

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG‘LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI
BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI**

“TASDIQLAYMAN”

O‘quv ishlari bo‘yicha prorektor

Nabiev T.A.

2018 ____ yil “ ____ ”

**«BIOTEXNOLOGIYA»
FANIDAN MA`RUZALAR MATNI**

Bilim sohasi: 510000 – Sog‘liqni saqlash
Ta’lim yo‘nalishi: 5510500 –Farmatsiya (dorixona muassasalari ishi)
5510500 –Farmatsiya (Sifat, standartizatsiya va
sertifikatsiya)
5510500 –Farmatsiya (Klinik farmatsiya)

TOSHKENT - 2018

Maruza matni fanning ishchi o'quv dasturi o'quv, ishchi o'quv reja va o'quv dasturiga muvofiq ishlab chiqildi.

Tuzuvchilar:

Usubboeva SH.M. - Biotehnologiya kafedraasi assistenti.

Ubaydulaeva X.A. - Genomika va Bioinformatika markazi katta ilmiy xodimi, k.f.n.

Taqrizchilar:

Artikova R. – Toshkent kimyo-texnologiya institut,

Biotexnologiya kafedraasi dotsenti, b.f.n.

Maksudova A. -Toshkent farmatsevtika instituti, “Organic va biologic kimyo» kafedraasi dotsent, b.f.n.

Fanning ma'ruza matni “Biotexnologiya” kafedrasining 201_ yil “___” _____ dagi “___” - son yig'ilishida muhokamadan o'tdi

Kafedra mudiri: _____ Ismailova M.G.

Maruza matni Markaziy uslubiy kengashning 2018 yil «___» _____ dagi «___»- sonli yig'ilishida muxokama qilinib, tasdiqlandi

MUK raisi : _____ Nabiev T.A.

Ma'ruza matni Toshkent Farmatsevtika instituti ilmiy kengashining 2018 yil «___» _____ dagi «___»- sonli yig'ilishida muxokama qilinib, tasdiqlandi

Ilmiy Kengash kotibi: _____ To'xtaev F.X.

ADABIYOTLAR RO'YXATI:

1. X.M.Kamilov, M.M.Raximov, D.Yu.Adilbekova Biotexnologiya asoslari. darslik, Toshkent. 2010-yil, -480b.
2. S.N.Orexov Farmatsevticheskaya biotexnologiya.- Uchebnoe posobie. M.: Geotar media, 2012g.
3. Yu.O.Sazikin Biotexnologiya M.: Geotarmedia, 2008g.
4. Q.D.Davranov «Biotehnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari» Toshkent 2008y. -506b.
5. Osnovi farmatsevticheskoy biotehnologii: uchebnoe posobie/T.P.Prishep, V.S.Chuchalin, K.L.Zaykov, L.K.Mihaleva, L.S.Belova.-Rostov n/D.:Feniks;Tomsk:Izdatel'stvo NTL, 2006.-256s.-(Visshee obrazovanie).

CHET EL ADABIYOTI:

1.Satoshi Omura Editor. The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms.

Springer-Vedag. New York Berlin Heidelberg London Paris, Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest, Satoshi Omura, Ph.D. Research Center for Biological Function The Kitasato Institute and School of Pharmaceutical Sciences Kitasato University Minato-ku, Tokyo 108, Japan ISBN-\3: 978-1-4612-8761-2 e-ISBN-\3: 978-1-4612-4412-7 DOI: 10.1007/978-1-4612-4412-7 1. Pharmaceutical microbiology. I. Omura, Satoshi, 1935-II. Series [DNLM: 1. Biological Products. 2. Biotechnology. 3. Microbiology. © 1992 Spring-Verlag New York, Inc. Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1992.

2.Agathos S. N. and Domain A L. 2006. Dissolved oxygen levels and the in vivo stability of gramicidin S synthetase. Applied Microbiology and Biotechnology 24:319-322.

3. Aoki H. Sakai H., Kohsaka M., Konomi T., Hosoda J., Kubochi Y., Iguchi E. and Imanaka. 2006. Nocardicin A, a new monocyclic β -lactam antibiotic. 1. Discovery, isolation, and characterization. Journal of Antibiotics (Tokyo) 29:492-500.

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

5. Arima K., Imanaka H., Kohsaka M., Furuta A. and Tamura G. 2002. Pyrrolnitrin a new antibiotic substance, produced by *Pseudomonas*. Agricultural and Biological Chemistry. 28:575-576.

MUNDARIJA

1 – ma’ruza

Farmatsevtik biotexnologiya tarixi. Yangi biotexnologik preparatlar va maxsulotlar bozori. Biofarmatsevtika: hozirgi holati va kelajakdagi samarasi

2 - ma’ruza

Biotexnologiya ob’ektlari va usullari. Biotexnologik ob’ektlarni tanlash.

3 - ma’ruza

Biotexnologiya sanoatida qo‘llaniladigan jarayonlar va qurilmalar

4 - ma’ruza

Rekombinat DNK texnologiyasi

5- ma’ruza

Mikroorganizmlar gen muxandisligi

6- ma’ruza

Rekombinantmikroorganizmlarasosidaolinadigandorivositalari

7 - ma’ruza

Fermentlar muxandisligi. Fermentlarniimmobilizatsiyalash. Immobilizatsiyaturlari

8- ma’ruza

O‘simliklar gen muxandisligi

9- ma’ruza

Hayvon va odam organizmlari gen muxandisligi. Transgen hayvonlar yaratish usullari. Genoterapiya. Genoterapiya konsepsiyasining rivojlanishi.

1 – MA'RUZA

Farmatsevtik biotexnologiyaga tarixi. Yangi biotexnologik preparatlar va maxsulotlar bozori. Biofarmatsevtika: hozirgi holati va kelajakdagi samarasi.

Ma'ruza rejasi

1. Biotexnologiya. Kirish.

- 1.1. Biotexnologiya tushunchasiga ta'rif.
- 1.2. Biotexnologiyani ilm-fan va ishlab chiqarish bilan o'zaro bog'liqligi.
- 1.3. Biotexnologik maxsulotlarni qo'llanish sohalari.
- 1.4. Biotexnologik maxsulotlar bozori.

2. Biotexnologiya fani predmeti, ob'ektlari, maqsadi va vazifalari. Biotexnologiya bo'limlari.

3. Biotexnologiya rivojlanishining qisqacha tarixi.

- 3.1. Biotexnologiya rivojlanishining qisqacha tarixi.
- 3.2. O'zbekistanda biotexnologiya.

Biotexnologiya – bu tirik organizmlar (bakteriya, achitqi, hayvon yoki o'simlik hujayralari kulturasi), ularning tizimi yoki xayot faoliyati mahsulotlarini texnologik vazifalarni echish uchun qo'llash imkoniyatlarini, hamda inson ehtiyojlarini qondirishga qaratilgan xususiyatlarga ega bo'lgan organizmlarni yaratish imkoniyatlarini o'rganadigan fandır.

Boshqacha aytganda, biotexnologiya – bu biologik jarayonlarni texnika va ishlab chiqarishda qo'llashga aytiladi.

Biotexnologiya nomi yunoncha so'zlarning qo'shilishidan kelib chiqqan bo'lib, «*bios*» – xayot, «*teken*» – san'at, «*logos*» – so'z, o'rganish ma'nolarini anglatadi.

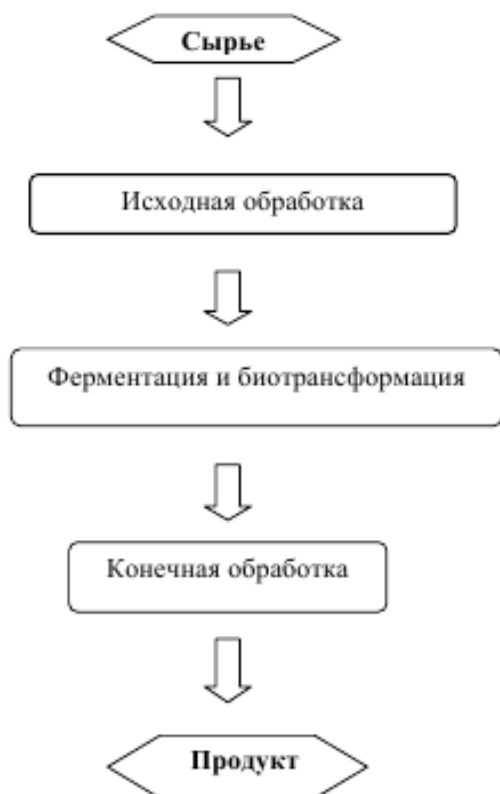
Biotexnologiya yordamida nisbatan arzon, qulay va qayta qo'llasa bo'ladigan mahsulotlardan turli xil modda va birikmalarni olish mumkin.

Bugungi kunda biotexnologiya – bu fan, ishlab chiqarish va ko'p millionli biznesdir.

“Biotexnologiya” iborasi birinchi bo'lib venger injeneri Karl Ereki tomonidan 1917 yilda, cho'chqalarni katta miqdorda shakar lavlagisi bilan etishtirish jarayonida kiritilgan edi. Biroq, bu ibora o'sha yillarda keng tadbqiqqa ega bo'lmadi. Faqatgina 1961 yilda shved mikrobiologi Karl Geren Xeden ilmiy jurnallardan birini nomini «Biotexnologiya i bioinjeneriya» deb nomlashni taklif etgandan so'ng bu iboraga yana qaytildi. Zamonaviy biotexnologiya ko'p tarmoqli ilmiy-amaliy yo'nalish bo'lib, u biologiya (mikrobiologiya, genetika, molekulyar biologiya, bioximiya va h.k) va muhandislik fanlari yutuqlari asosida paydo bo'lgan.

Biotexnologiyaning rivojlanishi, o'z navbatida unga tegishli bo'lgan bir necha fanlar bo'yicha olib boriladigan ilmiy-amaliy izlanishlarni jadallanishiga olib keldi. Ayniqsa mikroorganizmlar asosida xilma-xil fiziologik faol moddalarni sintez qilish, buning uchun kerakli va iqtisodiy samara beradigan, raqobatbardosh mikrob

produtsentlarini yaratish, ulardan kerakli mahsulotni ajratib olishni yo'lga qo'yish, shu maqsadda o'simlik va hayvon hujayra va to'qimalaridan foydalanish masalalari bo'yicha erishilgan yutuqlar yuqoridagi fikrlarni tasdiqlaydi.



SHundan so'ng «Biotexnologiya» iborasi mikrobiologiya sohasidagi ishlab chiqarishga tegishli bo'lgan jarayonlarini nomlash maqsadida qo'llana boshladi. Biotexnologiya – bu biologik, kimyoviy va texnik tadqiqotlarning natijasidir. Biotexnologik jarayonlar kimyoviy jarayonlardan farqli o'laroq “yumshoq” sharoitlarda, normal bosim ostida, faol reaksiya sharoitida va

muhitning yuqori haroratlarida amalga oshiriladi.

Biotexnologik jarayonlarning afzalliklari:

- chiqindilar va zararli maxsulotlari bilan atrof muhitni juda oz miqdorda ifloslaydi;
- iqlim va ob-havo sharoitlariga kam bog'liq;
- katta er maydonlarini talab etmaydi;
- pestitsidlar, gerbitsitidlar va boshqa atrof muhitga zararli bo'lgan turli zararli agentlarni talab etmaydi.

Biotexnologiya kimyoviy texnologiya bilan solishtirganda quyidagi afzalliklarga ega:

1. Spetsifik va unikal hususiyatli biologik faol moddalarngi olish imkoniyati, masalan oqsillar va DNK, hozirgi vaqtga qadar bunday moddalarni kimyoviy yo'l bilan olish imkoni yo'q.

2. Biotexnologik jarayonlarni nisbatan yuqori bosim va haroratda olib borish imkoni.

3. Mikroorganizmlar boshqa organizmlarga nisbatan yuqori tezlikda o'sish va qisqa vaqt ichida katta miqdorda biomassa to'plash hususiyatiga egadir. Masalan, mikroorganizmlar yordamida 300 m³ xajmdagi fermenterda bir kecha kunduzda 1 t oqsil ishlab chiqarish mumkin (365 t/yiliga). Xuddi shunday hamjdagi oqsilni yirik shoxli qoramoldan olish uchun 30 000 bosh qoramol kerak bo'ladi, agarda xuddi shunday miqdordagi oqsilni dukkaklilar yordamida olinsa unda dukkaklini o'stirish uchun 5400 ga er maydoni talab etiladi.

4. Biotexnologik jarayonlar uchun xom ashyo sifatida qishloq-ho‘jaligi va sanoat chiqindilarini qo‘llash mumkin.

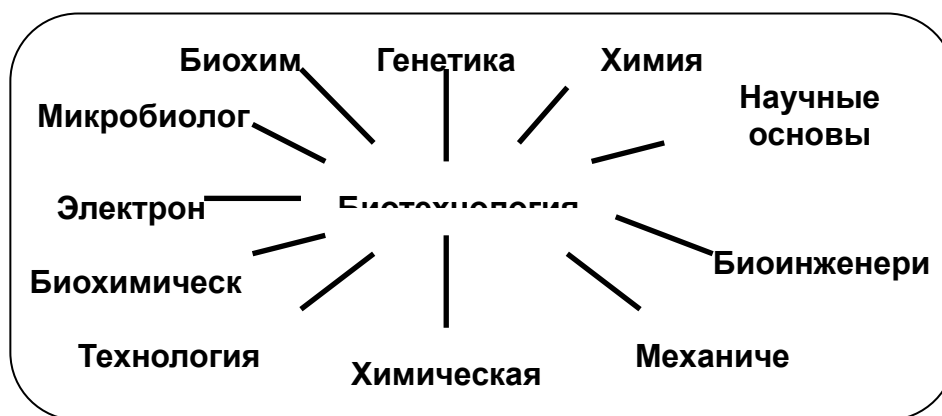
5. Biotexnologik jarayonlar kimyoviy jarayonlarga nisbatan ancha ekologik xavfsizdir.

6. Biotexnologik jarayonda qo‘llaniladigan apparatlar ancha sodda va arzonidir.

Biotexnologiyaning asosiy yo‘nalishlari:

1. Gen, hujayra va fermentlar injeneriyasi;
2. Texnikaviy bioenergetika- vodorod, biogaz olish;
3. Immunobiotexnologiya;
4. Ozuqa maxsulotlari biotexnologiyasi;
5. Qishloq xo‘jaligida ishlatiladigan preparatlar biotexnologiyasi;
6. Sanoat mahsulotlari biotexnologiyasi;
7. Dorivor moddalar, diagnostika va reaktivlar biotexnologiyasi;
8. Biogidrometallurgiyada ishlatiladigan biotexnologiya;
9. Tabiatni muhofaza qilish va ekologik biotexnologiya;

Nanotexnologiya-hujayra buzilganda, operatsiya vaqtida nonatexnologiya prinsipi asosida ishlansa oz-ozdan shramlar yo‘q bo‘lib ketadi¹.



Xozirgi zamonda biotexnologiya fanini bir necha sigmentlarga bo‘lishadi.

1. Oq biotexnologiya (kimyoviy yo‘l bilan olingan mahsulotni hozirda biotexnologik yo‘l bilan olish).

2. YAshil biotexnologiya (o‘simliklardan olinadigan mahsulotlar, hamda unumdorlik va hosildorlikni oshirishda ishlatiladigan biopreparatlar kiradi).

3. Qizil biotexnologiya (farmatsevtika va tibbiyotda olinadigan preparatlar kiradi).

4. Kul rang biotexnologiya (atrof-muhitni tozalashda ishlatiladigan preparat va texnologiyalar kiradi).

5. Ko‘k biotexnologiya (dengiz va okeanlarda yashaydigan tirik organizmlar yordamida olinadigan mahsulotlar kiradi).

¹Комилов Х.М., Махмудов А.А. Биологик фаол моддалар технологияси. Тошкент. EXTREMUM PRESS, 2010. 270 б.



Бiotexnologiya bu avval ma’lum bulmagan yangi yo‘nalishlardan emas, balki ming yillar davomida paydo bulib qo‘llanib kelayotgan va hozirda rivojlanib borayotgan texnologik amallarning majmuasidir.

Hozirda zamonaviy biotexnologiyani asosini molekulyar biologiya, mikrobiologiya, genetika, biokimyoy, biofizika, texnologiya va qurilmasozlikdagi yangi kashfiyotlar tashkil etadi.

YUqorida keltirilgan rasmda biotexnologiyani ilm-fan va ishlab chiqarishning boshqa yo‘nalishlari bilan bog‘liqligi ko‘rsatilgan.

Biotexnologiya - fundamental fanlar va qator amaliy sohalar, ya’ni kimyoviy texnologiya, mashinasozlik va iqtisodiyot elementlarini o‘zida jamlaydi.

Hujayra va molekulyar darajadagi fundamental tadqiqotlar, prinsipial yangi texnologiyalarni va yangi mahsulotlarni yaratilishiga olib keldi.

Achish jarayoniga asoslangan an’anaviy biotexnologik jarayonlar, yangi samarali jarayonlar bilan boyitilib bormoqda, bular oqsillar, aminokislotalar, antibiotiklar, fermentlar, vitaminlar, organik kislotalar olish va h.k.

Biotexnologiya predmeti – bu biotexnologik ob’ektlardan va ularning hayot faoliyati mahsulotlarini qo‘llagan xolda, inson ehtiyojlari uchun zarur mahsulotlarni ishlab chiqarish jarayonlarini o‘tkazishni usuli va vasitalaridir.

Biotexnologik maxsulotlarning jahon bozori har yili taxminan 150 mlrd. doll.ni tashkil etadi



BIOTEXNOLOGIYA OB'EKTLARI

Dori preparatlarini ishlab chiqarishning biotexnologik jarayonida turli xil ob'ektlardan foydalaniladi:

- mikroorganizmlar, hayvon va o'simlik hujayralaridan;
- transgen hayvon va o'simliklar;
- hujayralarning ko'p komponentli ferment tizimlaridan va alohida fermentlaridan.

Gomologik immun plazmasini ishlab chiqarishda (antistafilokokkli, qizamiqqa qarshi, transfuziyalar uchun eritrotsitar va leykotsitar massa) bioob'ekt sifatida inson-donor ham namoyon bo'lishi mumkin.

Insonga nisbatan faqatgina alohida genlarigagina ta'sir etish mumkin, biroq insonga ta'sir etish uchun undan bioob'ekt sifatida foydalanishga etika qoidalari qarshilik qiladi.

Hayvonlardan (ot, bug'u, sigir, cho'chqa, tovuq, quyon) insulin, pankreatin, lizotsim, pantokrin, antitoksik zardoblar, virusli vaksinalarning sanoat ishlab chiqarishida foydalaniladi.

Bioob'ekt sifatida turli xil o'simliklarni ham qo'llash mumkin. Masalan, terakning kurtaklari va bir yillik o'simtalarini prostaglandinlarni ishlab chiqarish uchun xom ashyo xisoblanadi, qarag'ay smolasi skipidar olish uchun, oqqarag'ay smolasi balzamlar olish uchun, kamfora daraxti esa kamfora olishda qo'llaniladi.

Mog'or zamburug'i hujayralaridan antibiotik ishlab chiqarishda, achitqi zamburug'i hujayralaridan – ergosterin (vitamin D o'tmishdoshi), betakarotin (vitamin A o'tmishdoshi) ishlab chiqarishda qo'llanib kelinadi.

Prokariotlar – bakteriyalardan vitamin V12 (sianokobalamin) ishlab chiqarishda qo'llaniladi.

Umumlashtirgan xolda shuni aytish mumkinki, dori vositalarini ishlab chiqarishda qo'llaniladigan bioob'ektlarga quyidagilar kiradi:

1. O'simlik va hayvon tabiatli makroorganizmlar;
2. Mikroob'ektlar;
 - 2.1. Eukariotlar – bir hujayralilar, suv o'tlari, zamburug'lar, mog'or zamburug'i, achitqilar;
 - 2.2. Prokariotlar – aktinomitsetlar, bakteriyalar, ko'k –yashil suv o'tlari;
 - 2.3. Mikrobiotizimlar – fermentlar, protoplastlar.

Bugungi kunda biotexnologiya oldida turgan muhim vazifalar:

- qishloq–ho'jaligida etishtiriladigan maxsulotlarning yangi navlarini yaratish;
- atrof muhitni himoyalash va chiqidilarni qayta ishlash;
- energiyani qayta o'zgartirishni yangi ekologik xavfsiz usullarini yaratish va mineral resurslarni ishlab chiqish.
- Nasl orqali turg'un xolda o'tadigan ho'jalik uchun qimmatli bo'lgan belgilarga ega bo'lgan yangi o'simlik, hayvon zotlari va mikroorganizmlarning yangi shtammlarini yaratish.
- yangi samarali zararsiz dori vositalarini yaratish;
- qishloq–ho'jaligi hayvonlari va o'simlik navlarini hosildorligini oshirish;

Zamonaviy biotexnologiyada qo'llanish soxasining o'ziga xosligini inobatga olgan xolda mustaqil bo'limlar sifatida quyidagi bo'limlarni ko'rsatib o'tish mumkin.

BIOTEXNOLOGIYA FANINING RIVOJLANISH BOSQICHLARI

1. Emperik davr (1865 yilgacha) – bu qadim zamonlardan XIX asrgacha bo'lgan vaqt. Bunda odamlar ilmiy tushunmasdan turib mikrobiologik jarayonlardan foydalanilgan (xamir qorish, vino va sut mahsulotlari tayyorlash, terini va o'simlik tolalarini qayta ishlash va x.k.)

2. Bu davrni Pasterdan keyingi davr (1866 y- 1940 y) , antibiotiklar davri va biosintezni boshqarila oladigan davrlarga bo'lish mumkin.

3. Antibiotiklar davri (1941-1960).

4. Biosintezni boshqarish davri (1961 -1975).

5. Zamonaviy biotexnologiya- bu 1975 yildan hozirgi davrgacha bo'lgan vaqtni o'z ichiga oladi.

I. Empirik texnologiyani paydo bo'lishi:

Qadimda insoniyat non, pivo, vino, uksus, pishloq, sut mahsulotlarini, karamni achitish, siloslash, hamda chiqindilarni qayta ishlashni turli usullarini intuitiv ravshda qo'llab kelishgan.

Sanab o'tilgan jarayonlarda turli biologik ob'ektlar qo'llanib kelingan (ular haqida etarli bilimga ega bo'lmasalar ham) va shu barcha usullar uzoq yillar davomida imperik ravishda takomillashib kelgan, xozirda biz ularni biotexnologik usullar qatoriga kiritamiz.

II. Tabiiy fanlarni paydo bo'lishi

Fransuz olimi Lui Pasterni ilmiy ishlari (1822–1895) ana'naviy biotexnologiyada (pivo olish, vino mahsulotlarini olish, uksus ishlab chiqarish) mikrobiologiya va biokimyo yutuqlarini amaliy qo'llanishini asosini yaratib berdi, bu o'z navbatida, biotexnologiya rivojlanishini ilmiy bosqichini boshlanishi hisoblandi.

Lui Paster quyidagilarni aniqladi:

- achish jarayonini mikrob tabiatli ekanligini;
- kislorodsiz sharoitda ham hayot mavjud bo'la olishini;
- tirik organizmlarni o'z o'zidan paydo bo'lishi haqidagi tasavvurlarni tajriba orqali inkor etib berdi;

- vaksinoprofilaktika va vaksinoterapiya ilmiy asoslarini yaratdi;
- sterilizatsiya usuli sifatida pasterizatsiya metodini taklif etdi.

Bu davrda quyidagilar yuz berdi:

- sanoat biotexnologiyasini rivojlanishi, ayniqsa fermentatsion jarayonlarni sanoat miqyosida rivojlanishi;
- ishlab chiqarishning steril jarayonlarini atseton va glitserin fermentatsiyasi yo'li orqali yaratish;



- achish jarayonlarini yuzaga keltiruvchi mikroorganizmlarning asosiy guruxlari tadqiq etildi va achish jarayonlarini biokimyoviy o'ziga xosliklari tadqiq etish;

- mikroorganizmlar va hujayra kulturalarini kultivatsiyalash uchun ozuqa muhitlarini tayyorlashni metodikasini ishlab chiqish.

- Aleksandr Fleming tomonidan penitsillin kashf etildi, produtsentlarni chuqur qatlamda kultivatsiyalash uchun jarayonlar va apparatlar ishlab chiqildi. Bu antibiotikning ishlab chiqarilish tannarxini keskin ravishda arzonlashtirdi va bu o'z navbatida antibiotikni ikkinchi jaxon urushi vaqtida klinik amaliyotda keng qo'llanishiga yo'l ochib berdi.

- 1859 y. L. Paster suyuqozuqa muhitini tayyorladi, 1876 yilda R. Kox o'lgan sigir ko'zidan ajratib olingan suyuqlik tomchisidan Sibir yazvasi batsillalarini o'stirishga muvaffaq bo'ldi.

- mikroorganizmlar individualligi isbotlab berildi va ularning toza kulturalari ajratib olindi. Ular ozuqa muhitlarida ko'paytirilib, ommaviy ishlab chiqarishda qo'llanildi.



- presslangan oziqa achitqilari va bakteriya metabolizmi maxsulotlari ishlab chiqarila boshlandi (atseton, butanol, limon va sut kislotasi).

- Bioteaktor konstruksiyalandi(fermenter).

- Fransiyada oqava suvlarni mikrobiologik yo'l bilan tozalash uchun bioqurilmalar yaratishga kirishildi;

- 1868 y. – F. Misher leykotsitlardan (DNK) «nuklein» ajratib oldi;

- 1902 y. – G. Xaberland o'simlikning

turli to'qimalari xujayralarini oddiy ozuqa eritmalarida kultivatsiyalash imkonini ko'rsatib berdi;

- 1912 y. – S. Neyberg achish jarayonining mexanizmlarini ochib berdi;

- 1913 y. – L. Mixaelis i M.L. Menten fermentativ reaksiyalar kinetikasini ishlab chiqishdi.

Bu davrda ilm-fan uchun katta xissa qo'shgan olimlar: I.I. Mechnikov, R. Kox, E. Dyuklo, E. Ru, D. Lister, SH. Kitazato, D.I. Ivanovskiy va b.q.

III. Mikrobiologik ishlab chiqarishning shakillanishi va uning fan bilan uzaro ta'siri, mikrobiologik ishlab chiqarishning revolyusion o'zgarishlari.

1933 y. A. Klyuyver va A.X. Perkin «Metody izucheniya obmena veshchestv u plesневых грибов» («Mog'or zamburug'larida modda almashinuvini o'rganish usullari») nomli ishini chop ettirishdi, bu ishda ular zamburug'larni chuqur qatlamda kultivatsiyalashda olinadigan natijalarni baxolash, hamda asosiy texnik amallarni ko'rsatib o'tishdi.

1937 y. – Krebs uch karbon kislotalar siklini ochib berdi.

Jarayonlarni steril usulda olib borishni ta'minlaydigan germetik uskunalarni katta miqyosda joriy etish boshlandi.

Bu o'z navbatida hujayralarni katta miqyosda o'stirishga asos bo'ldi va turli maxsulotlarni olishga muvaffaq bo'lindi (penitsillin, streptomitsin, tetratsiklinlar, dekstran, qator aminokislotalar va boshqa turli moddalarni)

1950 y. J. Mono mikroblarni uzluksiz boshqarilgan kultivatsiyalashni nazariy asoslarini ishlab chiqdi, M. Stefenson, I. Malek, M.D. Ierusalimskiy ularni rivojlantirdilar.

R. Gorte in vitro sharoitida o'simlik to'qimalarini davriy ravishda yangi ozuqa muhitiga o'tkazish orqali uzluksiz kultivatsiyalash usulini taklif etdi. Bu esa kulturaga kiritilgan yangi ob'ektlarni paydo bo'lishiga sabab bo'ldi.

1953 y. – F. Krik i Dj. Uotson DNK strukturasini ochib berishdi.

1955 yilda fitogormonlar-sitokinlarning yangi sinfi kinetin ochilishi bilan, hujayra bo'linishini rag'batlantirish, kallus to'qimasini o'sishini o'shab turish, morfogenezni rag'batlantirish imkoni yuzaga keldi

Bu davrda hayvon etishtirish jarayonlarini sezilarli darajada tezlashtirgan biotexnologik jarayonlar paydo bo'ldi.

IV. Zamonaviy biotexnologiyani yuzaga kelishi uchun dastlabki ilmiy-texnik shart-sharoitlarni yaratilishi.

1972 yilda AQSH da P. Berg yangi rekombinant DNK molekulasini yaratdi va bakterianing genetik materiali bilan yo'naltirilgan amallarni amalga oshirish imkonini ko'rsatib berdi.

1973 yilda Stenli Koen va Gerbert Boyerlar rekombinant plazmidalarni olishga muvaffaq bo'lishdi va ular yordamida E.coli ni transformatsiyaga uchratishdi.

Rekombinant DNK-texnologiyalari ochilgandan so'ng to'rt yil mobaynida, insulin va inson o'sish gormonini ishlab chiqaruvchi bakteriyalar shtammlari paydo bo'ldi.

1977 yili Itokura inson somatotropini gormonining genini sintez qildi.

1979 yili inson insulini geni sintezlandi, 1982 yili ichak tayoqchasi tomonidan ishlab chiqariladigan inson insulini sotuvga chiqdi.

Interferonlar, shishish nekrozining omili (TNF), interleykin-2, inson somatotrop gormoni va uning analogi somatodomin S, α -antitripsin, gemopoetin va b.q lar ishlab chiqildi.

1982 yili Palmiter i Briksonlar birlamchi transgen sichqonlarni olishga muvaffaq bo'lishdi

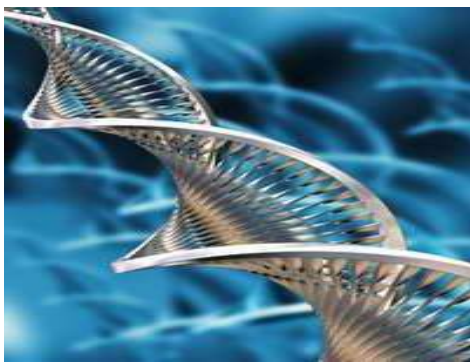
Hozirgi vaqtda yuzlab transgen o'simlik va hayvonlar olingan.

1985 yili K. Mulis polimeraza zanjir reaksiyasi yordamida genlar sintezini amalga oshirdi.

1975 yili Keller i Milstaynlar monoklonal antitelolarni olish metodikasini ishlab chiqishdi. Bu o'z navbatida zararsiz vaksinalarni (DNK qo'zg'atuvchisiz) va tashxis quyish uchun diagnostikumlar olishga imkon berdi.

IV davrda biotexnologiyadagi eng muhim yutuqlar:

1. Yo'naltirilgan, fundamental tadqiqotlar asosida (antibiotiklar, fermentlar, aminokislotalar



va vitaminlarning superprodutsentlari bilan) intensiv jarayonlarni ishlab chiqish.

2. Inson uchun zarur bo'lgan turli maxsulotlarni gen-muxandislik yo'li bilan yaratish.

3. Oldinlari tabiatda mavjud bo'lmagan noodatiy organizmlarni yaratish: o'zida azotobakteriya genini saqlovchi tuganaksiz o'simliklarni yaratish, ular havodan molekulyar azotni o'zlashtirish xususiyatiga ega bo'lib, ko'pincha shu xususiyatiga ko'ra tuproqni azot tutuvchi o'g'itlar bilan boyit zaruriyati bo'lmaydi.

4. Biotexnologik sxemalarni va uskunalarni ishlab chiqish va joriy etish.

5. Maksimal xolatda arzon xom ashyo va minimal energiyani sarflagan xolatda biotexnologik ishlab chiqarish jarayonlarini avtomatlashtirish va kompyuterizatsiyalash.

6. Biotexnologiyani hayvonlar ishlab chiqarishiga joriy etish – donordan retsipientga embrionlarni transplantatsiya etish – bu o'z navbatida eng yaxshi mol zotlaridan 100 ortiq bo'zoqchalarni olishga imkon beradi va seleksion jarayonni 2-3 barobar tezlashtiradi.

Bugun biz biotexnologiyaning ba'zi savollarini, uning istiqbollari, biotexnologik jarayonlarning inson faoliyatining turli sohalarida qo'llanish samaradorligini, oziq-ovqat, ichimlik olishdan tortib to ekologik toza energiya tashuvchilarini va yangi materiallarni olishni ko'rib chiqdik

Biotexnologik jarayonlarga bo'lgan talab ularning kompaktligi va bir vaqtning o'zida katta miqyoslilik, yuqori darajada mexanizatsiyalashganligi va mehnat samaradorligining yuqoriligi bilan shartlangandir. Bu jarayonlarni nazoratga, boshqarishga va avtomatlashtirish ostiga olish mumkindir.

O'zbekistonda biotexnologiya va gen muxandisligi sohasidagi ilmiy tadqiqotlari O'zRFA bioorganik kimyo institutida, O'zRFA mikrobiologiya institutida, inson va o'simlik genofondi institutida, g'o'za genomikasi markazida, genetika institutida va O'zMU ning biologiya – tuproqshunoslik fakultetida olib boriladi.

O'zbekistonda biotexnologiyaning rivojlanish tarixi

Biotexnologiya fani O'zbekiston uchun eng kenja fanlardan bo'lib, uni tarixi uzoqqa bormaydi (qadimiy biotexnologiyalar; non yopish, qatiq tayyorlash va h.k. bundan istisno). Bu fan asosan O'zbekiston Fanlar akademiyasining mikrobiologiya institutida, genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutida hamda Respublika Kimyo birlashmasiga qarashli bir qator zavodlarda (YAngiyo'l biokimyo zavodi, Andijon gidroliz zavodi, qo'qon spirt zavodi) rivojlanib kelmoqda.

Biotexnologiya ixtisosligi bo'yicha birinchi o'zbek akademigi A.G.Xolmurodov (1939-1996) fuzarium avlodiga mansub zamburug'lardan NAD-kofermenti va vitaminlar kompleksi (V guruhiga kiruvchi vitaminlar, vitamin RR, Q 10 vah.k.) tayyorlash texnologiyasini yaratdi. Akademik M.I.Mavloniy O'zbekistonda uchraydigan achitqi zamburug'larni tahlil qilib, ularni nonvoychilik, vinochilik va chorvachilikka qo'l keladigan turlarini topdi va ular asosida maxsus xamirturushlar va vinochilik uchun achitqi tayyorlash texnologiyalarni yaratdi.

Professor Q.D. Davranov MDH mamlakatlarida birinchilardan boshlab yog' parchalovchi lipaza fermentini tayyorlash texnologiyasini yaratdi. Bu fermentni ko'p shakllilik sabablarini tahlil qilib, har bir biotexnologik jarayon uchun o'ziga xos spetsifiklikka ega bo'lgan lipaza fermenti zarur degan fikrga keldi va buni amaliyotda tasdiqlab berdi. Q.D. Davranov yaratgan "Er malhami" biopreparati, azot o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar asosida tayyorlangan bo'lib, mamlakatimiz qishloq xo'jaligida keng qo'llanilmoqda.

ZAMONAVIY BIOTEXNOLOGIYA

Bakteriofag MS2

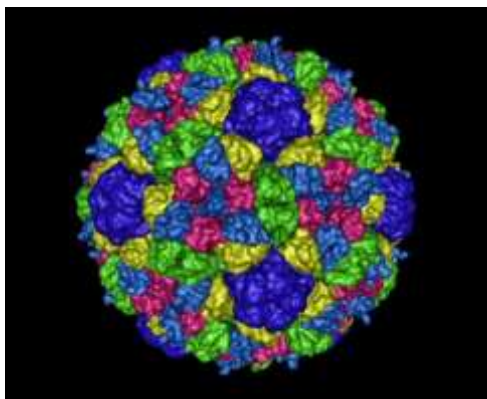
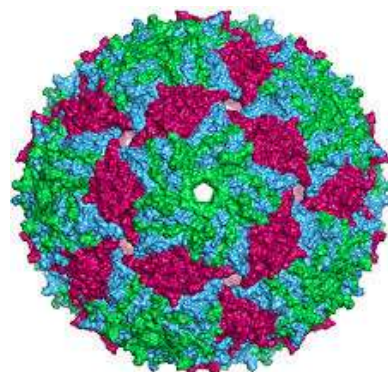
Bir zanjirli RNK dan iborat

1976 yil sekvenlangan

Bu eng birinchi RNK saqlovchi genomi sekvinlangan organizm hisoblanadi.

Genom hajmi - 3569 j.a.

Xromosoma soni -1 Walter Fiers , Universitet Ghent, Belgiya.



Bakteriofag PhiX174

Bir zanjirli DNK dan iborat

1976 yil sekvenlangan

Bu eng birinchi DNK saqlovchi genomi sekvinlangan organizm hisoblanadi.

Genom hajmi – 5386 j.a.

Xromosoma soni-1

Frederick Sanger, Kembridj, Velikobritaniya.

Haemophilus influenza

Gemofil tayoqcha, Pfeyfera tayoqchasi

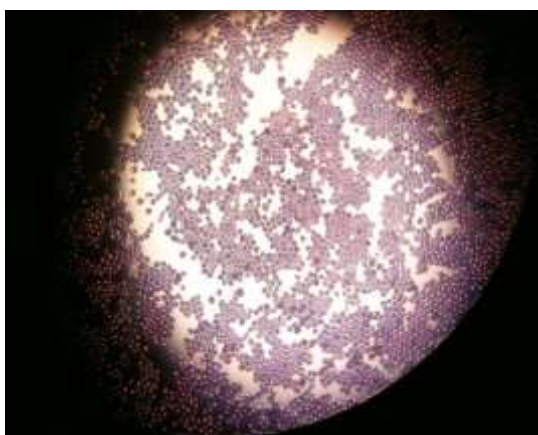
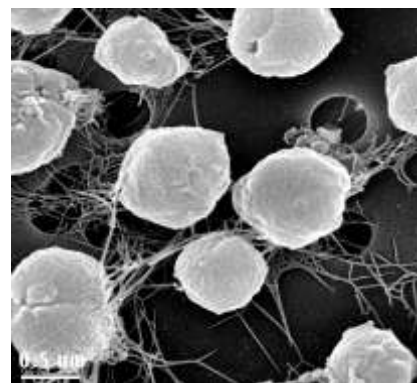
1995 yil sekvenlangan

Eng birinchi sekvinlangan bakteriya

Genoma hajmi – 1.8 mln. j.a.

Xromosoma soni -1

Craig Venter, Institut genomnyx issledovaniy, Maryland, USA.



Methanococcus jannaschii

Termofil, metan-hosil qiluvchi, bir hujayrali organizm

Eng birinchi sekvins qilingan arxey

1995 yil sekvenlangan

Genom hajmi – 1.7 mln. j.a.

Xromosoma soni -1

Saccharomyces cerevisiae

Achitqi

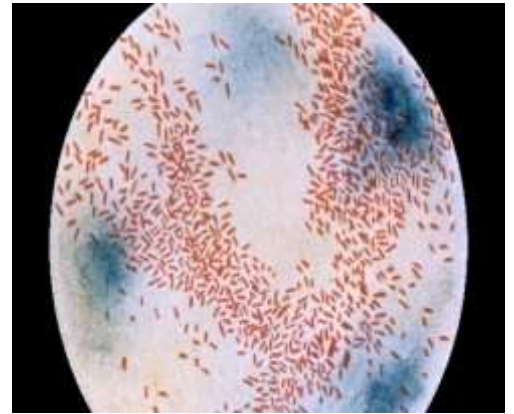
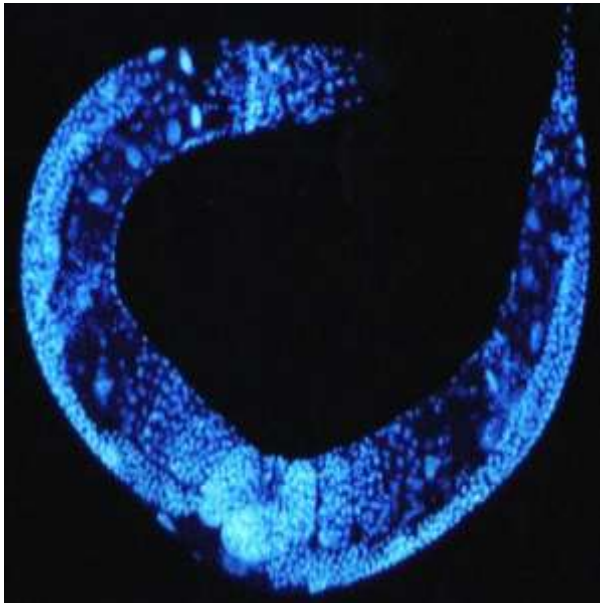
1996 yil sekvenlangan

Birinchi sekvens qilingan zamburug'.

Genom hajmi – 12.1 mln.j.a.

Xromosoma soni -32

Halqarohamkorlik 100 ortiq laboratoriya



Caenorhabditis elegans

YUmalloq chuvalchang 1mm uzunlikda, model ob'ekt hisoblanadi

1996 yil sekvens qilingan. Oxirgi ishi 2002 yil tugagan.

Genom to'liq o'qilgan eng birinchi ko'phujayrali organizm xisoblanadi.

Genom hajmi – 100 mln. j.a.

Xromosoma soni -12 ta germafrodlarda va 11 ta erkaklarida

Genomniy Institut Vashingtonskogo Universiteta, SSHA i Institut Sengera

(WellcomeTrustSangerInstitute), Kembridj, Velikobritaniya

Arabidopsis thaliana

Model o'simlik

2000 sekvens qilingan.

Genomi aniqlangan birinchi o'simlik.

Genomhajmi (Goldenpathlength) – 119 mln.

j.a.

Xromosomaning taxminiy uzunligi-135 mln.

..j.a.

Xromosomasoni-5

Arabidopsis Genome Initiative²



nature International weekly journal of science

Journal home > Archive > special > Full Text

Journal content

- Journal home
- Advance online publication
- Current issue
- Nature News
- Archive

special

Nature **408**, 796-815 (14 December 2000) | doi:10.1038/35048692; Received 20 October 2000; Accepted 15 November 2000

Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*

The Arabidopsis Genome Initiative

The flowering plant *Arabidopsis thaliana* is an important model system for identifying genes and determining their functions. Here we report the analysis of the genomic sequence of *Arabidopsis thaliana*. The sequenced regions cover 113.4 megabases of the 125-megabase genome and extend into 600,000 coding regions. The evolution of *Arabidopsis* involved a whole-genome duplication, followed by subsequent gene loss and extensive local gene duplications, giving rise to a dynamic genome enriched by lateral gene transfer from a cyanobacterial-like ancestor of the plastid. The genome contains 25,498 genes encoding proteins from 11,000 families, similar to the functional diversity of *Drosophila* and *Caenorhabditis elegans*—the other sequenced multicellular eukaryotes.

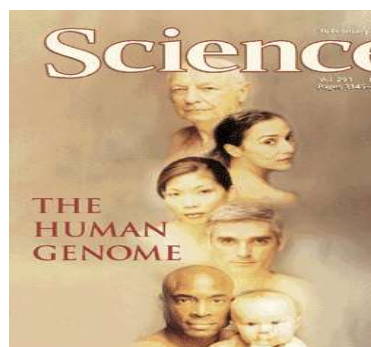
subscribe to nature

FULL TEXT

- Previous | Next
- Table of contents
- Download PDF
- View interactive PDF in HTML
- Share this article
- CrossRef lists 2346 articles citing this article
- Scopus lists 4732 articles citing this article

² Satoshi Omura, Editor-in-Chief, The Japanese Bioactive Compounds Series [DNM] 1. Biological Microorganisms. Pharmaceutical microbiology. Omura, Satoshi, 1931-. Series Products. 2. Biotechnology. 3. Microbiology.

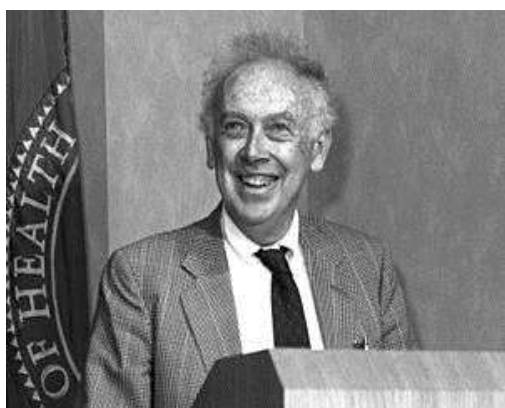
HAYOT KITOBI ODAM GENOMI LOYIHASI



ODAMNING GENOM

LOYIXASI

- 1990 yil Jeyms Uotson boshchiligida Odam genom loyixasi boshlangan.
- 1992 yil odam genomini patentlashga qarshi chiqib o'z mansabidan voz kechgan.
- "The nations of the world must see that the human genome belongs to the world's people, as opposed to its nations"
- *James Watson*



James Dewey Watson
Odamning Genom loyixasi
1000 GENOM PROEKT
2008 yil boshlangan. 14 ta populyasiyaga
tegishli 1092 ta individ seksvins qilingan.
Loyiha qiymati 30-50 mln. AQSH dollari.
100 000 GENOM PROEKT
2012 yil Buyuk britaniyada boshlangan.



[Home](#) | [About us](#) | [100,000 Genomes Project](#) | [GeCIP](#) | [GENE Consortium](#)

The 100,000 Genomes Project

You can read all about the 100,000 Genomes Project in the different sections below or download all of this information in our full narrative here: [Narrative - Genomics England and the 100,000 Genomes Project](#).

Genomlarni sekvenslash loyixalari

2002 yil – sichqon genomi sekvenlangan (*Mus musculus*). Sichqon genomi 95% ga odam genomiga o'xshash. SHuning uchun odam kasalliklarini o'rganishda sichqon zarur ob'ekt xisoblanadi. Genom hajmi – 3,48 mlrd. nukleotid. Xromosoma soni 20 ta

2002 yil – sholi genomi sekvenlangan (*Oryza sativa*).

2005 yil - shimpanze genomi sekvenlangan (*Pan troglodyte*).

Genom hajmi -3.3 mlrd. nukleotidov. Xromosoma soni.

2013 yil - Zebrafish (*Danio rerio*) genomi sekvenlangan .



ODAM GENOMINI TO'LIQ O'QIB CHIQISH UCHUN QANCHA MABLAG' KERAK ?



Yillar	pul miqdori
1988	3 mlrd \$
2001	200'000'000 \$
2004	20'000'000 \$
2005	1'000'000 \$
2008	100'000 \$
2013	1'000 \$

Ulkan ilmiy va texnologik rivojlanish!

Qilingan ishlar	avval o'tmishda	hozirda
muddati	>3650 kun	3 kun
xarajatlari	3 000 000 000 \$	2 000 \$

ishtirokchilar	YUzlab laboratoriyalar	bir kishi
sifati	1 ta o‘qiladi	100 o‘qiydi

TIBBIYOTDA BIOTEXNOLOGIYA

Tibbiyotda biotexnologiya vositalari va metodlari turli kasalliklarni erta tashxis qo‘yish va davolash uchun mo‘ljallangan yangi biologik faol moddalar va dorilarni yaratishda muhim rol o‘ynaydi.

- Monoklonal antitelalar turli kasalliklarni tashxis qo‘yish va davolash uchun noyob reagentlar sifatida ishlatiladi.
- Farmatsevtika bozoriga chiqishga tayyor,
- uy hayvonlar sutlaridan olinadigan
- terapevtik oqsillar

Maxsulot	Kompaniya	Olinadigan hayvon manbasi	Tayyorgarlik darajasi
ATryn, odamning rekombinant anti-trombin III	GTC Biotherapeutics	Echki	ES da bozorga chiqish arafasida AQSHda 3 faza tekshiruvda
S1 esteraznyy ingibitor	Pharming	Quyvon	3 faza tekshiruvda
MM-093 (AFP), alfa-fetoprotein	Merrimack and GTC Biotherapeutics	Echki	2 faza tekshiruvda
Alfa-glyukozidaza	Pharming	quyon	Klinik tek. qadar
Odamning o‘shish gormoni	BioSidus	sigir	Klinik tek. qadar
Albumin	GTC Biotherapeutics	sigir	Klinik tek. qadar
Fibrinogen	Pharming	sigir	Klinik tek. qadar
Kollagen	Pharming	sigir	Klinik tek. qadar
Alfa-1-antitripsin	Pharming	sigir	Klinik tek. qadar
Laktoferrin	GTC Biotherapeutics	echki	Klinik tek. qadar
Malyariya vaktsinasi	GTC Biotherapeutics	echki	Klinik tek. qadar
CD 137 (4-1BB) MAb, monoklonal antitela	GTC Biotherapeutics	echki	Klinik tek. qadar

Biotexnologik izlanishlar faoliyati tufayli SARATON va OITS kabi jiddiy kasalliklarni davolashning zamonaviy usullari ishlab chiqilmoqda. Statistik ma'lumotlarga ko'ra bu usullar bemorlar hayotini uzaytirish imkonini berishi aniqlangan.

Antibiotiklar – yuqori fiziologik faollikka ega bo'lib, ma'lum guruh mikroorganizmlar, rak va boshqa kasalliklarning rivojlanishiga tanlab ta'sir etib rivojlanishini to'xtatadi. Ularning turi 5000 dan oshiq bo'lib, ayrimlari terapevtik ishlarga tavsiya qilingan.

Biotexnologiyaning yangi yo'nalishi qimmatbaho garmonal preparatlarni sintez qilish hisoblanadi.

QISHLOQ XO'JALIGIDA BIOTEXNOLOGIYA

Qishloq xo'jaligida biotexnologiya quyidagi maqsadlarda ishlatiladi:

- YUqori hosildorlik olishda;
- Patogen bakteriyalar, zamburug'lar va viruslarga qarshilik ko'rsatishda;
- Noqulay tabiiy sharoitlarda yashash qobiliyatini (sovuq va qurg'oqchilik) oshirishda;
- Hashoratlarga chidamlilikda,
- YOvvoyi o'tlar
- Nematodalar kabi zararkunandalarga qarshi kurashda;

Er yuzida insonlarning soni jadallik bilan ortayotgan bir vaqtda oziq-ovqatga bo'lgan talabni qondirish, o'simlikshunoslik va chorvachilikning samaradorligini oshirish kerak, shuning uchun biotexnologiyani asosiy e'tibori shu muammoga qaratilgan.



MIKROORGANIZMLAR BIOTEXNOLOGIYASI

Mikroorganizmlar asosida xilma-xil fiziologik faol moddalarni sintez qilish, buning uchun kerakli va iqtisodiy samara beradigan, raqobatbardosh mikrob produtsentlarni yaratish, ulardan kerakli mahsulotni



ajratib olishni yo'lga qo'yish, shu maqsadda o'simlik va

hayvon hujayrava to'qimalaridan foydalanish kabilar. **Mikrob etishtirish na ob-havoga na faslga bog'liq** 1 kub metr ozuqa muhitida achitqi zamburug'lari 24 soatda 30 kilogramm oqsil to'playdi, shuncha miqdorda oqsil to'plash uchun 18 gektar erga no'xat ekib, uch oy parvarish qilish lozim

bo'ladi

- Gen injeneriyasi usulida 1 litr mikroorganizm muxitidan 100 mg o'stirish garmoni olinadi. Bunday garmonlar yara va kuygan joylarni tezroq bitib ketishi, suyakda Ca^{2+} almashinuvini yaxshilaydi.



KLONLASH

1997 yil YAn Vilmut va uning hamkasblari qo'y klonini rekonstruksiya qildilar va DOLLI ismli qo'y klonini yaratdilar. DOLLI birinchi klonlangan sutemizuvchi edi. Vilmut va uning hamkasblari SHotland qoratumshuqqo'ylari tuxum xujayrasiga Dorsett qo'ylari sut bezlari xujayrasi yadrosini transplantatsiya qildi. Tuxum xujayra yadrosi kombinatsiyasi, birlashishi va xujayraning bo'linishini rag'batlantirish elektr energiyasi hisobiga amalga oshirildi.



KLONLARI YARATILGAN ORGANIZMLAR



Genomni

redaksiyalovchi (tuzatuvchi) yangi texnologiyalar

1. «Zinc finger nuclease, ZFN» Rux barmoqchali nukleazalar
2. TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease).
3. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)

O'ZBEKISTONDA ISHLAB CHIQRILADIGAN BIOTEXNOLOGIK MAHSULOTLAR VA O'SIMLIK³

- Porloq -1
- Porloq -2
- Porloq -3
- Porloq -4
- Biopreparatlar
- Laktobakterin, "Kolibakterin", "Orom"-1, "Orom-2", "Orom-3", "Biofikol", "Biofikol-M" kabi o'ndan ziyod biopreparatlar
- tozalash vositalari
- Neft va neft mahsulotlari bilan ifloslangan tuproq va oqova suvlarini
- Biologik o'g'itlar
- "Er malhami", "Bioo'g'it", "FMKG", "Mikrobli o'g'it"
- Biogaz
- Maishiy chiqindilari va hayvon go'ngi asosida
- Dorivor vositalar va BFM lar.

³Давронов Қ. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Тошкент. 2008 й. 506б.

NAZORAT UCHUN SAVOLLAR

1. Biotexnologiya tushunchasiga ta'rif bering.
2. Biotexnologiyani ilm-fan va ishlab chiqarish bilan o'zaro bog'liqligi. Biotexnologiya bilan bog'liq sohalarni sanab o'ting.
3. Biotexnologik maxsulotlarni qo'llanish sohasini ayting va misollar keltiring.
4. Xozirgi vaqtda biotexnologik maxsulotlar bozori qanday xolatda.
5. Biotexnologiya fani predmeti, ob'ektlari, maqsadi va vazifalari nimadan iborat? Biotexnologiya bo'limlari sanab o'ting.
6. Biotexnologiya rivojlanishining qisqacha tarixi va uning sgmentlari aytib bering.
8. Uzbekistanda biotexnologiya rivojlanishi va yutuqlari.

2– MA'RUZA

Biotexnologiya ob'ektlari va usullari. Biotexnologik ob'ektlarni tanlash.

Ma'ruza rejasi

1. Biotexnologiya ob'ektlarining klassifikatsiyasi
2. Bioob'ektlarning tuzilishi
3. Bioob'ektlarni takomillashtirish usullari
4. Biotexnologiyaning zamonaviy usullari.

Biotexnologiyada ishlatiladigan ba'zi bir terminlar

- ***in vitro*** - (lotinchadan-«shisha ichida») – eksperimentlarni bajarishning shunday texnologiyasiki, bunda tajribalar «probirka ichida», ya'ni tirik organizmdan tashqarida bajariladi.

- ***in vivo*** – Tajriba tirik organizmda o'tkaziladi (Odam yoki hayvon modelida).

- ***in situ*** – Biologiyada bu tushuncha voqeilikni maxsus sharoitlarda olib bormasdan o'z joyida va o'z xolicha kuzatishdan iborat. Tirik xayvonlarni kuzatish yoki rasmga tushirish, organizmni tabiiy sharoitda kuzatilganligi (yoki rasmga tushirilganligi) aniq qanday va qaerdaligini bildiradi.

- ***in silico*** - termini ko'p xollarda biologik eksperimentlarni kompyuterli modellashtirishda (ishlatiladi).

- ***ex vivo*** (hayotdan olingan degani), bu «organizmdan tashqarida ro'y berishini», ya'ni organizmdan ajratib olingan tirik to'qima bilan sun'iy tashqi sharoitda tajriba o'tkazishdan iboratdir.

Dori preparatlarini ishlab chiqarishning biotexnologik jarayonida turli xil ob'ektlardan foydalaniladi:

- mikroorganizmlar, hayvon va o‘simlik hujayralaridan;
- transgen hayvon va o‘simliklar;
- hujayralarning ko‘p komponentli ferment tizimlaridan va alohida fermentlaridan.

Gomologik immun plazmasini ishlab chiqarishda (antistafilokokkli, qizamiqqa qarshi, transfuziyalar uchun eritrotsitar va leykotsitar massa) bioob’ekt sifatida inson-donor ham namoyon bo‘lishi mumkin.

Insonga nisbatan faqatgina alohida genlarigagina ta’sir etish mumkin, biroq insonga ta’sir etish uchun undan bioob’ekt sifatida foydalanishga etika qoidalari qarshilik qiladi.

Hayvonlardan (ot, bug‘u, sigir, cho‘chqa, tovuq, quyon) insulin, pankreatin, lizotsim, pantokrin, antitoksik zardoblar, virusli vaksinalarning sanoat ishlab chiqarishida foydalaniladi.

Bioob’ekt sifatida turli xil o‘simliklarni ham qo‘llash mumkin. Masalan, terakning kurtaklari va bir yillik o‘simtalarini prostaglandinlarni ishlab chiqarish uchun xom ashyo xisoblanadi, qarag‘ay smolasi skipidar olish uchun, oqqarag‘ay smolasi balzamlar olish uchun, kamfora daraxti esa kamfora olishda qo‘llaniladi.

Mog‘or zamburug‘i hujayralaridan antibiotik ishlab chiqarishda, achitqi zamburug‘i hujayralaridan – ergosterin (vitamin D o‘tmishdoshi), betakarotin (vitamin A o‘tmishdoshi) ishlab chiqarishda qo‘llanib kelinadi.

Prokariotlar – bakteriyalardan vitamin V12 (sianokobalamin) ishlab chiqarishda qo‘llaniladi.

Umumlashtirgan xolda shuni aytish mumkinki, dori vositalarini ishlab chiqarishda qo‘llaniladigan bioob’ektlarga quyidagilar kiradi:

1. O‘simlik va hayvon tabiatli makroorganizmlar;
2. Mikroob’ektlar;

2.1.Eukariotlar – bir hujayralilar, suv o‘tlari, zamburug‘lar, mog‘or zamburug‘i, achitqilar;

2.2.Prokariotlar – aktinomitsetlar, bakteriyalar, ko‘k –yashil suv o‘tlari;

2.3.Mikrobiotizimlar – fermentlar, protoplastlar.

Biotexnologiya ob'ektlariga viruslar, bakteriyalar, zamburug'lar-mikromitsetlar va makromitsetlar, sodda organizmlar, o'simlik, hayvon, inson to'qima va hujayralari, shuningdek biogen va funktsional jihatdan ularga o'xshash bo'lgan moddalar kiradi. Biotexnologik ob'ektlar hujayra va to'qimalar yoki ularning birlamchi, ikkilamchi metabolitlari bo'lishi xam mumkin. Ma'lum biomolekulani biotexnologik ob'ekt sifatida ishlatilganda xam uning dastlabki biosintezi uchun aynan shu biomolekulaga to'g'ri keladigan hujayradan foydalaniladi. Shuning uchun, biotexnologik ob'ektlarni 3ta katta guruhga ajratish maqsadga muvofiq bo'ladi:

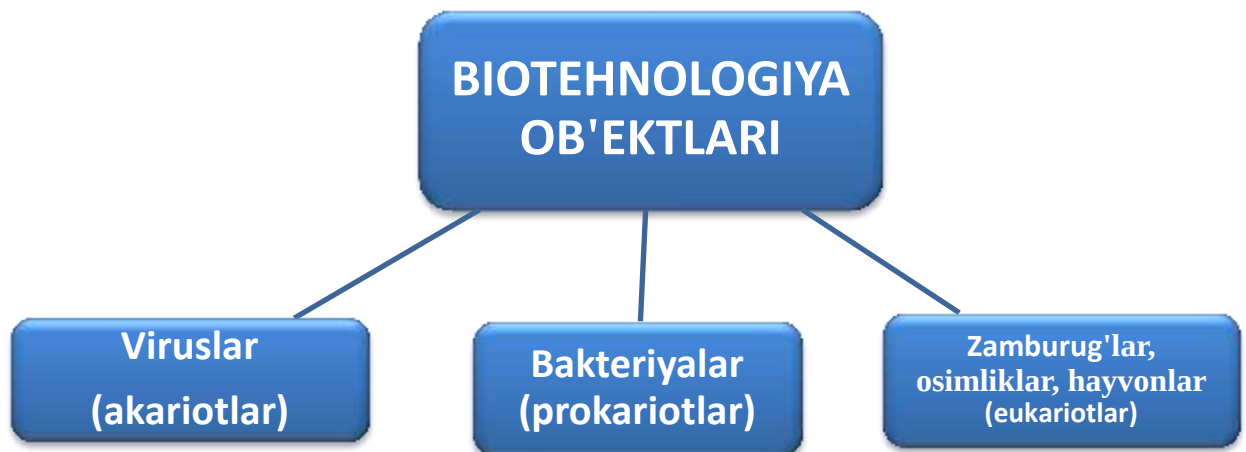
- mikroorganizmlar
- o'simliklar
- hayvonlar

Tirik organizmlarni majoziy ma'noda ixcham, murakkab, iqtisodiy tejamkor, o'z-o'zini boshqara oladigan, barqaror va faol biokimyoviy ishlab chiqarish uchun texnologik parametrlarni optimal saqlay oladigan sistema deb xarakterlash mumkin. Bu ta'rif bo'yicha viruslarni organizm deb qabul qilish mumkin emas, biroq ularning

irsiyati, moslashuvchanligi, o'zgaruvchanligi va boshqa xususiyatlariga ko'ra ularni jonli tabiat vakillari deb bimalol xisoblasa bo'ladi.

Quyida keltirilgan jadvaldan ko'rinib turibdiki, biotexnologiya ob'ektlari viruslardan tortib odamgacha bo'lgan barcha tirik organizmlarni o'z ichiga qamrab oladi.

Biotexnologik ob'ektlarning hujayraviy tuzilishiga ko'ra sinflanishi.

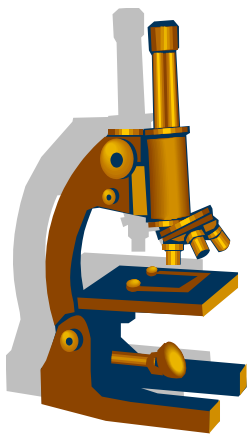


Viruslar jonli va jonsiz tabiatning o'rtasidagi organizmlardir. Ularda irsiyat material-nuklein kislotalar bo'lsa xam, hujayra yadrosi yo'q. Hujayraviy tuzilishga ega bo'lgan mikroorganizmlardan farqli o'laroq, ularda DNK (dezoksiribonuklein kislota) va RNK (ribonuklein kislota) xech qachon birga mavjud bo'lmaydi ya'ni virusda RNK bo'lsa DNK bo'lmaydi yoki aksincha.

Yuqoridagi fikrlarni jamlagan xolda shuni aytishimiz mumkinki, «biologik texnologiya» va «biokimyoviy texnologiya» atamaları bir-biriga o'xshash. Chunki texnikada va sanoatda qo'llaniladigan biologik jarayonlar biokimyoviy xarakterga ega.

Bugungi kunda biotexnologik ob'ektlarning aksariyat qismini mikroorganizmlar tashkil etadi. O'simliklar orasida suv o'tlarini, hayvonlar orasida esa sodda hayvonlarni mikroorganizmlar toifasiga kiritsak bo'ladi. Eukariot mikroorganizmlarga esa zamburug'lar va lishayniklarni kiritish mumkin.

XIX asrning ikkinchi yarmida M.Shleyden, T.Shvann, R.Virxovlar tomonidan biologiyani g'eng muhim umumlashmalaridan biri-hujayra nazariyasiga asos solindi. Bu nazariya sitologiya fanining fundamentiga aylandi. Biotexnologiya ob'ektlari ichida faqatgina viruslar va viroidlar hujayraviy tuzilishga ega emas. Biroq viruslar hujayra ichiga kirganda tirik organizmlarga xos bo'lgan barcha biologik xususiyatlarni namoyon qiladilar.



Hujayra tuzilishini tekshirishdagi sitologik usullarning takomillashishi olimlarga hujayraviy tuzilishga ega bo'lgan va bo'lmagan organizmlarni chuqurroq tadqiq etishga va barcha tirik organizmlarni 3 guruhga ajratish imkonini berdi:

- **akariotlar** (hujayra yadrosi bo'lmagan organizmlar-viruslar, viroidlar)
- **prokariotlar** (haqiqiy yadro o'rniga membrana bilan ajratilmagan genofor yoki nukleoid bo'lib, u bitta halqasimon xromosomadan iborat.Prokariotlarga bakteriyalar va ko'k-yashil suv o'tlari, sianobakteriyalar kiradi.)
- **eukariotlar** (ularda hujayra yadrosi bor.Yuqorida nomlari tilga olingan organizmlardan boshqa barcha organizmlar-zamburug'lar, suv o'tlari, o'simliklar va h ayvonlar eukariotlarga kiradi)

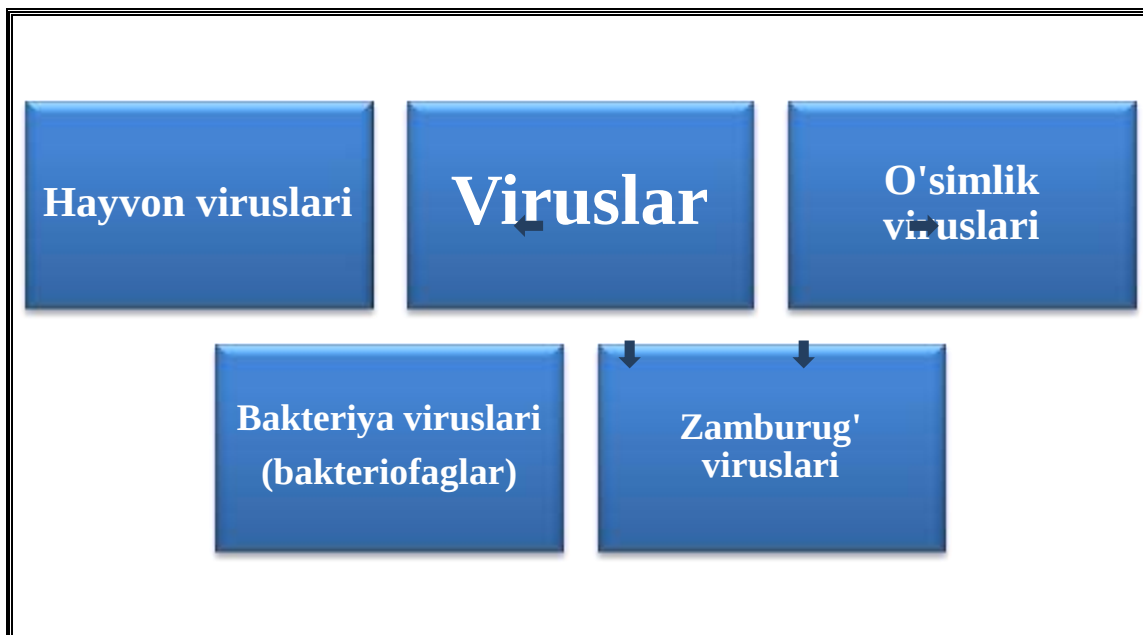
Bu uch guruh vakillarining barchasida genetik material bo'lsada, akariotlarda ayrim nuklein kislotalar yo'q.Ular tirik hujayra tashqarisida ko'paya olmaydilar.

Bakteriyalar hujayraviy tuzilishga ega bo'lgan organizmlardir, ularda nuklein kislotalarning ikkisi-DNK va RNK mavjud. DNK ularda uzuksimon xromosoma ko'rinishida.Ularning ko'pchiligi ozuqa muhitlarida ko'payadi.Bakteriyalar orasida parazit turlari xam bor. Lekin bakteriyalarning parazitizmini hujayraviy, viruslarnikini esa genetik deyish mumkin.Chunki viruslarda parazitizm genetik darajada rivojlanadi. Shunday qilib bakteriyalar- funktsional va genetik jihatdan bir-biri bilan bog'langan strukturalardan iborat organizmlar. Bakteriya hujayrasining genetik materiali barcha funktsiyalarni to'liq bajarsa xam, yadro ko'rinishida jamlanmagan.Shuning uchun bakteriyalar prokariot organizmlar guruhiga kiritiladi.

Zamburug'lar, o'simliklar va hayvonlar hujayralarida sitoplazmadan ajratilgan, haqiqiy yadro mavjud. Shuning uchun ular eukariot organizmlar guruhiga kiritiladi.

Viruslar eng mayda organizmlar bo'lib, ularning o'lchami 20—300 nm(nanometr)ga teng bo'ladi. 1 nanometr= 10^{-9} metr ya'ni metrning milliarddan bir ulushi.

Ular juda mayda, hatto bakteriyalar ham o'taolmaydigan filtrlardan o'ta olganligi uchun *filtrlanuvchi viruslar* xam deyiladi. Viruslarni o'rganuvchi fan virusologiya deb ataladi.Viruslarni 1892-yilda rus botanigi D.I. Ivanovskiy kashf qilgan. Viruslar o'zining parazitizmi bilan boshqa organizmlardan ajralib turadi.O'simliklar, hayvonlar, bakteriyalar va xatto zamburug'larda parazitlik qiluvchi viruslar aniqlangan.



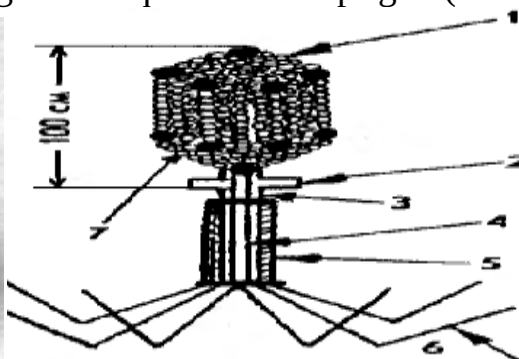
Virusning tuzilishi deyilganda uning strukturaviy bloklardan iborat spetsifik «qurilishi» yoki arxitektonikasi (yunoncha *archi*-boshlang'ich, dastlabki, *tecton*-usta, master) nazarda tutiladi. Organizmdan tashqarida virus kristall ko'rinishda bo'ladi va u *virion* deyiladi. Har bir virion toza xolda bir-biri bilan kovalent bog'lanmagan nuklein kislota va oqsildan iborat. Virion-intakt (lotincha *intactus*-tegilmagan, shikastlanmagan), yuqish xossasiga ega virus.

Nuklein kislotalar-viruslarning irsiyat moddalari. Tarkibidagi nuklein kislota tipiga ko'ra viruslar 2 xil: DNK saqlovchi va RNK saqlovchi viruslarga bo'linadi. RNK saqlovchi viruslarga o'simlik viruslari, DNK saqlovchi viruslarga esa bakteriya, hayvon, odam viruslari kiradi.

Virionning nuklein kislotasi (genomi) atrofida hosil bo'lgan oqsil qobiq *kapsid* deb ataladi. Virion shakli (formasi) uning kapsidi bilan belgilanadi. Kapsid nuklein kislota bilan birga nukleokapsidni hosil qiladi.

Murakkab tuzilgan viruslar qo'shimcha oqsil yoki lipoproteid qobiqlardan tuzilgan bo'ladi. Ba'zan qobiq tarkibida ayrim uglevodlar va fermentlar ham uchraydi. Gripp, herpes viruslari murakkab tuzilgan viruslarga misol bo'la oladi.

Vírus (lat. virus — «zaxar») — hujayraga ega bo'lmagan infeksiyali agent bo'lib, faqat xujayra ichida ko'payish xususiyatiga ega. Viruslar hamma tipdagi organizmlar (o'simlik, hayvon, bakteriya, zamburug' va b.) ni zararlaydi. Bundan tashqari, viruslarni o'zini zararlaydigan boshqa viruslar topilgan (satellit-viruslar).





Umurtqali hayvonlar viruslari 17ta oilaga, umurtqasizlar viruslari 7ta oilaga, bakteriyalar viruslari 10ta oilaga bo'linadi. O'simlik viruslarining 20ta turi va zamburug'lar viruslarining 5ta turi mavjud. Bu raqamlar keyinchalik o'zgarishi mumkin. Chunki bugungi kunga kelib avval fanga ma'lum bo'lmagan yangi viruslar xam aniqlanmoqda (masalan, OITS).

1971-yil T.O.Diner (AQSh) kartoshka o'simligi tugunagini urchuqsimon, duksimon ko'rinishga keltiradigan subvirusli patogen qo'zg'atuvchini aniqladi. Ular keyinchalik *viroidlar* deb nomlandi. 1984-yil viroidlar tomonidan madaniy o'simliklarda qo'zg'atiladigan 10 xil kasallik aniqlandi. Bular qatorida donli o'simliklar xam bor. Viroidlarda kapsid qobiq yo'q. Uning molekulyar strukturasi bir zanjirli, kovalent berk, xalqasimon RNKdan iborat. RNKdagi nukleotidlar soni 240-400. Shakliga ko'ra viroidlar uzuksimon, chiziqli bo'ladi.

Viroidlarning har bir turi faqat uning o'ziga xos bo'lgan quyi molekulyar RNK turiga ega. Viroidlarning o'lchami o'rtacha 15nm. Ular o'simlikning sezgir hujayralari yadrosida yadrocha bilan kompleks hosil qiladi va to'liq hujayra fermentlari orqali replikatsiyalanadi.

Viroidlar tuzilishi jihatidan bir-biriga o'xshash bo'lgani va kodon-initsiatorlari bo'lmagani uchun translyatsiyalanmaydi.

NAZORAT UCHUN SAVOLLAR

1. Hujayra nazariyasini tushuntiring.
2. Hujayra nazariyasini ishlab chiqqan olimlar haqida ma'lumot bering.
3. Viruslar. Ularning turlari.
4. Viroidlar.
5. Bakteriyalar va ularning turlari.

3 – MA'RUZA

Biotexnologiya sanoatida qo'llaniladigan jarayonlar va qurilmalar

Ma'ruza rejasi

1. Asosiy biotexnologik jarayonlar tasnifi
2. Biotexnologik jarayonlar uchun sharoit yaratish
3. Ozuqa muxitining tarkibi
4. Bioreaktorlar klassifikatsiyasi

Biologik faol modda sanoatining uskunalari bilan jixozlanishi

Texnologik jarayon asosiy va yordamchi jixozlarni talab etadi. Jixozning bajaradigan vazifasidan kat'iy nazar xar bir jixoz ishlab chiqarishning texnik jixozlanish prinsiplariga to'liq javob berishi kerak. Bular:

- Konstruktiv mukammallik va universallik;
- Ekstraktor, bioreaktor va boshqa texnologik jixozlar materiallarining inert va korroziyaga nisbatan turg'un bo'lishi;
- Ekspluatatsion turg'un bo'lishi (bioreaktorning komponentlari va materiallari bosim ostida bug' bilan sterillanganda chidamli bo'lishi);
- Qulay, estetik ko'rinishi, ishlashga, tozalashga, aseptiklar bilan ishlov berishga qulay bo'lishi kerak;
- Muhit va kulturani kuzatib turish uchun sharoit yaratilgan bo'lishi kerak.

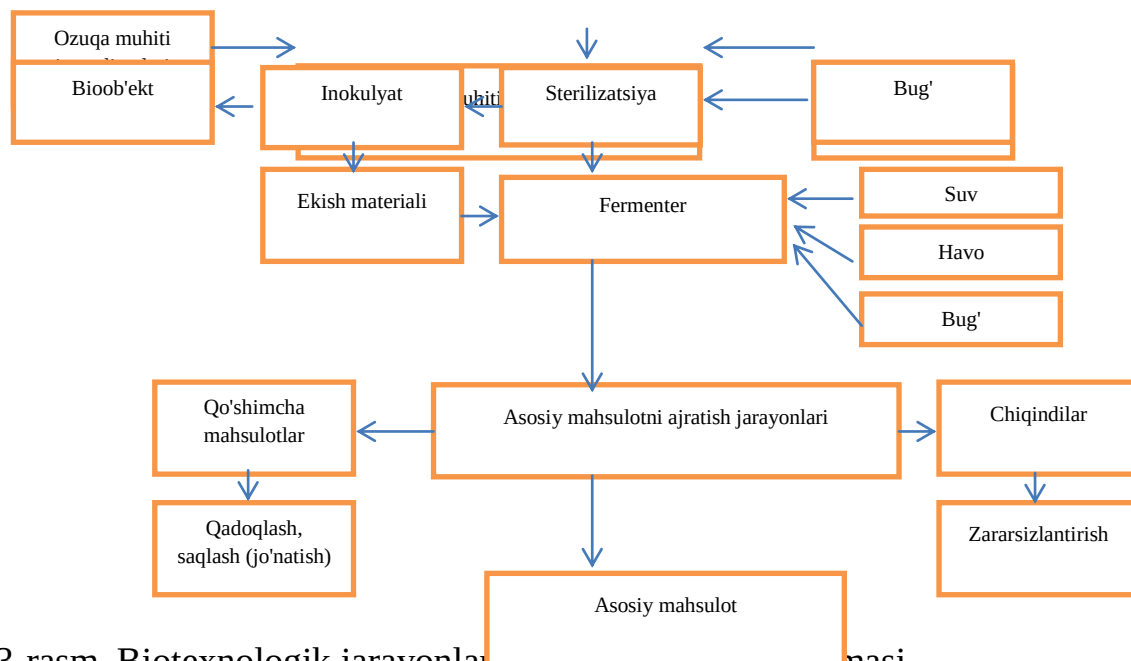
Fermentatsiya bosqichi – ishlab chiqarish sanoatining markaziy bosqichlaridan biri hisoblanadi. Fermentatsiya deganda shu jarayonga kiruvchi barcha jarayonlar ketma – ketligi tushuniladi:

- ya'ni oldindan tayyorlab qo'yilgan va kerakli haroratgacha isitilgan muhitga, ekish materialini kiritishdan, to hujayralar o'sish jarayonini yoki so'nggi mahsulotni sintezi tugashigacha bo'lgan jarayonlar kiradi. Fermentatsiya jarayoni tugagandan so'ng – produtsent xujayralaridan, ishlatilmagan ozuqa komponentlarining eritmasidan va muhitda to'plangan biosintez mahsulotlaridan iborat bo'lgan murakkab aralashma hosil bo'ladi. Bunday aralashma kultural suyuqlik deb ataladi. Fermentatsiya maxsus fermentyor yoki bioreaktor deb ataladigan sig'implarda olib boriladi.

Biotexnologiya-biologik jarayonlardan texnika va sanoatda foydalanish. Bu jarayonlar (mutahassis biotexnolog ishtirokida) bioobjekt yordamida kerakli natija olishga qaratilgan. Biologik texnologiya jarayonlari kimyoviy texnologiya jarayonlaridan keskin farq qiladi. Biologik texnologiya jarayonlarida asosiy komponent- bioobjekt (virus, bakteriya, zamburug', o'simlik va hayvon hujayralari, biomolekulalar). Kimyoviy texnologiyada bunday ob'ektlar ishlatilmaydi. Kimyoviy texnologiyada qo'llaniladigan jarayonlar esa, masalan,

yuqori temperatura, katta bosim Biotexnologiyada qo'llanilmaydi. Biroq reaksiyalar – ular hoh kimyoviy, hoh biokimyoviy bo'lsin, barchasi Le Shatel'e printsiplig bo'ysunadi.

Birgina (quyida ko'rsatilgan) umumlashgan shema biotexnologik jarayonlarning hammasini qamrab ololmaydi. Aksariyat jarayonlar yana bir qancha bo'linmalarga ajraladi. Masalan, baholash: bioob'ektlarning hujayraviiy tuzilishiga ko'ra qaysi oilaga mansubligi (akariotlar, eukariotlar, prokariotlar), bioob'ektlarning funksional faolligi (biosintez, biotransformatsiya). Shuningdek, fermentatsiya va mahsulotni ajratish jarayonlari ham bir necha bosqichlardan iborat bo'ladi.

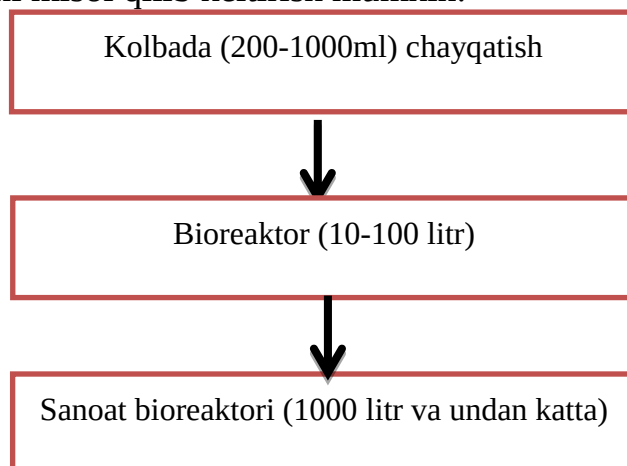


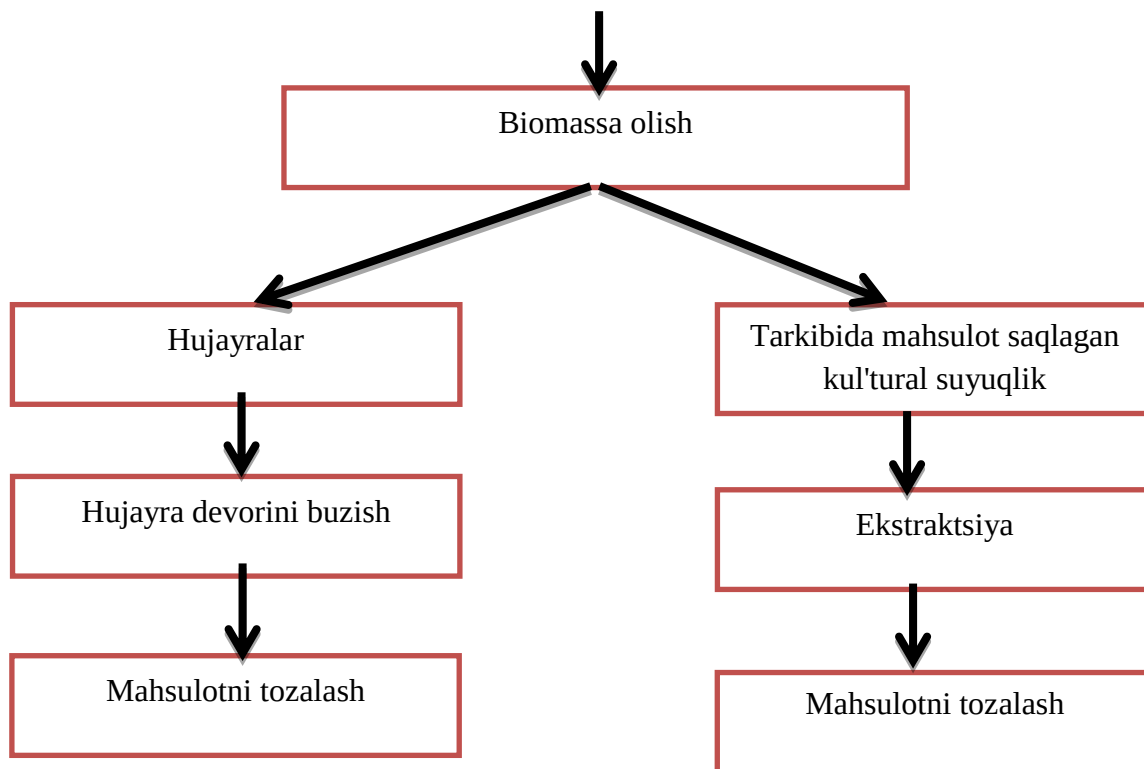
3-rasm..Biotexnologik jarayonlarning umumlashgan shemasi.

Biotexnologiya jarayonlarini shartli ravishda 3 guruhga ajratish mumkin:

- biologik
- biokimyoviy
- bioanalog

Birinchi guruhga (biologik) bevosita akariotlar, eukariotlar, prokariotlardan foydalanish kiradi. Ikkinchi guruh (biokimyoviy) jarayonlar fermentlardan foydalanishga asoslangan. Uchinchi guruh Biotexnologiya jarayonlariga (bioanalog) esa tirik organizmlar moddalar almashinuvi natijasida hosil bo'ladigan mahsulotlarni kimyoviy yo'l bilan sintez qilish kiradi. Bioanalog jarayonlarga antibiotiklar sintezini misol qilib keltirish mumkin.





4-rasm. Sanoatda fermentatsiya jarayonining umumiy shemasi

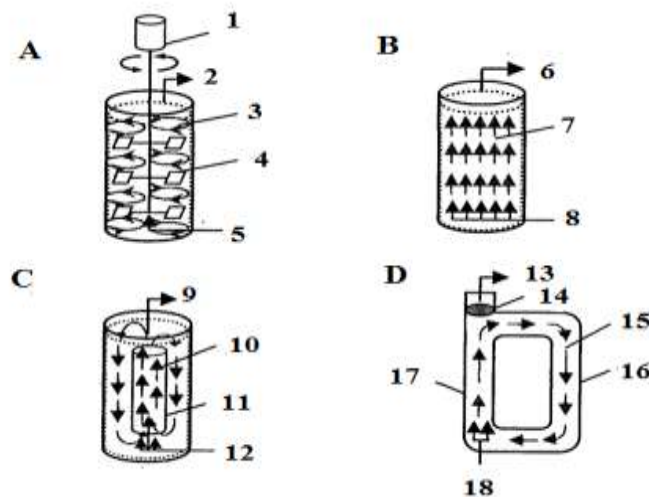
Bioreaktorlar. Biotexnologik jarayonning asosiy elementlaridan biri-bioreaktor ya'ni fermenter. Bioreaktorning vazifasi-mikroorganizmlar, hujayra va to'qimalarni o'stirish uchun optimal sharoit yaratish.

Mikroorganizm hujayralarini shiddat bilan aralashtirish mumkin. Ularni kerakli aeratsiya bilan ta'minlash ham bo'ladi. Sut emizuvchilar, hasharotlar va o'simlik hujayralari esa mexanik ta'sirlarga chidamsizroq (o'stirish usulidan qat'iy nazar).

Bioreaktorda ma'lum bir jarayon olib borilayotganda undagi komponentlar geterojen sistema ko'rinishida bo'ladi. Bunday sistema hujayralar suspenziyasi va gazlardan iborat. Bunday sistemada fazalararo issiqlik va massa almashinuvini ta'minlash zarur. Shundagina produtsentlarni o'stirish, shuningdek, mahsulot biosintezi uchun optimal sharoit yaratilgan bo'ladi. Albatta bunda sterillikka va jarayonning iqtisodiy jihatdan tejamkorligiga ahamiyat berish lozim.

Bioreaktorlarning 3ta asosiy guruhi mavjud:

1. Aralashtirgichli bioreaktorlar
2. Barbotajli kolonnalar
3. Tashqi va ichki sirkulyatsiyali erlift biorektorlar



5-rasm. Turli tipdagi bioreaktorlarning soddalashtirilgan shemasi:
 A-aralashtirgichli bioreaktor; B-barbotajli kolonna; C- ichki sirkulyatsiyali erlift bioreaktor; D- tashqi sirkulyatsiyali erlift bioreaktor. Strelkalar-kul'tural muhitni oqim yo'nalishi.

1-motor, 2-gazni chiqishi, 3-kul'tural muhit, 4-parraklar, 5-havo berish joyi, 6-gazni chiqishi, 7- kul'tural muhit, 8- havo berish joyi, 9-gazni chiqishi, 10-kul'tural muhit, 11-markaziy quvur, 12-havo berish joyi, 13-gazni chiqishi, 14-gaz-suyuqlikli separator, 15-kul'tural muhit, 16-havo oqimining yo'nalishi, 17-havo oqimining yo'nalishi, 18-havo berish joyi

Nazorat savollari:

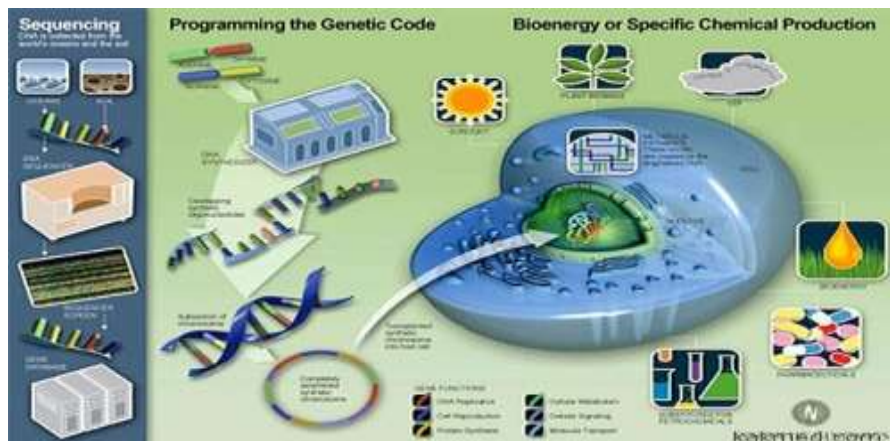
1. Biotexnologik jarayon nima?
2. Biotexnologik jarayonlar shemasi necha blokdan iborat bo'ladi?
3. Sanoatda biotexnologik jarayonlar asosida mahsulot olish necha bosqichdan iborat bo'ladi?
4. Biotexnologiya va GMP.
5. Biotexnologiya sanoatida suv qanday tozalanadi?
6. Apoptoz va nekroz nima?
7. Fermentatsiya samaradorligini ohirishning qanday usullari bor?
8. Mikroorganizmlar o'sishi va nobud bo'lishi nechta fazani o'z ichiga oladi?
9. Kul'tural suyuqlikdan mahsulot qanday ajratiladi?
10. Biotexnologiya sanoatida ajratilgan mahsulot qanday mashinalarda qadoqlanadi?

4- MA'RUZA

Rekombinat DNK texnologiyasi

Ma'ruzarejasi

- 1.Rekombinant DNK texnologiyasi
- 2.Rekombinant DNK olish usullari
- 3.Genlarni klonlash



Sun'iy sharoitda rekombinant DNK olish va genlarni klonlash ilk bor 1972 yilda AQSH olimlari **Boyer** va **Koen** tomonidan amalga oshirilgan. Bu olimlar *E.coli* bakteriyasining xromosoma DNK siga va shu bakteriya plazmidasiga alohida idishlarda *EcoRI* restriktaza fermenti bilan ishlov berganlar. Plazmida tarkibida faqat 1 dona *EcoRI* restriktaza fermenti tanib kesadigan maxsus nukleotidlar ketma-ketligi bo'lganligi sababli ferment plazmidaning xalqasimon DNK qo'sh zanjirini faqat bir joydan kesib, plazmidani «yopishqoq» uchli ochiq holatga o'tkazadi. Xromosoma DNK molekulasida *EcoRI* restriktaza fermenti taniy oladigan maxsus nukleotidlar ketma-ketligi qancha bo'lsa, bu molekula shuncha bo'lakka bo'linadi.

Turli xil o'lchamga ega bo'lgan DNK molekulasi elektroforez uslubi yordamida ajratib olinadi. Ajratib olingan «yopishqoq» uchli xromosoma DNK si bo'lagi ochiq holatdagi «yopishqoq» uchli plazmida DNK si bilan aralashtirilib ligaza fermenti yordamida tikiladi (ulanadi). Natijada plazmida tarkibiga xromosoma DNK bo'lagi kiritiladi.

Shu boisdan rekombinant DNK ga quyidagicha tarif berish mumkin: *har qanday tirik organizm irsiy molekulasining istalgan bo'lagini vektor molekulalariga birikishdan hosil bo'lgan sun'iy DNK - rekombinant DNK deyiladi.*

Rekombinant DNK olishning uchta usuli mavjud:

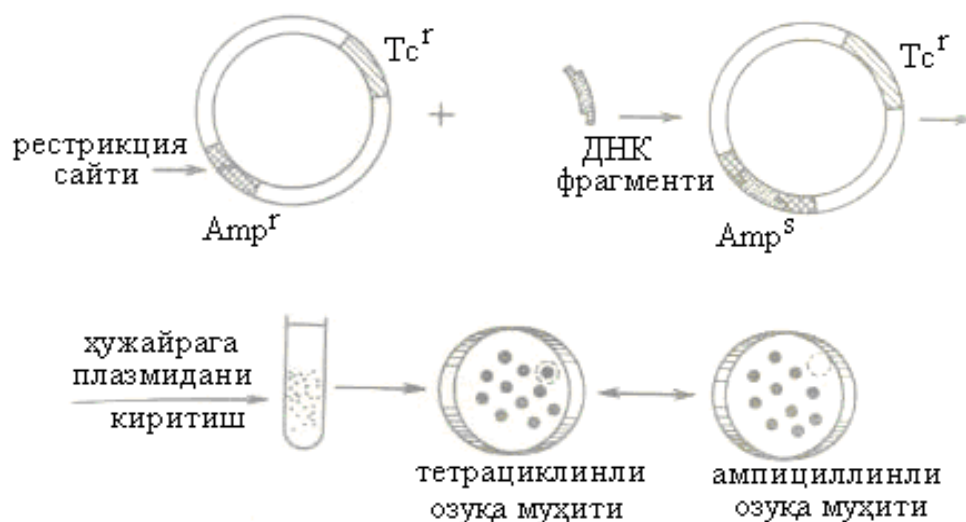
- konnektor usuli;
- restriktaza-ligaza;
- linker molekulalaridan foydalanish usuli.

Konnektor usulida - rekombinatsiyada ishtirok etuvchi DNK bo'lagining 3' uchiga dezoksinukleotidil-transferaza fermenti yordamida ma'lum uzunlikdagi oligo (dA) - segmenti ulanadi. Ikkinchi uchiga esa oligo (dT) - segmenti ulanadi. Bu DNK bo'laklari aralashtirilganda dA va dT segmentlarning vodorod bog'lari

asosida komplementar birikishi tufayli xalqasimon DNK strukturasi hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan DNK dagi bir zanjirli bo'sh joylar DNK-polimeraza I fermenti yordamida to'ldiriladi.

Restriktaza-ligaza usuli - rekombinant DNK olishningeng sodda va oson usuli hisoblanadi. Bu usulda DNK molekulasi va vektor plazmida «yopishqoq» uchlar hosil qiluvchi restriktaza bilan qirqiladi va aralashtirilgan holda ma'lum sharoitda reassotsiatsiya qilinadi. Komplementarlik xususiyatiga ko'ra DNK molekulalari o'zaro vodorod bog'lari yordamida birikib xalqasimon struktura hosil qiladi va DNK zanjirining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi.

Linker molekulalaridan foydalanish usulida - DNK molekulasi va vektor plazmidaga T4 fag DNK-ligaza fermenti yordamida maxsus nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan linker molekula ulanadi. Olingan ikki turdagi DNK molekulasi restriktaza fermenti yordamida qirqilib, aralashtirilgan holda qaytadan assotsiatsiya qilinadi. DNK va vektor plazmida molekulalarining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. SHu yo'sinda rekombinant DNK molekulasi hosil bo'ladi.



VEKTOR MOLEKULALAR, GENLAR BANKINI YARATISH VAALOHIDA GENLARNI AJRATISH TEXNOLOGIYASI

Rekombinant DNKni avtonom replikatsiya bo'lishi uchun javob beradigan DNK bo'lagi - **vektor molekulalarideyiladi.**

Vektor molekulalar o'z vazifasiga ko'ra ikki tipga bo'linadi:

Birinchisi -avtonom replikatsiya bo'luvchi vektorlar.

Ikkinchisi - xromosomaga integratsiya bo'luvchi vektorlar.

Vektor molekulalar gen muhandisligi biotexnologiyasida genlarni klonlashda va transformatsiya qilishda asosiy ish quroli bo'lib xizmat qiladi. Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidalar va o'simliklarni xloroplast hamda mitoxondrial DNK lari o'tashi mumkin.

Xo'jalik ahamiyati qimmatli bo'lgan genlarni ajratish uchun gen banki tuziladi. Xromosomal DNK asosida gen bibliotekasini tuzish quyidagicha amalga oshiriladi:

⁴Daan J.A.Crommelin, R.D.Sindelar, B.Meibohm "Pharmaceutical biotechnology: Fundamentals and application" 4th Edition. - Springer, 2013. - 551 p.

DNK va vektor molekulalar restriktaza fermenti yordamida qirqiladi va ma'lum sharoitda qaytadan assotsiatsiya qilinadi;

Nukleotidlar orasida ulanmay qolgan bo'shliq DNK-ligaza fermenti yordamida o'zaro biriktiriladi;

Olingan rekombinant DNK bakteriya hujayrasiga transformatsiya qilinadi.

Xromosomal DNK da mavjud genlarni to'la klonlash uchun DNK o'lchamiga va olingan klonlarni soniga e'tibor berish kerak.

Genlarni klonlashda ko'pincha kDNK bibliotekasini tuzish maqsadga muvofiqdir. Bu holda maxsus poli (Y) va oligo (dT) kolonkalari yordamida uchlarida poli (A) nukleotidlar ketma-ketligini saqlovchi iRNK, tRNK va pRNK dan ajratib olinadi. Olingan iRNK molekulasi oligo (dT) nukleotidlari bilan aralashtirilib reassotsiatsiya qilinadi.

Bunda iRNK molekulasining poli (A) uchida dA-dT qo'sh zanjirli segment hosil bo'ladi. Ushbu ikki zanjirli segmentning oligo (dT) uchi kDNK sintezini amalga oshiruvchi revertaza fermenti uchun praymer (kDNK sintezining boshlanish nuqtasi) vazifasini o'taydi.

Sintez qilingan kDNK molekulasi qisqa uchli ikki zanjirli struktura bilan tugallanadi. kDNK sintezida matritsa vazifasini o'tagan iRNK molekulasi NaOH bilan parchalanadi, natijada qisqa ikki zanjirli va to'liq iRNK molekulasiga komplementar bo'lgan bir zanjirli kDNK molekulasi hosil bo'ladi.

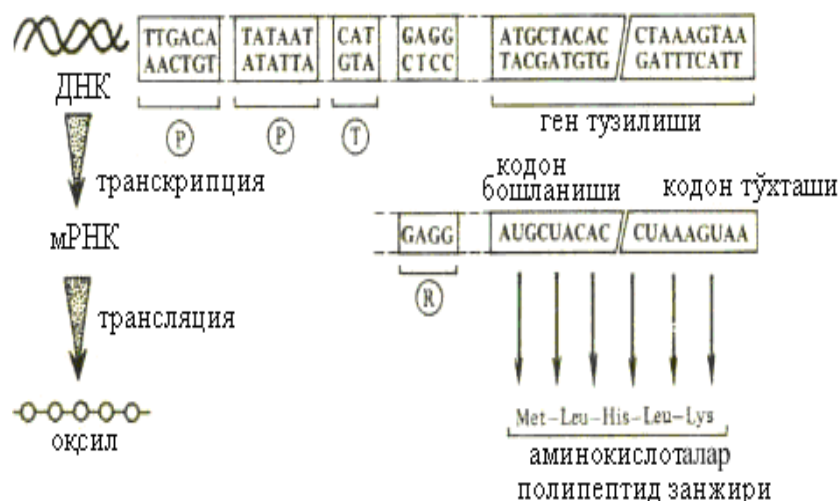
Hosil bo'lgan qisqa ikki zanjirli struktura kDNK ning ikkinchi zanjirini sintez qilishda praymer vazifasini o'taydi. DNK-polimeraza I fermenti yordamida kDNK ning ikkinchi zanjiri sintez qilinadi. Hosil bo'lgan kDNK ning bir zanjirli qismi SI-nukleaza fermenti yordamida parchalanadi va ikki zanjirli kDNK molekulasi hosil bo'ladi. SHu yo'sinda hosil bo'lgan kDNK molekulasi vektor molekulalariga ulangan holda klonlanadi.

Har ikki usul bilan yaratilgan genom bibliotekasidan individual genlarni ajratib olish quyidagicha amalga oshiriladi - rekombinant plazmida denaturatsiya qilinadi (100⁰S haroratda 5 min., 0,2 N NaOH eritmasida 15 min.), bir zanjirli DNK molekulasi stabil qo'zg'almaydigan holatda turishi uchun nitrotsellyuloza filtriga biriktiriladi. Olingan filtr [g⁻³²P] ATF nukleotidi bilan nishonlangan iRNK molekulasi bilan gibrizatsiya qilinadi.

Molekulyar gibrizatsiya jarayonida filtrga birikkan rekombinant DNK molekulasiga komplementarlik qonuniyati asosida nishonlangan iRNK molekulalari birikadi.

Hosil bo'lgan gibriz DNK molekulasi denaturatsiya qilinib, nishonlangan iRNK molekulasi ajratib olinadi (elyusiy yordamida). Olingan iRNK molekulasi hujayrasiz oqsil sintez qilish tizimida tekshirib ko'riladi. Hosil bo'lgan oqsil molekulasini identifikatsiya qilish yo'li bilan individual genlarni ajratib olish amalga oshiriladi.⁵

⁵Burg R W., Miller B. M., Baker E. E., Birnbaum J., Currie S. A., Hartman R, Kong Y. L., Monaghan R L., Olson G., Putter I., Tunac J. B., Wallick H., Stapley., Oiwa R and Omura S. 2011. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Producing organism and fermentation. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 15:361-367.



Nazorat uchun savollar:

1. Rekombinant DNK olishning qanday usullari mavjud?
2. Rekombinant DNK olish texnologiyasi ilk bor qaysi olimlar tomonidan amalga oshirilgan?
3. Restriktaza-ligaza usulida rekombinant DNK olishning mohiyatini tushuntiring
4. Vektor molekulasini
5. Vektor molekulalari qanday guruhlariga bo'linadi?

5 – MA'RUZA

MIKROORGANIZMLAR GEN MUXANDISLIGI

Ma'ruza rejasi

1. Plazmidalar. Bakteriofaglar
2. Genni ajrayish usullari. Genni ko'chirib o'tkazish usullari
3. Gen muhandisligining asosiy biotexnologik sxemasi
4. mikroorganizmlardan sintez qilinadigan moddalar
5. Mikroorganizmlardan sintezlanadigan moddalarning dori sanoatida ishlatilishi

Mikrobiotexnologiya - mikrobiologiya, biokimyo va genetika kabi fanlarning jamlanmasi bo'lib, mikroorganizmlarning texnika va sanoat tarmoqlarida qo'llanilishidir. Mikroblarni o'simlik va hayvon hujayralari bilan taqqoslaganda ular tez ko'payib, rivojlanishi va moddalar almashinishidagi faolligi bilan ajralib turadi.

Mikroorganizm ob'yektlari quyidagilarga bo'linadi:

- 1) Yirik genomlardan tashkil topgan.
- 2) Tabiiy va sun'iy sharoitdagi ozuqa muhitiga oson moslashib oziqlanadi.
- 3) Vaqt birligi ichida hujayra massasining o'sib borishi va fermentativ reaksiyalar o'tkazishning tezligini boshqarish bilan bog'liq.

Mikroorganizmlar tabiatda kup mikdorda tarkalganligi, tezlik bilan kupayishi va xar xil yukori molekulali organik modda sintez kilishini inobatga olingan xolda, ular biotexnologiya fanining asosiy ob'ekti xisoblanadi. Mikroorganizmlar ma'lum maksad uchun tabiatdan jratib olinadi va ular maxsus asboblarda (fermenterlarda) kupaytiriladi. Mikroorganizmlarning usib, rivojlanishi uchun kerakli optimal sharoit yaratiladi va ularning biomassasi ajratib olinadi.

Mikroorganizmlar kup moddalarni uz xujayrasida sintez kiladi. Bunday moddalarga:

Alkaloidlar	Nuklein kislotalar
Aminokislotalar	Organik kislotalar
Antibiotiklar	pigmentlar
Oksillar	Polisaxaridlar
Vitaminlar	Erituvchi moddalar
Gerbitsidlar	Fermentlar
Kofermentlar	Uglevodlar
Yog'lar	Oksidlovchi moddalar va boshkalar

Mikroorganizmlarning birlamchi metabolitlari, pastmolekulali brikmalar (molekulyar ogirligi 1500 dalton dan kam bulgan), ularning usishi uchun zarur bulganlardan birisi makromolekulani kurishda ishtirok kilsa, boshkalari kofermentlarning sintezida ishtirok kiladi. Ishlab chikarish uchun zarur bulgan metabolitlardan: aminokislotalar, organik kislotalar, purin va pirimidin nukleotidlari, erituvchilar va vitaminlar. Mikroblar xujayrasi boshka tirik organizmlar xujayralari katori, ortikcha birlamchi metabolitlarni sintez kilmaydi. Lekin mikroorganizmlarning birlamchi metabolitlar mikrobiologik ishlab chikarishda foydalaniladi. Fermentativ jaraenlar natijasida mikroorganizmlar xujayralarida aminokislotalarni va nukleotidlarni sintez kilib olinadi. Inson organizmidagi 20 aminokislota dan 8 tasi organizmda sintez kilinmaydi. Ular organizmga ozik-ovkat orkali utishi kerak. Almashtirib bulmaydigan aminokislotalardan metionin va lizin sintetik yul bilan olinmokda. 1980 yilda fermentatsiya yuli bilan 40000t lizin ishlab chikarilgan. Gulitamin kislota xam mikroorganizmlar erdamida sintez kilib olinadi. 1980 yillarda Janubiy Koreya va YAponiyada 100000t glutamat va 20000t lizin ishlab chikarilgan. Bunday mikdordagi aminokislotalarni ishlab chikarishda, ya'ni fermentatsiya jaraenida asosiy substrat glyukoza xisoblangan. Keyinchalik esa p-parafindan foydalanilgan.

Mikrobiologik ishlab chikarishda uksus kislota ni sintez kilish muxim ahamiyatga ega. Uksus kislota rezina ishlab chikarishda plastmassalar, atsetat tolasi, formatsevtik preparatlar, insektitsidlar va boshkalar ishlab chikarishda foydalaniladi. Yaponiyada uksus kislota fermentativ yul bilan aminokislotalar olishda, substrat sifatida ishlatiladi. Organik kislotalardan birinchi bulib, sut kislotasi bijgish jaraenida ajratib olingan. Mikroorganizmlarning ikkilamchi metabolitlari pastmolekulali brikmalar bulib, toza xujayralarning usishi uchun talab kilinmaydi. Ikkilamchi metabolitlar ma'lum bir toksonlar tomonidan, ma'lum guruxga mos bulgan kimeviy moddalar sintez kilinadi. Ularga antibiotiklar, alkonoidlar, garmonlar va toksinlar.

Mikroorganizmlar xujayralari tomonidan sintez kilinaetgan antibiotiklar farmatsevtik birikmalar ichida eng katta klass xisoblanadi. Eng kup ishlab chikariladigan va iktisod jixatli foydali xisoblangan 4 ta antibiotiklar-pensillin, sefalosporinov, tetratsiklinlar va eritromitsinlar. 1978 yilda ularning baxosi 4 mlrd. dollordan ortik bulgan.

Oltita oilaga mansub bulgan filamentoz zamburuglardan 1000ga yakin xar xil antibiotiklar ishlab chikarilgan. Filamentoz bulmagan bakteriyalardan 500 antibiotik sintez kilingan. Aktinomitsetlarning 3 ta oilasidan 3000 yakin antibiotiklar sintez kilingan.

Mikroorganizmlarning usib, rivojlanish jaraenida xosil bulaetgan birlamchi va ikkilamchi metabolitlar mikrobiologik ishlab chikarishda (promыshlennaya mikrobiologiya) muxim axamiyatga ega.

Bu moddalardan tashkari gen injeneriyasi erdamida mikroorganizmlar xujayralarida xar xil garmonlar sintez kilib olinmokda. Bularga insulin, samototropin, interferonlar va boshkalar kiradi.

1979 yilda Er yuzasi buyicha 60 mln diabet kasali bilan kasallangan insonlardan 4 mln insulin olishgan. Amerikada 1979 yilda 1,8 mln odam insulinga muxtoj bulgan (shulardan 100 mingi bolalar). Bu rakam xar yiliga 6 foizga oshadi. Usha vaktida Fransiyada 1 mln diabet kasalligi bilan kasallngan kishilar bulgan. SHulardan 150 000 insulinga muxtoj bulgan.

1922 yilda xayvonlarda ajratilgan insulin 9 eshlik diabet kasali bilan kasallangan yuborilgan. Bir yildan keyin Amerika kompaniyasi "Eli Lilly" xayvonlardan olingan insulinni ishlab chikardi.

Kora mollardagi oshkozon osti bezi 200-250 g keladi. 100g kristal xolatdagi insulinni olish uchun 800-1000 tg oshkozon osti bezi kerak buladi.

1955 yilda Senger insulinning tarkibini urganib, u ikkita A va V polipeptid zanjiridan iboratligini isbotladi. Insulinning A zanjirida 20 ta aminokislota, V zanjirida esa 30 ta aminokislotalar ketma-ket joylashgan. Insulinning 2 ta zanjiri disulfid boglari bilan boglangan.

1980 yillarda chuchka insulinini odam insuliniga aylantirilgan, ya'ni insulinning V zanjiridagi 30 aminokislota alanin koldigi, trionin koldigiga almashtirilgan. Buday muvaffakiyat fermentlar yordamida aminokislotalarni almashtirishga erishilgan.

Kalamushlar oshkozon osti bezidan insulinning mRNK ajratib olinib, E.coli (ichak taekchasi) xujayrasiga utkazilganda, u insulinni sintez kilgan. Xozirgi vaktida mikroorganizmlardan insulinni sintez kilib olish yulga kuyilgan.

Insulindan tashkari gipofiz bezining oldingi kismidan ajralib chikanidan somotropin garmoni xam mikroorganizmlardan sintez kilib olinmokda.

NAZORAT UCHUN SAVOLLAR

1. Mikroorganizmlar o'z hujayrasida qanday moddalarni sintez qiladi?
2. Mikroorganizmlar yordamida qanday garmonlar sintez qilinadi?
3. Insulin garmoni ilk bor qaysi bakteriya hujayrasidan sintez qilingan?

6 – MA'RUZA

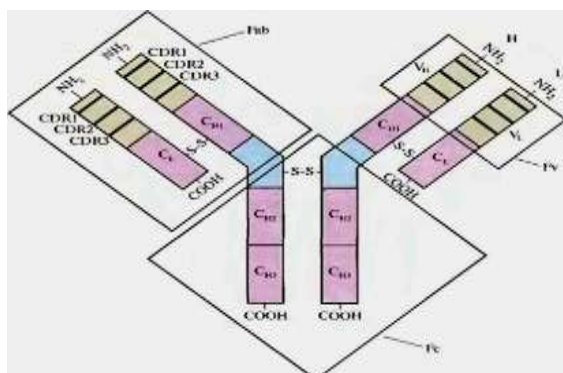
REKOMBINAT MIKROORGANIZMLAR ASOSIDA OLINADIGAN DORI VOSITALARI

MA'RUZA REJASI

1. Monoklonal antitelolar dori vositasi sifatida.
2. Trombolitiklar va antikoagulyantlar.
3. Aminokislotalar.
4. Gormonlar
5. Vaksinalar

Hozirgi davrga kelib rekombinant DNK texnologiyasi yordamida (asosan kDNK sifatida) 400 dan ortiq odamning har xil genlari dori vositasi sifatida klonlashtirilgan. JSST mutaxassislarining xisob kitoblariga ko'ra har yili jahon bozorida odam oqsilari asosida DP sotilish hajmi 150 mlrd. dollarni tashkil qilib va bu ko'rsatgich har yili oshib bormoqda.





N- va L-zanjirlari o'zgaruvchan (V_H i V_L) va o'zgarmas (C_L , S_{N1} , S_{N2} i S_{N3}) domenlardan iborat. O'zgaruvchan domenlar esa CDR-qismlarni (CDR1, CDR2 i CDR3) o'z ichiga oladi.

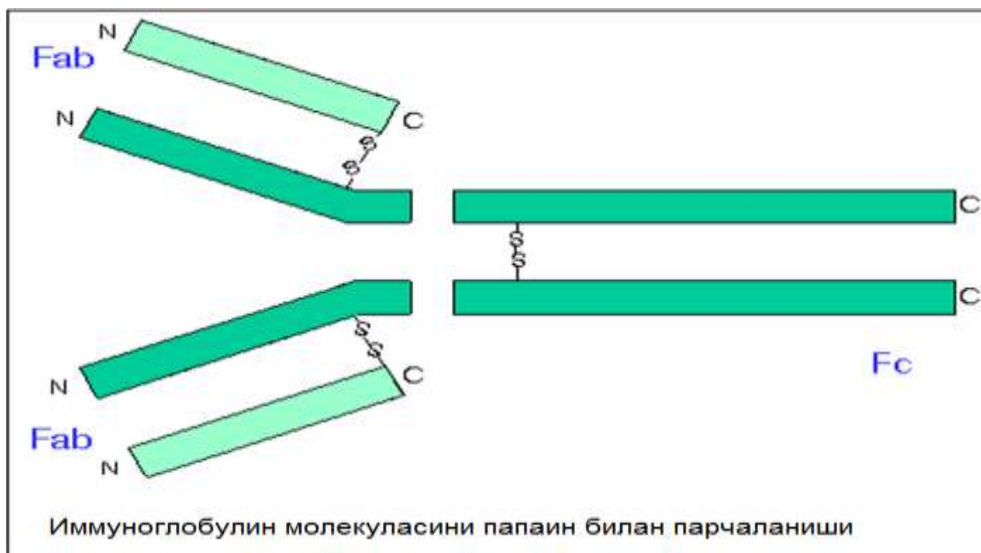
Dorivor moddalarni tasir etishi kerak bo'lgan joyga olib borish uchun bir necha usullardan foydalaniladi:

- Liposomalarga kiritish; bunda liposomalarni lipid qatlami kerakli organlarni hujayralari bilan yuqori darajada o'xshagan bo'lishi kerak;
- Maxsus toksinlarni genlarini shishini yo'qotadigan limfotsitlarga joylashtiriladi, oqibatda ular toksinlarni to'g'ridan-to'g'ridan shishni ichiga kiritib, chiqaradilar;
- Dorivor moddalar monoklonal antitelalarga yoki aniq hujayralarni sirtidagi oqsillarga nisbatan spetsifik bo'lgan monoklonal antitelalarni F_v – fragmentlariga bog'lanadi, masalan, shish hujayralari (rasm A).

Dorivor moddalarni faol bo'lmagan shaklidan foydalaniladi va ularni tegishli fermentlar yordamida faollashtiriladi.

Antigenni intakt antitela bilan bog'langanidan keyin immun javob ishga tushadi:

- Kompliment tizimi (sistemi) faollashadi; bu tizimni komponentlari hujayra membranalarini parchalaydilar, fagotsitlarni faollashtirib, immun javob sistemasini boshqa komponentlarini ishga solib, signallarni tiklaydilar (generatsiya qiladilar).
- Antitelani Fc-uchastkasini effektor hujayrani Fc-retseptori bilan bog'lanishi natijasida, hujayra sitotoksini orqali o'tadigan reaksiya ishga tushadi. Faolashgan effektor hujayra, begona hujayrani lizis qiladigan moddalarni bo'shatadi. Bu moddalar bilan antitela molekulasini Fab-uchastkasi bog'g'lanadigan bo'ladi.
- Eriydigan antigen bilan Fab-uchastka bog'langandan keyin, antiteloni Fc-uchastkasi fagotsitlarni retseptorlariga bog'lanishi mumkin, ular esa, antigen-antiteloni ushlab olib, bu kompleksni parchalab yuboradi.



Fab – fragment antigen binding (bog‘lovchifragment)

Fc – fragment crystallizable (kristallovchifragment)

Trombolitiklar va antikoagulyantlar

- Qonni ivitish sistemasi trombositlardan va ulardagi plastinkali faktorlar (adenozindifosfat, to‘qima tromboplastini, serotonin, antiplazmin, fibropektin, trombospondin va boshqalar), jigar hujayralarida sintez bo‘ladigan plazma oqsillari (protrombin, prokonvertin, antigemofil, globulinlar, trombotrofin, fibrinogen va boshqalar)dan iborat.
- Ivishga qarshi (antisvertıvayushaya) sistema qonda nafaol holatda uchraydigan (plazminogen) plazmin (fibrinolizin)- proteolitik ferment, qon plazmasini oqsillari (protein S, S fibrin hosil bo‘lish jarayonini tormozlovchi antirombin III va endotelial hujayralar sintez qiladigan (prostatsiklin, trombomodulin va h.k.) yoki fiksatsiya qiladigan (geparin) moddalardan iborat bo‘ladi.
- **To‘qima tipdagi plazminogen aktivatori(TAPg).**
- Tabiiy TAPgni hujayralarni o‘stirish metodi yordamida olinadi. Preparat olishni asosiy manbai-odam melanomasi hujayralari hisoblanadi; bunday ferment-mTAPgni molekulyar massasi 72 kDa va o‘stirish va tozalash sharoitlariga qarab bir yoki ikki zanjirli shaklda olinishi mumkin. Melanoma to‘qimalaridan olinadigan TAPgni tozalash uchun affin xromatografiya usulidan foydalaniladi. Rekombinant TAPgni ishlab chiqarishda (uni alteplaza deb nomlangan) karvonboshi AQSHning “Genentech” firmasi va “Boehringer Ingelheim”(bu firma alteplazani “activase” va “actilyse” nomlari bilan ishlab chiqariladi) firmalari hisoblanadilar.
- **Plazminogenni urokinaza tipidagi aktivatorlari.**
- Urokinaza- plazminogenni aktivatori, insonni siydigida uchraydi, 2 ta polipeptid zanjirdan (A va B) iborat bo‘lib, bir-birlari bilan disulfid ko‘priklar orqali bog‘langanlar. YUqori va past molekulyar massaga ega bo‘lgan urokinazalar ma’lum: 55 kDa va 34 kDa. Preparatni inson buyragini

embrion hujayralaridan olinadi. Urokinaza plazminogenni faollashtirib, uni plazminga aylantiradi. Urokinazani fibrinolitik xususiyati streptokina-zadan balandroq.

- **Streptokinaza**- to'g'ri trombalitik ta'sirga ega bo'lib, plazminogenni aktivatori hisoblanadi, 1-avlod trombolitiklariga kiradi. Streptokinaza tozalangan holatda oq rangli, hidsiz poroshok bo'lib, suvda yaxshi eriydi. Molekulyar massasi 40-50 kDa atrofida. Streptokinaza preparati trombnii ichiga kiraoladi va uni ichiga fibrinolizni faollashtiradi. Ayni mana shu xususiyati bilan plazmindan farq qiladi. Dunyo bozorida mikroba streptokinazalari: kabikaza ("Kabi vitrum" firmasi), streptaza ("Hoechst" firmasi), streptokinaza ("Smith kline" firmasi) nomi bilan savdoga chiqarilgan.
- **Streptodekaza**- streptokinazani uzoq vaqt davomida ta'sir etadigan (prolongiravannyi) preparati, immobillangan fermentlar guruhiga kiradi. O'rtacha terapevtik dozasini bir marotaba kiritilishi qonni fibrinolitik faolligini 48-72 soat ko'taradi.
- **Antikoagulyantlar**.Eng xavfsiz preparatlarga heparin va uning xosilalari kiradilar. Heparin qonni suyuq holatda ushlab turuvchi gumoral faktorlarga kirib, u kaogulyasiya tizimining deyarli barcha faktorlari bilan yuqori darajada bog'lanish xususiyati ega. Heparin, serin proteazalarni va fibrin tizimini ta'sirini neytralizatsiya qiladi. Neytralizatsiya jarayoni antitrombin III-heparin (AT- III-heparin) kompleksi hosil bo'lishi hisobidan amalga oshadi. Heparin preparati geterogen bo'lib, AT- III bilan yuqori va past darajada bog'lanish xususiyatiga ega bo'lgan fraksiyalardan tashkil topgan. AT- III-plazminogen aktivatorlarini ingibitorlari hisoblanadi. Tibbiyotda past molekulali yoki fraksiyalarga ajratilgan heparin preparatlari-logiparin, fraksiparin, dalteparin, klivarin nomlari bilan ishlatiladi.
- **Girudin**- tibbiyot zulugining (Hirudo medicinalis) so'lak bezlaridan ajraladigan oqsil modda, to'g'ri va tez ta'sir qiladigan antikoagulyant. Uzoq yillardan beri kichik qon tomirlarini tromboemboliyasini davolash maqsadida ishlatilib kelinadi. Girudin trombinni kuchli va spetsifik ingibitori hisoblanadi va tez ta'sir etuvchi qonni ivishiga qarshi ishlatiladigan (protivasvertivayuyushiy) preparatlar guruhiga kiradi, girudin fibrin iplarini hosil bo'lishi va to'planishiga qarshi ta'sirga ega.
- **S va S oqsillar**-antikoagulyant sistemaning muhim faktorlaridan hisoblanadi.
- **S oqsili** ivitish sistemasining vitamin Kga bog'liq bo'lgan ingibitori hisoblanadi. Qonda s oqsili miqdorini kamayib ketishi, trombozga olib kelishi mumkin. Bu oqsilni etishmasligi irsiy va keyin qabul qilib olingan bo'lishi ham mumkin: masalan, s oqsili etishmaganda tromboflobit rivojlanishi mumkin. S- oqsilini defitsiti, jigar kasallanganda seziladi.
- **S oqsili**, S oqsilini kofaktori hisoblanadi va u bilan trombotsitlarni, endoteliyal va boshqa hujayralarni fosfolipidli membranalari sifatida faollangan kompleks hosil qiladi. Oqibatda S oqsilini katalitik xususiyati ortadi. S oqsili ham vitamin Kga bog'liq hisoblanadi va manfiy

zaryadlangan fosfolipidlarga nisbatan yuqori darajada bog‘lanish (srodstvo) xususiyatiga ega.

Nazorat uchun savollar:

1. Dorivor moddalarni tasir etishi kerak bo‘lgan joyga olib borish uchun qanday usullardan foydalaniladi?
2. Trombolitiklar xaqida ma’lumot bering
3. Antikoagulyantlar xaqida ma’lumot bering
4. Streptokinaza
5. Streptodekaza

MA’RUZA №7

Fermentlar muxandisligi.Fermentlarni immobilizatsiyalash. Immobilizatsiya turlari

Ma’ruza rejasi:

1. Poliamid tashuvchilar.
2. Tabiiy polisaxaridlar va polimetilen turidagi sintetik tashuvchilar
3. Fermentlarni immobillashdagi afzaliklari .
4. Immobillangan fermentlarning katalitik hususiyatlari.
5. Immobillangan fermentlarning ishlatilish sohalari.
6. Enzimologiya sohasidagi fundamentalizlanishlar. Fermentlarni immobillashda material(hom ashyo)ga qo`yilgan asosiy talablar .

Oxirgi 25-30 yilda ikki fan kimyo va biologiya orasida yangi bir fan yo‘nalishi bo‘lmish kimyoviy enzimologiya tashkil topdi. Fanning bu yo‘nalishini tashkil topishini asosiy sababchilari - bu fermentlar va ferment hosil qiluvchi mikroorganizmlarni yoki alohida hujayra va to‘qimalarini immobilizatsiya holatida olish bo‘ldi.

Immobilizatsiya qilingan fermentlarni sanoat miqyosida olish va ularni ishlatish muammosi juda katta guruh mutaxassislarini hamkorlikda ishlashlarini taqazo etadi. Bu muammoni hal qilishni dolzarbligi esa, oliy ta’lim oldida bunday mutaxassislarni tayyorlashdek o‘ta muhim muammoni qo‘yadi. Bugungi kunga kelib bu muammoga ba’ishlangan yuzlab monografiyalar, ilmiy maqolalar to‘planmalari hamda minglab ilmiy - eksperimental maqolalar chop etilgan.

YUqorida keltirilgan manbalardan keltirilganidek, fermentlar tizimi xalq xo‘jaligini har xil tarmoqlarda: oziq-ovqat, farmatsevtika, to‘qimachilik, chorvachilik va boshqa bir qator sohalarda keng qo‘llanilib kelinmoqda.

SHunday bo‘lishiga qaramasdan fermentlarni qo‘llash masalasi uzoq vaqtlardan beri rivoj topmasdan kelgan. Bunga asosiy sabab fermentlar va fermentlar tizimining iqtisodiy qimmatligi edi. Ishlatilgan fermentlar tashlab yuborilavergan, buning ustiga ularni ishlab chiqarishni o‘zi ham juda qimmat bo‘lgan.

Albatta, mikrobiologiya sanoatini rivojlantirish hisobidan kerakli fermentlarni, kerakli miqdorda ishlab chiqarishni yo'lga qo'yish mumkin. Ammo bu ham unchalik arzonga tushadigan mahsulot emas.

Bundan tashqari fermentlarni ishlatishni to'xtatib turadigan eng kamida ikkita sababi bor:

- fermentlar saqlashda, ayniqsa tashqi muhit ta'siriga (haroratga) o'ta chidamsiz;
- fermentlarni qayta ishlatish juda murakkab masala, chunki ularni reaksiya sharoitidan ajratish imkoniyati yo'q.

Mana shu sabablarga ko'ra fermentlardan foydalanish o'zini oqlamay qo'yan edi. Ammo, bugungi kunda bu muammo butunlay hal qilingan.

Immobilizatsiya qilingan fermentlarni olish texnologiyasining yaratilishi bu muammoga chek qo'ydi.

1916 yilda D.J.Nilson va E.Griffin invertaza fermentini ko'mir maydasiga adsorbsiya qilinganda (immobilizatsiya qilinganda), uni faolligi saqlanib qolganligini kuzatdilar. 20-30 yillarda oqsil va fermentlarni adsorbsiya qilish muammosi bo'yicha qator maqolalar e'lon qilingan. Ammo bu maqolalarni mohiyati ilmiy muammolarga ba'ishlangan bo'lib, ishlab-chiqarish bilan bo'liq bo'lmagan.

1939 yilda D.J.Pfanmyuller va G.SHleyxlar proteolitik fermentlarni yo'och qipi'iga adsorbsiya qilish bo'yicha birinchi patentni olishga muvofiq bo'ldilar va olingan fermentni teriga ishlov berishda ishlatish mumkinligini isbotlab berdilar.

Fermentlar va sorbentlar orasida mustaxkam kon'yugatlar (bo'lar) hosil qilish mumkinligini birinchilardan bo'lib 1953 yilda N. Grubxover va D.SHleyglar ko'rsatib berdilar Bu olimlar ferment bilan sorbentni kovalent bo'lar bilan bo'lash mumkinligini va bu holatda ferment faoliyatini saqlab qolajagini isbotlab berdilar.

1950-60 yillarga kelib, bu sohadagi ilmiy yo'nalishlar ishlab chiqarishga uzviy bo'lash asosida olib borildi. Bu sohani rivojlanishda G.Maneke va E.Kachalskiylarni xizmatlari beqiyosdir.

Fermentlarni adsorbentlarga bo'lash natijasida geterogen katalizatorlar hosil bo'lishi o'z isbotini topgach, 1971 yilda Xeniker (AqSH) tomonidan fermentlar muxandisligi bo'yicha o'tkazilgan birinchi umumjahon konferensiyasida "Immobilizatsiya qilingan fermentlar" qonunga kiritildi. Ilmiy adabiyotlarda ba'zi vaqtlarda "erimaydigan fermentlar", "matritsaga kiritilgan fermentlar" degan iboralar ham uchrab turadi. Ularning asosiy mohiyati suvda erimaydigan sorbentlarga yopishtirilgan (tarmashtirilgan, ulangan va x.k.) degan ma'no bilan bo'liq.

Ammo "immobilizatsiya" so'zining kengroq tushinish lozim, xususan oqsil molekulasi maydonda harakatdan to'xtatish bilan bo'liq bo'lgan har qanday tadbir oqsilni immobilizatsiya qilish deb qaralmo'i lozim. YUqorida bayon etilgan usullardan tashqari, molekulalar ichidagi yoki molekulalar aro "Bo'lash", oqsilni kichik molekulali ikki funksiyalik molekulalar orqali boshqa oqsilga, yuqori molekulali polimerlarga, jumladan adsorbentlarga ham "bo'lash" yoki "ulash" usullari ham immobilizatsiya usullariga kiradi.

Immobilizatsiya qilingan fermentlar, oddiy suvda eruvchi fermentlar oldida bir qator ustunlikka ega bo'ladilar.

Birinchidan, ularni reaksiyon muhitidan ajratib olish juda ham oson, bu esa:

- a) reaksiyani hohlagan vaqtda to'xtatish;
- b) biokatalizatorni (fermentni) qayta ishlatish;
- v) kerakli maxsulotni toza holda olish (ferment bilan aralashtirilmaslik) imkoniyatini beradi.

IMMOBILIZATSIYA QILISH USULLARI

Immobilizatsiya qilish usullari ikkiga bo'linadi:

fizikaviy yo'llar bilan immobilizatsiya qilish;

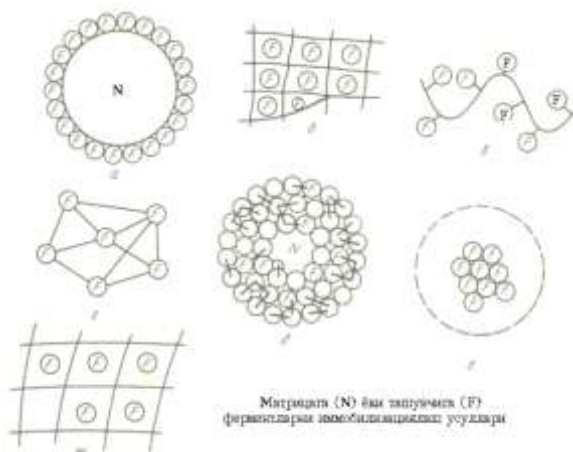
kimyoviy yo'llar bilan immobilizatsiya qilish;

Har qaysi usulda immobilizatsiya qilishda quyidagilarga e'tibor berish kerak; "tashuvchilar" (sorbentlar) ning tabiati va fizik-kimyoviy xususiyati organik va noorganik tabiatga ega bo'lishlari mumkin.

Immobilizatsiya qilishga mo'ljallangan "tashuvchi" larga quyidagi talablar qo'yiladi:

- kimyoviy va biologik mo'tadillik;
- mexanik nuqtai nazardan mustaxkamlik;
- ferment va uni substrati uchun o'tkazuvchanlik;
- texnologik jarayonlar uchun zarur bo'lgan shaklda olinishi
- osonligi (granula, membrana, varak va xokazo holatda).
- reaksiyon shaklda tez kirishi;
- yuqori gidrofilligi (immobilizatsiya jarayonini suvli muhitga o'tkazish uchun);
- arzonligi.

Immobilizatsiya usullari



Tabiiyki, bu talablarni barchasiga javob beraoladigan tashuvchilar yo'q. SHu sababli ham immobilizatsiya uchun juda ham ko'p materillardan foydalanishga to'g'ri keladi.

Organik polimerli tashuvchilar

Bunday polimerlarni ikki sinfga bo'lish mumkin: tabiiy polimerlar va sun'iy polimerlar. O'z navbatida tabiiy polimerlarni ham biokimyoviy xossalriga qarab guruhlarga bo'lish mumkin; polisaxaridlar; oqsil, lipid tabiatli tashuvchilar. Sun'iy, ya'ni sintez yo'li bilan olingan polimerlar ham guruhlarga bo'linadi, masalan, makromolekularni asosiy zanjirni kimyoviy tuzilishiga qarab, polimetilenlik, poliamidlik, poliefirlik tashuvchilar va x.k.

Immobilizatsiya qilish usulli, fermentni xususiyatini va ishlatilishiga qarab, "tashuvchi"larga bir qator qo'shimcha talablar quyiladi: kovalent immobilizatsiya qilinganda "tashuvchi" fermentni faolligini belgilovchi qismi bilan bo'lanmasligi lozim; (fermenti faollik markazi o'z holda bo'lishi shart), ferment faolligini pasaytirish xususiyatlari bo'lmasligi shart.

Immobilizatsiya qilish jarayonida quyidagilarni bilish lozim; "Tashuvchi" va ferment har xil zaryadlarga ega bo'lsalar, immobilizatsiya jarayoni tez va mustaxkam kechadi, aksincha bir xil zaryadga ega bo'lsalar jarayon kiyin kechadi; "tashuvchini" zarrachalari qancha kichik bo'lsa, sorbsiya qilish xususiyati shuncha baland bo'ladi. Immobilizatsiya jarayonida ko'proq polimetilen tipidagi "tashuvchi" lar boshqalarga nisbatan kengroq ishlatiladi.

Fizik usullarda immobilizatsiya qilish

YUqori ko'rsatib o'tilganidek, fermentni immobilizatsiyasi deyilganda, uni (fermentni) qanday bir alohida fazaga kiritilishi suv fazasidan ajralib turadigan va shunday vaziyatda o'zini asosiy xususiyati - substrat yoki effektorlar bilan aloqada bo'lish imkoniyatidan judo bo'lmasligini tushiniladi.

SHu aniqlikdan kelib chiqqan holda, fizikaviy immobilizatsiya qilish usullarini to'rt guruhga bo'lish mumkin:

suvda erimaydigan "tashuvchi" larga adsorbsiya qilish;

gel teshikchalariga kiritish;

yarim o'tkazgich membranalar yordamida fermentni reaksiyon tizimini boshqa qismidan ajratish;

fermentni ikki fazalik reaksiyon muhitga kiritish, bunday sharoitda ferment suvda eruvchan bo'ladi va ikkinchi fazaga kira olmaydi.

Keltirilgan klassifikatsiya shartlidir, chunki bu usullar orasida aniq ajrimlarni o'rnatish mumkin emas. Masalan, gel teshikchilariga kiritish usuli bilan immobilizatsiya qilishni, yarim o'tkazgich membranalar orqali ajratib turish deb ham qarash mumkin. SHunga qaramasdan bu klassifikatsiya fizikaviy usullar bilan immobilizatsiya qilishni bir tizimga solishda yordam bera oladi. Adsorbsiya qilish orqali immobilizatsiya qilish, eng ko'hna usullaridan hisoblanadi. YUqorida aytib o'tilganidek, 1916 yilda Dj.Nilson va E.Griffin invertaza fermentini foallashtirilgan ko'mirda va alyuminiy gidroksidi gelida immobilizatsiya qilganlar. Xuddi shu usuldan keyinroq, 1969 yilda I.SHibata L-aminoatsilaza fermentini immobilizatsiya qilishda foydalangan. L-aminoatsilaza fermenti N-atsetil-DL-aminokislotalarni bir birlaridan ajratishda sanoat miqyosida hozirgacha ishlatilib kelinmoqda. Umuman adsorbsiya usulida immobilizatsiya qilish boshqa usullardan osonligi, vazifani tez bajarish mumkinligi, tashuvchilarni arzonligi va boshqa bir qator ustunliklarga ega bo'lganligi uchun fermentlar muxandisligida keng qo'llanilib kelinmoqda.

Adsorbsion immobilizatsiya qilish uchun "tashuvchi" lar

Adsorbsion immobilizatsiya uchun ishlatiladigan "tashuvchi" larni ikki sinfga - organik va noorganik tashuvchilarga bo'lib o'rganish mumkun.

Noorganik tashuvchilar sifatida kremnezem, alyumin, titan va boshqa elementlar oksidlari, alyumosilikatlar (loylar), shisha, sopol, faollashtirilgan ko'mir va boshqalar keng ishlatiladi.

Organik tashuvchilar orasida keng tarqalganlari har xil polisaxaridlar polimerli ionalmashuv smolalari, kollagen, tovuq suyaklari va boshqalardir. Tashuvchilar kukun, kichik sharchalar, granulalar sifatida ishlatiladi. Ba'zi bir holatlarda, gidrodinamik qarshilikni pasaytirish maqsadida, tor parallel kanallar saqllovchi monolitlar sifatida ham chiqariladi.

Tashuvchilarni eng asosiy xususiyati sorbsiya qilish qobiliyati, teshikchalarini o'lchami, mexanik va kimyoviy barqarorligidir.

Adsorbsion immobilizatsiya qilish usullari

Adsorbsiya qilish yo'li bilan immobilizatsiya qilish eng sodda usullardan bo'lib, ferment eritmasini "tashuvchi" bilan aralashtirish yo'li bilan amalga oshiriladi. YOpishmasdan fermentni yuvib tashlagach, immobilizatsiya qilingan ferment ishlatilishga tayyor bo'ladi. Adsorbsion immobilizatsiya qilingan fermentlarni olish uchun quyidagi uslubiy ko'rsatmalardan foydalanadi.

Statistik usul eng oson yo'l bo'lib "tashuvchi" ferment eritmasiga tashlanib (solinib) hosil bo'lgan aralashma, ma'lum vaqtga tashlab qo'yiladi. Immobilizatsiya fermentni o'z o'zidan diffuziyasi tufayli boshlanib, adsorbsiya bilan tugallanadi. Bu usulni kamchiligi, ferment eritmasi bilan "tashuvchi" aralashmasi uzoq vaqt (bir necha kunga) tashlab qo'yilishi lozim. Laboratoriya sharoitida ko'proq aralashtirish usuli ishlatiladi. Bu usulda statistik usuldan farqli o'laroq ferment eritmasi bilan "tashuvchi" doimiy ravishda aralashtirib turiladi.

Aralashtirish uchun magnit aralashtirgich, mexanik aralashtirgich yoki mikrobiologik tebratgichdan foydalanish mumkin. Bu usul oldingisidan ancha ustun turib "tashuvchi" satxida fermentni bir tekis joylanishini belgilab beradi. Ba'zida adsorbsion immobilizatsiya qilish uchun elektrocho'ktirish usulidan foydalaniladi. Buning uchun ferment eritmasiga ikkita elektrod tushiriladi, ulardan bittasini satxida bir qatlam "tashuvchi" surtilgan bo'ladi. Elektrodlar tokka ulanganda ferment satxidagi faol guruhlar ($-NH_2$; $-COOH$ va x.k.) hisobidan "tashuvchi" saqlanayotgan elektrod tomonidan harakat qiladi va uni satxida cho'kadi.

Texnologiyada foydalanish uchun eng qulay usul - kolonkalardan o'tkazish usulidir.

Bu usulni ikki modifikatsiyasi bor, ulardan biridan "tashuvchi" to'ldirilgan kolonkadan tepadan pastga qarab, mikronasoslar yordamida ferment eritmasi haydaladi, ikkinchisida esa teskarisi, ferment pastdan tepaga qarab yo'naltiradi. Bu usulni afzallik tomoni, fermentni haydash, yuvish, va keyingi fermentativ jarayonlar, hech qanday manipulyasiyasiz bir kolonkani o'zida olib boriladi.

Ferment va "tashuvchi" orasidagi adsorbsion o'zaro ta'sirning tabiati

"Tashuvchi" satxida adsorbsiya bo'lgan ferment molekulalari har xil kuchlar hisobiga, xususan nospetsifik Van-der-Vaals, elektrostatik, o'zaro ta'sirlar,

vodorod boʻlari va gidrofob boʻlar hisobiga amalga oshiriladi. Sanab oʻtilgan boʻlarni nisbiy ishtiroki ferment molekulasidagi faollik guruhlari yoki "tashuvchi"ning kimyoviy tabiatiga boʻliq boʻladi. Koʻpchilik hollarda asosiy vazifani elektrostatik oʻzaro taʼsirlar va vodorod boʻlari tashkil etadi.

Baʼzi vaqtlarda oʻzaro taʼsir kuchi oqibatida "tashuvchi"ning tuzilishi buzilishigacha borish mumkin. Masalan, baʼzi oʻsimlik hujayralarini sitodeks granulariga adsorbsiya qilinganda hujayra devori deformatsiyaga uchragani kuzatilgan.

Fermentlar adsorbsiyasiga taʼsir etuvchi omillar Adsorbsiya oʻtish jarayoni va ferment bilan "tashuvchi" orasidagi boʻni mustaxkamligi, koʻpchilik hollarda immobilizatsiya qilish sharoitiga boʻliq boʻladi.

Ferment adsorbsiyasiga taʼsir etuvchi omillarga quyidagilar kiradi: tashuvchini `ovakligi va sirtini faolligidir.

Tashuvchini sorbsiya qilish hajmi uning sirtini faolligiga toʻri proporsional oqsil yoki fermentga kelganda bu qonuniyat faqatgina tashuvchini `ovakligi oqsil molekulasidan anchagina katta boʻlgandagina oʻz kuchini saklaydi. Tashuvchini `ovakligi juda kichik boʻlganda, fermentlar `ovaklarga siʼmasalar, fermentlar uchun tashuvchilar satxining maʼlum bir qismigina foydali boʻladi xolos.

Bunday paytlarda tashuvchining sorbsiya qilish imkoniyatlari juda kam boʻladi, boshqacha qilib aytganda, `ovaklar qancha kichik boʻlsa, tashuvchining adsorbsiya qilish imkoniyatlari shuncha kam boʻladi. ~ovaklarni moʻtadil hajmini hisoblashni birinchilardan boʻlib buni 1976 yilda R.Messing taklif etgan.

U shisha va sopol materiallardan tashuvchi sifatida foydalana turib, ularni `ovaklarini kattaligini (hajmini) oʻlchab chiqdi va `ovaklarni kattaligi ferment boʻyidan taxminan 2 marotaba katta boʻlgan hollarda tashuvchini adsorbsion imkoniyatlari maksimum boʻlishini tajribalardan isbotlab berdi.

Bunday holda substratni molekulyar oʻlchami fermentdan ancha kichik boʻlmoʻi va sorbsiya qilingan ferment `ovaklariga bemalol kirib turishlari lozim, albatta.

Substrat molekulasining hajmi fermentnikidan katta boʻlgan hollarda tashuvchining `ovakligi substrat molekulasini bilan belgilanadi. Baʼzi bir hollarda substratni oʻzi tashuvchi vazifasini bajarishi ham mumkin. Masalan, sellyulaza fermentini immobilizatsiya qilish uchun uning substrati boʻlgan sellyulozadan keng foydalaniladi.

pH belgilari

Reaksiya muhiti immobilizatsiya qilish jarayonida juda katta ahamiyatga ega, ayniqsa sorbsiya, elektrostatik oʻzaro taʼsir yordamida amalga oshirilgan holatlarda.

Bunga asosiy sabab rN oʻzgarishi bilan oqsil yoki tashuvchining sorbsiya uchun javobgar boʻlgan ionogen guruhlarni ionizatsiyasi oʻzgaradi. Ionalmashuv xossalriga ega boʻlmagan tashuvchilardan foydalanganda, sorbsiya oqsil yoki fermentni izoelektrik nuqtasida amalga oshirilsa yaxshi natija beradi.

Ammo bu qonuniyatni chetlab oʻtish hollari ham uchrab turadi. Masalan, albuminni lateksga sorbsiya boʻlishini har xil rN da oʻrganib chiqilganda bu jarayonni rN ga aloqadorligi W simon boʻlganligi, koʻmirda adsorbsiya qilinganda

esa moʻtadil rN 3 dan 6 gacha oʻzgarishi, bu oʻzgarish koʻmirni tabiatiga boʻliqligi isbotlangan.

Ion kuchi

Ferment bilan tashuvchi orasidagi boʻlanishni kuchiga taʻsir koʻrsatuvchi omildir. Tuzlarni yuqori miqdorda tashuvchi sirtidan elektrostatik yoʻl bilan boʻlangan fermentni siqib chiqaradi.

Boshqacha qilib aytganda, ion kuchini oshishi bilan fermentni desorbsiyasi oshib boradi. Baʼzi hollarda bunga aksincha taʻsir ham uchrab turadi, buni oqsilni "tuzlanishi" deb ataladi.

Fermentning miqdori

Eritmada fermentni miqdori oshib borgan sari, uni sorbsiya boʻlishi va immobilizatsiya boʻlgan fermentni katalitik faolligi oshib boradi.

Immobilizatsiya boʻlgan ferment faolligini, eritmadagi ferment miqdoriga nisbatan taqqoslab oʻrganganda shu narsa maʼlum boʻldiki, fermentni eritmadagi miqdorini oshib borishi bilan maʼlum nuqtagacha fermentni katalitik faolligi oshib boradi va undan keyin oʻzgarmasdan qoladi va hatto kamayishi ham mumkin.

Tekshirishlar shuni koʻrsatdiki, fermentni faolligi tashuvchi satxini butunlay qoplab olgunga qadar faollik oshib boradi, keyin esa ferment 2-chi, 3-chi qavat hosil qiladi va x.k. Oxirida, tashuvchining eng tepa qismida yopishgan fermentlar faollik koʻrsatadi, tagida qolganlari esa substrat bilan aloqa qila olmaydilar va oʻz-oʻzidan "ishsiz" qoladilar. SHuning uchun ham immobilizatsiya boʻlgan fermentni faolligi kamayadi.

Harorat

Haroratni oshishi adsorbsiya jarayoniga ikki xil taʻsir qiladi. Birinchidan, haroratni oshishi fermentni inaktivatsiyasiga (denaturatsiya) olib keladi, ikkinchi tomondan esa haroratni oshishi fermentni tashuvchi `ovaklariga diffuziyasini kuchaytirish hisobidan, ferment faolligini oshishiga olib keladi.

Demak, adsorbsiya yoʻli bilan immobilizatsiya qilishni moʻtadil sharoiti boʻlish kerak. Bunday harorat adsorbsiya qilinadigan fermentni tabiati va tashuvchi satxiga boʻliq boʻlib, har bir ferment yoki tashuvchi uchun qator tajribalar orqali topiladi.

SHunday qilib, fermentlarni adsorbsiya yoʻli bilan immobilizatsiya qilish bir qator omillarga boʻliq boʻlib, faqat tajribalar asosida aniq topiladi. quyida ferment bilan tashuvchi orasidagi boʻni kuchaytirishga xizmat qiluvchi omillar haqida fikr yuritamiz.

Fermentni tashuvchi bilan boʻlanish kuchini oshiruvchi usullar.

Oldindan modifikatsiya qilingan tashuvchilarga immobilizatsiya qilish

Tashuvchining oldindan modifikatsiya qilish adsorbsiya kuchini keskin oshirishga olib keladi. Bundan tashqari, ferment molekulasi atrofiga maxsus sharoitlar yasash hisobidan, oldindan modifikatsiya qilingan tashuvchida immobilizatsiya qilingan fermentni katalitik xususiyati ham ortib boradi.

Buning ustiga, oldindan modifikatsiya qilmaslik adsorbsiya qilingan fermentni faolligini butunlay yoʻqolishigacha olib kelish mumkin. Masalan, agar fermentni moʻtadilligi nordon sharoitda past boʻlsa, silikagelga sorbsiya qilingan fermentni faolligi butunlay yoʻqoladi, chunki, silikagelni satxi nordon muhitga ega (rNq4,0).

Bunday sharoitda, immobilizatsiyadan oldin silikagelni ma'lum rN ga ega bo'lgan buferda fermentni mo'tadil rN ga to'ri kelgan rN da saqlab turish lozim bo'ladi.

Xuddi shunday muammo, faol markazida metall saqlaydigan fermentlar bilan ishlaganda kelib chiqadi. Bunga sabab, ba'zi bir tashuvchilar o'zlariga metall ionlarini tortib olish qobiliyatiga egalar. Bunday tashuvchilarda adsorbsiya qilingan fermentlar, o'z faol markazidagi metalni chiqib ketishi hisobidan faoliyatlarini yo'qotishlari mumkin. Bu holni bartaraf etish uchun, tashuvchini maxsus metall ionlari saqlagan eritmalarda uzoq vaqt ushlab turish va shu tufayli uni metall ioniga nisbatan bo'lgan ehtiyojini qondirish mumkin bo'ladi.

Tashuvchilarni metall ionlari bilan to'yintirish adsorbsiya yo'li bilan immobilizatsiya qilishni mo'tadillashtirishda ham ishlatiladi. Tashuvchi sirti metall ionlari bilan to'yintirilganda (buning uchun Ti, Sn, Zr, V va Fe ishlatiladi), fermentni sorbsiya qilish xususiyati ortadi, bunga sabab metall ioni ferment bilan tashuvchi orasida ko'prik bo'lib xizmat qilishidir. Immobilizatsiyaning bu usuli, sellyuloza, neylon shisha filtr qo'oz kabi tashuvchilardan foydalanganda yaxshi natijalar berishi isbotlangan.

Oldindan modifikatsiya qilingan fermentlarni immobilizatsiya qilish

Ionalmashuvchi tashuvchilarga adsorbsiya yo'li bilan immobilizatsiya qilishda izoelektrik nuqtasi va rN –mo'tadilligi bir-biriga yaqin bo'lgan fermentlar bilan ishlanganda qator muammolar paydo bo'ladi. Ferment bilan tashuvchi orasidagi mustaxkam bo'lanish faqatgina, izoelektrik nuqtadan uzoqroq bo'lgan rN da, ya'ni fermentni katalitik xususiyati past bo'lgan sharoitda amalga oshiriladi. SHuning uchun, ham fermentni oldindan modifikatsiya qilish, ya'ni ferment molekulasiga yangi ionogen guruhlar (polikislotalar, karboksimetil, sellyuloza, yantar kislotasi va x.k.) kiritish maqsadga muvofiq bo'ladi. Masalan, L-ximotripsin xlortriazinli rang bilan aralashtirilganda, uni izoelektrik nuqtasi ishqoriy tomonga siljishi, va shu tufayli ferment ko'pgina tashuvchilarga adsorbsiya bo'lishi, oqibat natijada esa katalitik faolligi saqlanib qolishi isbotlangan.

Boshqa bir misol, L-ximotripsinni KM-sellyuloza bilan modifikatsiya qilinganda, ferment neytral rN muhitida DEAE-sellyulozada yoki DEAE-sefadeksga faolligi saqlangan holda immobilizatsiya bo'ladi.

Ferment tashuvchi bo'ini mustaxkamligiga ta'sir etuvchi boshqa omillar

Immobilizatsiya bo'lgan fermentni tashuvchi satxidan oson yuvilib ketmasligi uchun adsorbsiya qilingan ferment qatlami bifunksional agentlar bilan ishlov beriladi. Natijada, tashuvchi satxida fermentlarni bir-birlariga bo'langan holatidan iborat yupqa plenka hosil bo'ladi. Bifunksional agent sifatida glutaraldegid, gossipol va boshqalarni ishlatish mumkin.

Immobilizatsiya qilishni original yo'li professor K.Martinek tomonidan namoyish etilgan. Buning uchun qisman kimyoviy destruksiya uchragan neylon iplaridan foydalaniladi. Tashuvchi, ferment eritmasiga solinadi va mexanik tortiladi, natijada neylonni `ovaklari yiriklashib, unga fermentning joylashishi osonlashadi.

Ma'lum vaqtdan keyin tortib turgan kuch olinadi va neylon yana o'z holatiga keladi, ferment esa `ovaklarda siqilib qoladi. Elektr toki yordamida ushlab turish usuli,

immobilizatsiyaning yangi usullaridan bo'lib, membranalar yordamida ajratilgan elektrodlar bilan kollektorlarda elektr maydoni hosil qilinadi. Kollektor qilib silikagel, ion almashuv smolalari, minerallar ishlatilishi mumkin. Ferment kollektorlarda elektrostatik va dipol-dipollik o'zaro ta'sir kuchlari orqali ushlanib qoladi. Bu usulni yomon tomoni shundan iboratki, immobilizatsiya tizimi hamisha elektr toki ta'sirida bo'lishi shart. Tok uzilsa yoki o'chsa ferment tashuvchidan yuvilib ketadi.

Xozirgi davrda fermentlar biologik katalizatorlar sifatida keng kulamda ishlatiladi. Fermentlar manbasi xayvonlar, usimliklar, va mikroorganizmlar xisoblanadi.

Xozirgi vaktida ikki mingdan ortik fermentlar soni aniklangan kup mikroorganizmlar fermentlar xosil kiladi, asosan mikroorganizmlarni ustirish vaktida kup mikdorda fermentlar ajratib olinadi. Bu fermentlar asosan oksil, kraxmal, selluloza, yog va boshka suvda erimaydigan moddalarni parchalovchi gidrolizga ta'luklidir.

O'simlik va xayvon tukimalaridan kura ustirilgan mikroorganizmlar kafasida fermentlar preparatlarini ajratib olish oddiy va oson xisoblanadi. Ba'zi fermentlar faqat mikroorganizmlar uzida topilgan. Bunday fermentlarga: tannoza, ratsemaza, keratinaza, keratinlar kiradi. Keratinlar soch, pay, shoxlar tarkibiga kiradi. Insoniyat uzining faoliyati davrida mikroorganizmlarning fermentativ aktivligini kup davrlardan beri ishlatilib kelinmokda. Mogor zamburugini ustirib undan kraxmal maxsulotlarini shakarlanishi va spirt olishda necha ming yil oldin Xitoyda, Koreyada va Yaponiyada kullab kelinmokda. Fermentlarni sanoatda ishlab chikarish sobik SSSR, Yaponiya, AKSH, Angliya, Fransiya, Gollandiya, Daniya, Shvetsariya, Chexoslovakiya, Vengriya, Polsha va boshka mamlakatlarda yulga qo'yilgan. Oxirgi vaqtlarda fermentlarni mikroorganizmlardan olishda asosiy mogor zamburugi bulsa, xozirda fermentlar va ba'zi bakteriyalar keng kulamda kullanilmokda.

Fermentlar muhandisligi – yangi ilmiy – texnik yo'nalish bo'lib, enzimologiya, biokimyo, kimyoviy texnologiya hamda iqtisodiy – injeneriya fanlari qatoriga kiradi.

Fermentlar muhandisligining asosiy vazifasi – biologik sistema tarkibidan yoki hujayra ichidan ajratilgan, sun'iy ravishda o'sish imkoniyatidan mahrum qilingan fermentlarning katalitik ta'siri va unda qo'llaniladigan biotexnologik jarayonlar yaratishdan iborat.

Fermentlar muhandisligi o'z oldiga:

A) Yangi modda yaratish;

B) Ma'lum bir moddani yaxshiroq sifatli qilib olish;

V) Texnik – iqtisodiy ko'rsatkichlarni ma'lum jarayonlarga nisbatan yaxshilash maqsadlarni amalga oshirishda ilmiy-tadqiqot ishlarini olib borishni maqsad qilib olgan.

Hozirgi zamon fermentlar muhandisligining asosida ferment yoki ferment sistemalarini immobilizatsiya qilish ishlari yotadi. Ammo bu masalani hal qilishdan oldin fermentlar tabiati haqida to'g'ri o'talib o'tamiz.

Ferment tarixi

1. “Ferment” atamasi XVII asrda gollandiyalik kimyogar Gelmont tomonidan ovqat hazm qilish mexanizmini muhokama qilishda taklif qilgan.

2. XVIII oxiri — XIX boshlarida oshqozon shirasida ovqat qayta hazm bo’lishi, so’lak ta’sirida kraxmal shakarga (glyukozaga) aylanishi ma’lum bo’ldi. Faqat qanday qilib amalga oshishi noma’lum bo’lgan.

3. XIX asrda Lui Paster achitqi ta’sirida uglevodlarning etil spirtiga aylanishini o’rganib, bu jarayonni achitqi hujayrasi kataliz qiladi degan xulosaga kelgan.

4. Bundan 100 yil oldin L. Paster va M. Bertlo, Yu. Libix spirtning bijg’ish jarayonida “ferment” va “enzim” atamaları har xil ma’noni anglatadi deb o’ylagan.

5. 1876 yili V. Kyune “ferment” (lot. *fermentum* - achitqi) – “tirik ferment”, “enzim” (grekcha - achitqi) – “jonsiz ferment” deb atashni taklif qilgan.

6. L. Paster vafotidan keyin ikki yil o’tib 1897 – yili E. Byuxner tajriba yo’li bilan achitqi hujayrasiz spirtning bijg’ishi achitqi hujayrasi kabi amalga oshishini “Aчитqi hujayrasiz spirtning bijg’ishi” ishida ko’rsatib berdi, 1907 yili shu ishi uchun “Nobel” mukofotiga sazovor bo’ldi.

Tirik organizmlarda sodir bo’ladigan barcha kimyoviy reaksiyalar mahsus katalizatorlar yordamida boradi. Oqsil tabiatga ega bo’lgan, kimyoviy reaksiyalarning tezligini oshiruvchi biologik katalizatorlar **fermentlar** deb ataladi. Fermentlar tirik organizmdagi 4000 ga yaqin biologik reaksiyalarni katalizlaydi. Organizmdagi moddalar almashinuvida fermentlar juda muhim rol o’ynaydi. Fermentlar tarkibiga ko’ra 2 xil bo’ladi: 1. Oddiy oqsillardan, ya’ni faqat aminokislotalardan tashkil topgan fermentlar **bir komponentli fermentlar** deyiladi. Masalan, ribonukleaza, tripsin, papain va boshqalar. 2. Agar fermentlar murakkab oqsillardan tashkil topgan bo’lsa, ya’ni ularning tarkibida aminokislotalardan tashqari boshqa birikmalar ham uchrasa, ular **ikki komponentli fermentlar** deb ataladi. Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida ishtirok etuvchi fermentlar ikki komponentli fermentlardir.

Ferment produtsentlarning seleksiyasi

Har qanday sanoat mahsulotini olishning biologik jarayoni uchun ikkita holat:

1. muayyan mahsulotga xaridor bo’lishi shart.
2. jarayonni ishlab-chiqarishga tadbiq etish iqtisodiy foyda keltiradigan bo’lishi kerak.

Sanoat sharoitida fermentlar asosan mikroorganizmlardan olinadi:

1. mikrob kulturalari seleksiyasiga (birlamchi seleksiya, mutatsiya, gen muhandisligi) bo’lgan zamonaviy usullar va o’sish sharoitini optimizatsiya qilish har qanday mikrob fermenti biosintezini amalga oshirishga imkon yaratadi.

2. sanoat sharoitida ishlatiladigan shtamm-produtsent, produtsent o’zini fiziologik ehtiyojidan ko’proq miqdorda sintez qilish imkoniyatiga ega bo’lsin.

3. mikroorganizmlarni o’stirish jarayoniga fasl faktorini ta’siri umuman bo’lmazligi shart.

4. har xil taksonomik guruhga mansub bo’lgan mikroorganizm-produtsentlar uchun fermentlarni keng spektri biosintezini xarakterli, ya’ni produtsentlar kerakli fermentlarni sintez qilishi kerak.

Produtsentlarni o‘stirish usullari

Mikrobiologik yo‘l bilan fermentlarni ishlab chiqarishni, iqtisodiy samaradorligini aniqlovchi omillardan biri-mikroorganizmlarni o‘stirish usulidir. O‘stirishni bir necha usullari mavjud: sirtqi (yuzaki), suyuq ozuqa muhitida (davriy), osib (juda ham kam ishlatiladi) va ozuqa muhitida to‘xtovsiz o‘stirish usullari.

Mikroorganizmlarni qattiq faza sirtida, yuzaki o‘stirish juda katta ahamiyatga ega. YAponiyada va Uzoq SHarqni boshqa mamlakatlarida ivitilgan bug‘doy yoki guruchga tuzlar solib, uy haroratida va steril sharoitda maxsus idishlarda zamburug‘ o‘stiriladi. SHu usulda amilaza, proteaza, pektinaza, sellyulaza va boshqa fermentlar olinadi. O‘tgan asrning 20-yillarida-antibiotiklar ishlab chiqarish boshlangan davrda-mikroorganizmlarni suyuq ozuqa muhitida, chuqurlikda o‘stirish usuli yaratilgan. Bu usuldan foydalanib, fermentlar biosintezini amalga oshirish, dastlabki tajribalarda o‘zini istiqbolli ekanligini ko‘rsatdi.

Sanoat fermentatsiyasini asosiy maqsadi energiyadan (o‘stirish harorati, ozuqa muhitini sterilizatsiya qilganda va uni aralashtirganda sarflanadigan energiya vax.k.) unumli va samaraliroq foydalanishdan iborat. SHuning uchun ham ozuqa muhitining komponentlarini energetik va ozuqaviy bahosi eng muhim omillardan hisoblanib, o‘stirish sharoitini tanlash ham katta ahamiyatga ega (harorat, rN, O₂ ni parsial bosimi, jarayonni davomiyligi va x.k.). Sanoat sharoitida mahsulotni tan narxini belgilashda fermentatsiyadan tashqari, ozuqa muhiti komponentlarini bahosi, energiya sarflari, xizmatchilarni mehnat harajatlari, apparatlarni ishlatishdagi harajatlar va boshqa muayyan jarayon bilan aloqador bo‘lgan xarajatlar e‘tiborga olinadi.

Nazorat savollari

1. Fermentlar muxandisligining maqsad va vazifalari
2. Fermentlarni biologic obyektdan ajratish usullari
3. Fermentlarni tozalash usullari
4. Fermentlar immobilizatsiyasi
5. Immobilizatsiyada qo‘llaniladigan tashuvchilar va ularga qo‘yilgan talablar

MA‘RUZA №8

O‘simliklar gen muxandisligi. Transgen o‘simlik yaratish texnologiyasi.

Ma‘ruza rejasi

1. Hujayra biotexnologiyasi
2. O‘simlik hujayralarini suyuq ozuqa muhitida o‘stirish va unda gen muxandisligi usullarini qo‘llash.
3. O‘simliklarda gen muxandisligi va biologik azotfiksatsiya.
4. Koleksion markazda saqlanadigan o‘simliklar genofondi.
5. Gen muhandisligining asosiy biotexnologik sxemasi

O‘simlik xujayra biotexnologiyasida ishlatiladigan terminlar

Fitogormonlar – o‘simliklarni o‘rish va rivojlanish regulyatorlari

Apikal meristema – hamma organlar va birlamchi to‘qimalar hosil bo‘lishini ta‘minlovchi hujayralarning paydo qiluvchi guruxidir.

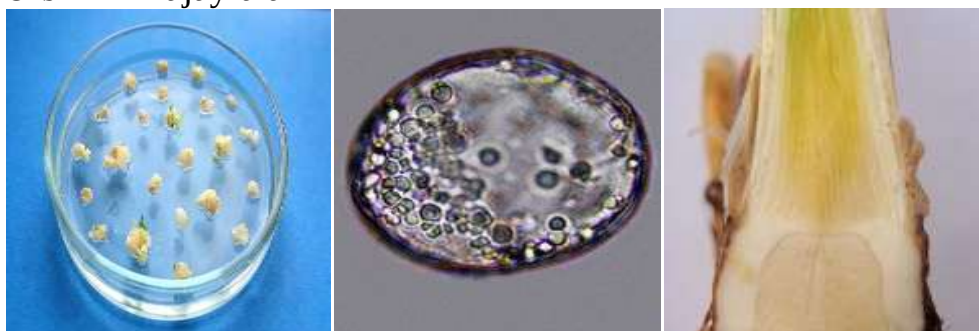
Eksplant – ona organizmidan uzoqlashgan hujayralar guruxi

CHangdon – gulli o‘simliklarning changini saqlovchi tashchinka qismi

Somatik (jinsiz) embriogenez – somatik hujayralarni murtaksimon tuzilmalardan shakllanish jarayoni

Androgenez – otalanish jarayonida spermalar ta‘sirida hosil bo‘lgan erkak yadrosi bor bo‘lgan tuxum hujayrasini rivojlanishi

O‘simlik xujayralari



in vitro bioob‘ekt kulturalarini o‘stirish uchun qo‘yiladigan talablar

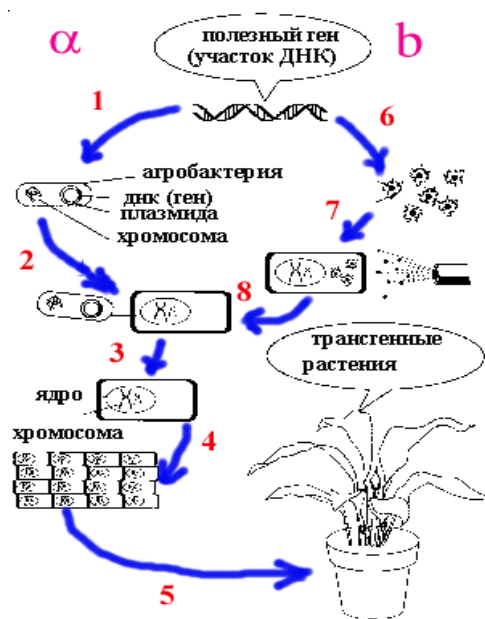
Aseptika – avtoklavlash, bakterial filtrlar orqali filtrlash, ultrabinafsha nurlar, antibiotiklar yuborish va dezinfeksiyalash

Balanslashtirilgan oziqa muxiti – kulturani hamma talablarini qoniqtiruvchi bo‘lishi. Ayniqsa muhim komponent – fitogormonlar bo‘lishi shart.

SHaroit – juda kam yorug‘lik yoki butunlay qorong‘i, harorat, aeratsiya va namlik.



Hujayra biotexnologiyasi – hujayra, to‘qima va protoplastlarni ishlatishga asoslanadi. Hujayralarni manipulyasiya (faoliyatiga qandaydir o‘zgarishlar kiritish) qilish uchun, ularni o‘simlikdan ajratib olish, o‘simlik organizmidan tashqarida yashashi va ko‘payishi uchun sharoit tug‘dirib berish lozim. Ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni sun‘iy oziqa muhitida, steril sharoitda (*in vitro*) o‘stirish usuli ajratilgan **to‘qimalar kulturasi** deb nom oldi va ularni biotexnologiyada ishlatish mumkinligi sababli katta ahamiyat kasb etdi. Biotexnologik jarayonlar sun‘iy oziqa muhitida o‘stirilgan mikroorganizmlar, o‘simlik va hayvon to‘qimalari, hujayralari va organellalaridan foydalanishga asoslanadi. Hozirgi vaqtda dunyoni ko‘plab mamlakatlarida biotexnologiyani rivojlanishiga alohida e‘tibor berilmoqda. Bunga asosiy sabab, biotexnologiyani boshqa texnologiyalarga nisbatan bir qator ustunlikka egaligidir. Masalan, biotexnologik jarayonlar juda kam energiya talab qiladilar, deyarli chiqindisiz, ekologik toza va h.k. SHuning bilan bir qatorda, biotexnologiya standart jihozlardan va preparatlardan foydalanadi va iqlim sharoitiga qaramasdan hamda ko‘p maydon egallamagan holda jarayonlarni yil bo‘yi o‘tkazishga asoslanadi. Aytib o‘tilgan ustunliklar, o‘simliklarni va hayvonlarni hujayralari, to‘qimalari va organlariga ham tegishlidir.

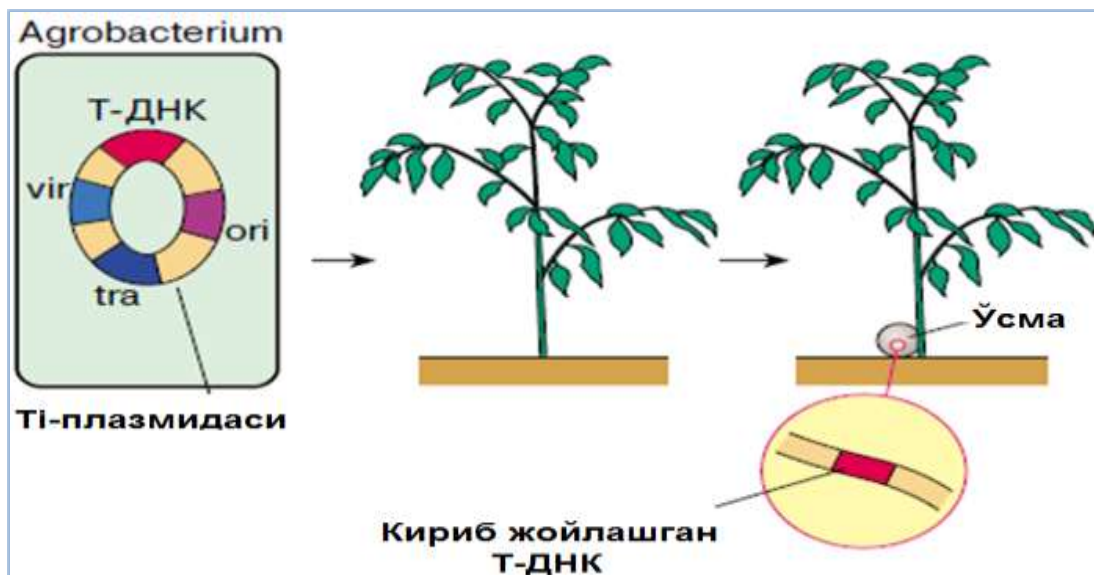


О‘СИМЛИК HUJAYRASIGA TRANSFORMATSIYA QILISH USULLARI

1. **Agrobakteriya bilan hamkorlikda o‘stirish.**
2. **Genlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri o‘tkazish usullari.** Ko‘pchilik hollarda o‘simlik hujayrasiga genlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri o‘tkazishda o‘simlik protoplastlaridan foydalaniladi.
3. **DNK mikroin’eksii.**
4. **Elektroporatsiya.**
5. **Liposomalarga qadoqlash.**
6. **Vakuumli infiltratsiya.**
7. **Bioballistik transformatsiya usuli.**

O‘simlik genomiga transformatsiya qilinuvchi vektorlar

1. **Ti-plazmida vektori asosida:**
 - a) kointegrativ vektori;
 - b) binar vektori.
2. **Ri-plazmida vektori asosida.**
3. **DNK-saqlovchi o‘simlik viruslari asosida tayyorlangan vektorlar.**
4. **Mobil elementlar (transpozonlar) asosida vektorlar.**



O'sma hosil qiluvchi agent Ti-plazmidasi hisoblanib, unda T-DNK qismi (transformatsiyalovchi DNK dan) o'simlik genomiga kirib joylashadi; vir-sohasi esa T-DNK qismini kesib olib, o'simlik genomiga tashib brishni ta'minlaydi; tra-sohasida bakteriya kon'yugatsiyasini boshqaruvchi genlar joylashgan bo'ladi, va ori-sohasidagi genlardan chiqqan mahsulotlar Ti-plazmida replikatsiyasini ta'minlaydi.

O'simlik hujayrasi orqali in vitro sharoitida yaratilgan biologik tizim, shakllangan o'simlikning ayrim belgilarini o'zida saqlaydi. Bunday sun'iy biologik tizim ikki xili mavjud: biri kallus ko'rinishida bo'lib, ikkinchisi esa hujayralarning suspenziya holatidadir. Kallus geterogenli bo'lib, differensiyalanmagan hujayralarning yig'indisidir. Mazkur massa, to'liq o'simlikka o'xshash ayrim metabolitlarning sintezlash faoliyatiga ega.

Hujayralarning suspenziyasi kallusga nisbatan gomogen bo'lganligi uchun tezroq o'sish va muhitga moslashish qobiliyati yuqori bo'ladi. Hujayraning alohida o'simlikka aylanishi u uchun juda kuchli stress omili desa bo'ladi. Bu jarayonda hujayra metabolizmini ko'p tomonlari o'zgarishga yuz tutadi. Birinchi navbatda mazkur tizim genomning funksional qirralari o'zgaradi. Yashashga moslashuvchi genlar faollansa, hujayralarning differensirovkasi uchun javob beradigan genlar repressiyalanadi.

Hujayralar majmuasining bunday holati mikroob hujayrasiga nisbatan metabolitlarni ko'proq sintezlaydi. O'simlik hujayralarining kallus xolati genetik va biokimyoviy tadqiqot izlanishlari uchun ajoyib modeldir. Masalan, to'liq o'simliklarda individual oqsillarning sintezi va ularning stabilligini kuzatish juda murakkab bo'lib, hujayra ekmasida bunday ilmiy ishlarni osonlik bilan bajarish mumkin. Xujayralarning to'plami bo'lgan ekmada ilmiy-amaliy ishlar olib boriladi.

Protoplastlarning qo'shilishidan hosil bo'ladigan o'simlik regenerantlarini tayyorlash mumkin. O'simlik hujayra qobig'ini ferment yordamida gidrolizlab, "kiyimsiz" hujayra yoki protoplastlari ajratiladi. "Tashqi qobig'i" yo'q hujayralarni bir-birlai bilan qo'shilishini, o'simlik hujayralarini bunday qo'shilishi hayvon hujayralarini qo'shilishiga o'hshasa ham, biroq jiddiy farqlar mavjuddir. Hayvon hujayralari qo'shilsa yangi hujayra hosil bo'ladi, o'simlik protoplastlari

qo'shilishidan ham gibrid hujayra hosil bo'lib, so'ng o'simlik shakllandi. Paraseksual gibridlanish asosida felogenetik bir-biridan uzoq, jinsiy yo'l bilan chatishtirib bo'lmaydigan, o'simlik turlarini gibridlash mumkin. Mazkur usul orqali gibridlanayotgan ikki tur o'simliklaridagi genlarni har xil variantlarda o'zgartirish mumkin.

Ikki xil protoplastlarni qo'shilishini ta'minlaydigan induktor polietilenglikol yoki o'zgaruvchan elektr maydoni bo'lishi kerak. Aralashma oynaga tomizilib, 15-20 daqiqadan keyin qo'shilgan aralashma ajratilib, maxsus oziqali muhitda o'stiriladi. Ma'lum vaqtdan so'ng, hujayra qobig'i regeneratsiyaga uchrab, u gibridga aylanadi. SHunday somatik gibridlardan birlamchi va ikkilamchi metabolitlarni ajratish mumkin. Birlamchi metabolitlardan amaliyot uchun o'simlik fermentlari katta ahamiyatga ega. O'simlik fermentlarining ba'zilar mikroorganizm fermentlariga nisbatan kam toksik xususiyatga ega bo'lib, toza holda bo'lmasa ham sanoat va tibbiyotda ishlatish mumkin. O'simlik hujayralari turli metabolitlarni sintezlaydi. O'simlik hujayralari sintezlaydigan ikkilamchi metabolitlarni ko'pchiligini laboratoriya sharoitida sintezlab bo'lmaydi. SHunday qilib, o'simlik hujayralari tomonidan sintezlanadigan juda ko'p metabolitlar sanoat va tibbiyotda keng ishlatiladi. O'simlik hujayralarini klonlash, maqsadga muvofiq mutatsiyaga uchatish orqali gen muhandisligi asosida arzon, sifatli, miqdori ko'p bo'lgan metabolitlar olinib, har xil maqsadlarda ishlatilmoqda.

Ikkilamchi modda almashinuvi asosida hosil bo'ladigan ko'pchilik mahsulotlar, hozirgi kunda, o'simlik hujayrasi ishtirokida laboratoriya va sanoat miqyosida ajratib olinmoqda. Jumladan, yurak glikozidlari, steroid, alkaloid va boshqa qimmatli dori-darmon yuqorida ko'rsatilgan usul asosida, o'simlik hujayralaridan ajratish yo'lga qo'yilgan. Mazkur sohaning muammolaridan biri shuki, genetik turg'un o'simlik hujayralarini yaratishdir. Ma'lumki, metabolitlar hujayra shirasida yoki vakuolalarda to'planadi. Bu o'rinda shuni aytib o'tish joizki, hozirgi kunda gen muxandisligi ushbu metabolitlarni ajratish, tozalash o'ziga xos qiyinchiliklarga ega ekanligi bilan ancha muammo tug'dirmoqda. O'simlik hujayralarini genetik transformatsiya qilish yaxshi natijalar bermoqda. Transformatsiyaning mohiyati shundan iboratki, protoplastlarga maqsadli genetik axborot kirgizilib, keyingi bosqichda klonlash va regeneratsiya asosida to'liq o'simlik hujayrasi hosil qilinadi (gen muhandislik texnikasi keyingi bobda yozilgan. Ko'rsatilgan rasmda (42-rasm) transformatsiyalangan protoplast → hujayra suspenziyasi → kallusli to'qima → to'liq o'simlik hosil bo'lishi tasvirlangan. Mazkur usulning o'tkazish jarayonida birinchi va oxirgi bosqichlar bir oz murakkab va muhim hisoblanadi. So'nggi operatsiya qimmatli va samarali bo'lib, bu jarayonda yangi maqsadli transgen o'simlik etishtiriladi.

Nazorat uchun savollar:

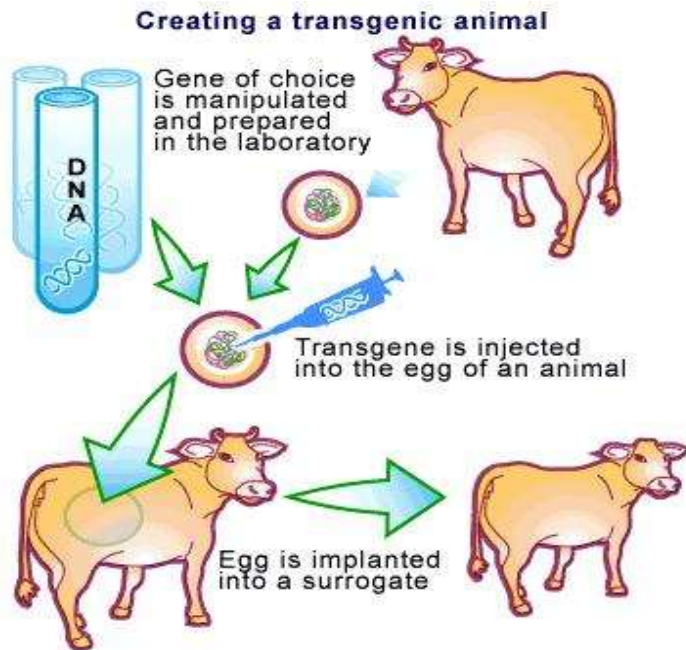
1. To'qimalar kulturas
2. Hujayra biotexnologiyasi
3. O'simlik fermentlari
4. O'simlik hujayralarining genetik transformatsiyasi
5. O'simlik hujayrasiga transformatsiya qilish usullari

MA'RUZA №9

Hayvon va odam organizmlari gen muxandisligi. Transgen hayvonlar yaratish usullari

Ma'ruza rejasi

1. Zoobiotexnologiyada gen muxandisligi, uning farmatsiya va qishloq xo'jaligidagi ahamiyati.
2. Gen muxandisligidan foydalanib transgen hayvon yaratish.
3. Transgen xayvon yaratish usullari



So'ngi 10 yil mobaynida gen muxandisligi biotexnologiyasiga asoslangan metodologiya o'simlik va hayvon seleksiyasida katta burilish yasadi. Har xil turga mansub o'simlik hujayralarini qo'shib yangi o'simlik turlari yaratish, samarali zot avlodlarini saqlab qolish uchun transgen hayvon yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. Bu texnologiya tez kunda o'zining istiqboli cheksiz ekanligini namoyon qildi. Natijada tadqiqotchilar hujayra genotipini qayta tuzish va genotipga maqsadga muvofiq yot genlar kiritish evaziga hujayra irsiyatini o'zgargirish imkoniyatiga ega bo'ldilar. Irsiyati o'zgartirilgan o'simliklardan va o'simliklarning har qanday hujayrasidan sun'iy sharoitda etuk organizm yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi.

Gen muxandisligi usulini qo'llaganda bu muammo engil xal qilinadi. Buning uchun takomillashtirilayotgan xayvon xujayrasiga qimmatbaxo sifatli gen kiritiladi va bu xujayradan zotdor xayvon olinadi. O'talangan tuxum hujayraga begona genlarni kiritilishi yordamida irsiy o'zgargan hayvonlarni yaratish g'oyasi amaliyotda 1980 yillarda amalga oshirildi. Boshqa fanlarda bo'lgan singari, olimlar o'zaro ma'lumot almashinishi uchun yangi terminlar qo'llashga to'g'ri keldi. SHunday qilib, begona gen (ekzogen) DNK si orqali genotipi o'zgartirilgan hayvonlarni transgenli hayvon deb atashni, kiritilgan DNK ni esa transgen deb atashni, butun texnologiyani esa transgen texnologiya yoki transgenoz deb ataldi.

Transgen texnologiyasining ishlab chiqilishi va mukammalashuvi laboratoriya sichqonlarida amalga oshirila boshladi. 1980 yillarga kelib, sichqonlarning har xil liniyalariga 100 ortiq begona genlar kiritila boshladi.

Sichqonlarga begona DNK ni kiritishni amalga oshirish uchun har xil usullar qo'llanilgan:

- 1) Retrovirus vektorlari orqali, urg'ochi-retsipient embrioniga implantatsiya qilishdan oldin embrion hujayralarining boshlang'ich rivojlanish bosqichlarida kiritilishi;;
- 2) Otolangan tuxum hujayradagi kattalashgan sperma yadrosiga (erkaklik pronukleosga) mikroin'eksiya yordamida;
- 3) implantatsiya qilishdan oldin embrion hujayralarining boshlang'ich rivojlanish bosqichlarida irsiy o'zgartirilgan embrionli o'zak hujayralarining kiritilishi.

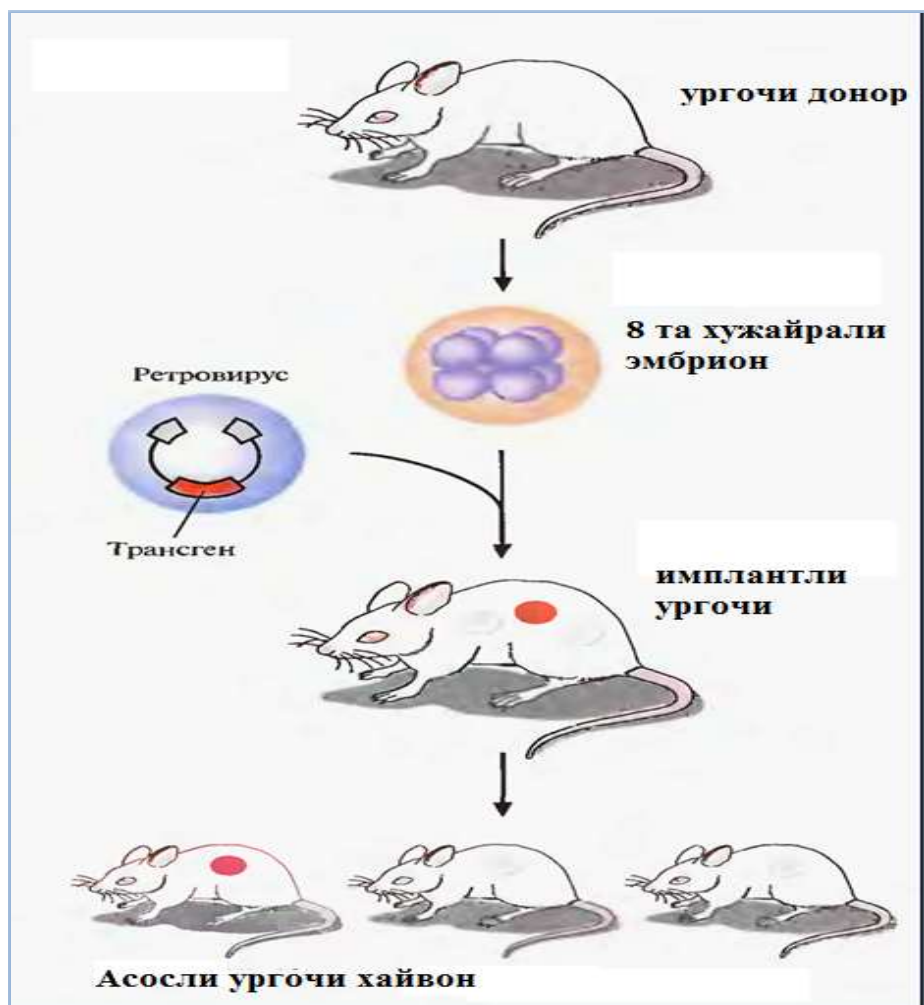
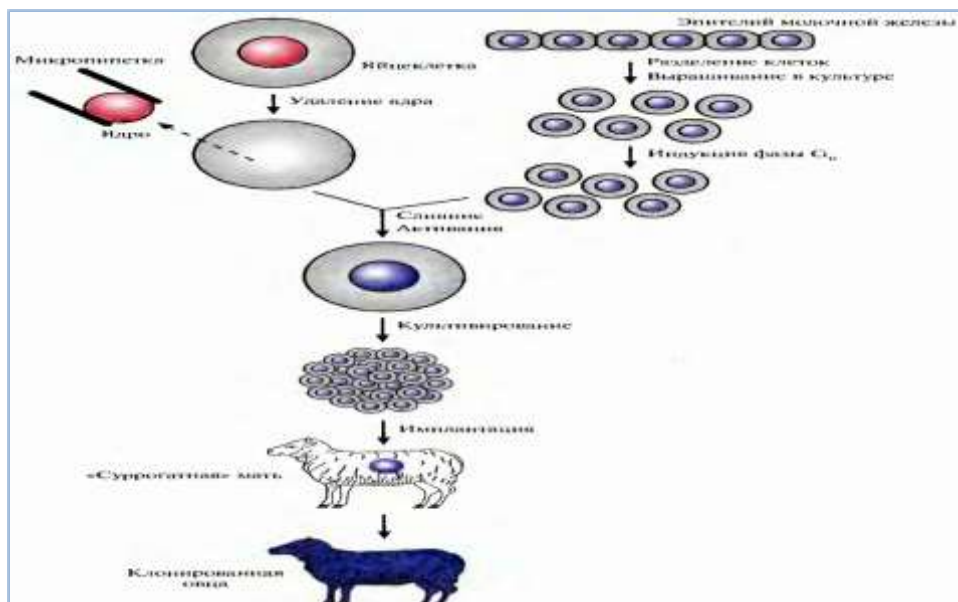


Transgenli baliqlar

Tabiiy baliqlar zaxirasi tugab borishi bilan sun'iy yo'l bilan baliqlarni ko'paytirish extiyoji tug'ilmoqda. Hozirda transgenli baliqlarni DNK mikroin'eksiyasi va elektroporatsiya usuli bilan karp, forel, losos baliqlari olinib kelmoqda. Mikroin'eksiya yordamida olingan baliq embrionlarning yashab qolishi juda yuqori bo'lib, 35-80% tashkil qiladi. Transgenli avlodlarning olinishi esa 10-70% tashkil qiladi.

YAdroni ko'chirib o'tkazish bilan klonlar olish

1997 yil YAn Vilmut va uning hamkasblari qo'y klonini rekonstruksiya qildilar va DOLLI ismli qo'y klonini yaratdilar. DOLLI birinchi klonlangan sutemizuvchi edi. Vilmut va uning hamkasblari SHotland qoratumshuq qo'ylari tuxum xujayrasiga Dorsett qo'ylari sut bezlari xujayrasi yadrosini transplantatsiya qildi. Tuxum xujayra yadrosi kombinatsiyasi, birlashishi va xujayraning bo'linishini rag'batlantirish elektr energiyasi hisobiga amalga oshirildi.



Retrovirusli vektorlarni qo'llash orqali transgen sichqonlar liniyalarini olinishi.

Embrionning 8 ta hujayradan iborat bo'lgan bosqichida transgen saqlagan rekombinant retrovirus bilan ta'sir qilish. Urg'ochi sichqonga implantatsiya qilingan embriondan (surrogat enaga) transgen avlod olinadi. Begona gen tashuvchi xomila hujayra liniyalarini aniqlash uchun bir necha chatishtirish ishlari olib boriladi

Keyingi vaqtlarda hujayra muxandisligini qo'llanilishi natijasida hayvonlarning klonini olish biotexnologiyasi yaratildi. Klon asosan bir bakteriya hujayrasining bo'linishi natijasida hosil bo'lgan, irsiyati miqdor va sifat jihatidan bir xil, teng bo'lgan bakteriya koloniyasi yoki aynan bir gendan ko'chirib olingan gen nusxalari yig'indisini tashkil etadi YUksak hayvonlar vegetativ yo'l bilan ko'paymasligi sababli ularning klonlarini olish yaqin yillargacha muammo bo'lib, 1977 yilda ingliz olimi **J.Gerdon** tomonidan hujayra muxandisligi usulini qo'llanishi natijasida yuksak hayvonlar klonlarini yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi.

So'nggi yillarda eng ijobiy ko'rsatkichga ega bo'lgan qoramol tuxum hujayrasini sun'iy sharoitda urug'lantirilgandan keyin zotsiz qoramolga ko'chirib o'tkazish yo'li bilan zotli qoramol klonini yaratish biotexnologiyasi amaliy samara berdi.

Molekulyar genetika, hujayra muxandisligi hamda gen muxandisligi fanlarining rivojlanishi biotexnologiya fanining istiqbolini yana ham oshirdi. Natijada tadqiqotchilar hujayra genotipini qayta tuzish va genotipga, maqsadga muvofiq yot genlar kiritish evaziga hujayra irsiyatini o'zgartirish imkoniyatiga ega bo'ldilar. Irsiyati o'zgartirilgan hayvon tuxum hujayrasidan sun'iy sharoitda etuk organizm yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. Irsiy kasallik keltirib chiqaruvchi genlarni izlab topish, ajratib olib ularni o'rganib, sog'lom genlar bilan almashtirish evaziga irsiy sog'lom hayvonlar turini yaratishdek o'ta qimmatli texnologiya vujudga keldi. Hayvon organizmini transformatsiya qilish va bu jarayonda ishlatiladigan markerlar tizimi ishlab chiqildi. Hayvon viruslari asosidagi vektor molekularlar konstruksiyalari yaratildi. Hayvon organizmiga genlarni kiritish va gen terapiyasining ko'pgina muammolari echildi. Rekombinant DNK olish texnologiyasidan foydalanib, gormon moddalarni mikrobiologik sintez qilish, tez rivojlanuvchi transgen hayvon olish, rekombinant DNKni zigotalarga kiritish, yadroni klonlash texnologiyalari yaratildi.

Nazorat uchun savollar:

1. Transgen xayvon yaratishdan maqsad?
2. Transgen xayvon yaratish usullari
3. Transgen xayvon yaratishda vektor sistemasidan foydalanish
4. Klonlash
5. Mikroinyeksiya usulida transgen sichqonlar olish texnologiyasi