

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O‘RTA MAXSUS TA’LIM VAZIRLIGI**



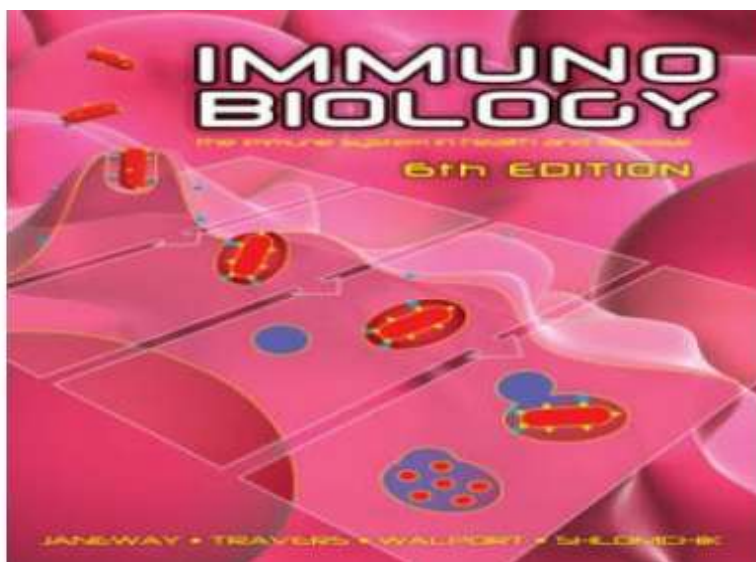
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

Magistratura ta’lim yo’nalishi

Immunobiologik preparatlar texnologiyasi

FANIDAN O‘QUV-USLUBIY MAJMUA

Ta’lim sohasi: 510000 – Sog’liqni saqlash
Ta’lim yo’nalishi: 5A510602-Immunobiologik va mikrobiologik
preparatlar texnologiyasi”



Toshkent -2019

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



TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

Magistratura ta’lim yo’nalishi

Immunobiologik preparatlar texnologiyasi

FANIDAN O‘QUV-USLUBIY MAJMUA

Ta’lim sohasi: 510000 – Sog’liqni saqlash
Ta’lim yo’nalishi: 5A510602-Immunobiologik va mikrobiologik
preparatlar texnologiyasi”

Toshkent -2019

Immunobiologik preparatlar texnologiyasi fanining o'quv-uslubiy majmuasi O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligining 201 yil _____ -dagi _____-sonli buyrug'i bilan tasdiqlangan o'quv reja va dastur asosida ishlab chiqilgan

Tuzuvchilar:

1. Zairova H.T. - Biotexnologiya kafedrasining mudiri, k.f.n., dotsent.
2. Tashmuhamedova SH.S. - Biotexnologiya kafedrasini dotsenti, b.f.d.
3. Ubaydullaeva X.A. - Biotexnologiya kafedrasini katta o'qituvchisi

Taqrizchilar:

Maksudova A. N. - Toksikologik, organik va biologik kimyo kafedrasini dotsenti, b.f.n.
Mirzarahmetova D.T. -Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston milliy universiteti,biologiya fakulteti Biotexnologiya kafedrasini mudiri, b.f.n.

Fanning O'quv uslubiy majmuasi soxa uslubiy kengashining 2019 yil ---- -dagi ----son yig'ilishida muxokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan .

Soxa- uslubiy kengash raisi

Xaydarov V.R.

Fanning O'quv uslubiy majmuasi Markaziy uslubiy kengashining 2019 yil ---- -dagi ----son yig'ilishidagi muxokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Markaziy uslubiy kengash raisi

Yuldashev Z.A.

Fanning O'quv uslubiy majmuasi institut Kengashining 2019 yil ---- -dagi ----son yig'ilishida muxokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Kengash kotibi

Xaydarov V.R.

MUNDARIJA

1. NAZARIY MATERIALLAR	4
2. AMALIY MASHG`ULOTLAR MAVZULARI.....	65
3. ILOVALAR.....	80
4. MUSTAQIL TA`LIM MAVZULARI.....	89
5. GLOSSARIY.....	90
6. FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR.....	98

Mavzu-1: Immun sistema va uning faoliyati

Mavzu rejasi:

1. Immun sistema haqida tushuncha
2. Timusni tuzilishi
3. Fabrsius jaltachasi tuzilishi funksiyalari
4. Peyer blyashkalari va uning roli ahamiyati
5. S uyak ko'migining tuzilishi

Tayanch iboralar: Immun sistema , organ, timus, peyer marjonlari, limfa tomirlari, mikrob, virus

Immun sistema juda noyob, murakkab jarayon-larni mukammal ravishda amalga oshiradigan tizim bulib, uning asosiy vazifasi organizmga turli yul bilan kirib olgan mikrob, virus va sodda kayvon ku-jayralarini aniklab, ularni organizmdan chitsarib yuborishdan iborat. Immun sistemaning faoliyati birlamchi va ikkilamchi limfoid organlarga va ularning faoliyatiga bog'liqdir. Birlamchi limfoid organga timus kiradi. Bu limfoid a'zo bulib, uning katta kismi kukrak kafasida, kukrak suyagi dastasining opfka tomonida joylashadi. Kupchilik kayvonlar organizmida timus ikki kismdan iborat. Odam organizmida esa timus ikki bulakdan tarkib topgan va umumiy tuzilmani tashkil kiladi. Timusning katta-kichikligi yosh ulra-yishi bilan uzgarib boradi. Uning nyufyatda katta-lashgan shakli (odam tanasiga nisbatan olinganda) ona kornidagi bolada va uning ikki yoshgacha bulgan davri-ga kadam kuzatiladi. Ikki yoshdan jinsiy etuklik dav-rigacha xam uning ulchovi ancha katta buladi. Jinsiy voyaga etish davri tugagach, u asta-sekin kichiklasha boshlaydi va deyarli involyusiyaga uchraydi. Utmishda-gi anatamlarga timyan usimligi bargining shaklini eslatgani uchun ayrisimon bez timus deb nomlangan. Odam organizmida ayrisimon bez, embrional davr-ning ikkinchi oyida uchinchi va kisman turtinchi xalkum chuntagidan rivoj topa boshlaydi. SHu davrning ol-tinchi xaftasida, timus epitelial kosilaga aylanib, keyinchalik unda kon tomir va mezenximal element-larning kosil bulishi kuzatiladi. 7-8 kaftalar ora-sida esa dastlabki limfotsitlar namoyon bula boshlaydi. SHunday silib ushbu bez limfoepitelial a'zo-ga aylanadi. Embrional rivojlanishning uchinchi oyi-ga kelib, a'zoda bulaklar xosil buladi va shu bilan birga uning tuzilmaga xos shakllanishi yuzaga keladi. Bu bezning keyingi rivoji uning SIRIMI va vaznining oshishi bilan chambarchas bog'lits buladi.

Ayrisimon bez yupka biriktiruvchi kapsula bilan koplangan, uning ostida bez bulakchalari yotadi. Dar bir bulakcha ikki katlamdan iborat. Bulakchaning pe-riferik, limfotsitlarga gavjum kismi — tashki_pust-lok, markaziy, kujayralargaG boy buTmagan kismi esa miya katlami deb ataladi. Ayrisimon bezning normal funksiyasi tugrisidagi ma'lumot oxirgi 10—15 yillar ichida olingan bulib, ular orasida eng asosiylari quyidagilar kisoblanadi: immunologik jikatdan ri-vojlantish, tiklanish va kumaklashish vakolatlari, pe-riferik limfoid tizimini boshkarish va boshkalar. Immunologik nuqtai nazardan nigok tashlansa, timus-ning asosiy vazifasi T — limfotsit populyasiyalarini ma'lum bir rivoj darajasiga etkazish yoki diffe-rensiatsiyalash disoblanadi. Bezning bu vazifasi gu-moral omillarni ishlab chikarish tufayli amalga oshadi. Bu gumoral omillar asosan bezning epitelial kujayralari tomonidan yuzaga keladi. SHunday k;ilib, timus T — limfotsit populyasiyalarining ma'lum bir etuklik darajasiga kutarilishida mukim urin tutadi. T — kujayralarining utmish avlodlari timusga ika-rab kuchib yurishi kobiliyatiga ega, bunda ular a'zo-ning ta'siri ostida % buladi. Timus tarkibidan urin olgan va dastlabki rivoj boskichida bulgan «chakalok» xujayralar uz tashki markerlari (tamgalari) ga ega bulmaydi. Ular markerlik xususiyatini ana shu a'zo-ta'siri ostida asta-sekin orttiradi.

Timusning pustlok katlamini tark etgan T — limfotsitlar bir *sancha* sinflarga bulinib ketib, voyaga etgan T — xelper, T — supressor va T — killer vakolatligini shakllantirib beradigan, o'ziga xos marker-larni namoyon siladi.

FABRITSIUS XALTASI. Immun sistemaning markaziy a'zolaridan bi-ri bulib, yukorida bayon etilganidek fakat qushlar organizmida topilgan. U qushlar kloakaspning dorsal sismida joylashadi. Bu a'zo epitelial chutsurlikning payidan paydo bulib, unta embrion rivojining 12 kunidan boshlab limfoid poya kujayralari kuchib uta boshlaydi. Timus tarkibida T — kujayralar etilishi kabi, Fabritsius xaltasida V kujayralar voyaga etadi.

Agar eng sunggi rivojlanish boskichidya ushbu a'zo olib tashlansa, antitanalar kosil bulishi tuxtaydi va agammaglobulinemiya xolati yuzaga keladi. Fabritsius ""Tsaltasi kupgina follikullardan tashkil topgan. Uning tarkibida pustlok va miya katlamlari ajratiladi. Miya kavatida epitelial kujayralardan tashkari, limfotsit, plazmatik kujayra, makrofag va granulo-sitlarni *sam* uchratish mumkin. Pustlots ;avat asosan kichik limfotsit va plazmatik kujayralar YIRINDISI-dan tashkil topgan,» Fabritsius xaltasining rivojla-nishida kam yosh bilan boglik bulgan involyusiya ja-rayoni kuzatiladi. Masalan, tovuq organizmida tur-tinchi oydan boshlab, bu a'zo asta-sekin atrofnyaga uch-rab boradi. }kozir kupgina chukur tadkikotlar utkazi lishiga karamasdan, sut emizuvchilar organizmida Fabritsius xaltasiga ekvivalent bulgan a'zo topilga-ni yuk.

Suyak kumigi. Sut emizuvchilar organizmida suyak kumigi V — kujayralarning etiladigan manbai xi-soblanadi. Bunda V — kujayralar uzak kujayralari-dan kosil bulib, tashki kavatida immunoglobulin mo-lekulalarini tashuvchi kichik limfotsitlarga aylanadi. Suyak kumigi uzida limfoid bulmagan va uta geterogen (turli-tuman) xujayralar populyasiyasini saklaydi. Suyak kumigini limfoid a'zo bulishiga karamasdan, immunologii a'zo deb x;am karash mumkin, chunki u postnatal rivojlanish davrida turli limfotsit va va makrofag populyasiyalarini kosil kiluvchi utmish-dosh kujayralarni uzi bilan ergashtirib keladi. Ma'lumki, IKOH kujayralarining xosil bulish jarayoni gematopoz deb ataladi, ushbu kujayralarni kosil si-luvchi tupima esa gematopoetik tupima deb nomlangan. Gematopoetik tukimaning ikki turi mavjud. Ulardan biri, mieloid, ikkinchisi esa limfoid turlaridir.

Tutsimaning mieloid deb nomlanishi bejiz emas, (yunoncha mielos — miya demakdir) odam organizmida kon kujayralari va ularning bevosita utmishdosh avlodlari, xususan, eritrotsit, granulotsit kamda plas-tinkalar va ularning gavdalanishiga javobgar kujay-ralar, suyak bushligidan urin oltan bulib, kumik taur kibida joylashadi. SHuning uchun suyak kumigi tukima-si mieloid tupima deb atalgan. Suyak kumigida uziga xos immunologik reaksiyalar kechadi, masalan, antita-nalar sintezi. Zardob immunoglobulinlarining asosiy manbai bulib, suyak kumigi x₄isoblanishi mumkin. Masalan, 10 kaftalik sichkonlarning suyak kumigi tarki-bida 80 foizdan ortikrod immunoglobulin molekula-larini sintez kiladigan kujayralar tuplangan buladi. Periferik limfoid tukimasi antigenga nisba-tan tez kamda kiska vakt mobaynida ta'sirlansa, suyak kumigi sekin ta'sirlanib, uning javobi uzok va antitanalar ishlab chikarishi ancha vakt mobaynkda buladi. V — limfotsitlarning etilishi, ularning tashsi ka-vatida immunoglobulin retseptorlari kamda GBK reri maksulotlari ekspressiyasi kolatidagina tutallanadi. Limfotsitlar suyak kumigi kujayralarining taxminan 20 foizini tashkil etadi.

SHILLIK PARDALAR BILAN YONDOSHGAN LIMFOID TUPIMA

Organizm tizimlarining turli tarmoklari, lim-foid tukimalarining subepitelial tudalari bilan, yukumli jarayondan mukofazalanish uchuy kamrab olin-gan buladi. Nafas olish, xazm 1kilish va ayirish yul-lari shular jumlasidan. Bunday limfoid tuk₄imalar biriktiruvchi tupima kapsulasi bilan chegaralanmay-di. Ular limfotsit, plazmatik xujayra va fagotsit-larning diffuz tudalaridan iborat buladi. Misol kilib til, tanglay kalkumdagi bodomsimon bezlar, ingichka ichakdagi **Peyer** blyashkalari, kurichakni

kur-satish mumkin. Taxminlarga kura, shillik pardalar bilan uralgan limfoid tupima maxsus shira tizimini yaratadi, unda immunoglobulinlarning A va E — sin-figa mansub bulgan molekulalar sintezini amalga oshiruvchi kujayralar aylanib yuradi.¹

Nazorat savollari

- 1.Immun sistema haqida tushuncha bering
2. Timus qanday qismlardan tuzilgan?
3. Fabrsius jaltachasi tuzilishi va funksiyalarini tushuntiring
- 4.Peyer blyashkalari va uning roli ahamiyati **nimada?**
- 5.S uyak ko'migining tuzilishi haqida tushuncha bering

Mavzu-2: Immun sistema va uning xususiyati

Mavzu rejasi:

- 1.Limfoid tizim haqida tushuncha
- 2.Limfa tugunlari
- 3.Gumoral immunitet haqida tushuncha.
- 4.Xujayraviy immunitet vazifalari
- 5.Taloqning ikkilamchi limfoid organ sifatidagi vazifasi

Tayanch iboralar: autoantigen, antitana, determinantlar, tizim, limfa, allergen. immunostimulyator

Immun sistemaning yana bir muhim xususiyati bu organizmning uzida kosil bulgan «noma'kul» tuzilmalarni (autoantigen) aniklash va ulardan organizmni tozalash kobiliyatini mujassam-lashidadir. Bu tizimning uta noyob deb ta'kidlanishi bejiz emas, chunki tashki mukitda mavjud bulgan va uzida organizmga nisbatan begonalik asoratlarini namoyon etgan (antigen, allergen va autoantigenlar) barcha tuzilmalar immunologik tizim nazorati tu-fayli aniklanadi. kujayraviy va gumoral immunitetni sodir kiluv-chi immunologik tizim kujayralari asosan lim-foid a'zolarida gavdalanadi. Ular orasida yuqorida qayd etilganidek, timus (ai-risimon bez), talok, suyak kumigi va sut emizuvchilarda limfoid kujayralarning turli gurux bilan bir qatorda ikkilamchi limfoid organlar xam muxim rol o'ynaydi. Immunologik sistemani boshqarilishida va uning xususiyatlarini, funksiyalarida ikkilamchi organlar xam, ya'ni limfa tugunlari va taloq xam alohida o'rin tutadi.

LIMFATIK TUGUNLAR- Buyraksimon shaklga ega bulgan limfatik tugunlar limfatik irmogi buyicha joylashgan buladi. Limfatik tugunlarning kupchiligi chov (rkorin va son orasi) katta tomirlari buylab kukrak kafasi va korin bush-ligida joylashadi. Ular kapsulaga uralgan kamda limfotsitlarga boy bulgan parenximadan tarkib top-gan. Gematoksillin-eozin buyogiga buyalgan limfatik tugunning kundalang kesimini mikroskop ostida kuz-dan kechirsak, u kuk rangda ekani ayon buladi. Sababi, uning tarkibida tuts kuk yadroga ega bulgan limfotsit-lar kup uchraydi. Limfatik tugun kam pustlok va miya kavatlariga ega buladi. Bunda limfotsitlar pustlok kismida kosil bulib, uning miya kismiga karab sil-jiydi. Limfatik tugunning pustlok; moddasi timus-ning pustlok moddasidan fark kiladi va asosan, limfatik follikullardan tashkil topadi. Bundan tash-gkari, limfatik tugunlarda epitelial komponent bulmaydi. Badanning barcha kismidan okib utadigan limfa kon aylanish doirasiga utishdan oldin limfatik tu-gunni kesib u^{ta}Dⁱ- SHuning uchun, limfatik

¹ Virendra Gomase, Sunilkumar Dwivedi. Immunobiotexnology. 2011.

tugunning asosiy vazifalaridan biri — mayda zarrachalarni va begona maksulotlarni limfadan chetlashtirib uziga xos filtr tizimi vazifasini bajarishdan iborat. Bu narsa konchilarning limfatik tugunlari kumir changi-ning zarrachalari bilan tulgan ekanligini aniklan-ganida tasdiklangan edi. Limfatik tugunlarning yana bir xususiyati usimtalar rivojlanishida namoyon bu-ladi. Ashuqlanishicha, birlamchi usimtaning kujayra-lari kupincha limfatik tomirlarga tushib, keyincha-lik limfatik tugunlarda tuplanadi. SHu bilan birga limfatik tomirlar buyicha joylashgan limfatik tu-gunlar infeksiyon muktini urganish chogida kupincha shishadi. Mana shu vaktning uzida ular limfani bakteriyalardan ozod qilishi shubkasiz.

Limfatik tugun immunologik tizimning yukori faol sismi kisoblanadi. YUkorida aytilganidek, u orkali limfa okib utadi. Bundan tashkari, unda makrofaglar ishtirokida turli zarrachalarning fagotsi-tozi amalga oshadi. T — killer va antitana molekula-larini sintez kiluvchi plazmatik kujayralar, tugunlarda faollashgan T va V — limfotsitlardan shakl-Ptnadi. Limfatik tomirlarning bir kismi kapsulaga kelsa, bir sismi uning darvoza deb ataladigan joyi-\ dan chikadi. Ikkala turga oid tomirlar klapanga ega /bulgani uchun, limfa ular tarkibida orkaga karab yu-nala olmaydi.

Stroma limfatik tugun moddasini tashkil kilgan bulib, unda ozod kujayralar bir erda ushlanib tu-radi. Stromaning uzi kujayra va kujayraaro modda-sidan xosil buladi. Stroma kujayralari uning turli kismalarida turlicha bulgani uchun, ularni morfologik va sitoximik belgilar yordamida fark kilinadi. Tugunning V — limfotsitlarga boy bulgan kismalarida, masalan, limfatik follikullarda, dendrit retiku-lyar kujayralar kuprots urin oladi. Ular fagotsitoz-da ishtirok etmaydi, lekin uzining tashki kavatida antigenni boglashi mumkin.

Limfatik tugundagi retikulyar kujayralar sinus-larni kosil kiladi. Sinus suzi, lotincha bushlits fa-zoni anglatadi. Bu sinuslar limfani tozalaydi. Limfa chekka sinusdan, afferent tomirlar buyicha, pust-lok moddasidagi limfotsitlardan singib makrofaglar va miya moddasining sinuslariga keladi, u erdan esa efferent tomirlar yordamida chikadi. T va V — lim-fotsitlar limfatik tugunlarda turli anatomik kom-partment (bulim) larni ISHROL kiladi. V limfosit-larning yigilgan joyi kortikal (timusdan xoli bulmagan), ya'ni pustlok zonalari .isobanadi. Tinch kolatdagi tugunda ular sferik shaklga ega bulib, bir-lamchi follikullar deb nomlanadi. Antigen yordamida amalga oshgan V limfotsitlarning ragbatlanishidan keyin ikkilamchi follikullar kosil buladi. Ular ba'zi vaktida kupayish markazlari deb kam ataladi.

Parakortikal zonasida limfotsitlar umuman uchramaydi. Xuddi shunday kodisani timektomiyaga uchragan sichkon organizmida kam kuzatish mumkin.

TALOK -Talok korin bushligida IX—XI kovurgalar satkida joylashadi, bu a'zonining katta- kichikligi va shakli kisilgan mushtga uxshash buladi. Talok;ning tuk kizil rangini, undagi kup mikdorda bulgan kon elementla-rining uchrashi bilan tushuntirsa buladi. Talots, IKOH doirasini uzining funksional faolligini yukotgan eritrotsit va leykotsitlardan tozalaydi. Bundan tash-kari, u 1fn doirasiga tashrif etgan begona antigen-lar, ayniksa, kopruskulyar antigenlarga nisbatan ja-vob bera oladigan, yangi limfotsitlarni keltirib chi-karadi.

Talokning ustki kkismi biriktiruvchi tukimadan tashkil topgan va kapsula bilan uralgan. Uning ichki kismini pulpa tashkil kiladi. Talok tarkibida pulpa ikki xil buladi: biri ok pulpa bulsa, ikkinchi-si — kizildir. Ok pulpa talovda juda mayda, kat-tu va kulrang kosila kabi, kizil pulpa orasida so-chilgan buladi. Limfatik follikullarni kamrab ol-gan kizil pulpa uz kataklarida kup mikdorda erit-rotsitlarni saklaydi. kozirgacha ok va kizil pulpa-lar orasidagi chegara ani!langani yuk, lekin shu ikki pulpa orasida **marginal** mintaka mavjud. Xuddi shu marginal mintakada follikullar tarkibiga kiradi-gan kon tomirlari yotadi. Marginal mintakaga arte-riyalar sirkulyasiyasida bulgan limfotsitlar kelib tu-shadi.Kkon tarkibidagi antigen xam, shu mintakaga kelib tushishi va u erda kozir bulgan makrofaglar yordamida fagotsitozga uchrashi mumkin. Buning natijasida V — limfotsitlar faollashsa, ular

avvaliga bulina bosh-laydi, keyin esa antitana kosil kiluvchi kujayralar darajasiga kutariladi.²

Nazorat savollar

- 1.Limfoid tizim haqida tushuncha bering
- 2.Limfa tugunlari qanday vazifani bajaradi?
- 3.Gumoral immunitet haqida tushuncha bering
- 4.Xujayraviy immunitet vazifalari nimalardan iborat?
- 5.Taloqning nima uchun ikkilamchi limfoid organ hisoblanadi?

Mavzu-3: Immunoglobulinlarni tuzilishi

Reja:

1. Antitelalar faol markazi va uning roli.
2. Immunoglobulinlarga proteolitik fermentlar ta'siri
3. Immunoglobulinlar sintezida makrofaglarni ahamiyati
4. Komplement sistema va uning faollashuvi

Antigen – bu yot modda bo'lib, u organizmga kirishi bilanoq o'ziga qarshi va spetsifik bo'lgan, o'z navbatida antigen bilan o'zaro ta'sirlashadigan yangi oqsillarni vujudga keltiruvchi immunogen faol modda hisoblanadi. Antigen sifatida turli moddalarni jumladan, mikroorganizmlar, viruslar, polisaxaridlar, turli oqsil moddalar, hujayra, hottoki to'qimalar ham rol o'ynashi mumkin. Umuman olganda antigen deb shunday moddani aytish mumkinki, ya'ni organizm uchun yot bo'lgan modda organizmda unga qarshi bo'lgan yangi oqsil moddani – glikoproteidlar sinfiga kiruvchi immunoglobulinlarni sintezlanishiga olib keshishi kerak. Bordini yot modda organizmga kirsam, antitelalar hosil bo'lmasam, bunday moddalar serologik jihatdan faol modda hisoblanmaydi. Biologik faol moddaga nisbatan antitelalar hosil qilish kerak bo'lsa, avvalo ana shu moddaning titri, ya'ni serologik jihatdan faolligi aniqlanadi. So'ngra immunologik jihatdan stimullovchi moddalar bilan (adyuvand Freyda moddasi yoki boshqa stimulyatorlar) xayvon organizmiga yuboriladi va shundan so'ng organizmda antitelalar hosil bo'lish jarayoni kuchayadi. Organizmda sintezlangan antitelalarda faol markazlari mavjud bo'lib, V-variabel qismi deb yuritiladi. Antitelalar ana shu variabel qismi bilan antigen bilan o'zaro ta'sirlashib bog'langanda, ulardagi faol markazlar muhim rol o'ynaydi. Antigenda mavjud bo'lgan faol markaz, ya'ni antitelo bilan bog'lanadigan qismi - antigen determinanti deb ataladi.

Immun sistemani faoliyatini kuchaytiruvchi va vujudga keltiruvchi antigen, yuqorida qayd etganimizdek, immunogenlik xususiyati kuchli modda hisoblanadi. Ko'pincha antigenlar oqsil tabiatiga ega moddalar bo'lib, organizmda albatta ma'lum bir immunologik reaksiya turini amalga oshiradi. Ammo antigenlik xossalari past bo'lgan, ba'zi boshqa turdagi moddalar ham mavjuddir. Masalan, nuklein kislotalar, antibiotiklar, garmonlar, yog'lar, gaptenlar shular jumlasidandir.

Antigenlik yoki immunogenlik xususiyati past bo'lgan moddalar asosan kichik molekulali moddalar hisoblanib, ular gaptenlar deb yuritiladi. Kichik molekulali birikmalarni o'zaro yoki boshqa makromolekulalar bilan birlashtirib /assotsiatlarni, ya'ni immunogenlik xususiyatini hosil qiluvchi moddalar/ gibridda, molekulyar massasi katta bo'lgan moddalarni sintezlash mumkin. Bundan tashqari antigenlarni sun'iy ravishda olish mumkin. Hozirga kunda sun'iy sintezlangan makromolekulalar hosil qilish bilan immunoximiya yo'nalishida faoliyat ko'rsatayotgan bir guruh olimlar shug'ullanishmoqda.

² Virendra Gomase, Sunilkumar Dwivedi. Immunobiotexnology. 2011.

Antigen haqida soʻz borganda shuni aytib oʻtish lozimki, antigenlar faqat tashqi muhitdan kiradigan moddalar hisoblanmay, balki organizmda fiziologik oʻzgarishlar natijasida hosil boʻlgan, organizmning shaxsiy oʻziga xos molekulalari ham antigen hisoblanadi. Ular ham spitsefik oqsillar-antitelolar hosil boʻlishiga koʻmaklashadigan, genetik jihatdan muhim ahamiyatga ega boʻlgan oqsil tabiatli moddalar guruhi hisoblanadi.

Immunoglobulinlar gruppasiga kiruvchi barcha murakkab oqsillar plazma oqsillaridir. Antitelolarni yaʼni immunoglobulinlarni kimyoviy tuzilishi, funksiyalari juda mukammal oʻrganilgan. Ularda ikki turdagi zanjir mavjud boʻlib, ularning ogʻir zanjirlari N-zanjir va engil zanjirlari esa L- zanjir deb yuritiladi. Ushbu zanjirlar turli ogʻirlikka ega boʻlib, 4 ta polipeptid zanjirdan yaʼni 2ta ogʻir va 2ta engil zanjirdan tuzilgan. Quyida koʻrsatilgan rasmda antitelani tuzilishi va uning qanday qismlardan tashkil topganligi sxematik ravishda tasvirlangan. Ogʻir va engil zanjirlar bir-bilan sulfid koʻpriklari orqali bogʻlangan / -N/ bogʻlar. Xuddi shunday bogʻlar ikkala ogʻir zanjirlar orasida ham bor. Har bir engil va har bir ogʻir zanjirlarda ichki bogʻlar mavjud boʻlib, ular ikki tipdagi uchastkalarga ajraladi: doimiy uchastkaga- yaʼni har xil immunoglobulinlarda turlicha boʻladigan aminokislotalar ketma-ketligidan iborat qismga, /S va SN uchastkalar/ va doimiy boʻlmagan qismga, yaʼni variabel uchastka, ularda aminokislotalar ketma-ketligi oʻzgaradi. Immunoglobulinlarning giper-variabel qismi antitelaning faol markazi hisoblanib, ushbu qism segmentlari toʻgʻridan toʻgʻri u yoki bu antigen bilan oʻzaro taʼsirlashib bogʻlanish uchun javobgardir. Har qaysi uchastka 60-70tagacha aminokislota qoldigʻidan tashkil topgan, xalqa shakliga ega boʻlib, fazoviy koʻrinishda tahlangan tuzilishga ega boʻlib koʻrinadi.

Ikkita ogʻir zanjirning S-oxirgi boʻlaklari immunoglobulin molekulasida effektor qismi hisoblanib, baʼzi fiziologik faol moddalarni, masalan komplementni bogʻlash vazifasini bajaradi. Antitela bilan taʼsirlashgan antigen antitelani boqlovchi uchastkani hosil qiladi. Variabel va konstant uchastkalar funksional uchastkalar boʻlib, antigenni tanishga javobgardir. Immunoglobulinlarda N-bogʻlarni turiga qarab, ularni 5ta sinfga ajratish mumkin. Masalan IgA, IgM, IgD va IgG, IgE ga ajratiladi. Ularni tuzilishi ikkinchi rasmda koʻrsatilgan. Immunoglobulinlarni ogʻir zanjirlari, H zanjirdagi – bogʻlari jiddiy farqlanadi. Engil va ogʻir zanjirlarni bir-biriga solishtirish ular strukturasida oʻxshash aminokislotalar ketma-ketligi mavjudligini koʻrish mumkin. Immunoglobulinlarning zanjirlarini ssingi uchastkasi S – uchastka deb belgilanadi va antitelaning konstant qismi hisoblanadi. Ohir zanjirdagi konstant qism- Sn uchastka deb yuritiladi. Bundan tashqari ogʻir va engil zanjirlarda domenlar mavjud boʻlib, ular immunoglobulin harakatini taʼminlaydi. Ogʻir zanjirda 3ta, engil zanjirda esa 1tadan domen mavjuddir. Ogʻir zanjirdagi domenlar variabel va konstant domenlarga boʻlinadi. Sn1 ogʻir zanjirning birinchi konstant domenini bildiradi.

Immunoglobulinlar oʻzlariga xos boʻlgan, alohida genlarda sintezlanadiler. DNK strukturasida immunoglobulinlarni doimiy va variabel uchastkalar haqida maʼlumot yozilgan gen uchastkalari boʻladi. Ushbu gen uchastkalari bir necha tur antitelalar hosil qilishga javobgar hisoblanadi. Hujayra darajasida immunoglobulinlarni hosil boʻlishi uch turdagi xujayralarni kelishilgan ishtirokida kechadi, yaʼni T - limfotsitlar V - limfotsitlar va makrofaglar. Makrofaglar komplement sistemasi uchun retseptorlarga ega hujayra hisoblanadi. Organizmga tushgan antigen spetsifik kompleks koʻrinishida T xujayraga va makrofagga yoki faqat makrofagga bogʻlanadi. Makrofag antigenni antitelalar sintezini stimullaydigan immunogenga aylantiradi. Makrofagni antigen bilan bogʻlanishi V-limfotsitlarni koʻpayishiga ham sabab boʻladi. V- limfotsitlar antitelalarni sintezini boshlash uchun, plazmatik xujayralarga aylanadi va oʻziga xos antitelalarni sintezlay boshlaydi.

Antitelalar faol markazi va uning roli. Antitelalar molekulalari orasidagi ingichka boʻshlik antigen bogʻlovchi maydonni hosil qiladi. Faol markazda gipervariabel yuqori darajada oʻzgaruvchanlikka ega uchastka segmentlari joylashgan boʻladi. Aminokislota ketma-ketligi bilan farqlanadigan antigen bogʻlovchi uchastka antigen determinantini

komplementar o'zaro ta'sirini ham ta'minlaydi. Bu o'rinda shuni aytib o'tish lozimki, bitta politseptid zanjiridan hosil bo'ladigon fermentlarning aktiv markazidan farqi o'laroq, antitelalarda kombinatsion xilma- xillikni ta'minlaydigon ikkita zanjir ishtirok etadi. Buning natijasida ularda yangi xususiyatlar vujudga kelib, ular polispetifik hisoblanadi, ya'ni birgina antitela molekulasi, bir kator antigenlar to'plamiga komplementar bo'lishi mumkin. Bunday holatda, antitela o'xshash tuzilishga ega antigen determinantlari hamda umuman boshqa struktupara ega determinant bilan ham birikishi mumkin.³

Nazorat savollari:

1. Antitelalar faol markazining tuzilishi
2. Immunoglobulinlarga proteolitik fermentlar qanday ta'sir ko'rsatadi?
3. Immunoglobulinlar sintezida makrofaglarni roli nimada?
4. Komplement sistema haqida tushuncha bering
5. Komplement sistema va uning faollashuvi qanday amalga oshadi?

Mavzu-4: Immunoglobulinlarni organizmda hosil bo'lishi

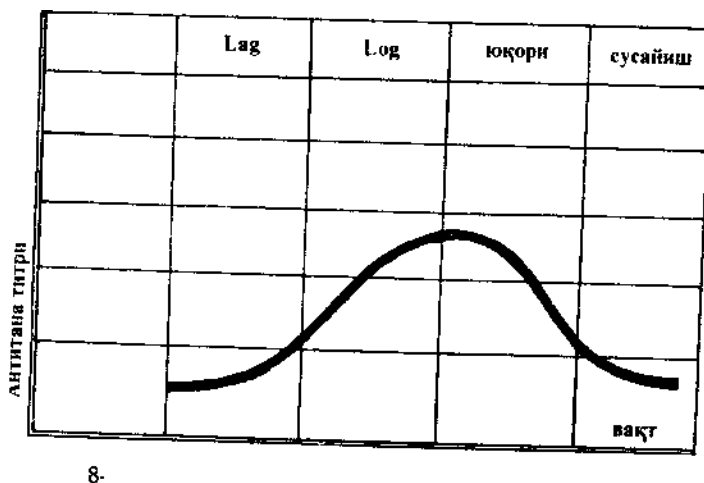
Reja:

1. Immun javob hosil bulishi
2. Birlamchi immun javobni hosilbo'lishi
3. Ikkilamchi immun javobni hosil bo'lishi
4. IgM va IgG larning funksiyalari.

Immunologik tizimdagi begona antigenlarga nisbatan sodir buladigan javob reaksiyalari kupincha antigen tabiatga, uning organizm bilan bulgan alokka davriga boglik buladi. Antigen bilan tuknashuvning dastlabki davrida sodir buladigan antitanalar ishlab chikarish, immunoglobulinlarni organizmda xosil bo'lish dinamikasiga nazar tashlasak, immunitet mexanizm asoslarini tushunishimiz mumkin. Agar biz kuyon organizmiga bakteriya maksulotini, jumladan, stolbnyak (kokshol) anatokeinini kiritsak, IKOH tarkibida birinchi antitanalar xosil bulishiki bir necha kun kutish kerak. Asta-sekin antitanalar mikdori ortib, eng kuzori kursatkichga ega buladi. Ma'lum vakt utgach, ularning mikdori kamayib boradi. Agar kayvonga bir kancha vatstdan sung ikkinchi marotaba anatoksin kiritsak, undagi javob reaksiyasining jadalligi keskin uzgaradi, ikki-uch kun ichida antitanalar mikdori ni-koyatda kupayib ketadi. Ana shunday uzgarish ikkilam-chi immunologik javobni yuzaga keltiradi, bu antitanalar ishlab chikarish jarayonining nikoyatda sermak-sulligidan dalolat beradi. Umuman olib qaraganda, immunologik javob bir necha boskichdan tashkil topadi. Latent, ya'ni yashirin davri ichida (kupincha Lag davri deyiladi) antitanalar mirkdorini aniklab bulmaydi. Undan keyingi davr-da (Log davr) antitanalarning uziga xos sintezi ju-da avj oladi. YAshirin davr ichida, IKOH doirasida ozod antigenlar mavjud buladi. SHu vakt davomida kosil bulgan antitanalar antigenlarni uziga biriktiradi va shu tarifa immunologik komplekslarni kel-tirib chikarib, ularni uloktiradi.

³ Daniel C. Adelman, Thomas B. Casale, Jonathan Corron. Manual of allergy and immunology 2012.

1-rasm. Birlamchi immunoglobulinlar immunologik javob reaksiyasi



8-

javob jarayonida «plato» ga (shipga etgan satki) etgan antitanalarning satxi, birlamchi immunologik javobnikiga nisbatan ortik buladi. Uchinchi far1\i shundaki, birlamchi immunologik javobda asosiy sintez kilinuvchi antitanalarning sinfi IgM-ni tashkil kkiladi. Nikoyat, tur-tinchi fark antitananing affinitet xususiyatlariga borlik. Antitanalarning bu xususiyati asosan, ikkilamchi javob jarayonida yavdol kurinadi. Immunoglobulinlar ko'p xolatlarda tarkiban toza bo'lmaydi. Ushbu komponentlarni o'zaro ta'sirlashuvlarini yuqori darajada amalga oshishi ularning tozalik darajasiga bog'liqdir. Bu o'rinda ularning o'zaro reaksiyalariga to'xtalsak, immunoglobulinning gipervariabel uchastkasi molekulasining tuzilishiga qarab, bir yoki bir necha gruppaga antigenlar antitelalar bilan o'zaro spetsifik ravishda ta'sirlashishi mumkin. Bunday holatda antigen va antitela orasida hosil bo'layotgan bog'lanish juda yukori bo'ladi. Biroq ba'zi xolatlarda ko'p mikdordagi antigen antitela komplekslariga ta'sir etadi. Antitela molekulasida simmetrik va kami bilan antigen bog'lovchi ikkita markazga ega. U ikkita xar xil antigen molekulasiga tegishli xar xil antigen determinantlari bilan o'zaro ta'sirlanishi mumkinligini bildiradi. SHuning uchun antigen-antitela komplekslari hosil bo'lishida cho'kmalar vujudga keladi, ya'ni pretsipitatlar. Pretsipitatsiya reaksiyasi jarayonlari mohiyatini tushunishda ushbu tushuncha muhim ahamiyat kasb etadi. Agar antigen oqsil modda bo'lmay, xujayra bo'lsa, unda xujayra yuzasidan ko'p mikdorda aynan shu antitelalarni boglaydigan determinantlar mavjud bo'lishi mumkin. Bunda yuzadagi manfiy zaryadlarni ekranlashishi yuz beradi va xujayralar yopishadi va agglyutinatsiya reaksiyasi amalga oshadi. Antigenlarni tezkor va xattoki yuqorida qayd etilgan klassik immunologik usullar yordamida aniqlashda ularga mos antitanalarni spetsifikligini yanada oshirish, ularni yuqori darajada toza bo'lishini taqozo etadi. Antitanalar ma'lumki qon zardobida mavjud bo'ladi. Qon tarkibida esa, antitanadan tashqari, ya'ni immunoglobulinlardan tashqari bir qator turli tabiatga ega moddalar bordir. SHu sababli ushbu moddalarlardan antitanalarni ajratib olish talab etiladi. Antitanalarni tozalashni bir necha usullari bor. Ulardan biri affin xromatografiya usuli yordamida yoki turli moddalar yordamida cho'ktirish yordamida amalga oshiriladi. Bunda 2 ml qon zardobi olinib, unga 1:1 nisbatda distillangansuv solinadi va polietilenglikolning (PEG) 20% suvdagi eritmasi solinadi. SHundan so'ng 8000 ob/ minda 15 min davomidaa senrifugulanadi. Sentrifugalash natijasida xosil bo'lgan cho'kmani 4 ml 20% PEG ning suvli eritmasidan solib cho'kma xosil qilib, ikkinchi marta 15 min yana qaytadan

rlamchi antitana javobini xarakterli chizik tarzida ifodalash mumkin (8-rasm). Birlamchi va ikkilamchi immunologik javob reaksiyalarini bir-biri bilan takdoslab kursak, ular urtasida keskin fark borligini kurish mumkin. Birinchidan, bu jarayonlarning sodir bulish vakti turlicha bulib, ikkilamchi immunologik javob juda kiska davom eta-digan Lag fazasidan iborat buladi. Ikkinchi fark; bu antitananing titridir. Ikkilamchi

senrifugulanadi. So'ngra, xosil bo'lgan cho'kmani 1 ml fosfat buferida eritib, so'ngra 18 soat davomida dializ qilinadi. Immunoglobulinlarning konsentratsiyasi spektrofotometrda 280nm aniqlanadi va formula yordamida xisoblanadi.⁴

Nazorat savollari:

1. Organizmda immun javob hosil bulishini tushuntiring
2. Birlamchi immun javobni hosil bo'lishida qanday faktorlar muhim rol o'ynaydi?
3. Ikkilamchi immun javobni hosil bo'lishida qanday faktorlar muhim rol o'ynaydi?
4. IgM va IgGlarning funksiyalari va xususiyatlari.

“SWOT-tahlil” metodi

Ushbu texnologiya munozarali masalalarni hal etishda, baxs –munozaralar o'tkazishda yoki o'quv seminari yakunida, yoki o'quv rejasi asosida biron bir bo'lim o'rganib bo'lingach qo'llanilishi mumkin. Bu texnologiya tinglovchilarni o'z fikrlarini himoya qilishga, erkin fikrlash va o'z fikrini boshkalarga o'tkazishga, ochiq xolda baxslashishga, o'quv jarayonida egallagan bilimlarini tahlil etishga, qay darajada egallaganliklarini baholashga hamda tinglovchilarni baxslashish madaniyatiga o'rgatadi.



Namuna: yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulining SWOT tahlilini ushbu jadvalga tushiring.

S	Organizmda immun javob hosil bulishini fzallik tomonlari	Bir vaqtning o'zida tekshiri-luvchi noddan ham chinligi, ham to'zalagi ra ham miqdorini aniqlashga imkon eradi..
---	---	---

⁴ Smyth J.E., Biotechnology. Cambridge:Cambridge University Press, 2009.

W	Birlamchi immun javobni hosil bo'lishida faktorlar muhim rol o'ynaydi	Asbob qimmat turadi...
O	IgM va IgGarning funksiyalari va xususiyatlari.	Internet bilan bog'langan...
T	To'siqlar (tashqi)	Elektr bo'lmasa ishlamaydi...

Mavzu-5: Antigen va antitana reaksiyalari

Reja:

1. Immunologik reaksiya mohiyati.
2. Imun kompleksning hosil bulishi
3. Polivalent antigenlar
4. Flyuretsent moddalar yordamida antitanani nishonlash
5. Ferment yordamida antitanani nishonlash



Immunologik reaksiyalarni yukori spetsifikligi biologik aktivmoddalarni aniklashning sezgir metodlarini ishlab chikish nukta nazaridan katta qizikish uyg'otdi va bu o'z navbatida klinik diagnostika uchun alohida axamiyat kasb etdi deb aytilsa mubolag'a bo'lmaydi. Antigen-antitela kompleks ma'lum sharoitda hosil bo'lsa, ushbu kompleksni eritmada cho'kmaga tushganligi uchun tez aniqlash mumkin bo'ladi. Polivalent antigenlar polivalent antitelalar bilan o'zaro ta'sirlashib, katta to'rsimon komplekslarni hosil kiladilar va ular reaksiya davomida o'zgarmaydilar. Eritmada antigen-antitelo konsentratsiyasi taxminan teng bo'lgan vaktda, bunday komplekslar juda to'lik pretsipitatsiyalanadi. Eritmada antitela ko'p bo'lgan vaktda, antigenning bitta molekulasi bir nechta antitela molekulalari bilan bog'lanishi mumkin, antigen ko'p bo'lgan vaktda esa, antigen bog'lovchi uchastkalar tuyinadi va ortiqcha immun komponentlarni qolishiga sabab bo'ladi. Ma'lum miqdordagi immun komplnkslar ikkala holda ham sodir bo'ladi. Pretsipitatsiya reaksiyalari amalga oshirishdan oldin, antizardob tarkibidagi antitelalar mikdoriga, to'g'ri keluvchi antigenning ma'lum miqdori qo'shiladi va reaksiya olib boriladi. Reaksiya o'tkazilgandan so'ng esa, antigen antitela xususiyatiga karab,cho'kmada ularning mikdori aniklanadi.

Biroq cho'kmaga tushgan kompleks har doim ham maksimal miqdorda bo'lavermaydi, chunki pretsipitatsiya reaksiya borishi uchun antigen ko'p miqdorda bo'lishi kerak.

Serologik reaksiyalarni aniqlashda keng tarqalgan metodlardan biri agar gelining poralarida qo'sh diffuziya metodi hisoblanadi. Antigen va antitelaning o'zaro ta'sirida ularni uchrashish /qo'shilishi/ joyida pretsipitatsiya chizigi hosil bo'ladi. Bu reaksiya ikkala immun komponentning bir-biriga spetsifikligini bilish uchun juda muhimdir. Immun komponentlar spetsifikligini aniqlash usullaridan yana biri immunoefektorez usuli hisoblanadi. Bunda bir yunalish buyicha antigenlarni, boshqa yunalish buyicha esa antitelalarni ajratish mumkin bo'ladi.

Immun komponentlarni aniqlashda ularning sezgirligini oshiruvchi usullar ham mavjud bo'lib, ushbu usulga misol qilib, radioimmunologik metodni aytib o'tish mumkin. Radioimmunologik usul o'ta yuqori sezgirlikka ega bo'lib, bunda antigen va antitela radiaktiv izotop bilan nishonlanadi va radioaktivlikning miqdoriga qarab, kerakli komponentni konsentratsiyasi aniqlanadi. Radiaktiv nishon o'rniga flyuoretsent moddalarni ham nishon sifatida qo'llash mumkin. Ammo immunologik reaksiyalar samarasini oshirish nuqtai nazaridan, nishon sifatida ferment preparatlarini qo'llash bir muncha afzalliklarga ega bo'lib chikdi. Sababi bu holda metodni sezgirligi bir necha ming barobar oshadi. Chunki fermentlar blokkalizatorlar bo'lib, o'z substratini maxsulotga aylanish reaksiyasini o'ta yuqori darajada tezlashtirish qobiliyatiga egadir. Asosan ferment molekularidan nishon sifatida foydalanish o'tgan asrning 60- yillarida taklif etildi. SHundan so'ng esa, immunoenzim tahlili metodlariga asos solindi. Keyingi yillarda esa, ushbu yo'nalish, ya'ni immunobiotexnologiya fani sifatida rivojlanib, taraqqiy eta boshladi va bu sohada katta yutuqlarga erishildi. Immunobiotexnologiyaning eng katta yutuqlaridan biri –bu itmmunoenzim tahlilini ishlab chiqilishidir. Ushbu tahlilning selektivligi, uning negizida bir kator yangi aniklash metodlarini vujudga keltirdi. Bu sohadagi asosiy yutuklar ferment -substrat va antigen-antitela, hamda makromolekular biologik spetsifikligiga asoslangan reaksiyalarni o'rganish va ularning o'ziga xos tomonlarini aniqlash tufayli qo'lga kiritildi.

Turli antigenlarni va viruslarni diagnostika qilishda bir qator mmunologik testlar qo'llaniladi. Viruslar – antigen sifatida bir necha xil antigen determinantlarga ega antigen hisoblanib, ularni hayvon organizmiga yuborganda, ularga karshi antitanalar hosil bo'lishi kuzatiladi. Sababi viruslar, antigenlik xususiyati ega bo'lgan, turli antigen determinantasi mavjud bo'lgan mikroorganizm hisoblanadi. Viruslar nuklein kislotasini o'rab turgan tashqi oqsil qavatidan tashkil topgan bo'lib, antitana hosil kilishda sabab bulgan antigen determinantlari esa, odatda 3-----5 yo'nalishga ega aminokislota qoldiqlaridan iborat bo'ladi.

Kimyoviy tabiatiga ko'ra antitanalar qon zardobi oqsillari hisoblanib, glikoproteidlar sinfiga kiradi va immunoglobulinlar deb yuritiladi. Qon zardobi oqsillarini boshqa oqsillardan farqi o'laroq, har hil effektor funksiyali geterogen populyasiyalar hosil qilishidadir. Sun'iy immunizatsiyada hosil bo'ladigan turli antitanalar – asosan 5 ta sinfga mansub bo'lib, ular ko'p holatlarda o'ziga xos xususiyatlari bilan serologik testlarda muhim rol o'ynaydi.

SHu vaqtgacha ishlab chiqilgan immunologik metodlar antigen va anti zardob oqsillari o'rtasida bo'ladigan munosabatlarga asoslanib, ushbu metodlarni bir qancha gruppaga bo'lish mumkin. Birinchisi – bu antigenlarni o'ziga xos antitanalar bilan pretsipitatsiyalanishiga ya'ni agar gelida /cho'kishiga/ asoslangan metoddir. Boshka gruppaga metodlari pretsipitatsiya reaksiyasiga asoslangan bo'lib, ammo pretseptitatsiya antigen va antitelolarni agar poralaridagi diffuziyasidan so'ng yuz beradi. Ushbu usulda elektr maydoni orqali diffuziya jarayonini tezlashtirish mumkin. Bir qator metodlar, agglutinatsiyaga asoslangandir, ya'ni antizardob bilan /antitela/ antigenni o'zaro "yopishishiga" asoslangandir. Hosil bo'lgan agregatlarni oddiy ko'z bilan (yoki bir muncha kattalashtirgan holda) kuzatish mumkin.

Pretsipitatsiya reaksiyasi. Eng birinchi va keng qo'lamda qishloq ho'jaligida qo'llaniladigan metodlardan biri bu- tomchi metodi, hamda ammoniy – sulfat metodlaridir. Tomchi metodini amalga oshirish jarayoni da o'simlikni tozalanmagan soki

bir tomchi antizardob bilan buyum oynachasi ustida aralashtiriladi. Xloroplastlarga, hujayra devorlari – parchalari, mitoxondriyalar va boshqa o‘simlik komponentlariga yopishgan virus zarralari shu virus antizardobi bilan spetsifik ravishda bog‘lanib, ko‘rinarli darajada pretipitat hosil qiladi. KMD tozalanmagan o‘simlik shirasi asosida olib borilgani uchun, yuqori sezgirlikka ega emasdir. SHuning uchun ham u faqat o‘simlik bargida yuqori konsentratsiyada to‘planagan viruslarni aniqlashda qo‘llaniladi. Ammo zarari katta bo‘lgan va bargda kam to‘planadigan viruslar uchun, masalan, VTM, XVKlar uchun bu metod yaxshi natija bermaydi. KMDning, ya‘ni tomchi metodining boshqa bir usuli mavjud bo‘lib u halqapretsipitatsiya usuli deb ataladi. Ushbu virus o‘ziga xos antizardob bilan kontakda bo‘lganda pretsipetatdan iborat halqa hosil bo‘ladi. Xalqa hosil qiluvchi metod tez amalga oshishiga qaramasdan sezgirliги juda pastdir.

Ammoniy – sulfat metodi /ASM/ KMDga o‘hshash usul hisoblanib, faqat ba‘zi xalaqit qiluvchi xujayra shirasidagi ba‘zi komponentlarni avval yo‘qotish kerak bo‘ladi. SHu sababli ushbu usulda avval hujayra komponentlarini yo‘qotish uchun xujayra shirasiga ammoniy sulfat bilan ishlov berilib, keyinchalik sentrifuga qilinish yo‘li bilan olib tashlanadi. ASM KMDga nisbatan juda ham katta afzalliklarga ega emas.

KMDga o‘hshash uning mikrovariantli reaksiya turi bu mikropretsipitatsiya usuli hisoblanadi (RMP). Bu holatda gidrofob yuzada reagentlar viruslar va antizardob (AS) aralashtiriladi, bug‘lanishni oldini olish uchun ustidan paradin moyi quyilib, aralashtiriladi va ma‘lum vaqt, ya‘ni 24 soat davomida inkubatsiya qilinadi. SHundan so‘ng olingan natija baholanadi. Bu metodlarni sezgirlik daradasi I mkg/ml dan oshmaydi, reaksiya muddati bir necha soatdan bir necha sutkani tashkil etadi.

Diffuzion testlar – Ko‘zga ko‘rinadigan pretsipitatlarni hosil bo‘lishi uchun immunodiffuziya reaksiyasi (RID), ikki tomonlama diffuziya reaksiyasi (RDD), immunoelektroforez (IEF) oson hamda sezgir testlar hisoblanadi. RIDni o‘tkazish uchun antigen bilan to‘ldirilgan agardagi o‘yiqchalardan foydalaniladi. O‘yiqchalar atrofidagi, ya‘ni agar gelida hosil qilingan o‘yiqchalar antizardob bilan to‘ldiriladi. SHundan so‘ng ma‘lum muddat inkubatsiya qilinadi (48 soat). Inkubatsiyadan sung agar geli maxsus bo‘yoq yordamida bo‘yalsa, hosil bo‘lgan pretsipitat chiziqlar hosil bo‘lishini kuzatish mumkin. Izometrik viruslar ancha oson diffuziya bo‘ladi va yaxshi farqlanuvchi chiziqlar hosil bo‘lishini kuzatish mumkin 0,75 % agar gelida X -ipsimon viruslar diffuziyasini oson amalga oshirish mumkin. Diffuziyani engillashtirish va mahsus pretsipitatlarni hosil bo‘lishini tezlatish uchun virus antigeni sifatida gidrolizlangan virus zarralari ishlatiladi. Buning uchun ba‘zi kimyoviy moddalardan foydalanish mumkin. Masalan, piridin, pirrolidin, farmonid, mochevina, natriy dodetsilsulfat kabilar yoki ultratovush, termodenaturatsiya kabi fizik ta’sirlardan foydalanish mumkin. Natijada virusni to‘la dezagodatsiyasi qilish mumkin. Ushbu jarayondan so‘ng, virus kapsidining oligamerlari /D-protein/ hosil bo‘ladi va ular pretsepitatsiya reaksiyasini amalga oshiradi. Ko‘pgina holatlarda D – proteinlarning immunohimiyaviy o‘ziga hosligi birlamchi nativ virusnikidan farq qiladi. Natijada denaturatsiya bo‘lgan virus pretsepitatsiya chizig‘ini hosil qilmaydi. Ushbu holatni dezagodatsiya qilingan VSHI, XVK , BK kabi viruslarda kuzatish mumkin.

RDD da agar AS bilan shimdirilmaydi, pretsipitatni hosil bo‘lishi virus antigeni gamologik antizardoblar bilan to‘latilgan o‘yiqchalar orasida hosil bo‘ladi. YUqorida qayd etilgan metodlarda jumladan RID va RDDlar qo‘lanilganda ba‘zi muammolar kelib chiqadi. Masalan, RIDning sezgirliги RDDdan ancha yuqoridir. Bu holat XVK virusi aniqlanganda yaxshi ko‘rinadi. RID usuli yordamida XVK virusini aniqlanish miqdori I,0 mkg/ml tashkil etsa, RDDda esa bu ko‘rsatgich 10mg/mlni tashkil etadi. XVK virusi D proteinini RID asosida va RDDi yordamida aniqlab, RMPka metodiga solishtirilsa, RMK ning ancha sezgirliğini ko‘rsatganliğı aniqlangan. Bunda RMPning sezgirliğı 0,5mkg/mlni RIDniki – I,0 mkg/ml va RIDniki esa 10mkg/mlni tashkil etdi. Bu o‘rinda shuni qayd etish lozimki, yuqoridagi usullarning sezgirliğı qator faktorlarga bog‘liq bo‘ladi. Bunda virus va antitela komponentlari muhim rol o‘ynaydi. YA‘ni ularning

tozalik jarajasi, ishlatilayotgan moddalar konsentratsiyasi, nospetsifik jarayonlar shular jumlasidandir.

Barcha reaksiya sharoitiga ta'sir etuvchi omillarni hisobga olgan holda, aniqlanayotgan antigen virusini aniqlanish darajasini 1 - 2 mkg/mlga ko'tarish mumkin. Bunda ishlatilayotgan antizardob yuqori titrga ega bo'lishi kerak. Ushbu usulga bir necha omillar ta'sir etishi mumkin. Masalan, o'yiqchalar razmeri, ular orasidagi masofa, detergentning konsentratsiyasi va agarning tozalik darajasi shular jumlasidanlir.

YUqorida ko'rsatilgan misollardan ko'rinib turibdiki, RID va RDD yordamida turli antigenlarni, shu jumladan o'simlik viruslarini serologik jihatdan tahlil qilish mumkin. 90mmli Petri likopchasida 500-600ta namunani joylashtirib, kerakli natijani olish mumkin. Barcha immunodiffuzion testlarni amalga oshirish va testning aniqlik darajasi, antigen va antiteloni diffuziylanishiga bog'liq bo'lib, diffuziylanish qanchalik yuqori bo'lsa, test natijasi shunchalik aniq bo'ladi. Testni borishida paydo bo'ladigan noaniqlik, nospetsifik reaksiyalarga bog'liq bo'ladi. YA'ni bunday holatda, ba'zida maxsus bo'lmagan reaksiya turlari amalga oshib, yolg'on musbat pretseptitsiya zonalarini hosil bo'lishiga olib keladi (komponentlarni denaturatsiyasi asosida hosil bo'ladigan ba'zi komponentlar, shuningdek, turli "tikuvchi" va "yopishtiruvchi" agentlarni bo'lishi).

Agglyutinatsiya reaksiyalari. (Lateks –test LT) YAna bir ancha keng tarqalgan testlar gruppasiga aggmotinatsiya reaksiyalariga asoslangan testlar guruhini kiritish mumkin. Agar birorta "olib yuruvchi tashuvchi"- (lateks, bentonit, bakteriya xujayralari, eritrotsit va hakovzalar) AS bilan sensibilizatsiya qilingan bo'lsa va tashuvchi gomogen suspenziyasiga virus solinsa, bunda har xil razmerli agregatlar hosil bo'lishi kuzatiladi. Masalan, polistrol lateksga asoslangan agglyutinatsiya reaksiyasi yordamida fitoviruslar aniklangan. Bunda 0,31 mkm razmerli lateks zarrachalari immunoglobulin fraksiyasi bilan sensibillanadi. So'ngra bu diagnostikumni bir tomchisi shisha plastinka yoki kapillyarda bir tomchi o'simlik shirasi bilan aralashtiriladi, hamda maxsus aralashtirgichda chayqatiladi. Agar musbat reaksiya bo'lsa, lateks zarralari agglyutinatsiyasi kuzatiladi. Reaksiya natijasini oddiy ko'z bilan yoki mikroskopni kichik ob'ektivida (kattalashtirilgan holatda) ko'rish mumkin. Ushbu jarayonning amalga oshirish muddati ancha kam vaqttni ya'ni 10-60 minutni tashkil etadi. Lateks testni takomillashtirilgan formasi ham mavjud bo'lib, u oltin, ya'ni tilla kabi sariq yaltiroq stafilokokkni A-oqsili asosida boradigan reaksiya turidir. Lateks-test reaksiyasida- lateks zarrasi A- stafilokok oqsili bilan, keyin esa antizardob bilan aralashtirilib, reaksiya qo'yiladi. Bunda ushbu usul bilan ba'zi viruslar diagnostika qilinganda, uning sezgirligi 2-16 ga ko'tarilishi aniqlangan. Bunda ushbu usulning sezgirligini oshishini quyidagicha izohlash mumkin. Birinchidan, lateks A oqsil bilan sensibilizatsiya qilinsa, oqsil unga yaxshi birikadi va uning birikish mikdori boshqa oqsillarga qaraganda ancha ko'p miqdorni tashkil etadi. Ikkinchidan lateksga nisbatan, xaos bo'lib joylashgan antiteloning aktiv markazlari tashqi tomonga yunalgan holatda joylashadi.

LT ning yukori sezgirligi, tezligi, past titrga ega zardoblarni qo'llash mumkinligi LTni faqat laboratoriyada o'tkaziladigan ilmiy tadqiqot ishlarida emas, balki, dala sharoitida olib boriladigan ba'zi ishlarda ham qo'llash mumkin. Uning yordamida kartoshkani X, U viruslarini 4-10 minut ichida aniklash mumkin.

Bentonit flokulyasiyasi testi - /BFT/ spetsifik antitela bilan sensibillangan bentonitni virus zarrasi ishtirokida agglyutinatsiya bo'lishiga asoslangan. Bentonit-ozon gidratlanadigan alyumosilikat bo'lib, suspenziya holatida, nospetsifik ravishda oksillirni biriktiradi. Uni sesibillash uchun suyultirilmagan antizardob, ya'ni sulfat ammoniy bilan cho'ktirish natijasida olingan gamm-globulin fraksiyasi ishlatiladi. Reaksiyani amalga oshirish jarayoni, xuddi LTga juda o'xshashdir. Ushbu metod asosida VTM tomatini halka mozaykasi, soya mozaykasi viruslarini toza preparatlari 0,3-1 mkg/ml gacha bo'lgan miqdorini aniklash mumkin.

Noto'g'ri gemmaglmotinatsiya reaksiyasi /RNGA/ fitoviruslar aniklashda ancha kam qo'llaniladi. RNGA odatda kapsid oksilida gemaagglyutini bor viruslarni aniklashda

ishlatiladi. Odatda eritrotsit diagnostikum noto'g'ri usulda tayyorlanadi: eritrotsitni ustiga antitelalar polifunksiyali tikuvchi agentlar (gludar dialdegidi, formaldegid, xromxlori, tanin va boshqa moddalar) yordamida "tikiladi". SHundan so'ng unga aniqlanayotgan modda, ya'ni antigen solinadi va ma'lum muddat inkubatsiya qilinadi. Reaksiya jarayoni nihoyasiga etgandan so'ng, natija tahlil qilinadi. Ushbu usul yordamida VSHMYA virus preparati aniklangan bo'lib, uning sezgirligi 0,01 mkg/mlni tashkil etgandir. Bundan shunday xulosa qilish mumkinki, bir qator viruslar uchun RNGA, LTga qaraganda 8-40 marta sezgirroqdir.

Sensibillash uchun noorganik va polimeor moddalardan tashqari, ba'zi mikroorganizm xujayralari ham ishlatiladi. Eng keng ko'lamda aktivligi yo'qotilgan tillasimon stafilakokk ishlatiladi. Bunda antizardob va bakteriya xujayralari aralashtirilib, so'ngra ushbu aralashmaga antigen qo'shilsa, yuqori tezlikda agglyutinatsiya reaksiyasi yuz beradi. Avvalo, bu metod mikroorganizmlarni serotiplarga ajratishda qo'llanilgan bo'lsa, keyinchalik esa, fitoviruslarni diagnostika qilishda keng ishlatila boshladi.

Tillasimon stafilakokkni muhim tomoni unda A deb ataluvchi oqsil modda mavjud. A- oqsil ajoyib xususiyatga ega bo'lib, u immunoglobulin molekulalarini Fs-fragmenti bilan bog'lanish xususiyatiga egadir, bunda antiteloni antigen bilan bog'lanadigan faol markazi bo'sh qoladi. Bu xususiyat faqat A oqsilga xos bo'lmay, balki ko'pgina mikroorganizmlar oqsillariga ham xosdir. Faqat ular etarlicha chukur o'rganilmagan. A oqsil esa ancha yaxshi o'rganilgan bo'lib, etarli ma'lumotlar to'plangan. Ushbu oqsil xujayra devorini tashqi qavatida joylashgan, tekis tarqalgan va immunoglobulinlar bilan /antizardob AS/ boglanishi ancha osondir. Bundan tashqari A- oqsilini toza preparati olingan bo'lib, uning strukturasi va fizika – ximyoviy xususiyatlari o'rganilgan. Reaksiya jarayonida antigen bilan antiteloni o'zaro birlashishiga A- oqsil to'sqinlik qilmaydi. Bunda reaksiya davomida Fs- fragmentini A- oksiliga nisbatan "spetsifiklikligi"- moyilligi yanada oshadi.

A- oqsilining bunday xususiyati va uning mikrobiologik diagnostikada keng ishlatilishi, shuningdek, fitoviruslarni diagnostika qilishda, yana viro-bakteriya agglyutinatsiya /ABV-test/ metodini yaratilishida turtki bo'ldi. ABV-testning mohiyati shundan iboratki, bunda 10%li stafilokokk suspenziyasi virus antizardobi bilan bilan aralashtiriladi. So'ngra diagnostika qilinayotgan eritmaning bir tomchisi, masalan, virus preparatining bir tomchisi buyum oynachasi ustida aralashtiriladi. Ma'lum muddat o'tgandan so'ng, esa agregatsiya bo'lgan stafilokokklarni opok cho'kmasi hosil bo'lganligini oddiy ko'z bilan kuzatish mumkin bo'ladi. ABV- test yordamida viruslarni 0,2-0,5mkg/ml gacha aniklansa bo'ladi. Albatta ushbu usul RIA, FIA va IET usullarining sezgirligidan ancha pastdir, ammo tahlilni ancha oson amalga oshirish mumkinligi, uni amaliyotga keng tadbiq etish imkonini beradi. Ushbu metod iktodiy jihatdan qulay bo'lib, ko'p mablag' talab etmaydi. Bundan tashqari AS ni 100-200 marta suyultirib ishlatilganda ham, yaxshi natija olish mumkin. SHuning uchun ushbu usul hujayrada juda kam to'planadigan viruslarni aniqlashda keng qo'llaniladi. Bu o'rinda shuni qayd etish lozimki, yuqorida qayd etilgan diffuzion, agglyutinatsion usullar sezgirligi jihatidan past hisoblanib, hozirgi kun talabiga javob bermaydi. SHu sababli, sezgir, qulay, zamon talabiga javob beradigan metodlarni ishlab chiqish muhimdir. Hozirgi kunda juda katta sezgirlikka ega metodlarni ishlab chiqishda, immunologik reaksiyalarni amalga oshirishda nishon sifatida radioaktiv izotop modda, fluoressent- zont, DNK- zont, shuningdek, ferment molekulalaridan foydalaniladi. Ayniqsa, ferment molekulalari nishon sifatida keng qo'llaniladi. Sababi, ular bir necha qulayliklarga ega bo'lib, har tomonlama afzal biologik faol moddadir. Avvalo ular inson organizmi va atrof- muhit uchun hech qanday xavf tug'dirmaydigan moddalar hisoblanib, yuqori fermentativ faollikka ega bo'lganligi uchun, reaksiya jarayonini 10^{12} tezlashtirishi mumkin.⁵

⁵ Kimball Nill. Glossary of Biotechnology terms. New York: CRC Press LLC., 2002.

Nazorat savollari:

- 1.Immunologik reaksiya jarayoni qanday amalga oshadi?.
- 2.Imun kompleksning hosil bulishi qanday qonuniyat asosida kechadi?
- 3.Polivalent antigenlar haqida tushuncha bering
- 4.Flyuretsent moddalar yordamida antitanani nishonlashni tushuntiring
- 5.Ferment yordamida antitanani nishonlash qanday amalga oshadi?

Mavzu-6: Antigen va antitana reaksiyalarining taxlili

Reja:

- 1.In Vivo sharoitida antigen va antitana reaksiyalari
- 2.Antigen va antitana larni miqdoriy tahlili
- 3.Tahlilni gomogen usuli .
- 4.IET ni geterogen usullari haqida tushuncha

Immunoenzim tahlili 60-yillarni o'rtalarida vujudga kelib, avval, gistologik preparatda antigenni identifikatsiyalash, keyin esa immunodiffuziya va immunoelektroforez testlarida pretsipitatsiya chiziqlarini aniqlashda qo'llanilgan. Bundan tashqari biologik suyuqliklarda antigenlar va antitelalarni miqdoriy tahlili uchun ishlatila boshlangan. Metodni geterogen usulini ishlab chiqishda E.Engvall va R.Perlmann, shuningdek, ularga bog'liq bo'lmagan ravishda V.K. Van Veemen va A.SHuurslar 1971 yili o'z tadqiqot ishlarini olib borganlar va ushbu usulning muallifi hisoblanadilar. 1972 yili esa E.K. Rubenshteyn o'z shogirdlari bilan IET gomogen usulini ishlab chiqishga muvaffaq bo'lganlar. Ushbu IET lari usullarini ishlab chiqqan mualliflar aynan, o'z tadqiqot ishlarida va shuningdek, amaliyotda IET talablariga javob bera oladigan ferment molekulalarini va ularning kofaktorlarini nishon sifatida qo'llab, kon'yugat olish mumkinligini isbotlaganlar. Sababi yuqorida aytib o'tilgandek, fermentlar o'z substratlari ishtirokida kimyoviy reaksiyani 10^6 - 10^{12} marotaba tezlashtirar ekanlar, shu bilan birga ular antigen va antitelalar o'rtasida bo'ladigan immunokimyoviy jarayonlarning sezgiriligini ham bir necha bor oshirib, aniqlanishi kerak bo'lgan modda miqdorini (pkM) juda kichkina qiymatlarda aniqlash uchun kerakli fermentativ reaksiya turini katalizlash imkoniyatga ega moddalar hisoblanadilar. SHuning uchun immunokimyoviy reaksiyalarda, faqat ferment molekulalari emas, balki ularning kofaktorlari ham maxsus markerlar sifatida IET ning turli usullarida keng qo'llanilmoqda.

Hozirgi vaktida immunoenzim tahlili (IET) usulining xilma-xil turlari ishlab chiqilgan. IET turli xil moddalarni aniqlash uchun keng qo'llaniladi. Jumladan, dorivor preparatlarni, gormonlarni, antitelalarni, virus va bakterial antigenlarni, oziq-ovqat toksinlarini, fitotoksinlarni, narkotik moddalarni, hamda sifiliz, malyariya taksoplazmoz, alveokok, qizilcha va gelmintlarni, salmonellezni va kasallik tug'diruvchi mikroorganizmlarni diagnostika qilishda keng qo'llaniladi. Modomiki, IET antitelalarni aniqlashda ham qo'llanilar ekan, bu esa o'z navbatida ko'p kasalliklarni boshlanish bosqichida oldini olish va serodiagnostika qilish imkoniyatini yaratadi.

IETning asosiy mohiyati shundan iboratki, biokatalizator molekulasida reaksiya ketadigan zonada antigen bilan yoki antitela bilan bog'langan shaklda bo'lishidir. Antigen yoki antitelaning ferment molekulasida bilan bog'langan shakli kon'yugat deb yuritiladi. IETni o'tkazish vaqtida antigen antitana molekulasida bilan bog'langandan so'ng, ushbu kompleksni aniqlash uchun, fermentning substrati kiritiladi va reaksiya natijasida xosil buladigan mahsulotlar aniqlanadi.

SHuni aytib o'tish lozimki, IETda fermentativ reaksiyani deteksiya qilish hosil bo'lgan mahsulotni aniqlash bilan chegaralanmay, balki reaksiyasi natijasida rangli o'zgarish, issiklik ajralish yoki yutilish, flyuretsensiya, paramagnit xususiyatlarni yoki boshka fizik-kimyoviy parametrlarni o'zgarishi natijasida aniqlashni amalga oshirish mumkin.

Hozirgi kunda qo'llaniladigan immunoenzim tahlili metodlarining umumiy ko'rinishini sxematik ravishda quyidagicha izohlash mumkin.

IETni o'tkazishda immun komponentlarning tozalik darajasi muhim ahamiyatga egadir. Sababi IETning sezgirlik darajasi komponentlarga va ayniqsa unda nishon sifatida qo'llanilayotgan ferment molekulasiga faolligiga bog'liq bo'ladi. Antitela serologik jihatdan faol va antigenga nisbatan titri yuqori bo'lishi uchun, antigenning immunogenlik xususiyati yuqori bo'lishi kerak. SHunda antigen kerakli antitelalarning uzluksiz sintezini amalga oshirishga qodir bo'ladi. IETda ishlatilayotgan immun komponentlarning titri yuqori bo'lmasa, ushbu oqsillar modifikatsiyadan so'ng denaturatsiyalanishi hisobiga inaktivlanadi.

Ayniqsa tokcinlar holatidagi oqsil tabiatli ba'zi moddalar, viruslar, ba'zi mikroorganizmlarni faol bo'lmagan shtammlarini antigen sifatida olish kon'yugatlarni kimyoviy sintezida ijobiy natija bermaydi. SHu sababli antigen antitelalarni ma'lum manbadan ajratish va ularni tozalash va kalibrovka egri chiziklarini tayyorlash talab etiladi. Antitelalarni tozalashda biosferik xromatografiya qo'llaniladi. Buning uchun avvalo biospetsifik va immunosorbentlar sintezlash kerak. Ushbu immunosorbentlar IETning geterogen variantlarini ishlab chiqishda kerak bo'ladi. Immunosorbentlar olish uchun mmobilizatsiyalangan antigenlarni sintezlash zarur. CHunki geterogen IET qattiq tashuvchi yuzasida olib boriladi.

IETni qaysi usuli amalga oshmasin unda albatta nishon sifatida ferment molekulari ishlatiladi deb yuqorida aytib o'tilgan edi. SHu sababdan avvalo antigen yoki antitela kon'yugati sintezlanadi. Buning uchun antigenga nisbatan anik spetsifik bulgan antitela tikuvchi komponent bilan modifikatsiyalanadi ya'ni antitela ferment molekulasi kimyoviy (kovalent) bog'lanadi. Kimyoviy sintezlangan kon'yugatlarining fermentativ va serologik faolliklari aniqlanadi. Kon'yugatlar tahlilni o'tkazish uchun yaroqli bo'lsa, nihoyat so'ngi bosqichda IET o'tkaziladi. Olingan ma'lumotlar kerakli asboblarda yordamida tahlil qilinadi. Bu o'rinda shuni qayd etish lozimki, immunoenzim tahlilini o'tkazishda bir qancha qoidalarga rioya qilish talab etiladi.

Immunoenzim tahlilini ishlab chiqishda, yaratishda bir qator qoidalarga rioya qilish kerak. Birinchidan aniqlanayotgan moddani, ya'ni antigenni taxlil qilishda yukori darajada mos keladigan, unga o'ta spetsifik bo'lgan antitanalarni tanlab olish talab etiladi. Ikkinchidan shunday fermentni nishon sifatida ishlatish uchun tanlab olish kerekki, u antigen yoki antitana bilan shuningdek, tashuvchi bilan kimyoviy usulda bog'langanda ham, o'z xususiyatini o'zgartirmasligi va bir vaqtning o'zida antigen va antitana o'rtasida kechadigan immunologik reaksiyaga ta'sir kilmamasligi va ayniqsa, fermentativ faolligini saqlab qolishi kerak. Uchinchidan IETni o'tkazishda qo'llaniladigan reagentlar va asbob uskunalari, shuningdek immun komponentlarni immobillash uchun ishlatiladigan tashuvchilar har tomonlama qulay va iqtisodiy jihatdan talabga javob beradigan bo'lishi lozim. Nihoyat ahamiyatli omillardan yana biri IETda komponentlarni barqarorligini ta'minlash muhimdir. Bunda yuqori barqarorlikka ega bo'lgan komponentlarni olish uchun tikuvchi agentlar yordamida tashuvchilarga immobillash jarayonini amalga oshirish yordamida erishish mumkin. Bu o'rinda shuni aytib o'tish lozimki, immunoenzim tahlilini, asosan ikkita katta usulga ajratish mumkin: Geterogen va gomogen usullarga. IETning geterogen usuli qattiq tashuvchi ishtirokida olib boriladi Bunda immun kompleks tashuvchiga

immobilizatsiya qiladi va immun kompleks hosil qiladi va immun reaksiya amalga oshgandan so'ng, fermentativ faollikni o'lchash orqali antigen miqdori kalibrovka chizig'i yordamida aniqlanadi.

IETning gomogen usulida esa barcha jarayonlar suyuq muhitda, ya'ni qattiq tashuvchi ishtirok etmagan sharoitda olib boriladi. Immun kompleksni registratsiya qilish jarayoni katalitik yoki ferment reaksiyalari ketishi bilan bog'lik o'zgarishlar asosida amalga oshiriladi. YUqorida qayd etilgan ikkala usul uchun ham umumiy talab shundan iboratki, antigen yoki antitanelarni standart eritmalar asosida oldindan kolibrovka chizigini yaratish kerak bo'ladi. Chunki, aniqlanayotgan modda miqdorini aniqlash, IET natijasini tahlil qilish ana shu kolibrovka asosida ko'rsatib beriladi.

Bu usullarni xam bir kancha gruppalariga bulish mumkin. Imobilizatsiyalangan antitela va antigen-ferment kan'yugatlarini kullash. Aniklash uchun uch boskichda olib boriladi: Birinchi boskichda anti- telaferment kan'yugatlarini ma'lum mikdori aniklanayotgan antigen bor namuna bilan aralashtiriladi. Keyingi boskichda imobilizatsiyalangan antitelalar bilan bu aralashmani uzaro ta'sirida ikkala antigen nishonlangan vanishonlanmagan fermentning aralashmadagi proporsional mikdori ishtirok etadi. Uchunchi boskichda substrat bilan reaksiyani ikkita usuldan birida yo boglanmagan kon'yugat molekulalari bilan, yoki imobilizatsiyalangan antitela boglangan ferment molekulasi bilan utkazish mumkin.

Reaksiyani ustunli /kolonochniy/ tarzda utkazish kulay. Antitelalar bilan imobilizatsiyalangan tashuvchi mikrokolonkaga joylashtiriladi. Avvalam bor tashuvchidagi antitelalar mikdoriga ekvivalent bulgan antigen-antitela kon'yugatlarini mikdori aniklanadi. Bu tajriba kolonka orkali fermentativ aktiv kon'yugat chikmaguncha, nishonlangan antigenning oshib boruvchi mikdori utkaziladi.

Oldindan antigenni ekvivalent mikdori topilgandan sunggina aniklashni uziga utiladi. Kolonka orkali aniklanayotgan antigen tutgan namuna utkaziladi. Sungra u yuvilgandan keyin, xuddi shu kolonka orkali antigenlarni fermentli kan'yugatlarini ekvivalent mikdoriga eritmaga utkaziladi. Aniklanayotgan namunada antigen kancha kup bulsa, mikrokolonkadan yigilgan eritmaning ferment aktivligining kursatkichi shuncha yukori buladi.

2/. Imobilizatsiyalangan antitelo va antitelo-ferment kan'yugatlarini kullash. Bu metod sodda bulganligi uchun xiilma-xil maksadlar keng kulaniladi. Biror bir kulay metod yordamida antitelo imobilizatsiyalangan xolatda utkaziladi. Bunda tashuvchini uzi reaksion teshik / yacheyka / rolini bajaradi.

Birinchi boskichda imobilizatsiyalangan antitelalarga, aniklanayotgan antigen tutgan namuna kulishadi. Sungra antitelo bilan boglanmagan barcha birikmalar yuviladi. Keyingi boskichda peaksion muxitga antitelolarni fermentli kan'yugatlari solinadi. Nishonlangan antitelolar xam antigenlar bilan boglanadi va ularning mikdori binobarin ferment aktivligi xam namunadagi antigen mikdoriga proporsional buladi. Boglanmagan kon'yugatlarni yuvgandan sung substrat kushiladi.⁶

⁶ Daniel C. Adelman, Thomas B. Casale, Jonathan Corron. Manual of allergy and immunology 2012.

Nazorat savollari:

1. In Vivo sharoitida antigen va antitana reaksiyalarini tushuntiring
2. Antigen va antitanalarni miqdoriy tahlil qilishda nimalarga e'tiborni qaratish kerak?
3. Tahlilni gomogen usuli nimalar bilan boshqa tahlil usullaridan farq qiladi?
4. IET ni geterogen usullari haqida tushuncha bering

Mavzu- 7: Immun reaksiyalarning o'ziga xosligi

Reja:

1. Sendvich usulini mohiyati va qo'llanilishi
2. Fermentlar va ularning substratlari
3. Ekranlashtirish asosida antitanani miqdoriy tahlili
4. Raqobatlashish usuli asosida antigenlar tahlili
5. Effektorlar va ularning xususiyatlari

Immun reaksiyalarning o'ziga xosligilik jarayonlarini bir necha xil immun reaksiyalar va zamonaviy usullar yordamida ko'rib chiqish mumkin. Biror antigenni aniqlashda, immunologik reaksiyalarni amalga oshirishda nishon sifatida ferment molekulalarini, shuningdek, aktivatorlar va ingibitorlarni qo'llab zamonaviy immunologik usullarni o'tkazish mumkin.

Antigenni immun reaksiya yordamida aniqlashda uni effektgorga bog'lansa, aktivlash xususiyatiga ega bo'lgan (yoki ingibirlovchi) kompleks yoki kon'yugat hosil kiladi. Bunda effektor bilan bog'langan antigen va aniklanishi lozim bo'lgan antigen, antitela bilan bog'lanish uchun bir-biri bilan raqobatlasha boshlaydi. Immun reaksiyasi o'tkazilgandan so'ng, eritmaga ferment va ferment- substrati aralashmasi solinadi. Immunokimyoviy reaksiyaga kirishgan effektor, ferment aktivligiga ta'sir qila olmaydi. Bir vaqtning o'zida ferment bilan bog'langan effektor ferment aktivligini oshiradi (agar u aktivator hisoblansa). Aniklanayotgan namunada antigen miqdori qancha ko'p bo'lsa, antigen bilan bog'langan effektor ta'siriga boglik bo'lgan ferment faolligi ham shuncha katta bo'ladi.

Agar effektor aktivator emas, balki ingibitor bo'lib hisoblansa, reaksiya sistemada aktivlikni kamaytirish bilan birga, namunadagi aniqlanayotgan antigen miqdorining kamayishi kuzatiladi.

IETda ferment substratlarining ham roli katta. Ko'pincha IETda ishlatiladiga ferment molekulalarining substratlari suvda yaxshi eriydigan moddalar bo'ladi. Ammo bir kator fermentlar polimolekulyar eki polimolekulyar assotsiatsiyalar tashkil kilgan substratlarga ta'sir kiladi. Bunday hollarda substrat hosilalarining kattaligi ferment molekulasi kattaligidan katta va xatto immun komplekslarni o'zidan ham katta yoki ularga teng bo'lishi mumkin. Bunday hollarda immun reaksiya o'tkazilgandan keyin, ferment o'z substratlari bilan ta'sirlanish qobiliyatiga ega bo'lmay qoladi. Ushbu metodda antigen va antitana immun komponentlarining ferment bilan olingan kon'yugatlari qo'llanilishi mumkin.

IETni titrlash usuli yordamida biror modda, masalan antitana aniqlanishi lozim bo'lsa, bunda nishonlangan antigenlar qo'llanilib, bunda antigen kon'yugatini antitana bilan titrlash orqali kon'yugatni

berilgan miqdoriga ekvivalent antitana konsentratsiya aniqlanadi. So'ngra antitanaga aniklanayotgan antigen mavjud namuna qo'shiladi. Nishonlanmagan antigen antitelalar bilan bog'lanadi. Xuddi shu namunaga antigen ferment kon'yugatining dastlabki miqdori qo'shiladi. Bynda birinchi immun reaksiya o'tkazishda antitanani sarflanishi xisobiga nishonlangan kon'yugatning bir qismi erkin koladi. Xuddi ana shu erkin qolgan kon'yugat immun komponent bilan o'zaro ta'sirlashish qobiliyatiga ega bo'ladi. Bundan shunday xulosa etish mumkinki, tekshirilayotgan eritmada qancha antigen ko'p bo'lsa, ferment faolligi shuncha yuqori bo'ladi. SHuni ta'kidlamoq kerakki, ushbu metodning hamma bosqichlari ham gemogen sharoitda olib borilmaydi. Ko'pincha substratlar suvli eritmalarda geterogen sistemani hosil kiladi. SHunday kilib, so'ngi bosqich mohiyatiga ko'ra geterogen fermentativ jarayonni tashkil etadi. YUqorida keltirilgan misollardan shunday xulosa qilish mumkinki, IET usullari to'rtta asosiy prinsip asosida amalga oshiriladi: 1. Titrometrik usul 2. Raqobatlashish 3. "Sendvich" va 4. Ekranlashtirish prinsipi. Bulardan har biri IET ning geterogen va gomogen usullari yordamida olub boriladi.

IETning titrometrik usuli. IETning titrometrik prinsipi bir necha bosqichda amalga oshiriladi. Birinchi bosqichda, aniqlanayotgan antigen va antitanalar o'rtasida immunkimyoviy reaksiya amalga oshadi, reaksiyaning keyingi bosqichida esa, reaksiya muhitga erkin holdagi antigen qo'shiladi. SHundan so'ng, nishonlangan ferment molekulasi reaksiya muhitga kiritiladi. Birinchi bosqichda immun reaksiya natijasida antigen immobilizatsiyalangan holatdagi antitanalarni bir qismi bilan bog'lanadi. Bog'lanmagan komponentlar immobilizatsiyalangan antitanalar bilan bog'lanishga harakat qila boshlaydi, shunda reaksiya muhitga fermentni oldindan aniqlangan miqdordagi kon'yugatlar qo'shiladi. Kon'yugatni miqdori shunday tanlab olinadiki, u namunadagi immobilangan antitanalar miqdoriga ekvivalent bo'lishi kerak. Ikkinchi immun reaksiya o'tkazilganda, namunaga qo'shilgan kon'yugat antigenlardan bo'sh qolgan, immobilangan antitanalar bilan bog'lanadi. YA'ni antigenlardan bo'sh qolgan antitanalar kon'yugatlar bilan titrlanadi. Ferment molekulalarini miqdorini shu ferment substrati bilan reaksiya o'tkazish orqali, ferment faolligini aniklash amalga oshiriladi. Kon'yugatning fermentativ faolligini o'lchash jarayonida faollik qancha kam bo'lsa, namunada aniqlanayotgan antigen miqdori shuncha ko'p bo'ladi. Bordiyu, reaksiya mahsulotini hosil bo'lishi kam miqdorda bo'lsa, u holda (antigen umuman bo'lmagan kontrol tajribaga nisbatan) aniqlashning alternativ usuli qo'llanilib, ikki immun reaksiya o'tkazilgandan so'ng, ferment kon'yugatining faolligi farqi asosida antigen miqdori aniqlanadi.

Namunada antigen miqdori qancha ko'p bo'lsa, bu holda kon'yugat faolligining farqi shuncha ko'p bo'ladi. Hosil bo'lgan fermentativ reaksiya mahsuloti yoki reaksiyaga kirishmay qolgan substrat miqdori biror bir sezgir va qulay metod yordamida aniklanadi. Ko'p holatlarda, ko'pincha bo'yovchi moddalar ishlatiladi. Buning natijasida fermentativ reaksiya mahsulotining rangi o'zgaradi va bu o'zgarish o'z navbatida aniqlanayotgan namunada antigenni borligidan dalolat beradi. Ushbu usul insulinni aniqlashda muvaffaqiyatli qo'llanilgan. Raqobatlashish prinsipi. Ushbu prinsip immunkomponentlar bilan ferment kon'yugati o'rtasida boradigan raqobatga asoslangan. Bunda immobilangan antitanaga bog'lanish uchun antigen va aynan shu antigen

kon'yugati raqobatlashadi. Immun reaksiyani o'tkazish uchun avval, immobilizatsiyalangan antitana mavjud inkubatsion muhitga aniqlanayotgan antigen va antigen ferment kon'yugati eritmasi solinadi. Aniqlanayotgan namunada antigenlar miqdori kancha ko'p bo'lsa, nishonlangan ferment antigeni va aniklanayotgan antigen orasida antitanalar bilan bog'lanish rakobati shuncha /konkurensiya/ oshadi. Bunda bog'lanuvchi kon'yugat molekulalarini fermentativ faolligi qancha kam bo'lsa, namunadagi antigen miqdori shuncha ko'p bo'ladi. Raqobatlashish prinsipi turli biologik moddalarni, masalan tiroksinni, globulinni, ditoksin kabi moddalarni va boshqa turli antigenlarni aniqlashda keng qo'llaniladi. "Sendvich"

prinsipi. YUqorida qayd qilingan prinsiplar ferment kon'yugatlari va antigen o'rtasida boradigan immun reaksiyalarga asoslangan bo'lsa "Sendvich" prinsipi esa aniklanayotgan antigenni bir vaqtda, aynan shu antigenga qarshi olingan antitana, hamda antitana kon'yugatlarini o'zaro ta'sirlashiga asoslangandir. Ushbu usulda titrlash prinsipiga o'xshash immun reaksiyasi bir necha bosqichda amalga oshiriladi.

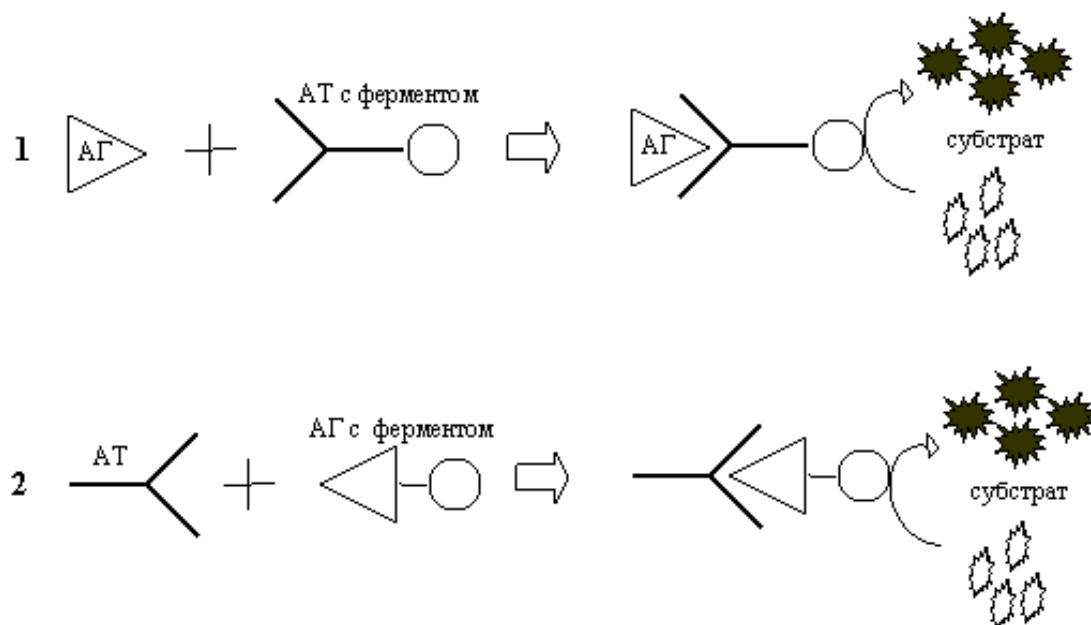
Biriichi bosqich immobilangan antitanalarning bir qismi aniklanayotgan antigen molekulalari bilan bog'lanadi. So'ngra tashuvchi yuvib tashlanadi. Tashuvchi yuzasida antigen-antitana kompleksi qoladi. SHundan keyin kompleks ustiga ferment bilan nishonlangan antitana kon'yugati qo'shiladi. Ferment kon'yugatlari antigen molekulasini mavjud kompleks bilan bog'lanadi. Ushbu jarayonda aniqlanayotgan namunadagi antigenlar qancha ko'p bo'lsa, ferment bilan nishonlangan antitanalar kon'yugatining fermentativ faolligi shuncha ko'p bo'ladi. YA'ni ferment substrati bilan reaksiya o'tkazish bosqichida uning mahsulot hosil qilish tezligi yuqori bo'ladi. Immobilangan antitana va ferment bilan bog'langan antitanalar orasida siqilgan antigen kompleksi "sendvich" hosil qiladi va shu sababli ushbu prinsip "sendvich" deb yuritiladi. Hozirgi vaktida "sendvich" prinsipi turli xil antigenlarni aniqlashda immunoenzim tahlilida keng miqyosda qo'llanilmokda. **Ekranlashtirish / to'sish / prinsipi.** Substratlarni o'z fermentlariga yoki aksincha fermentlarni substratlari o'rtasida bo'ladigan reaksiyalar, nishonlangan antigen-antitana va ferment komponentlari orasidagi immun reaksiyasini o'tishi natijasida o'zgarishi mumkin. Immun reaksiya ketayotgan muhitda antigen-antitana komplekslari hosil bo'lgandan so'ng, bog'langan holdagi ferment molekulalarini antigen yoki antitanalar to'sadi. Bunday sharoitda ferment molekulasini o'z substratining ta'siri natijasida namoyon bo'ladi. Xuddi ana shu jarayonga immunoenzim tahlilining bir qator prinsiplari va usullari asoslangan.

Ushbu ekranlashtirish prinsipining birinchi bosqichida aniqlayotgan antigen, antitana bilan o'zaro immun reaksiyasiga kirishadi. Buning natijasida bir qism antitanalar antigen bilan bog'lanadi. So'ngra muhitga ferment bilan nishonlangan antigen kon'yugatlari kiritiladi. Reaksiya natijasida ortib qolgan antitana, antigen kon'yugatlari bilan boglanadi va ferment molekulasining bir kismini substrat bilan ta'sirlashishdan to'sadi. Ushbu prinsipni qo'llash samara berishi uchun supersubstratlarni gidrolizlovchi yoki boshqacha aytganda katta substratlarni, masalan lipid, fosfolipidlarga ta'sir etuvchi ferment molekulalari nishon sifatida ishlatilganda yaxshi natija olish mumkin.

Bu o'rinda shuni qayd etish lozimki, aniqlanayotgan namunada antigen qanchalik ko'p bo'lsa, erkin holda qolgan antitanalardan

fermentni to'silishi shuncha kamayadi. YA'ni bunda fermentativ faollik aniqlanayotgan namunadagi antigenlar miqdoriga proporsional bo'ladi. Ekranlashtirish prinsipini katta antigenlarni aniqlashda qo'llash, masalan turli virus antigenlarini aniqlashda ishlatish yaxshi natija berishi amaliyotda kuzatilgan.

Yuqorida aytib o'tilganidek, IETning metodlari antitanani antigen bilan spetsifik bog'lanishiga asoslangandir. Bunda komponentlardan biri ferment bilan nishonlanib, ma'lum xromogen substrat bilan reaksiyaga kirishadi. Reaksiya natijasida olingan ma'lumotni spektrofotometrik usul bilan yoki bo'lmasa hosil bo'lgan rangli mahsulot asosida vizual ravishda aniqlash mumkin bo'ladi (1-rasm).



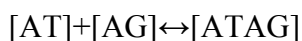
1-rasm. Immun reaksiyalarni spetsifik tarzda amalga oshish jarayoni.
1-antitalarni aniqlash

2-antigenlarni aniqlash

Antigen va antitalarni turli tashuvchilarga bog'lash imkoniyatini mavjudligi, immobillangan immun komponentlarni immunoenzim tahlilining geterogen usullarida keng ishlatilish mumkinligini ko'rsatdi.

Monoklonal antitalarni olish texnologiyasini ishlab chiqilishi esa, IET ni keyingi rivojlanishiga xizmat qildi, bu esa o'z navbatida uning spetsifikligi, sezgirligini va aniqlash darajasini yanada oshirish imkonini berdi.

IET nazariy jihatlarini zamonaviy immunoximiya, immunobiotexnologiya va enzimologiya ma'lumotlariga, shuningdek antigen-antitalar o'rtasida boradigan immunologik reaksiyalarning reaksiyasining fizik-kimyoviy qonuniyatlariga va analitik kimyoni asosiy prinsiplariga asoslangan. IETning sezgirligi va uni o'tkazilish jarayoni bir necha asosiy omillar bilan jumladan, antigen-antitana reaksiyasini kinetik, termodinamik xarakteristikalariga, reagentlar nisbati, fermentning faolligi va uni deteksiya qilish metodlarining xususiyatlariga bog'liq bo'ladi. Umuman olganda, antigen-antitana o'rtasidagi reaksiyani sxematik tarzda quyidagicha tavsiflash mumkin:



Pastmolekulyar birikmalardan va yuqori murakkabroq tuzilishga ega virus va bakteriyalargacha bo'lgan xilma-xil tadqiqot ob'ektlarini IET yordamida aniqlash, ushbu metodni nihoyatda ko'p variantlarini ishlab chiqilishini taqozo etadi.

IETda kon'yugatlarni sintez qilishda tahlil uchun har tomonlama mos fermentlardan foydalaniladi. Bunda nishon sifatida qo'llanilishi mumkin bo'lgan fermentlar eritma tarkibida o'zining faolligini namoyon qilishi kerak. Sababi, fermentning fermentativ faolligi qancha yuqori bo'lsa, sezgirlik ham shuncha oshadi. SHu sababdan, IETda nishon sifatida qo'llaniladigan fermentlarga quyidagi talablar qo'yiladi:

- 1) Kichik konsentratsiyadagi molekulalarni aniqlash uchun qo'llaniladigan ferment yuqori spetsifiklikka va fermentativ faollikka ega bo'lishi kerak;
- 2) Nishon sifatida qo'llaniladigan fermentlar kimyoviy modifikatsiyadan so'ng, yuqori fermentativ faollikka ega bo'lishi kerak;
- 3) Fermentlar antigen va antitanalar ta'sirida, shuningdek, ular bilan kimyoviy bog' hosil qilganlarida ham, o'z barqarorliklarini yo'qotmasligi zarur;
- 4) ferment faolligini aniqlash usuli sodda va yuqori sezuvchanlik darajasiga ega bo'lgan usul bo'lishi kerak;
- 5) ferment preparati rangli mahsulot berishi kerak. Sababi IFAni miqdor, sifat jihatdan tahlil qilish mumkin.

IFA da 15 xildan kam bo'lmagan fermentlar ishlatilishi mumkin. YUqorida aytib o'tilgan talablarga javob bera oladigan va ko'p qo'llaniladigan ferment – xren peroksidazasi, ishqoriy fosfotaza va v-D-galaktozidaza. Mana shu uchta ferment barqaror bo'lib, yuqori sezuvchanlikka ega bo'lgan reaksiyalarni katalizlaydi. Bundan tashqari, shu fermentlar bilan katalizlanadigan reaksiyalar natijasida olinadigan mahsulotlar ishlatilayotgan substratga qarab nafaqat kolorimetrik metodlar, balki fluoressent metodlar bilan ham aniqlanishi mumkin. Boshqa fermentlar nisbatan kam ishlatiladi. Bu esa ularning xren peroksidazasi va ishqoriy fosfotazaga nisbatan ancha past solishtirma faolligi bilan tushuntiriladi.

Substratlar

Substratni tanlash birinchi navbatda nishon sifatida ishlatilayotgan ferment bilan belgilanadi, chunki ferment-substrat reaksiyasi yuqori spetsifikdir.

Substratga asosiy talablar:

- fermentni kon'yugatda aniqlashda metodni yuqori sezgirligini ta'minlash;
- ferment-substrat reaksiyasining aniq ko'rinadigan (masalan, bo'yalgan) mahsulotlarini hosil bo'lishi;
- substrat xavfsiz, arzon va ishlatish uchun qulay bo'lishi kerak⁷

Nazorat savollari:

- 1.Sendvich usulini mohiyati va qo'llanilishti
- 2.Fermentlar va ularning substratlari

⁷ Groves M.J. (ed.) "Pharmaceutical biotechnology"2-nd ed. Textbook. CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. - 396 p.

3. Ekranlashtirish asosida antitanani miqdoriy tahlili
4. Raqobatlashish usuli asosida antigenlar tahlili
5. Effektorlar va ularning xususiyatlari

ESSE usuli

Bu usul ham inson fikrlash qobiliyatini rivojlantirishda muhim ahamiyatga ega. Ular norasmiy fikr va qiyofalarni qayd qilish har tomonlama ko'rib chiqilmaguncha xotirada saqlab turish va ularni yanada aniqroq ifodalashga imkon beradi. Biotexnologiya yo'nalishlari haqida **esse** usulida taxlil qilish.

Эссе усули

Эссе- французча тажриба, дастлабки лойиҳа, шахснинг бирор мавзуга оид ёзма равишда ифодаланган дастлабки мустақил эркин фикри. Бунда тингловчи ўзининг мавзу бўйича тассуротлари, ғояси ва қарашларини эркин тарзда баён қилади. Эссе ёзишда ҳаёлга келган дастлабки фикрларни зудлик билан қоғозга тушириш, иложи борида ручкани қоғоздан узмасдан – тўхтамасдан ёзиш, сўнгра матни қайта таҳлил қилиб, такомиллаштириш тавсия этилади. Мана шундагина ёзилган эссенинг ҳаққоний бўлиши эътироф этилган. Эссени муайян мавзу, таянч тушунча ёки эркин мавзуга бағишлаб ёзиш мақсадга мувофиқ. Баъзан, айниқса тарбиявий соатларда таълим олувчиларга ўзларига ёккан мавзу бўйича эссе ёздириш ҳам яхши натижа берали.

Mavzu-8: Immun reaksiyalarning spetsifikligi

Reja:

1. Spetsifiklik haqida tushuncha va uning immun tizimdagi roli
2. Fermentlar modulyatorlari
3. Kon'yugatlarni olish usullari
4. Kon'yugatlarni fiz-kimyoviy xususiyatlari

Immun reaksiyalarning spetsifikligi bir qator immunologik jarayonlarda namoyon bo'ladi. Masalan immunoenzim taxlilining g'mlgen usulari ham antigen va antitana spetsifikligiga asoslangandir. 1970 yillarning boshida Syva tadqiqotchilik institutida qiziqarli holat kuzatildi. Antigen-ferment kon'yugatini spetsifik antitelalar bilan bog'lanishining ba'zi holatlari fermentni katalitik faolligini (ko'payishi yoki kamayishi) o'zgarishiga olib keladi. Bu esa ferment molekulasini konformatsion o'zgarishlarini keltirib chiqaruvchi antitelalarni bevosita ta'siri bilan tushuntiriladi. Bu fenomen gomogen analizga asos soldi, va uning sxemasi maksimal sodda bo'ldi: ferment bilan nishonlangan antigenlar antitelalar bilan bog'lanish uchun tajriba namunalarining antigenlari bilan raqobatlashadigan barcha komponentlar suyuq fazada bo'ladi. Kon'yugatni antitelalar bilan bog'lanishi ferment aktivligini o'zgartirgani uchun bog'lanmagan antitelalarni yuvish va spetsifik antitelalarni qattiq fazaga immobillash zaruriyati yo'qoldi.

Gomogen metodlarni odatda past molekulyar (dori moddalari, narkotiklar, gormonlar va boshqalar) antigenlarni aniqlash uchun ishlatiladi, chunki ularni molekulyar strukturalari nisbatan katta bo'lmagan o'lchamlarga ega. Bu esa antitelalarni antigen-

ferment kon'yugati tarkibida bo'lgan fermentning katalitik aktivligiga boshqariluvchi ta'sirni ta'minlaydi.

70-80-yillarda gomogen immunoferment analizining bir qancha original modifikatsiyalari ishlab chiqilgan, va unda fermentlardan tashqari quyidagi nishonlardan foydalaniladi:

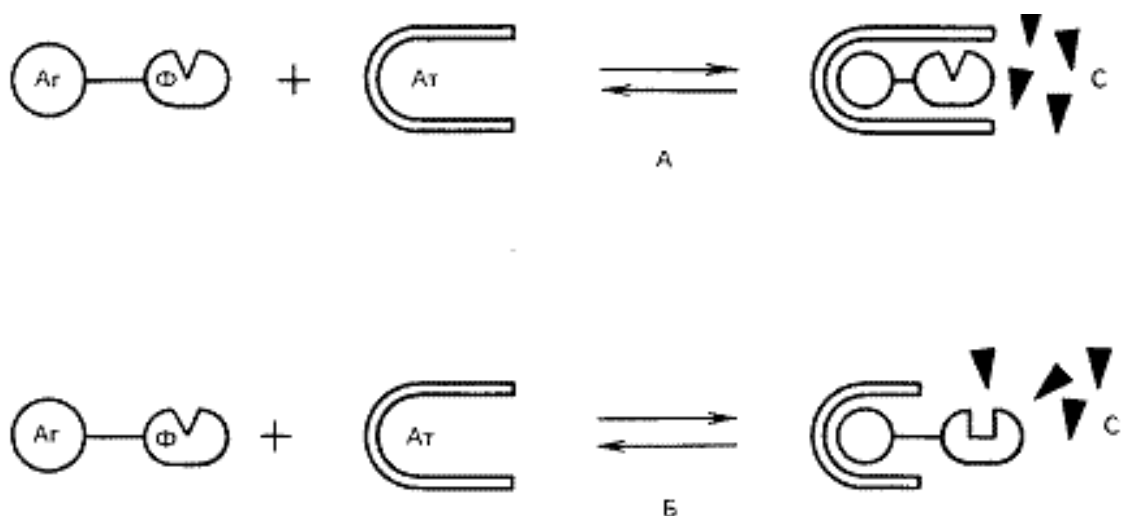
- fermentlar modulyatorlari;
- prostetik guruhlar;
- fluorogen substratlar;
- liposomalarga kiritilgan fermentlar;
- apofermentlar.

Bundan tashqari quyidagilar taklif qilindi:

- "ferment kanallari" sistemasi; unga substratni bir mahsulotga, keyin boshqasiga aylanishining ikki reaksiyani ketma-ketligini katalizlaydigan ikki ferment kiradi;
- Immunokapillyar migratsiya metodi; bu metodda g'ovaksimon tashuvchi ishlatiladi va unda ma'lum antigenni migratsiyasi amalga oshadi.

Ferment kanallari prinsipi va immunokapillyar migratsiyaning mosligi asosida fermentativ xromatografiya metodi yaratildi. Bu metodni ishlatilishi bilan maxsus laboratoriya uskunalarisiz ekspress-analizni o'tkazish uchun layoqatli bo'lgan qulay indikator chiziqlari ishlab chiqildi.

Gomogen immunoferment analizi (GIFA) – immunoferment analizining sodda turi hisoblanadi. Uni qo'yilishida immun reaksiyaning ishtirokchilaridan biri (odatda bu pastmolekulyar antigen) ferment bilan belgilanadi va antigen-antitela kompleksini shakllanishi jarayoni kuzatiladi, bunda ferment aktivligini o'zgarishi kuzatiladi. Fermentativ faollikni bunday buzilishi yo ferment va substratni fazoviy ajralishi hisobiga, yo immun kompleks shakllanishiga olib keluvchi ferment molekulasida konformatsion o'zgarishlar hisobiga kelib chiqishi mumkin. Gomogen immunoferment analizi boshqa immunokimyoviy metodlardan ko'ra bir qancha ustunliklarga ega. Birinchidan, yuqori ekspressiya (gomogen immunoferment analizi bilan bo'lgan butun analiz bir daqiqa va hatto undan ham kam bo'lgan vaqtini egallaydi) (1-rasm).



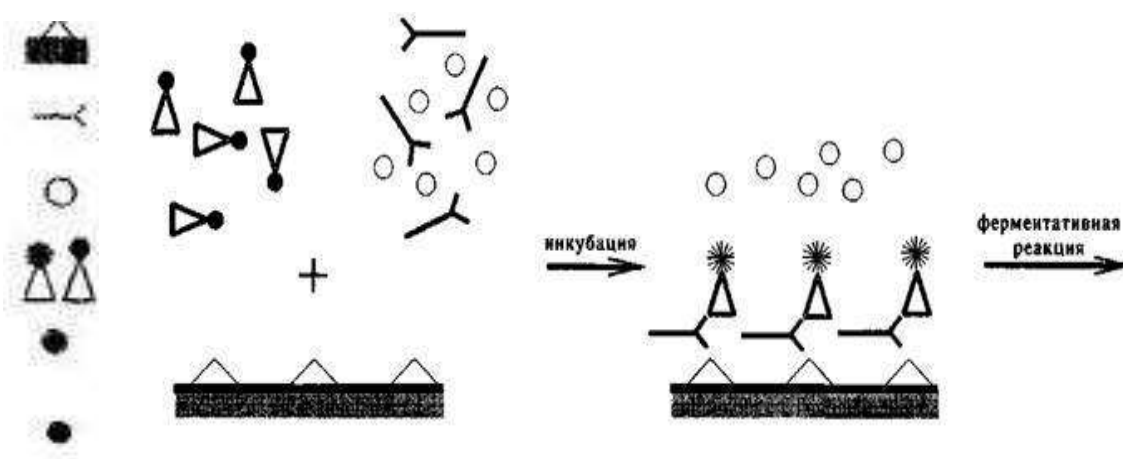
3-rasm. Gomogen immunoferment analizining turlari

A- antigen (AG) va antitela (AT)ni o'zaro ta'sirida ferment (F) va substrat (S)ni fazoviy to'siqlarlar hisobiga ajralish effekti.

B- antigen-antitela kompleksini shakllanishida ferment konformatsiyasini o'zgarish effekti.

Ikkinchidan, metod bir bosqichdan iborat hamda qiyin va vaqt talab qiluvchi yuvish bosqichlarini talab qilmaydi. Nihoyat, uchinchidan, metod biologik yoki klinik namunaning minimal hajmi (8-50 mkl) va miqdorini talab qiladi. Vaholanki, gomogen immunoferment analizida bitta kamchilik mavjud – uning asosida diagnostik analizlar faqat pastmolekulyar antigenlar ustidan amalga oshirish mumkin. Faqat bu holatda antitela antigen bilan o‘zaro ta’sirlashganda samarali ekranlashtirishi yoki shu antigen bilan bog‘langan fermentni modifikatsiyalashi mumkin. Aynan shu bilan bog‘liq ravishda, gomogen immunoferment analizi asosida faqat gormonlar, peptidlar, dori va narkotik moddalari hamda ba’zi pastmolekulyar oqsillarni aniqlash uchun diagnostikumlar yaratildi.

Qattiq fazada antigen immobillangan. CHO‘ntakchaga shu antigenni ferment bilan kon’yugatni va tekshirilayotgan zardob kiritiladi. Tajriba namunasida spetsifik antitelalar bo‘lsa, ular murakkab kompleks hosil qiladi: shu bilan bir vaqtda qattiq va suyuq (eritmada) fazalardagi antigenlar bilan bog‘lanadi. Antitelalarni kon’yugat bilan bog‘lanishida ferment aktivligi o‘zgaradi (2-rasm).



2-rasm. Antitelalar aniqlashning gomogen metodi.

Belgilar:

- qattiq fazaga immobillangan antigen
- aniqlanayotgan zardobni spetsifik antitelasi;
- aniqlanayotgan zardobni ballast moddalari;
- ferment bilan nishonlangan antigen;
- fermentni yuqori aktivligi;
- fermentning past aktivligi.

Immunoanalizning gomogen immunoferment analizi metodlari tibbiyot amaliyotida keng tarqalgan. Zamonaviy tibbiyotning barcha sohalarida immunoanaliz, ayniqsa, diagnostik va analitik maqsadda ishlatiladi. SHunisi muhimki, ular past va juda past konsentratsiyadagi biologik komponentlar (gormonlar, fermentlar, neuropeptidlar, immun sistema mahsulotlari, antigenlar va boshqalar)ni aniqlash imkonini beradi. Antitelalar olish mumkin bo‘lgan barcha mahsulotlar shu metodlar bilan aniqlanadi.

Immunanaliz antigen (AG) va antitela (AT)ni o‘zaro ta’siriga asoslangan bo‘lib, bunda komponentlardan biri (ferment, radionuklid, fluoressent bo‘yoq va boshqalar)ni turli nishonlash variantlaridan foydalaniladi. Reaksiyani baholash maxsus uskunada avtomatik amalga oshiriladi, bu esa shu metodlarni standartlashtirishga imkon beradi. Nishon va testni qo‘yish Ishlatilayotgan sharoitlariga qarab immun analiz immunoferment (IFA), radioimmun (RIA), immunofluoressent va hokazo tarzda belgilanadi. Reaksiyalarni bitta yoki bir necha bosqichlarda qo‘yilishida ular to‘g‘ri va to‘g‘ri bo‘lmagan reaksiyalar

sifatida belgilanadi. Reaksiya o'tkazilayotgan muhit ham ahamiyatga ega. Agar reaksiya yuzada fiksirlangan reagentlar bilan o'tkazilsa, u holda test qattiq fazali, masalan ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) deb belgilanadi.

Bu usulni quyidagi guruxlarga bo'lish mumkin. I. Ligand-ferment tipidagi kon'yugatlarni olish va kullash metodlari to'g'ri keladigan ferment bilan aniklashga tegishli antigen kon'yugantini kovalent bog'lanish yuli bilan olinadi.

Ferment bilan nishonlangan antigen so'vli eritmada aniklanadigan antigen bilan antitelani bog'lanishi uchun rakobatlashadi. Kupincha sterik xarakterdagi kiyinchiliklar yoki fermentni ingibitorlaydigan allosterik uzaro ta'sir natijasida xosi bo'lgan immun kompleks katalitik aktivlikka ega bo'lmaydi. SHunga kura bog'lanmagan kon'yugatlarni umumiy aktivligini to'g'ridan-to'g'ri aniklanayotgan antigenlarni miqdori belgilashga imkon beradi.

Ba'zi xollarda pretsipitanti katalitik aktivlikka ega bulca, aniklash oldindan kolibrovkali jadval tuzish yoki eruvchan antigen ferment

kon'yugatini xar xil alikvotalarini kiritish bilan grafiklardagi antitela antigendan foydalaniladi.

Fermentni nishonlangan sorbentlari liganda larini kullash, Fermentativ reaksiyalarni substratlari xam belgi sifatidit ishtirok etish mumkin. Agar fermentning substrati antigen bilan boglanishga kodir gruppalar tutgan bulsa va a gar bunday boglanishlardan keyin ferment substrat uzaro ta'sirlanish mukarrarligi saklansa, unda substrat - antigen tipidagi kon'yugatlar xam gomogen immunoferment ankilashda uz urnini topa oladi. Antigen bilan bog'langan substrat antiteloni borligida yoki yugligida xam uz fermenti uchun xilma-xil darajada etishadi. SHunga kura immun reaksiya utgandan keyin va antitela nishonlangan substrat - antigen kompleksi xosil bulgandan so'ng, ferment bu substrat bilan uz aktivligini birdan kamaytiradi.

Oldindan ma'lum miqdorda fermentolinib, sung aktivligi - antitelolar ishtirokisiz ulchanadi. Namunada fermentativ reaksiya utkaziladi va oldindan tanlangan tanlangan antitelo miqdori ishtirokida uni kechish tezligi ulchanadi. Reaksiya tezligining fark iga kura, bu xolda aniklanaetgan namunadagi nishonlanmagan antigenlar miqdoriga tug'ri proporsional.(antigen)

Prostetik gruppasi nishonlangan antigenlari ko'llash. Antigenli kon'yugatlarni olish uchun fakatgina ferment yoki substrat kulanilmaydi. Bu rolni birr qator fermentlarning prostetik, gruppalari (yoki kofaktori)xam amalga oshirish mumkin. Olingann kompleks eritmada usha eritmadagi antigenlar bilan boglanishga loyik antigen molekulalari bilan rakobatlashadi.(rasm) Reaksion muxitda anikla netgan anntigenni konsetratsiyasi kancha katta bo'lsa, antigen - antittelo komplekslari shuncha ko'p xosil bo'ladi. Ferment prostetik gruppasini biriktirb olmaguncha, uz substrati bilan uzaro ta'sirga kirishmaydi. Apoferment bilan fakat immun reaksiyaga kirish agan prostetik gruppasi va antigen komplekslari uzaro ta'sirlashishi mumkin. Demak, eritmada antiklanayotgan antigen antitelo ko'p imkdori bilan boglasa, prostetik gruppaning apoferment bilan komplekslari shuncha ko'p bo'ladi(antigen bilan boglanganxolatda) va substrat turgun konsentratsiyasining fermentativ aktivligi yukori bo'ladi. Antigenni prostetik gruppasi bilan usha kompleksi immun reaksiyasida antitelo bilan bog'lanib, apoferment bilan bog'lanmaydi, chunki prostetik gruppasi tusilgan bo'ladi. Eritmada

anikla nayotgan antigen ishtirok etmaganda fermentativ aktivlik umuman kuzatilmaydi.⁸

Nazorat savollari:

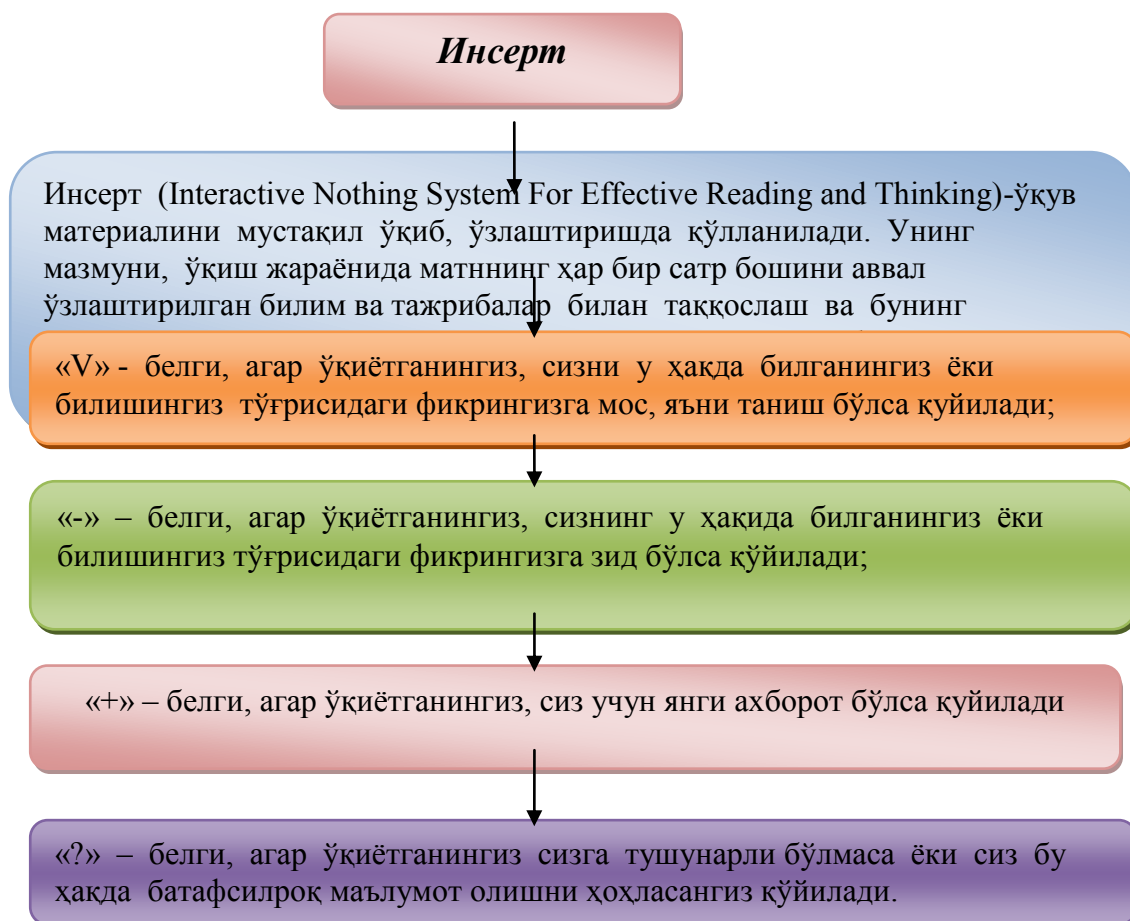
1. Spetsifiklik immun tizimda qanday rol o'ynaydi?
2. Fermentlar modulyatorlari deganda nimani tushunasiz?
3. Kon'yugatlar sintezi qanday amalga oshiriladi?
4. Kon'yugatlarni fiz-kimyoviy xususiyatlarini tushuntiring

INSERT usuli

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. "Insert" texnikasi asosida matn, darslik bilan ishlash, o'qish orqali ma'lumotlar saralanadi.

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 tinglovchilarga quyidagi maxsus belgilardan foydalanish tavsiya etiladi:



1. ⁸ Groves M.J. (ed.) "Pharmaceutical biotechnology" 2nd ed. Textbook. CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. - 396 p.

“ Antitelalar aniqlashning gomogen metodi..” mavzusiga oid

INSERT JADVALI

«V»	«-»	«+»	«?»

Mavzu-9:T- limfotsitlarning antigenlarga nisbatan javob reaksiyalari.

Reja:

- 1.T- limfotsitlarning turlari va ularning funksiyalari
2. Supressorlarning vazifalari
- 3.T-seriyadagi killer xujayralarning roli
- 4.Tseriyadagi xujayralarni zararlanish mexanizmi

T — limfotsitlar asosan timusda xosil buladi va shu urning uzida xususiy dastur ort-tiradi. Kupgina kollarda ular asosan uzok umr kechi-radigan kamda kon va limfa oralirida aylanib yura-digan ,%ujayralar kisoblanadi. T — limfotsitlari-ning bunday «ozod» karakati ularga kupchilik antigen bilan tuknashishga imkon yaratadi. Xuddi V — limfotsit kabi, T — xujayra kam fakat uziga xos bulgan antigen bilan uzaro munosabatda buladi. Bundan tash-kari, bamisoli V — kujayralar kabi, ular kam uz sirtlarida maxsus noyob retseptorlarini tashib yuradi. Ammo bu retseptor V — kujayra retseptoridan tubdan fark kilsada, ular orasidagi bulgan ba’zi bir uxshashliklarni xam inkor kilib bulmaydi.

IMMUNITETNING BOQARILISHIDA T-SUPRESSORLARNING TUTGAN O’RNI

Immunologii tizim antigenlarga karshi doimo uzining spetsifik kujayralarini ishga solsa, ular uz navbatida chegarasiz proliferativ faollanishni na-moyon etsa, bunday kolda subpopulyasiyalarning mikdori keskin oshib ketib organizmga putur etkazadi. Immu-nologik javobning foydali yoki samarali chegaralani-shi, shu tizimda mavjud bulgan uz-uzini boimaruvcchi mexanizmga asoslangan buladi. Bu mexanizmni ishp soluvchi immunologii tizimning maxsus sundiruvchi xf jayralari mavjud bulib, ular supressorlar deb ata-ladi. Ma’lum bulishicha, bunday supressorlar T, V va kattoki kelib chikishi noma’lum bulgan «nol» lim-fotsitlar orasida uchraydi.

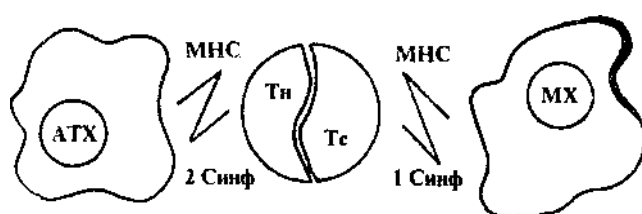
T — supressor kujayralarining uzi turli xil bulib, ular bir-biridan bir kancha xususiyatlari bilan fark kiladi. Masalan, sodir bulish sharoitlari, uzi-ga xos xatti-karakati, kinetika, vazifalarining genetik jikatdan chegaralanishi (restriksiya), etuklsh darajasi, antigen markerlari, ishlab chikkaradigan diatorlarining tabiati, kattoki turli supresssh mexanizmlari shular katoriga kiradi. Lekin shungaka-ramasdan barcha supressorlarni birlashtiradigan umu-miy fiziologik jikatni xam inkor kilib bulmaydya Bunday jikatning asosida barcha supressorlarning proliferativ faollikni, darajalanish kamda boshk limfoid xujayralarning funksional faolligish mukosara (blokirovka) kilish xususiyati urin olgan.

T — supressor kujayralarining faollanishida kamda ushbu vazifani ado etishda ularga boimqa ku-makdosh kujayralar lozim buladi. Bu kumakdosh ku-jayralar supressorning darajalanish jarayonida fa-ol katnashadi. Ba’zi kollarda Lytl-fT — induktor ana shunday kujayra kisoblanadi. Bu kujayra MNS tomo-nidan kodlanadigan I — J antigenini uzida namoyoneta-di. Lytl + , I—J + fenotipga ega bulgan T — kujayra, ikkinchi Lytl+2 + fenotipli T — kujayraga ta’sir kursatadi. Mana shu Lytl-f-2-f- kujayra supressornish utmishdosh kujayrasi kisoblanadi. Buning okkibatidz utmishdosh kujayra samarador Lyt2+

supressorga ai-lanib, T — xelper kujayrasiga uz ta'sirini kursatadi. SHunday kilib, bu xil supressiya T — xelper ku-jayralarining sonini boshkarish yuli bilan amalga oshadi. undan tapqari, supressiyani amalga oshiruvchi yana boguqa tizim ochilgan bulib, unda uch xil turli xujay-ra ishtirok etadi, ular kupincha Ts1, Ts2 va Ts3 deb jshlanadi. Ts1 kujayra, shubkasiz, antigenga xos bulib, uzidan Ts—FI— omilni ishlab chikaradi. TsFI omilning vazifasi keyingi boskichda kosil buladigan Ts2 kujayrasini faollashga karatilgan. Ts2 esa uz navbatida TsF2 omilini keltirib chikaradi, u antigenga spetsifik bulgan Ts3 kujayrani ragbatlantira-di. Ts3 kujayra deyarli supressorlik vazifasini ado etadi.

T — supressor va T — xelper kujayralarining ora-sida keskin fark; bor. Masalan, ular turli sharoit-larda kosil buladi, uz xususiyatlariga kura, bir-biriga {karama-karshi. Ularning orasida bulgan jiddiy far! bu antigen tuzilishini fark kila bilishga i\apa-tilgan turli uslubdir. Antigenni fark kila bilishda T — xujayra uni MNS buyicha chegaralangan kolda amalga oshiradi. Kupgina kollarda bunday immunolo-gik javob MNS buyicha restriksiyalangan deb atala-di. Ma'lum bulishicha, CD 4 sirtk;i marker ekspres-siyasiga ega bulgan xelper T — kujayra, antigen struk-turasini P-MNS sinf maksuloti yordamida farklay oladi. CD8 fenotipli sitotoksik (supressor kujayra esa farkat 1-MNS sinf maksuloti bilan birgalikda fark kila bilish kobiliyatiga ega.

T — supressorning, T — xelperdan yana bir farkki uning tarkibida Thy 1 antigeni mikdorining yurkorili-gi, kortikal timotsitlarda TL — markerning borligi kamda er yongok agglyutiniga (PNA), sial gangliozid



5- raem. T-
kujayra javobidagi MNS- buyicha
restriksiya elementlari

ATX- antigenni tavsiya etuvchi kujayra
(makrofag va u k.atoridagi boiqa
kujayralar) MX- muljal kujayra

(GMI), α — mannopiranozid va Ig ning Fc parchasip yunalgan retseptorlarning borligida. Bundan tashkary T — supressorining fenotipi $\text{Lyt1—2} + \text{J} + \text{bursa}$, $\text{T} \sim$ xelperning kupchiligi Lyt1-f-2—J fenotipiga ega.

T — supressorlar V — limfotsitning proliferati va darajalanish faolligini susaytirish, turli sinfp oid antitanalar sintezini kechiktirish, uta sezgirlsh reaksiyasini sekinlashtirish, sitotoksik T — limfo sitlarini kosil kilish, immunologik tolerantlshsh yuzaga keltirish va uni saklab kolish kam bir sanu xususiyatlarni uz id a mujassam kiladi. Bugungi kund| supressorlarning yana bir turi V — supressorlari bor ligi ma'lum buldi. Ular etilmagan V — limfotsit larga taalluklidir. V — supreesorlar DNK sintezsh antitanalar ishlab chikarish, effektor T — kujayra vazifasi, limfotsitning mitogenga bulgan javob reak siyasini amalga oshirishga tuskinlik kiladi. Ula/ asosan suyak kumigi tarkibida uchrab, ba'zi bir ta! minlarga kura, kumik sokasida sodir buladigan immu nogenezning turli shakllariga t}>skinlik kiladi.

SITOTOKSIK T-HUJAYRALAR. T — limfotsitlar immunologik javobni keltiri(chikarishda juda mukim va xilma-xil vazifalarni am etadi. Ularning biri — kujayra tashkisida namoy bulgan begona antigenlarni farklay olish kisobla-nadi. Begona antigenlar usimta antigenlari virusp oid uziga xos tuzilmalar kamda begona gistomansublik tizimiga taallukli gen maksulotlari bulishi mumkin.

Sitotoksik vazifani bajaradigan T — kujayrara? uzlarining tanlki membranalarida Lyt2 antigenip ega. Ular begona antigenlarda, bamisoli T — xelper-lar kabi, bir vaktning

uzida kam antigen determinan-tasi, kam MNS maksulotini farklaydi. Bunda sodi; buladigan immunologik javob I sinf maksulotlari bilan chegaralangan. Sitotoksik T — kujayralar Lyf L-2 + yoki Lyt2-b fenotipiga ega bulgan utmishdosh xujayralardan kelib chikadi. Bu kujayralarning da-rajalanishi xamda bulinib kupayishi ba'zi bir xelper yoki yuksaltiruvchi kujayralar ishtirokida sodir buladi. Xelper yoki yuksaltiruvchi kujayralarishshg ta'siri asosan eruvchi omillar, masalan, interley-kin — 2 yordamida amalga oshiriladi. Sitotoksik T-(GMI), *a* — mannopiranozid va Ig ning Fc parchasip yunalgan retseptorlarning borligida. Bundam taimarya T — supressorining fenotipi Lyt1—2 + J + bulsa, T-xelperning kupchiligi Lyt1+2—J fenotipiga ega.

T — supressorlar V — limfotsitning proliferatj va darajalanish faolligini susaytirish, turli sinfp oid antitanalar sintezini kechiktirish, uta sezgirlsh reaksiyasini sekinlashtirish, sitotoksik T — limfo sitlarini k'osil kilish, immunologik tolerantlikni yuzaga keltirish va uni saklab kolish kam bir *kant* xususiyatlarni uzida mujassam kiladi. Bugungi kund| supressorlarning yana bir turi V — supressorlari bor ligi ma'lum buldi. Ular etilmagan V — limfotsit larga taalluklidir. V — supressorlar DNK sintezsh antitanalar ishlab chikarish, effektor T — kujayrg vazifasi, limfotsitning mitogenga bulgan l'avob reak siyasini amalga oshirishga tuskilik kiladi. *Ulu* asosan suyak kumigi tarkibida uchrab, ba'zi bir taya minlarga kura, kumik sokasida sodir buladigan immu-nogenezning turli shakllariga t}>skinlik kiladi.

SITOTOKSIK T-DUJAYRALAR. T — limfotsitlar immunologik javobni keltiryak chirkarishda juda mukim va xilma-xil vazifalarniadk etadi. Ularning biri — kujayra tanmisida namoa bulgan begona antigenlarni farklay olish kisobla-nadi. Begona antigenlar usimta antigenlari virusp oid uziga xos tuzilmalar kamda begona gistomansub-lik tizimiga taallukli gen maksulotlari bulishi mum-kin.

Sitotoksik vazifani bajaradigan T — kujayrala)» uzlarining tashki membranalarida Lyt2 antigenip ega. Ular begona antigenlarda, bamisoli T — xelper-lar kabi, bir vaktning uzida xam antigen determinan-tasi, kam MNS maksulotini farklaydi. Bunda *sodu* buladigan immunologik javob I sinf maksulotlari bilan chegaralangan. Sitotoksik T — kujayralar Lyf J+2 + yoki Lyt2+ fenotipiga ega bulgan utmishdosh xujayralardan kelib chikadi. Bu kujayralarning da-rajalanishi xamda bulinib kupayishi ba'zi bir xelper yoki yuksaltiruvchi kU^jkyralar ishtirokida sodir buladi. Xelper yoki yuksaltiruvchi kujayralarishshg ta'siri asosan eruvchi omillar, masalan, interley-kin — 2 yordamida amalga oshiriladi. Sitotoksik T-limfotsitlar ishtirokida amalga oshiriladigan ni-shon — kujayraning sitoliz jarayoni ancha murakkab bulib, uning asosida ketma-ket urin almashinadigan turt boskich yotadi. Birinchi baskich bushrok, uziga xos bulmagan gidrofob alokaniig urnatilishi bilan ifo-dalanadi. Bu boskich sitotoksik T — kujayra va mul-jal — xujayra orasidagi membrana lipidlarining translokatsiyasini vujudga keltiradi. Bu jarayon bir necha dak;sh\$a davom etadi, undan keyin ikkinchi, sitotoksik T — limfotsit va muljal — xujayra membra-nalari orasidagi uziga xos turgun alokaning sodir bulish boskichi boshlanadi. Bu boskichning dastlabki dakikalarida T — limfotsit uzining retseptori yorda-mida muljal kujayradagi antigenni tanib oladi, keyin esa ular orasidagi munosabat ancha mustaxkamla-nadi. Uchinchi boskich sitologik mexanizmni ishga so-lish bilan ifodalanadi. Bu boskich oraligida nishon — xujayrada l\aytarib bulmaydigan uzgarishlar sodir bulib, u kalokatga uchraydi. Nikoyat, sunggi turtinchi boskichda muljal — kujayraning destruksiyasi yuzaga keladi, uni muljal kujayra tarkibidan alkralib chi-kayotgan peptidlar mikdorini ulchash asosida aniklash va kuzatish mumkin.

Mavjud tasavvurlarga asoslangan kolda shuni ta'-kidlash mumkinki, sitotoksik T — kujayralar virus tabiatiga ega bulgan kasalliklardan saklanishda va usimtalarga karshi immunitetning ba'zi bir turla-rini amalga oshirishda faol ishtirok etadi.

\Nazorat savollari:

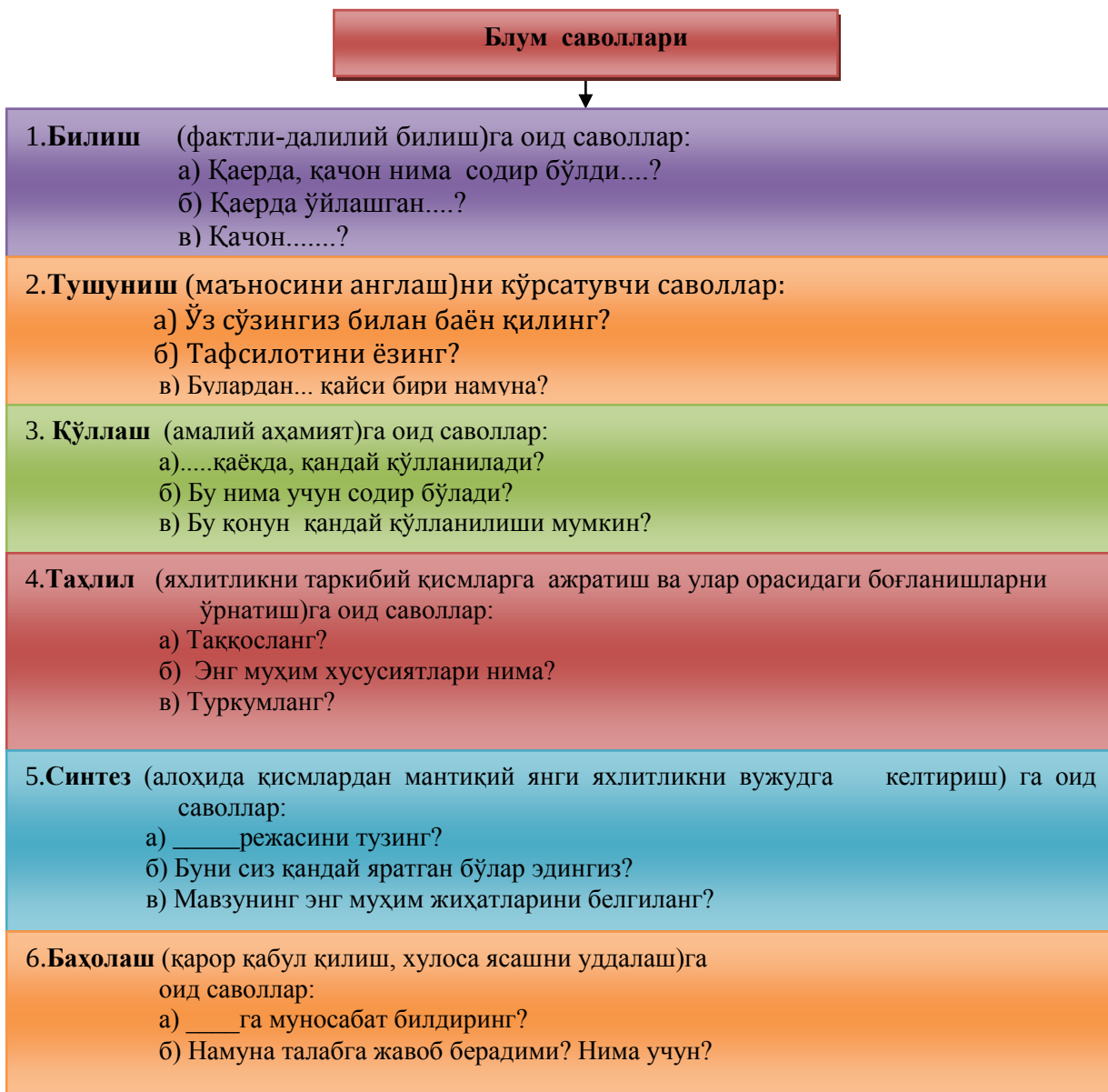
- 1.T- limfotsitlarning turlari va ularning funksiyalarini tushuntiring
2. Supressorlaring vazifalariga nimalar kiradi?

3.T-seriyadagi killer xujayralar antigen bilan zararlangan xujayrani yo'q qilish mexanizmini tushuntiring

4.Tseriyadagi xujayralarni zararlanish qanday mikroorganizmlar asosida kechadi?

BLUM TAKSONOMIYASI

Munozara vaqtida Blum savollaridan foydalanish yaxshi natija beradi.
Blum taksonomiyasi toifalari bo'yicha beriladigan quyidagi savollar namuna sifatida tavsiya etiladi.



Timusda bulgan limfotsitlar V — limfotsitlar bilan bir katorda gemapoetik uzak kujayrasidan paydo buladi. T — limfotsitning utmishdosh .kujayralari timusga tashrif buyurib, unda asta-sekin etila boshlay di. Keyinchalik ular immunologii tizimning perife rik a'zolaridagi timusga boglik bulgan mintakalari ni ishol gkiladi. Bunda limfoid zkujayralarga timus ning epitelial elementlari kichik bir mukitni yaratib beradi. Mana shunday mikromukit ayrisimon bezsh kamrab olgan utmishdosh T — kujayralarida maxsus uziga xos markerlar sintezini amalga oshirishga oliv keladi,. Odam organizmidagi T — kujayrasi voyaga eta| ekan, bu jarayonni uch boskichga bulish mumkin. Birik chi boskich yoki boshlangich timotsitlar davri CD7—CD1 va CD5

markerlariining ekspressiyasi bilan ifodalanadi. SHu boskichning uzida bulinish markeri SO38sh (barcha boshlangich gemapoetik utmish dujayra markeri) kam uchratish mumkin. Ikkinchi, umumiy timotsitlar boskichida, flimcha yuza markerlar paydo bula bosh-laydi. Masalan, GDI va shu bilan bir katorda, ba'z! bir kujayralarda CD4 va CD8 ning koekspressiyasish kuzdan kechirish mumkin. Nikoyat, uchinchi boskich — voyak ga etgan timotsitlar boskichi deyiladi. Bu davrda keskin fenotipik uzgarishlar yuz beradi. Bunda GDI ning ekspressiyasi susayib, CDS TCR —2 kompleksi barka-rorlashadi. Bu davrda ikki subpopulyasiyaning uziga xos antigenlari (CD4 va CD8, xelper va supressor) yakkol kuzga tashlanadi. Kupchilik timotsitlarning CD38 antigeni va transferin retseptorlari asta-sekin yukola boshlaydi.

Timusning gormon va omillari T — kujayranish rivojida juda mukim urin tutadi. Xilma-xil ropiMOH va omillar T — kujayra rivojining turli boskichlarida ta'sir kursatadi. Timusning ba'zi bir urganil-magan gormon va millarini eslatib u^{tish} zarurdir, Masalan, timozin (5 — fraksiyasi), timopoetin 1,2vaZ, timusning gumoral omili (THF), timostimulin shular jumlasidan.

Utmishdosh T — xkujayralar darajalanish jarayoni-ni utgach timus «kukragidan» ozod bulib, turli vazi-falarni bajaradigan geterogen (xelper, supressor va sitotoksik T — kujayralar) T — limfotsitlarga aylanadi. Ammo, shu bugungacha biror bir rge — T — ku-jayra uch xil turga oid T — limfotsitga uzgarishi mumkinmi yoki xar bir turga taallukli T — limfotsit uch xil rge — T — kujayradan kelib chikadimi — yukmi-ana shu masala katta muammo bulib turibdi. Bundan tashkari, timus yordamida uzining shaxsiy antigenlariga ta'sir kursatuvchi ba'zi bir kujayralarning uloktirilib tashlanish jarayoni kam amalga oshadi. Bu jarayon esa T — xujayra tolerantligini keltirib chiqaradi. Ma'lum bulishicha, timusda sodir bulgan T — kujayralar gomogen bulmasdan, balki ular gete-rogenlik xususiyatlarini uzida namoyon etadi. Ular-ning farki shundaki, bu kujayralar turli vazifani bajaradi, ularning joylashadigan maskani, kayot dav-ri va sirtki markerlari turlichadir.

Ushbu kujayra gurukidan ba'zi birlari killer (koti) sifatida xizmat kkilib, begona kujayralarni barbod etadi, bolmalari supressor (suyuklik va ku-jayraning immunologik javobni sundiruvchi) kiyofa-sida, uzgalari xelper (immunologik javobni keltirib chikarishda yordamchi dastur) shaklida namoyon buladi.

Timus dargokida etilib chikdan .ujayralar keyin-chalik uni tark etib, periferik T — limfotsit populya-siyasiga kushilib ketadi. Periferik T — limfotsitlar-ning bir sancha subpopulyasiyalari bulib, ularni sirt-ki markerlar yordamida aniklash va urganish mumkin. T — kujayraning V — limfotsitdan eng mukim farki ularning suy eritrotsitlari bilan rozetka kosil ki-lish kobiliyatidadir. Bunda sodir buladigan uziga xos «jipslashuv» T — kujayra retseptori bilan birga CD2 molekula tuzilmasiga boglik buladi.

Ammo shunga karamasdan, T — limfotsitning kaki-kiy markeri uning antigen retseptori kisoblanadi (TCR). TCR ikki kurinishda buladi, biri TCR1 va TCR2. TCR2 geterodimer bulib, ikki disulfid bogli polipeptiddir (alfa va betta-zinjirlar). TCR 1 esa uz tuzilishiga kura, TCR-2 ga uxshash buladi, uning polipeptidi gamma va beta zanjirlaridan tashkil topadi. Ikki retseptor xam kompleks polipeptid-ni tashkil etib, CD3 kompleksiga yondoshadi. TCR 2 ning molekulyar orirligi 90 KD ni tashkil kiladi (alfa zanjir—45 KD, beta-zanjir esa 40 KD) Alfa-zan-jirning sintezini kodlaydigan genlar 14 xromosoma-da, betta-zanjirning sintezini esa odamning 7(sich-konlarda 6 xromosoma) xromosomasidagi genlar amalga oshiradi. Jkap bir zanjir uzining barkaror va uzga-ruvchan kismalariga ega. 1kon tarkibidagi T — kujay-ralarning taxminan 95 foizi TCR — 2 ekspressiyasish amalga oshirsa, kolgan 5 foizi TCR1-ra turri keladn, TCR — 2 tashuvchi kujaypav'lapning uzi ikki turli sub-populyasiyaga bulinadi. Ulardan biri Tn, ya'ni xelper kujayralari (sirtki kavati CD4 musbat fenotishn buladi) va ikkinchisi Ts, ya'ni supressor kujayralar-dir (CD8 musbatli fenotip)lar esa MNS I sinf molekullari yordamida antigenni farklay oladi.. CD 4 musbat kujayralar-ning uzi funksional jikatdan

yana bulinadi. Ulardan biri T va V — kujayralarning immunologik javobiga jiddiy ravishda kumaklashadigan CDW29 antigenli fenotip kujayra bulsa, ikkinchisi supressor (sitotoksik funksiyasiga ega bulgan CD 45R musbatli) kujay-radir. Monoklonal antitanalar yordamida CD8 + T — kujayralarini yana uziga xos vazifani ado etadigan subpopulyasiyalarga ajratsa buladi. Masalan, MNS — molekulari bilan kamkorlikda antigenni farklay oladigan va interleykin — 2(IL —2) ishlab chikara-digan CD 28+ kamda MNS — molekularidan xoli ravishda antigenni paykaydigan yoki IL —2 ishlab chi- (karadigan CD 11b + kujayralar shular jumlasidan).

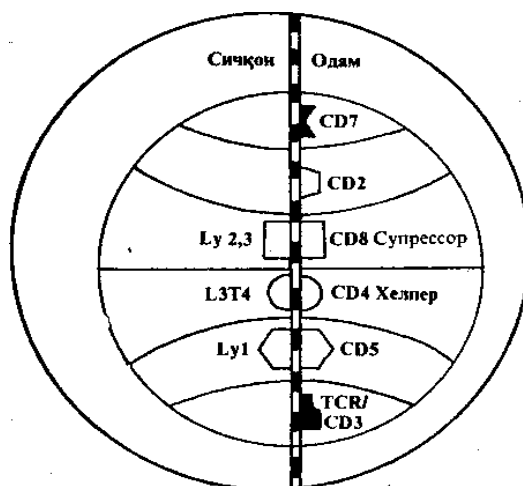
YUk;orida aytib utilgan, CD 2 ga qarshi yunalgan spetsifik monoklonal antitanalar 50 KD ogirlikiga teng keladigan antigen bilan boglanish gkobilyatiga ega. Bu antigen gkuy eritrotsitining retseptoriga moe keladi. CD 2 — barcha etilgan periferik I — limfoditlarda uchraydi, Taxminlarga kura, CD 2— markerlari T — limfotsitlarning uziga xos bulmagan faol lanish jarayonida ishtirok etadi.

CD 3 klasteriga taallutsli monoklonal antitana lar, uch molekulari oksil kompleksi va unga yondoshga! T — kujayraning uziga xos antigen retseptori bila! boglanish xususiyatiga ega. T — limfotsitning uzip xos antigen retseptori shu populyasiyaga oid kujayra larning asosiy funksional marker i x₄isoblanadi. CD! antigen, T — xujayraning spetsifik retseptori bila! ekspressiya jarayonida chambarchas boglanganligi sabab li, marker kisobida etuk T — kujayralarni ash_u lashda ishlatiladi. T — kujayraning CD — markerla ri tugrisidagi ayrim mukim ma'lumotlar 4- jadvaldg keltirilgan.

Periferik limfotsitlarning bir necha xil papulya-siyalari bulib, ularni membranada namoyon bula-digan uziga xos antigenlar yordamida aniklai mumkin. Masalan, sichkon organizmidagi Lyt—1 anti-geniga ega bulgan kujayralar T — xelper, Lyt —2 fenotipli kujayralar esa T — supressor populyasiyalari-ni tashkil kiladi. Sitotoksinli vazifani utaydigan T — kujayralar kam Lyt2+ kisoblanadi.

Odam organizmidagi T — xelper — CD 4, supressor kujayrasi esa CD 8 antigenlariga ega buladi. YUkorida eslatib utilganidek, bu kujayra subpopulyasiyalari fakat ti-musni tark etganlaridan keyin sodir buladi (4-raem).

T — kujayraning asosiy boshkaruv vazifalaridan biri V — kujayrani bulinish va antitanalar sodir kiluvchi kujayraga aylantirishni ragbatlantirish ki-eoblanadi. V— kujayraning kupchilik oksil antigenlariga bulgan javob reaksiyasi T — kujayra yordamiga tulits ravishda boglik; buladi. Bunday antigenlar odatda, timusga boglik; antigenlar deb ataladi. T — kujayra yordami turli yunalishda amalga oshirilishi mumkin. Ulardan biri, T — va ta'sirlanuvchi V — ku-jayra orasida sodir buladigan «karindoshlik» yorda-midir (cognate yordam). Bu yordamning mokiyyati shunda-ki, immunologii javob yuzaga kelishida T va V kujay-ralar bir-birlari bilan uzaro munosabatda buladi. Mana shunday jarayonda V — xujayra retseptori bilan uziga xos kelishuvchilikda bulgan antigen



molekulasi, T — kujayra tomonidan farkanadi. Bu T — xujayra ayni varktning uzida V — kujayra sirtidagi MNS P-sinf gen maksulotini aniklay oladi. Lekin, bun-day kognat yordam kursatish jarayonida T — kujayra-dan V — dustiga utkaziladigan mediator yoki mediator-lar tabiati kaligacha noma'lum. Ba'zi bir taxminlar-ga kura, bunday vazifani T — kujayra tarkibidan ajratib chikariladigan ba'zi bir erituvchi omillar bajara olishi mumkin. T—kujayraning dastlabki faollashuvi bir vagktning uzida antigen va II sinf molekulasini paivay olishga boglik bulib, u maxsus

antigenni tavgim ki-luvchi kujayraning tashki sirtida sodir buladi. Antigenni tavgim etish kobiliyati makrofag, Langergans-ning epitelial kujayrasi, Kupfer, dendrit va ba'zi V— limfoma kujayralariga xosdir. Antigenni tak-dim etuvchi kujayralarning kamma vazifalari oxiri-gacha ma'lum bulmasada, ularning interleykin-1 ishlab chikarishi aloqida ahamiyat kasb etadi. V — kujayra faollanishi T — kujayraning xelper vazifasi yana bosharka yul, shu jumladan, xelperning uziga xos bul-magan va odatda limfokin deb ataladigan omillarning kosil kilinishi bilan kam amalga oshirilishi mumkin. Bunga misol sifatida V — kujayra bulinishini bosh-karadigan va darajalarga ajratuvchi omillarni keltirish mumkin.

Nazorat savollari:

1. T- limfotsitlar markerlari haqida tushuncha bering
2. Gemapoetik uzak kujayralaring xususiyatlari
3. T- seriyadagi hujayralarni voyaga etish jarayoni qanday kechadi?
4. Limfoid hujayralar haqida tushuncha bering

FSMU texnologiyasi. Ushbu texnologiya munozarali masalalarni hal etishda, bahs-munozaralar otkazishda yoki oquv seminari yakunida (tinglovchilarning oquv-seminari haqidagi fikrlarini bilish maqsadida), yoki oquv rejasi asosida biror-bir bolim organilgandan song qollanilishi mumkin, chunki bu texnologiya tinglovchilarni oz fikrini himoya qilishga, erkin fikrlash va oz fikrini boshqalarga otkazishga, ochiq xolda bahslashishga, shu bilan bir qatorda oquvchi-talabalarni oquv jarayonida egallagan bilimlarini tahlil etishga, qay darajada egallaganliklarini baholashga ham tinglovchilarni bahslashish madaniyatiga orgatadi.

F - *Fikringizni* bayon eting

S - Fikringiz bayoniga biror-bir *sabab* kursating.

M - Korsatilgan sababni tushuntiruvchi (isbotlovchi) *misol* keltiring.

U - *Fikringizni* umumlashtiring.

Mavzu-11: Immun sistemada organizmga kiritilgan begona moddalarga nisbatan antitelolar xosil bo'lish shartlari.

Reja:

1. Antitana hosil bo'lishida antigenlarning roli
2. Antitana hosil bo'lishida birlamchi limfoid organlarning ahamiyati
3. V- limfotsit va makrofanlar kooperatsiyasi

Immunoglobulinlar ya'ni (antitelolar) yot modda organizmga kirs, tezda sintez buladigan immunologik faol moddalar xisoblanadi. Antitelolar tegishli antigenlar bilan o'zaro ta'sir etishiga asoslangan reaksiyalar o'z-o'zidan amalga oshmaydi. Bunda albatta, organizmda paydo bo'ladigan immun signallar katta rol o'ynaydi. Antigenlarni kimyoviy modifikatsiyasilash yordamida unga spetsifik antitana xosil qilish mumkin. Hamma antigenlar xam antitelolar bilan kompleks xosil kilishga qodir emas. Asosan bu kichik molekulali gaptenlar, peptidlar, oksillarga tegishli. SHu bois ularni kimyoviy modifikatsiyasilash zarurligi vujudga keladi.

Uta oddiy va kupincha konikarli samara beruvchi metod antigen molekulasini kundalang tikishdir. Bu xolda kimyoviy "kuprikni tanlash uta muxim xisoblanadi. YA'ni antigen molekulalari bilan molekulalararo bu bog bilan ta'minlaydigan poli funksional birikma. Xozirgi vaktda bunday tashuvchilarning poyoni keng. Ulardan bir nechtasining formulasi -rasmda kursatilgan.

Masalan, bu rasmda tasvirlangan sianxloridi reaksiyaga kirishga qodir uchta 6- 61 begi tutgan. Birinchi gruppani ta'sirlanishi juda tez,

ikkinchi gruppaniki sekinrok, ikkita gruppа okisl bilan beglangan dan so'ng uchinchi oxirigi gruppani reaksiyaga kirishuvchanligi kamayib kettdi. Ba'zida bu uchinchi bog'ni keyingi antigen neytral, kation va anion xosil qilgan zaryadni aniqlash maksadida moddani bog'lash uchun kullaniladi.

Boshqa reagent bu dialdegid va avvalom bor glutardialdegiddir. Molekulaning ikki tarafida joylashgan ikkita aldegid gruppalar oksilning aminogruppalari bilan oson reaksiyaga kirisha oladi. Bunda yukori molekulyar ogirlikka ega bulgan antigenlar gomopolimerlari xosil bo'ladi. Ko'pincha bunday gomopolimerlar barkraor va yukori immunogen xossalarga ega bo'ladi. Glutar aldegidga qaraganda bir qator afzallikka ega bo'lgan boshqa tabiiy dialdegid - gossipoldir, bu xolda va bu xaqida kuyida mukimmal to'xtalib utamiz. Oksillarni tikish uchun bisdiazobenzidin - 2,2 disulfo kislota 2,4 - dinitro- 3,5-diflorbenzol va boshqa bu birikmalar taklif etilgan.

Uncha katta bo'lmagan molekulyar ogirlikka ega va reaksiyaga kirishishga qodir funksional gruppа to'tgan suvda eriydigan polimerlarni kullashni istikbollari keng. Misol tarikasida epoksi gruppа to'tgan olliglitsedil efiri va fenillaktamlarni sopolimerlarni ayti shu mumkin, ular aminogruppalari bilan yokislotali yoki ishkoriy muxitdaarda kovalent bog' xosil qilishlari mumkin. Bunday polimerlarni sifatida glutar aldegidning polimerlari xam katnashishi mumkin. Tabiiyki polimerlarni kullaganda xar bir xol uchun kerakli uzunlikdigi molekular tanlab olinishi zarur.

Yukori immunogen xossaga ega bo'lgan antigenlarni gaptenlarni makromolekulalarga peptidlarga, oksillarga, polimaxaridlarga va xatto tirik xujayralarga kushish bilan olish mumkin. Oksillarga va peptidlarga biriktirishda agarda kundalang choklar xosil bo'lishiga yul kuyilmasa avvalom bor gapten modifikatsiyalanadi, so'ngra esa nukleofil almashinish reaksiyasi orkali / asosan lizin koldiklarini aminogruppalari orkali/ yoki kushi lishi /tirozin va giotidinni kushilishi/ uni oksilga bog'lanadi bu xolda iloji boricha kundalang bog'larni xosil bulishini oksilni uzi yoki peptid modifikatsiyalash mumkin. Ushbu reaksiyalarni barchasini tezligi rN va gruppani tabiatiga bog'lik. demak birinchi xolda uorte- ekipara xolatida a – 0zn gruppada ikkita nitrogruppani i shtiroki juda muxim. ozn gruppа urnida fluor katnashishishi mumkin. /2,4 - dinitrofluor benzol yoki xlorpikrilxlorid/.

Kuchsiz ishqorda va xatto rN neytral muxitda diazon tuzlari xam tirozin koldiklari bilan ta'sirlanadi. gaptenlar fakatgina oksillarga va peptidlarga emas, balki uglerodlarga xam biriktirish mumkin. uglevodlarni aktivatsiyasini bromsianid yoki xloratsetat bilan amalga oshirish mumkin. Reaksiya ikkita boskichda ketadi: avvalombor kuchli ishkoriy muxitda / r n 11,5/ bu gent poli saxaridni kushni gidroksil gruppalari bilan ta'sirlashadi, buning natijasida ikki gruppа xosil buladi: peaktiv va reaktiv emas. birinchi kuchsiz ishkoriy eritmada /rn 8,0/ reaksiyaga kirishib geptan yoki oksil molekulasida lizin aminogruppasini xosil kiladi. uch birikmaning aralashmasi izomechevina xosilalari i midek karbonat bilan kushilgan. shuning uchun kam mikdorda boshqa maxsulotlar xosil buladi, lekin reaksiyaning anik mexanizmi xozirgacha anik emas.

Xloratsetat bilan uglevodlarni reaksiyaga kirishi xam boskichma-boskich ketadi, birinchi boskich muxitni rN i yukori bulishi talab kilinadi, buning natijasida hci ajralishi bilan reaksiyaga kirishganda amid xosil kiladi. karbomid /i- til -3,3- dimetilamikopropilkarbomid/ tasvirida oralik

birikma /O-atsilizomochevina/ xosil buladi va shu xaxoti amid bilan tasirlashadi, ammo kuchsiz kislotali muxitga $\text{pH}=4, -7, ^\circ$.bunda malum darajada oksil molekulalarini uzini kundalang tikilishi yuz beradi. dekstrin uglevodlarni modifikatsiyasigi peryodat kullash bilan amalga ashirish mumkin.

periyodatta'sirida uglevod modifikatsiyasini shif ishkoriy xosil buladi. buishkoriy uzi kislotal sharoitda etarli darajada chidamsizdir. SHuning uchun keyingi boskichda uni borgidrat natriy yordamida kaytariladi. bu yul bilan aktivlangan uglevod tugri oksil bilan ta'sirlashadi.

Bu usul (metod) kamchiligi bo'lib uning *ko'p bosqichlilik*; antitanalar va shu bilan birga fermentning ham *oldindan* modifikatsiyasi zarurligi; hamda avidin molekulasi *nospetsifik* bog'lanishning etarli yuqori darajasida bo'lishi, chunki glikoproteid tabiatga ega bo'lganligi sababli, bu oqsil yuqori izoelektrik nuqtaga ega va boshqa oqsillar bilan kompleks hosil qila oladi. Oxirgi kamchilik biotinga spetsifik oqsil sifatida avidin emas, balki streptavidindan foydalanish yo'li bilan bartaraf etilishi mumkin. Streptavidin molekulasi ham to'rtta biotin bog'lvchi yuqori affin markazlarga ega, biroq neytralga yaqin izoelektrik nuqtaga ega va kam darajada antitanalar bilan nospetsifik bog'lanishga ega.

Fermentativ belgini nokovalent kiritishning yana bitta usuli antitanalar konyugantlarini biomolekula tarkibiga kiruvchi uglevod qoldiqlari bilan spetsifik bog'lana oladigan lektin – o'simlik oqsillari bilan ishlatishga asoslangan. SHu munosabat bilan lektinlar glikoproteinlarni tozalash va ajratib olishda qo'llaniladi. Bu maqsadda keng ishlatiluvchi lektinlardan biri konavlin laviyasidan olingan konkonavalin A hisoblanadi ($M_r=96\ 000$). Antitana bilan lektinning kovalent konyugati glutar aldegid yordamida hosil bo'ladi. Sintez qilingan konyugatlar antitanalar va antigenlarni aniqlash foydalaniladi. Fermentning lektin bilan konyugati asosidagi antitanalar IFA o'tkazishda ishlatiladi.⁹

Nazorat savollari:

1. Antitana hosil bo'lishida antigenlarning rolini tushuntirib bering
2. Antitana hosil bo'lishida birlamchi limfoid organlarning ahamiyati nimada?
3. V- limfotsit va makrofanlar kooperatsiyasini tushuntiring
4. Antigen modifikatsiyasi nima?

Mavzu-12: Immun sistemada organlarga kiritilgan begona moddalarga nisbatan antitelolar faol markazlarini ta'siri

Reja:

1. Adyuvand Freyd moddasini antitelo hosil bo'lishidagi roli
2. Antitelolardagi sharnir qismining faoliyati
3. Immunogenlikning mohiyati

Antigen – bu yot modda bo'lib, u organizmga kirishi bilanoq o'ziga qarshi va spetsifik bo'lgan, o'z navbatida antigen bilan o'zaro ta'sirlashadigan yangi oqsillarni vujudga keltiruvchi immunogen faol modda hisoblanadi. Antigen sifatida turli moddalarni jumladan, mikroorganizmlar, viruslar, polisaxaridlar, turli oqsil moddalar, hujayra, hottoki to'qimalar ham rol o'ynashi mumkin. Umuman olganda antigen deb shunday moddani aytish mumkinki, ya'ni organizm uchun yot bo'lgan modda organizmda unga qarshi bo'lgan yangi oqsil moddani – glikoproteidlar sinfiga kiruvchi immunoglobulinlarni, ya'ni antitanalarni sintezlanishiga olib keshishi kerak. Bordini, yot modda organizmga kirsam, antitanalar hosil bo'lmasa, bunday moddalar serologik jihatdan faol modda hisoblanmaydi.

⁹ Groves M.J. (ed.) "Pharmaceutical biotechnology" 2-nd ed. Textbook. CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. - 396 p.

Biologik faol moddaga nisbatan antitanalar hosil qilish kerak bo'lsa, avvalo ana shu moddaning titri, ya'ni serologik jihatdan faolligi aniqlanadi. So'ngra immunologik jihatdan stimullovchi moddalar bilan (adjuvand Freyd moddasi yoki boshqa stimulyatorlar) xayvon organizmiga yuboriladi va shundan so'ng organizmda antitana hosil bo'lish jarayoni kuchayadi. Organizmda sintezlangan antitanalarda faol markazlari mavjud bo'lib, ushbu markaz V- variabel qismi deb yuritiladi. Antitanalar ana shu variabel qismi bilan antigen bilan o'zaro ta'sirlashib bog'langanda, ulardagi faol markazlar muhim rol o'ynaydi. Antigenning antitana bilan bog'lanadigan qismi faol markaz orqali amalga oshib, ushbu qism - antigen determinanti deb ataladi.

Immun sistemani faoliyatini kuchaytiruvchi va vujudga keltiruvchi antigen, yuqorida qayd etganimizdek, immunogenlik xususiyati kuchli modda hisoblanadi. Ko'pincha antigenlar oqsil tabiatiga ega moddalar bo'lib, organizmda albatta ma'lum bir immunologik reaksiya turini amalga oshiradi. Axmmo antigenlik xossalari past bo'lgan, ba'zi boshqa turdagi moddalar ham mavjuddir. Masalan, nuklein kislotalar, antibiotiklar, garmonlar, yog'lar, gaptenlar shular jumlasidandir.

Antigenlik yoki immunogenlik xususiyati past bo'lgan moddalar asosan kichik molekulali moddalar hisoblanib, ular gaptenlar deb yuritiladi. Kichik molekulali birikmalarni o'zaro yoki boshqa makromolekulalar bilan birlashtirib /assotsiatlarni, ya'ni immunogenlik xususiyatini hosil qiluvchi moddalar/ gibril, molekulyar massasi katta bo'lgan moddalarni sintezlash mumkin. Bundan tashqari antigenlarni sun'iy ravishda olish mumkin. Hozirga kunda sun'iy sintezlangan makromolekulalar hosil qilish bilan immunoximiya yo'nalishida faoliyat ko'rsatayotgan bir guruh olimlar shug'ullanishmoqda.

Antigen haqida so'z borganda shuni aytib o'tish lozimki, antigenlar faqat tashqi muhitdan kiradigan moddalar hisoblanmay, balki organizmda fiziologik o'zgarishlar natijasida hosil bo'lgan, organizmning shaxsiy o'ziga xos molekulalari ham antigen hisoblanadi. Ular ham spitsifik oqsillar-antitelolar hosil bo'lishiga ko'maklashadigan, genetik jihatdan muhim ahamiyatga ega bo'lgan oqsil tabiatli moddalar guruhi hisoblanadi.

Immunoglobulinlar gruppasiga kiruvchi barcha murakkab oqsillar plazma oqsillaridir. Antitelolarni ya'ni immunoglobulinlarni kimyoviy tuzilishi, funksiyalari juda mukammal o'rganilgan. Ularda ikki turdagi zanjir mavjud bo'lib, ularning og'ir zanjirlari N-zanjir va engil zanjirlari esa L- zanjir deb yuritiladi. Ushbu zanjirlar turli og'irlikka ega bo'lib, 4 ta polipeptid zanjirdan ya'ni 2ta og'ir va 2ta engil zanjirdan tuzilgan. Quyida ko'rsatilgan rasmda antitelani tuzilishi va uning qanday qismlardan tashkil topganligi sxematik ravishda tasvirlangan. Og'ir va engil zanjirlar bir-bilan sulfid ko'priklari orqali bog'langan / -N/ bog'lar. Xuddi shunday bog'lar ikkala og'ir zanjirlar orasida ham bor. Har bir engil va har bir og'ir zanjirlarda ichki bog'lar mavjud bo'lib, ular ikki tipdagi uchastkalarga ajraladi: doimiy uchastkaga- ya'ni har xil immunoglobulinlarda turlicha bo'ladigan aminokislotalar ketma-ketligidan iborat qismga, /S va SN uchastkalar/ va doimiy bo'lmagan qismga, ya'ni variabel uchastka, ularda aminokislotalar ketma-ketligi o'zgaradi. Immunoglobulinlarning giper-variabel qismi antitelaning faol markazi hisoblanib, ushbu qism segmentlari to'g'ridan to'g'ri u yoki bu antigen bilan o'zaro ta'sirlashib bog'lanish uchun javobgardir. Har qaysi uchastka 60-70tagacha aminokislota qoldig'idan tashkil topgan, xalqa shakliga ega bo'lib, fazoviy ko'rinishda tahlangan tuzilishga ega bo'lib ko'rinadi.

Immunoglobulinlarni og'ir zanjirlari, H zanjirdagi – bog'lari jiddiy farqlanadi. Engil va og'ir zanjirlarni bir-biriga solishtirish ular strukturasi o'xshash aminokislotalar ketma-ketligi mavjudligini ko'rish mumkin. Immunoglobulinlarning zanjirlarini so'ngi uchastkasi S – uchastka deb belgilanadi va antitelaning konstant qismi hisoblanadi. Og'ir zanjirdagi konstant qism- Sn uchastka deb yuritiladi. Bundan tashqari og'ir va engil zanjirlarda domenlar mavjud bo'lib, ular immunoglobulin harakatini ta'minlaydi. Og'ir zanjirda 3ta, engil zanjirda esa 1tdan domen mavjuddir. Og'ir zanjirdagi domenlar varmabel va konstant domenlarga bo'linadi. Sn1 og'ir zanjirning birinchi konstant domenini bildiradi..

Immunoglobulinlar o'zlariga xos bo'lgan, alohida genlarda sintezlanadilar. DNK strukturasida immunoglobulinlarni doimiy va variabel uchastkalar hakida ma'lumot yozilgan gen uchastkalari bo'ladi. Ushbu gen uchastkalari bir necha tur antitanalar hosil qilishga javobgar hisoblanadi. Hujayra darajasida immunoglobulinlarni hosil bo'lishi uch turdagi xujayralarni kelishilgan ishtirokida kechadi, ya'ni T - limfotsitlar V - limfotsitlar va makrofaglar. Makrofaglar komplement sistemasi uchun retseptorlarga ega hujayra hisoblanadi. Organizmga tushgan antigen spetsifik kompleks ko'rinishida T xujayraga va makrofagga yoki faqat makrofagga bog'lanadi. Makrofag antigeni antitelalar sintezini stimullaydigan immunogenga aylantiradi. Makrofagi antigen bilan bog'lanishi V-limfotsitlarni ko'payishiga ham sabab bo'ladi. V- limfotsitlar antitanalar sintezini boshlash uchun, plazmatik xujayralarga aylanadi va o'ziga xos antitanalarni sintezlay boshlaydi.

Antitanalar faol markazi va uning roli. Antitanalar molekulalari orasidagi ingichka bo'shliq antigen bog'lovchi maydonni hosil qiladi. Faol markazda gipervariabel' yuqori darajada o'zgaruvchanlikka ega uchastka sigmentlari joylashgan bo'ladi. Aminokislota ketma-ketligi bilan farqlanadigan antigen bog'lovchi uchastka antigen determinantni komplementar o'zaro ta'sirini ham ta'minlaydi. Bu o'rinda shuni aytib o'tish lozimki, bitta polipeptid zanjiridan hosil bo'ladigan fermentlarning faol markazidan farqi o'laroq, antitanalarda kombinatsion xilma-xillikni ta'minlaydigan ikkita zanjir ishtirok etadi. Buning natijasida ularda yangi xususiyatlar vujudga kelib, ular polispetifik hisoblanadi, ya'ni birgina antitana molekulasida, bir kator antigenlar to'plamiga komplementar bo'lishi mumkin. Bunday holatda, antitana o'xshash tuzilishga ega antigen determinantlari hamda umuman boshqa strukturalar ega determinant bilan ham birikishi mumkin.

Antitanani antigen bilan o'zaro ta'siri. Immunoglobulinning (gipervariabel uchastkasi) molekulasining tuzilishiga qarab, bir yoki bir necha gruppaga antigenlar antitanalar bilan o'zaro spetsifik ravishda ta'sirlashishi mumkin. Bunday holatda antigen va antitana orasida hosil bo'layotgan bog'lanish juda yuqori bo'ladi. Biroq, ba'zi xollarda ko'p mikkordagi antigen antitela komplekslariga ta'sir etadi. Antitana molekulasida simmetrik va kam bilan antigen bog'lovchi ikkita markazga ega. U ikkita xil antigen molekulasiga tegishli xil antigen determinantlari bilan o'zaro ta'sirlanishi mumkinligini bildiradi. SHuning uchun antigen-antitana komplekslari hosil bo'lishida cho'kmalar vujudga keladi, ya'ni pretsipitatlar. Pretsipitatsiya reaksiyasi jarayonlari mohiyatini tushunishda ushbu tushuncha muhim ahamiyat kasb etadi. Agar antigen oqsil modda bo'lmay, xujayra bo'lsa, unda xujayra yuzasidan ko'p mikkorda aynan shu antitanalarni bog'laydigan determinantlar mavjud bo'lishi mumkin. Bunda yuzadagi manfiy zaryadlarni ekranlashishi yuz beradi va xujayralar yopisha boshlaydi va agglutinatsiya reaksiyasi amalga oshadi.

SHuning uchun pretsipitatsiya va agglutinatsiya reaksiyalari faqat antigen va antitanalarni o'zaro bir-biriga bo'lgan nisbati, ma'lum mikkorda bo'lgandagina sodir bo'ladi. SHu bois, immunokimyoviy reaksiyalarni qo'llash bilan olib boriladigan analitik jarayonlar (oddiy va qo'sh diffuziya, immunoelektroforez, har xil immunoanaliz, immunoenzim tahlili) ta'sirlanuvchi birikmalarning optimal nisbatida olib borilishi lozim. Antitana haqida so'z borganda, albatta monoklonal antitanalarni roli va ularning ahamiyati, ularni olish usullari haqida bilish juda muhimdir. Sababi IET va liposomal IETning sezgirlik darajasi ushbu komponentga juda bog'liqdir.¹⁰

Nazorat savollari:

1. Adyuvand Freyd moddasini antitelo hosil bo'lishida qanday rol o'ynaydi

¹⁰ Ташмухамедова Ш.С. Липосомалар асосида иммуноэнзим таҳлили. Услубий қўлланма. Тошкент: Geo fan poligraf. 2012.

2. Antitelolardagi sharnir qismining faoliyatini tushuntiring
3. Immunogenlik deganda nimani tushunasiz?
4. Immun jarayonni qanday moddalar stimullaydi?

Bilaman/bilishni hohlayman/bildim (B/B/B) Biror-bir mavzu yoki bolim boyicha tadqiqot ishini otkazishga imkon beruvchi grafik organayzerdir. Izlanuvchanlik, anglash faoliyatini ratsional tashkil etish malakalarini rivojlantiradi.

2-jadval. B/B/B jadvali.

<i>Bilaman</i>	<i>Bilishni hohlayman</i>	<i>Bildim</i>

«ASSESSMENT» texnikasi

Mazkur metod talim oluvchilarning bilim darajasini baholash, nazorat qilish, ozlashtirish korsatkichi va amaliy konikmalarini tekshirishga yonaltirilgan. Mazkur texnika orqali talim oluvchilarning bilish faoliyati turli yonalishlar (test, amaliy konikmalar, muammoli vaziyatlar mashqi, qiyosiy tahlil, simptomlarni aniqlash) boyicha tashxis qilinadi va baholanadi.

3-jadval. «ASSESSMENT» usulining nazorat shakli.

Test	Qiyosiy tahlil
Simptom	Amaliy konikma

Mavzu-13: Monoklonal antitelolarning olinishi

Reja:

1. Monoklonal antitanalar olishda dastlabki hujayralarni roli
2. Monoklonal antitanalar olish jarayonining bosqichlari
3. Hujayralarni miqdoriy tahlili
4. Hujayralarni saralshda GAT sistemaning roli
5. Monoklonal antitanalarni qo‘llanilishi va ahamiyati

Monoklonal antitanalar – gomogen antitanalar bo‘lib, gibril hujayralar tomonidan ishlab chiqariladi. Bu hujayralar bitta izotipli spetsifik immunoglobulinlarni ishlab chiqaradi. Bunday gibril hujayralar – gibrilomalarni olish metodikasi 1984 yilda Milshteyn, Kyoler va Erne tomonidan ishlab chiqilgan. Bu metod quyidagi jarayonlarni o‘z ichiga oladi: immunizatsiyalangan hayvon (masalan, sichqon) taloq hujayralaridan V-limfotsit xujayralari olinib, mieloma (rak) hujayralari bilan qo‘shiladi va gibril xujayra hosil qilinadi. So‘ng gibril hujayralar ko‘paytiriladi va seleksiya qilinadi. Bunda

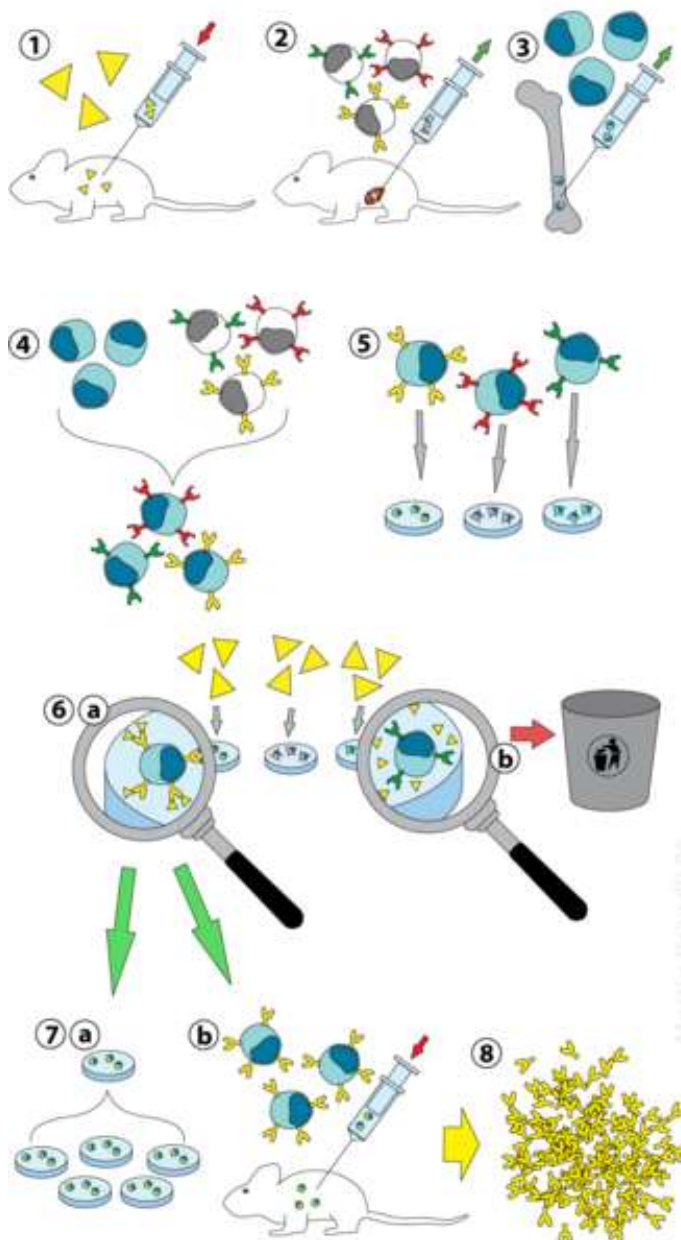
seleksiyada kerakli klonlar ajratib olinadi. Ular ma'lum antitanalarni ishlab chiqaradi. Bu antitanalar esa yuqori spetsifiklikka ega bo'ladi. Olingan antitanalar ma'lum epitopga nisbatan spetsifikligi bilan ajralib turadi.

Monoklonal antitanalar bir jinsli bo'lib, ular o'zining quyidagi xususiyatlari bilan ajralib turadi. Masalan:

1. spetsifikligi;
2. avidligi;
3. affinligi;
4. barqarorligi

Gibridom texnologiyalar asosida juda katta bo'lgan miqdorda gomogen antitanalarni ma'lum antigenga nisbatan ishlab chiqarish mumkin. Sichqonda shish hosil qilish uchun uning qorin bo'shlig'iga mineral yog' yoki inert qattiq plastik – kanserogen moddalar yuboriladi. Buning natijasida shish hosil bo'ladi. Tadqiqot ishlari inbred sichqonlar liniyasida amalga oshiriladi. Sichqonlar mieloma hujayralari gibridom hujayra olish uchun qulay hisoblanadi. Biroq sichqonlarda mieloma hosil qilish ancha mushkul ish hisoblanadi. Gibridom hujayra olishni spontan usuli ham mavjud bo'lib, bunda somatik hujayralar gibrida tetraploid, diploidlar, ya'ni geterokarionlar hosil bo'ladi. So'ngra bir nechta yadrolar birlashib bitta yadroni hosil qiladi. Natijada hujayra xromosomalarini birlashtirgan gibrid hujayra hosil bo'ladi. Hujayralarni qo'shilish chastotasini ko'tarish uchun quyidagi agentlar kerak:

1. virus Senday – hujayrani yorib kirish xususiyatiga ega;
2. lizoletsitin;
3. polietilenglikol



1-rasm. Gibridom texnologiya asosida gibrid hujayra olish: (1) hayvonlarni immunizatsiyalash;

(2) taloqdan V-limfotsitlarni ajratib olish;

(3) mieloma hujayralari kulturasini;

(4) V-limfotsitlar va mieloma hujayralarini qo'shilishi;

(5) hujayra liniyalarini sekretsiyasi;

(6) antitanalar ishlab chiqaruvchi liniyalarni skrining va seleksiyasi;

(7) gibridomani in vitro (a) yoki in vivo (b) ko'payishi;

(8) antitanalarni olinishi.

Nazorat savollari:

1. Monoklonal antitanalar olishda dastlabki hujayralar sifatida qanday hujayralar ishlatiladi?
2. Monoklonal antitanalar olish jarayonining bosqichlarini tushuntiring
3. Hujayralarni miqdoriy iahlili qanday amalga oshiriladi?
4. Hujayralarga GAT

sistemani ta'sirini tuo'untiring

5. Monoklonal antitanalarni qo'llanilishi va ahamiyatini tushuntiring

Mavzu-14: Monoklonal antitanalarni saralash

Reja:

1. Gibrid hujayra olishda mielomlarning roli
2. YUqumli kasalliklarda monoklonal hujayraning ahamiyati
3. Gipoksantin-guanin-difosriboziltransferaza fermentining vazifalari.
4. T-nulinchi hujayralarni xususiyatlari

YUqorida qayd etilganidek, ba'zi moddalar hujayralar qo'shilishini to'liq ta'minlamaydi. Gibrid hujayralarning ko'payishi, o'sishi, seleksiyasi uchun oziqa muhiti muhim rol o'ynaydi. Gibrid hujayra olishda mielomli hujayralarda gipoksantin-guanin-difosriboziltransferaza (GGFRT) fermentini kodlovchi gen repressiya qilinishi zarur.

Mielomli hujayralar muhitida GGFRT bo'lmaganligi uchun halok bo'ladi. Normal hujayralarda bu ferment bo'lsa ham, ular ko'paya olmaydilar, natijada ular ham halok bo'ladi. Gibrid hujayralarni seleksiya qilishda GAT (gipoksantin, amidopterin, timidin) oziqa muhiti ham ishlatiladi. Bu holda ham mutant, ya'ni gibrid hujayralar GAT muhitida faoliyat ko'rsatadi, normal va mielom hujayralar esa halok bo'ladi. Hosil bo'lgan girid hujayra klonlaridan maqsadli antigenlar uchun monoklonal antitanalar ajratiladi. Ajratilgan monoklonal antitanalar diagnostikada keng qo'llaniladi. Buning sababi. ularning sezgirligi, spetsifikligi o'ta yuqori bo'lishidadir. Ma'lumki, organizmada immunologik reaksiyalarda ishtirok etuvchi T-hujayralarning bir necha turlari mavjud: T-xelperlar, T-supressorlar, T-kuchaytiruvchilar, T-effektorlar, T-normal killerlar, T-tabiiy killerlar, T-nulinchil hujayralar. T-xelperlar turli immunologik reaksiyalarni o'tkazilishida yordamchi hujayra sifatida muhim rol o'ynaydigan hujayralar hisoblanadi. T-supressorlar esa immunologik reaksiyalarni boshqaradigan hujayralar bo'lib, asosan immunologik reaksiyani to'xtatish funksiyasini bajaradi. Hozirgi kunda ushbu hujayralarning markerlariga spetsifik monoklonal antitanalar olingan. Ushbu antitanalar T-hujayra tiplarini aniqlashda keng qo'llanilmoqda. Quyida organizmda immunokompetent hujayralar yordamida antitana sintezi ko'rsatilgan:

$Th1 + AG + Makrofaq + V\text{-limfotsit} \rightarrow AT$ ishlab chiqariladi.

$Th2 + Makrofaq + V\text{-limfotsit} \rightarrow AT$ ishlab chiqariladi.

Yuqorida keltirilgan reaksiya jarayonidan ko'rinib turibdiki, organizmda antitana sintez bo'lishida immunokompetent hujayralarning roli juda katta. Biroq ushbu reaksiya asosida hosil bo'layotgan antitanalar poliklonal antitanalar hisoblanadi. Poliklonal antitanalar spetsifikligi jihatidan monoklonal antitanalardan ancha past hisoblanadi. SHuning uchun monoklonal antitanalar diagnostikada keng qo'llanilib, virus gepatitini A, B, C, D formalarini ham aniqlashda, SPID virusini, tuberkulyoz kasalligini aniqlashda va boshqa turli kasalliklarda keng qo'llaniladi. Ma'lumki, hujayra membranasida hujayraning differensirovkasida ishtirok etadigan oqsil-determinantlari mavjuddir. Ularni identifikatsiyasi monoklonal antitanalar orqali amalga oshirilmoqda. Ko'rsatilgan usul orqali inson hujayrasining differensirovkasi, jumladan, fibroblastlar va asab to'qimalarining shakllanishi aniqlangan. Monoklonal antitanalar biotexnologiyaning affin xromatografiyasida ligand sifatida foydalaniladi. Masalan, monoklonal antitanalar asosida, 500 marta tozalangan interferon olish usuli ishlangan. Monoklonal antitanalar yordamida oqsil, toksin, gormon va boshqa moddalarning gomogen preparatlarini olish mumkin. Tibbiyotda monoklonal antitanalar turli kasalliklarni IET yordamida aniqlashda ishlatilmoqda. Bakteriyali kasalliklardan koklar, parazitli infeksiyalar, bezgak va boshqa turdagi ko'pgina kasalliklarga tashhis qo'yishda monoklonal antitanalar qo'llaniladi. Monoklonal antitanalar individual yoki terapevtik maqsadlarda ham foydalanilmoqda. Radioaktiv moddalar bilan nishonlangan monoklonal antitanalar selektiv ravishda rak hujayralari retseptorlari bilan bog'lanib, to'qimalarning ko'payishini sekinlashtiradi yoki to'xtatadi. Monoklonal antitanalarni xavfli shish kasalliklariga qarshi ishlatiladigan sitotoksik moddalar bilan bog'lab, ularni rak hujayralarga yo'naltirish orqali kasallikni davolash ishlari amalga oshiriladi. Hozirgi kunda ayrim tabiiy toksinlarni modifikatsiya qilish orqali, spetsifik immunotoksinlar olinib, ular yordamida rak hujayralarini rivojlanishi to'xtatilmoqda. Masalan, kanakunjut urug'ida uchraydigan ritsin degan toksin ikkita polipeptid zanjiridan iborat. Polipeptidning A-zanjiri toksik xususiyatga ega, uning 2- V- zanjiri galaktoza ishtirokida hujayra membranasiga bog'lanadi. Natijada, A-zanjir dissotsiyalanib, hujayra ichkarisiga kirib, oqsil sintezini to'xtatadi. Polipeptidning V-zanjirini mkAT bilan almashtirib, hosil bo'lgan immunotoksinni xavfli shish hujayralarini davolashda ishlatish mumkin.

Hozirgi kunda AQSH va Evropaning farmatsevtik firmalari monoklonal antitanalarni ko'p miqdorda ishlab chiqarmoqda. Ular kasalliklarda, laboratoriya amaliyotlarida va ilmiy-tadqiqot izlanishlarini olib borishda keng qo'llanilmoqda.¹¹

Nazorat savollari

1. Gibridd hujayra olishda mielomlarning roli nimada?
2. YUqumli kasalliklarda monoklonal hujayraning ishlatilishi
3. Gipoksantin-guanin-difosriboziltransferaza fermentining qanday vazifalarni bajaradi
4. T-nulinch hujayralarni xususiyatlarini tushuntiring

Mavzu-15: Immunovaksinalar olish texnologiyasi

Reja:

1. Vaksinalarni olish usulari
2. Vaksinalarni olishda unga qo'yiladigan talablar
3. Gen muxandisligi asosida olinadigan vaksinalar
4. Transformatsiya jarayoni
5. Transgenoz jarayoni haqida tushuncha

Immunovaksinalar olish texnologiyasi gen muxandisligi rivojlanishin bilan bugungi kunda katta imkoniyatlarni qo'lga kiritmoqda. Yirik strukturaviy genlarni sintezlash mumkin ekanligi amaliy tadqiqotlar orqali yorqin ko'rsatilib berildi. Lekin kDNKdagi strukturaviy genlar funksiyasining amalga oshirishini ta'min etuvchi regulator genlarni bu metod yordamida sun'iy sintezlash ancha qiyinchilik bilan amalga oshirilishligi ham ko'rsatildi. Bayon etilgan sabablarga binoan gen injeneriyasida ko'pincha transgenoz uchun qulay bo'lgan ob'ekt bo'lmish donor organizmdan ajratib olingan tabiiy genlar ishlatiladi.

Transgenoz jarayonida donorning muayyan geniga ega bo'lgan vektorning rekombinant (duragay) DNKsini retsipient organizmga kiritish va uning DNKsiga ko'chirilayotgan genni ulash va uning o'z funksiyasini normal bajarishini ta'min etish yotadi.. Buning uchun: a) duragay DNKga ega bo'lgan vektor - viruslar retsipient bakteriyalari tanasiga kiritiladi; b) retsipient bakteriyalar tanlab ajratish muhiti sharoitida o'stiriladi. Selektiv muhit retsipient bakteriyalarning o'sishi uchun maxsus tayyorlangan oziqa modda bo'lib unga ushbu bakteriya shtammi chidamsiz bo'lgan antibiotik yoki pestitsid qo'shiladi. Eslatib o'tamiz, donor bakteriya ushbu antibiotik yoki pestitsidlarga chidamlilik geniga ega; v) selektiv muhit sharoitida genomiga retsipientning chidamlilik geni donorning DNKsiga ulangan bo'lsa u bakteriyalar nobud bo'lmaydilar, yashab ko'payishlari mumkin. Demak, uning genomiga vektor - plazmidaning haqiqiy rekombinant DNKdagi retsipientning muayyan antibiotik yoki pestitsidga chidamlilik geni o'tgan. Qolgan bakteriyalar, jumladan donorning bayon etilgan geni yo'q DNK qismlari bilan olingan duragay DNK o'tgan bakteriyalarning hammasi nobud bo'lib ketadi; g) nobud bo'lmay yashab qolgan bakteriyalarni ko'paytirish jarayonida rekombinant DNK molekulasi va undagi transgenoz qilingan gen ko'paytiriladi. Chunki ularda replikasiya namoyon bo'ladi. Shunday yo'l bilan bu molekullar klonlashtiriladi (ko'paytiriladi). Yuqorida bayon etilgan transgenoz natijasida muayyan antibiotikka yoki pestitsidga chidamlilik geni donor bakteriyalardan retsipient bakteriyaga rekombinant DNK molekulalari orqali o'tkazildi ya'ni **transformatsiya** qilindi. Oqibatda retsipient bakteriya ham donorga o'xshash muayyan antibiotik yoki pestitsidga chidamlilik xususiyatiga ega bo'ladi.

¹¹ B.Glik, Dj.Pasternak «Molekulyarnaya biotexnologiya: Prinsipi i primeneniye» Per.s angl.-M.: Mir, 2002g.- 589str

Rekombinant kDNK yaratish va uni klonlashtirish va undagi donor genni vektor orqali retsipient organizmga transgenoz qilish sohasida gen injeneriyasi qator yutuqlarga erishdi. Endi vaksina sifatida ishlatiladigan moddani sintezlovchi genni prokariot organizm bo'lgan ichak tayoqchasi bakteriyasi *E.coli* ga o'tkazib transgenoz qilish metodi bilan mukammal tanishamiz. Bu jarayon quyidagi to'rtta bosqich orqali amalga oshiriladi

1) Vaksina sifatida ishlatish mumkin bo'lgan moddani sintezlovchi genni ma'lum man'badan ajratib olish. Ushbu bosqich prokariotlarnikiga nisbatan anchagina murakkab metodlar orqali amalga oshiriladi. Buning uchun quyidagi metodlardan muayyan tartibda foydalaniladi: 1) Birinchi metod uch bosqichda amalga oshiriladi: a) vaksina sifatida ishlatiladigan oqsilni sintezlovchi iRNK molekulasidan mumkin qadar ko'proq ajratib olinadi; b) teskari transkriptaza fermenti yordamida bu iRNK andozasi negizida komplementar DNK ya'ni k-DNK sintezlanadi. K-DNK donor organizmi DNKsidagi genlarining iRNK kodlangan qismini o'zida kodlagan bo'ladi; v) kDNK restriktaza fermenti ta'sirida ko'p qismlarga bo'linadi. Eritmada shunday holatga keltirilgan kDNK plazmida - vektorlar DNKsi bilan integratsiya qilinishga tayyor hisoblanadi.

2) Vektorlik vazifasini bajaruvchi plazmidaning halqasimon shakldagi DNKsi restriktaza fermenti ta'sirida bir joyidan uzilib uzunchoq holatga keltiriladi. SHunday DNKga ega bo'lgan plazmida vektorlik vazifasini bajarishga tayyor hisoblanadi.

3) Rekombinant (duragay) DNKni yaratish. Buning uchun donor organizmning parchalangan kDNKsi joylashgan eritmaga DNKsi uzunchoq holatga keltirilgan plazmidalar hamda kDNKning parchalangan bo'lak-larini plazmida DNKlariga ulaydigan ligaza fermenti qo'shiladi. SHunday sharoitda plazmidalar DNKsi rekombinatsiya jarayonida kDNK parchalarini ligaza fermenti yordamida ulab rekombinant (duragay) DNK molekulalari hosil qilinadi. SHunday holatda o'zining DNKsida kDNK parchalariga ega bo'lgan plazmidalar hosil bo'ladi. Ularni ikkita guruhga bo'lish mumkin. Ularning birinchi guruhi haqiqiy rekombinant kDNKli plazmidalar. Ular DNKsiga transgenoz qilinishi kerak bo'lgan gen joylangan kDNK bo'lagi joylashgan bo'ladi. Ikkinchi guruhi qalbaki rekombinant DNKli viruslar. Ularda kDNKning o'sha gen joylashmagan bo'lagi ulangan bo'ladi. Haqiqiy (duragay) kDNK vazifasini birinchi guruhga mansub plazmidalar bajaradi.

4) Rekombinant kDNKning vaksina oqsilini sintezlovchi geni joylashgan qismi ichak tayoqchasi bakteriyasi (*E.coli*) genotipiga o'tkazilib ulanadi va uning faoliyati uchun zarur sharoit yaratiladi. Natijada *E.coli* ning transgenoz shtammi yaratiladi va u laboratoriya sharoitida vaksina oqsilini sintezlay boshlaydi.

Nazorat savollari

1. Vaksinalarni olishning qanday usularini bilasiz?
2. Vaksinalarni olishda unga qo'yiladigan talablar nimalardan iborat?
3. Gen muxandisligi asosida olinadigan vaksinalarni tushuntiring
4. Transformatsiya jarayoni nima?
5. Transgenoz jarayoni haqida tushuncha bering

Mavzu-16: Immunovaksinalarni ahamiyati

Reja:

1. Immunovaksinalar haqida tushuncha
2. Immun sistemaga vaksinani ta'siri
3. Immunovaksinalarni saqlash
4. Sun'iy vaksinalar

Gen injeneriyasi metodlarining jadal rivojlanishi natijasida ba'zi hayvonlar (sichqon, quyon) ning va odamning ko'p oqsil genlarining hamda ribosoma va transport

tRNK genlarining klonlari olindi. Odamda gen injeneriyasini qo'llash sohasidagi tadqiqotlar natijasida odamning insulin (diabetni davolaydi), o'sish gormoni (pakanalikni davolaydi), interferon (virus qo'zg'atadigan kasalliklarni davolaydi), sun'iy sintezlash yo'li bilan odamlarning V – gepatit deb nomlangan sariq kasalliga qarshi ishlatiladigan vaksina genlarini klonlashtirib, odamning ichaklaridagi foydali ichak tayoqchasi bakteriyalari genotipiga o'tkazildi va bu genlarning ekspressiyasi ya'ni muayyan oqsilni laboratoriya sharoitida sintez qilishiga erishildi. Gen injeneriyasi metodi bilan olingan bu immunobiologik faol dori preparatlardan insulin klinikada sinallib tibbiyot sanoati darajasida ishlab chiqarish yo'lga qo'yildi. O'sish gormoni, interferon, V gepatitiga qarshi vaksina klinikada ishlatilmoqda. Odamning A va V deb ifodalangan gemofiliya kasali genlarining klonlashtirish bosqichi samarali amalga oshirildi.

Organizmda vaksinalarni axamiyati juda kattadir. Organizmni turli patogen mikroblardan qo'riqlab turishda, ya'ni organizmda immunitet hosil bo'lishida asosan organizmning anatomik va fiziologik xususiyatlari sababchidir. Odamning terisi, shilliq pardalar, limfatik bezlar, oshqozondagi NSL, jigarda hosil bo'ladigan o't va boshqalar organizmni miqdordan saqlovchi vosita sifatida xizmat qiladi. Organizmda immunitetning hosil bo'lishiga tashqi muhit ham ta'sir qiladi. Masalan, organizmning qizishi, juda sovushi va kuchsizlanishi ham organizmda kasallikka qarshi chidamli moddalarning ishlab chiqarilishini pasaytiradi. Organizmning javob reaksiyalari turlicha bo'lishi mumkin. Javob reaksiyalarining darajasi immun sistemani tashkil qilgan limfoid organlar funksiyalari bilan belgilanadi. Organizmga tushgan yot moddaning antigenligi unga qarshi hosil bo'lgan antitanani hosil bo'lish miqdori bilan belgilanadi. SHu sababli yot modda antitana hosil qila olsa, ushbu moddaning antigenlik xususiyati bo'ladi. Immunogenlik bu organizmning immunitet hosil qila olish qobiliyati (kasallanish darajasi).

Immunitet to'g'risidagi dastlabki farazlar 430-yillarga borib etadi. SHu davrda vabo bilan kasallangan odam 2-marta ushbu kasallik bilan qayta kasallanmasligini Prokopi aniqlagan. 500-530 yillarda musulmon vrachi Rozes ilmiy jihatdan o'rganib, quyidagicha xulosaga kelgan: qari odamning qonida suv miqdori kam bo'lganligi uchun infeksiya yuqmaydi, yosh odam organizmida esa aksincha qoni tarkibida suv ko'p bo'lganligi uchun kasallanish darajasi ko'proq bo'ladi. Ushbu fikrlar o'sha paytda o'z ilmiy asoslariga ega bo'lgan.

SHarqning buyuk mutafakkir olimi Ibn Sino ham o'sha vaqtlardayoq yuqumli kasalliklarning mayda, ko'zga ko'rinmas tirik mavjudotlar (mikroorganizmlar) orqali yuqishini aniqlagan. 1798-yili Edvard Djenner ismli olim 1-bo'lib suvchechak kasalligiga qarshi vaksina yaratdi. U suvchechakning suvini olib kumushdan yasalgan trubka orqali odamning burniga yoki biror qismini ozgina kesib, shu joyga yuborgan. SHundan so'ng, inokulyasiya so'zi vaksinatsiya so'zi bilan almashtirilgan. Biroq Edvard Djenner barcha yuqumli kasalliklarga qarshi vaksinalar yaratish mumkinligi to'g'risidagi nazariyaning muallifi hisoblanmaydi.

Vaksina bilan sun'iy immunitet hosil qilishni vaksinatsiya yoki emlash deyiladi. Vaksina deb o'ldirilgan yoki tirik, lekin kuchsizlantirilgan mikrobdan iborat biologik moddaga aytiladi. Vaksina bakteriologik institutlarning maxsus laboratoriyalarida tayyorlanadi. Vaksina olish uchun mikrobyuq yoki suyuq ovqatda o'stiriladi. Organizmga vaksina yuborib suniy immunitet hosil qilish kuchli va uzoq vaqt davom etadi. Masalan, buzoqlarning parativ kasalligiga qarshi vaksina olti oylik kuydirgi kasalligiga qarshi vaksina bir yillik immunitet hosil qiladi.¹²

¹² Давронов Қ. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Тошкент. 2008 й. 506б.

Nazorat savollari:

- 1.Immunovaksinalar haqida tushuncha bering
- 2.Immun sistemaga vaksinalar qanlay ta'sir etadi?
- 3.Immunovaksinalarni saqlashda nimalarga ahamiyat brish talab etiladi?
- 4.Sun'iy vaksinalar olish texnologiyasini tushuntiring

Mavzu-17: Bioreaktorlar

Reja:

- 1.Bioreaktorlar va ularning roli
- 2.Bioreaktorda boradigan turli jarayonlar bosqichlari
3. Mikroorganizmlarni ishlatilishi va aeratsiya
4. Kulturalash jarayonining avtomatizatsiyalash

Hozirgi kunda biotexnologiyaning turli soxalarida, ishlab chiqarishda turli fermentativ apparatlar ishlatilmoqda, barcha foydalanilayotgan bioreaktorlarda fizik jarayon (gidromexanik, issiqlik va massaalmashinuv)lar ro'y beradi, shuning uchun bioreaktorlarda biokiyoviy jarayon – moddalar xosil bo'lishi yuz beradi. Bunday fizik jarayonlar sodir bo'lishi uchun biokimyoviy reaktorlar tipik konstruksiya elementlari (aralashtirgich, kontakt uskunalar, issiqlikalmashinuvchi uskunalar, dispergatorlar va b) bilan ta'mirlanadi. SHuning uchun barcha fermentlar kompleks apparatlar xisoblanadi.

Turli konstruksiyali fermentlarning barchasi xujayra kulturlash jarayonining asosiy talablariga javob berishi kerak:

- barcha oziq moddalarning har biri xujayraga kerakli miqdorda etib kelishi;
- metabolizm maxsulotlarining xar bir xujayradan chetlanishi;
- xar bir nuqtada mikrob suspenziyasining termostatlanishi;
- xar bir nuqtadagi optimal ishchi parametrlarini ushlab turish;
- talab etilgan aeratsiya, aralashtirish darajasi;
- kulturlash jarayonining avtomatizatsiyalashning yuqori darajasi;
- texnika xavfsizligi.

Bu talablarni bajarish uchun xar bir fermentyor quydagi sistemalar bilan jixozlangan bo'lishi kerak:

- gaz oqimining kirish va chiqishi;
- fermentatsion muhit aeratsiyasi;
- fermentatsion muhitni aralashtirish;
- fermentatsion muhitni kupiksizlantirish;
- fermentyor va fermentatsion muxitni sterillash;
- apparatdan suyuq (yoki sochiluvchan) oqimni chiqarib yuborish;
- jarayonga berilgan parametrlarni nazorat qilish va rostlash.

Fermentatsion muxitning aeratsiyalash- Aerob mikroorganizmlarni bioreaktorda chuqur kulturatsiyalash uchun eng avvalo gazli fazadan xujayralarga kislorod massa uzatish intensivligini ta'minlash zarur. Bunga albatta aktiv aeratsiyalash va aralashtirish yo'li bilan erishish mumkin.

Apparatlardagi fermentatsion muxitni aeratsiyalash va aralashtirish funksiyalari bir uskunada birlashtirilgan bo'lsada, har birining roli boshqa-boshqadir. Fermentyorlarda aralashtirishdan maqsad quydagi keltirilgan vazifalarni bajarishdir

- gaz-suyuqlik va suyuqlik xujayra massauzatish intensivfikatsiyasi;
- termostatlanayotgan muxitga issiqlik uzatish intensify
- gaz pufakchalari va suyuqlik tomchilarining disperslanishi;
- aralashtirilayotgan muxit hajmidagi haroratning tenglashtirilishi;
- muxit hajmidagi moddalar konsentratsiyasining tenglashtirilishi.

odir bo'ladi:

Fermentyorlarning sterillash va aseptik xolatini saqlash.

Aseptik kulturalash (ustirish) ni amalga oshirish uchun quyidagi asosiy talablarni bajarish kerak:

- fermentatsion uskunalarning barcha elementlar va bulimlarini sterilizatsiyasi va germetikligini ta'minlash;
- kulturalash jarayonining boshlanishidan oxirigacha aseptik xolatini saklash;
- fermentyorga steril xoldagi kattik, sochiluvchan suyuq va gaz okimini kiritish.

Kattik sochiluvchan muxitni sterilizatsiyalash uchun issiqlik bilan birga «sovuk» sterillash metodi va davriy yoki uzluksiz rejimdan foydalaniladi.

Issiqlik metodiga quyidagilar ta'lukli:

- suv bugi yordamida sterillash (yopik (gluxoy) yoki utkir bug turlicha bosimda)
- muxitni elektr isitish yuli bilan sterillash;
- infrakizil nurlar yordamida sterillash;
- yukori chastotali va SVCH yordamida sterillash.

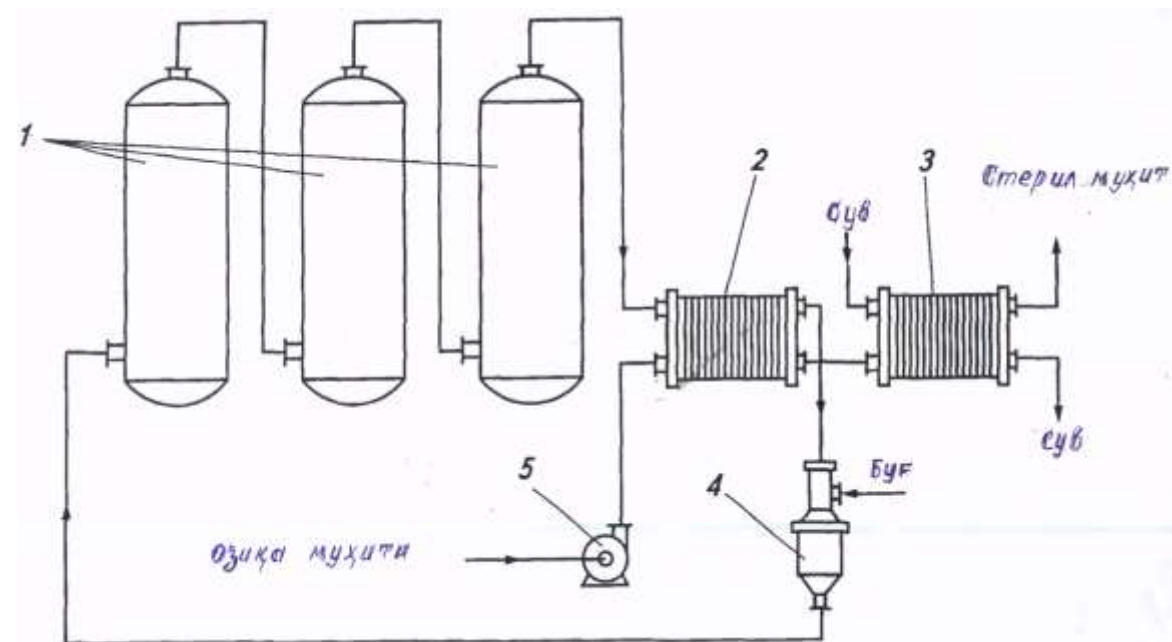
Sterilizatsiya usullariga quyidagilar kiradi:

- ionlashgan nurlanish;
- ultratortuvchi ta'siri;
- kimyoviy reagentlarning ta'siri;
- ultrabinafsha nurlanish.

Sterilizatsiyalash jarayonini olib borish uchun suv bugi yordamida sterilizatsiyalash metodi kulay xisoblanadi va u quyidagi talablarga javob beradi:

- oson transportlanadi;
- etib borishi kiyin bulagan joylarga oson kirib boradi;
- kondensatsiya paytida yukori issiqlik kaytarish xususiyatiga ega;
- mikroorganizm va personal uchun zararli emas;
- arzon;
- ozika muxiti tarkibiga zarar etkazmaydi;

Suyuq muxitni sterillash uchun kupincha uzluksiz rejimda ishlaydigan sterilizatsiyalash uskunalaridan foydalaniladi. Ularda asosiy bulim (uzel) isitish kolonkalari xisoblanib muxitni tez sterilizatsiyalash xaroratigacha kizdirib beradi.



Fermentyorlarda issiqlik almashinishi.

Fermentyorlardan issiqlikni effektiv chiqarish uchun progress texnik va texnologik nazariy xulosalarga tayangan xolda, apparatni tugri ekspluatatsiya qilish zarur. SHuning uchun apparatning issiqlik balansini xisoblanayotganda issiqlik almashinish uskunalaridagi yuklama maksimal darajada bo'lishi kerak.

Kulturalanayotgan muxitga berilayotgan xarorat mikroorganizmlarning fiziologik holati tarkibiga katta ta'sir ko'rsatadi. Birinchidan mikroorganizmlarning o'sishi tezligiga ta'sir etadi. Ma'lumki, xar bir produtsent uchun o'stirishning optimal xarorati mavjud. SHuning uchun ishlab chiqarishda xaroratni ± 1 S da ushlab turiladi. Biroq ba'zi bir xolatlarda xaroratni rostlashning bunday rostlashning o'zi etarli emas.

Kulturlash jarayoning optimal xaroratini ta'minlash mushkul texnik muammo xisoblanadi. Amaliyotda issiqlik ajratish jarayoni katta sarmoya talab etadi va murakkab sistemali issiqlik qaytarish uchun asosan apparat issiqlik yuklamasini xajmiga qarab korpusining sirt qismi, shu bilan birgalikda ichki funksional konstruksiyalar yoki issiqlik almashtirgichlardan foydalaniladi.

Fermentyorni tashqaridan sovitish (isitish) jarayoni ko'p xollarda apparat rubashkasi orqali amalga oshiriladi, bu biotexnologiya yoki boshqa soxalarda issiqlik almashinish jarayonining keng tarqalgan usuli xisoblanadi. Jarayonning asosiy xususiyati shundaki, bunday tipdagi issiqlik almashinuvchi uskunalarda apparat ichki xajmidagi konstruktiv elementlar bo'lmaydi, aynan shu narsa fermentyorni ekspluatatsiya qilishni engillashtiradi va ishchi xajmning sodda xoldagi va ishonchi germetikligini ta'minlaydi.

Issiqlik ajratish yuqori bo'lganda turli xildagi qurilgan issiqlik almashtirgichlar qo'llaniladi. Fermentyorlarda ichki issiqlik almashinish uskunalari sifatida zmeevikli uskunalardan foydalaniladi. $5m^3$ xajmli apparatlarda bir dona zmeevik apparat markaziy qismiga o'rnatiladi. Xajm jixatdan yanada kattaroq bulgan apparatlarda bir nechta zmeevik aralashtirish bo'yicha o'rnatilib qaytaruvchi to'siqlar funksiyasini bajaradi.

6) Fermentyorlarda ko'pik xosil qilish va ko'piksizlantirish.

Ko'p fazali geterogen texnologik jarayon gazli faza xisobida gidrodinamik sharoitda ko'pincha ko'pik xosil qilishga olib keladi. Ko'pik xosil qilinishi suyuq fazadagi sirt-aktiv moddalari (YU.A.M) tufayli sodir bo'ladi. O'z navbatida ular sirt taranglikni tez kamaytirib, gaz va suyuqlikdan iborat sirt bo'limlari turgunligini oshiradi.

Gaz pufakchalarini bunday suyuqlik qatlamidan o'tishi natijasida pufakchalar plyonkasining stabilizatsiyasi sodir bo'ladi va ko'pik xosil bo'lishiga olib keladi(toza suyuqlik amaliyotda ko'pik xosil qilmaydi).¹³

Ko'pik-murakkab fizik-kimyoviy sistema xisoblanadi. Ko'piksizlantirish jarayonining vazifasi ko'p qirrali bo'lib, uni ko'piksizlantirish mexanizmi va kinetikasini bilmay turib, uni echish (o'rganish) mumkin emas. Xosil bo'lgan ko'pikni reaksion apparatdan chiqarib yuborish uchun bir nechta usullardan foydalaniladi:

1)fizik)

2) fizik-kimyoviy

3)texnologik

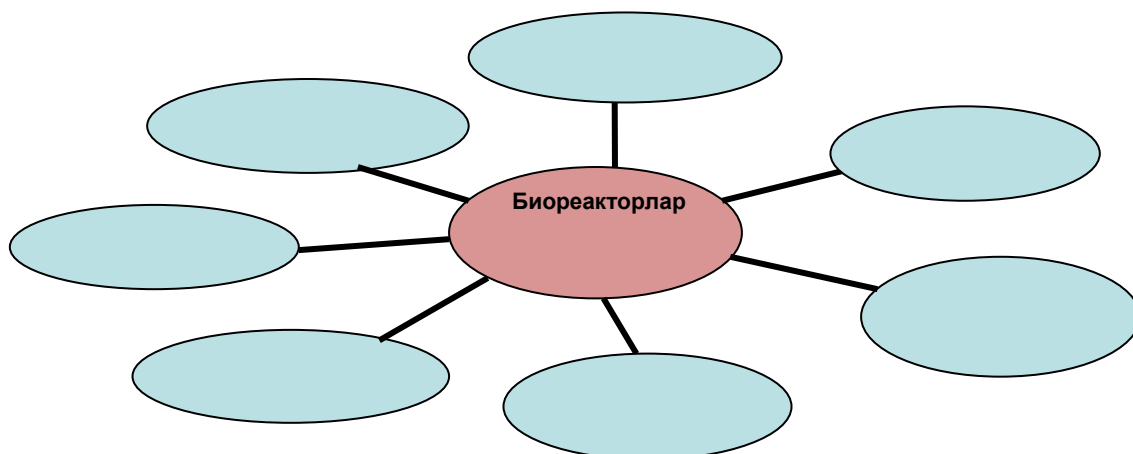
4) kombinirlangan.

¹³ Комилов Х.М., Рахимов М.М., Д.Ю. Одилбекова Биотехнология асослари. Тошкент. EXTREMUM PRESS, 2010.477 б.

Nazorat savollari:

1. Bioreaktorlar va ularning roli nimada?
2. Bioreaktorda boradigan turli jarayonlar qanday biotexnologik bosqichlarni o'z ichiga oladi?
3. Mikroorganizmlarni ishlatilishi va aeratsiya haqida tushuncha bering
4. Kulturalash jarayonining avtomatizatsiyalash qanday amalga oshiriladi?

Klaster usuli



Mavzu-18: Bioreaktorlarni ishlatilishi

Reja:

1. Fermentatsion jarayon haqida tushuncha
2. Fermentyornlarni qo'llanilishi
- 3 Xujayra metabolizmiga ta'sir etuvchi omillar
4. Fermentatsiya uskunasini konstruksiyasiga qo'yilgan talablar

Bioreaktorlar turli soxalarda keng qo'llaniladi. YUqorida qayd etilganidek, fermenterlarni mikroorganizmlarni aseptik kulturalashda ishlatish mumkin. Ushbu jarayonni amalga oshirish uchun quyidagi asosiy talablarni bajarish kerak:

- fermentatsion uskunalarning barcha elementlar va bulimlarini sterilizatsiyasi va germetikligini ta'minlash;

- kulturalash jarayonining boshlanishidan oxirigacha aseptik xolatini saklash;

- fermentyorga steril xoldagi kattik, sochiluvchan suyuq va gaz okimini kiritish.

Kattik sochiluvchan muxitni sterilizatsiyalash uchun issiklik bilan birga «sovuk» sterillash metodi va davriy yoki uzluksiz rejimdan foydalaniladi.

Mikrobiologik zavodlar va biokimyoviy kombinatlarda ishlatiladigan laboratoriya fermentatsion uskunalarning asosiy vazifalari quyidagilardan iborat:

1. Kulturalash jarayonida mikroorganizmlar effektiv shtammlari ustidan mikrobiologik seleksiya ishlari olib borish.

2. Mikroorganizm o'sish parametrlariga mineral tuzlar, suv va boshqa faktorlar ta'siri, xom ashyo sifatiga ta'sirining ajratish analizi.

3. Xujayra metabolizmga ta'siri va fizik-kimyoviy, biologik tabiatga xos turli stimulyator qo'shimchalarning fermentatsiya jarayonidagi texnologik ko'rsatkichlarini o'rganish.

4. Kulturalash jarayonining optimal parametrlarini aniqlash (xarorat, rN muxit, aeratsiya darajasi, aralashtirish va b).

5. Mikroorganizmlar turli shtammlarining kinetik va stexnometrik bog'liqligini o'rganish.

6. Biomassa tarkibi va xujayra metabolizmining ikkilamchi maxsulotiga tashki omillarning ta'sirini o'rganish.

Laboratoriya fermentatsion uskunalari quyidagi asosiy talablarga javob berishi kerak:

- fermentatsiya uskunasi konstruksiyasiga qo'yilgan talablar;
- texnologik sxemaga qo'yilgan talablar;
- sxemaning o'lchovchi (datchiklar) va nazorat kiluvchi (yoki boshqaruvchi)

qismlariga qo'yilgan talablar.

Konstruktiv fermentatsion laboratoriya uskunalariga komplekt uskuna yoki bloklar kiradi, u quyidagi sxemada o'z aksini topgan.

Bloklar Texnologik jarayonlarni nazorat qilish, boshqarish ulchash,	Strelizatsiya bloki		
	Aeratsiyalanuvchi gaz	Substrat	Ozuqa muxiti
	Fermentyorga beri shva nazorat kilish bloki		
	Titrlanayotgan agent	Substrat	Mineral muxit komponentlari
	Reaktor fermentyor		
	Aralashtirish bloki	Aeratsiyalash va kislorod massa uzatish bloki	Issiqlik massaalmashinish bloki
	Tanlab olish va texnologik ishlov berish bloki		
	Aralashtirish bloki	Mikroorganizmlar suspenziyasi	Otrabotanny gaz (tozalash)

Asosiy uskuna bioreaktor fermentyor hisoblanadi. Laboratoriya uskunolari sifatida 2 dan 100 l hajmgacha bo'lgan apparatlar ishlatiladi.

Kameral va tajriba uskunolari sifatida 0,5-2,0 m³ xajmgacha bo'lgan fermentyorlar ishlatiladi. SHu bilan birga kislorod massauzatish talablarini bajaruvchi, aralashmay qoladigan zonalardan xali, mikroorganizm xujayralariga «yumshoq» gidrodinamik ta'sir ko'rsatuvchi turli tipdagi fermentyorlardan foydalaniladi.

Quyidagi rasmda chuqur suyuq fazali kulturalashning aerob jarayonlarini o'tkazish uchun ishlatiladigan fermentlarning asosiy turlari keltirilgan.

126-bet Fermentyor turi	Aeratsiya va aralashtirish xarakteristikasi	Absorbsiya tezligi O ₂ kg/m ³ soat
	Muhit va dispers gazning intensivligi yukori aralashishning xujayraning mexanik lat eyish	5-20 (aralashtirgichning

	extimoli (mogor uchun) muxitga kislorodning aralashish darajasining ta'siri	aylanishlar sonini o'zgartirilishi varirovat hisobi)
	Xujayra yumshoq mexanik ta'sir, aralashtirgich qismlarning mavjud emasligi.	2-8 Havoni sarflash bilan massaalmashinish va sirkulyasiya qisqari-lishining o'zgarishi
	Turgun zonalarning mavjud emasligi va mexanik kislarning yo'qligi; muxitni intensiv gidravlik aralashtirish	3-12 Sirkulyasion nasos unumdorligi va havo ejektori tavsifining o'zgarishi
	Mexanik qismlarning yo'qligi O ₂ massauzatish intensivligining yuqori darajadali. Gaz oqimi sterilizatsiyasining qulayligi. Fermentatsiya jarayonining ko'ppogonali organizatsii.	5-15 Gazli faza sarfining tezligini tanlash xasiobiga o'zgarishi

Xarakteristikasi	Uskuna							
	ANKUM-2	Biostend	FS-5	FU-6 (30)	Abiteks	XEMAP (SHetsariya)	Biotek (IIIvetsiya)	Nyu Bransvik (AKSH)
Fermentyorning ishchi xajmi, l	1-1,5 (6gacha)	0,5-1	0,2-3	2,5-5 (20)	10	25	3-10	0,5-11
Aralashtirish	mexanik	pnevmatik	M	M	M	M	M	M
Aralashtirgichning aylanish tezligi min ⁻¹	200-1500	-	200-1500	2000 gacha	1500 gacha	3000 gacha	100-900	100-800
Meshalka tipii	Trubina, magnitli mufta	-						

Aeratsiyalash turi								
Fermentyor orkali xavo sarfini nazorat kilish	Barbatyor	Rotametr yordamida kurilgan 10 l/min	Kimyoviy yoki avtoklavda mavjud	Nasos-dozatorlar turi	Membranali, germetik	Ko'piksizlantirish	Issiqlik almashinish uskunasi	
		rotametr	yuk		Membranali, germetik	Yuk	Zmeevikli kurilgan	
		Rotametr 50 l/min gacha	Mavjud avtoklavda			Mexanik kimyoviy	Kobik	
		Rotametr 10 l/min	Mavjud issik	Avtomatik boshkarish		Mexanik aylanuvchi disk	Kobik	
		100 l/min gacha kurilgan	Mavjud issik kimyoviy			Mexanik	Zmeevikli kurilgan	
		Rotametr	Mavjud kuruk bug yordamida	Membranali germetik		Kimyoviy mexanik	Kobik va Zmeevikli kurilgan	
		CHora kurilgan	Mavjud bug bilan	SHlankali germetik		Kimyoviy	Issiqlik almashtirgich kurilgan	
		Kurilgan	Mavjud avtoklavda	SHlankali germetik		Kimyoviy		

Nazorat savollari:

1. Fermentatsion jarayon haqida tushuncha bering
2. Fermentyornlarni qo'llash sohalari
3. Xujayra metabolizmiga ta'sir etuvchi omillar nimalardan iborat?
4. Fermentatsiya uskunasini konstruksiyasiga qo'yilgan talablarni tushuntiring

Mavzu-19: Immunobiotexnologiyada qo'llaniladigan bioreaktorni ishlash tartiblari bilan tanishish

Reja:

1. Bioreaktorlarni ishlash tartiblari
2. **Bioretorda** aerob va anaerob o'aroitda baradigan jarayonlar
3. Davriy, uzluksiz jarayonlar sistemasi
4. Gaz fazali energiya berish fermentyornlari

Bioreaktorlarni ishlash tartiblari xaqida so'z borganda, ularda kechadigan fermentatsiyalashning komplekt sistemasining ko'rib chiqamiz. Bunda fermentyor asosiy, biroq yakka bo'lmagan element xisoblanadi. Fermentyornlarni klassifikatsiyalash ularda bo'layotgan jarayonlarga qarab quyidagi guruxlarga bo'linadi:

- 1) aerob, anaerob;
 - 2) davriy, uzluksiz;
 - 3) aseptik, nnosteril;
 - 4) xujayradagi selevoy maxsulot (xujayra tashqarisida);
 - 5) yuqori qism va gurux qismdagi o'sish;
 - 6) eruvchan va noeruvchan chuqurlikdagi o'sish;
 - 7) fermentyordagi ideal siqilish va ideal aralashishga yaqin bo'lgan gidrodinamik talablar.
- 148-bet ris. 3,9

Amaliyotda ko'pincha konstruktiv jixatdan farqlanuvchi bioreaktorlar – apparatga berilayotgan energiya usuli bilan aniqlanadi:

- 1- gaz faza bilan;
- 2- suyuq faza bilan;
- 3- gaz va suyuqlik fazalari (kombinirlangan) bilan.

YUqoridagilarning xar bir guruxi uchun asosiy konstruktiv element va ish rejimi injenerlik xisobi metodikasini ishlab chiqish mumkin.

3,10 rasm (a)

149-bet

3,10 rasm (b)

(3.10) Klassifikatsiyalash sxemasi.

a) Energiya berish usulidagi fermentyornlar.

b) Energiya berish usulini xisobga olish bioreaktorlari.

Gaz fazali energiya berish fermentyornlari.

Bu apparatlarning umumiy xususiyati gaz fazali energiya berishdir. Bu gurux fermentyornlar konstruksiyasi jixatdan oddiy va ekspluatatsiya qilish darajasi yuqoridir. Xarakatlanuvchi uzel v detallardan xoli. Bu gurux fermentyornlarga barbotajli, erliftli, barbotaj-erliftli fermentyornlar misol bo'ladi. bundan tashqari kolonnali fermentyornlar xam yuqori o'rinda turadi.

Suyuq fazali energiya berish fermentyornlari. Bu gurux apparatlariga odatda energiya suyuq fazaga o'zi yutuvchi aralashtirgich yoki nasoslar yordamida beriladi. Bundan

tashqari suyuqlik apparatga maxsus uskunalar (soplo, ejektor, dispergator va b) yordamida kiritiladi.

Bu guruxga o'zi yutuvchi meshalkali fermentyorlar kiradi va ular keng tarkalgan fermentyorlar xisoblanadi. Bu apparatlarga xavo xavo-purkovchi maxsus mashinadan berishi shart emas. Bu uning yutug'i xisoblanadi.

Ejeksion fermentyorlar - Bu fermentyorlarda gazli faza retsikli mavjudki, u

Kamchiligi: gaz saqlovchi kultural suyuqlikni maxsus nasoslar yordamida xaydash lozim

Oqimli fermentyorlar- Unda tashki sirkulyasion kontur, nasos, ejeksion uskunalar, truprovod sirkulyasion sistemalari mavjud.

Suyuq va gazli fazalarga energiya berish fermentyorlari

Bunday turdagi apparatlarning asosiy konstruktiv elementi aralashtirish uskunasi xisoblanadi. U kislorodning aralashish yuqori intensivligini, gazni yuqori darajada dispergirlanishini, muxitni gomogenizatsiyalashni ta'minlaydi.

Aralashtirgichli va barbotajli fermentyorlar- Bunday fermentyorlarda aralashtirguvchi uskuna val bo'lib, unga bir yoki bir nechta aralashtirgichlar o'rnatilgan bo'ladi. Aralashtirgichlar tagida gaztaksimlagich mavjud. Apparat ichiga sirkulyasion stakanlar va issiqlik almashtirgichlar o'rnatilgan bo'ladi.

Kombinirlangan fermentyorlar-Ular sirkulyasion konturli va aeratsiyali bo'ladi. Bu apparatlarda energiya suyuq fazaga osevoy aralashtirgichlar yoki nasos yordamida, xavo esa xavopurkagich yordamida beriladi.

Nazorat savollari:

1.Bioreaktorlarni ishlash tartiblarini tushuntiring

2Bioreaktorda aerob va anaerob sharoitda baradigan jarayonlar bosqichlari

3.Davriy, uzluksiz jarayonlar sistemasini tushuntiring

4.Gaz fazali energiya berish fermentyorlari

Mavzu-20: Immunobiotexnologiyada qo'llaniladigan bioreaktorlarni ishlash prinsiplari

Reja:

1.Bioreaktorlar o'lchamlarini tanlash

2.Dastlabki xom ashyoga qo'yiladigan talablar

3.Mahsulot olish bosqichlari

4.Olingan mahsulotni sifatini tahlili

Bioreaktorni texnologik jarayonlarda qo'llash uchun avvvlo ularni o'lchamlari tanlanadi. Bioraktor o'lchami kubik metrda, xom-ashyo sifati, turi miqdoriga, shuningdek, reaksion muxit davomiyligi va haroratiga bog'liq holda aniqlanadi. Bioreaktor o'lchami va kunlik yuklanadigan xom-ashyo me'yoringing nisbati. Kunlik yuklanadigan xom-ashyoning miqdori bijg'itish davomiyligi va tanlangan haroratga nisbatan aniqlanadi. Bioreaktorda mezofil rejimda bijg'itish davomiyligi 10 kundan 20 kungacha davom etadi. Kundalik quyiladigan xom-ashyoning me'yori esa bioreaktordagi umumiy xom-ashyoning 1/20 dan 1/10 gacha nisbatda bo'ladi.

Aniq miqdordagi xom-ashyoni qayta ishlash uchun bioreaktor o'lchami.-Dastlab hayvonlar soniga bog'liq holda biogaz uskunasi tushadigan kundalik go'ng miqdori (DN) aniqlanadi. So'ngra xom-ashyo suv yordamida 86-92% namlikkacha suyultiriladi.

Ko'pchilik qishloq xo'jalik biogaz uskunalarida go'ng va suv miqdori 1:3 dan 2:1 nisbatgacha qo'llaniladi.

SHunday qilib, yuklanadigan xom-ashyo (D) – bu xo'jalik qoldiqlari summasi (DN) va suv (DV) aralashmasiga teng.

Xom-ashyoni mezofil rejimda qayta ishlash uchun xom-ashyoning kundalik me'yori uskunaga quyiladigan umumiy xom-ashyoning (OS) 10% iga teng bo'ladi.

SHunday qilib, bioreaktor o'lchami (OR) quyidagi formula yordamida hisoblanadi:

$$OS = 2/3 OR$$

$$OR = 1,5 OS$$

$$\text{Bunda: } OS = 10 \times D$$

$$D = DN + DV$$

Xo'jalikda 10 bosh yirik qoramol, 20 bosh cho'chqa va 35 bosh tovuq boqilganda bioreaktor o'lchami quyidagicha bo'ladi:

1 bosh yirik qoramolning kundalik ekskrementining hajmi 55 kg;

1 bosh cho'chqaniki 4,5 kg, 1 bosh tovuqniki 0,17 kg ga teng bo'ladi.

Demak, xo'jalikning kundalik axlat chiqindisi (DN) quyidagiga teng bo'ladi:

$$10 \times 55 + 20 \times 4,5 + 35 \times 0,17 = 550 + 90 + 5,95 = 645,95 \text{ kilogramm yoki taxminan } 646 \text{ kg ni tashkil etadi.}$$

Ekskrementlarning namligi cho'chqanida va qoramollarda 86%, tovuqlarnikida esa 75% ga teng bo'ladi.

85% li namlikni ta'minlash uchun 3,9 l suv qo'shish zarur (4 kg atrofida).

Demak kundalik quyiladigan xom-ashyo miqdori 650 kg.

Bioreaktorning to'liq xom-ashyo bilan to'ldirilishi $OS = 10 \times 0,65 = 6,5 \text{ t}$ va bioreaktor hajmi $OR = 1,5 \times 6,5 = 9,75$ yoki taxminan 10 m^3 ga teng bo'ladi.

Kinetik xisobning asosini kulturalash jarayonining kinetik bog'liqlik (mutelik, model) va stexiometrik koeffitsient o'zaro bog'liqligi tashkil kiladi. Maxsus adabiyotlarda biz turli xildagi limitlanayotgan substratdan (S) mikroorganizmlar o'sishining solishtirma tezligi (μ) yoki metabolizm maxsulotlarining ingibrlanish (R) bog'liqliklarini ko'rishimiz mumkin.

Kinetik koeffitsient modeli K_S ; K_P ; K_{Pr} va bogliklik adekvatligini tanlash uchun kinetik tajribalarning ma'lumotlaridan foydalaniladi.

Fermentatsiya jarayonini optimalizatsiya va intensivatsiya usullarining bir necha turlari mavjud. Ular mikrobiologik va texnologik usullarga asoslangan: – aktivrok shtamm – produtsentlarning kullanilishi; - apparaturaviy takomillashtirish;

- ozika muxiti tarkibining optimizatsiyasi va kulturalash talablari;

- biostemulyatorlarni qo'llash;

- substrat, emulgatorlarni «tashuvchilar» va b.

Bu barcha usullar biotexnologik jarayonning maksimal maxsuldorligini va oxirgi maxsulot chiqishini ko'paytiradi. Substratni ratsional ishlatilishi natijasida tan narx tushadi va maxsulot birligiga sarflanayotgan energiya kamayadi. Xom ashyoning komponent tarkibi va uning «tozaligi» biosintez maxsulotlari chiqishi va sifatiga bog'liq. Mikrobl sintez maxsulotlari ishlab chiqarish mashtablarida toza substratlar qatorida, masalan, individual

qoidalar, uglevod saqlovchi oziqa chiqindilari ishlatiladi. Producersentlarni kulturalashning optimal talablarini tanlashdi jarayonning fiziologik fazaliligiga katta e'tibor berish lozim. Bizga ma'lumki, davriy kulturalash jarayoni fiziologik jixatdan ikki fazali xisoblanadi, ya'ni bunda biomassa to'lishi maksimum tezligi vaqt bo'yicha maxsulot to'lish maksimum tezligiga mos kelmaydi. Agarda xar ikki tezlik mos kelsa, u xolda jarayon bir fazali xisoblanadi.

Xujayralarga kislorod transporti ta'sirini xisobga olib kulturalash jarayonini optimizatsiya qilish etarli darajada aktual va samarali usul xisoblanadi.

Texnologik jarayondan quyidagilarni ko'rsatishimiz mumkin:

- fermentatsiya jarayonini izbytochnyy bosimda amalga oshirish;
- kislorodni aeratsiyalash yoki kislorod-xavoli aralashmadan foydalanish;
- muxitning fizik-kimyoviy xususiyatiga ta'sir etuvchi yoki kislorodning massa tashishni tezlashtiruvchi sirt-aktiv moddalardan foydalanish;
- kislorod tashuvchilardan foydalanish;
- xujayralarni aktivizatsiyalash maqsadida lazer, ultratovush, magnitli usullardan foydalanish;
- xaroart, rN, aeratsiya populyasiyasi buyicha siklik (stress) ta'sirlarning qo'llanilishi;
- mikroorgnizmlarning kislorod yutish tezligi bo'yicha substrat, tuzlarning optimal uzatish usulidan foydalanish.

Fermentatsiya jarayonini optimizatsiyalashning bu usullari aniq biosintez jarayoniga nazariy va eksperimental jixatdan yondoshishni talab etadi.¹⁴

Nazorat savollari:

1. Bioreaktorlar o'lchamlarini tanlash uchun qanday parametrlar muhim hisoblanadi?
2. Dastlabki xom ashyoga qanday talablar qo'yiladi?
3. Mahsulot olishda bioreaktorda qanday jarayonlar kechadi?

¹⁴ Комилов Х.М., Рахимов М.М., Д.Ю. Одилбекова. Биотехнология асослари. Тошкент. EXTREMUM PRESS, 2010.477 б.

Amaliy mashg'ulot №1 : GELDAGI QO'SHALOQ DIFFUZIYA.

Ishdan maqsad: diffuziya usullari bilan tanishish, usulning qonun qoidalari va qo'llanilishi xaqida tushunchalarga ega bo'lish.

Ishni bajarish uchun namuna

Antigen va antitela eritmalari qarama-qarshi tomonda joylashgan, chuqurligi qarayib 1,5 mm keladigan chuqurchalarga quyiladi. CHuqurchalarning joylashuvi va ular orasidagi masofa shisha ostiga quyilgan trafaretga qarab aniqlanadi. Bu tajribalarni standartlashtirishga imkon beradi. Antigenlar va antitelalar gelga diffuziylanadi, bir-biri bilan uchrashib, qarama-qarshi joylashgan chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chiziqlarini hosil qiladi. Pretsipitatsiyaga zarur bo'lgan vaqt asosan antigen va antitelalari bor chuqurchalar orasidagi masofa bilan o'lchanadi. Umuman chuqurchalar orasidagi masofa 6 mm dan oshmasligi kerak. Agar hamma chuqurchalar bir hil kattalikda bo'lsa, ular orasidagi masofa chuqurchaning ikki diametridan oshmasligi lozim.

Diffuziya sekin o'tadigan katta molekulyar ($\text{mol.og'irligi} > 1000000$, massalan, Ig m) tekshirilganda pretsipitatlarning hosil bo'lishiga 24 soatdan ko'ra ko'p. vaqt ketadi. Harorat oshganda reaksiya tezroq o'tsada, lekin ba'zan bunda pretsipitatsiya yomonlashadi. CHuqurchalar o'lchamlarini shunday tanlash mumkinki, bunda reaksiyaga kirishadigan moddalarning nisbati optimal (eng to'g'ri), pretsipitatsiya chiziqlari esa ravshan bo'lishi kerak. Agar nisbiy Konsentratsiyalar durust tanlanmasa, immun komplekslar eruvchanligigacha qolaveradi va pretsipitatsiya chiziqlari umuman ko'rinmaydi, yoki xira va bilinmaydigan bo'lib qoladi. Antigen va antitelalarning bir necha xil konsentratsiyalari (suyultirilganlari) olinganda eng yaxshi natijalarga erishiladi.

Zardobga qarshi moddalar surtilmagan xollarda antigenlar konsentratsiyasi odatda qariyb 1 mg/ml ni tashkil qilmog'i zarur. Tegishli suvultirilgan pretsipitatsiya xossalari yaxshi bo'lgan antitelalarni ishlatib turib 5mg/ml konsentratsiyali individual antigenlarni aniqlasa bo'ladi. I – rasmda foydasi tegishi mumkin bo'lgan chuqurchalarning joylashish misollari keltirilgan. CHuqurchalar o'lchamlari masshtabga (katta-kichiklikka) qarab berilgan. Bir-biriga nisbatan muayyan holda joylashgan chuqurchalarni qirqib olish uchun mo'ljallangan kommersiya perforatorlari ma'lum.

2. Usulning qo'llanilishi.

1. Pretsipitatsiyalovchi xossalarga bo'lgan muhim birlamchi test (sinov), taxminiy titr va eruvchan antigenlarga nisbatan antitelalarning spetsifikligi.
2. Antitelalar spetsifikligini aniqlashning standart (qabul qilingan) usuli.
3. Antigenlarning bir xil bo'lishini aniqlash testi, antigen tozaligini va antigenlarning molekulalar orasidagi o'zaro ta'sirini aniqlash.
4. Antigen konsentratsiyasini taxminan aniqlash.

3. Gellarni tayyorlash.

1. Agaroz saqlanadigan flakon qopqog'ini ochib, flakonni agaroz tamomila eriguncha qaynab turgan suvga qo'yib qo'yiladi.
2. Gelbond ning kichik qoshiqchasi ishlatilganda plenka xo'llanadi va uni xo'llanmaydigan tomonini shisha plastinkaga tekkizib qo'yiladi. Bu plastina ish stoliga o'rnatiladi va plastinaning gorizantal holatda joylashganligiga ishonch hosil qilinadi.
3. Plastinaga 9,6 ml miqdordagi erigan agaroz surtib qo'yiladi, agaroz bunda plastina bo'ylab markazdan chetlariga yoyiladi (zarur bo'lganda agarozaning tomizg'ichning uchi

orqali yoyilishiga yordam beriladi va gelda pufakchalarning qolmasligiga ishonch hosil qilinadi).¹⁵

Tayanch soʻzlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, gʻujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

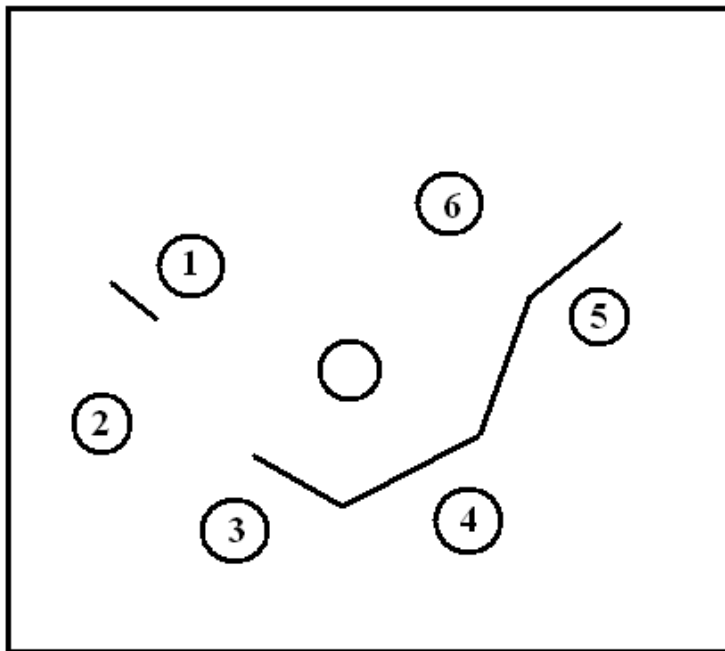
Amaliy mashgʻulot №2 ANTITELALARNING SPETSIFIKLIGI.

Maqsad: antitelalar spetsifikligini oʻrganish.

Ishni bajarish uchun namuna

Geldagi qoʻshaloq diffuziya – bu molekullarning orasidagi antigen bogʻlanishlari va ning antiqa va oddiy usulidir. Bu usulning ikkita kamchiligi bor: kam sezuvchanlik va chiziqlarni aniqlashda chiziqlar bir birini ustiga tushib qolishi mumkin.

Misol tariqasida oddiy tajriba natijalari koʻrsatilgan, bunda tekshiriladigan (anti-Y) antitela (chuqurcha) 5 tekshirilayotgan ikkita antitelalar (chuqurchalar 3 va 4) bilan solishtiriladi (4-rasm).



4-rasm.

Markaziy chuqurchada antigenlar aralashmasi boʻlib, u juda boʻlmaganda ikkita komponentdan iborat, bularning biri tekshiriluvchi antiteloning nishoni (Y) dan tshkil topgan. Chuqurcha 6 ga standart xolda tozalangan antigen boʻlgan chuqurchalar orasidagi pretsipitatsiya chiziqlari standart antigen Y va aralashmada saqlagan antigenning oʻxshash ekanligidan dalolat beradi. Tekshirilayotgan zardobga qarshi modda 1 (chuqurcha 4) da

¹⁵ Ташмухамедова Ш.С «Иммунобиологик фаол моддалар технологияси» Ўқув услубий қўлланма.- Ташкент, 2016.- 83с.

xam antigen Yga nisbatan antitelalar bo'lib, to'la o'xshashlik reaksiyasini berib qo'shimcha pretsipitatsiya chiziqlari bo'lmaydi. Lekin tekshirilayotgan antitela 2 (chuqurcha 3) aralashmada saqlagan ikkinchi antigenga nisbatan spetsifik bo'lgan antitelalar saqlanadi. Antigen X ikkinchi tekshiruv antitela bilan aniqlanadi, bu modda chuqurcha 1 ga joylashtirilgan tozalangan antigen X va U xosil qilgan pretsipitatlar chuqurcha 3 qarshisida birlashadi, lekin chuqurcha 2 va 3, shuningdek, chuqurcha 3 va 4 orasida pretsipitatsiya yo'ylarining qo'shilmasligi ko'rinib turganidek, pretsipitat ikkita mustaqil sistemalarga mansub bo'ladi. Standart antigenlarsiz va tekshiruv antitelalarsiz xam shuni faraz qilish mumkinki, bu antigenlar qisman o'xshashlikka ega emas, chunki pretsipitatsiya chiziqlari pixlarni xosil qilmaydi.¹⁶

Tayanch so'zlar va iboralar:

Antigenlar – taxassus immun javobini chaqirishga qodir bo'lgan organizm uchun yot oqsillar.

Antitelalar – organizmga yot oqsil kirganda xosil bo'ladigan va shu yot oqsilning zararli ta'sirini yo'qotadigan oqsil moddalaridir.

Nazorat uchun savollar:

1. Pretsipitatsiya nima?
2. Antigen va antitanalarni ishlab chiqarishining dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

Amaliy mashg'ulot №3

ANIQ HAL ETISH QOBILIYATI VA SEZUVCHANLIK

Ishni maqsad: diffuziya usullari bilan tanishish, usulning qo'llanilishi xaqida tushunchalarga ega bo'lish.

Ishni bajarish uchun namuna

Ichki standartlar ishlatilsa, radial diffuziyaning natijalar aniqligi yoki qayta ishlab chiqarilishi juda oshadi. U xolda tasodifiy xatolar plastinalar doirasidagi noaniqliklarda iborat bo'lib, bular ning asosiy sabablari – aralashma va namunalar kiritilishining noaniqligidir. Tajriba organ sari shunday natijalarga erishish mumkinki, bunda xato ko'p deganda 5 foizni tashkil etadi. Xatoni pretsipitatsiya xalqalari diametrlarining parallel joylashgan chuqurchalar atrofida tarqalganligini o'lchab aniqlasa bo'ladi. Bundan tashqari, xatolar muntazam olinmaganligida kalibrli egri chiziqqa xam namoyon bo'ladi.¹⁷

Tayanch so'zlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, g'ujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

¹⁶ B.Glik, Dj.Pasternak «Molekulyarnaya biotexnologiya: Prinsipi i primeneniye» Per.s angl.-M.: Mir, 2002g.-589str.

¹⁷ 6Abraham J. M., Freitag C. S., Clements J. R., Eisenstein B. I. An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1985;82:5724–5727. [PMC free article] [PubMed]

AMALIY MASHG'ULOT №4

IMMUN ELEKTROFOREZ USULLARI.

Ishni maqsadi: elnktroforetik migratsiyasi, lateral diffuziya, manfiy zaryadlangan molekulalar antitelalar saqflovchi gel,

Ishni bajarish uchun namuna

Ushbu usullarda agarozada keyinchalik gelda immunpretsipitatsiya bo'ladigan anttigenlarning elnktroforetik migratsiyasi (ko'chishi) sodir bo'ladi. Birinchidan, jarayon natijasida antigenlar aralashmasining qisman bo'linishi sodir bo'ladi, chunki ularning geldagi kuo'chishi mazkur rN i dagi bufer aralashmasining umumiy zaryadiga bog'liq bo'ladi. Bundan tashqari, manfiy zaryadlangan molekulalar antitelalar saqflovchi gelga tez ko'chadi, bu pretsipitatsiyani tezlashtirib, lateral diffuziyani deyarli bartaraf etadi.

1.Immunelektroforez (IEF)

Agarozali gel plastinasida chuqurchalar va ular orasida joylashgan egatchalar qirqib olinadi. Chuqurchalarga antigenlar eritmalari qo'yiladi va agarozaga qarma-qarshi tomondan pilikchalar qo'yiladi, pilikchalar agarozani ikki rezervuarda elektrodli bufer bufer bilan birlashtiradi. Tok ulangandan keyin antigenlar chuqurchalardan gel bo'ylab ko'cha boshlaydi va ajralib ketdi. Elektroforez tugashi bilan antigenlarning o'xshashligini aniqlasa bo'ladi. Interpretatsiya natijalari geldagi diffuziya usullaridagi kabitdir.

2. Qo'llanilishi.

Immunelektroforez birinchi navbatda antigenlarning sifatini va antitelalar pssetsifikligini aniqlash usulidan iborat.

1. Antigenlar. Usul quyidagi hollarda qo'llaniladi: 1) aralashmaning antigen tarkibini aniqlash uchun – bu, xususan, antigenlarni tozalashda muximdir. 2) alohida (individual) antigenlarning geterogenligini va gomogenligini taxlil qilish uchun

2. Antitelalar. Antitelalar spetsifikligini aniqlashda ishlatiladigan odatdagi test. Zardobli oqsillarning ja'mi pulasiga qarshi bo'lgan moddalar tekshiruv sifatida ta'sirchan hisoblanadi.

3. Usulni qayta ishlash.

1. Geldagi diffuziya testi singari agarozali plastinalar tayyorlnadi.

2. Plastina trafetga joylashtiriladi, plastinaning ikkala tomonidan metall chizg'ich uchun ikkita taglik joylanib, chizg'ich bo'yicha uchi o'tkir bo'lgan skalpel (keskich) agatchalar chegaralari qirgiladi.

3. Elektroforez uchun kamera rezervuaarlariga bufer qo'yilib, sovituvchi plastina zmeevigiga suv quyiladi.

4. Antigenlar chuqurchalarga quyiladi, bir chuqurchaning oldidagi gel satxiga ega bromfenol ko'ki kristalli joylashtiriladi.

5. Kamera qopqoq bilan yopiladi (zmonaviy kameralarda kontakt ayirgichlari xavfsiz bo'lishi uchun qopqoqda bo'ladi). Qutblikka rioya qilib (anod plastinaning o'ng chekkasiga ulanadi) kameraga simlar ulanadi.

6. Bormfenol ko'kning anodga qarab ko'chishiga ishonch hosil qilinadi. rN 8,6 ga teng bo'lganda uning ko'chish tezligi soatiga qariyb 4 sm ni tashkil etishi lozim. Qopqoqni ochishdan va plastinani ko'zdan kechirishdan oldin albatta tok manbai o'chiriladi. Bo'yoqchi agatcha qirg'og'iga surilganda elektroforez tugatiladi.

7. Gelnı darxol chuqur bo'lmagan nam kameraga ko'chirilib, tekis stolga joylanadi. Egatchalarnga qariyb 150 ml tegishli ziddizardoblar quyiladi va kamera qopqoq bilan berkitiladi. Zardob gelga tushmagunicha kamerani siljitmang (masalan, kamerani sovutkichga qo'ymang).

8. Pretsipitatsiya reaksiyasi o'tishi uchun gellar tuni bo'yi 4⁰ S da qoldiriladi. Agar reaksiya xona xaroratida o'tkazilsa, gel bir necha soatdan keyin tekshiriladi va zarur bo'lsa reaksiya to'xtatiladi, pretsipitatsiya yoylari hali ravshanligicha saqlangan daqiqagacha gel

suv bilan yuvib tozalanadi. Nam plastinalarni egatchalarni suv bilan to'ldirib yoyilgan yorug'likda suratga olgan maqul. Plastinaning pastki shishali yuzasini glitserin bilan yog'sizlantirish mumkin. Plastinalar yuvib tozalanadi, quritiladi va geldagi immun diffuziyani amalga oshirgandagi kabi bo'yaladi. Geldan zardobli oqsillarni olib tashlash uchun uni yaxshilab tozalab yuvish kerak. Antitelalar sifatida zardobning Ig G fraksiyasi ishlatilganda oqsillarning fon bo'yalishi kamayadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

«ASSESSMENT» texnikasi

Mazkur metod talim oluvchilarning bilim darajasini baholash, nazorat qilish, ozlashtirish korsatkichi va amaliy konikmalarini tekshirishga yonaltirilgan. Mazkur texnika orqali talim oluvchilarning bilish faoliyati turli yonalishlar (test, amaliy konikmalar, muammoli vaziyatlar mashqi, qiyosiy tahlil, simptomlarni aniqlash) bo'yicha tashxis qilinadi va baholanadi.

3-jadval. «ASSESSMENT» usulining nazorat shakli.

Test	Qiyosiy tahlil
Simptom	Amaliy konikma

AMALIY MASHG'ULOT №5 RAKETALI IMUNNO ELEKTROFOREZ.

Ishni maqsadi: Raketali immunoforez usuli bilan monospetsifik antitela bilan bo'lgan reaksiyada individual antigen konsentratsiyasini baxolash.

Ishni bajarish uchun namuna

Raketali immunoforez va immun pretsipitatsiya kombinatsiyasi qoidasini yanada rivojlanishi natijasida ishlab chiqilgan. U monospetsifik antitela bilan bo'lgan reaksiyada individual antigen konsentratsiyasini tez baxolash imkonini beradi.

Individual antigenlar gel asosida joylashgan chuqurchalardan tarkibida spetsifik antitelalar saqlagan agarozaga ko'chadi. Maxsus sharoitlar yordamida antigenning anodga qarab ko'chishi va antitelalarning bog'langani sari pretsipitatsiyaning o'tkazilgan yoylari (raketalari) xosil bo'ladi. Raketalarning balandligi antigen konsentratsiyasiga proporsionaldir. Agar plastinaga standart antigenning bir qancha aralashmalari surtilgan bo'lsa, no'malum (tajribalari) namunalarining konsentratsiyasini aniqlash oson, bunda ular standart egi chiziqlari bilan solishtirib ko'riladi. Aralashmalaridagi individual antigenlarni aniqlash uchun geldagi monospetsifik antigenlarni aniqlash uchun gelda monospetsifik antitelalar bo'lishi zarur.¹⁸

¹⁸ Agarwal P., Oldenburg M. C., Czarneski J. E., Morse R. M., Hameed M. R., Cohen S., Fernandes H. Comparison study for identifying promoter allelic polymorphism in

Tayanch soʻzlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, gʻujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

AMALIY MASHGʻULOT №6 KESISHMA IMUNNO ELEKTROFOREZ.

Ishni maqsadi: usulning qoidasi va qoʻllanilishi usullari

Ishni bajarish uchun namuna

Mazkur usulda birinchi bosqichda bir yoʻnalishda antigenlarning elektroforetik ajratilish va boshqa yoʻnalishda (90 burchak ostida), ikkinchi bosqichda raketali IEF koidasi koʻzda tutiladi. Ajratilgan antiegnlar polispetifik antitelalari boʻlgan agarozaga koʻchib raketalaridan bir manzarani xosil qiladi. Usul antgenlar tarkibini teshirishi uchun katta analitik ahamiyatga, bundan tashkari miqdoriy xisoblashlarning baʼzi bir xossalari ega boʻladi. U anodga koʻchadigan antigenlar tozaligini shuningdek antitelalar spetsifikligini testlash uchun juda foydalidir. Yu antitelalar saqllovchi, lekin pretsipitatlar xostil qilmaydigan gelga kiruvchi xar kanday oqsillarni geldan xalos etish mumkin, bunda elektroforez pritsipitatlar geldan anod tarafidan chiqib ketmaguncha davom ettiriladi. SHunday qilib. Ushbu usul antigen va antitelo kompleksini tozalash uchun ishlatish va uchliklardan immunlash uchun foydalanish mumkin. Bu boshqa usullarda tozalash qiyin boʻlgan koʻp sonli antigenlarga yoʻl ochib beraladi. Plastinalardagi antigen uchliklarini maʼlum boʻlgan standartlar bilan solishtirib, antigen aralashmalarining miqdorini baxolash mumkin boʻladi. Bu xususan kasallikda zardob tarkibining oʻzgarilishlarini aniqlashgan imkon beradi. Masalan: komplementning uchinchi komponentini faollashtirib (fermentativ parchalinish) individual oqsillarning oʻzgarishlarini va boshqa oqsillar proteolizinni kuzatish mumkin. Usuldan gelga ikkinchi bosqichni amalga oshirish uchun kiritilgan spetsifik antitelsoni tekshirish uchun foydalanish mumkin.

Tayanch soʻzlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, gʻujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

AMALIY MASHGʻULOT №7 MUQOBIL IMMUNNO ELEKTROFOREZ.

Maqsad: usulning oʻziga xosligini koʻrib chiqish.

Ishni bajarish uchun namuna

rN 8,6 boʻlganda rN qiymati antitelolardagiga qaraganda kattaroq boʻlgan antigenlar yuqori elektr endosmotik xossalarga ega boʻlgan gelda turib, qarama qarshi

chuqurchadan katodga siljiydigan antitelolarga qarab juda tez siljiydigan anodga tomon ko'chadi. Bu xodisadan foydalanish antigenlar va antitelalar bor (ular tegishli proporsiyalarda qo'yilgan taqdirda) chuqurchalar orasida pretsipitatsiya chiziqlarini tezlik bilan olish imkonini beradi. Muqobil IEF- antigenlarini xam antitelolarni xam aniqlashning eng sezuvchan va tezkor usulidir. Bu usul fiziologik suyuqliklarda yuqumli antigenlarni (masalan, gepatit V virusi antigenlarini) zardobli oqsillar konsentratsyaisining o'zgarishlarini (masalan a-fetoproteinni) aniqlash. va shuningdek anodga ko'chadigan bir qator antigenlarga nisbatan antitelollarni testlash uchun keng ko'lamda qo'llaniladi. Usulning sezuvchanligi 400 g/ml ga etadi.

Tayanch so'zlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, g'ujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

AMALIY MASHG'ULOT №8 VESTERN-BLOTTING VA ANTIGENLI BO'LAKCHALARNI IMMUN KIMYOVIY BO'YASH.

Ishni maqsadi: usulning qo'llanilish soxalarini o'rganish

Ishni bajarish uchun namuna

Poliakrilamidli gelda elektroforez yordamida ajratib qo'yilgan molekulalarni elektroforetik tarzda nitrotsellyulozani membranaga ko'chirish mumkin, bunda molekulalar ana shu membrana bilan birikib, elektrofonetik bo'linish manzarasini aks ettiradi. Bu jarayon Vestern-blotting yoki elektroblotting deb ataladi. Blottingdan keyingi standart antigen va molekulyar og'irlik markerlarining treklarini oqsilli yoki uglevodli bo'yoqchi bilan bo'yaladi, qolganlarini antitelalar namunalari bilan inkubatsiya qilinadi. Nishonlangan antitelalar yordamida ayrim antigenli bo'lakchalar aniqlanadi. Bu bosqichni immun kimyoviy bo'sh bosqichi deb ataladi. Usul to'la xajmda elektroforezning PAAG da molekulalarni bo'lib tashlash kabi ajoyib xususiyati sifatida ishlatiladi, molekulalar konsentratsiyai kichik bo'lib, bunda antitelalarning spetsifik antigen komponentlarini aniqlash xossalari xam bor.

SHunday qilib, usuldan ko'proq antigenlar tarkibi va molekulyar o'lchamlarini aniqlash uchun foydalaniladi. Bundan tashqari bu usul spetsifik antitelalar (xususan MKA) spetsifikligini aniqlash va bir xil yoki turlicha tuzilgan antigenli preparatlarda (masalan, bakteriyalarning turli xillari, virusli mutantlar, xujayra ekstraktlari va b.) antigeni jixatidan o'xshash molekulalarni qidirishda juda samarali xisoblanadi.

Tayanch so'zlar va iboralar:

Vestern-blotting yoki elektroblotting - bunda molekulalar ana shu membrana bilan birikib, elektrofonetik bo'linish manzarasini aks ettiradigan jarayon.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

AMALIY MASHG'ULOT №9 IMMUNFERMENT ANALIZDA ISHLATILADIGAN FERMENT-NISHONLARNI AKTIVLIKLARINI ANIQLASH USULLARI.

Ishni maqsadi: Peroksidaza va ishqoriy fosfataza katalitik aktivligini aniqlash va kon'yugat olish usuli.

Ishni bajarish uchun namuna

6 mg o-fenilendiamin 15ml 0,02 m fosfat-sitrat buferida, rN 5 eritiladi va bu eritmaga 10mkl konsentrlangan (30% li) perekis vodorod qo'shiladi. So'ngra ferment eritmasi qo'shiladi va eritmaning optik zichligini o'zgarishini 435 nm (yoki teng hajm 0,1 m H₂SO₄ eritmasi qo'shilgandan so'ng 490 nm)da o'lchanadi.

b) Peroksidaza aktivligini 5- aminosaltsil kislota eritiladi.

Eritma xona haroratigacha sovutiladi. Eritma rN i 6,0 gacha 1 m NaOH bilan etkaziladi va 1 ml N₂O₂. (konsentrlangan 30%-li (9,8m) N₂O₂ eritmasi 100000 marta suyutiriladi).

v) Peroksidaza aktivligini 2,2- azino-di-{3-etil-2,3-di- gidrobenzotiazolin-6-sulfon kislotasining diammoniy tuzi (ABTS) yordamida aniqlash.

g) Peroksidaza aktivligini p-oksifenilpropion kislota yordamida fluorimetrik usulda aniqlash.

0,25 g tozalangandan p-oksifenilpropion kislota 50ml 0,1 m fosfat buferida rN 8,0 (eritma rN 7,0 gacha kamayadi).

d) Xemilyuminessent usulida peroksidaza aktivligini aniqlash.

1. Peroksidazaning antigen yoki antitela bilan kon'yugati tutgan polistirol probirkalarga D-lyusiferining 0,01 m tris-NS1 rN 8,0 buferdagi 3,6 mM eritmasidan 10mkl va 1,25 mM lyuminol va 2,7 mM perekis vodorod eritmalarining aralashmalaridan 1 ml qo'shiladi.

2. Ferment kon'gati tutgan polistirol probirkaga lyuminol (1,8 mg lyuminol 10 ml 0,1 N NaOH da eritiladi) ning 1mM li eritmasidan 20 mkl va NaOH ning 0,21M eritmasidan 960 mkl qo'shiladi.

Glyukozooksidaza

a) Fotometrik usulda glyukozooksidaza fermenti aktivligini o-fenilendiamin yordamida aniqlash.

100 mg D-glyukoza 10ml 0,01 m fosfat bufer, rN 5,5 da eritiladi. Eritmaga 1 soatdan keyin 1 mg xren peroksidazasi va 2,5 ml (1 mg/ml) o-fenilendiamin qo'shiladi.

b) Fluorimetrik usulda glyukozooksidaza aktivligini p-oksifeniluksus kislota yordamida aniqlash.

50 mg o-oksifeniluksus kislota 50 ml 0,05 m atsetat buferida, rN 5,0 eritiladi, eritma rN i 5,0 ga 10 m NaOH eritmasi bilan etkaziladi va 1 mg peroksidaza qo'shiladi. SHu eritmaning 0,25 ml ga 0,01 M fosfat buferida, rN 7,0 0,1 NaCl va 1 g/l qoramol zardobi al'bumini eritmasida eritilgan glyukozooksidazaning 10mkg eritmasi qo'shiladi.

Ishqoriy fosfataza

a) Fotometrik usulda ishqoriy fosfataza fermenti aktivligini 4-nitrofenilfosfat yordamida aniqlash.

1,1 gr 4-nitrofenilfosfatning ikkita natriyli tuzi x 6N₂O 4ml suvda eritiladi va hajmi 5 ml gacha etkaziladi. Spektrofotometr kyuvetasiga 3ml tarkibida 1 mM MgCl₂ va 0,1 mM ZnCl₂ tutgan 0,1 M glitsin-NaOH beferi eritmasi qo'yiladi. Kyuveta 30⁰S 5 minut ishlanadi va 20 mkl ferment eritmasi qo'shiladi. Reaksiyani 30 mkl 4-nitrofenilfosfat eritmasini qo'shish bilan boshlandi va 405 nm to'lqin uzunligida optik zichligini oshishi o'lchanadi.

b) Fluorimetrik usulda ferment aktivligini 4-metilumbelliferilfosfat yordamida aniqlash.

2,6 mg 4-metilumbelliferilfosfatni 33,3 ml 0,1 m glitsin-NaOH buferida, rN 10,3 eritib, substratning 0,3 m eritmasi tayyorlanadi. Devorlariga spetsifik sorbsiyalangan fermentning 0,1 ml tarkidida 1mM MgCl₂ , 0,1 mM ZnCl₂ , 0,5 g/l NaN₃ va 250 g/l albumin tutgan 0,1 M glitsin-NaOH buferi rN 10,3 qo'yiladi.

FERMENT – OQSIL KONYUGATLARINI OLINISHI.

a) Nakane usulida xren peroksidazasini immuneoglobulin G bilan konyugati sintezi.

4 mg xren peroksidazasi (RZ – 3,0) ning 1 ml suvdagi eritmasi 0,2 ml yangi tayyorlangan 0,1 M NaJO₄ eritmasi qo'shiladi va xona haroratida 20 minut mobaynida aralashtiriladi. Olingan eritma tun bo'yi 4⁰S da 0,001 M natriy atsetat buferi, rN 4,4 ga qarshi dializ qilinadi yoki sefadeks G-25 li kolonka (1 x 10sm) da xromatografiya qilinadi.

SHu modifikatsiya qilingan peroksidazaga 20 mkl 0,2 M natriy karbonat buferi rN 9,5 va 8 mg immunoglobulin G ning 2 ml yuqoridagi buferdagi eritmasi qo'shiladi. Reaktsion aralashma 2 soat mobaynida xona haroratida aralashtiriladi, 0,1 ml yangi tayyorlangan NaBH₄(4mg/ml) ning suvli eritmasi qo'shildi va 4⁰S da 2 soat mobaynida aralashtiriladi. Olingan kon'yugat (NH₄)₂SO₄ tuzi bilan cho'ktiriladi va dializ qilinadi yoki sefadeks G-200 tutgan kolonka (1,6 x 35 sm)da xromatografiya qilinadi. Birinchi pik yig'iladi. Kon'yugatni stabillash uchun BSA (1%) , mertiolat (0,025%) yoki glitsirin (50%) qo'shiladi va oz-oz miqdorda 4⁰S da saqlanadi.

b) Glutar dial'degidi yordamida i munoglobulin G ning xren peroksidazadasi (RZ= A₄₀₃/A₂₇₅- 0,3) 0,2 ml tarkibida 0,15 M NaC va 1,25% -li glutar dial'degidi tutgan 0,2 ml 0,1 M fosfat buferida, rN 6,8 eritiladi va xona haroratida tun bo'yi aralashtiriladi. Glutar dial'degidni ortiqchasini 0,15 M NaCl eritmasiga qarshi dializ yo'li bilan yoki sefadeks G-25 tutgan kolonkada (1 x 10 sm) xromotografiya usulida yo'qotiladi. 0,15M NaCl eritmasi bilan 1ml gacha suyultiriladi, 1ml immunoglobulin G ning 0,15 M NaCl dagi eritmasi v 0,1ml 1 m karbonat buferi, rN 9,5 qo'shiladi. Xona haroratida 2 soat mobaynida inkubsiya qilinadi va tarkibida 0,15 M NaCltutgan 0,01 M (NH₄)SO₄ ning to'yingan eritmasini ekvivalent hajmi bilan cho'ktiriladi va 1 ml fosfat buferida eritiladi. Eritma fosfat buferiga qarshi dializ qilinadi. Eritma 10000 g da 30 minut sentrifugirlanadi, cho'kmadan ajratiladi, 1%-gacha al'bumin qo'shiladi va teshikchalarning diametri 0,2 mkm bo'lgan filtr orqali filtirlanadi. Olingan konyugat – 20⁰S yoki teng hajm glitserin qo'shgandan so'ng +4⁰S haroratda saqlanadi.

Tayanch so'zlar va iboralar:

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, g'ujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

AMALIY MASHG'ULOT №10 : POMIDOR VIRUSLARINI IMMUNOFERMENT ANALIZNING "SENDVICH" USULIDA ANIQLASH.

Ishni maqsadi: POMIDOR VIRUSLARINI IMMUNOFERMENT ANALIZINING "NIQOBLANISH" USULIDA ANIQLASH.

Ishni bajarish uchun namuna

Viruslarni IFA ning "Sendvich" usulida aniqlash polistiroлга adsorbsiyalangan qarshi antitelalarning ketma ket virus va antitelalarning peroksidaza bilan konyugati bilan ta'sirlashishini o'z ichiga oladi. Qattiq fazadagi ferment aktivligi virusning boshlang'ich konsentratsiyasiga proporsionaldir va tekshirilayotgan namunadagi virus miqdorini xarakterlaydi.

Kerakli material va asboblari: Pomidor virusi va unga qarshi olingan antitela, spetsifik antitelalarning peroksidaza bilan kon'yugati, peroksidaza aktivligini aniqlashga 5-aminosalitsil kislota asosida substrat aralashmasi, polistrol planshetlari, avtomat-pipetkalar, spektrofotometr.

Usulining tavsifi

1. Antitelalaradsorbsiyasi: antitelalarning adsorbsion immunobilizatsiyasiga antitelalarning fosfatbuferidagi 5 mkg/ml li konsentratsiyadagi eritmasi ishlatiladi. Planshet chuqurchasiga 0,2 ml eritma quyiladi. So'ngra planshetlar qopqog'i bilan berkitiladi va 4⁰S da tun bo'yi qoldiriladi. Eritmasiga planshet chuqurchalaridagi suyuqlik to'kib tashlanadi va

tvín-20 tutgan fosfat buferi (TFB) bilan yuviladi. Planshetlar havoda kiritilgandan soʻng – 20⁰S da bir necha oy mobaynida immunologik aktivligini yoʻqotmaydi.

2. Tekshirilayotgan namunalarni qoʻshish: Hamma tekshirilayotgan namunalar planshet chuqurchalariga 0,2 ml hajmdagi TFB /boshlangʻich virus namunasi 10-50 marta suyultiriladi/ solinadi va 37 S da 1 soatga qoldiriladi. Har bir aniqlanayotgan namuna uchun 2-3 parallel oʻlchash oʻtkaziladi. Kontrol sifatida virus bilan zararlangan sogʻ oʻsimlik ekstraktlari olinadi.

3. Soʻngra antigen eritmasi toʻkib tashlanadi va 4 marta TFB bilan yuviladi. Konyugat TFB da 1 – 2,5 mkg/ml konsentratsiyagacha suyultiriladi va planshet chuqurchalariga 0,2 dan qoʻyiladi. Planshetlar 37⁰ S da 1 soat davomida qoldiriladi va 4 marta TFB bilan yuviladi.

4. keyin planshet chuqurchalariga 0,2 ml substrat aralashmasi qoʻshiladi va xona haroratida 30-40 minutga qoldiriladi. IFA natijalari koʻz bilan yoki spektrofotometrda $\lambda=450$ nm da oʻlchanadi.

POMIDOR VIRUSLARINI IMMUNOFERMENT ANALIZINING “NIQOBLANISH” USULIDA ANIQLASH.

VTM ning pomidor shtammi bilan kasallangan pomidor barglaridan virus ajratiladi. Bu virus polimid granulariga bifunksional agentlar (glutar dialdegidi, gossipol) yordamida 0,1M borat buferida rN 8,5 (5⁰Sda 24 soat) immobilizatsiyalanadi. Sorbentdagi erkin aldegid gruppalarini monoetanolamin bilan blokirovka qilinadi. Olingan sorbent virusga qarshi antitelalarni tozalashda ishlatiladi. VTM ning pomidor shtamiga qarshi antitelalar quyonlarni immunizatsiya qilib olinadi. Antitelalar titri 1%-li agar gelida Uxterloni usulida aniqlanadi. VTM ga qarshi zardob 0,05 M tris-NS⁺ rN 7,0 buferida (tarkibida 30 mM kalsiy xlorid, etilenglikol tutgan) 5⁰S da 2 soat mobaynida doimiy ravishda chayqatib dsorbsiyalanadi va sorbent bufer bilan yuvib tashlanadi. Antitelar desorbsiyasi tarkibida 1 M KS1 tutgan 0,05 M tris-NaOH buferi, rN 11,0 yordamida amalga oshiriladi. VTM-TSH va fosfolipaza A2 konyugatlari ikki olinadi. Birinchi usulda 0,05 M borat buferi rN 9,0 dagi 0,2 ml ferment eritmasiga (2 mg/ml) 0,1 ml VTM suspenziyasi (3mg/ml) qoʻshiladi. Keyin aralashmaga chayqatib tutgan holda tomchilatib 0,1 ml 2,5%-li glutar dialdegidi eritmasi va 0,6 ml 0,1 M borat buferi, rN 9,0 qoʻshiladi. Aralashma 4⁰S da 15-20 soat mobaynida inkubatsiya qilinadi va 2 sutka davomida dializ qilinadi. Kon'yugat eritmasi sentrifugirlangandan ferment soʻng ferment aktivligi aniqlanadi.

Ikkinchi usul shu usulda olingan kon'yugatni poliamid-kefalin va poliamid-VTM sorbentlar biospetsifik xromatografiya usulida tozalashdan iborat.

Immunoferment diagnostikum quyidagilarni oʻz ichiga oladi:

- 1) TSH-VTM ning tozalangan preparati (kalibrovka egri chizigʻini tuzish uchun) ;
- 2) virus va fosfolipaza A2 konyugati;
- 3) 3,1 mM tuxum letsitini, 10 mM CaCl₂, 8 mM triton X-100, 0,5 m tris-NS1, rN 8,5 tutgan substrat aralashmasi.

Analiz usulining mohiyati quyidagalardan iborat. Maʼlum miqdordagi VTM (turli konsentratsiyalar) ning 0,05 M borat buferi, rN 8,0 dagi eritmasiga 0,1 ml antitela (0,35 mkg oqsil) eritmasi qoʻshiladi, eritma hajmi 0,8 ml gacha bufer bilan etkaziladi va 15 minut ushlab turiladi. Keyin 0,1 VTM ning fosfolipaza A2 kon'yugati (0,5mkg oqsil boʻyicha) va yana 15 minutga qoldirildi. Aralashmaning bir qismi (0,1 mkg oqsil boʻyicha) 8,5 ml hajmli titrator yacheykasiga qoʻshiladi. Fosfalipaza aktivligini yogʻ kislotalari miqdori bilan oʻlchanadi. Kalibrovka egri chizigʻi orqali virus miqdori aniqlanadi.¹⁹

Tayanch soʻzlar va iboralar:

¹⁹ Altman J. D., Moss P. A. H., Goulder P. J. R., Barouch D. H., McHeyzer-Williams M. G., Bell J. I., McMichael A. J., Davis M. M. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. Science. 1996;274:94–96. [PubMed]

Agglyutinatsiya – suyuqlikdagi zarrachalar (bakteriyalar, eritrotsitlar va boshqa xujayra elementlari)ning bir biriga yopishib, gʻujlanib qolishi.

Nazorat uchun savollar:

1. Immunobiotexnologiya fani nima?
2. Immunologiyaning dolzarb muammolari qaysi soxada ishlatiladi?

ESSE usuli

Bu usul ham inson fikrlash qobiliyatini rivojlantirishda muhim ahamiyatga ega. Ular norasmiy fikr va qiyofalarni qayd qilish har tomonlama koʻrib chiqilmaguncha xotirada saqlab turish va ularni yanada aniqroq ifodalashga imkon beradi. Biotexnologiya yoʻnalishlari haqida **esse** usulida taxlil qilish.

Эссе усули

Эссе- французча тажриба, дастлабки лойиҳа, шахснинг бирор мавзуга оид ёзма равишда ифодаланган дастлабки мустақил эркин фикри. Бунда тингловчи ўзининг мавзу бўйича тассуротлари, ғояси ва қарашларини эркин тарзда баён қилади. Эссе ёзишда ҳаёлга келган дастлабки фикрларни зудлик билан қоғозга тушириш, иложи борича ручкани қоғоздан узмасдан – тўхтамасдан ёзиш, сўнгра матнни қайта таҳлил қилиб, такомиллаштириш тавсия этилади. Мана шундагина ёзилган эссенинг ҳаққоний бўлиши эътироф этилган. Эссени муайян мавзу, таянч тушунча ёки эркин мавзуга бағишлаб ёзиш мақсадга мувофиқ. Баъзан, айниқса тарбиявий соатларда таълим олувчиларга ўзларига ёккан мавзу бўйича эссе ёздириш ҳам яхши натижа беради.

V.KEYSLAR BANKI

Keys-stadi inglizcha *case* - anik vaziyat, *study* - talim sozlarining birikishidan hosil qilingan bolib, aniq vaziyatlarni organish, tahlil etish va ijtimoiy ahamiyatga ega natijalarga erishishga asoslangan talim metodidir.

Hozirgi kunda Bosh ilmiy-metodik markaz portalida taqdim etilgan «Innovatsion talim texnologiyalari» moduliga oid materiallar va taqdimotlarda Keys-stadi usulini amalga oshirish bosqichlari quyidagicha belgilangan:

1. Keys bilan tanishuv (individual)
2. Asosiy muammoni (oquv muammosini) ajratib olish va organish (individual va kichik guruhlarda)
3. Goyalar yigish va muammoning echimini izlash (kichik guruxlarda)
4. Keys echimi uchun taklif etilgan goyalarni taqdimoti, tahlil va baholash (oqituvchi va kichik guruhlar)

Keys echimi va tavsiyalar (oqituvchi, kic

1-Keys: Texnologik jarayonlarning bajarilishi talabga javob bermasligi bilan bogʻliq muammolar.

Keysni bajarish boʻyicha topshiriqlar:

- Limfoid organdan immunostimulyator (timektomin) kam miqdorda ajratib olinmoqda. Buning sabablari aniqlanib, bartaraf etilishi zarur.

Keysning asosiy maqsadi:

- 1.Immunostimulyator olish texnologiyasining bosqichlarini o'rganish;
- 2.Texnologik jarayon davomida yuzaga keladigan muammolarni bartaraf etishni o'rganish;

O'quv faoliyatidan kutiladigan natijalar:

- Timusdan olingan faol modda asosida immunostimulyator vositalarini ishlab chiqarishni yo'lga qo'yish;
- Biofaol moddalar aralashmasidan preparatni ajratib olish bilan bog'liq muammoli vazifalarni echishda nazariy bilimlarga ega bo'ladi;
- Muammoni aniqlab, uni hal qilishda echim topishni uddalay oladi.

Ushbu keysni muvaffaqiyatli amalga oshirish uchun oldindan talabalar quyidagi bilim va ko'nikmalarga ega bo'lmog'i zarur:

Talaba bilishi kerak:

- Timektomin stimulyatorining o'ziga xos xususiyatlarini;
- Ishlab chiqarish texnologiyasining bosqichlarini.

Talaba amalga oshirishi kerak:

- Mavzuni mustaqil o'rganadi;
- Muammoni mohiyatini aniqlashtiradi, g'oyalarni ilgari suradi;
- Ma'lumotlarni tanqidiy nuqtai nazardan ko'rib chiqib, mustaqil qaror qabul qilishni o'rganadi;
- O'z nuqtai nazariga ega bo'lib, mantiqiy xulosa chiqaradi;
- O'quv ma'lumotlari bilan mustaqil ishlaydi, ma'lumotlarni taqqoslaydi, tahlil qiladi va umumlashtiradi.

Talaba ega bo'lmog'i kerak:

- Kommunikativ ko'nikmalarga;
- Taqdimot ko'nikmalariga;
- Hamkorlikda ishlash ko'nikmalariga;
- Muammoli holatlarni tahlil qilish ko'nikmalariga.

Amaliy vaziyatni bosqichma bosqich tahlil qilish va hal etish bo'yicha talabalarga uslubiy ko'rsatmalar

Ish bosqichlari	Maslahatlar va tavsiyanomalar
1. Keys va uning axborot ta'minoti bilan tanishish	Avvalo keys bilan tanishing. «Pepsin olish texnologiyasi» mavzusining maqsadi va vazifalari haqida tushuncha hosil qilish uchun mavzuga oid bor bo'lgan axborotni diqqat bilan o'qib chiqish lozim. O'qish paytida vaziyatni tahlil qilishga shoshilmang.
2.Berilgan vaziyat bilan tanishish	Ma'lumotlarni yana bir marotaba diqqat bilan o'qib chiqing. Siz uchun muhim bo'lgan satrlarni belgilang. Bir abzatsdan ikkinchi abzatsga o'tishdan oldin, uni ikki uch marotaba o'qib mazmuniga kirib boramiz. Keysdagi muhim fikrlarni ostiga chizib qo'ying.
3.Muammoli vaziyatni tahlil	Asosiy muammo va kichik muammolarga diqqatingizni jalb qiling. Asosiy muammo: Immunostimulyator olish texnologiyasida vujudga kelgan muammolarni bartaraf etish.

qilish	Quyidagi savollarga javob berishga harakat qiling. 1.Timektomin moddani ajratib olishda asosiy xom-ashyoga qanday ishlov beriladi? 2.Ajratib olingan biofaol moddalar aralashmasi tarkibidagi muayyan komponent qanday xossalarga ega? 3.Moddaning xususiyatini bilgan holda unga qanday erituvchi mos keladi? 4.Timektomin faolligini aniqlash qanday amalga oshiriladi? 5.CHo'ktirish jarayoni necha marta va qanday amalga oshiriladi? 6.Quritish jarayonida qanday muammolar yuzaga keladi va ular qanday bartaraf etiladi?
4.Muammoli vaziyatni echish usul va vositalarini tanlash hamda asoslash.	Ushbu vaziyatdan chiqib ketish harakatlarini izlab topish maqsadida muammoli vaziyat jadvalini to'ldiring. Muammoni echish uchun hamma vaziyatlarni ko'rib chiqing, muqobil vaziyatni yarating,muammoni echimini aniq variantlardan tanlab oling. Jadvalni to'ldiring. Keys bilan ishlash natijalarini yozma ravishda ilova eting.

“Muammoli vaziyat” jadvalini to'ldiring

Vaziyatdagi muammolar turi	Muammoli vaziyatning kelib chiqish sabablari	Vaziyatdan chiqib ketish harakatlari
Biofaol moddalar aralashmasidan muayyan komponentni ajratib olish uchun tegishli erituvchi va adsorbentni tanlash.	Organik erituvchilarning ortiqcha sarfi. Ajratib olinishi kerak bo'lgan moddaning to'liq ajratib olinmasligi. Xom ashyodan unumli foydalana olmaslik.	Ajratib olinishi kerak bo'lgan biofaol moddaning agregat va fizik-kimyoviy xossalariidan kelib chiqqan holda tegishli erituvchi va adsorbent tanlanadi.

2-Keys. Tuzlar yordamida cho'ktirish orqali immunostimulyatorlik xususiyatiga ega moddani ajratish

Keysning asosiy maqsadi:

1. FAOL MODDANI CHO‘KTIRISHNI O‘RGANISH.

2. Tuzlar yordamida cho‘ktirish orqali immunostimulyatorlik xususiyatiga ega moddani ajratish prinsiplarini o‘rganish.



O‘quv faoliyatidan kutiladigan natijalar:

Oqsil tabiatli faol moddalar haqida to‘liq ma’lumotga ega bo‘ladi.

- Faol moddani ajratish haqida tushunchaga ega bo‘ladi.
- Tahlilni o‘tqazish uslubiyotiga asoslangan jarayonni to‘liq o‘zlashtirib oladi .
- Oqsil tabiatli moddalarni tozalash** haqida to‘liq ma’lumotga ega bo‘ladi.
- Muammoni aniqlab, uni hal qilishda echim topishni uddalay oladi.

Ushbu keysni muvaffaqiyatli amalga oshirish uchun oldindan talabalar quyidagi bilim va ko‘nikmalarga ega bo‘lmog‘i zarur:

Talaba bilishi kerak:

Ajratish va tozalash usullarini bosqichlarini

Talaba amalga oshirishi kerak:

- Mavzuni mustaqil o‘rganadi;
- Muammoni mohiyatini aniqlashtiradi, g‘oyalarni ilgari suradi;
- Ma’lumotlarni tanqidiy nuqtai nazardan ko‘rib chiqib, mustaqil qaror qabul qilishni o‘rganadi;
- O‘z nuqtai nazariga ega bo‘lib, mantiqiy xulosa chiqaradi;
- O‘quv ma’lumotlari bilan mustaqil ishlaydi, ma’lumotlarni taqqoslaydi, tahlil qiladi va umumlashtiradi.

Amaliy vaziyatni bosqichma bosqich tahlil qilish va hal etish bo‘yicha talabalarga uslubiy ko‘rsatmalar

Ish bosqichlari	Maslahatlar va tavsiyanomalar
1.Keys va uning axborot ta’minoti bilan tanishish	Avvalo keys bilan tanishing. “Faol moddani ajratish va tozalash ” mavzusining maqsadi va vazifalari haqida tushuncha hosil qilish uchun mavzuga oid bor bo‘lgan axborotni diqqat bilan o‘qib chiqish lozim
2.Berilgan vaziyat bilan tanishish	Ma’lumotlarni yana bir marotaba diqqat bilan o‘qib chiqing. Siz uchun muhim bo‘lgan satrlarni belgilang. Bir abzatsdan ikkinchi abzatsga o‘tishdan oldin, uni ikki uch marotaba o‘qib mazmuniga kirib boramiz.

3.Muammoli vaziyatni tahlil qilish	Asosiy muammo va kichik muammolarga diqqatingizni jalb qiling. Asosiy muammo: <i>Faol moddani tozalash davomida mayyan moddaning xususiyatidan kelib chiqqan holda eng samarali usulini tanlay bilish.</i> Quyidagi savollarga javob berishga harakat qiling. 1.Ajratib olingan biofaol modda toza holda yoki kompleks holatda olinganmi? 2. Ajratib olingan biofaol modda qanday fizik–kimyoviy xossalarga ega? 3.Ajratib olingan biofaol modda qanday agregat holatda? 4.Tahlil qanday uslubda amalga oshirilmoqda? 5.Qanday usulni qo‘llaganda muayyan biofaol moddaning ajratib olinish samarasi yuqori bo‘ladi? 6.Biror tozalash usulini tanlashda qanday omillarga e‘tibor bermoq lozim?
4.Muammoli vaziyatni echish usul va vositalarini tanlash hamda asoslash.	Ushbu vaziyatdan chiqib ketish harakatlarini izlab topish maqsadida muammoli vaziyat jadvalini to‘ldiring. Muammoni echish uchun hamma vaziyatlarni ko‘rib chiqing, muqobil vaziyatni yarating.Muammoni echimini aniq variantlardan tanlab oling. Jadvalni to‘ldiring. Keys bilan ishlash natijalarini yozma ravishda ilova eting.

“Muammoli vaziyat” jadvalini to‘ldiring

Vaziyatdagi muammolar turi	Muammoli vaziyatning kelib chiqish sabablari	Vaziyatdan chiqib ketish harakatlari
Biofaol moddalar aralashmasidan muayyan komponentni ajratib olish uchun tegishli xromatografiya turini tanlash.	Ajratib olinishi kerak bo‘lgan moddaning to‘liq ajratib olinmasligi. Xom ashyodan unumli foydalana olmaslik. Organik erituvchilarning ortiqcha sarfi. Tozalash jarayonining davomiyligini ortib ketishi.	Ajratib olinishi kerak bo‘lgan biofaol moddaning xossalariidan kelib chiqqan holda tegishli samarali usuli tanlanadi.

3-Keys Antigenlar va uning titrini aniqlash. Titr aniqlana olinmadi. Buning sababini aniqlang.



Keysning asosiy maqsadi:

1. YOt modda ya'ni antigen miqdorini o'rganish.
2. Antigenni to'g'ri tanlash.
3. Antigen bilan antitana ta'sirini o'rganish.

O'quv faoliyatidan kutiladigan natijalar:

1. Antigen haqida to'liq ma'lumotga ega bo'ladi.
2. Texnologik jarayonning har bir bosqichini izohlay biladi.
3. Antigen titriga ta'sir etuvchi omillarni o'rganadi.

Ushbu keysni muvaffaqiyatli amalga oshirish uchun oldindan talabalar quyidagi bilim va ko'nikmalarga ega bo'lmog'i zarur:

Talaba bilishi kerak:

Antigenlarning tuzilishi va hossalari.

Talaba amalga oshirishi kerak:

- Mavzuni mustaqil o'rganadi;
- Muammoni mohiyatini aniqlashtiradi, g'oyalarni ilgari suradi;
- Ma'lumotlarni tanqidiy nuqtai nazardan ko'rib chiqib, mustaqil qaror qabul qilishni o'rganadi;
- O'z nuqtai nazariga ega bo'lib, mantiqiy xulosa chiqaradi;
- O'quv ma'lumotlari bilan mustaqil ishlaydi, ma'lumotlarni taqqoslaydi, tahlil qiladi va umumlashtiradi.

Amaliy vaziyatni bosqichma bosqich tahlil qilish va hal etish bo'yicha talabalarga uslubiy ko'rsatmalar

Ish bosqichlari	Maslahatlar va tavsiyanomalar
1.Keys va uning axborot ta'minoti bilan tanishish	Avvalo keys bilan tanishing. " Antigenlar va uning titrini aniqlash. " mavzusining maqsadi va vazifalari haqida tushuncha hosil qilish uchun mavzuga oid bor bo'lgan axborotni diqqat bilan o'qib chiqish lozim
2.Berilgan vaziyat bilan tanishish	Ma'lumotlarni yana bir marotaba diqqat bilan o'qib chiqing. Siz uchun muhim bo'lgan satrlarni belgilang. Bir abzatsdan ikkinchi abzatsga

	o'tishdan oldin, uni ikki uch marotaba o'qib mazmuniga kirib boramiz.
3. Muammoli vaziyatni tahlil qilish	Asosiy muammo va kichik muammolarga diqqatingizni jalb qiling. Asosiy muammo: Antigen titriga <i>salbiy ta'sir etuvchi omillar nimadan iborat?</i> Quyidagi savollarga javob berishga harakat qiling. 1. Aniqlanayotgan antigen qanday tuzilishga ega? 2. Antigen faolligi qanday usulda aniqlanadi? 3. Antigen qanday xossalarga ega? 4. Ushbu modda tahlili qanday uslubda amalga oshirilmoqda?
4. Muammoli vaziyatni echish usul va vositalarini tanlash hamda asoslash.	Ushbu vaziyatdan chiqib ketish harakatlarini izlab topish maqsadida muammoli vaziyat jadvalini to'ldiring. Muammoni echish uchun hamma vaziyatlarni ko'rib chiqing, muqobil vaziyatni yarating. Muammoni echimini aniq variantlardan tanlab oling. Jadvalni to'ldiring. Keys bilan ishlash natijalarini yozma ravishda ilova eting.

“Muammoli vaziyat” jadvalini to'ldiring

Vaziyatdagi muammolar turi	Muammoli vaziyatning kelib chiqish sabablari	Vaziyatdan chiqib ketish harakatlari
Antigenli xususiyatiga ega moddani titrini aniqlash uchun tegishli spetsifik usulni tanlash.	Antigenni titrini to'liq o'rganish mumkin emasligi. Antigen titrini aniqlashda spetsifik usulni tanlay olmaslik. Antigenni ortiqcha sarfi. Unga spetsifik bo'lgan antitanani tanlay olmaslik.	Antigen titrini aniqlashda unga spetsifik antitana to'g'ri tanlanadi.

4- Keys: Mutaxassislik atamaları bo'yicha topshiriq.

Tinglovchilar keys bilan tanishadilar va pastda ko'rsatilgan jadval asosida uning echimini topadilar.

“Biotexnologiya” kafedrasida “Immunobiologik preparatlar texnologiyasi” fanidan prof. SH.S.Tashmuxamedova ma'ruza o'tkazdilar. Ma'ruzada mavzuga oid “antigen”, “antitana”, “ferment” kabi mutaxassislik atamalariga alohida e'tibor qaratildi. Darsga kafedra assistentlari o'z pedagogik mahoratini oshirish maqsadida tashrif buyurishdi.

Ma'ruzachi “antitana” va “antigen” tushunchalari mohiyatini aniqlashtirib berdilar. U o'z nutqida “Antitanalar glikoproteidlar hisoblanadi. O'z navbatida fermentlar ham oqsil tabiatga ega” deb ta'kidladilar. SHundan so'ng talabalardan biri SH.S.Tashmuxamedovaga shunday savol bilan murojaat etdi: “Domla, kechirasiz, sizningcha, antigen lar qanday tabiatli moddalar?”. SH.S.Tashmuxamedova qisqa qilib “Antigen bu yot modda bo'lib, ko'p hollarda oqsil tabiatli bo'lishi mumkin va o'ziga xos spetsifiklikka ega.” degan

javobni berdi. Talaba javobni tushunmasdan hayron bo'lib, indamay qo'ydi. SH.S.Tashmuxeamedova o'z ma'ruzasini yakunlagach, talaba unga quyidagi savol bilan murojaat etdi: "Ustoz, meni bir savol ko'p vaqtdan beri qiziqtiradi: "Oqsil tabiatga ega bo'lmagan modda antigen bo'lishi mumkinmi? SH.S.Tashmuxeamedova talabaga quyidagicha javob berdi: "Siz manimcha, savolni man yuqorida o'qigan ma'ruzamni tinglamay berayapsiz?". Talaba ma'ruzani tinglamaganligini va ushbu terminni tushunishga o'zi mustaqil bosh qotirishga erinchoqliq qilganini tan oldi.

Siz nima deb o'ylaysiz, ma'ruzachi ushbu vaziyatda to'g'ri yo'l tutdimi? Uning harakati pedagogika to'g'ri keladimi? YOki ushbu yo'l bilan ma'ruzaga loqaydlik bilan munosabat bildirgan talabaga saboq berdimi? Siz mazkur tushunchalarni qanday izohlagan bo'lar edingiz?

Keys echimi uchun taklif etilgan g'oyalar taqdimoti uchun chizma namunasi

Muammo (asosiy va kichik muammolar)	Echim	Natija
Muammo: Antigenlik xususiyatiga ega moddalarni qandan xususiyatiga ko'ra antmigen dab atash mumkinligi izoxlang		

Keys bilan ishlash jarayonini baholash mezonlari va ko'rsatkichlari(auditoriyadan tashqarida va auditoriyada bajarilgan ish uchun)

REYTING NAZORATI JADVALI

Auditoriyadan tashqari bajarilgan ish uchun
baholash mezonlar va ko'rsatkichlari

Talabalar ro'yxati	Asosiy muammo ajratib olinib tadqiqot ob'ekti aniqlangan mak. 0,5b	Muammoli vaziyatning kelib chiqish sabablari aniq ko'rsatilgan mak. 1,5b	Vaziyatdan chiqib ketish xarakatlari aniq ko'rsatilgan mak. 2b	Jami mak. 4b

Auditoriyada bajarilgan ish uchun baholash mezonlari va ko'rsatkichlari

Guruhlar ro'yxati	Guruh faolligi mak. 2b	Ma'lumotlar ko'rgazmali taqdim etildi mak.1b	Javoblar to'liq va aniq berildi mak.2b	Jami mak.5b

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH
VAZIRLIGI**

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI

Ro'yxatga olindi

№ _____

201__ yil _____

“TASDIQLAYMAN”

O'quv ishlari bo'yicha prorektor

Nabiev T. A.

2018__ yil “_____”

IMMUNOBIOLOGIK PREPARATLAR TEXNOLOGIYASI

FANINING ISHCHI O'QUV DASTURI

Ta'lim sohasi: 510000 – Sog'liqni saqlash

Ta'lim yo'nalishi: 5A510602-Immunobiologik va mikrobiologik
preparatlar texnologiyasi”

Umumiyo'quvsoati - 290 soat

Shu jumladan:

Ma'ruza - 40soat

Amaliy mashg'ulotlar - 120soat

Mustaqil ta'limsoati - 86soat

Toshkent – 2018

Fanning ishchi o'quv dasturi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi 201____yil "____" _____dagi _____ - sonli buyrug'i bilan (buyruqning____ - ilovasi) tasdiqlangan " Biotexnologiya" fani dasturi asosida tayyorlangan.

Fan dasturi Toshkent farmatsevtika instituti Kengashining 201____yil "____" _____dagi _____ - sonli bayoni bilan tasdiqlangan.

Tuzuvchilar:

Toshmuhamedova Sh.- TFI, Biotehnologiya kafedrası профессор , b.f.n.

Ubaydullaeva X.A. - TFI, Biotehnologiya kafedrası , assistent.

Taqrizchilar:

Malikova G.Y.- Toshkent farmatsevtika instituti, Organik, biologikvatoksikologikkimyo kafedrasining dotsenti, b.f.n.

Mirzaraxmetova D.T. - M.Ulug'bek nomidagi O'zbekiston milliy universiteti, «Biotexnologiya va mikrobiologiya» kafedrası mudiri dotsent, b.f.n.

Sanoat farmatsiyasi

fakulteti dekani:

2017 yil "____" _____Ilxomov X.SH.

(imzo)

"Biotexnologiya; kafedrası

mudiri:

2017 yil "____" _____Ismoilova M.G.

(imzo)

1.O'quv fani o'qitilishi bo'yicha uslubiy ko'rsatmalar

“Immunobiologik preparatlar texnologiyasi” fani bo'lajak biotexnologlar uchun maxsus muxandislik yo'nalishini ko'rsatadi. Bu yo'nalishning maqsadi magistrantlarga immunobiologik preparatlar olish texnologiyasi uslublarini qo'llashni o'rgatish xamda talabalarni nazariy fikrlash qobiliyatlarini rivojlantirish va ilmiy izlanishlar olib borishga yo'naltirishdir.

O'zbekistonda'tlimtizimini rivojlanishisababli o'quvtizimiga anchagina o'zgartirishlarkirgizildi, jumladan O'quv jarayoniga chet el olimlarining ilmiy izlanishlari natijalari kiritilib, ular aks ettirilgan adabiyotlardan foydalanildi.

Butalabalarining o'z navbatida chet el adabiyotlaribilan tanishishimkoniniberadi.

SHunisi sobga olganxolda **“Immunobiologik preparatlar texnologiyasi”** fanigaxamma'lum yangi mavzularkiritildi. Bunda

Farmatsevtika sohasirivojlanayotganayni payitdabiotexnologik preparatlarning bozoririvojlanib borayotganiniko'rish mumkin.

Fanning maqsadi magistratura talabalariga immun va mikrobiologik tizimdagi dori vositalarini modifikatsiyalash va yo'naltirish tizimlari, gen muxandisligi yo'nalishining dolzarb masalalarini echimini topish, dori vositalarini texnologiyasining nazariy va amaliy masalalariga, shuningdek, Immunobiologik va mikrobiologik preparatlar texnologiyasi ishlab chiqarishni tashkil qilish asoslari xamda kimyo-farmasevtik ishlab chiqarishni loyihalash asoslari va uskunalashtirish bo'yicha chuqur nazariy, amaliy bilim va ko'nikmalarni berishdan iborat.

Fanning vazifasi magistratura talabalariga dori vositalarini modifikatsiyalash va yo'naltirish tizimlari, Immunobiologik va mikrobiologik preparatlar texnologiyasi vositalarini texnologiyasi, farmasevtik ishlab chiqarishni tashkil qilish asoslari va kimyo-farmasevtik ishlab chiqarishni loyihalash asoslari va uskunalashtirish bo'yicha nazariy bilimlar berish, olingan bilimlardan foydalana olishi va bevosita amaliy mashg'ulotlarda mutaxassislikga oid mustaxkam ko'nikmalarga ega bo'lishi ta'minlanishini muvofiq-lashtirishdan iborat.

Fanning asosiy vazifasi magistrantlarga tabiiy xom ashyolardan dori vositalari olishning asosiy bo'limlarini, ularni texnologik jarayonlar bilan bog'liqligi va fanning sog'liqni saqlashda, sanoat va boshqa tarmoqlardagi ahamiyatini o'rgatishdan iboratdir.

“Immunobiologik preparatlar texnologiyasi” fanini o'qitishdan maqsad, magistrantlarga hozirgi zamon immunobiologik preparatlar texnologiyasi fani va chegaradosh fanlar yutuqlariga asoslangan yangi texnologik jarayonlar yaratish va texnologiya nazariyasi asoslaridan bilim berish va shular asosida talabalarda immunobiologik preparatlarni tibbiyotga va xalq xo'jaligiga tadbiq qilish ko'nikmalarini xosil qilishga erishish asosiy vazifa qilib qo'yildi.

2.Ma'ruza mashg'ulotlari 1-jadval

t/r	Mavzular nomi	soat
1.	Immun sistema va uning faoliyati	2
2.	Immun sistema va uning xususiyatlari	2
3.	Immunoglobulinlarning tuzilishi	2
4.	Immunoglobulinlarning organizmda xosil bo'lishi	2

5.	Antigen- antitana reaksiyalari.	2
6.	Antigen- antitana reaksiyalaritahlili	2
7.	Immunreaksiyalarning o'ziga xosligi	2
8.	Immunreaksiyalarning spetsifligi	2
9.	T - limfotsitlarning antigenlarga nisbatan javob reaksiyalari.	2
10.	T - limfotsitlarning antigenlarga nisbatan markerlari	2
11.	Immunsistemadaorganizmgakiritilganbegonamoddalarganisbatanantitelol arxosil bo'lishishartlari.	2
12.	Immunsistemadaorganizmgakiritilganbegonamoddalarganisbatanantitelol arfaolmarkazlarinita'siri	2
13.	Monoklonal antitelolarning olinishi.	2
14.	Monoklonal antitelolarnisaralash	2
15.	Immunovaksinalar olish texnologiyalari.	2
16.	Immunovaksinalarniahamiyati.	2
17.	Bioreaktorlar	2
18.	Bioreaktorlarniishlatilishi	2
19.	Immunobiotexnologiyada qo'llaniladigan bioreaktorlar ishlash tartiblari bilan tanishish.	2
20.	Immunobiotexnologiyada qo'llaniladigan bioreaktorlar ishlash prinsiplari.	2
Jami:		40

Ma'ruza mashg'ulotlari multimedia qurilmalari bilan jixozlangan auditoriyada akademik guruxlar oqimi uchun o'tiladi.

3. Amaliy mashg'ulotlar

2-jadval

t/r	Amaliymashg'ulotlariningmavzulari (barcha)	soat
1.	Gelda qo'shaloq diffuziya (antitanalarbillan)	8
2.	Gelda qo'shaloq diffuziya (antigenlarbilan)	8
3.	Antitanalar spetsifikligi	8
4.	Antitanalar spetsifikligini aniqlash	8
5.	Antigenlar va ularning titrini aniqlash	8
6.	Antigenlar va ularning determinantalari	8
7.	Immun elektroforez (antitanalarbillan)	8
8.	Immun elektroforez (antigenlarbilan)	8
9.	Rekatali immuno elektroforez (antigenlarbilan)	8
10.	Rekatali immuno elektroforez (antitanalarbillan)	8
11.	Kesishma immuno elektroforez(antigenlarbilan)	8
12.	Muqobil immuno elektroforez (antitanalarbillan)	8
13.	Vestern – blotting va antigenli bo'lakchalarni immuno kimyoviy bo'yash	8
14.	Immunoferment analizda ishlatiladigan ferment-nishonlarni aktivligini aniqlash usullari	8
15.	Pomidor viruslarini immunoferment analizining sendvich usulida aniqlash.	8
16.	Pomidor viruslarini immunoferment analizining raqobatlashish usulida aniqlash.	8

17.	Pomidor viruslarini immunoferment analizining titrlash usulida aniqlash.	8
18.	Pomidor viruslarini immunoferment analizining ekranlashtirish usulida aniqlash.	8
19.	Kartoshka X-viruslarini immunoferment analizining raqobatlashish usulida aniqlash.	8
20.	Kartoshka X-viruslarini immunoferment analizining ekranlashtirish usulida aniqlash.	8
Jami		160

5. Mustaqil ta'lim

3-jadval

1.	Immobillangan preparatlar olinishi.	Dars soatlari xajmi
2.	Bioreaktor-fermenterlarning klassifikatsiyasi.	9
3.	Bioreaktorlarni tanlash.	9
4.	Biotexnologik jarayonlarga ta'sir etuvchi omillar.	9
5.	Biotexnologik jarayonlar-ning tezligini oshirish.	9
6.	Klonlashtirish asoslari. Genetik ma'lumotlar qayta ishlash.	9
7.	Leykotsitinterferonlar.	9
8.	Biosensorlar, ularning turlari.	9
9.	Biogaz olish, qo'llaniladigan moslamalar.	9
10.	Energiya resurslarni olishda biotexnologiyani ahamiyati.	9
жами		90

“Immunobiologik preparatlar texnologiyasi” fanidan talabalar bilimni reyting tizimi asosida baholash mezonlari.

“Immunobiologik preparatlar texnologiyasi” fani bo'yicha reyting jadvallari, nazorat turi, shakli, soni hamda har bir nazoratga ajratilgan maksimal ball, shuningdek joriy va oraliq nazoratlarining saralash ballari haqidagi ma'lumotlar fan bo'yicha birinchi mashg'ulotda talabalarga e'lon qilinadi.

Fan bo'yicha talabalarining bilim saviyasi va o'zlashtirish darajasining Davlat ta'lim standartlariga muvofiqligini ta'minlash uchun quyidagi nazorat turlari o'tkaziladi:

joriy nazorat (JN) – talabaning fan mavzulari bo'yicha bilim va amaliy ko'nikma darajasini aniqlash va baholash usuli. Joriy nazorat fanning xususiyatidan kelib chiqqan holda laboratoriya mashg'ulotlarda og'zaki so'rov, test o'tkazish, suhbat, nazorat ishi, kollektivum, uy vazifalarini tekshirish va shu kabi boshqa shakllarda o'tkazilishi mumkin;

oraliq nazorat (ON) – semestr davomida o'quv dasturining tegishli (fanlarning bir necha mavzularini o'z ichiga olgan) bo'limi tugallangandan keyin talabaning nazariy bilim va amaliy ko'nikma darajasini aniqlash va baholash usuli. Oraliq nazorat bir semestrda ikki marta o'tkaziladi va shakli (yozma, og'zaki, test va hokazo) o'quv faniga ajratilgan umumiy soatlar hajmidan kelib chiqqan holda belgilanadi;

yakuniy nazorat (YN) – semestr yakunida muayyan fan bo'yicha nazariy bilim va amaliy ko'nikmalarni talabalar tomonidan o'zlashtirish darajasini baholash usuli. Yakuniy nazorat asosan ta'limning tushuncha va iboralarga asoslangan “Yozma ish” shaklida o'tkaziladi.

ON o'tkazish jarayoni kafedra mudiri tomonidan tuzilgan komissiya ishtirokida muntazam ravishda o'rganib boriladi va uni o'tkazish tartiblari buzilgan hollarda, **ON** natijalari bekor qilinishi mumkin. Bunday hollarda **ON** qayta o'tkaziladi.

Oliy ta'lim muassasasi rahbarining buyrug'i bilan ichki nazorat va monitoring bo'limi rahbarligida tuzilgan komissiya ishtirokida **YN** ni o'tkazish jarayoni muntazam ravishda o'rganib boriladi va uni o'tkazish tartiblari buzilgan hollarda, **YN** natijalari bekor qilinishi mumkin. Bunday hollarda **YN** qayta o'tkaziladi.

Talabaning bilim saviyasi, ko'nikma va malakalarini nazorat qilishning reyting tizimi asosida talabaning fan bo'yicha o'zlashtirish darajasi ballar orqali ifodalanadi.

Talabalarning "Immunobiologik preparatlar texnologiyasi" fanidan o'zlashtirish ko'rsatkichi 100 ballik tizim bo'yicha olib boriladi.

100 balli nazorat sistemasi talabalar bilimini nazoratning barcha turlarida qo'llaniladi:

1. Laboratoriyada o'quv mashg'ulotlarini nazorat ya'ni JN (TMI ham JN ni ichida)
2. Oraliq nazorat.
3. Yakuniy nazorat.

t/r	Nazorat turi	Maksimal ball	Saralash bali
1.	Joriy nazorat	50	28
2.	Oraliq nazorat	20	11
3.	Yakuniy nazorat	30	17
	Jami	100	56

Joriy nazorat

Joriy nazorat bo'yicha nazorat 50 balli reyting tizimidagi aniq mezonlarga muvofiq gurux jurnaliga xar bir mashg'ulot uchun olgan ballari qo'yib boriladi. Talabalarning xar bir mashg'ulotda olgan maksimal ballari quyidagilardan tashkil topgan bo'ladi.

1. Mavzu bo'yicha talabani amaliy va nazariy tayyorgarlik natijasini YNgi zamonaviy axborot va pedagogik texnologiyalar bo'yicha tekshirish 3 ball.

2. Talabani laboratoriya ishni bajarish darajasi, hosil qilgan ko'nikmasi 1 ball.

3. Daftarni rasmiylashtirilishi va ma'ruza matnining mavjudligi 1 ball.

Jami : 5 ball.

JN da talabalarning mashg'ulotga tayyorgarlik darajasi darsni olib borishda foydalanilgan pedagoogik texnologiya orqali tekshiriladi. Laboratoriya ishini bajarganligi tayyor mahsulotni o'qituvchiga topshirganligidan keyin baholanadi. Ko'nikma esa talabani ishni qanday bajarganligini so'rash orqali baholanadi. Agar talabada ma'ruza matni bo'lmasa yoki ma'ruzaga qatnashmagan bo'lsa, shu ma'ruzani yozish talab qilinadi va daftar to'g'ri va to'liq rasmiylashtirilgandan so'ng 1,0 ball beriladi. Agar talaba biron-bir sabab bilan laboratoriya mashg'ulotida qatnasha olmasa, bu mavzuni mustaqil ravishda topshiradi va tegishli ballni qo'lga kiritadi.

Mavzu bo'yicha JN quyidagicha amalga oshiriladi:

3 dan kam - qoniqarsiz

3 - qoniqarli

4 - yaxshi

5 - a'lo

Fan bo'yicha JN quyidagicha amalga oshiriladi:

28 dan kam - qoniqarsiz

28 dan - 36 gacha qoniqarli

36 dan - 43 gacha yaxshi

43 dan - 50 gacha a'lo

Talabalarning JN bo'yicha ballarda ifodalangan o'zlashtirishi quyidagicha baxolanadi:

№	O'zlashtirish %	Ballar	Baho	Talabaning bilim darajasi
1	86-100	5	a'lo	- mavzu bo'yicha berilgan pedagogik texnologiya savollariga to'liq javob bersa; - amalda bajariladigan ish daftarga yozib kelingan bo'lsa; - laboratoriya ish natijasi, ya'ni tayyorlangan dori shakli talabga javob bersa; - ma'ruza matni yozilgan bo'lsa.
2	71-85	4	yaxshi	- mavzu bo'yicha berilgan pedagogik texnologiya savollariga yaxshi javob bersa; - laboratoriya ish natijasi, ya'ni tayyorlangan dori shakli talabga javob bersa; - ma'ruza matni yozilgan bo'lsa; - amalda bajariladigan ish daftarga yozib kelingan bo'lsa.
3	56-70	3	o'rta	- mavzu bo'yicha pedagogik texnologiya savollarining muxokamasida to'liq qatnashmasa; - laboratoriya ish natijasi, ya'ni tayyorlangan dori shakli talabga javob bersa; - ma'ruza matni yozilgan bo'lsa; - amalda bajariladigan ish daftarga yozib kelingan bo'lsa.
4	55 dan kam	2	Qoniqarsiz	Talaba uy vazifasini daftarga yozib kelgan, lekin mavzu bo'yicha savollarga javob bera olmaydi. Mohiyatini tushunmaydi.

Mavzular bo'yicha joriy baholash YNgi zamonaviy axborot va pedagogik texnologiyalar asosida olib boriladi. Bu fan bo'yicha tayyorlangan o'quv-uslubiy majmuada o'z aksini topgan.

Talabanimusataqil ishi (TMI)

Talabaning mustaqil ishi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta mahsus ta'lim vazirligining 21.02.2005 yildagi 34-sonli buyrug'i va institut rektori tomonidan 2013 yil 27 fevralda tasdiqlangan "Talaba mustaqil ishini tashkil etish, nazorat qilish va nazorat tartibi to'g'risidagi Nizom asosida tashkil etiladi."

TMI "Immunobiologik preparatlar texnologiyasi" fani dasturiga muvofiq taklif etiladi: talabalarni o'quv izlanish ishlarini alohida keltirilgan mavzular bo'yicha; jadvallar, slaydlar, vaziyatli masalalar, testlar tuzish bilan. O'quv jurnalida har bir semestr laboratoriya mashg'ulotdan keyin alohida ustuncha ajratilib, unga talabaning mustaqil bajargan ishiga ball qo'yiladi.

TMI kafedra arxivida ro'yhatga olinadi va 2 yil mobaynida saqlanadi.

TMI ning hajmini kafedra xodimlari har bir talaba uchun quyidagi hajmda belgilaydi.

I. Agar talaba tanlagan mavzusi bo'yicha vaziyatli masala tuzadigan bo'lsa;

10 va undan yuqori masala uchun 5 ball;

5 tadan 10 tagacha 4 ball;

3 tadan 5 tagacha 3 ball bilan baholanadi.

3 tadan kam bo'lsa baxolanmaydi.

II. Agar talaba tanlagan mavzusi bo'yicha test tuzadigan bo'lsa: (testlarning har birini 5 tadan javobi bo'lishi shart);

50 va undan yuqori test tuzilsa 5 ball;

30 tadan 50 tagacha 4 ball;

10 tadan 30 tagacha 3 ball bilan baholanadi.

10 tadan kam testlar baxolanmaydi.

III. Agar talaba tanlagan mavzusi bo'yicha adabiyotlar taxlilini bergan bo'lsa;
 5 yillik adabiyotlarni ko'rib chiqib, internet ma'lumotlaridan foydalanib, qo'lyozma tipida 10 bet referat tayyorlasa 5 ball;
 5 yillik adabiyotlarni ko'rib chiqib, internet ma'lumotlaridan foydalanib, qo'lyozma tipida 8 bet referat tayyorlasa 4 ball
 5 yillik adabiyotlarni ko'rib chiqib, internet ma'lumotlaridan foydalanib, qo'lyozma tipida 3 bet referat tayyorlasa 3 ball bilan baholanadi.
 3 betdan kam tayyorlangan referat baxolanmaydi.

IV. Talaba tanlagan mavzu bo'yicha asbob uskunalarini ranglitasi virini tayyorlasa 5 ball bilan baholanadi. Agar tuzilgan tasvir ko'rimsiz, sifatsiz va talabgaj javob bermasa, mustaqilish qabul qilinmaydi.

Oraliq nazorat

Talabani ON 10 balli reyting tizimi bo'yicha bir semestrda ikki marta o'tkaziladi. ON kafedra majlisining qaroriga muvofiq har semestrda 2 martadan (o'quv yilida 4 marta) yozma (test, og'zaki) shaklida o'tkaziladi

Har bir oraliq nazorat quyidagicha baholanadi:

6 dan kam	-		qoniqarsiz
6 dan	-	7 gacha	qoniqarli
7 dan	-	8 gacha	yaxshi
8 dan	-	10 gacha	a'lo

Talabalar ON danto'playdigan ballarning namunaviy mezonlari

№	Ko'rsatkichlar	ON ballari		
		maks	1-ON	2-ON
1	Darslarga qatnashganlik darajasi. Ma'ruza darslaridagi faolligi, konspekt daftarlarining yuritilishi va to'liqligi.	4	0-2	0-2
2	Test, yozma va og'zaki savol-javoblar va boshqa nazorat turlari natijalari bo'yicha	16	0-8	0-8
	Jami ON ballari	20	10	10

ON ga laboratoriya mashg'ulotlaridan qarzi bo'lmagan talabalar qo'yiladi.

Yakuniy nazorat

YN ga mazkur kursni muvoffaqiyatli yakunlagan, kurs ishini topshirgan hamda JN va ON dan 56% dan yuqori ball to'plagan talabalar qo'yiladi. Institut ilmiy kengashining qaroriga muvofiq YN "yozma" shaklida o'tkaziladi va 30 ball asosida baholanadi.

17 dan kam	-		qoniqarsiz
17 dan	-	21 gacha	qoniqarli
22 dan	-	25 gacha	yaxshi
26 dan	-	30 gacha	a'lo

Talabani fan bo'yicha Attestatsiyadan o'tkazish tartibi

JN (9 ta dars)	JN o'rtacha qiymati – $5+5+5+5+5+5+5+5+5=45$ JN bali = $45 + 5$ (TMI) = 50 ball (a'lo)
ON	1ON = 10 ball (a'lo) 2ON = 10 ball (a'lo) ON bali = 1ON + 2ON = 20 ball (a'lo)
YN	YN = 30 ball (a'lo)
Fandanoling baho	JN + ON + YN = $50 + 20 + 30 = 100$ ball (a'lo)

Tavsiya etilgan adabiyotlar ro'yhati

Asosiy adabiyotlar

1. egorov a.m. teoriya i praktika immunofermentnogo analiza. "visshayashkola» moskva, 1991.
2. royta.n. osnoviimmunologii. «mir» 2002.
3. tashmuxamedova sh.s. liposomalniy immunofermentniy analiz// o'quv qo'llanma.- tashkent, 2004.- 53c.
4. mirzaraxmetova d.t., tashmuxamedova sh.s., raximov m.m., dexkonov d. b., mirzaulukova m.u. biologik spetsifiklik asoslari// o'quv qo'llanma - tashkent, 2008.- 96c.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Mirziyoev SH.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. Toshkent, "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 29 b.
2. Mirziyoev SH.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 47 b.
3. Mirziyoev SH.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 485 b.
4. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risida" gi PF-4947-sonli Farmoni. O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to'plami, 2017 y., 6-son, 70-modda
5. KOVALEV I.V., POLEVAYA O.YU. BIOXIMICHESKIE OSNOVI IMMUNITETA K 1.VirendraGomase, SunilkumarDwivedi. Immunobiotexnology. 2011. R. 235.
- 2.Daniel C. Adelman, Thomas B. Casale, Jonathan Corron. Manual of allergy and immunology 2012.R.46
- 3.Tashmuxamedova SH.S. Liposomalar asosida immunoenzim tahlili. Uslubiy qo'llanma. Toshkent: Geo fan poligraf. 2012. R.135
- 4.Smyth J.E., Biotechnology. Cambridge:Cambridge University Press, 2009.R.136
- 5.Kimball Nill. Glossary of Biotechnology terms. New York:CRC Press LLC., 2002.,R.256yo
- 6Abraham J. M., Freitag C. S., Clements J. R., Eisenstein B. I. An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli*.Proceedings of the National Academy of Sciences. 1985;82:5724–5727. [PMC free article] [PubMed]
7. Abrams S. I., Schlom J. Rational antigen modification as a strategy to upregulate or downregulate antigen recognition. CurrentOpinioninImmunology.2000;12:85–91. [PubMed]
- 8.Anderson, R. M., and May, R. M. 1991. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. OxfordUniversityPress, Oxford.
9. Anderson T. J. C., Haubold B., Williams J. T., Estrada-Franco J. G., Richardson L., Mollinedo R., Bockarie M., Mikili J., Mharakurwa S., French N., Whitworth J., Velez I. D., Brockman A. H., Nosten F., Ferreira M. U., Day K. P. Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*.MolecularBiologyandEvolution. 2000;17:1467–1482. [PubMed]

1. <http://www.ziyonet.uz/>
2. <http://nonfood.unipack.ru/937/>
3. <http://www.lxn.ru/index.php?id=843>
4. <http://medbuy.ru/articles/oborudovanie-dlya-farmaceuticheskogo-proizvodstva>
5. <http://pharmic.ru/>
6. <http://www.minipress.ru/>
7. http://www.fptl.ru/Y4eba_osnovi-gls.html

MUSTAQIL TA'LIM MAVZULARI

MUSTAQIL ISHNI TASHKIL ETISHNING SHAKLI VA MAZMUNI.

Mustaqil ishlash uchun talabalarga “Immunobiologik faol moddalar texnologiyasi” faniga oid ma'lumotlar mavjud bo'lgan turli adabiyotlar tavsiya etiladi. Bundan tashqari zarur hollarda laboratoriyalardagi mavjud asbob va uskunalar ham ularni yaxshi biluvchi mutaxassis yoki o'qituvchi ishtirokida talabalar ixtiyoriga beriladi. Mustaqil ishlash uchun beriladigan mavzular va ishlar individual xarakterda bo'lib, talabalarni biologik va immunologik faollikka ega moddalarning o'ziga xos xususiyatlarini yanada chuqurroq o'rganishga qaratilgandir. Tavsiyalar individual talabga asoslanadi va joriy, oraliq nazorat shaklida yoki referat hamda muloqot tarzida topshiriladi.

Mavzular:

1. Antitelolarni affin xromatografiyasi yordamida tozalash.
2. Monoklonal antitelalar olish texnologiyasi.
3. Antitelalar kon'yugatini olish.
4. Monoklonal antitelalarni kon'yugat sintezida qo'llash
5. Antitelolarni kovalent immobillab, ularning xususiyatlarini o'rganish.
6. Peroksidaza fermentini IETda nishon sifatida qo'llash.
7. IET ning geterogen usulini ishlab chikish.
8. Immunoenzim tahlili asosida antigenlarni aniqlash.
9. Immunosorbentlar sintez qilish va ularni kullash.
10. Turli kasalliklarni aniklashda zamonaviy diagnostik usulni ishlab chiqish.
11. Immunoenzim tahlili yordamida o'simlik virusini aniqlash.
12. Immunoenzim tahlilining “SENDVICH” usulini ishlab chiqish.
13. IFAning gomogen usuli yordamida stafilokok toksinini aniqlash.
14. IET ning geterogen usulini ishlab chiqish.
15. Immunokon'yugatlar olish usullarini optimallashtirish
16. Kon'gatlarni ba'zi fiz-kimyoviy xususiyatlarini o'rganish.
17. Kon'yugatlarni yo'naltirilgan usulini ishlab chiqish.
18. Affinn xromatografiyasi uchun affin sorbentlar olish.
19. Affin xromatografiyasi yordamida biologik aktiv moddalarni tozalash
20. Avidin-biotin sistemasini sezgir usulda qo'llash.
21. Monoklonal antitelolarga fermentlarni ulab dorivor moddalar olish
22. Monoklonal antitelalar olishning optimal sharoitini o'rganish.
23. Dorivor moddalarni IET yordamida aniqlash
24. Antitelalar funksiyasini o'rganish
25. Ferment molekulari yordamida biosensorlar yaratish
26. Immunoenzim tahlili yordamida difteriya toksinini aniqlash
27. Geterogen IET ni nitrotsellyuloza asosida ishlab chiqish
28. Liposomalarni fosfolipidlar yig'indisidan olish

29. Multilammellyar liposomalar olish optimal sharoitini igshlab chiqish.
30. Biologik aktiv moddlarni usimliklardan ajratish.
31. IETda kulaniladigan liposomal usullarni ishlab chiqish.
32. IETning rakobatli va rakobatsiz usullarini ishlash
33. O'simlik viruslariga karshi antitelolar olish.
34. Kon'yuganlarni sintez kilishni ikki boskichli usulini ishlab chiqish..

.GLOSSARIY



O'zbekcha atama	Termin ruskiy	Term English	in
-----------------	---------------	-----------------	----

V ₁ -limfotsitlar – V limfotsitlarning tabiiy antitelalar ishlab chiqaruvchi subpopulyasiyasi	V ₁ -limfotsity – subpopulyasiya V-limfotsitov, sekretiruyushchaya a estestvennye antitela	B1 lymphocytes - a subpopulation of B-lymphocytes secreting natural antibodies
V ₂ -limfotsitlar – V-limfotsitlarning asosiy subpopulyasiyasi	V ₂ -limfotsity – osnovnaya subpopulyasiya V-limfotsitov	B2 lymphocytes - main subpopulation of B lymphocytes
Granulotsitlar - neytrofil, bazofilva eozinofilarnio‘zichiga olgan leykotsitlar subpopulyasiyasi	Granulotsity – subpopulyasiya leykotsitov, vkluchayushchaya a neytrofil, bazofil i eozinofil.	Granulocytes - subpopulation of leukocytes, including neutrophils, eosinophils and basophils.
Domen – oqsil makromolekulasining fazoviy aloxidalangan qismi	Domen – prostranstvenno obosoblennaya chast makromolekuly belka.	Domain - a spatially separate part of the protein macromolecules.
Klon- yagona o‘tmishdosh hujayradan kelib chiquvchi o‘xshash xujayralarning guruxi	Klon – gruppa identichnykh kletok, proisxodyashix iz odnoy kletki-predshestvennit sy.	Clone - a group of identical cells derived from a single progenitor cell.
Protsessing – fagolizosomalarda patogenning parchalanish mexanizmi	Protsessing – mexanizm razvlepeniya patogena v fagolizosomax	Processing - splitting mechanism of the pathogen in phagolysosomes
1 tipdagi T-xelperlar- sitokinlar IL-2, γ -IFN, FNO- α - β va boshqalarni ishlab chiqaruvchi T-xelperlar subpopulyasiyasi	T-xelpery 1 tipa – subpopulyasiya T-xelperov, sekretiruyushchix sitokiny IL-2, γ -IFN, FNO- α i - β i dr.	T-helper type 1 - a subset of T-helper cells that secrete cytokines IL-2, γ -IFN, TNF- α and - β , and others.
2- tipdagi T-xelperlar - IL-4, IL-5, IL-6 va boshqalarni ishlab chiqaruvchi T-xelperlar subpopulyasiyasi	T-xelpery 2 tipa – subpopulyasiya	T helper type 2 - subset of T-helper cells

	T-xelperov, sekretiruyushix IL-4, IL-5, IL-6 i dr.	that secrete IL-4, IL-5, IL-6, and others.
3- tipdagi T-xelperlar - IL-10 va TFR- β sitokinlari ishlab chiqaruvchi T-xelperlar subpopulyasiyasi	T-xelperы 3 tipa – subpopulyasiya T-xelperov, sekretiruyushix sitokiny IL-10 i TFR- β	T helper type 3 - subset of T-helper cells that secrete cytokines IL-10 and TGF- β .
Fagotsitoz – leykotsitlar tomonidan turli xil ob’ektlarni (mikroblar, yot tanachalar, jarohatlangan hujayralar va xokazo) tanlab yutish va hazm qilish jarayonidir	Fagotsitoz – protsess izbiratel'nogo poglosheniya i perevarivaniya leykotsitami raznoobraznykh ob'ektov (mikrobov, inorodnykh chastits, povrejdennykh kletok i t.d.).	Phagocytosis - the process of digestion and absorption selective leukocyte various objects (microorganisms, foreign particles, damaged cells etc.).
Plazmatik hujayra – antitelo ishlab chiqaruvchi hujayra	Plazmaticheska ya kletka – antitelo-produtsiruyushaya kletka	Plasma cells - antibody-producing cells
Birlamchi immun javob – muayyan antigen bilan birinchi marta aloqada bo'lgan paytda rivojlanadigan immun javob	Pervichnyy immunnyy otvet – immunnyy otvet, kotoryy razvivaetsya pri pervom kontakte s opredelyonnym antigenom	The primary immune response - an immune response that develops in the first contact with a specific antigen

Testlar

Hujayra kulturası usullarini rivojlanish davrini aniqlang.

* 30 yillar

20 yillar

70 yillar

80 yillar

№.2 Fan bob 3; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 2;

Qaysi fermentlar o'simlik xujayra kobig'ini lizis qilishi mumkin?

*Tsellyulaza, pektinaza, proteinaza

Tsellyulaza, fenoloksidaza, amilaza

Amilazaproteinaza, pektinaza

Pektinazainvertaza, esteraza

№.3 Fan bob 13; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 1;

Qaysi subxujayra strukturalarida oqsil sintezi ketadi?

*Ribosoma

Yadro

Xujayramembranasi

Retikulum

№.4 Fan bob 13; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 3;

Ovkat xazm kilish jarayonida ishtirok etadigan fermentlarning optimal xaroratini aniqlang?

*38- 40S°

20- 30S°

50- 60S°

70- 80S°

№.5 Fan bob 13; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 1;

Maxsus xujayralarni bir differentsiatsiya bosqichidan boshqasiga o'tishi qanday nomlanadi?

*Dedifferentsiatsiya

Differentsiatsiya

Redifferentsiatsiya

Differentsirovka

№.6 Fan bob 2; Fan bo'limi 1; Qiyinchilik darajasi 1;

Qaysi ferment pishlok ishlab chiqarishda qo'llaniladi?

*Renin, fosfataza

Amilaza, fosfolipaza

Ximozin, pepsin

Proteaza, lipaza

№.7 Fan bob 2; Fan bo'limi 1; Qiyinchilik darajasi 1;

Kim birinchi bo'lib fermentlarni aniqlagan?

*LuiPaster

EduardBuxner

KarlLiney

Fleyming

№.8 Fan bobi 2-12; Fan bo'limi 1.2; Qiyinchilik darajasi 2;

Ferment bilan substrat qaysi printsip bo'yicha ta'sirlashadi

*Komplementarlik

Substantsiyakvartirant

Qulf- kalit

Barmokqo'lqop

№.9 Fan bobi 1; Fan bo'limi 1; Qiyinchilik darajasi 1;

Xar bir t-RNK o'zining antikodon qismiga ega. Hujayrada nechta t-RNK uchraydi va shuningdek, oqsil sintezida nechta t—RNK qatnashadi?

*20 danortik

20

16

3

№.10 Fan bobi 1; Fan bo'limi 1; Qiyinchilik darajasi 2;

Oqsil sintezida ishtirok etuvchi terminator kodonlarni aniqlang

*UGA, AUG, UAG

UAA, UGA, GUA

UUG, UAA, UGA

UAA, UAG, UGA

№.11 Fan bobi 13; Fan bo'limi 5; Qiyinchilik darajasi 2;

Quyidagi fermentlarga xos xususiyatlardan qaysi biri biotexnologiyada muxim rol o'ynaydi?

*barqarorligi

aktivmarkazningtuzilishi

muxitningta'siri

denaturatsiyagamoyilligi.

№.12 Fan bobi 12; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 2;

Quyida ko'rsatilgan texnologik jarayonlardan, qaysi biri qo'llanilganda yuqori natijalarga erishiladi?

*biogazolish

fotovodorodolish

tixtovsizgidrolizjarayoni

Chikindisiztexnologiyayaratilishi

№.13 Fan bobi 2; Fan bo'limi 3; Qiyinchilik darajasi 3;

Tsellyuloza va lignintsellyuloza materiallarini tsellyuloza ferment kompleksi bilan parchalaganda qanday birikmalar xosil bo'ladi?

*glyukozatsellobioza

glyukoza, maltoza

tsellobioza, fruktoza

galaktoza, fruktoza

№.14 Fan bobi 2; Fan bo'limi 2; Qiyinchilik darajasi 3;

Qaysi fermentlartsellulolitikfermentlar tarkibiga kiradi?

*endoglyukanaza, tsellobiogidrolaza, glyukozidaza, tsellobiaza

tsellobiaza, gidrolaza, maltaza, glyukozidaza, endoglyukanaza

tsellobiogidrolaza, glyukozooksidaza, endoglyukanaza, glyukoamilaza

glyukoamilaza, tsellobiaza, maltaza, glyukozidaza

№.15 Fan bobi 3-4; Fan bo'limi 2; Qiyinchilik darajasi 2;

Kraxmalning parchalanish jarayonida qanday uglevodlar xosil bo'ladi?

*glyukoza, maltoza

fruktoza, maltoza

glyukoza, tsellobioza

fruktoza, tsellobioza

№.16 Fan bobi 3; Fan bo'limi 5; Qiyinchilik darajasi 1;

Quyida ko'rsatilgan fermentlardan qaysi birlari kraxmal gidrolizini amalga oshiradi?

* α -amilaza, β -amilaza, glyukoamilaza

α -amilaza, glyukoamilaza, glikozidaza

α -amilaza, tsellobiaza, glyukozidaza

α -amilaza, invertaza, tsellobiaza

№.17 Fan bobi 3; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 2;

Glyukozani miqdorini aniqlash uchun qaysi fermentlar ishlatiladi?

*glyukozooksidaza, peroksidaza

glyukozidaza, amilaza

peroksidaza, katalaza

amilaza, katalaza

№.18 Fan bobi 1; Fan bo'limi 4; Qiyinchilik darajasi 2;

Sut zardobi gidrolizi natijasida qanday moddalar xosil bo'ladi?

*glyukoza, galaktoza

glyukoza, fruktoza

fruktoza, galaktoza
tsellobioza, galaktoza

№.19 Fan bobi 13; Fan bo'limi 1;Qiyinchilik darajasi 2;

Biotexnologik usul bilan D, L-ratsematlardan L-aminokislotalarni ajratib olishda qo'llaniladigan fermentni ko'rsating?

*Aminoatsilaza
Aminopeptidaza
Aminooksidaza
Atsetatkinaza

№.20 Fan bobi 12; Fan bo'limi 3;Qiyinchilik darajasi 1;

Fermentlarni kimyoviy immobillashda qanday tikuvchi ishlatiladi?

Glutardial'degid
Ammoniysul'fat
Natriyxlol
Kaliyxlol

№.21 Fan bobi 12; Fan bo'limi 5;Qiyinchilik darajasi 3;

Laktozasiz sut olish jarayonida qanday maqsad ko'zda tutiladi?

*Sutnidietikxususiyatlarini oshirish
sutdagi qandsimon moddalarni miqdorini kupaytirish
sutdagi qandsimon moddalarni miqdorini kamaytirish
Sutkaloriyasini oshirish

№.22 Fan bobi 1; Fan bo'limi 4;Qiyinchilik darajasi 2;

Tibbiyotda qaysi ferment ishlatiladi?
*Tripsin
Tsellobiaza
Fibrinogen
Streptodekaza

№.23 Fanbobi 2-12 ;Fanbo'limi 1.5;Qiyinchilik darajasi 2;

Yaralarni tozalashda qaysi ferment qo'llaniladi?
*Proteaza
Lipaza
Amilaza
Fosfolipaza

№.24 Fan bobii 2-12; Fan bo'limi 1.5;Qiyinchilik darajasi 1;

Quyidagi aminokislota va oqsil molekulalari gruppalaridan qaysi birlari glutar aldegid bilan reaksiyaga kirishadi?

* - N H₂

- - S - S -

- S h

- C O O H

№.25 Fan bobii 1; Fan bo'limi 1;Qiyinchilik darajasi 1;

Turli kasalliklar diagnostikasida zamon talabiga javob beradigan testni ko'rsating?

*Immunofermenttestlar

Pretsipitatsiontestlar

Agglyutinatsiontestlar

Diffuzion

Testlar

№.26 Fan bobii 2-12 ; Fan bo'limi 1.4;Qiyinchilik darajasi 2;

Biogaz olish jarayonida qanday xolatda S:N muvozanati buziladi?

*uglerodni azotganisbati kam bo'lsa

Rn muxitnordon bo'lsa

azot va uglerod nisbati teng bo'lsa

bakteriyalar faolligi past bo'lsa

№.27 Fanbobii 2-12 ;Fanbo'limi 1.3;Qiyinchilik darajasi 2;

Tabiiy tsellyulozaning kristallik darajasini qanday usul bilan kamaytirish mumkin?

*polimer qavatiga forforkislota yordamida ishlov berish orqali

polimer qavatiga mikroorganizmlar ta'sir ettirib

polimer qavatiga steroid moddalarni ta'sir ettirish orqali,

polimer qavatiga ta'sir ettirayotgan muxitni o'zgartirish bilan

ADABIYOTLAR RO‘YXATI



FOYDALANILADIGAN ADABIYOTLAR RUYXATI:

- 1.Virendra Gomase, Sunilkumar Dwivedi. Immunobiotexnology. 2011. R. 235.
- 2.Daniel C. Adelman, Thomas B. Casale, Jonathan Corron. Manual of allergy and immunology 2012.R.46
- 3.Tashmuxamedova SH.S. Liposomal asosida immunoenzim tahlili. Uslubiy qo‘llanma. Toshkent: Geo fan poligraf. 2012. R.135
- 4.Smyth J.E., Biotechnology. Cambridge:Cambridge University Press, 2009.R.136
- 5.Kimball Nill. Glossary of Biotechnology terms. New York:CRC Press LLC., 2002.,R.256yo
- 6Abraham J. M., Freitag C. S., Clements J. R., Eisenstein B. I. An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1985;82:5724–5727. [PMC free article] [PubMed]
7. Abrams S. I., Schlom J. Rational antigen modification as a strategy to upregulate or downregulate antigen recognition. CurrentOpinioninImmunology. 2000;12:85–91. [PubMed]
8. Ada, G. 1999. The immunology of vaccination. In Plotkin, S. A., and Orenstein, W. A., eds., *Vaccines*, 3d ed., pp. 28–39. W. B. Saunders, Philadelphia.
9. Agarwal A., Nayak B. P., Rao K. V. S. B cell responses to a peptide epitope. VII. Antigen-dependent modulation of the germinal center reaction. Journal of Immunology. 1998;161:5832–5841. [PubMed]

10. Agarwal A., Rao K. V. S. B cell responses to a peptide epitope. III. Differential T helper thresholds in recruitment of B cell fine specificities. *Journal of Immunology*. 1997;159:1077–1085. [PubMed]
11. Agarwal A., Sarkar S., Nazbal C., Balasundaram G., Rao K. V. S. B cell responses to a peptide epitope. I. The cellular basis for restricted recognition. *Journal of Immunology*. 1996;157:2779–2788. [PubMed]
12. Agarwal P., Oldenburg M. C., Czarneski J. E., Morse R. M., Hameed M. R., Cohen S., Fernandes H. Comparison study for identifying promoter allelic polymorphism in interleukin 10 and tumor necrosis factor alpha genes. *Diagnostic Molecular Pathology*. 2000;9:158–164. [PubMed]
13. Agur Z. Mathematical models for African trypanosomiasis. *Parasitology Today*. 1992;8:128–129. [PubMed]
14. Agur Z., Abiri D., van der Ploeg L. H. T. Ordered appearance of antigenic variants of African trypanosomes explained in a mathematical model based on a stochastic switch process and immune-selection against putative switch intermediates. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1989;86:9626–9630. [PMC free article] [PubMed]
15. Ahmed R., Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science*. 1996;272:54–60. [PubMed]
16. Alamgir A. S. M., Matsuzaki Y., Hongo S., Tsuchiya E., Sugawara K., Muraki Y., Nakamura K. Phylogenetic analysis of influenza C virus non-structural (NS) protein genes and identification of the NS2 protein. *Journal of General Virology*. 2000;81:1933–1940. [PubMed]
17. Albrecht P., Ennis F. A., Saltzman E. J., Krugman S. Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months: mechanisms of measles vaccine failure. *Journal of Hygiene*. 1977;86:291–304. [PubMed]
18. Alcamí A., Koszinowski U. H. Viral mechanisms of immune evasion. *Trends in Microbiology*. 2000;8:410–418. [PubMed]
19. Allen T. M., O'Connor D. H., Jing P., Dzuris J. L., Mothé B. R., Vogel T. U., Dunphy E., Liebl M. E., Emerson C., Wilson N., Kunstman K. J., Wang X., Allison D. B., Hughes A. L., Desrosiers R. C., Altman J. D., Wolinsky S. M., Sette A., Watkins D. I. Tat-specific cytotoxic T lymphocytes select for SIV escape variants during resolution of primary viraemia. *Nature*. 2000;407:386–390. [PubMed]
20. Almarri A., Batchelor J. R. HLA and hepatitis B infection. *Lancet*. 1994;344:1194–1195. [PubMed]
21. Altman J. D., Moss P. A. H., Goulder P. J. R., Barouch D. H., McHeyzer-Williams M. G., Bell J. I., McMichael A. J., Davis M. M. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science*. 1996;274:94–96. [PubMed]
22. Anderson, R. M., and May, R. M. 1991. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. Oxford University Press, Oxford.
23. Anderson T. J. C., Haubold B., Williams J. T., Estrada-Franco J. G., Richardson L., Mollinedo R., Bockarie M., Mikili J., Mharakurwa S., French N., Whitworth J., Velez I. D., Brockman A. H., Nosten F., Ferreira M. U., Day K. P. Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Molecular Biology and Evolution*. 2000;17:1467–1482. [PubMed]
24. Andreasen V., Lin J., Levin S. A. The dynamics of cocirculating influenza strains conferring partial cross-immunity. *Journal of Mathematical Biology*. 1997;35:825–842. [PubMed]
25. Mirziyoev Sh.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. Toshkent, "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 29 b.
26. Mirziyoev Sh.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 47 b.
27. Mirziyoev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 485 b.

28 O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi “O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha harakatlar strategiyasi to‘g‘risida” gi PF-4947-sonli Farmoni. O‘zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to‘plami, 2017 y., 6-son, 70-modda