi	– ontogenezda o‘simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati,	Hormone status	The general condition of the animal and plant structure in ontogenesis
Destruksiya –	moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo‘qotishi.	Destruction	Loss of physical activity by splitting substances
Didifferensiya -	ixtisoslashgan, bo‘linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo‘linayotgan kallas hujayralariga aylanish.	Differ	

Diploid –	mazkur turga xos sonlarni ko‘rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to‘plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.	Diploid	Diploid cells have two homologous copies of each chromosome, usually one from the mother and one from the father.
Differensiyalash –	asosiy va yangi hosil bo‘lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo‘lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.		
DNK –	dezoksiribonuklein kislotalar molekulasi, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.	DNA	Deoxyribonucleic acid is a molecule that carries most of the genetic instructions used in the development, functioning and reproduction of all known living organisms and many viruses.
DNK replikasiyasi –	fermentlar to‘plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekularini ikkilanishi (ikki marta ko‘payishi).	DNA replication	Cell division is essential for an organism to grow, but, when a cell divides, it must replicate the DNA in its genome so that the two daughter cells have the same genetic information as their parent.
YOpiq tizim –	tashqi muhit bilan faqat energiya orqali	Closed system	A closed system is a physical

	almashinuvchi tizim.		system that does not allow certain types of transfers (such as transfer of mass) in or out of the system.
YO'pishqoq uchlari -	komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.	sticky ends	DNA end or sticky end refers to the properties of the end of a molecule of DNA or a recombinant DNA molecule.
Identifikatsiya -	aynan o'xshatish, tenglashtirish-modda yoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.	Identification	Identification in biology is the process of assigning a pre-existing taxon name to an individual organism.
Immobilizatsiya (to'plash) -	membranalarda hujayra, fermentlarni to'plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.	immobilization	An immobilized enzyme is an enzyme that is attached to an inert, insoluble material such as calcium alginate.
Ingibitor-	to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).	Inhibitor	Enzyme inhibitor, a substance that binds to an enzyme and decreases the enzyme's activity.
Induktor-	nofaol holatga o'tkazadigan past molekulyar modda.	Inductor	inactive state of low molecular weight substances.
Induksiya-	ferment sintezi, faglar rivojlanishi va	Induction	Enzyme induction is a

	mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.		process in which a molecule induces the expression of an enzyme.
Initsiatsiya-	molekulyar biologiyadagi translyasiya jarayonining birinchi bosqichi.	Initiation	The initial stage of the translation process in molecular biology
Inkubatsiya-	o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.	Incubation	Cultivation. microbial exposure at a specific temperature
Inokulyat-	ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi ozuqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.	The inoculum	method of reproduction of organisms, microorganisms
Intron –	genning transkripsiyalanayotgan "sukunat saqlovchi" protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.	Intron	An intron is any nucleotide sequence within a gene that is removed by RNA splicing during maturation of the final RNA product.
Issiqlik shoki oqsillari (ISHO) -	haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.	Thermal shock proteins	
Kompetensiya –	hujayra, to'qima, organ va organizmning induktivlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.	Competence	In microbiology, genetics, cell biology, and molecular biology, competence is the ability of a cell to take up extracellular DNA from its environment.

Komplementar zanjir –	RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.	complementary chain	The two base-pair complementary chains of the DNA molecule allow for replication of the genetic instructions.
Kataliz-	ozonlangan havo tarkibida ishtirok etadigan kislorodning oksidlovchilik hususiyatini oshirish	Catalysis	Catalysis is the increase in the rate of a chemical reaction due to the participation of an additional substance called a catalyst
Ligaza-DNK	zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog‘ hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.	DNA ligase	DNA ligase is a specific type of enzyme, a ligase, that facilitates the joining of DNA strands together by catalyzing the formation of a phosphodiester bond.
Ligirlash –	DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog‘larining hosil bo‘lishi. Bu ibora to‘mtiq uchlarni biriktirish hollarida va RNK bog‘lar hosil bo‘lishida ham qo‘llaniladi.	Ligation	the covalent linking of two ends of DNA or RNA molecules, most commonly done using DNA ligase, RNA ligase (ATP) or other enzymes.

Lizis-	erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarining ko'payishi natijasida uning erib ketishi.	Lysis	Lysis refers to the breaking down of the membrane of a cell, often by viral, enzymic, or osmotic mechanisms that compromise its integrity.
Marker (DNK) –	elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.	Marker (DNA)	Genetic marker, a DNA sequence with a known location associated with a particular gene or trait
Marker gen –	joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.	Marker gene	A marker gene is a gene used in nuclear biology and molecular biology to determine if a nucleic acid sequence has been successfully inserted into an organism's DNA.
Matritsa.	1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) (molekulali biologiyada) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketligi.	Matrix	Matrix, the material or tissue between cells in which more specialized structures are embedded

Metabolizm-	oraliq almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtdan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolizm-mikroorganizmlarning (qirmizi bakteriyalar Rhodospirillum) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Bu xususiyat bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi.	Metabolism	Metabolism is the set of life-sustaining chemical transformations within the cells of living organisms.
Metabolitlar-	metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.	Metabolites	Metabolites are the intermediates and products of metabolism.
Mikroorganizmlar uyushmasi-	har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.	microbial colony	A microbial colony is defined as a visible cluster of microorganisms growing on the surface of or within a solid medium, presumably cultured from a single cell.
Mikroflora-	har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikroflorasi; havo	Microorganisms	a collection of different species of microorganisms living environment; avtoxonon

	<p>mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo‘shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi; rizosfera mikroflorasi.</p>		<p>microflora; mikroflora; mikroflora; mud mikroflora; normal mikroflora; microorganism; mikroflora; soil mikroflora; rizosfera mikroflora.</p>
Mitselliy-	<p>zamburug‘ tana-zamburug‘, jumladan sho‘‘lasimon zamburug‘larning o‘sadigan tanasi bo‘lib, bir va ko‘p hujayrali ipchalar (gif)dan iborat.</p>	Mycelium	<p>Mycelium is the vegetative part of a fungus, consisting of a mass of branching, thread-like hyphae.</p>
Modifikatsiya-	<p>mikroorganizmlarning fenotipik o‘zgarishi, ya’ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo‘lmagan o‘zgarishlar.</p>	Modification	<p>A modification is a change in the physical appearance of an organism (phenotype) caused by environmental factors.</p>
Morfogenez –	<p>organ (organogenez), to‘qima(gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.</p>	Morphogenesis	<p>Morphogenesis is the biological process that causes an organism to develop its shape.</p>
Mutagenez-	<p>mutagenez o‘zgarishning (mutagenezning) ro‘y berishi-organizmda irsiy o‘zgarishlar-</p>	Mutagenesis	<p>Mutagenesis is a process by which the genetic information of</p>

	mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqlovchi va naslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasining o'zgarishi yotadi.		an organism is changed in a stable manner, resulting in a mutation.
Mutagenlar –	DNK molekulasida mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;	Mutagens	A mutagen is a physical or chemical agent that changes the genetic material, usually DNA, of an organism and thus increases the frequency of mutations above the natural background level.
Mutatsiya –	gen, xromosomadagi nukleotid izchillik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.	Mutation	A mutation is a permanent alteration of the nucleotide sequence of the genome of an organism, virus, or extrachromosomal DNA or other genetic elements.
Nishon - hujayra–	u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.	Target cell	target cells are red blood cells that have the appearance of a shooting target with a bullseye.
Nuklein kislotalar –	turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori	Nucleic acids	Nucleic acids are biopolymers, or large biomolecules,

	<p>molekulyar tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.</p>		<p>essential for all known forms of life. Nucleic acids, which include DNA (deoxyribonucleic acid) and RNA (ribonucleic acid), are made from monomers known as nucleotides.</p>
Noosfera-	<p>biosferani tabiat qonunlari asosida boshqarish, inson ongining yuqori taraqqiyot etishi</p>	Noosphere	<p>The noosphere is the sphere of human thought</p>
Organogenez –	<p>uyushmasdan o'sayotgan kallas hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.</p>	Organogenesis	<p>In animal development, organogenesis is the process by which the ectoderm, endoderm, and mesoderm develop into the internal organs of the organism.</p>
Ochiq tizim –	<p>tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.</p>	Open systems	<p>the external environment and the energy and material exchange with the system.</p>
Oziq zanjiri-	<p>moddalarning aylanma harakati</p>	food chain	<p>A food chain is a linear network of links in a food web starting from producer organisms and ending at apex predator species, det</p>

			ritivores, or decomposerspecies
Ozonoliz-	Ozonning ikkilamchi va birlamchi uglerod bog‘lariga fiksatsiya jarayoni	Oxonolysis	The process of fixing the first and second carbon ozone connection
Partenogenez –	asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.	Parthenogenesi s	Parthenogenesis is a natural form of asexual reproduction in which growth and development ofembryos occur without fertilization.
Plazmida –	avtonom replikatsiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.	Plasmid	A plasmid is a small DNA molecule within a cell that is physically separated from a chromosomal DNA and can replicate independently.
Poliadenillash –	poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so‘ng birikishi.	Polyadenylation	Polyadenylation is the addition of a poly(A) tail to a messenger RNA.
Poliploidiya –	organizm gaploid xromosomalar yig‘indisining karrali ortishi bilan bog‘liq bo‘lgan irsiy o‘zgaruvchanlik.	Polyploid	Polyploid cells and organisms are those containing more than two paired (homologous) sets of chromosomes.

Proliferatsiya –	hujayra va to‘qimalarning ko‘payish yo‘li bilan hosil bo‘lishi.	Proliferation	The term cell growth is used in the contexts of cell development and cell division (reproduction).
Promotor–	genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.	promoter	In genetics, a promoter is a region of DNA that initiates transcription of a particular gene.
Pronukleus –	urug‘langan tuxum hujayra yadrosi.	Pronucleus	A pronucleus is the nucleus of a sperm or an egg cell during the process of fertilization, after the sperm enters the ovum, but before they fuse.
Proton pompasi	maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o‘tish jarayoni.	Proton pump	A proton pump is an integral membrane protein that is capable of moving protons across a biological membrane.
Protoplast	mexanik yo‘l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig‘idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o‘simlik hujayrasi.	Protoplast	Protoplast, initially referred to the first human[citation needed] or, more generally, to the first organized body of a species. In modern biology.

Profag	bakteriya xromosomasiga oʻrnashgan fag genomi. Lizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi moʻʼtadil bakteriofag.	Prophage	A prophage is a bacteriophage genome inserted and integrated into the circular bacterial DNA chromosome or existing as an extrachromosomal plasmid.
Protsessing	etilish jarayoni	Processing	maturation
Regeneratsiya-	hujayralar tiklanishi.	Regeneration	cell recovery
Rekombinant gen –	turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.	Chimeric gene	Chimeric genes form through the combination of portions of one or more coding sequences to produce new genes. These mutations are distinct from fusion genes which merge whole gene sequences into a single reading frame and often retain their original functions.
Rekombinant DNK-	turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.	Recombinant DNA	Recombinant DNA (rDNA) molecules are DNA molecules formed by laboratory methods of genetic

			recombination to bring together genetic material from multiple sources, creating sequences that would not otherwise be found in the genome.
Rekombinatsiya-	krossingover natijasida ota-onalar genlarining qayta guruhlanishi (tabaqlanishi).	Recombination	
Reparatsiya-	DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK molekulasi uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulalarni tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.	Repair	DNA repair is a collection of processes by which a cell identifies and corrects damage to the DNA molecules that encode its genome.
Repressiya-	gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.	Repression	Expression of the gene and the mechanism of recovery of enzymatic synthesis
Repressor-	ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.	Repressor	A repressor is a DNA- or RNA-binding protein that inhibits the expression of one or more genes by binding to the operator or associated silencers.

Restriktazalar -	kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.	Restriction enzymes	A restriction enzyme or restriction endonuclease is an enzyme that cuts DNA at or near specific recognition nucleotide sequences known as restriction sites.
Sayt-	o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'rni.	Site-	Location, location of a point mutation in the gene map
Segment-	karj, bo'lak.	Segment-	snippet
Seleksiya-	tanlash-hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.	Selection-	new strains of microorganisms
Skrining-	bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.	Screening	Before switching on the contents of a clone of the candidate chart smeshannye population of microorganisms po points.
Substrat-	ozuqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan ozuqa muhiti.	Substrat-	Pitatlnaya consistently dlya microorganisms kultivirovanie
Termodinamik tizim	qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.	thermodynamic system	I Properties sobratat complex elementnye
Transduksiya-	bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor	Transduktsiya-	Perevesti retsipientnyx

	hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.		candidate trace donornyx candidate s pomoshchyu bacteriophage
Ultrafiltratsiya -	kolloid zarrachalarni ajratish jarayonidir	Ultrafiltratsiya	The process of selection of the colloidal particles
Faglar-	viruslar.	Fag-	virus
Fenotip-	organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.	Phenotype	Sum Properties signs during development of the organism processes
Fermenter-	ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk asbob.	Fermenter-	Apparatus for fermentation of certain raw materials using microorganisms
Fermentlar-	Biologik katalizator	Enzymes	biocatalyst
Fitoaleksinlar –	genotipik va real komponentlari.	phytoalexins	Genotype and the actual components
Fotosintez-	yorug'lik energiyasi ishtirokida o'simliklar, suvo'tlari va ayrim bakteriyalar hujayralarida SO ₂ dan organik moddalar hosil bo'lish jarayoni.		Identification of the organic substances CO ₂ in bacteria, some algae with light energy
Fragmentlar	parchalar, qismlar.	Fragments	Part
Xemosintez	ayrim mikroorganizmlarga xos bo'lgan oziqlanish turi.	xemosintez	Class pitaniya spetsificheskimi dlya microorganisms opredelennyx

Xromosomalar –	DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi	Chromosomes	The genetic structure of the core protein and DNA
Sentrifuga-	ajratkich, analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontaj ajratkich; bug‘lantiruvchi ajratkich; cho‘ktiruvchi ajratkich; tindiruvchi ajratkich; preparativ ajratkich; o‘z-o‘zini bo‘shatadigan ajratkich; suzish yo‘li bilan ishlaydigan ajratkich; ko‘p bo‘limli ajratkich; o‘ta tez aylanadigan ajratkich; tabaqalashtiruvchi, tafovutli ajratkich.	Tsentrifuga-	Separator, analytical (laboratory) Separator; vibration Separator; horizontal Separator; and evaporating Separator; Mazur Separator; Stir Separator; Preparation Separator; self-released Separator; swimming, working through the Separator; Separator for the most part; very quickly turn into Separator; differentiated divergent Separator.
Sitozin-	DNK va RNK tarkibida bo‘lgan pirimidin asosi.	Stosine	the Fundamental pyrimidine in DNA and RNA
Energiyaning migratsiyalanishi	energiyaning donordan akseptorga to‘qnashuv yo‘li bilan uzatilishi	Energy migration	Parcel Energia via stolknovenie s donor or acceptor
Elektroforez	elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga	Electrophoresis	Allocate particles move mixtures from one place to another using an

	o'tishi, bo'laklarga ajratish.		electric field
--	-----------------------------------	--	----------------

IX. ADABIYOTLAR RO‘YXATI

I. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining asarlari

1. Mirziyoev SH.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. – T.: “O‘zbekiston”, 2017. – 488 b.
2. Mirziyoev SH.M. Milliy taraqqiyot yo‘limizni qat’iyat bilan davom ettirib, yangi bosqichga ko‘taramiz. 1-jild. – T.: “O‘zbekiston”, 2017. – 592 b.
3. Mirziyoev SH.M. Xalqimizning roziligi bizning faoliyatimizga berilgan eng oliy bahodir. 2-jild. T.: “O‘zbekiston”, 2018. – 507 b.
4. Mirziyoev SH.M. Niyati ulug‘ xalqning ishi ham ulug‘, hayoti yorug‘ va kelajagi farovon bo‘ladi. 3-jild.– T.: “O‘zbekiston”, 2019. – 400 b.
5. Mirziyoev SH.M. Milliy tiklanishdan – milliy yuksalish sari. 4-jild.– T.: “O‘zbekiston”, 2020. – 400 b.

V. Normativ-huquqiy hujjatlar

6. O‘zbekiston Respublikasining Konstitutsiyasi. – T.: O‘zbekiston, 2018.
7. O‘zbekiston Respublikasining 2020 yil 23 sentyabrda qabul qilingan “Ta’lim to‘g‘risida”gi O‘RQ-637-sonli Qonuni.
8. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015 yil 12 iyun “Oliy ta’lim muasasalarining rahbar va pedagog kadrlarini qayta tayyorlash va malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PF-4732-sonli Farmoni.
9. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevral “O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida”gi 4947-sonli Farmoni.
10. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 20 aprel "Oliy ta’lim tizimini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PQ-2909-sonli Qarori.
11. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2018 yil 21 sentyabr “2019-2021 yillarda O‘zbekiston Respublikasini innovatsion rivojlantirish

strategiyasini tasdiqlash to‘g‘risida’gi PF-5544-sonli Farmoni.

12. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 27 may “O‘zbekiston Respublikasida korrupsiyaga qarshi kurashish tizimini yanada takomillashtirish chora-tadbirlari to‘g‘risida’gi PF-5729-son Farmoni.

13. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 17 iyun “2019-2023 yillarda Mirzo Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy universitetida talab yuqori bo‘lgan malakali kadrlar tayyorlash tizimini tubdan takomillashtirish va ilmiy salohiyatini rivojlantiri chora-tadbirlari to‘g‘risida’gi PQ-4358-sonli Qarori.

14. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 27 avgust “Oliy ta’lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining uzluksiz malakasini oshirish tizimini joriy etish to‘g‘risida’gi PF-5789-sonli Farmoni.

15. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 8 oktyabr “O‘zbekiston Respublikasi oliy ta’lim tizimini 2030 yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to‘g‘risida’gi PF-5847-sonli Farmoni.

16. O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti SHavkat Mirziyoevning 2020 yil 25 yanvardagi Oliy Majlisga Murojaatnomasi.

17. O‘zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2019 yil 23 sentyabr “Oliy ta’lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish bo‘yicha qo‘shimcha chora-tadbirlar to‘g‘risida’gi 797-sonli Qarori.

SH. Maxsus adabiyotlar

18. Vishnevets A.V., Soboleva V.F., Bazylev S.E. i dr. Основы генетической инженерии и биотехнологии. Учебно-методическое пособие. Vitebsk : UO «VGAVM», 2010. - 76 s

19. Davronov Q., Aliqulov B.S. Nanobiotexnologiya asoslari, -T.: Fan va taraqqiyot nashriyoti. 2015–304 b.

20. Lutova L. A., Matveeva T. V. Gennaya i kletochnaya injeneriya i biotexnologii vysshix rasteniy: pod red. akad. I.A. Tixonovicha. - SPb.:Eko-Vektor, 2016. – 168 s.

21. Bernard R.Glik, Jack J. Pasternak Molecular biotechnology - Washington 2010. 1020 r.
22. Deniz Ekinci “Biotechnology” Croatia, 2015/
23. Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi.Darslik.T.: Fan va texnologiya. 2010.- 276 b.
24. Mirxamidova P. va bosh. Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari. Darslik. Ilm ziyo. 2014y, -335 b.
25. Zikryaev A., Mirxamidova P. Biologik kimyo va molekulyar biologiya. Darslik. T.Tafakkur bo‘stoni.2013.-223b
26. Raxmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzaev S. Biokimyo. Darslik - T.: Ta’lim, 2009. -528 b.
27. Musaev X.N., Axmedova N.X. Kimyoviy mikrobiologiya. Darslik. –T. Fan va texnologiya. 2012.-428 b

IV. Internet saytlar

28. <http://edu.uz> – O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligi.
29. <http://lex.uz> – O‘zbekiston Respublikasi Qonun hujjatlari ma’lumotlari milliy bazasi.
30. <http://bimm.uz> – Oliy ta’lim tizimi pedagog va rahbar kadrlarini qayta tayyorlash va ularning malakasini oshirishni tashkil etish bosh ilmiy-metodik markazi.
31. <http://ziyonet.uz> – Ta’lim portali Ziyonet.
- <http://natlib.uz>–Alisher Navoiy nomidagi O‘zbekiston Milliy kutubxonasi.

ОТЗЫВ

На образовательную программу и учебно-методический комплекс по направлению переподготовки и повышения квалификации преподавателей «Биотехнология» (по отраслям) Ташкентского химико-технологического института

Общий объем образовательной программы составляет 288 часов, продолжительностью 8 недель при 36 часовой недельной учебной нагрузке.

Образовательная программа состоит из шести крупных модулей, которые формулируют Государственную политику и определяют основные направления переподготовки и повышения квалификации педагогический кадров в Узбекистане.

Общеобразовательные модули охватывают вопросы развития общества и образовательно-воспитательных процессов, инновационных образовательных технологий, электронной педагогики и проектирования личной и профессиональной информационной сферы, знания иностранного языка, системного анализа и принятия оптимальных решений.

Содержание этих специализированных модулей позволяет сформировать новые знания и навыки по передовым образовательным технологиям и педагогическому мастерству, применению информационно-коммуникационных технологий в образовательных процессах, системному анализу химико-технологических процессов, современным методом анализа пищевых продуктов, а также познакомиться инновациями в области технологии пищевых веществ.

Считаю, что содержание учебной программы и учебно-методического комплекса отвечают современным требованиям и может быть рекомендовано для осуществления повышения квалификации и переподготовки преподавателей высших учебных заведений по направлению «Биотехнология»

Проректор по учебной работе



к.т.н. Сакович А.А.

Директор Института повышения
квалификации и переподготовки

к.т.н. Пищов С.Н.

