

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

"TASDIQLAYMAN"

O'quvishlari bo'yicha prorektor
Z.A.Yuldashev



2020 yil "_____"

GEN MUHANDISLIGI

FANIDAN O'QUV-USLUBIY MAJMUA

Bilim sohasi: 500000 – Sog'liqni saqlash va ijtimoiy ta'minot
Ta'lim sohasi: 510000 – Sog'liqni saqlash
Ta'lim yo'nalishi: 5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik biotexnologiya)

Toshkent 2020 yil

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

GEN MUHANDISLIGI

FANIDAN O'QUV-USLUBIY MAJMUA

Bilim sohasi:	500000 – Sog'liqni saqlash va ijtimoiy ta'minot
Ta'lim sohasi:	510000 – Sog'liqni saqlash
Ta'lim yo'nalishi:	5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik biotexnologiya)

Gen muhandisligi fanning o'quv- uslubiy majmuasi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 20--- yil dagi ---- sonli buyrug' bilan tasdiqlangan o'quv reja va dastur asosida ishlab chiqilgan

Tuzuvchilar:

R.B.Norboboyeva- Biotexnologiya kafedrası v.v.b., dotsenti, b.f.n.

G.F. Zaynutdinova - Biotexnologiya kafedrası assitenti

Taqrizchilar:

B.A.Abdullaeva - TKTI VTSUF Enalogiya kafedrası mudiri

kafedrası kafedrası mudiri t.f.n.

F.N.Piraxunova -Toshkent farmatsevtika instituti, Tibbiy va biologik fanlar kafedrası dotsenti, b.f.n.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Biotehnologiya kafedrasining 2020 yil 26 iyundagi 21-son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

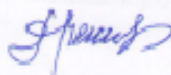
Kafedra mudiri



Yusupova N. F.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Sanoat farmatsiyasi soha- uslubiy kengashining 2020 yil 01 iyuldagi 12-son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Soha uslubiy kengash raisi



Xaydarov V.R.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Markaziy uslubiy kengashining 2020 yil 07 iyuldagi 12-son yig'ilishidagi muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Markaziy uslubiy kengash raisi



Yuldashev Z.A.

MUNDARIJA

1. O'QUV MATERIALLARI.....

MA'RUZA MASHGULOTLAR

1.1.

2. AMALIY MASHGULOTLAR.....

3. MUSTAQIL TA'LIM MASHGULOTLARI.....

4. GLOSSARIY.....

5. ILOVALAR.....

4.1. FAN DASTURI.....

4.2. ISHCHI O'QUV DASTURI

4.3. BAHOLASH MEZONI.....

4.4. ADABIYOTLAR RO'YXATI.....

	MUNDARIJA
1.	Gen muhandisligi faniga kirish, faninig ahamiyati va vazifalari
2.	Gen ontologiyasi
3.	Gen muhandisligining moddiy asoslari
4.	Rekombinant DNK olish texnologiyasi
5.	Mitoxondrial DNK
6.	DNK, RNK va kichik RHK larning ahamiyati
7.	O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari
8.	Hayvonlarni klonlash
9.	Transgen hayvonlar yaratish texnologiyasi
10.	Ximer hayvonlarni yaratish
11.	Genomni tahrir qilish
12.	Odam Genomi
13.	Organizmlarning genofondini saqlash. Genom bibliotekasi. Gen bank. Bioinfarmatika
14.	Gen terapiyasi
15.	Tibbiyot va farmatsevtika uchun ikkilamchi sintez moddalari olish
16.	Gen muhandisligi orqali olingan vaksinalar
17.	GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri
18.	Biotexnologik etika, bioterorizm. Gen muhandisligida bioinfarmatika

3. Laboratoriya mashg'ulotlari

2-jadval

T/r	Laboratoriya mashg'ulotlarining mavzulari
1.	Laboratoriyalarda ishlash texnika xavfsizligi qoidalari va steril sharoitida ishlash talablari
2.	Laboratoriyalarda ishlashlatiladigan asbob-uskunalar bilan tanishish
3.	Laboratoriyalarda ishlash jarayonida sterillash usullarini o'rganish
4.	Ozuqa muhitlari tayyorlash
5.	Agrobakteriyalar uchun ozuqa muhiti
6.	Agarozali gel tayyorlash
7.	Plazmid DNKsini ajratish va tozalash uslublari
8.	Plazmid DNKsining restriksion tahlili
9.	Agarozali gelda DNK elektroforezini amalga oshirish
10.	O'simlik bargidan DNK ajratish
11.	Protoplastlarni olish usuli
12.	Nuklein kislotalar ajratish

1. Mavzu.GEN MUHANDISLIGI FANIGA KIRISH, FANINIG AHAMIYATI VA VAZIFALARI

Reja:

- 1. Kirish.**
- 2. Gen muhandisligi faning ahamiyati va vazifalari.**
- 3. Gen faning asosiy yo‘nalishlari**
- 4. Molekulyar biologiya asoslari**

Qadim davrdanoq gen va hujayra muxandisligi, undagi jarayonlar kishilarning kundalik ehtiyojlarini qondirish maqsadida foydalanib kelingan bo‘lsada, amaliy fan sifatida XX asrda shakllandi. U hozirgi vaqtda insoniyatning eng asosiy dolzarb muammolaridan biri hisoblanmish – oziq-ovqat, energetik resurs, atrof-muhit ifloslanishining oldini olish bilan bog‘liq muammolari echimini topish zaruriyati tufayli yuzaga keldi.

Biotexnologik jarayonlar mikroorganizmlar, o‘simlik va hayvon hujayralari, sun‘iy oziqa muhitlarida o‘stirilayotgan hujayra, to‘qima va organlarni biosintetik potensialidan amaliy foydalanishga asoslanadi. Hozirgi vaqtda dunyoning ko‘plab mamlakatlarida biotexnologiyaning taraqqiyotiga asosiy e‘tibor qaratilmoqda, chunki boshqa texnologiyalarga qaraganda, biotexnologik jarayonlar energiya sarfining kamligi, deyarli chiqindisizligi, ekologik sofliqi jihatidan bir qator afzalliklarga ega. Bundan tashqari bu texnologiyalar muayyan asbob-uskuna, texnik qurilma va preparatlardan foydalanishni talab qiladi, shuningdek, iqlim sharoitlariga qaramasdan kichik hajmni egallaydigan maydonlarda ham tadqiqotlar o‘tkazish mumkinligi bilan ajralib turadi.

Zamonaviy biotexnologiya fan sifatida o‘tgan asrning qirqinchi yillari boshida shakllanib, 1953 yilda Djeymz Uotson va Frensis Kriklar tomonidan DNK qo‘sh spiralining fazoviy tuzilishi to‘g‘risidagi kashfiyotdan so‘ng jadal rivoj topdi. Bu sohada yangi strategik yo‘nalish-gen muhandisligi 1972 yilda, ya’ni, Pol Berg



laboratoriyasida birinchi marta DNK ning rekombinat molekulasi sintezlangach paydo bo'ldi. Bu esa biotexnologiyani uning asosiy bo'g'ini biomuhandislik (yadro biologiyasi) bilan bog'lab zamonaviy fanda asosiy o'rin

egalladi.

YUksak kashfiyotlar oralig'idagi tadqiqotlar mashhur olimlar G.Boyer, S.Koen, D.Morr, A.Baev, A.Belozerskiy, O.Eyveri, G.Gamov, K.Koran, F.Jakob, J.Mono, J.Bekvist, YU.Ovchinnikov, A.Spirin, R.Petrov va boshqalar tomonidan genlar va fermentlarning identifikatsiyasi, o'simlik, mikroob, hayvon hujayralaridan DNK molekulasini ajratish, genetik kodning o'qilishi, prokariot va eukariotlarda genlar ekspressiya mexanizmlari, oqsil biosintezini kashf etilishi bilan bog'liq ishlar bilan to'ldirildi.

O'tgan asrning 50- yillariga kelib biotexnologiyada yana bir muhim yangi yo'nalish – hujayra muhandisligi vujudga keldi. Uning asoschilari P.F.Uayt (AQSH) va D.Gotre (Fransiya)lardir. Bu yo'nalishning davomchilari sifatida A.Kursanov, R.G.Butenkolar tomonidan yaratilgan maktabga juda ko'plab yosh mutaxassislarni jalb etish orqali amalga oshirilgan sohaga oid tadqiqotlarni ko'rsatish mumkin.

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

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

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

Yangi, gen va hujayra muxandisligining yirik yutug'i genetik transformatsiya, o'simlik, hayvon va mikroorganizmlarning retsipient hujayralariga begona (tabiiy va sun'iy yaratilgan) donor genlarni kiritib, yangi yoki kuchaytirilgan belgi va xususiyatlarga ega transgen organizmlar olishdir. Mazkur yo'nalish o'z maqsad va imkoniyatlariga ko'ra, kelajakdagi strategik yo'nalishlardan biri bo'lib hisoblanadi. Bu tashqi muhitning noqulay stress omillariga chidamliligi yuqori mahsuldor va sifatli o'simlik, hayvon va mikroorganizmlarni yaratish, tabiat va ishlab chiqarishning barcha sohalaridagi ekologik vaziyatni sog'lomlashtirish borasidagi mutlaqo yangi muammolarni hal etish imkonini beradi.

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

Hujayra biotexnologiyasi hujayralarning nodir xususiyati ularning totipotentligi, yaxlit o'simlik organizmiga qadar regeneratsiya bo'la olish xususiyati, shuningdek, ular tomonidan ikkilamchi sintez birikmalarining ishlab chiqarilishi, seleksiyada: chidamlilik, hosildorlik va sifat; qimmatli genotiplarning ko'payishi; o'simliklarni virus va viroidlaridan sog'lomlashtirish; tibbiyot va oziqa maqsadlarida qo'llaniladigan biologik faol preparatlarni olishda foydalaniladigan qishloq ho'jalik o'simliklarining yangi shakl va liniyalarini olish imkonini berdi. Bu sohada ko'plab qiyinchiliklar yuzaga keldi, ularning asosiylari hujayralar regeneratsiyasi chastotasining kamligi va organizmning normal ontogenezining buzilishi, samoklonal variatsiyalarning tor

spektri organizmlarning muhim qimmatli ho‘jalik ahamiyatiga molik belgilari va moddalarning ikkilamchi metabolizmini nazorat qiluvchi genlar ekspressiyasining sustligi kabilar hisoblanadi.

Dunyo fanida biotexnologiya borasidagi kuchli qo‘zg‘alish o‘tgan asrning 80 – yillarida ro‘y berdi, ya’ni, yangi uslubiy yondoshishlar ularda fan va amaliyotda samarali foydalanishga o‘tish imkonini berdi va bundan katta iqtisodiy samara olish imkoniyati tug‘ildi. Ilmiy asoslangan taxminlarga ko‘ra, XXI asrning boshlardayoq dunyo bozoriga kelib tushadigan mahsulotlar umumiy hajmining qariyb 20 % ini biotexnologik mahsulotlar tashkil etadi.

Gen muhandisligi, biomuhandislikning taraqqiy etgani sari bu vaqt mobaynida G‘arbiy Evropa, Amerika, Rossiya matbuotida jamoatchilikning sohaga oid qarshi fikrlari ham chop etildi, bu borada hozirga qadar turli qarama-qarshi g‘oyalar ilgari surilmoqda.

Jamoatchilikning gen muhandisligi rivojiga nisbatan bunday qarshi harakatlari negizida biotexnologiyaning yangi yutuq va g‘oyalarining mazmun mohiyatini chuqur anglab etmasdan, undagi oqibatlardan hadiksirash, ya’ni muayyan tabiati aniqlanmagan yangi kasalliklar o‘chog‘i paydo bo‘lishidan qo‘rqish va u orqali kelajakda amalga oshirilishi lozim ishlarning foydali va samarali tomonlarini ko‘ra olmaslik yotadi. Biotexnologiya fani rivojidadagi bunday to‘siqlarni bartaraf etishda keng jamoatchilik ommasini sohaga oid ma’lumotlar bilan tanishtirish, olib borilayotgan tadqiqotlar usullarini takomillashtirib, gen muhandisligi faoliyatidagi havfsizlikni ta’minlashga oid me’yoriy – huquqiy akt va hujjatlar, qonunlarga qat’iy rioya etib olib borish lozim bo‘ladi.

Molekulyar biologiya hayotni paydo bo‘lishini molekulyar darajada o‘rganadi, ya’ni tirik organizmlarning asosiy xossalari, o‘sishi va rivojlanishi, ko‘payish va differensiyalanish, irsiyat va immunitet, harakatlanish va tashqi muhitga moslashish va boshqa juda ko‘p biologik makromolekulalarning molekulyar asosini o‘rganishga va tushuntirishga qaratilgan fan.

Takrorlash uchun savollar:

1. Gen muxandisligi faning axamiyati va vazifalari qanday.
2. Gen faning asosiy yo‘nalishlari nimani o‘rgatadi.

3. Gen muxandisligi asoslarining maqsadi.

2. Mavzu. GEN ONTOLOGIYASI

- 1. Gen ontologiyasi predmeti, maqsadi vazifalari.**
- 2. Gen ontologiyasi yaratilish tarixi.**
- 3. Gen ontologiya biologik jarayonida "bosqichlarini" ifodalash**
- 4. Gen ontologiyasining boshqa fanlar bilan aloqasi.**

Biologiyaning zamonaviy yo'nalishlari biotexnologiya, genlar injinerligi, genomika, bioinformatika kabi yo'nalishlarining rivojlanishi fanda yangi termin gen ontologiyasi yuzaga kelishiga sabab bo'ldi. Gen ontologiyasi (ontologiya yun.ontos — borliq va ... logiya fan) predmetlariga mikroorganizmlar, o'simliklar, hayvonlar va inson genlari ularning mahsulotlari malumotlar ba'zasi va ularning annotatsiyalari kiradi.

Gen ontologiya loyihasi molekulyar va xujayra biologiyasida bir necha domenlarni ichiga oladi va genlar, gen mahsulotlari va sekvenslarni ma'lumotlarini tushuntirishda jamoatchilik foydalanish uchun keng imkoniyatlar beradi. Ko'p model organizmlarning ma'lumotlar ba'zalari va genom annotasiya guruxlarini yaratishda gen ontologiyadan foydalanadi va ularning annotasiyasida gen ontologiya manbalari o'rni kattadir.

Konsortsium gen ontologiya - bu "gen ontologiyasi" loyihasida faol ishtirok etayotgan bir qator biologik ma'lumotlar ba'zalari va tadqiqot guruhlaridir. Bu turli xil model organizmlar uchun bir qancha ma'lumotlar ba'zalari, jami oqsillar ma'lumotlar ba'zasi, " gen ontologiyasi " dasturiy ta'minot ishlab chiquvchilar va muharrirlar guruhini o'z ichiga oladi.

Gen ontologiyasi bioinformatika dasturlar bo'yicha loyiha bo'lib, barcha organizmlarning genlari va gen mahsulotlari standartlashtirilgan genetik ma'lumotlar ba'zalarini yig'ishga bag'ishlangan. Loyixaning maqsadi genlar va ularning mahsulotlari sifatlaridan birini aniq belgilangan ro'yxatini ma'lumotlar bazasiga joylash va yangilash; genlar va gen mahsulotlar uchun qo'shimcha annotatsiyalarni rasmiylashtirish; ortib borayotgan ma'lumotlar bazasi loyihasidan foydalanish uchun ma'lumotlar tarqatish. Gen ontologiyasi "Ochiq biotibbiyot ontologiyasi" deb nomlangan klassifikatsiyasi keng qamrovli qismi xisoblanadi.

Gen ontologiya deganda murakkab biologik hodisalarni yuzaga kelishi tasvirlangan noma'lum bir biologik ob'ektlarni tushinish kerak. Ontologiya dunyodagi ob'ektlar va ular orasidagi munosabatlar to'g'risidagi ma'lumotlar yordamida maxsus bilim yo'nalishlarini rasmiylashtirishda qo'llaniladi. Biologiya va boshqa tegishli fanlar uchun universal namunaviy terminologiya etishmasligi yuzaga keldi. Terminlar bu qiyin mulohazalar qilish kabi tushunchalarni ifodalaydi, lekin ancha bir biridan farq qilishim mumkin, turli tadqiqot soxalarida va xatto turli yo'nalish olimlari o'rtasida ishlatiladi. Shu munosabat bilan, "Gen ontologiya"

loyixasining vazifasi barcha organizmlarning genlarini va ularning mahsulotlarini vazifalari, funksiyalari, strukturasini va amaldagi ontologik atamalarni yaratishdan iborat.

Gen ontologiya boshqariladigan soʻzlar terminarlardan tuzilgan. Terminlar ontologiya nizomiga muvofiq uch yoʻnalish molekular funksiya, biologik jarayonlar va xujayra komponentlariga boʻlinadi. Xar bir ontologiya biror gen yoki gen mahsulotlarini funksional jixatdan hamda terminlar oʻrtasidagi aloqalarni tasvirlaydi. Tartibga soluvchi aloqalar ikki quyi sinflari bor: ijobiy tartibga soluvchi va salbiy tartibga soluvchi.

Gen ontologiyada tez-tez yangi oʻzgartirishlar boʻlib, atamalar yoki eskirgan malumotlar olib tashlanadi. Agar terminlar ontologiyadan oʻchirilgan boʻlsa belgilangan terminlar oʻz kuchida qoladi lekin eskirgan yorliqlar va termin barcha aloqalari olib tashlanadi. Aloqalarni oʻzgartirish annotatsiyalarga tasir qilmaydi chunki ularning gen ontologiyada joylashgan oʻrniga emas balki annotatsiyalar oʻziga xos maxsus terminlarga yoʻnaltirilgan. Gen ontologiya loyihasi genlar funksiyalarini kataloglashtirish uchun katta manba boʻladi. Shunday boʻlsada undan hali hamma joyda foydalanilmaydi va xanuzgacha murakkabligicha qolmoqda.

Gen ontologiyasi yaratilish tarixi.

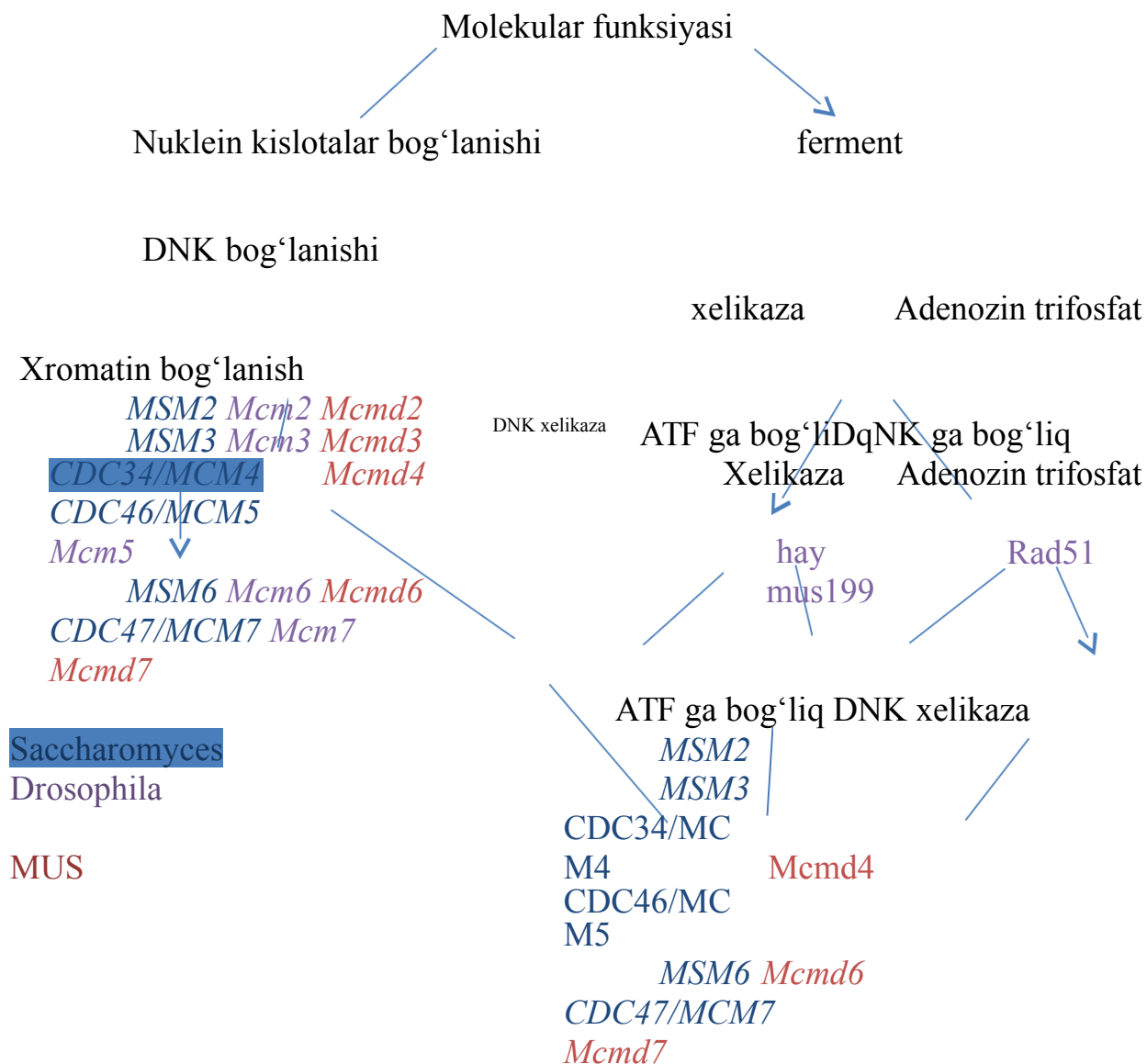
Gen ontologiyasi 1998 yilda tadqiqotchilar konsortsium asosida uch model organizmlar *Drosophila melanogaster* (meva pashshasi), *Mus musculus* (sichqon) va *Saccharomyces cerevisiae* (non achitqisi) genomlari oʻrganilib, ularni oʻqilishi va genetik maʼlumotlar baʼzasi yaratilishi asosida tashkil etilgan. Soʻngra boshqa model organizmlar uchun koʻp maʼlumotlar baʼzasini shu tariqa koʻrish va maʼlumotlaridan foydalanish, qoʻshimcha annatsiyalar baʼzasini yaratishni kengaytirish, kabi jarayonlarda gen ontologiyasidan foydalanildi.

Oʻsimlik, xayvon va mikroorganizmlar eng asosiy genetik maʼlumotlar baʼzalari bu loyixaga xissa qoʻshmoqda. 2008 yil yanvar xolatiga koʻra, gen ontologiya dasturi turli xil biologik organizmlarda qoʻllaniladigan 24.500 dan ortiq terminlarini oʻz ichiga oladi. U maʼlumotlar gen ontologiyasini rivojlantirish va undan foydalanish boʻyicha adabiyotlarda muxim tayanch xisoblanadi, va u bioinformatika sohasida tegishli standart vositasi boʻlib kelgan.

2011 yil Sentyabr xolatiga koʻra, gen ontologiyasi 360 ming dan ziyod tirik organizmlar uchun 33 mingdan ortiq terminlar va 12 million.

atrofida gen mahsulotlar annotatsiyasi mavjud. Soʻnggi bir necha yil davomida, gen ontologiya konsortsium gen ontologiya sifati va spesifik annotatsiya miqdorini oshirish uchun bir qator oʻzgarishlar amalga oshirildi. 2013 yilga kelib, annotatsiyalar soni 96 milliondan oshdi. Annotatsiya sifati avtomatlashtirilgan sifat nazorati yoʻli bilan takomillashtirildi.

Gen ontologiya biologik jarayonida "bosqichlarini" ifodalash Quyida uch model organizmlar misolida gen ontologiyasi tasvirlangan.



Uchta turli oganizmlar namunalari yordamida gen ontologiyasini tuzilishi va funksiyasini ifodalash ya'ni bir ontologiya ichida genlarni bogʻlanishi misol qilib keltirilgan. Ontologiyalar biologik kalit soʻzlardan tuzilgan.

Gen ontologiya konsortsium soʻnggi paytlarda biologik jarayonlarning bevosita kichik sinfi sifatida, yangi biologik bosqichini joriy etdi. Bu sinf biologik jarayonlar sodir boʻlishi mumkin boʻlgan paytida alohida davri yoki bosqichini ifodalaydi. Ular shuningdek, boshqa biologik jarayonlar bilan tartibga solinadi. Biologik jarayonlar murakkab hodisalar boʻlib, organizmlar xayoti uchun zarur molekular funksiyalarni amalga oshirilishi. Misol uchun turli biologik jarayonlar xujayra

boʻlinish sikli metafaza va profaza hamda xayz koʻrish payti, jinsiy xujayralarni qoʻshilishi va rivojlanish bosqichi.

Gen ontologiyasining boshqa fanlar bilan aloqasi.

Gen ontologiya biologiyaning boshqa yoʻnalishlari yani biotexnologiya, genlar injinerligi, genomika, bioinformatika, biokimyo, fiziologiya, proteomika kabi yoʻnalishlarda olib borilgan tadqiqotlarning maxsuli asosida yoʻnalish sifatida yuzaga keldi. Yuqorida koʻrsatilgan fanlar gen ontologiyasi maʼlumotlar baʼzasidan foydalanib kelmoqda. Biomeditsinada turli genetik kasalliklarni davolash, ularga tashxis qoʻyish ishlarida gen ontologiyasi majmuiga kiruvchi inson genomi maʼlumotlar baʼzasidan keng foydalanilmoqda. Bulardan tashqari qishloq hoʻjaligi maxsulotlarini genomlarini tadqiq qilib, yangi oʻsimlik navlari, hayvon zotlari yaratilishida, ularni maxsuldorligini oshirishda qoʻllanilmoqda.

Xulosalar

Gen ontologiyasi fan sifatida sohada eng yangi fundamental, amaliy va innovatsion yutuqlarni oʻz ichiga olgan holda, mikroorganizmlar, oʻsimliklar, hayvonlar va inson genlari ularning mahsulotlari malumotlar baʼzasi va ularning annotatsiyalari kataloglashtirdi. Shuningdek biologiyaning turli yoʻnalishlarida ilmiy faoliyat yuritish, fanda yuksak natijalarga erishish hamda ularning rivojlanishi mamlakatimiz iqtisodiyotini koʻtarishga xizmat qiladi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Plessis L, Skunca N, Dessimoz C (November 2011). «The what, where, how and why of gene ontology — a primer for bioinformaticians». *Brief Bioinform.* **12** (6): 723– 35. DOI:10.1093/bib/bbr002. PMID 21330331.
2. Smith B, Ashburner M, Rosse C, Bard J, Bug W, Ceusters W, Goldberg LJ, Eilbeck K, Ireland A, Mungall CJ, Leontis N, Rocca-Serra P, Ruttenberg A, Sansone SA, Scheuermann RH, Shah N, Whetzel PL, Lewis S (November 2007). «The OBO Foundry: coordinated evolution of ontologies to support biomedical data integration». *Nat. Biotechnol.* **25** (11): 1251– 5. DOI:10.1038/nbt1346. PMID 17989687.
3. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G (May 2000). «Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium». *Nat. Genet.* **25** (1): 25–9. DOI:10.1038/75556. PMID 10802651.
4. The GO Consortium.
5. The Gene Ontology Consortium (January 2012). «The Gene Ontology: enhancements for 2011». *Nucleic Acids Res.* **40** (Database issue): D559– 64. DOI:10.1093/nar/gkr1028. PMID 22102568.

6. Pereyti The Gene Ontology Consortium (January 2013). «Gene Ontology annotations and resources.». *Nucleic Acids Res.* **41** (Database issue): D530–
5. [DOI:10.1093/nar/gks1050](https://doi.org/10.1093/nar/gks1050). [PMID](#)

3. Mavzu. GEN MUHANDISLIGINING MODDIY ASOSLARI

Reja:

1. Rekombinant DNKlar texnologiyasi
2. Klonlash
3. Vektor molekulalarning funksiyasi
4. Vektorlar turlari
6. Gen muxandisligi fermentlari

Tayanch soʻzlar: prokariot xujayralar, vektorrekombinat DNK, klonlash, somatik xujayralar, restriktazalar

Viruslar bilan prokariot xujayralar orasidagi materialning koʻchirilishini, tabiiy sharoitda bakteriyalarda oʻtadigan rekombinatsiya mexanizmlarini oʻrganish, plazmidlar va moʻtadil faglarining xujayradagi xayotini tushunish genlar ustida turli manipulyatsiyalar oʻtkazish imkonini beradi. Olimlar qoʻlida DNK ning kerakli bir qismini bakteriya xujayrasiga koʻchirib oʻtkazadigan sistema — plazmidlar ham bor. Bunday transmissiv koʻchirib oʻtkazuvchi xalqali molekulalar — plazmidlar va moʻtadil viruslar **vektor** deb ataladi. Ular tabiatning oʻzi biologlarga taqdim qilgan sovgʻa boʻldi. Shunday ekan, endi bakteriyalarni kulturada (ular oʻsadigan muxitda) insonlar uchun kerakli oqsillarni, fermentlarni sintezlashga majbur qilib boʻlmasmikan?

Bu gʻoyalarning amalda yuzaga chiqishi **gen injenerligi** yoki **genetik injenerlik** deb atalgan va katta istiqbolga ega boʻlgan yangi soxani dunyoga keltirdi. Gen injenerligi qiskacha aytganda, genlar ustida turli manipulyatsiyalar oʻtkazish, ularni toʻla oʻrganish asosida funksional kismlariga ega boʻlish, kerakli joyidan kesish, kerakmas qismini olib tashlab kerak boʻlgan qismlarini boshka genlardan yoki sintez yoʻli bilan olib ulash va shu usulda tayyorlangan *duragay* yoki *rskombinat* genii muvofik organizmga kiritib (masalan, odamniig insulin genini mikroba xujayraga yoki sichqonning oʻsish gormoni genini kalamushga), zarur turlarni yoki preparatlarni sintez qilish va xokazo goyalar va texnologiyaning yingindisidir. Uning kiskadavr ichida bosgan xap bir kadamining oʻzi ulugʻ kashfiyot.

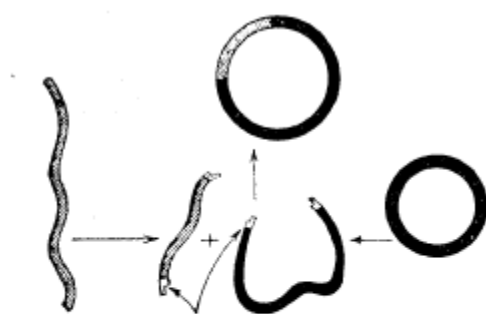
Gen injenerligining poydevori — *rekombinat DNKlar texnologiyasi* — genetik strukturalarni birga koʻshish texnikasi — molekular biologiyaning eng muxim yutuklaridandir. Bu texnologiyadan foydalanib, zarur maxsulot

(oqsil) ni kodirlaydigan DNK molekulasi piiiig kichik bir kismi — genni kesib olish, uning yot gen bilan kombinatsiyasini yaratish, so'ngra bu yangi genomni munosib xujayralarga kiritib xo'jayin-xujayra DNK sining sintez mexanizmi yordamida ko'p martalab ko'paytirish mumkin.

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

Ayrim DNK molekulalari genlar bir turining ko'p nusxasini hosil qilish uchun ilgari xujayralarning toza liniyalarini olishda ko'pdan beri ishlatiladigan **klonirlash** texnikasining molekulalarga moslashtirilgan varianta qo'llanadi. Xujayra liniyalarining bir xilligini klonirlash usuli bilan kuchaytirish mumkin. *Klon* deb birdan-bir old xujayradan kelib chikkan xujayralar populyatsiyasiga aytiladi Klonirlash asosan mutant xujayralar olish uchun ishlatiladi. Molekular klonirlash DNK ning aniq bir namunasini toza xolda ko'paytirishdan iborat.

Keyingi yillarda somatik xujayralarning ko'shilishiga (duragaylanishiga) ham erishish mumkin bo'ldi. Bunda avvalo ikkita yadroli, bitta



59- расм. Рекомбинат ДНК ни олиш схемаси:

Юқорида — рекомбинат ДНК; ўртада — ёпишқоқ учлар; ўнда — плазмид, ўртада (пастда) — рестриктаза билан кесил; чанда — хромосома ДНК си.

kombinirlangan xujayra — **geterokarion** kelib chiqadi. Vaqt o'tish bilan geterokarion mitotik bo'linib, bir yadroli *duragay* (gibrid) *xujayra* beradi. Uni klonirlash mumkin.

Bir turdan ajratib olingan DNK ni ikkinchi tur xujayrasiga bevosita kiritib, uning ekspressiyasiga erishib bo'lmaydi, chunki resipient (qabul kiluvchi) tur o'zining DNK sini saklaydigan kurolga ega. Ular modifikatsiya qiladigan

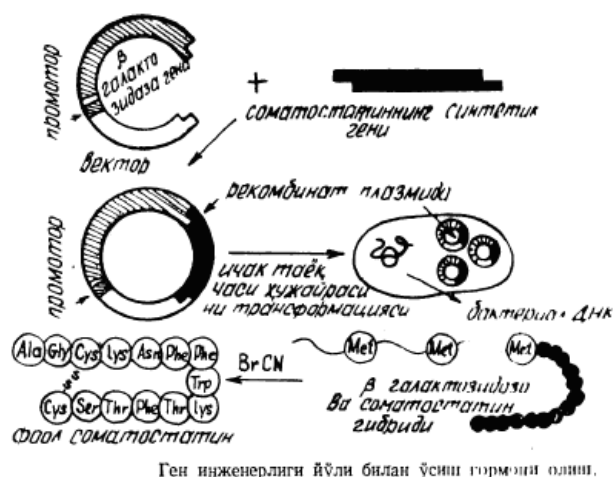
metilazalar va restriksiyalovchi endonukleazalardir.

DNK ni fragmentlarga kesish va uni bakteriyaga kiritish vazifasini oliy darajada bexato bajaradigan asbob tabiatning o'zyda tayyor, ular bakteriyalar — endonukleazalarning bir guruxi bo'lib chiqdi. Albatta, bakteriya xujayrasida DNK molekulasini kerakli joyidan kesadigan ferment insonlar

maksadi uchun tayyorlangan emas, bu asbobni bakteriyalar *uz* dushmani — viruslarga karshi kurashish uchun yaratgan. Lekin tabiatning donoligi tufayli kachonlardir paydo bo'lgan viruslar DNK sini chegaralaydigan (restriksiya) ferment bugungi kunda insonlar maqsadi uchun xizmat kilmoqda. Rekombinant molekulalar konstruksiya qilish uchun restruksion endonukleazalardan foydalanishni birinchi bo'lib 1972 yili Amerika olimlari Stenli Koen va Gerbert Boyer kashf etdilar. Bu olimlar u vaqtgacha o'zlarining plazmidlar ustidagi tadqiqotlari bilan mashxur edilar.

Koen va Boyer g'oyasiga muvofiq, plazmidani restriktazalarning biri yordamida kesib DNK fragmentlarida bir zanjirli uchlar hosil qilinadi. DNK ning bu erkin uchlari **yopishqoq uchlar** deyiladi, chunki bu uchlarda to'latilmagan bir chiziqli nukleotidlar qatori bor. Shu restriktazaning o'zi bilan donor DNK fragmentlarga bo'linadi. Ularning birida bizni qiziqtiradigan genni saqlaydigan uchastka ham bo'ladi. Endi mana shu fragmentlarni kesilgan plazmidalar bilan aralashtirilsa, DNK molekulasiining bir zanjiri uchida restriktazalar yordamida hosil bo'lgan nukleotidlar zatori, plazmidalarning yopishqoq uchlariga komplementar bo'lganidan ular bilan tegishli ligazalar ishtirokida kovalent bog' orqali ulanadi. Ugay DNK xo'jayin DNK siga ulanib o'qilib ketmaydi. Buning uchun vositachi — vektor ishtirok etishi zarur. Shunday vektorlar sifatida plazmidiylar qulay qurol ekanligi yuqorida ta'kidlangan.

Rekombinat molekulalarni yaratish uchun avvalo zarur genning xujayra DNK sidagi o'rnini aniqlab, uni kesib olish kerak. Endi kesib olingan DNK fragmentini klonirlash va vektorga bog'lash kerak. DNK ni klonirlash turli manbalardan ajratib olingan DNK fragmentlarini plazmadiy yoki virus (bakteriyafag) ga kiritib c'yngra bu genetik elementlarni bakteriya yoki achitqi xujayralarida ko'paytirish usulidir. Shu usul bilan DNK ning fragmenti vektorga bog'lanadi. Vektorning asosiy xossasi shundan iboratki, u tegishli xo'jayinda avtonom replitsirlanish xususiyatiga ega. Mana shu usulda olingan rekombinirlangan molekula klonirlash uchun juda qulaydir, u resipient xujayrada bemalol ekspressiya qilinadi. Navbatdagi bosqichda plazmadiy yoki virus genomiga ulangan DNK molekulasini (rekombinat molekula) bakteriya yoki achitqi xujayrasiga kiritiladi. Bunday sintetik genomda bizni kizitirgan gen vektor DNK sinning ahamiyati kam ma'lum uchastkasini almashtirgan bo'ladi. Bakteriya xujayrasi tez bo'linib ko'payganidan, rekombinat DNK ham shu qadar ko'payadi va tegishli oqsil sintezini ko'p martalab tezlatadi va



Ген инженерлиги йўли билан ўсини гормони олинди.

uni sanoat miqyosida olish imkonini beradi. Gen injenerligi yo‘li bilan bir qancha zarur gormonlar, immup tamalar (insulin, o‘sish garmoni, interferon), immunoglobulinlar, turli dorilar muvaffaqiyat bilan olinmokda.

Molekular biologiya va gen injenerligining turli tarmoqlari nixoyatda jadallik bilan rivojlanmokda. Lekin xali xal qilinmagan fundamental ilmiy muammolar, amaliyot uchun juda muxim vazifalar ko‘p. Ular orasida birinchi darajali ahamiyatga ega masala — insonning jismoniy va ruxiy xolati, funksiyasi, imkoniyati boshqarilishining molekular asosini tushunishdir. Endi shubxa yo‘qki, bu sirlarning kaliti uning genomida. Mana shuning uchun ham AKSh da va rivojlangan boshqa mamlakatlarda, biniig mamlakatimizda ham inson genomining to‘la nukleotid qatorini o‘rganishni maksad qilib qo‘ygan inson genomi nomli uzoq muddatga mo‘ljallangan, juda qimmat turadigan, favqulodda buyuk loyihani ishlashga kirishildi. Lekin bu ulkan vazifani bajarib bo‘larmikin?

Ma‘lumki, inson genomi butun bir dunyo, uning moddiy asosini 3 mlrd nukleotid qoldigidan iborat va mingdan ortiq gen tashkil kiladi. Lekin shunday bo‘lsa ham, molekular biologiya va gen injenerligining bugungi kundagi g‘oyalari, metodik yuksakligi va tajribasi bu vazifani xal qilishga qurbi yetadi, deb ishonsa bo‘ladi. Keyingi yillarda butun xromosomalar va ularning juda katta fragmentlarini genlardagi elektroforez usulida ajratib olish va katta DNK molekulalarining strukturasini tez aniqlash usullari ishlab chiqildi, millionlab asosga ega bo‘lgan gigant DNK larni eukariotlar xujayrasida klonirlashga erishildi. Shuni aytib o‘tish ham o‘rinli tarix shuni ko‘rsatadiki, insoniyat o‘z oldiga doimo xal qilinishi mumkin bo‘lgan vazifani qo‘yib kelgan. Shubxa yo‘qki «odam genomi» dek mislsiz loyihani o‘z oldiga qo‘ygan molekular biologiya va gen injenerligi xujayradagi xap bir genning tuzilishi, funksiyasini, xromosomada aniq joylashgan o‘rnini tayinlash, ularga bog‘liq belgilar, xossalar, buzgunliklarni aniqlash asosida irsiy kasalliklar (genom kasalliklari)ning oldini olish va davolash, turli oqsillar, fermentlar, gormonlar, vaksina va antitelolarni ishlab chikarish, mikroorganizmlarning

yangi turlarini yaratish, o'simlik va hayvon genomiga odamlar uchun foydali xususiyat beradigan genlarni kiritish va boshqa muammolarni muvaffaqiyatli xal qiladi.

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

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

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

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Resipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspressiya vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan.

Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani xaqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi.

E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi
Tarkibida begona DNK fragmentlari tutuvchi vektor konstruksiyalar E.colining maxsus shtammlari hujayralariga transformatsiya qilish uchun foydalaniladi. Vektor plazmidalarning bakteriyalarga transformatsiyasi hujayralarning DNK molekulalarini qabul qilish qobiliyatiga asoslangan (kompetentligiga). E.coli hujayralariga transformatsiyalash asosan kalsiy shoki yoki elektroporatsiya

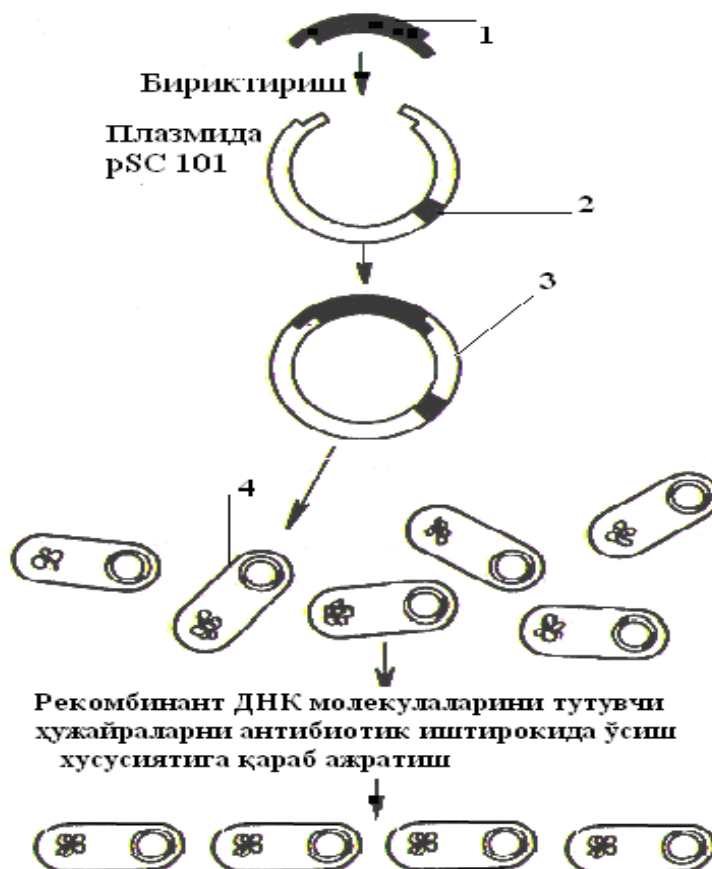
usullaridan birini qo'llash orqali amalga oshiriladi. Ikkala xolatda ham bakteriya membranasining DNK molekulalari uchun o'tkazuvchanligi oshadi. Vektor molekulasini uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

- 1) vektor begona DNK fragmentlarini o'ziga biriktirishi uchun bir nechta restriktazalar uchun yagona restriksiya saytlari tutishi zarur.
- 2) vektor replikasiya boshlanish nuqtasi izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikasiyalanishi shart.
- 3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruksiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini yengillashtiradi.

Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNK sidan tashqari, ko'p nusxada xalqasimon DNK molekulalari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekulalar *plazmidalar* deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikga chidamlilik genlarini tutadi.

Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973 yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan. Tajribalar uncha katta bo'lmagan (~9 m.n.j.), tetrasiklinga chidamlilik geni tutuvchi E.coli plazmidasi pSC 101 da olib borilgan. Plazmida tarkibida faqat bir dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning xalqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq xalqa xolatiga o'tkazadi. Plazmida pSC 101ning DNKsi ichak tayoqchasi uchun begona DNKning EcoRI–fragmentlari bilan aralashtiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pSC 101 plazmida yagona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani E.colining kompetent hujayralariga qo'shilganda u bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar

tetrasiklinli selektiv muhitda ajratiladi.

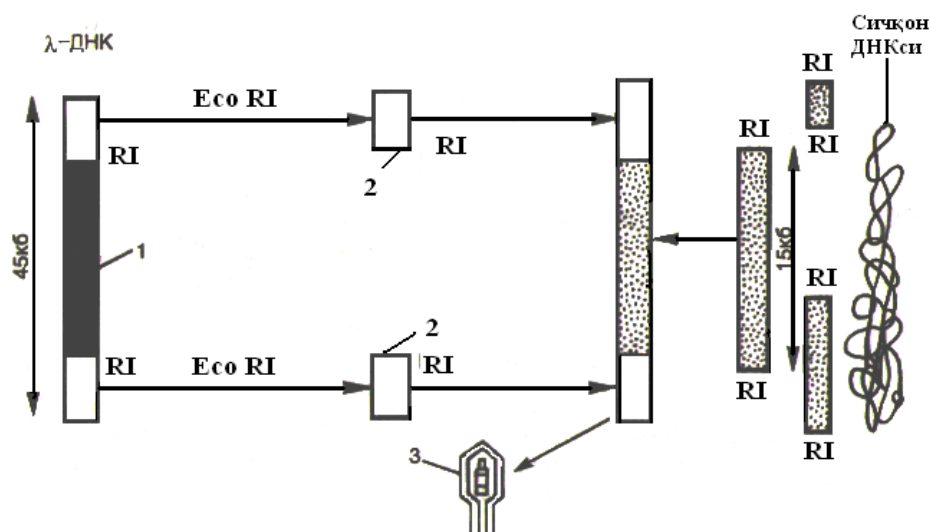


DNK fragment-larini plazmidalar yordamida klonlash bo'yicha tajriba sxemasi.

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

Faglar asosidagi vektorlar. Kosmidlar. Vas- va Yas- vektorlar. Bakteriya plazmidalarida o'rtacha 7-8 m.j.n. uzunlikdagi fragmentlarni klonlash mumkin, eukariot genlari izchilligi esa (~10-25 m.j.n.) uzunroq bo'ladi. Bundan tashqari genlarning kodirlovchi qismi atrofida joylashgan reguliyator izchilliklarni o'rganish uchun genomni kengroq klonlash zarur. Bunday katta fragmentlarni klonlash uchun λ bakteriofagi asosida tarkibiga 22 m.j.n. uzunlikdagi begona DNK fragmentlarini tutuvchi vektor konstruktsiya yaratilgan. λ bakteriofag asosida klonlash uchun bunday vektorlarni yaratishda fag DNK molekulasi markaziy qismi fagning E.coli da ko'payishi uchun zarur emasligi e'tiborga olingan xolda restriktazalar yordamida fag genomidan kesib olinganda replikasiya uchun zarur bo'lgan fagning o'ng va chap yelkasi o'zgarmasdan qolishi kerak. Fag yelkalari boshqa fragmentlardan alohida ajratilib, klonlash uchun vektor sifatida qo'llaniladi. Kesilgan fag DNKsi o'rniga o'lchami 9-21

m.j.n. bo'lgan begona DNK ulanadi. Bakteriyalarda faqat fagning ikkala yelkasi va begona DNK tutuvchi faglar ko'payadi. Bunda olingan fag rekombinant DNKsi 30 m.j.n. dan kam bo'lmisligi kerak.



Bakteriofaglar asosidagi vektorda DNKni klonlash.

1- Fagning replikasi uchun zarur bo'lmagan DNK fragmenti; 2-fagning bakteriya hujayralarida replikasi va fagning keyingi taxlanishi uchun javobgar genlarni tutuvchi DNK fragmentlari; 3-begona DNK fragmentlarini tutuvchi bakteriofag.

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

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

Ba'zi viruslardan RNK ga bog'liq DNK polimeraza, ya'ni teskari transkriptaza yoki *revertaza* deb nomlanuvchi maxsus DNK polimeraza ajratib olingan. Revertazalar DNK ning komplementar zanjirini matritsa RNK sida ham sintezlay oladi. Reveratazalar yordamida kDNK-mRNK ning DNK nusxalarini olish mumkin.

kDNK genlarining tuzilishini o'rganish bu genlarning genomdagi to'liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

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

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

Nukleazalarni ularning ta'siriga ko'ra, guruhlariga ajratish mumkin. Nukleazalar nafaqat DNK molekullari (DNKazalar) yoki RNK (RNKazalar) molekullariga, yoki DNK va RNK ga bir vaqtning o'zida (oltin rang loviya nuklezasi) bir xilda ta'sir etishi mumkin. Nukleazalar bir zanjirli (S1 nukleazasi) yoki qo'sh zanjirli (ekzonukleaza III) DNK molekullari, yoki gibrid DNK-RNK molekulasi (ribonukleaza H) ga ta'sir etishi mumkin.

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

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

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

Restriktazalar endonukleazalarning DNKni muayyan maxsus ketma-ketliklari *restriksiya saytlari* (nuqtalari)ni hosil qilib gidroliz qiladigan guruhi hisoblanadi. Har bir restriktaza o'zining restriksiya sayti taniydi va DNKni restriksiya sayti izchilliklari ichidan yoki uning atrofidan boshlab qirqadi (1.1-jadval). Shunday qilib,

muayyan bir restriktaza ta'sirida bitta va aynan o'sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi bo'laklar yig'indisini hosil qiladi. Restriktazalarni nomlashda ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olingan bo'lishi mumkin. *Escherichia coli*-EcoR I, EcoR V, *Haemophilus influenzae* –Hinf I, *Streptomyces albus* – Sal I, *Thermus aquaticus* – Taq I. *Bacillus amyloliquefaciens* H

Ba'zi restriktazalar va ular tanib kesadigan izchilliklar

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

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

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

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

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5' EcoR I restriktazasi restriksiya sayti.

5' TAGA 3'

3' ATCT 5' Taq I restriktazasi restriksiya sayti

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

- 1) mayda bo'lakka bo'luvchilar – restriksiya saytlari to'rtta nukleotid juftliklardan iborat;
- 2) o'rta bo'lakka bo'luvchilar – 6-8 n.j. restriksiya saytlari;
- 3) yirik bo'lakka bo'luvchilar - 10-14 n.j. restriksiya saytlari

II-tipdagi restriktazalarni DNK ketma-ketliklarini bo'laklarga bo'lishiga qarab ikki guruhga kiritish mumkin, chunki ular. Biri tanilgan ketma-ketlikning simmetriya o'qi bo'ylab, boshqasi esa siljib, «pog'onalar» hosil qiladi. Birinchi holatda «to'mtoq» uchlar hosil bo'lsa, ikkinchisida «yopishqoq» uchlar hosil bo'ladi; ya'ni bo'laklar o'z uchlarida bir zanjirli o'zaro komplementar qismlarga ega bo'ladi.

Restriktazalar bilan qir qilgan «yopishqoq» uchli bo'laklarning hosil bo'lishi:

5' G ↓ AATTC 3' 5' C ↓ CGG 3'

EcoR I 3' CTAA ↑ G 5' Hpa II 3' GGGC ↑ C 5'

Restriktazalar bilan qir qilganda «to'mtoq» uchli bo'laklarning hosil bo'lishi:

Ta ↓ GA 3' 5' GTT ↓ AAC 3'

Taq 3' AT ↑ CT 5' HincI 3' CAA ↑ TTG 5'

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

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

O'z – o'zini nazorat qilish uchun savollar.

1. Vektor sifatida nimalardan foydalanish mumkin?
2. Gen injenerligi xaqida ma'lumot bering
3. Rekombinant DNKlar texnologiyasi xakida ma'lumot bering
4. Klonlash nimalar asosida amalga oshiriladi?
5. Vektor molekulalarning funksiyasi nimalardan iborat ?
6. Vektorlar turlari
7. Gen muxandisligi fermentlari xakida ma'lumot bering

Tavsiya etiladigan adabiyotlar ruyxati

- 1 Biotexnologiya: Ucheb. posobie dlya vuzov. V 8 kn./Pod. red. N.S.Yegorova., V.D.Samuilova. M.: Vysshaya shkola, 1997. – 228 s.
- 2 Volova G. Biotexnologiya. Izd-vo otdeleniya Rossiyskoy Akademii nauk. 1999. – 252 s.
- 3 Sheveluxa V.S. va boshq. Selskoxozyaystvennaya biotexnologiya. M.1999
- 4 Maniatis T., Fritch E., Sambrook D.J. Molekularnoe klonirovanie Moskva. Mir. 1984. 4771

3. Mavzu. REKOMBINANT DNK OLISH TEXNOLOGIYASI

Reja:

1. Rekombinant DNK olishning ahamiyati
2. Bir xil izchillikka ega «yopishqoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli
3. «To'g'ri» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli
4. «Yopishqoq» va «to'g'ri» uchli DNK fragmentlarni biriktirish usuli

Tayanch so'zlar: Rekombinant DNK, restriktaza, komplementar uchastkalar, DNK ligaza, λ bakteriyaf, ligirlash, «to'g'ri» uchlar, «yopishqoq» uchlar, vektor molekulalar.

1. Rekombinant DNK olishning ahamiyati. Turli biologik manbalardan ajratilgan ikki yoki undan ko'p DNK fragmentlarining birikishidan hosil bo'lgan DNK molekulasi rekombinant DNK deyiladi. DNKning muayyan fragmentlari, shuningdek zarur genni tutuvchi fragmentlar restriktazalar yordamida olinadi. Restriktazalar «to'g'ri» uchli va «yopishqoq» uchli fragmentlar hosil qiladi. DNK fragmentlarini bitta molekulaga birlashtirish bu fragmentlarning qanday uchga ega ekanligiga bog'liq holda, turli usullar yordamida amalga oshiriladi.

2. Bir xil izchillikka ega «yopishqoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli. Ba'zi restriktazalar, masalan EcoRI, DNK zanjirida tanib kesadigan sayt markazidan bir xil masofada zina hosil qilib, simmetrik uzish paydo qiladi. Bu bir-biriga komplementar uchastkalar asosini juftlashishi hisobiga yoki «yopishqoq» uchlari orqali birlashish tendensiyasiga ega bo'ladi. (1.4 rasm).

Asoslarning juftlashishi faqatgina komplementar izchilliklar o'rtasida sodir bo'ladi, shuning uchun EcoRI ta'sirida paydo bo'lgan AATT-uchlar masalan Hind III tomonidan hosil qilingan AGST-uchlar bilan qovushmaydi. Lekin bir restriktaza ta'sirida hosil qilingan xar qanday DNK bo'laklari (kelib chiqishidan qat'iy nazar) komplementar nukleotidlarning bir zanjirli uchastkalari orasida vodorod bog'lari hosil qilish hisobiga birikishi mumkin.

Lekin bunday juftlashishdan so'ng ham DNK qo'sh zanjirining butunligi to'lig'icha tiklanmaydi va fosfodiefir bog'ida ikkita uzilish qoladi. Ularni tiklash, ya'ni tikish yoki ligirlash uchun DNK ligazadan foydalaniladi. Rekombinant molekulalar hosil qilish ishlarini ligaza fermenti yakunlaydi. Bunday tajribalar birinchi marta 1972 yilda (P.Berg. AQSh) bajarilgan va «yopishqoq» uchlar hosil qiluvchi restriktazalar bilan DNK ligazadan birgalikda foydalanish rekombinant DNK molekulasi olishning umumiy usullarini yaratishda asos bo'lib xizmat qilishi ko'rsatilgan. Shu laboratoriyada birinchi marta SV40 virusi va E.colining galaktoza operonini tutuvchi λ bakteriyafagi rekombinant DNKga biriktirilgan.

3. «To'mtoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli. Restriksiya sayti ichida to'g'ri uzish (qaychi singari shartta ikki bo'lakka bo'ladi) hosil qiluvchi restriktazalar ta'sirida «to'mtoq» uchli DNK fragmentlari paydo bo'ladi, ularni ham DNK-ligaza fermenti yordamida biriktirish mumkin. Bunday xollarda ligirlash reaksiyasi o'ziga xos bo'lib, uning samara darajasi «yopishqoq» uchlarni biriktirishga nisbatan bir oz pastroq. Ammo «to'mtoq» uchli fragmentlar biriktirishining «yopishqoq» uchli fragmentlarni biriktirishga nisbatan afzalligi shundaki, «to'mtoq» uchli bu fragmentlar qaysi restriktaza ta'sirida paydo bo'lishidan qat'iy nazar, turli restriktazalar tomonidan hosil bo'lgan fragmentlar oson birikadi.(1.5-rasm)

4. «Yopishqoq» va «to'mtoq» uchli DNK fragmentlarni biriktirish usuli. DNKning «yopishqoq» uchli fragmentlarini fermentativ yo'l bilan «to'mtoq» uchli DNK molekulasiga biriktirish mumkin. Buning uchun «yopishqoq» uchlar «to'mtoq» uchlarga aylantiriladi ya'ni DNKning faqat bir zanjirli uchastkalarini gidrolizlovchi S1 nukleaza fermenti yordamida «yopishqoq» uchlardagi nukleotidlar kesiladi yoki DNK polimeraza I yordamida bir zanjirli «yopishqoq» uchlaridan ikkinchi zanjir sintezlanadi ya'ni qo'shimcha nukleotidlar qo'shiladi.

Shunday usulda «yopishqoq» uchli DNK fragmentlaridan «to'mtoq» uchli fragmentlar hosil qilinadi va u boshqa «to'mtoq» uchli DNK fragmentlariga DNK ligaza fermenti yordamida birikadi.

DNK fragmentlari probirkada birlashtirilganidan so'ng, ularni tirik hujayralarga kiritish kerak. Buning uchun maxsus vektor molekulalardan foydalaniladi.

Vektor molekulalarning vazifalari. Tarkibida qo'shimcha irsiy axborotlar tutuvchi rekombinant DNK molekulalarini hujayralarga kiritish va uning

barqarorligini saqlash gen muxandisligining asosiy kalit operatsiyasi hisoblanadi. Buni amalga oshirish uchun vektor molekulalardan foydalaniladi. Agar, DNK shundayligicha hujayraga kiritilsa, Masalan bakteriya hujayralarida fermentlari ularni nukleotidlarga parchalab tashlaydi. Ba'zi xollarda DNK hujayraga kirib o'rtnashishi mumkin, lekin hujayraning bo'linish jarayonida u nasldan-naslga berilmay yo'qolib ketadi. Rekombinant DNK hujayraning genetik apparatining tashkil qiluvchi qismiga aylanishi uchun, u genomga birikishi (xromosomaga integratsiyasi) va shuning hisobiga replikatsiyalanishi yoki avtonom replikatsiyalanish xususiyatiga ega bo'lishi kerak.

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

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

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

2. Ekspressiya vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligi aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Ko'p sonli ekspressiya tizimlar, ayniqsa prokariot organizmlar uchun mavjud. Shuningdek sut emizuvchilar, o'simliklar va achitqilar hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan. Eukariot organizmlar uchun yaratilgan ekspressiya vektorlar poliadenillanish sayti va mazkur organizmda ishlash qobiliyatiga ega promotordan iborat ekspressiya kasseta tutadi.

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Resipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspressiya vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan.

Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani haqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda

keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi. Bu genlarning oqsil mahsuloti-fermentlar antibiotiklarni modifikatsiyalaydi va ularning ta'sirini inaktivatsiyalaydi (kuchsizlantiradi).

Vektor molekulasi uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

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

2) vektor replikasiya boshlanish nuqtasi izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikasiyalanishi shart.

3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruksiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini yengillashtiradi.

1. Vektor molekullarning turlari

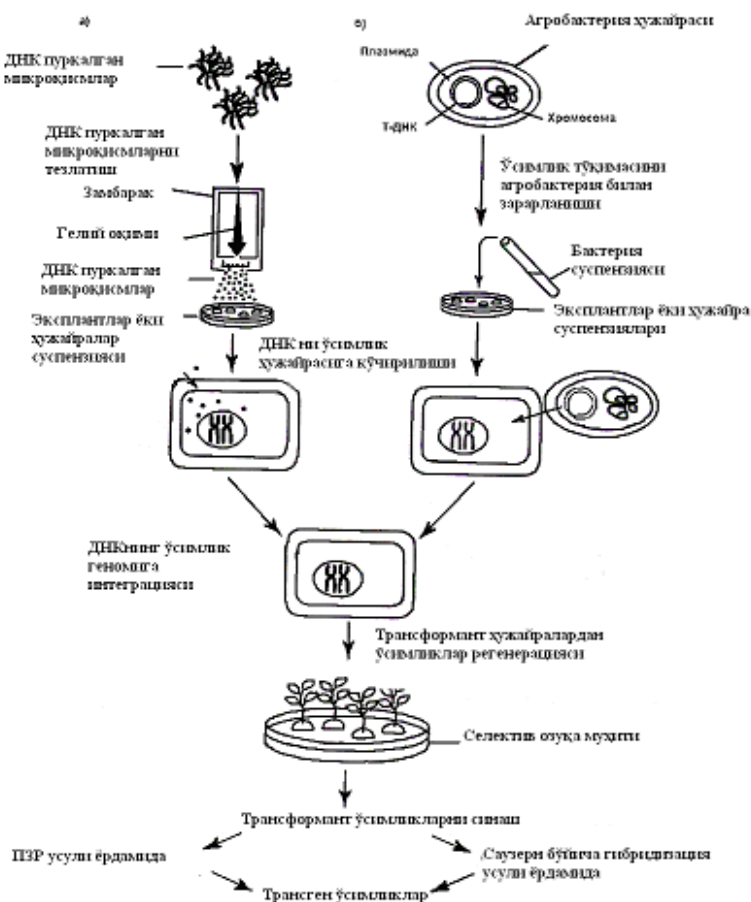
Bakteriya hujayrasida xromosoma DNKsidan tashqari, ko'p nusxada xalqasimon DNK molekullari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekullar *plazmidalar* deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikka chidamlilik genlarini tutadi. Hujayrada plazmidalarning ko'p nusxada hosil bo'lishi natijasida antibiotiklarni biokimyoviy neytrallovchi fermentlarning sintezi oshadi va hujayraning antibiotikka chidamliligi ortadi.

Hujayradagi plazmidalar nusxasining soni o'zgarib turadi. Bu hujayraning va plazmidalarning irsiy xususiyatlariga bog'liq. Ba'zi turdagi plazmidalar hujayradagi soni 10-200 nusxa bo'lguniga qadar ko'payishni davom ettiradi. Boshqa turlari esa bakteriya xromosomasining ko'payish tezligida replikasiyalanadi. Bunday tipdagi plazmidalar hujayrada bir dona yoki bir nechta bo'lishi mumkin. Klonlash uchun faqat birinchi tipdagi plazmidalar asosidagi vektorlardan foydalanish maqsadga muvofiqdir.

100 m.j.n.dan ortiq uzunlikdagi DNK fragmentlarini klonlash maxsus yaratilgan VAS va YAS vektorlarida amalga oshiriladi. *VAS-vektorlar* bakteriyaning F-plazmidasi asosida olingan bo'lib, bu plazmidalarning bakteriya hujayralaridagi replikasiyasi va nusxasining ko'payishiga javobgar genlarni va klonlashni osonlashtiruvchi qator qo'shimcha nukleotid ketma-keliklarni tutadi. VAS –vektorlar sig'imi o'zining uncha katta bo'lmagan o'lchamida (~7 m.j.n) juda katta -100-300 m.j.n. Uning sig'imi genom bibliotekasini yaratishda klonlar sonini ko'p marta kamaytirish imkonini beradi.

YAS-vektorlar ham katta o'lchamdagi DNK fragmentlarini klonlashda foydalaniladi, achitqining sun'iy minixromosomasini namoyon qiladi. YAS-vektor sentromer, telomer va replikasiya boshlanish nuqtasiga ega. Bunday vektorga begona DNKning 100 m.j.n., dan ortiq uzunlikdagi fragmentlarni ham ulash mumkin. Bunday minixromosoma achitqi hujayrasiga kiritilganda replikasiyalanadi va mitoz bo'linishda o'zini boshqa achitqi xromosomalari kabi tutadi.

Dastlabki material uchun vektor (binar, koingegrativ yoki muayyan transformatsiya turi uchun yaroqli boshqa biror) konstruksiyaga ega bo'lgan agrobakteriya shtammi bo'lishi lozim. Vektor o'simlik genomiga kiritilishi lozim bo'lgan gen ketma-ketligiga ega bo'lishi kerak. Genning kelib chiqishi (prokariot yoki eukariot) transformatsiya uchun ahamiyatsizdir, lekin u o'simlik hujayrasiga ekspressiya bo'la oladigan promotor nazorati ostida bo'lishi lozim. Funksional gendan tashqari, vektor, albatta, transformatsiyaning selektiv nishon belgisini saqlashi shart. Bunday nishon belgi sifatida antibiotiklar: kanamitsin (*npt*-geni), gigromitsin (*npt*-geni) va yoki gerbitsidlar xlorsulfuron (*ALS*-geni), fosfinotritsin (*bar*- geni) (BASTA) ga chidamlilik belgisini yuzaga chiqaradigan genlar ishlatiladi. Bundan tashqari, resipient – o'simlik navlarini tanlab olish lozim. Transformatsiya uchun eksplant sifatida steril o'simlik barg plastinkalari olinadi. Biroq buning uchun yosh ildizlar (arabidopsisda), gipokotil (pomidorda), urug'palla (pomidor, baqlajonda), bo'g'im oralig'i (kartoshkada) ham ishlatilishi mumkin.



3. rasm – Transgen o‘simliklarni olish sxemasi.

a)-bioballistikalar usuli; b)-agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya

Eksplantlarni vektor konstruksiyali agrobakteriyalar saqlovchi suyuq muhitida inokulyatsiya qilinadi. Inokulyatsiya qilish muddati har bir tur o‘simlik uchun alohida tanlab olinadi. Bunda eksplantning jarohatlangan yuzasida hujayralarning zararlanishi boshlanib, kokultivatsiyadan so‘ng 24 – 48 soat o‘tgach, T-DNK bo‘lagini begona (tanlab olingan) gen bilan birga o‘simlik genomiga joylashishi sodir bo‘ladi. Shundan so‘ng, eksplantlarni antibiotiklar (karbenitsillin yoki sefotaksim) saqlovchi oziqa muhitiga o‘tkaziladi, bu agrobakteriya hujayralarning tanlab nobud bo‘lishiga sabab bo‘ladi. Bundan tashqari, oziqa muhitiga kerakli (to‘g‘ridan-to‘g‘ri regeneratsiya yoki kallus hosil bo‘lishi uchun) fitogormonlar va transformant hujayralarni selektiv tanlab olish uchun antibiotiklar, gerbitsid qo‘shiladi. Antibiotik yoki gerbitsidga chidamlilik genlarining ekspressiyasini amalga oshiruvchi ega transgen o‘simliklar selektiv agent qo‘shilgan muhitda o‘sa olsa, transgen bo‘lmagan o‘simliklar bunday muhitda nobud bo‘ladi. 2-5 haftadan so‘ng transformant eksplantlardan poyalar o‘sib chiqib boshlaydi, ularni ajratib olinadi yoki keyingi qo‘shimcha molekular tahlillar uchun tuproqqa ko‘chirib o‘tkaziladi (2.9. a – rasm).

Protoplastlar shu yo‘sinda transformatsiya qilinadi, lekin bu usuldagi transformatsiya protoplastlarning o‘zida regeneratsiya qilish qobiliyati sustligi uchun kam samara beradi.

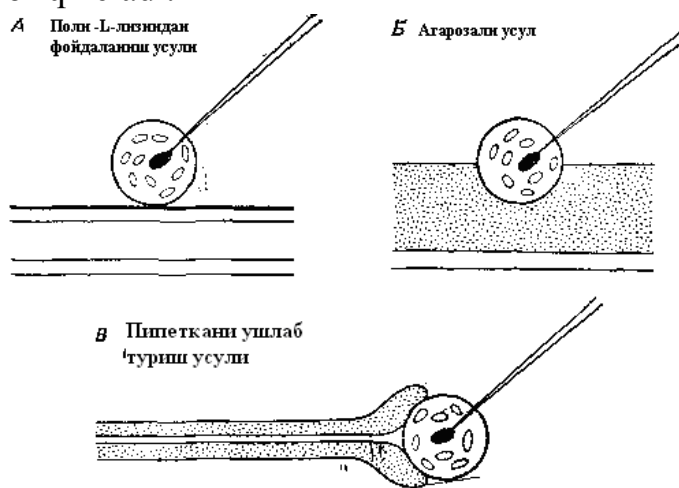
Agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli orqali hozirgi kunga qadar deyarli barcha ikki pallali qishloq ho‘jalik ekinlaridan transgen o‘simliklar olingan. Bu usul ba’zi bir pallalilar (bug‘doy, makkajo‘xori, sholi) da ham o‘z ifodasini topgan.

O‘simliklarga genlarni to‘g‘ridan - to‘g‘ri ko‘chirib o‘tkazish. O‘simlik hujayralariga genlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri ko‘chirib o‘tkazishda o‘simlik protoplastlarining transformatsiyasi keng qo‘llaniladi. O‘simlik hujayra devoriga fermentlar (sellyulaza, pektinaza) bilan ishlov berilganda hujayra devori yemirilib, faqat protoplast qoladi. DNK ishtirokida protoplastlarni to‘g‘ridan - to‘g‘ri transformatsiyalash usuli ishlab chiqilgan. Transformatsiyaning birmuncha yuqori samaradorligiga (10^{-2}) elektroporatsiya va polietilenlikol qo‘shish usuli orqali erishish mumkin. Agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga nisbatan, to‘g‘ridan - to‘g‘ri ko‘chirib o‘tkazish usulining chastotasi kam bo‘lsa-da, birmuncha afzalliklarga ega. Vektor maxsus biologik signallar va transformatsiya funksiyalari (T-DNK hududi bilan chegaralangan va *vir*-hududi) ga ega bo‘lmasligi ham mumkin. Transformatsiya uchun deyarli har qanday begona gen tutuvchi DNK vektori qo‘llanilishi mumkin. Bunda gibrid gen (faqat tegishli regulyator hududlar mavjud bulganida) hujayra rekombinatsiyasi mexanizmlaridan foydalanib, ayniqsa, protoplast yadrosiga to‘g‘ridan - to‘g‘ri in‘eksiya qilishda o‘simlik yadro DNKsiga integratsiya bo‘ladi va ekspressiyalanadi.

Hozirgi vaqtda 140 dan ortiq o‘simlik turlari vektor DNKsini protoplast hujayralariga turli usullar bilan ko‘chirib o‘tkazish orqali transformatsiya qilingan.

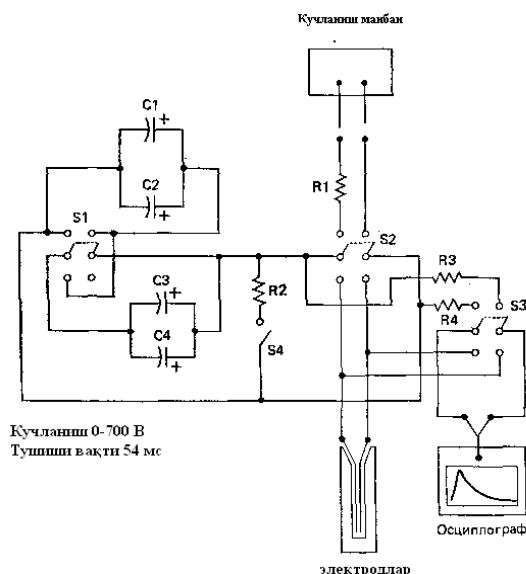
DNK mikroin'eksiyasi. Bir qator tajribalarning ko'rsatishicha, o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun hayvon hujayralaridagi mikroin'eksiyalar singari mikroin'eksiyalari usulini qo'llash mumkin. Bunda in'eksiya uchun protoplastlar olishda ularni polilizinli shishalarga yopishtirish usullari ishlab chiqilganligi qator texnik qiyinchiliklarni bartaraf etish imkoniyatini berdi (2.10-rasm).

Vektor tipiga bog'liq bo'lmagan holda o'simlik protoplastlari transformatsiyasi samaradorligi 10-15% dan oshmaydi, u ikki pallali o'simliklar uchun ham bir pallalilar uchun ham bir xilda muvofiq keladi.



4 – rasm. Mikroin'eksiyani amalga oshirish uchun protoplastlarni immobilizatsiya qilish usuli

Elektroporatsiya. Bu usul yuqori impulsli kuchlanishlarning biomembranalar o'tkazuvchanligini qaytar darajada oshirishga asoslangan. O'simlik protoplastlari uchun elektroporatsiya muolajalari juda samarali hisoblanadi. Usulning mohiyati quyidagicha: DNK- vektorini saqlovchi yuqori konsentratsiyali eritmadagi o'simlik protoplastlariga yuqori voltli impuls (kuchlanish 200-350 V, impuls davomiyligi 54 ms) bilan ta'sir etiladi (2.11-rasm). Natijada DNK molekulalari hujayra membranasidagi poralar (teshikchalar) orqali yutiladi. Eritma aralashtirilgandan so'ng protoplastlarni regeneratsiya bo'lishi uchun yetarli muhitga ekiladi. Ko'chirib o'tkazishning samarasi elektr shokidan so'ng 24-28 soat o'tgach aniqlanadi.



5 - rasm. Elektroporatsiyani amalga oshirish uchun past kuchlanishli qurilmaning tuzilishi

Liposomalarga joylashtirish. O'simlik protoplastlariga o'tkaziladigan ekzogen genetik materialni nuklein kislotalarni parchalaydigan nukleazalar ta'siridan himoya qilishda qo'llaniladigan usullardan biri liposomalarga joylashtirish usuli.

Liposomalar qobig'i fosfolipidlardan tashkil topgan sferik shakllar hisoblanadi. Ularni fosfolipidlarni suvli emulsiyalariga ultratovushlar bilan ishlov berish yoki qattiq chayqatish natijasida olish mumkin. Liposomalar yordamida o'simlik protoplastlariga tamaki mozaikasi virusi RNK si, A.tumefaciens bakteriyasi Ti – plazmidasi DNK si, shuningdek, butun metafaza davri xromosomalari kiritilgan. Liposomalar yordamida ko'chirib o'tkazish tizimlarning afzalliklari sifatida ularning hujayralarga nisbatan zaharliligining kamligi, liposomalarni parchalash xususiyatiga ega hujayralari bo'lgan ko'plab o'simliklarda ishlatish mumkinligini ko'rsatish mumkin. Hozirgi vaqtga kelib, mazkur usul texnik jihatdan qiyinligi va transformatsiyalash faolligining nisbatan kam (0,5-1%) ligi uchun tobora kam foydalanilmoqda.

Bioballistik transformatsiyalar usuli. Bioballistika usuli bugungi kunga kelib, bir pallalilar uchun eng samarali usullardan hisoblanadi, shuningdek uni ikki pallali o'simliklarda ham muvaffiqiyat bilan qo'llash mumkin. Transformatsiya uchun dastlabki material sifatida kulturalar suspenziyasi, kallus to'qimasi yoki bir pallalilarning yetilmagan murtak o'simalari olinadi.

Mazkur usulning mohiyati shundan iboratki, diametri 0,6-1,2 mkm bo'lgan volfram, oltin yoki platina bo'lakchalari transformatsiya uchun zarur gen konstruksiyalari saqlovchi DNK ustidan purkaladi. DNK tutuvchi volfram, platina yoki oltin bo'lakchalari sellofan qobiq bilan o'ralib, bioballistik zambarak ichiga joylashtiriladi. Kallus yoki hujayra suspenziyasi agarli oziqa muhiti solingan Petri likopchasiga o'tkaziladi va bioballistik zambarak ro'parasiga 10-15 sm masofada joylashtiriladi. Zambarakdagi bosim vakuum nasos bilan 1,0 atm gacha tushiriladi. Bosim tushiriladigan vaqtda zambarakdan volfram yoki oltin bo'lakchalari otilib chiqib, hujayra devorini yorib o'tadi va sitoplazmaga, hujayra yadrosiga o'tadi.

Odatda bevosita markazda joylashgan hujayralar volfram va oltin bo'lakchalarining ko'plab kelib urilishi va juda kuchli bosimi tufayli nobud bo'ladi, ulardan 0,6-1 sm markazdan uzoqda esa transformant hujayralar joylashadi. Shundan so'ng hujayralarni davomli ekish va regeneratsiya qilish uchun oziqa muhitlariga ko'chirib o'tkaziladi.

Bioballistik zambaraklar yordamida bir pallali makkajo'xori, sholi, bug'doy, arpa o'simliklari transformatsiya qilinib, turg'un transgen o'simliklar olingan. Bundan tashqari bioballistik transformatsiya DNK ni embriogen changchiga to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish, transgen digaploid o'simliklar olish uchun qo'llaniladi va u seleksiya ishlarida muhim bosqich hisoblanadi. Bu usul bilan tamaki o'simligining transformatsiyasi amalga oshirilib, gaploid o'simliklar regeneratsiyasidan so'ng turg'un transformantlar olingan.

O'simliklar transformatsiyasining dalillari. O'simliklar transformatsiyasi vektorlari tarkibiga funksional gendan tashqari selektiv nishon genlari kiradi. Bu gen odatda antibiotiklar kanamitsin (*prtII* -geni) yoki gigromitsin (*prtII*- geni) ga chidamlilik genlarini kodirlaydi, shuning uchun transgen o'simliklarni dastlabki tanlov ishlarini tegishli antibiotiklar saqlovchi oziqa muhitlarida olib boriladi. Bunday muhitda genomi tarkibida selektiv nishon geni bo'lgan o'simliklarga regeneratsiya qila oladi. Biroq selektiv muhitda o'sa olish xususiyatining o'zi o'simlikning transgen tabiatini isbotlovchi yagona dalil bo'la olmaydi.

T-DNK ketma-ketliklari borligini to'liq isbotlashda polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) tahlili va T-DNK bo'lagini radioaktiv zond sifatida qo'llash orqali transgen o'simlik xromosoma DNK sinig blot – gibrizatsiyasiga asoslangan molekular tahlili o'tkaziladi. Bunday tahlillarni o'tkazish juda qimmat tursada, olingan natijalar transformatsiya amalga oshganligi, T-DNK – konstruksiyalarning qanchasi o'simlik genomiga o'rnasha olganligi to'g'risida ishonchli ma'lumot olish imkonini beradi. Bundan tashqari, funksional gen ekspressiyasining qo'shimcha tahlilini tegishli mRNK yoki oqsilni aniqlash usullari orqali amalga oshiriladi.

O'z – o'zini nazorat qilish uchun savollar

1. Rekombinant DNK olishning ahamiyati nimalardan iborat?
5. Bir xil izchillikka ega «yopishqoq» uchli fragmentlarni qanday usullar yordamida birlashtiriladi?
6. «To'mtoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli qanday?
7. «Yopishqoq» va «to'mtoq» uchli DNK fragmentlar qanday birlashtiriladi?
5. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari xaqida ma'lumot bering.

Tavsiya etiladigan adabiyotlar ruyxati

- 1 Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi Toshkent "Fan va texnologiya" nashriyoti, 2010
- 2 Ashmarin I. Molekularnaya biologiya. Leningrad 1977. – 366 s.
- 3 Beker M.Ye., Liepinys G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya. M.: Agropromizdat, 1990. – 284 s.
- 4 Biotexnologiya: Ucheb. posobie dlya vuzov. V 8 kn./Pod. red. N.S.Yegorova., V.D.Samuilova. M.: Vysshaya shkola, 1997. – 228 s.

4. Mavzu. MITOXONDRIAL DNK

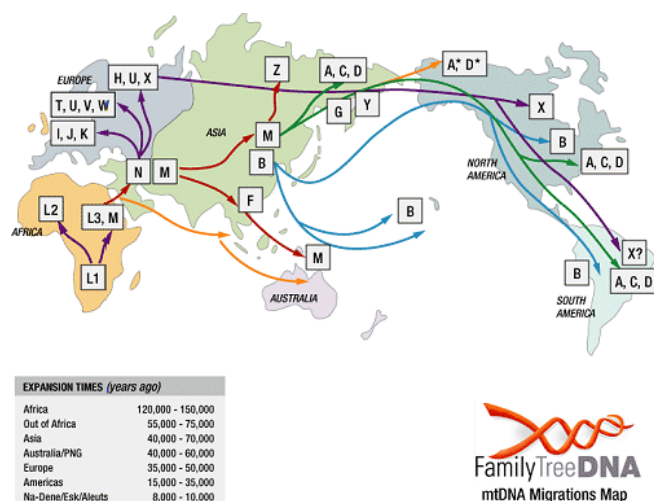
Mitoxondrial DNK onadan bolaga o'tadi. Faqat ayol tomondangina tekshiriladi, mtDNA ga qarab ko'pgina shajaraviy belgi xususiyatlarni aniqlash yoki

ular haqida ma'lumotlarga ega bo'lish mumkin. O'g'il va qizlar o'z mtDNA sini test qilib o'zlari haqida ma'lumotlarga ega bo'lish mumkin

Agarda mutatsiyalar mtDNA da sodir bo'lgan bo'lsa uning namoyon bo'lishi uchun uzoq vaqt balkim ming yillar kerak bo'ladi. Bu holatni biz mtDNA ni test qilib oldingi avlodlarlari o'zgarishlarni (mutatsiyalar)ni, hattoki kelajak avlodda kuzatilishi mumkin bo'lgan kasalliklarni ham aniqlashimiz mumkin. Buning uchun biror odamning DNK sini ajratib olib, uni sequence qilganimizda undan chiqqan ma'lumotlarni tahlil qilganda har bir odam qaysi haplogroup ga taalluqli yekanligini ko'rishimiz mumkin. Buning uchun bizga internet ma'lumotlari katta yordam beradi.

Sequence qilingandan mtDNK Kembrij Reference Sequence (Chr) deb nomlangan dasturdan ma'lumotlar olishimiz mumkin. Har bir haplogroup uzining tarqalgan ma'lum bir qit'asi, areali, viloyati yoki tumaniga yega. Bu haplogroup larni aniqlashdan maqsad, bizdan oldingi avlodlarimiz qayerdan qancha vaqt oldin kelib chiqishganligi, kelajak avlodimizda bizning DNK mizdan qanaqa belgi hususiyatlar o'tishini bilishimiz mumkin. Insoniyat tarixida bu guruhlar Afrika qit'asidan kelib chiqib, keyinchalik ayrim olimlarning qarashlariga ko'ra odamlarni Yevropaga, ayrim guruh olimlar yesa O'rta Osiyoga migratsiya qilgan degan qarashlar bor.

Qanday haplogroup lar yer yuzida mavjud?



Haplogroup lar alifboning bosh harflari bilan belgilaniladi. Yer yuzida L, N, M, Z, A, D, T, B, I, H, U, X va boshqalar.

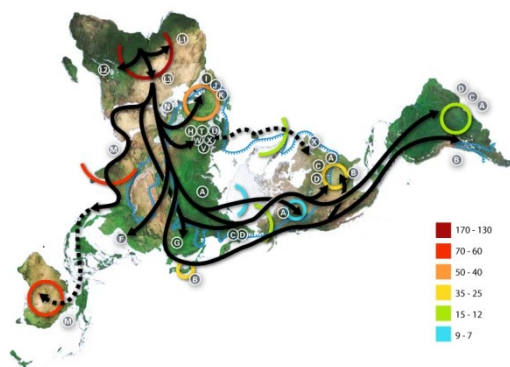
Kelib chiqishi bo'yicha yeng katta yilni o'z ichiga oladigan haplogroup bu-L. Bu haplogroup momohavo haplogroup i deb ham yuritiladi. Uning kelib chiqishi 150-200 mln yillar oldin Sharqiy Afrika qit'asiga to'g'ri keladi. L-haplogroup o'z navbatida ham kichik guruhlariga bo'linib ketadi, masalan: L₁, L₂, L₃, L₄.

Har bir haplogroup dagi ba'zi mutatsiyalar va kasalliklar hamda havfli o'zgarishlar haqida har bir inson bilan individual suhbat o'tkazib, shahsan uziga ma'lum qilinadi. Chunki ko'pchilik oldida o'z shajarasidagi kamchilik va kelajak avlodda kuzatilayotgan kamchiliklarni aytilmaydi, bu fan etikasi-olimlik etikasiga to'g'ri kelmaydi.

L-haplogroup dan qolgan boshqa haplogrouplar kelib chiqqan.

Har bir guruh ma'lumotlari internetda ma'lumotlari internetda ma'lumotlarni olishimiz mumkin.

L-haplogroup dan N-haplogroup, bu guruhdan ikki guruhga Yevropa va Osiyoga tarqaladi.



6. Mavzu. DNK, RNK VA KICHIK RHK LARNING AHAMIYATI

Reja:

1. RNK va DNK tarkibiga kiradigan azot asoslari
2. Transkriptomika fani nimani o'rganadi
3. Kichik RNKlarni o'simliklarda gen ekspressiyasi jarayonidagi roli va ahamiyati.
4. Kichik RNK ingibirlanish yo'llari (mexanizmi).

RNK va DNK tarkibiga kiradigan azot asoslari-purinlar-adenin (A) va guanin (G,G) va pirimidinlar-sitozin (S,S), Timin (T) va uratsil (U,U) dir.Ularning strukturasi va sistematik nomlari quyida keltirilgan:

Ular uchun keto-enol tautomeriya ma'lum. Asosiy azot asoslaridan tashqari, nuklein kislotalar tarkibida kam miqdorda bir nechta siyrak minor asoslar xam uchraydi. Ular qatorida DNK tarkibida topilgan 5-metilsitozin, 6-metiladenin, 5-gidroksimetitsitozin, transport RNK da topilgan tiouratsil, degidrouratsil, nukleotid, psevdouridinlar kiradi:

Fosfat grupp Nukleotidlar tarkibida ortofosfat kiradi.U molekulada bitta (mono-), ikkita (di-) uchta (tri-) bo'lishi mumkin.

1. Trankriptomika- RNK va uning barcha turlarini o'rganadigan fan hisoblanadi. Bundan tashqari Trankriptomika eksperissiyani ifodalab, xo'jayra populyatsiyalari tomonidan berilgan mRNKni eksperissiya darajasini nazorat qiladi va DNK mikro

olam texnologiya asosida yuqori -ishlab chiqarish texnikalari sifatida ham tez-tez foydalaniladi. RNK sekvensida aniqlangan nukleotid darajasidagi transkriptomni keyingi avlod sekvens texnologiyasini o'rganishda ham ishlatiladi. Uning yana bir vazifalaridan biri, genom orqali to'la RNK guruh transkriplarini hosil qilinishini, maxsus holatda yoki maxsus xo'jayrada yuqori ishlab chiqarish (high-throughput) metodlarini o'rganadi. Transkriptonlar identifikatsiyalangan genlarni taqqoslash imkonini berib, bu xo'jayra populyatsiyalarini farqini har xil ifodalaydi yoki xilma xil tuzatishlarga javob beradi. Transkriptonlar bu barcha RNK guruh molekulalari ya'ni ular tRNK, mRNK, rRNK va boshqa kodlanmaydigan boshqa RNKlarni o'z ichiga olib bir yoki xo'jayra to'plamida transkriblaydi. Oddiy qilib aytganda, qaysi oraganizm bo'lishdan qat'iy nazar gen strukturasi va RNK asoslarini o'rganadigan fandır. Transkriptomika bir kuch vositasi sifatida harakat qiladi. Bu esa genlarni anglash va biologik jarayonda yo'llarni taqoza qiladi.

Ma'lumki, kichik RNKlar ko'pgina eukariotlarda uchrab, muhim vazifani bajaruvchi riboregulyatorlar hisoblanadi. Ular DNK ketma-ketligini parchalash va xromatinning qayta tiklanishi orqali genlar ekspressiyasini bloklaydi yoki nishon RNKnı ingibirlaydi va translyatsiyani to'xtatadi. Kichik RNKlar so'nggi yillarda ularning genlar ekspressiyasi jarayonidagi muhim boshqaruvchilik roli tufayli ko'proq o'rganilmoqda. U hayvonlar va o'simliklarda digradatsiya yoki translyatsional repressiyasida muhim boshqaruv ahamiyatiga ega. Kichik RNK barg morfogenezi, flora organlari identifikatsiyasi va ildiz rivojlanishi kabi organlar rivojıdagi muhim vazifalariga qo'shimcha sifatida shuni aytish mumkinki, o'simlik miRNKlari o'z yo'nalishida ayrim kiRNKlar biogenezi bilan ham qayta aloqa funksiyasini bajaradi. Bundan tashqari, ular turli stresslarga ma'suldir; ya'ni achituvchi, mineral ozuqaviy, degidradatsiya stresslari, hattoki mexanik stresslarda ham ishtirok etadi. Kichik RNK sinfiga kiruvchi 18-24 nt (nukleotid) hajmdagi mikroRNK (miRNK) va kichik interferlovchi RNKlar (kiRNK) transkripsion va posttranskripsion darajalardagi genlar ekspressiyasini nazorat qiladi. Xromatinlar modifikatsiyasi va DNK metilyatsiyasi jarayoni orqali genlar modifikatsiyasini ta'minlash va rivojlanishdagi rolıdan tashqari, atrof muhit sharoitlarining o'simliklarga ta'sirida ham muhim ahamiyatga ega. Kichik RNK, miRNK va

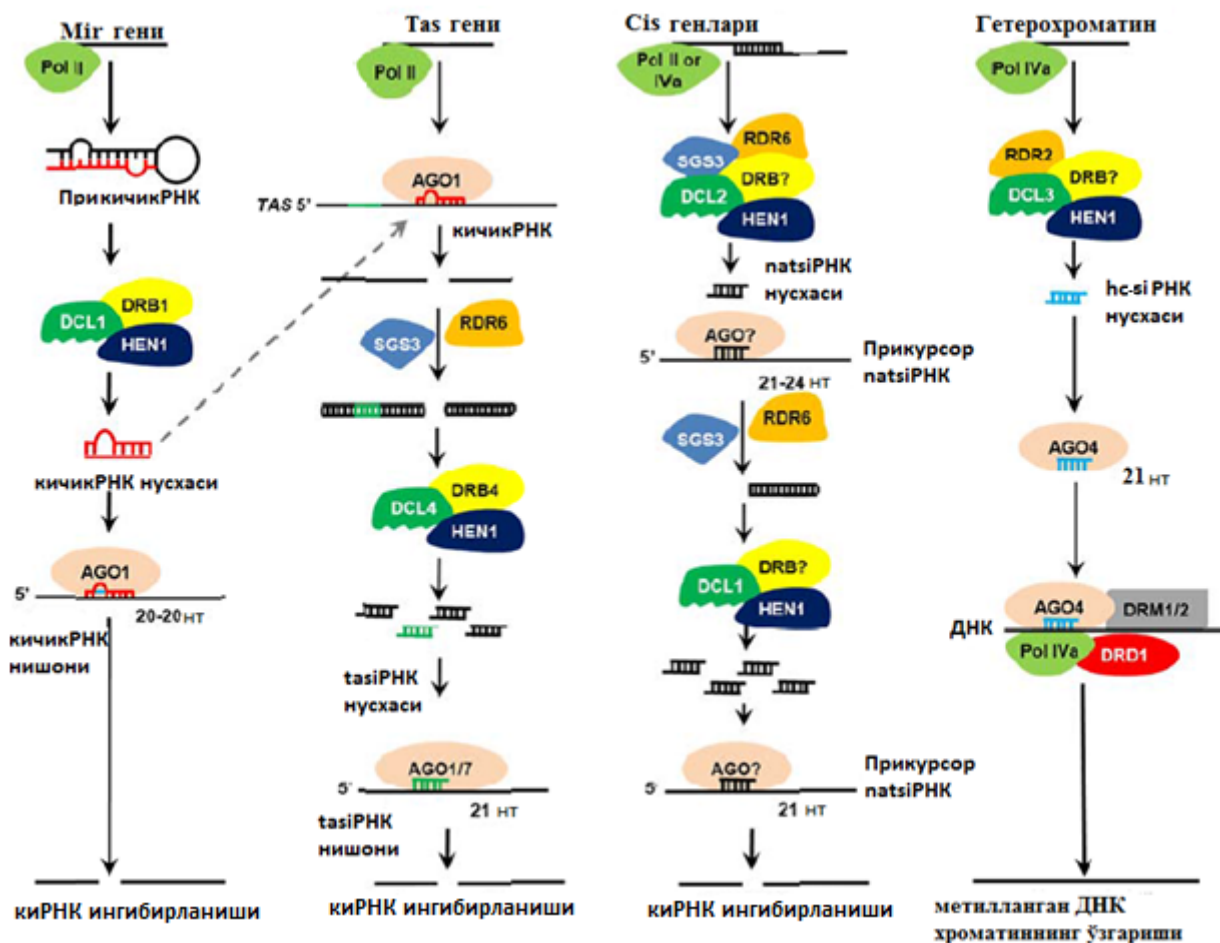
endogen kiRNK sinflariga bo‘linadi, ular esa o‘z navbatida xromatinli bog‘langan kichik interferlovchi RNK (hc-siRNA), tabiiy antisens kichik RNK (nat-siRNA) va trans-harakatlanuvchan kichik interferenlovchi RNK (ta-siRNA)larga bo‘linadi. Barcha kiRNKlar biogenezi RNK interferinsiyasi jarayonida spetsifik .komponentlarni talab qiladi (1-rasm)

Kichik RNK va mikroRNK lar bir-biridan quyidagi xususiyatlar bilan farqlanadi;

- Ikkalasi ham gen regulyatsiyasida ishtirok etadi.
- Sintezlanishi xar xil mexanizmlar orqali sodir bo‘ladi.
- kiRNKlar ikki zanjirli RNKlardan xosil bo‘ladi.
- kiRNKlar odatda yod RNKlarga 100% tarzda komplementar xolatda bog‘lanadi.
- miRNKlar bir zanjirli RNKning shpilkasimon strukturasidan xosil bo‘ladi.

miRNKlar postranskripsion jarayonda ishtirok etib, odatda 100% komplement xosil qilmaydi.

Kichik RNKlarni hosil bo‘lishda muhim rol o‘ynovchi ferment Dicer (Ribonukleaza III fermenti) hisoblanadi. U RNKaza III ikki zanjirli spetsifik ribonukleaza bo‘lib, RNK ni initsiatsiya bo‘lishida ishtirok etadi va ikki zanjirli RNKni ma’lum ulchamdagi RNKlargacha parchalaydi. Dicer ATFga bog‘liq fermentdir. Dicer ning bo‘lmashligi in vitro da gen o‘chirilishi jarayonining bo‘lmashligiga olib keladi. Dicer gomologlari ko‘pchilik organizmlarda o‘chraydi.



1-rasm. siRNA, ta-siRNA, nat-siRNA, hc-siRNA larning ingibirlanish yo'llari. Bularning orasida Dicer-like (Ribonukleaza III fermenti) oqsillari kichik RNKlarni turli xil xajmlarga o'zgartiradi, masalan, DCL2 22 yoki 24 nt lar hajmida kichik RNKlarini hosil qiladi.

Mikro RNK genlar ekspressiyasi jarayonining endogen regulyatoridir. O'simlik kichik RNKlari ilk marta 2002 yili arabidopsida (*Arabidopsis thaliana*) kashf etilganidan buyon, ularni uchta asosiy strategiya – turli xil to'qima va sharoitlardagi miRNKlarni to'g'ridan-to'g'ri klonlashtirish orqali; o'simliklardagi miRNK majmuasining genlar ma'lumotlari bazasiga nisbatan komplementarligi taxmini orqali; *Caenorhabditis elangans* dagi miRNKlarning aniqlanishiga sabab bo'lgan an'anaviy mutantlarni o'rganish metodi orqali 700 dan ortiq miRNKlar aniqlandi. miRNK ma'lumotlar bazasi reestriga ko'ra (8-nashr, 2006-yil fevral holatiga ko'ra), turli xil o'simliklarda 731 ta mikroRNK aniqlangan, bular qatoriga arabidopsida (*A. thaliana*) 117 ta, sholida (*Oryza sativa*) 178 ta, makkajo'xorida (*Zea mays*) 97 ta va terak (*Populus trichocarpa*), shakarqamish (*Saccharum*

officinarum), sorgo (*Sorghum bicolor*), beda (*Medicago truncatula*), soya (*Glycine max*)dagi boshqa genlar kiradi. Umuman olganda, o'simliklardagi miRNKlar hayvonlardagi miRNKlarga o'xshash bo'lib, bir qancha farqlarga ega. Birinchidan, o'simliklardagi boshlang'ich miRNKlar shpilkasimon, strukturalari yirik va ko'p variantlarda uchraydi. Ikkinchidan, voyaga yetgan o'simliklardagi mikroRNKlar o'zlarining nishonlari sifatida to'liq komplementarlik asosida eng yaqin bo'lganlarini tanlaydi. Uchinchidan, hayvonlardagi miRNK odatda 3' UTR (untranslated region "translyatsiyalanmaydigan qismi") dagi bir qancha nishonlar izchilligida aniqlaydi va translyatsiya jarayonining ingibirlanishiga sabab bo'ladi, shu paytning o'zida esa o'simliklardagi miRNK kodlovchi miRNKlar orasidan faqatgina bitta nishonni aniqlaydi va andoza RNKlarni parchalanishiga olib keladi. O'simlik miRNKlarining kamroq komplementarlik hususiyati shundan dalolat beradiki, ular hayvonlardagiga qaraganda ko'proq kichik interferlovchi RNK kabi harakatlanadi. miRNK 22 ta nukleotidli bir zanjirli RNK bo'lib, endogen transkriptlar tarkibiga kiruvchi shpilkasimon strukturadan Dicer (Ribonukleaza III enzimi) orqali hosil bo'ladi. miRNK o'zining nishoni bo'lgan kichik RNK ga nisbatan negativ faktor sifatida ham harakatlanishi mumkin. miRNKning biogenez va funksional mexanizmi o'simliklar va hayvonlarda bir xildir. miRNKlar genlarining aksariyat qismi mustaqil ravishda transkripsional birlik sifatida yashaydi va uzun asosiy transkripsiyalarga RNK polimeraza II tomonidan moslashtiriladi (boshlang'ich-miRNK sintezida). So'ngra, miRNK prekursorlari ribonukleaza III oqsillari yordamida (Dicer hayvonlarda va DICER-LIKE1 o'simliklarda) shpilkasimon strukturada joylashgan miRNK larning hosil bo'lishiga olib keladi. Hosil bo'lgan miRNK RNK vositasida gen o'chirilishi kompleksiga (PTGS- post-transcriptional gene silencing) joylanadi va nishon miRNKning parchalanishiga yoki repressiyasiga olib keladi.

Kichik interferenlovchi RNKlar transkripsiyalaridan ajralib chiqadigan transgen, endogen va takroriy qatorlar yoki transpozonlar kichik RNKlarning boshqacha turidir. Ularning strukturaviy jihati, biogenezis va funksional mexanizmlari miRNK bilan bir xil. Ularning asosiy farqi shundan iboratki, miRNK endogen transkriptlardan, kiRNKlar esa juft bo'lgan, uzun ekzogen va endogen qo'sh zanjirli RNKdan hosil bo'ladi .

Trans-harakatlanuvchi kiRNK o‘simliklardagi genlar ekspressiyasining ikkilamchi regulyatori. O‘simliklardagi intensiv klonlashtirish bo‘yicha izlanishlar shuni ko‘rsatib berdiki, ko‘pchilik kichik endogen RNKlar DCL3 jarayoni orqali 24 nukleotidli cis-acting kichik interferenlovchi RNKlarni hosil qiladi, ularning manbasi esa geteroxromatin, transpozon va takrorlanuvchi elementlardan hosil bo‘lishi mumkin. Boshqa bir kichik endogen RNK guruhlarida esa DCL1 vositasida hosil bo‘ladigan miRNKlar va uchinchi guruh esa TAS genlaridan DCL4 orqali trans-harakatlanuvchi kichik interferenlovchi RNK (ta-siRNAs)lardan hosil bo‘lgan kichik RNKlardir. TAS genlari oqsil sintezlamaydigan transkriptlar bo‘lib, ular faqat ta-siRNAni hosil qilish uchun prekursor sifatida xizmat qiladi (2-jadval).

2-jadval

O‘simliklarda endogen kichik RNKlarning genetik talablari.

Kichik RNK	O‘lcha mi (nt)	DCL1	DCL2	DCL3	DCL4	RDR2	RDR6
miRNK	21	+	-	-	-	-	-
tas-siRNA	21	+	-	-	+	-	+
nat- siRNA	24	-	+	-	-	-	+
nat-siRNA	21	+	+	-	-	-	+
he-siRNA	24	-	-	+	-	+	-

Izoh: Xar xil ko‘rinishdagi kichik RNKlarning hosil bo‘lishida turli xil RNK interferensiya komponentlarini talab qiladi. (+) belgisi bilan ma’lum o‘lchamdagi kichik RNKlarni hosil bo‘lishida ishtirok etuvchi komponentlar ko‘rsatilgan.

Ularning yana bir o‘ziga hos tomoni shundaki, ta-siRNAning hosil bo‘lishida miRNKlarni va ularda ishtirok etuvchi AGO1, DCL1, HEN1 hamda HYL1 komponentlarni talab qiladi. miRNK ta’siridan hosil bo‘lgan ikkita bir zanjirli RNKlarni ikki zanjirga o‘tkazish uchun SGS3 va RDR6 lar zarur bo‘ladi (3-jadval). RDR6 yordamida hosil bo‘lgan ikki zanjirli TAS RNKlari sekinlik bilan DCL4 orqali 21 ta nukleotid hajmdagi ta-siRNA ni hosil qiladi. miRNKga o‘xshab ta-siRNAlar HEN1orqali metillanadi va yuqori aniqlikda nishon RNKga komplementarlikni namoyon qiladi. ta-siRNA miRNKlarning boshqa vazifalaridan yana biri-o‘zlarining nishoni bo‘lgan miRNK ekspressiyasini boshqarishidir. Qiziqarli tomoni shundan iboratki, bir gen oilasining turli a’zolari miRNK yoki ta-siRNA tomonidan nishonga olinadi. Masalan, PPR genllar oilasi a’zolari miRNK161 yoki TAS2 ta-siRNA

tomonidan nishonga olinadi (20,22,23). Bundan tashqari, ARF genlari oilasi a'zolari miRNK160 yoki miRNK167 va yoki TAS3 ta-siRNAlari tomonidan ham nishonga olinadi (22,23). Hozirga qadar ta-siRNAlarining hayvonlarda bor-yo'qligi haqida ma'lumotlar o'rganilmagan.

Tabiiy CIS-harakatlanuvchi kiRNKlar o'simliklardagi genlar ekspressiyasining maxsus regulyatori. Yaqinda Arabidopsisda tabiiy cis-transkripsiyalaridan olinadigan endogen kichik interferenlovchi RNKlarning yana bir yangi guruhi aniqlandi, bu esa DCL2ning yana bir endogen funksiyasidan dalolat beradi. Tadqiqotlar chog'ida shu narsa ma'lum bo'ldiki, bir transkripsiya siqilgan, boshqasi esa tuzli eritma tomonidan so'rib olingan. Har ikki transkripsiya ham bir paytning o'zida paydo bo'lgan vaqtda esa, DCL2, NRPD1a, RDR6 va SGS3 genlari harakatlanishi natijasida 24 nt hajmli kiRNKlar hosil bo'la boshlagan (1-rasm). Ushbu jarayon 24 nt hajmli kiRNK transkripsiyalar hosil bo'lishiga olib keladi va 21nt hajmli kiRNKlari yuzaga kelishi uchun zamin yaratadi. Shunga qaramasdan, 21 nt hajmli kiRNK hosil bo'lishi transkripsiyalar boshqarilishi uchun zarur emas, chunki o'zida 21 nt hajmli emas, balki 24 nt hajmli kiRNKlarni mujassamlashtirgan mutantlar yovvoyi o'simliklardagiga o'xshash transkripsiyalarni namoyon qiladilar. Shuning uchun, 21 nt hajmli ta-siRNAlardan farqli o'laroq, nat-siRNAlari faqatgina cis-genlari tarqalishini ta'minlay olishadi xolos. Hozirga qadar Arabidopsisda 2000 dan ortiq tabiiy transkripsiyalar aniqlangan. Ularning yonida nat-siRNA ham bo'ladi, ammo ular faqatgina sun'iy sharoitlardagina ko'zga tashlanadi.

3-jadval.

O'simliklarda kichik RNKlar sintezida ishtirok etuvchi oqsillar.

Kodi	Oqsil nomi (Muqobil nomi)	Kashf etilishi	Vazifasi
AGO1	ARGONOUTE 1 (DND)	Rivojlanishni aniqlash (Bohmert va bosh., 1998) PTGS-tanqisligi (Morel va bosh., 2002)	RNK kesuvchi (Vaucheret va bosh., 2004, Baumberger va Baulcombe 2005,)
AGO2	ARGONOUTE 7 (ZIP)	Rivojlanishni aniqlash (Hunter va bosh., 2003,	RNK kesuvchi (Adenot va bosh., 2006)

		Schauer va bosh., 2002)	RNKaza III (Park va bosh., 2006, Reinhart va bosh., 2002)
DCL1	DICER-LIKE1 (CAF, EMB76, SINI, SUZI)	Teskari genetika (Xie va bosh., 2004)	RNKaza III (Park va bosh., 2006, Reinhart va bosh., 2002)
DCL2	DICER-LIKE2	Teskari genetika (Xie va bosh., 2004)	RNKaza III (Xie va bosh., 2004)
DCL3	DICER-LIKE3	Teskari genetika (Gascioli va bosh., 2005)	RNKaza III (Xie va bosh., 2004)
DCL4	DICER-LIKE4	Rivojlanishni aniqlash (Yoshikawa va bosh., 2005)	RNKaza III (Yoshikawa va bosh., 2005)
HYL1	HYPONASTI C LEAVES (DRB1)	Rivojlanishni aniqlash (Lu va Fedoroff 2000), Teskari genetika (Vazquez va bosh., 2004)	Ikki zanjirli RNK ni tikadigan oqsil (Hiragure va bosh., 2005)
DRB4	dsRNA- BINDING PROTEIN4	Biokimyoviy (Hiragure va bosh., 2005)	Ikki zanjirli RNK ni tikadigan oqsil (Hiragure va bosh., 2005)
HEN1	HUA ENHANCER1	Teskari genetika (Boutet va bosh., 2003) Rivojlanishni aniqlash (Lu va Fedoroff 2000,)	RNK meteliyatsiyasi (Li va bosh., 2005)
HST	HASTY	Rivojlanishni aniqlash (Telfer va Poething 1998)	Ortologlarni farqlash (Park va bosh., 2005)
NRPD 1	NUCLEAR RNA POLYMERAS E Iva (SDE4)	PTGS-tanqisligi (Herr va bosh., 2005)	DNK ga bog'liq RNK polemeraza (Herrivaboshqa va bosh., 2005)
RDR2	RNA- DEPENDET RNA POLYMERAS E2	Teskari genetika (Xie va boshqa., 2004)	RNK ga bog'liq RNK polemeraza (Xie va boshqa., 2004 Herri va boshqa., 2004)

RDR6	RNA- DEPENDENT RNA POLYMERASE E2	PTGS-tanqisligi (Dalmay va bosh., 2001) PTGS-tanqisligi (Mourrain va bosh .,2000)	RNK ga bog‘liq RNK poleymeraza (Dalmay va bosh.,2010, Mourrain va bosh., 2000,)
SDE3	SILENCING DEFECTIVE3	Rivojlanishni aniqlash (Peragine va bosh., 2004)	RNK- xelikaza (Daimay va bosh.,2001)
SGS3	SUPPRESSOR E OF GENE SILENCING3 (SDE2)	PTGS-tanqisligi (Dalmay va bosh., 2001) PTGS-tanqisligi (Mourrain va bosh .,2000)	RNK stabilizatori (Yoshikawa va bosh.,2005)

MiRNK va ta-siRNA yo‘llarining miRNK va ta-siRNAlar tomonidan boshqarilishi. Ikki turdagi mikroRNK miR162 va miR168lar, miRNKlardagi DCL1 va AGO1lar tarqalishi hisobiga miRNKning ingibirlanish yo‘llarini boshqarishda ishtirok etadi. miRNKlarning eng asosiy ikki qismining bunday harakatlinishi miRNKlarning balansini ta‘minlab turish uchun muhimdir . Bu esa o‘z navbatida DCL1 orqali miRNK ishlab chiqarilishiga va miRNK bo‘linish vaqtida miRNK aylanishiga bog‘liq. Haqiqatdan ham, AGO1 mutantlari tarkibidagi miRNKlarni o‘rganish natijalari shuni ma‘lum qildiki, ko‘pchilik mikRNKlar AGO1 proteinlari mavjud bo‘lmagan paytda notekis harakatlanadi, demak AGO1 genlari katalitik roldan tashqari stabilizatorlik vazifasini ham bajaradi . AGO1 genlari cheklangan miqdorda bo‘ladi va ularning me‘yoriy miqdori miRNK168ning AGO1 ga va AGO1 proteinlarining miRNK168ga bo‘lgan ikkilamchi ta‘siri natijasida hosil bo‘ladi. ta-siRNAlari uzun ikki zanjirli RNKlardan kelib chiqqanligi tufayli, ta-siRNAlari ham asosiy TAS RNKga olib boruvchi, ham TAS RNKni to‘ldiruvchi molekulalar zanjiriga ega. miRNKlarga o‘xshab, ta-siRNAlari assimetriya qonuniyatiga bo‘ysunishadi, ayni vaqtda molekulalar zanjiri esa turli darajalarga bo‘linadi. miRNKlarga o‘xshab, molekulalar zanjiridan ajralib chiquvchi yetilgan ta-siRNAlari TAS genlariga o‘xshovchi genlarni nishonga olishadi . Shunga qaramasdan, molekulalar zanjiridan ajralib chiquvchi yetilgan ta-siRNAlarning asosiy TAS RNKlarini nishonga olish va boshqarish uchun yetarli potentsiallari bor. ta-siRNAlari

defitsit bo'lgan mutantlarda asosiy TAS RNKlarining haddan ziyod to'planib ketishi kuzatiladi .

Xulosa o'rnida shuni aytish mumkinki, kichik RNKlarning genom regulyatsiyasida o'z o'rnini bo'lishiga qaramay, ular o'sish va rivojlanishda ham muhim rol o'ynaydi, hamda gen ekspressiyasini bloklashda muhim ahamiyatga egadir. Bu bilan ular xromatin strukturasi o'zgartirishda, gen ekspressiyasini susaytirishda yoki oqsil translyatsiyasining ingibitsiyasida qatnashishi bilan umumiy transkriptom regulyatsiyasida ishtirok etadi.

Mavzu yuzasidan savollar

1. Transkriptomika fani nimani o'rganadi?
2. Kichik RNKlarni o'simliklar hayotidagi roli?
3. Kichik RNKlar qanday guruhlariga bo'linadi?
4. Kichik RNKlar biogenezi tushintirib bering?
5. Birinchi marta Kichik RNK qaysi o'simlikda kashf etilgan va hozirda qancha mikroRNK lar aniqlangan.
6. O'simlik mikroRNK larini hayvon mikroRNKlariga o'xshash va farqli tomonlarini tushintiring?
7. O'simliklarda endogen kichik RNKlarning genetik talablari nimadan iborat.
8. O'simliklarda kichik RNKlar sintezida ishtirok etuvchi qanday oqsillarni bilasiz va ularni vazifalarini ayting.
9. Kichik RNKlarni hosil qilishda ishtirok etadigan fermentni toping va uni vazifasini tushintirib bering.
10. Kichik interferenlovchi RNK (kiRNK) va mikroRNK larni farqini tushintirib bering.
11. Necha xil kichik interferenlovchi RNK ingibirlanish yo'llari mavjud va ularni mexanizmini tushintiring.
12. Trans-harakatlanuvchi kiRNKni o'simliklardagi genlar ekspressiyasi jarayonidagi regulyatorlik vazifasi nimadna iborat.
13. MiRNK va ta-siRNA yo'llarining miRNK va ta-siRNAlar tomonidan boshqarilishini tushintirib bering.
14. RNK interferinsiyasi jarayonida kichik RNK lar qanday ahamiyatga ega.

Foydalanilgan adabiyotlar ruyxati

1. HerveVaucheret, Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations .*Genes Dev.* 2006 20: 759-771.
2. Virginia Ruiz-Ferrer and Olivier Voinnet, Roles of Plant Small RNAs in Biotic Stress Responses (2009) Vol. 60: 485-510.
3. Chellappan P, Xia J, Zhou X, Gao S, Zhang X, Coutino G, Vazquez F, Zhang W, Jin H. siRNAs from miRNA sites mediate DNA methylation of target genes. *NucleicAcidsRes.* 2010;38:6883–6894.
4. Van Wolfswinkel JC, Ketting R F, The role of small non-coding RNAs in genome stability and chromatin organization, *J Cell Sci.* 2010 Jun 1;123(Pt 11):1825-39
5. Selvi BR, Batta K, Kishore AH, Mantelingu K, Varier RA, Balasubramanyam K, Pradhan SK, Dasgupta D, Sriram S, AgrawalS,Kundu TK, Identification of a novel inhibitor of coactivator-associated arginine methyltransferase (CARM1)-mediated methylation of histone H3 Arg-17 *j Biol Chem.* March 5, 2010, 285 (10): 7143-52
6. Reinhart, B.J., Weinstein, E.G., Rhoades, M.W., Bartel, B., andBartel, D.P. 2002. MicroRNAs inplants. *Genes &Dev.* 16:1616–1626
7. V. Ambros, B. Bartel, D.P. Bartel, C.B. Burge, J.C. Carrington, X. Chen,et al., A uniform system for microRNA annotation, *RNA* 9 (2003) 277–279.
8. R.C. Lee, R.L. Feinbaum, V. Ambros, C. The, elegansheterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14, *Cell* 75 (1993) 843–854.4.
9. S. Griffiths-Jones, The microRNA registry, *Nucl. Acids Res.* 32 (2004) D109–D111
10. D.P. Bartel, MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function,*Cell* 116 (2004)281–297.
6. Virginia Ruiz-Ferrer and Olivier Voinnet, Roles of Plant Small RNAs in Biotic Stress Responses (2009) Vol. 60: 485-510
7. Chellappan P, Xia J, Zhou X, Gao S, Zhang X, Coutino G, Vazquez F, Zhang W, Jin H. siRNAs from miRNA sites mediate DNA methylation of target genes. *NucleicAcidsRes.* 2010;38:6883–6894
8. Van Wolfswinkel JC, Ketting R F, The role of small non-coding RNAs in genome stability and chromatin organization, *J Cell Sci.* 2010 Jun 1;123(Pt 11):1825-39

9. Selvi BR, Batta K, Kishore AH, Mantelingu K, Varier RA, Balasubramanyam K, Pradhan SK, Dasgupta D, Sriram S, Agrawal S, Kundu TK, Identification of a novel inhibitor of coactivator-associated arginine methyltransferase (CARM1)-mediated methylation of histone H3 Arg-17 *J Biol Chem.* March 5, 2010, 285 (10): 7143-52.
10. Reinhart, B.J., Weinstein, E.G., Rhoades, M.W., Bartel, B., and Bartel, D.P. 2002. MicroRNAs in plants. *Genes & Dev.* 16:1616–1626.
11. V.N. Kim, MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing, *Nat.Rev. Mol. Cell Biol.* 6 (2005) 376–385.
12. A.J. Hamilton, D.C. Baulcombe, A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants, *Science* 286 (1999) 950–952.
13. Xie, Z., Johansen, L.K., Gustafson, A.M., Kasschau, K.D., Lellis, A.D., Zilberman, D., Jacobsen, S.E., and Carrington, J.C. 2004. Genetic and functional diversification of small RNA pathways in plants. *PLoS Biol.* 2: 642–652.
14. Gustafson, A.M., Allen, E., Givan, S., Smith, D., Carrington, J.C., and Kasschau, K.D. 2005. ASRP: The Arabidopsis small RNA project database. *Nucleic Acids Res.* 33: D637–D640.
15. Peragine, A., Yoshikawa, M., Wu, G., Albrecht, H.L., and Poethig, R.S. 2004. SGS3 and SGS2/SDE1/RDR6 are required for juvenile development and the production of trans-acting siRNAs in Arabidopsis. *Genes & Dev.* 18: 2368–2379.
16. Vazquez, F., Gascioli, V., Cr  t  , P., and Vaucheret, H. 2004a. The nuclear dsRNA binding protein HYL1 is required for microRNA accumulation and plant development, but not posttranscriptional transgene silencing. *Curr. Biol.* 14: 346–351.

6. Mavzu. O‘SIMLIK GENOMIGA BEGONA GENLARNING EKSPRESSIYASI. O‘SIMLIK HUYAYRALARI TRANSFORMATSIYASI USULLARI

Reja:

1. Genni kiritish va uning resipient o‘simlik genomidagi ekspressiyasi.
2. Transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o‘simliklarni tanlash.
3. Transformatsiyaning ahamiyati.
4. O‘simlik hujayralari transformatsiyasi usullari.

Genni kiritish va uning resipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi. O'simliklar genomiga begona genlarni ko'chirib o'tkazish muammosi begona genlarni ikki pallali va ba'zi bir pallali o'simliklar genomiga ko'chirib o'tkazish imkonini beruvchi tuproq agrobakteriyalari *Agrobacterium tumefaciens* tarkibidagi Ti – plazmidlarining aniqlanishi bilan birmuncha yengillashdi. So'nggi vaqtlarda o'simlik hujayralari transformatsiyasida bioballistik transformatsiya usuli, ayniqsa, bir pallali o'simliklar uchun keng qo'llanilmoqda. Begona genni resipient o'simlik genomiga ekspressiyasini amalga oshirish va avlodlarda belgining nasldan – naslga turg'un o'tishini ta'minlash muhim masala hisoblanadi. Kiritilgan genni ekspressiya bo'lishi bir qator sabablar: genni o'simlik genomiga integratsiya bo'lgan joyi, promotor qismining metillanish izchilligi, kiritilgan genning xususiyatlari va h.k. larga bog'liq.

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

Shuni qayd etish lozimki, ko'plab o'simliklarni regeneratsiya qilish bo'yicha yildan yilga bir qator takomillashtirilgan usullar ishlab chiqilmoqda va rivojlantirilmoqda.

Transformatsiyaning ahamiyati. O'tgan asrning yigirmanchi yillarning oxirida hujayra yadrosidagi xromosomada dezoksiribonuklein kislota ko'p miqdorda topilishiga chuqur e'tibor bera boshlandi. Avvalo gistoximiyaviy fyolgen reaksiyasi (fuksin sulbit kislota bilan qizil rang hosil qilish)dan foydalanib, DNK xromosomalarda, RNK sitoplazmada joylanishi aniqlandi. Xuddi shu yillar irsiy belgilarning nasldan-naslga o'tishi xromosomalarda joylashgan genlarga bog'liq ekanligini tasdiqlovchi faktlar irsiyatning xromosoma nazariyasi uzil-kesil qabul qilinishiga olib keladi.

Griffits tajribasi. Shuning bilan birga genlar fermentlarni idora qilishi, ya'ni bioximiyaviy jarayonlarni boshqarishi haqida ko'lab ma'lumotlar to'plana boshlandi. Mana shu yillar ingliz olimi Fred Griffits pnevmokokklarning kasallik qo'zg'atmaydigan turi hujayralarni ularning kasallik qo'zg'atadigan, lekin qaynatish yo'li bilan o'ldirilgan, ya'ni kasallik qo'zg'atish qobiliyatini yo'qotgan hujayralari bilan qo'shib kalamush tanasiga kirgizilsa, kasallik paydo bo'lishini kuzatdi. Bu tajriba bakteriyaning bir turiga xos xususiyat (kasallikni qo'zg'atish) uning nobud qilingan hujayrasidan ikkinchi turiga o'tib, uning tirik hujayralarni o'zgartirishini tasdiqladi. Bu hodisa *mikroblar transformatsiyasi* deb atalib, nobud qilingan hujayrada tirik hujayrani

o'zgartira oladigan qandaydir omil (transformatsiya chaqiruvchi faktor) mavjud degan xulosa tug'ilishiga sabab bo'ladi.

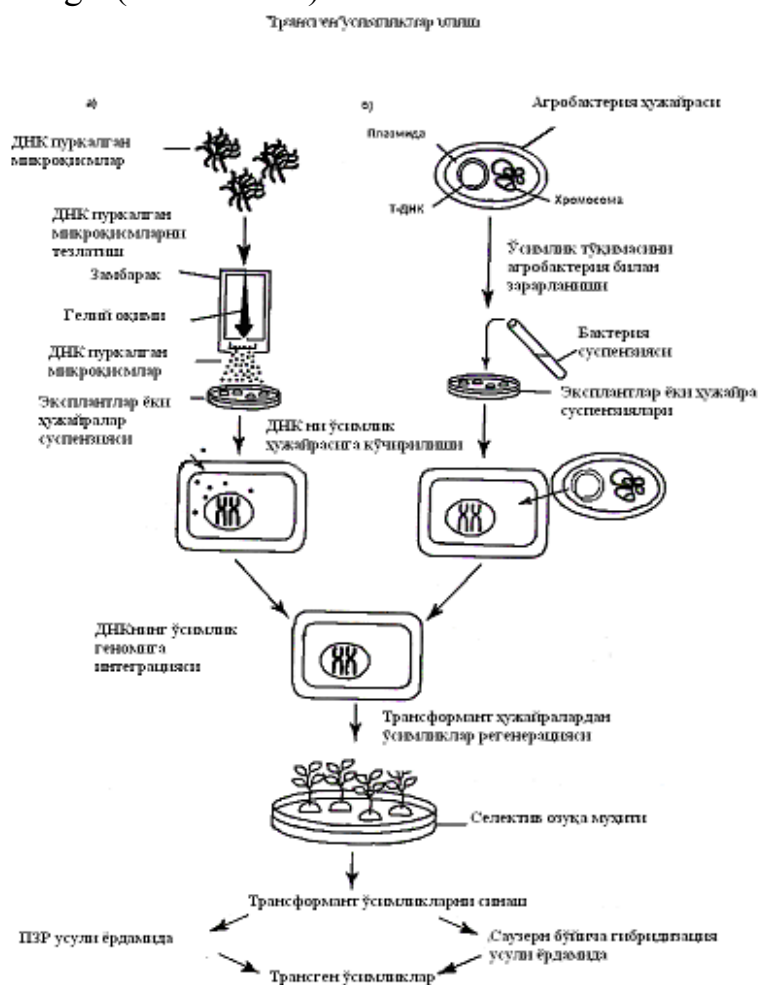
Bu faraz keng tadqiqot qilinib kelsa ham, transformirlovchi agentning ximiyaviy tabiati deyarli yana 10 yilgacha noma'lum bo'lib qoldi. Faraz etilgan faktorni tozalash va uning ximiyaviy tabiatini aniqlash ustida olib borilgan tadqiqotlar 1944 yil ulug' kashfiyotga olib keldi. Mana shu yili amerikalik olim Everi o'zining kasbdoshlari Mak Leod va Mak Kartilar bilan 10 yillik ishlari yakunini e'lon qildi. Bu mashhur maqolada pnevmokokklarning bir turini ikkinchi turga aylantiradigan modda DNK ekanligi haqida xabar berildi. Demak, DNK belgini tashuvchi molekula, chunki nobud qilingan pnevmokokklarning kasallik qo'zg'atish xususiyati DNK molekulasiga va DNK ta'sirida bu xususiyat tirik, lekin kasallik qo'zg'atish xususiyatida mahrum bakteriyalarga uzatiladi va hujayra ko'payganda nasldan-naslga o'tadi. Shubhasiz bu kashfiyot tufayli molekular biologiya poydevoriga salmoqli xissa qo'shdi.

Bakteriofaglar irsiy material ham DNK. Bu yillar asosiy tadqiqotlar bakteriyalar, viruslar o'tkazilib, ular irsiy xossasining saqlanishi, ko'chirilishi, transformatsiyasining molekular mexanizmini aniqlashda qator-qator muhim kashfiyotlarga olib keldi. 1941 yilda "bir gen-bir oqsil" formulasi fanda umumiy qoida sifatida qabul qilinadi. Bidl va Tatum kashf yetgan bu qoidaning ma'nosi genlar oqsil (ferment)lar sitezini idora qilishi prinsipini aniqlab berishdadir. Bakteriyalarni yemiruvchi, ya'ni **bakteriofag** deb ataluvchi eng mayda mikroorganizmlarning irsiy material ham DNK ekanligi isbotlandi.

O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari. Ikki pallali transgen o'simliklar olishda eng keng tarqalgan usullardan biri agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli hisoblanadi (2.9. - rasm). U o'simlik eksplantlarini T-DNK hududiga begona gen joylashtirilgan vektor konstruksiyaga ega agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga asoslangan. Uning keng tarqalganligining sababi, transformatsiyani amalga oshirishning birmuncha soddaligi transgen o'simliklarni ajratib olishda yuqori (o'simlik turiga qarab, 10-60 %) samaradorligi bilan izohlanadi.

Dastlabki material uchun vektor (binar, koingegrativ yoki muayyan transformatsiya turi uchun yaroqli boshqa biror) konstruksiyaga ega bo'lgan agrobakteriya shtammi bo'lishi lozim. Vektor o'simlik genomiga kiritilishi lozim bo'lgan gen ketma-ketligiga ega bo'lishi kerak. Genning kelib chiqishi (prokariot yoki eukariot) transformatsiya uchun ahamiyatsizdir, lekin u o'simlik hujayrasiga ekspressiya bo'la oladigan promotor nazorati ostida bo'lishi lozim. Funksional gendan tashqari, vektor, albatta, transformatsiyaning selektiv nishon belgisini saqlashi shart. Bunday nishon belgi sifatida antibiotiklar: kanamitsin (*npt*-geni), gigromitsin (*npt*-geni) va yoki gerbitsidlar xlorsulfuron (*ALS*-geni), fosfinotritsin (*bar*- geni) (BASTA) ga chidamlilik belgisini yuzaga chiqaradigan genlar ishlatiladi. Bundan tashqari, resipient – o'simlik navlarini tanlab olish lozim. Transformatsiya uchun eksplant sifatida steril o'simlik barg plastinkalari olinadi. Biroq

buning uchun yosh ildizlar (arabidopsisda), gipokotil (pomidorda), urug'palla (pomidor, baqlajonda), bo'g'im oralig'i (kartoshkada) ham ishlatilishi mumkin.



3. rasm – Transgen o‘simliklarni olish sxemasi.

a)-bioballistikalar usuli; b)-agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya

Eksplantlarni vektor konstruksiyali agrobakteriyalar saqlovchi suyuq muhitida inokulyatsiya qilinadi. Inokulyatsiya qilish muddati har bir tur o‘simlik uchun alohida tanlab olinadi. Bunda eksplantning jarohatlangan yuzasida hujayralarning zararlanishi boshlanib, kokultivatsiyadan so‘ng 24 – 48 soat o‘tgach, T-DNK bo‘lagini begona (tanlab olingan) gen bilan birga o‘simlik genomiga joylashishi sodir bo‘ladi. Shundan so‘ng, eksplantlarni antibiotiklar (karbenitsillin yoki sefotaksim) saqlovchi oziqa muhitiga o‘tkaziladi, bu agrobakteriya hujayralarning tanlab nobud bo‘lishiga sabab bo‘ladi. Bundan tashqari, oziqa muhitiga kerakli (to‘g‘ridan-to‘g‘ri regeneratsiya yoki kallus hosil bo‘lishi uchun) fitogormonlar va transformant hujayralarni selektiv tanlab olish uchun antibiotiklar, gerbitsid qo‘shiladi. Antibiotik yoki gerbitsidga chidamlilik genlarining ekspressiyasini amalga oshiruvchi ega transgen o‘simliklar selektiv agent qo‘shilgan muhitda o‘sa olsa, transgen bo‘lmagan o‘simliklar bunday muhitda nobud bo‘ladi. 2-5 haftadan so‘ng transformant eksplantlardan poyalar o‘sib chiqqa boshlaydi, ularni ajratib olinadi yoki keyingi qo‘shimcha molekular tahlillar uchun tuproqqa ko‘chirib o‘tkaziladi (2.9. a – rasm).

Protoplastlar shu yoʻsinda transformatsiya qilinadi, lekin bu usuldagi transformatsiya protoplastlarning oʻzida regeneratsiya qilish qobiliyati sustligi uchun kam samara beradi.

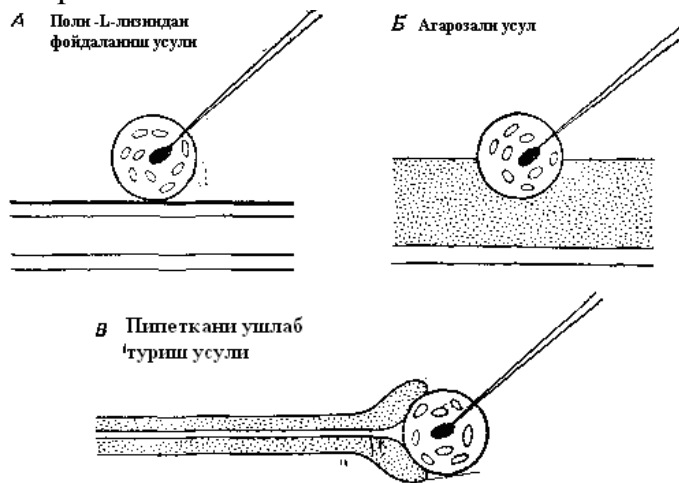
Agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli orqali hozirgi kunga qadar deyarli barcha ikki pallali qishloq hoʻjalik ekinlaridan transgen oʻsimliklar olingan. Bu usul baʼzi bir pallalilar (bugʻdoy, makkajoʻxori, sholi) da ham oʻz ifodasini topgan.

Oʻsimliklarga genlarni toʻgʻridan - toʻgʻri koʻchirib oʻtkazish. Oʻsimlik hujayralariga genlarni toʻgʻridan-toʻgʻri koʻchirib oʻtkazishda oʻsimlik protoplastlarining transformatsiyasi keng qoʻllaniladi. Oʻsimlik hujayra devoriga fermentlar (sellyulaza, pektinaza) bilan ishlov berilganda hujayra devori yemirilib, faqat protoplast qoladi. DNK ishtirokida protoplastlarni toʻgʻridan - toʻgʻri transformatsiyalash usuli ishlab chiqilgan. Transformatsiyaning birmuncha yuqori samaradorligiga (10^{-2}) elektroporatsiya va polietilenlikol qoʻshish usuli orqali erishish mumkin. Agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga nisbatan, toʻgʻridan - toʻgʻri koʻchirib oʻtkazish usulining chastotasi kam boʻlsa-da, birmuncha afzalliklarga ega. Vektor maxsus biologik signallar va transformatsiya funksiyalari (T-DNK hududi bilan chegaralangan va *vir*-hududi) ga ega boʻlmazligi ham mumkin. Transformatsiya uchun deyarli har qanday begona gen tutuvchi DNK vektori qoʻllanilishi mumkin. Bunda gibrid gen (faqat tegishli regulator hududlar mavjud bulganida) hujayra rekombinatsiyasi mexanizmlaridan foydalanib, ayniqsa, protoplast yadrosiga toʻgʻridan - toʻgʻri inʼeksiya qilishda oʻsimlik yadro DNKsiga integratsiya boʻladi va ekspressiyalanadi.

Hozirgi vaqtda 140 dan ortiq oʻsimlik turlari vektor DNKsini protoplast hujayralariga turli usullar bilan koʻchirib oʻtkazish orqali transformatsiya qilingan.

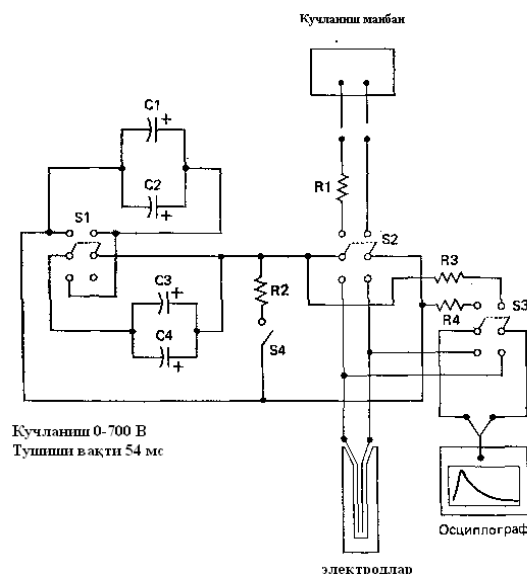
DNK mikroinʼeksiyasi. Bir qator tajribalarning koʻrsatishicha, oʻsimlik hujayralari transformatsiyasi uchun hayvon hujayralaridagi mikroinʼeksiyalar singari mikroinʼeksiyalari usulini qoʻllash mumkin. Bunda inʼeksiya uchun protoplastlar olishda ularni polilizinli shishalarga yopishtirish usullari ishlab chiqilganligi qator texnik qiyinchiliklarni bartaraf etish imkoniyatini berdi (2.10-rasm).

Vektor tipiga bogʻliq boʻlmagan holda oʻsimlik protoplastlari transformatsiyasi samaradorligi 10-15% dan oshmaydi, u ikki pallali oʻsimliklar uchun ham bir pallalilar uchun ham bir xilda muvofiq keladi.



4 – rasm. Mikroin'eksiyani amalga oshirish uchun protoplastlarni immobilizatsiya qilish usuli

Elektroporatsiya. Bu usul yuqori impulsli kuchlanishlarning biomembranalar o'tkazuvchanligini qaytar darajada oshirishga asoslangan. O'simlik protoplastlari uchun elektroporatsiya muolajalari juda samarali hisoblanadi. Usulning mohiyati quyidagicha: DNK- vektorini saqlovchi yuqori konsentratsiyali eritmadagi o'simlik protoplastlariga yuqori voltli impuls (kuchlanish 200-350 V, impuls davomiyligi 54 ms) bilan ta'sir etiladi (2.11-rasm). Natijada DNK molekulalari hujayra membranasidagi poralar (teshikchalar) orqali yutiladi. Eritma aralashtirilgandan so'ng protoplastlarni regeneratsiya bo'lishi uchun yetarli muhitga ekiladi. Ko'chirib o'tkazishning samarasi elektr shokidan so'ng 24-28 soat o'tgach aniqlanadi.



5 - rasm. Elektroporatsiyani amalga oshirish uchun past kuchlanishli qurilmaning tuzilishi

Liposomalarga joylashtirish. O'simlik protoplastlariga o'tkaziladigan ekzogen genetik materialni nuklein kislotalarni parchalaydigan nukleazalar ta'siridan himoya qilishda qo'llaniladigan usullardan biri liposomalarga joylashtirish usuli.

Liposomalar qobig'i fosfolipidlardan tashkil topgan sferik shakllar hisoblanadi. Ularni fosfolipidlarni suvli emulsiyalariga ultratovushlar bilan ishlov berish yoki qattiq chayqatish natijasida olish mumkin. Liposomalar yordamida o'simlik protoplastlariga tamaki mozaikasi virusi RNK si, A.tumefaciens bakteriyasi Ti – plazmidasi DNK si, shuningdek, butun metafaza davri xromosomalari kiritilgan. Liposomalar yordamida ko'chirib o'tkazish tizimlarning afzalliklari sifatida ularning hujayralarga nisbatan zaharliligining kamligi, liposomalarni parchalash xususiyatiga ega hujayralari bo'lgan ko'plab o'simliklarda ishlatish mumkinligini ko'rsatish mumkin. Hozirgi vaqtga kelib, mazkur usul texnik jihatdan qiyinligi va transformatsiyalash faolligining nisbatan kam (0,5-1%) ligi uchun tobora kam foydalanilmoqda.

Bioballistik transformatsiyalar usuli. Bioballistika usuli bugungi kunga kelib, bir pallalilar uchun eng samarali usullardan hisoblanadi, shuningdek uni ikki pallali o'simliklarda ham muvaffiqiyat bilan qo'llash mumkin. Transformatsiya uchun dastlabki

material sifatida kulturalar suspenziyasi, kallus to'qimasi yoki bir pallalilarning yetilmagan murtak o'simalari olinadi.

Mazkur usulning mohiyati shundan iboratki, diametri 0,6-1,2 mkm bo'lgan volfram, oltin yoki platina bo'lakchalari transformatsiya uchun zarur gen konstruksiyalari saqlovchi DNK ustidan purkaladi. DNK tutuvchi volfram, platina yoki oltin bo'lakchalari sellofan qobiq bilan o'ralib, bioballistik zambarak ichiga joylashtiriladi. Kallus yoki hujayra suspenziyasi agarli oziqa muhiti solingan Petri likopchasiga o'tkaziladi va bioballistik zambarak ro'parasiga 10-15 sm masofada joylashtiriladi. Zambarakdagi bosim vakuum nasos bilan 1,0 atm gacha tushiriladi. Bosim tushiriladigan vaqtda zambarakdan volfram yoki oltin bo'lakchalari otilib chiqib, hujayra devorini yorib o'tadi va sitoplazmaga, hujayra yadrosiga o'tadi.

Odatda bevosita markazda joylashgan hujayralar volfram va oltin bo'lakchalarining ko'plab kelib urilishi va juda kuchli bosimi tufayli nobud bo'ladi, ulardan 0,6-1 sm markazdan uzoqda esa transformant hujayralar joylashadi. Shundan so'ng hujayralarni davomli ekish va regeneratsiya qilish uchun oziqa muhitlariga ko'chirib o'tkaziladi.

Bioballistik zambaraklar yordamida bir pallali makkajo'xori, sholi, bug'doy, arpa o'simliklari transformatsiya qilinib, turg'un transgen o'simliklar olingan. Bundan tashqari bioballistik transformatsiya DNK ni embriogen changchiga to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish, transgen digaploid o'simliklar olish uchun qo'llaniladi va u seleksiya ishlarida muhim bosqich hisoblanadi. Bu usul bilan tamaki o'simligining transformatsiyasi amalga oshirilib, gaploid o'simliklar regeneratsiyasidan so'ng turg'un transformantlar olingan.

O'simliklar transformatsiyasining dalillari. O'simliklar transformatsiyasi vektorlari tarkibiga funksional gendan tashqari selektiv nishon genlari kiradi. Bu gen odatda antibiotiklar kanamitsin (*prtII* -geni) yoki gigromitsin (*prtII*- geni) ga chidamlilik genlarini kodirlaydi, shuning uchun transgen o'simliklarni dastlabki tanlov ishlarini tegishli antibiotiklar saqlovchi oziqa muhitlarida olib boriladi. Bunday muhitda genomi tarkibida selektiv nishon geni bo'lgan o'simliklarga regeneratsiya qila oladi. Biroq selektiv muhitda o'sa olish xususiyatining o'zi o'simlikning transgen tabiatini isbotlovchi yagona dalil bo'la olmaydi.

T-DNK ketma-ketliklari borligini to'liq isbotlashda polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) tahlili va T-DNK bo'lagini radioaktiv zond sifatida qo'llash orqali transgen o'simlik xromosoma DNK sining blot – gibrizatsiyasiga asoslangan molekular tahlili o'tkaziladi. Bunday tahlillarni o'tkazish juda qimmat tursada, olingan natijalar transformatsiya amalga oshganligi, T-DNK – konstruksiyalarning qanchasi o'simlik genomiga o'rnasha olganligi to'g'risida ishonchli ma'lumot olish imkonini beradi. Bundan tashqari, funksional gen ekspressiyasining qo'shimcha tahlilini tegishli mRNK yoki oqsilni aniqlash usullari orqali amalga oshiriladi.

O'z – o'zini nazorat qilish uchun savollar

1. Rekombinant DNK olishning ahamiyati nimalardan iborat?

1. Bir xil izchillikka ega «yopishqoq» uchli fragmentlarni qanday usullar yordamida birlashtiriladi?

2. «To‘mtiq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli qanday?

3. «Yopishqoq» va «to‘mtiq» uchli DNK fragmentlar qanday birlashtiriladi?

5. O‘simlik hujayralari transformatsiyasi usullari haqida ma’lumot bering.

Tavsiya etiladigan adabiyotlar ruyxati

- 1 Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi Toshkent “Fan va texnologiya” nashriyoti, 2010
- 2 Ashmarin I. Molekularnaya biologiya. Leningrad 1977. – 366 s.
- 3 Beker M.Ye., Liepinys G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya. M.: Agropromizdat, 1990. – 284 s.
- 4 Biotexnologiya: Ucheb. posobie dlya vuzov. V 8 kn./Pod. red. N.S.Yegorova., V.D.Samuilova. M.: Vysshaya shkola, 1997. – 228 s.

HAYVONLARNI KLONLASH

Reja:

1.Klonirlash.

2. Klonlash uchun vektorlar.

3. Ekspression vektorlar.

4. E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi.

5 Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish.

6.Faglar asosidagi vektorlar.

Ayrim DNK molekulari genlar bir turining ko‘p nusxasini xosil qilish uchun ilgari xujayralarning toza liniyalarini olishda ko‘pdan beri ishlatiladigan *klonirlash* texnikasining molekularlarga moslashtirilgan varianta qo‘llanadi. Xujayra liniyalarining bir xilligini klonirlash usuli bilan kuchaytirish mumkin. *Klon* deb birdan-bir old xujayradan kelib chikkan xujayralar populyatsiyasiga aytiladi Klonirlash asosan mutant xujayralar olish uchun ishlatiladi Molekular klonirlash DNK ning aniq bir namunasini toza xolda ko‘paytirishdan iborat.

Keyingi yillarda somatik xujayralarning ko‘shilishiga (duragaylanishiga) xam erishish mumkin bo‘ldi. Bunda avvalo ikkita yadroli, bitta kombinirlangan xujayra— *geterokarion* kelib chikadi. Vaqt o‘tish bilan geterokarion mitotik bo‘linib, bir yadroli *duragay* (gibrid) *xujayra* beradi. Uni klonirlash mumkin.

Bir turdan ajratib olingan DNK ni ikkinchi tur xujayrasiga bevosita kiritib, uning ekspressiyasiga erishib bo‘lmaydi, chunki resipient (kabul qiluvchi) tur o‘zining DNK sini saklaydigan kuzalga ega. Ular modifikatsiya qiladigan metilazalar va restriksiyalovchi endonukleazalardir.

DNK ni fragmentlarga kesish va uni bakteriyaga kiritish vazifasini oliy

darajada bexato bajaradigan asbob tabiatning o'zyda tayyor, ular bakteriyalar — endonukleazalarning bir guruxi bo'lib chiqdi. Albatta, bakteriya xujayrasida DNK molekulasi kerakli joyidan kesadigan ferment insonlar maksadi uchun tayyorlangan emas, bu asbobni bakteriyalar *uz* dushmani — viruslarga karshi kurashish uchun yaratgan. Lekin tabiatning donoligi tufayli kachonlardir paydo bo'lgan viruslar DNK sini chegaralaydigan (restriksiya) ferment bugungi kunda insonlar maksadi uchun xizmat kilmoqda. Rekombinant molekulalar konstruksiya qilish uchun restruksion endonukleazalardan foydalanishni birinchi bo'lib 1972 yili Amerika olimlari Stenli Koen va Gerbert Boyer kashf etdilar. Bu olimlar u vaqtgacha o'zlarining plazmidlar ustidagi tadqiqotlari bilan mashxur edilar.

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

Rekombinat molekulalarni yaratish uchun avvalo zarur genning xujayra DNK sidagi o'rnini aniklab, uni kesib olish kerak. Endi kesib olingan DNK fragmentini klonirlash va vektorga boglash kerak. DNK ni klonirlash turli manbalardan ajratib olingan DNK fragmentlarini plazmadiy yoki virus (bakteriyafag) ga kiritib c'yngrabu genetikelementlarni bakteriya yoki achitki xujayralarida kupaytirishusulidir. Shu usul bilan DNK ning fragmenti vektorga boglanadi. Vektorning asosiy xossasi shundan iboratki, u tegishli xo'jayinda avtonom replitsirlanish xususiyatiga ega. Mana shu usulda olingan rekombinirlangan molekula klonirlash uchun juda kulaydir, u resipient xujayrada bemalol ekspressiya qilinadi. Navbatdagi bosqichda plazmadiy yoki virus genomiga ulangan DNK molekula (rekombinat molekula) bakteriya yoki achitki xujayrasiga kiritiladi. Bundaysintetik genomda bizni kizitirgan gen vektor DNK siningaxamiyatikam ma'lum uchastkasini almashtirgan bo'ladi. Bakteriyaxujayrasi tez bo'linib ko'payganidan, rekombinat DNK xamshu qadar ko'payadi va tegishli oqsil sintezini ko'p martalab tezlatadi va uni sanoat miqyosida olish imkonini beradi. Gen injenerligi yuli bilan bir qancha zarur gormonlar, immup tamalar (insulin, o'sish garmoni, interferon), immunoglobuliplar, turli dorilar muvaffaqiyat bilan olinmokda.

Ma'lumki, inson genomi butun bir dunyo, uning moddiy asosini 3 mlrd nukleotid koldigidan iborat va mingdan ortiq gen tashkil kiladi. Lekin shunday bo'lsa xam, molekular biologiya va gen injenerligining bugungi kundagi goyalari, metodik yuksakligi va tajribasi bu vazifani xal kilishga

kurbi yetadi, deb ishonsa bo'ladi. Keyingi yillarda butun xromosomalar va ularning juda katta fragmentlarini genlardagi elektroforez usulida ajratib olish va katta DNK molekulalarining strukturasini tez aniklash usullari ishlab chiqildi, millionlab asosga ega bo'lgan gigant DNKlarni. eukariotlar xujayrasida klonirlashga erishildi. Shuni aytib o'tish xam o'rinli tarix shuni ko'rsatadiki, insoniyat o'z oldiga doimo xal qilinishi mumkin bo'lgan vazifani qo'yib kelgan. Shubxa yo'kki «odam genomi» dek mislsiz loyixani o'z oldiga ko'ygan molekular biologiya va gen injenerligi xujayradagi xap bir genning tuzilishi, funksiyasini, xromosomada anik joylashgan o'rnini tayinlash, ularga bogliq belgilar, xossalar, buzgunliklarni aniklash asosida irsiy kasalliklar (genom kasalliklari)ning oldini olish va davolash, turli oqsillar, fermentlar, gormonlar, vaksina va antitelolarni ishlab chikarish, mikroorganizmlarning yangi turlarini yaratish, o'simlik va xayvon genomiga odamlar uchun foydali xususiyat beradigan genlarni kiritish va boshka muammolarni muvaffaqiyatli xal kiladi.

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

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

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

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Resipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan xolda (ekspression vektorlar, klonlash uchun vektorlar, transformatsiya uchun vektorlar) gen muxandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan.

Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani xaqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi.

E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi

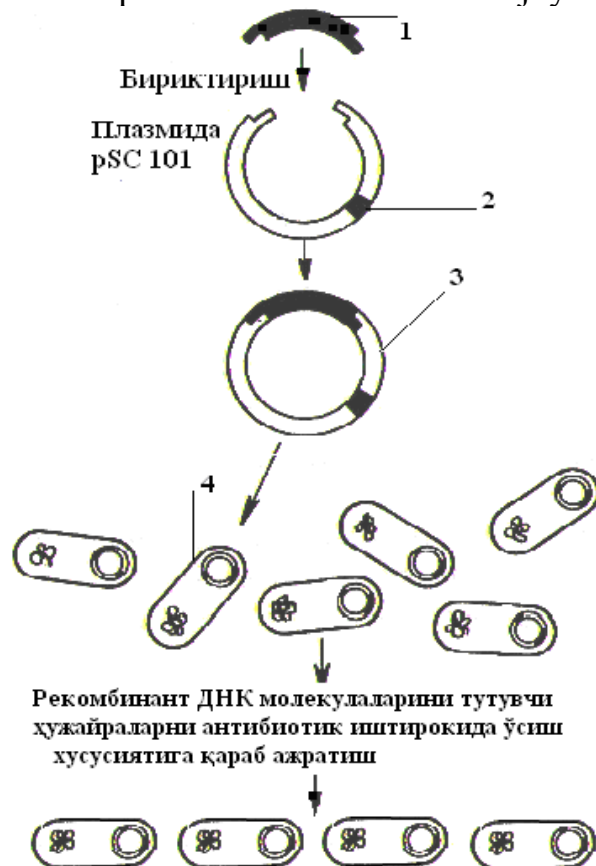
Tarkibida begona DNK fragmentlari tutuvchi vektor konstruksiyalar E.colining maxsus shtammlari hujayralariga transformatsiya qilish uchun foydalaniladi. Vektor plazmidalarning bakteriyalarga transformatsiyasi hujayralarning DNK molekulalarini qabul qilish qobiliyatiga asoslangan (kompetentligiga). E.coli hujayralariga transformatsiyalash asosan kalsiy shoki yoki elektroporatsiya usullaridan birini qo'llash orqali amalga oshiriladi. Ikkala xolatda ham bakteriya membranasining DNK molekulalari uchun o'tkazuvchanligi oshadi. Vektor molekulasini uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

- 1) vektor begona DNK fragmentlarini o'ziga biriktirishi uchun bir nechta restriktazalar uchun yagona restriksiya saytlari tutishi zarur.
- 2) vektor replikasi boshlanish nuqtasi izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikasiyanishi shart.
- 3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruksiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini yengillashtiradi.

Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNKsidan tashqari, ko'p nusxada xalqasimon DNK molekulalari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday xalqasimon molekulalar *plazmidalar* deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikga chidamlilik genlarini tutadi.

Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973 yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan. Tajribalar uncha katta bo'lmagan (~9 m.n.j.), tetrasiklinga chidamlilik geni tutuvchi E.coli plazmidasi pSC 101 da olib borilgan. Plazmida tarkibida faqat bir dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning xalqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq xalqa xolatiga o'tkazadi. Plazmida pSC 101ning DNKsi ichak tayoqchasi uchun begona DNKning EcoRI–fragmentlari bilan aralashtiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pSC 101 plazmida yagona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani E.colining kompetent hujayralariga qo'shilganda u

bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar



tetrasiklinli selektiv muhitda ajratiladi.

DNK fragment-larini plazmidalar yordamida klonlash bo'yicha tajriba sxemasi. 1-Biriktirilayotgan getero-logik DNK; 2-antibiotikka chidamlilik bo'yicha marker; 3-DNKning rekombinant molekulasi; 4-Rekombinant DNKni bakteriya hujayrasiga kiritish.

Faglar asosidagi vektorlar. Kosmidlar. Vas- va Yas- vektorlar. Bakteriya plazmidalarida o'rtacha 7-8 m.j.n. uzunlikdagi fragmentlarni klonlash mumkin, eukariot genlari izchilligi esa (~10-25 m.j.n.) uzunroq bo'ladi. Bundan tashqari genlarning kodirlovchi qismi atrofida joylashgan regulyator izchilliklarni o'rganish uchun genomni kengroq klonlash zarur. Bunday katta fragmentlarni klonlash uchun λ bakteriofagi asosida tarkibiga 22 m.j.n. uzunlikdagi begona DNK fragmentlarini tutuvchi vektor konstruksiya yaratilgan. λ bakteriofag asosida klonlash uchun bunday vektorlarni yaratishda fag DNK molekulasi markaziy qismi fagning E.coli da ko'payishi uchun zarur emasligi e'tiborga olingan xolda restriktazalar yordamida fag genomidan kesib olinganda replikasiya uchun zarur bo'lgan fagning o'ng va chap yelkasi o'zgarasdan qolishi kerak. Fag yelkalari boshqa fragmentlardan alohida ajratilib, klonlash uchun vektor sifatida qo'llaniladi. Kesilgan fag DNKsi o'rniga o'lchami 9-21 m.j.n. bo'lgan begona DNK ulanadi. Bakteriyalarda faqat fagning ikkala yelkasi va begona DNK tutuvchi faglar ko'payadi. Bunda olingan fag rekombinant DNKsi 30 m.j.n. dan kam bo'lmasligi kerak.

Bakteriofag I asosidagi vektorda DNKni klonlash.

1- Fagning replikasiyasi uchun zarur bo'lmagan DNK fragmenti; 2-fagning bakteriya hujayralarida replikasiyalanishi va fagning keyingi taxlanishi uchun

javobgar genlarni tutuvchi DNK fragmentlari; 3-begona DNK fragmentlarini tutuvchi bakteriofag.

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

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

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

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

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

Nukleazalarni ularning ta'siriga ko'ra, guruhlariga ajratish mumkin. Nukleazalar nafaqat DNK molekulari (DNKazalar) yoki RNK (RNKazalar)molekulariga, yoki DNK va RNK ga bir vaqtning o'zida (oltin rang loviya nuklezasi) bir xilda ta'sir etishi mumkin. Nukleazalar bir zanjirli (S1 nukleazasi) yoki qo'sh zanjirli (ekzonukleaza III) DNK molekulari, yoki gibril DNK-RNK molekulasini (ribonukleaza H) ga ta'sir etishi mumkin.

Bundan tashqari nukleazalarni ikki tipga: ekzonukleazalar va endonukleazalarga bo'lish mumkin. Ekzonukleazalar, odatda, molekularni 5' yoki 3' erkin uchlaridan

boshlab gidrolizlasa, endonukleazalar DNK molekulasi bo‘lagi yoki xalqasimon DNK molekulasining ichki ketma-ketliklaridan boshlab parchalaydi.

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

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

Restriktazalar endonukleazalarning DNKni muayyan maxsus ketma-ketliklari *restriksiya saytlari* (nuqtalari)ni hosil qilib gidroliz qiladigan guruhi hisoblanadi. Har bir restriktaza o‘zining restriksiya saytini taniydi va DNKni restriksiya sayti izchilliklari ichidan yoki uning atrofidan boshlab qirqadi (1.1-jadval). Shunday qilib, muayyan bir restriktaza ta’sirida bitta va aynan o’sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi bo‘laklar yig‘indisini hosil qiladi. Restriktazalarni nomlashda ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo‘shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olingan bo‘lishi mumkin. *Escherichia coli*-EcoR I, EcoR V, *Haemophilus influenzae* –Hinf I, *Streptomyces albus* – Sal I, *Thermus aquaticus* – Taq I. *Bacillus amyloliquefaciens* H

6	2
O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari	2
Hayvonlarni klonlash	2
Transgen hayvonlar yaratish texnologiyasi	2
Ximer hayvonlarni yaratish	2
Genomni tahrir qilish	2
Odam Genomi	2
Organizmlarning genofondini saqlash. Genom bibliotekasi. Gen bank. Bioinfarmatika	2
Gen terapiyasi	2
Tibbiyot va farmatsevtika uchun ikkilamchi sintez moddalari olish	2
Gen muhandisligi orqali olingan vaksinalar	2
GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri	2
Biotexnologik etika, bioterorizm. Gen muhandisligida bioinfarmatika	2

9. Mavzu. TRANSGEN HAYVONLAR YARATISH TEXNOLOGIYASI

Reja:

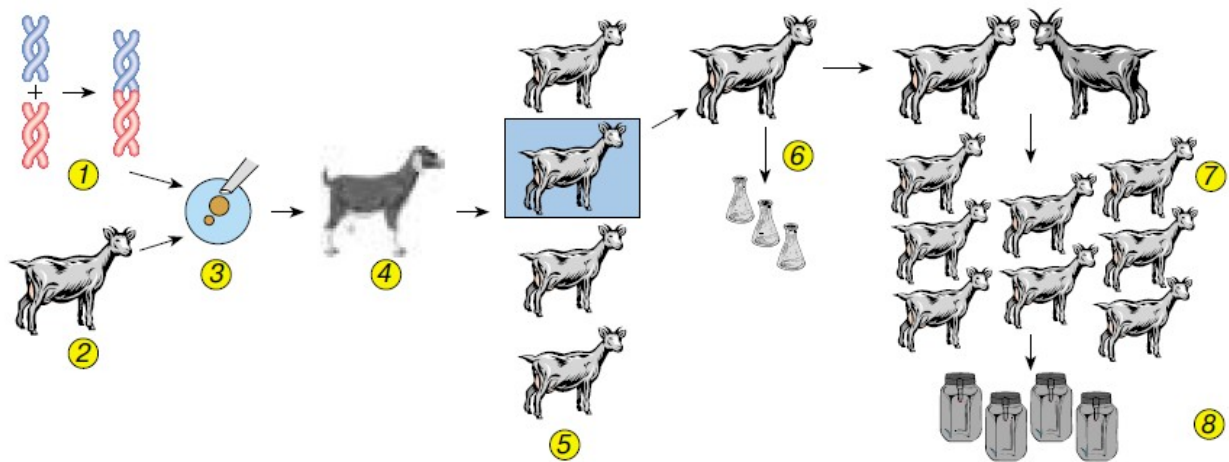
Mikroin'ektsiya usulida transgen hayvon olish bosqichlari:

- 1- in'ektsiya qilish uchun zigota olish;
- 2- mikroin'ektsiya;
- 3- embrionlarni retsipient organizmga ko'chirib o'tkazish;
- 4- mikroin'ektsiya qilingan embrionlardan tug'ilgan hayvonlar: ularning faqat bir qismi transgen;
- 5- hayvon genomiga begona gen kiritilganligini tasdiqlash uchun molekulyar-genetik tahlil o'tkazish;
- 6- transgen gametalari mavjud hayvonlarni saralash. Transgen gomozigotalarni selektsiya qilish ya'ni transgen hayvonlarni o'zaro chatishtirish;
- 7- transgen hayvonlar podasi;
- 8- transgen hayvon sutidan dorivor oqsilni ajralishi

Transgen hayvonlarni olishni 2 hil usuli bor:

- urug'lantirilgantu hujayra (zigota) ga begona organizm DNK sinimikroin'ektsiya qilish;

(bu usul transgen sichqon olish uchun ishlab chiqilgan, keyinchalik esa transgensigir, qo'y, quyon, echki kabi hayvonlarni olish uchun ham qo'llanilab oshlandi)



Mikroin'ektsiya usulida transgen hayvon olishda dastlab genetik konstruktsiya yaratiladi. Masalan, tadqiqotchisut bezlari epiteliy hujayralarida begona genlar ekspressiyalanuvchi transgen hayvon yaratmoqchi. Buning uchun β -

kazein genipromotori va begona organizm DNK siyordamida genetik konstruktsiya yaratiladi. Yaratilgan konstruktsiya faqat sut bezlarida hujayralarida

ekspressiyalanishi va faqat laktatsiya davrida «ishlashi» lozim. Shuningdek konstruktsiyadagi genlar transgen organizm ganojo'yata'sir ko'rsatmasligi kerak.

Tadqiqotchitomonidanyaratilish rejalashtirilayotgan transgen hayvonda avval bo'lmagan hossalarning (misol uchun, kattaligi, kichikligi, go'shtdorligi, tez nasl bera olish va h.k.) vujudga kelishi ko'p jihatdan genetik konstruktsiya gaboqliq. Konstruktsiya yaratishda *Escherichia coli* bakteriyasi plazmidasidan foydalaniladi. Plazmidarestriktaza fermentlari bilan kesiladi.

PlazmidanikesilganjoyigabegonaorganizmdanolingandNKfragmentiulanadi.

PlazmidagabegonaDNKniulashuchunligazafermentlaridanfoydalaniladi.

Hosilbo'lganrekombinantDNK *escherichiacolibakteriyasigakiritiladivaklonlanadi.*

Klonlarkbakteriyadanajratiladivakesilibchiziqlishaklgaot'kaziladi.

CHunkiplazmidaganisbatanchiziqlishakldagiDNK embriongenomigaosono'rnashadi.

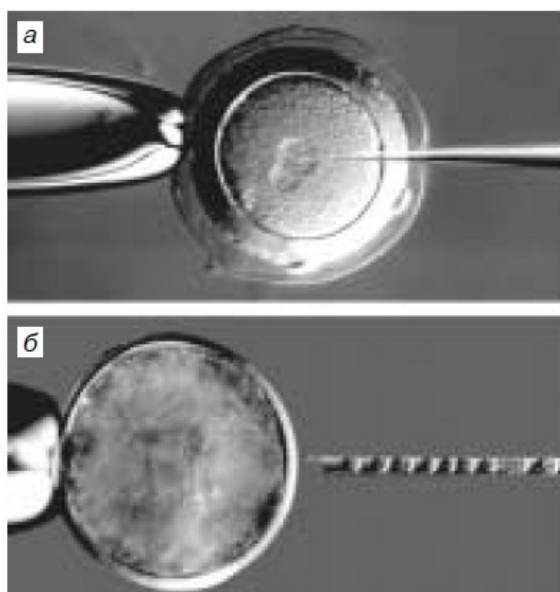
Tayyorbo'lganchiziqlishakldagiDNK (genetikkonstruktsiya) zigotagain'ektsiyaqilinadi. In'ektsiyadankeyinzigotaodatdagidananchakattalashadi.

So'ngrazigotaurg'ochiretspiendgaimplantatsiyaqilinadi.

Ammourg'ochiretspiendantug'ilganhayvonlarninghammasihamtransgenbo'lavermay di. Transgenbo'lganlarida

esabegonagenorganizmningbarchato'qimalaridabirhiltarqalganbo'lmaydi.

SHuninguchuntransgenhayvonolishdamolekulyar-genetiktahlilningahamiyatikatta.



embrionlarnitransfektsiyaqilishusullari:

(a) -

quyonzigotasigagenetikkonstruktsiyanimikroin'ektsiyaqilish,

(b) -

embrionalo'zakhujayralarininorka

(qorakuzan)

blastotsistasigakiritish.

Embrionlarningdiametriqobig'ibilanbirga

140-150

mkm.

Rasmnichaptomonidamikroso'rg'ichlarniko'rishmumkin.

Ularyuqoridagiprotseduralarnibajarishda embrionnibirholatdaushlabturadi.

Tahlilnio'tkazishda 3 tasavolgajavobtopishkerak:

- birinchidan, yaratilganguenetikkonstruktsiya embriongenomigaosono'rnashdimi?

- ikkinchidan, retsipient-organizm jinsiy hujayralariga genetik konstruktsiyada genlarni kirganmi?

- uchinchidan, tug'ilgan hayvon dabo gen ekspressiyalandi mi (namoyon bo'ldi mi)?

Urg'ochi retsipient-organizmdan erkak tug'ilgan iynimuddao. Chunki tug'ilgan erkak hayvon tuzum hujayralari dabo gen ekspressiyalangan bo'lsa, uni boshqarg'ochi lar bilan chatishtirish mumkin.

SHunda dabo gen keyingi avlodlarga o'tib ketaveradi.

Erkak hayvonni urg'ochi lar bilan chatishtirishda sun'iy urg'ulantirish usulidan ham foydalanish mumkin. Ulardan tug'ilgan hayvonlar F_1 avlod bo'ladi.

Transgen hayvonlar liniyasini vujudga kelishi uchun F_1

avlod dagi hayvonlarni o'zaro chatishtirib, F_2 avlod olish lozim.

Tadqiqotning so'nggi bosqichida F_2 avlod vakillarining gomozigotalarini tahlil qilindi.

Bu bosqichda urg'ochi retsipient-

organizmga kiritilgan genetik konstruktsiyada genlar F_2 avlod vakillarida

ekspressiyalandi mi yoki yo'q? Agar ekspressiyalangan bo'lsa,

aynan biz rejalashtirgan organ yoki to'qimada ekspressiyalandi mi yoki yo'q?

Tug'ilgan hayvonlar bizga zarur bo'lgan mahsulotni beraoladimi? Agar bera

etarlidir aadam?

Ana shu savollarga javobni transgen hayvon olishning so'nggi bosqichida izlanadi.

Vay u qoridagi savollarga ijobiy javob topilsa,

transgen hayvonlarni yaratish bo'yicha olib borilgan ishlar muvaffaqiyatli yakunlandi deb hisoblash mumkin.

Transgen hayvonlarni yaratishning ikkinchi usuli:

- embrional o'zak hujayralarni yordamida transgen hayvonlarni yaratish

embrional o'zak hujayralar transgen hayvonlarni yaratish mikroin'ektsiya usulidan birmuncha farq qiladi.

O'zak hujayralar haqiqat retsipient organizmga kiritilmasdan avval dabo genni hujayraga o'ziga kirgan yoki kirmaganligini, agar kirgan bo'lsa, ekspressiyalangan mi yoki yo'q,

kabisavollargatopishmumkin.
engyahshilarinitanlabolishimkonibor.

SHuningdek hujayralar orasidan
Bundantashqari,

hujayralarning bir qismini suyuqazotda muzlatib, uzoq yillarda davomida saqlasabo'ladi.

Embrionalo'zak hujayralar

embrionalo'zak hujayralar iliniyasi ilk marotaba 1981 yil Evans, Kaufman va Martinlartomonidan sichqon blastotsistasidan olingan.

Bu hujayralar polipotent bo'lib, kul'turada differentsiallanishim mumkin. SHuningdek embrionalo'zak hujayralar somatik hujayralarning normal genotipini saqlaydi.

Blastotsista kiritilgan

embrionalo'zak hujayralar homilanib barcha organ va to'qimalarini birmaromdaroivojlantirganligi aniqlangan (1984 yil).

Tug'ilgan homiladagi belgilarundan keyingi avlodlarga ham o'tavergan.

Quyidagi rasmda

embrionalo'zak hujayralaryordamida transgen sichqonlar olish bosqichlariko'rsatilgan.

Ushbu bosqichlar ichida eng murakkabi -

embrionalo'zak hujayralar ni differentsiallanmagan holda ushlab turish.

Hozirgi kunda

embrionalo'zak hujayralaryordamida transgen hayvonlar olish texnologiyasiko'proq transgen sichqonlari yaratish uchun qo'llanilmoqda.

CHunkiso'nggivaqtlarga chabunday hujayralarning faqat sichqonlardan olinganlaribor edi holos. Biroq o'qirgi yillarda boshqako'plabsut emizuvchilarning blastotsistalaridan embrionalo'zak hujayralar ajratildi.

Quyida ushbu

emizuvchilarning yativahujayralarning olingani yil keltirilgan:

- tillar angog'mahon (1988);
- cho'chqa (1990);
- qo'y (1990);
- sigir (1992);
- norka (qorako'zan (1992));
- quyon (1993);

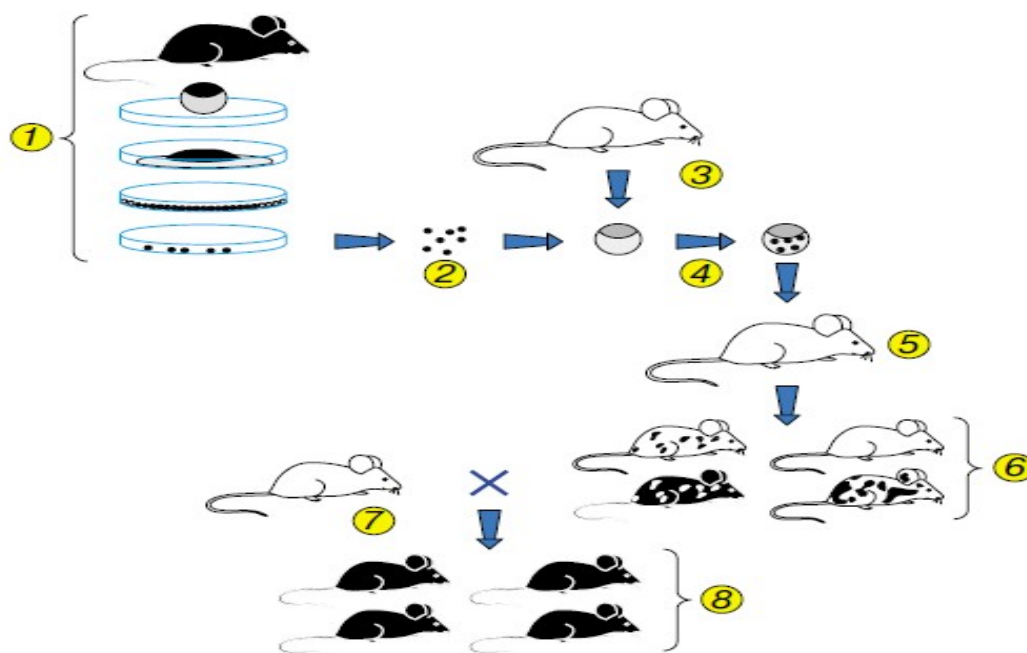
- kalamush (1994);
- inson (1994);
- maymun (1995)

SHundayqilib, yaqiniyillardaushbuhayvonlarningtransgenformalariyaratilsaajab emas. Tehnologiyaniyangyanabirqulaytomonishundaki, ishnibajarishdazigotalardan emas, balkiblastotsistalardanfoydalaniladi.

emizuvchilardanblastotsistalarnijarrohlikamaliyotisiz (bachadonniyuvi) hamolishmumkin.

Qishloqho‘jaligihayvonlaribarchaturlariningblastotsistabosqichidagi embrionlarinisuyuqazotdasaqlashva

embrionlarnisurrogaturg‘ochilargajarrohlikamaliyotisiztransplantatsiyaqilishusullariis hlabchiqilgan.



embrionalo‘zakhujayralaryordamida embrionlarnirekonstruktsiyaqilibtransgenhayvonlarolishketma-ketligi.

1-embrionalo‘zakhujayralarkul’turasiniolish (buhujayralar – blastotsistalarningichkihujayralarimassasi).

Blastotsistalarfibroblastlardao‘stiriladi. UlarPetrikosachasitagidaqat-

qatbo‘libajraladi.

Ularningayrimlari

embrionalo‘zakhujayralariliniyasinihosilqiladi.

**2- embrionalo‘zakhujayralargagenetikkonstruktsiyanikiritish
(transgenhujayralarniboshqalaridanajratibolishhuchuno‘zakhujayralarga**

Neogenikiritiladi. Neo – neomitsinga (antibiotik) chidamligen.
Bugenneomitsintransferazafermentisinteziuchunjavobberadi.

Muhitganeomitsinantibiotigiqo‘shilsa,

tarkibigaNeogenikirmaganhayvonhujayralarihalokbo‘ladi. Neogeniborhujayralar
esayashayveradi. So‘ngratirikqolganhujayralarkoloniyasimolekulyar-
genetiktahlilqilinadi.);

3- mikroin’ektsiyauchunblastotsistalarolish:
ularterisinirangiboshqalaridanfarqqiladiganhayvonlarliniyasidanolinadi;

4- himer embrionkonstruktsiyasiniyaratish: transgen
embrionalo‘zakhujayralarniblastotsistalarbo‘shlig‘igakiritish;

5- yaratilganhimer embrionnisurrogatug‘ochihayvongatransplantatsiyaqilish;

6- surrogatonadantug‘ilganhayvonlarnitahlilqilish.
Tug‘ilganhayvonlarningbirqismihimerbo‘lib, ularningorganizmidahambblastotsista
(rasmdaoqrangdako‘rsatilgan), hamtransgen
embrionalo‘zakhujayralarbo‘ladi(rasmdaqorarangdako‘rsatilgan).Ayrimsichqonlar
daumumantransgenhujayralarbo‘lmasligimumkin (rasmda – oppoqsichqon).
Transgenhujayralariko‘psichqonlar (rasmdagiqop-qoraranglisichqonlar) bir-
biribilanchatishtiriladi. Agartransgenhujayralariko‘psichqon erkakbo‘lsa,
undantezdakattamiqdordasichqonchalarolishmumkin.

7- himer
erkaksichqonal’binosurg‘ochisichqonbilanchatishtiriladivaulardantug‘ilgansichqonc
halartahlilqilinadi.

Organizmidatransgengametalarsaqlaganhimerhayvonlaranashundayaniqlanadi;

8- GomozigotalisichqonlarolishhuchunF₁ avlodsichqonlaribir-
biribilanchatishtiriladi.

Transgenhayvon - bioreaktorlar

Dorivoroqsillarsintezqiluvchiorganizmlarbioreaktorlardeyiladi.

Istalgantirikorganizm (bakteriya, zamburug‘, o‘simlik, hayvonvahattokihujayrakul’turalari) bioreaktorbo‘lishimumkin. Harbirbioreaktor-organizmningafzallikvakamchiligibor. Masalan, bakteriyalargenmuhandisligiusullariyordamidaosonmodifikatsiyalanadi, ular tezko‘payadivaularnibiotehnologiyasanoatidaishlatishqulay. Hozirdabakteryalaryordamidaodaminsuliniishlabchiqarilmoqda.

Biroqodamorganizmidaoqsillarningnormal «ishlashi» uchunularposttranslyatsiondavrdagio‘zgarishlardan (atsetillash, fosforlanish, karboksillanishvabosq.) o‘tishilozim. Bundayo‘zgarishlarnivujudgakeltiruvchibiokimyoviymehanizmlarprokariotlardayo‘q. SHusababliprokariotlardasintezlanganoqsillarninghammasihamodamorganizmigato‘g‘rikelavermaydi. Bundantashqari, bakterialhujayradandorivoroqsillarniajratishvatozalashqiyin.

CHunki hujayraqaytaishlanayotgandabizgakeraklioqsil bilan birgahujayraning boshqa elementlari ham ajraladi.

Transgendrojjilarkul’turasivaodamhujayralarikul’turasidayuqoridagikamchiliklaryo‘q. Ammoularningmahsuldorligipast.

So‘ngiyillardabiotehnologiyajadalrivojlanmoqda.

Lekin farmakologiya uchun zarur bo‘lgandorivoroqsillar hali-hanuz donorlik qonidanolinmoqda. Masalan, fibrinogen, antitrombin, al’bumin, immunoglobulinlar vaboshq. Agarda,

odam uchun zarur bo‘lgan sifatli va arzon dorivoroqsillar etarlicha ajralibchiqarilganida,

ko‘plab bemorlarning hayotini saqlab qolish mumkin bo‘lar edi.

SHukabimuammolarni hal etish bugungi kunda tibbiyotining asosiy maqsadlaridan biridir.

SHuning uchun inson salomatligi uchun zarur bo‘lgan oqsillarni sintez qiluvchi produkt sent-organizmlarni, ayniqsa transgen hayvonlarni yaratish dolzarb vazifa hisoblanadi.

Ushbu vazifalarni hal etish strategiyasi quyidagicha:

- ✓ sut bezlarida begonagen ekspressiya nuvchitra ns gen hayvon yaratish;
- ✓ sut bezlarida begonagen «ishlab ketib» uning mahsuloti sut bilan ajralib chiqishi;
- ✓ sut bilan ajralib chiqqan mahsulotni tibbiy vaboshqa foydali maqsadlarda ishlatish.

Transgen hayvon nisog'ish jarayonida uning sut bilan birgalikda dorivoroqsillar hamsog' il adi. Bugungi kunga kelib na faqat sigirlarni, balki echki, qo'y, cho'chqa, quyon va hattoki sichqonni hamsog'ish mumkin bo'lgan mehanika apparatlari mavjud.

Transgen hayvon dansog' il gansu tarkibida dorivoroqsilni tozalash ham muammo bo'lmaydi. Mabodo, tozalangan oqsil tarkibida begona moddalar qolib ket sa, ular organizmga zarar qilmaydi.

Chunki bu moddalar sutning bezaroqsillari yoki boshqa moddalar ibo'lishi mumkin.

Hozirda transgen sichqonlari yordamida ularning sut orqaliba'zibiroqsillar olinmoqda.

Quyida u shbu olinayotgan oqsillar va ularning sutdagikontsentratsiyasi berilgan:

- α_1 – antitripsin (mg/ml);
- interferon (ng/ml);
- qonivish faktori IX (mkg/ml);
- zardobal'bumini (mg/ml);
- trofoblastin (mkg/ml);
- urokinaza (mg/ml);
- interleykin-2 (mkg/ml);
- superoksiddismutaza (mg/ml);
- turli immunoglobulinlar vaboshqa oqsillar.

Yirik transgen sut emizuvchi hayvonlari sut orqali olinayotgan oqsillar:

- ✓ quyonlar – interleykin-2 (ng/ml) va plazminogen aktivatori (mkg/ml);
- ✓ qo'ylar - α_1 -antitripsin (mg/ml) va qonivish faktori IX (ng/ml);
- ✓ echkilar - plazminogen aktivatori (mkg/ml).

Nega bu ro'yhatlarda sigirlari yo'q degan savol tug'ilishi mumkin?

Dastlabki dorivoroqsillar 1990 yil transgen sichqonlardan olingan.

Ohirgiyillardaboshqayiriksut emizuvchilardanhamolindi.
 Sigirlardandorivoroqsilolishuchun engavvalotransgensigiryaratishzarur.
 Transgensigiryaratishuchunjudauzoqvaqttalab etiladi. Chunki, sigirlarningjinsiy
 etilishi 1,5-2 yoshgato'g'rikeladi. Homiladorligi 9 oydavom etadi. Dorivoroqsil
 esaF₂avloddanboshlabsutbilanajralibchiqadi. Qisqasi, transgensigiryaratib,
 undandorivoroqsilolishuchun 6 yildanko'pvaqtketadi.

Hozirdainsonsoq'ligiuchunmuhimbo'lganrekombinantimmunoglobinsintezqiluvch
 itransgenhayvonlaryaratishustidajadalishlarolibborilmoqda.

YAnabiro'rinlisavoltug'iladi; insonnidorivoroqsillargabo'lgan
 ehtiyojiniqondirishuchunqanchatransgenhayvonyaratishkerak? Masalan, butun
 ershariaholisiniqonivishfaktoriIXgabo'lgan ehtiyojiniqondirishuchunushbuoqsildan
 85 kg, qonivishfaktoriVIIGabo'lgan ehtiyojiniqondirishuchun esabuoqsildanbor-
 yo'g'i 7 kgolinsakifoyaqiladi. Agar 1 tatransgensigirbiryilda 6000 litrsutbersa,
 shunchasuttarkibida 6 kgdorivoroqsilbo'ladi.

Hulosaqilibshuniaytishmumkinki, dunyoaholisiniqonivishfaktoriVIIGabo'lgan
 ehtiyojiniqondirishuchun 1 tayoki 2 tatransgensigir, qonivishfaktoriIXgabo'lgan
 ehtiyojiniqondirishuchun 15-20 tatransgensigir, fibrinogenga
 (butundunyouchunuyillik ehtiyoj 3 tonna) bo'lgan ehtiyojiniqondirishuchun 500
 tatransgensigiryasashkerakbo'ladi.

Insonningirsiykasalliklarigenetikmodelinituzishuchunhayvonlardanfoydalanish **Transgensichqonlar - insonningirsiykasalliklarimodeli.**

Kasallik	Kasallikkasabab bo'luvchigenlar	Kasalliksabablari	Insongenlarinisa qlovchisichqonla r	Geni «o'chi rilgan » sichqo nlar
<i>Markaziynervsistemasiningshikastlanishivaruhiykasalliklar</i>				
Al'tsgeymerkasal	1. APP	Beta-	Mavjud	Mavju

ligi	2. APOE*4 3. PSEN1 APOE*4 4. PSEN2	amiloidoqsilinikodlovchigen mutatsiyasi, presinilin 1 vapresinilin 2 oqsillarini kodlovchigen mutatsiyasi		d emas
Gentington horey asi	HG	4-hromosomada joylashgan Gentington genidagi o'zgarishlar	Mavjud	Mavjud
Herstman-SHtrausler kasalligi (serebralatoksiya)	PRP	PRP genini mutatsiyasi	Mavjud	Mavjud emas
Daunkasalligi	SOD	Superoksiddismutazageninini giperfunktsiyasi	Mavjud	Mavjud emas
<i>YUrak-qon tomir kasalliklari</i>				
Kartagenersindromi	?	YUrak rivojlanishining buzilishi	Mavjud**	Mavjud emas
Gipertoniya	Renin Angiotenzinogen Vazopressin Vradikinin V2 retseptor Endotelin 1	Qon bosimini nazorat qiluvchi mexanizmlarni o'rganish	Mavjud Mavjud Mavjud Mavjud emas Mavjud emas	Mavjud d emas Mavjud emas Mavjud

				d emas Mavjud d Mavjud d
Aterosklerozvay og‘laralmashinuv i	LipoproteinVLi poprotein eLipoproteinA	YOg‘laralmashinuviningbuzi lishi	Mavjud Mavjud Mavjud	Mavjud d Mavjud d Mavjud d
<i>Tayanch-harakatsistemasikasalliklari</i>				
Dyushennmiodist rofiyasi	Mdx (miodistrofinoq silininggeni)	Deletsiyanatijasidagenfunktsi yasiningyo‘qolishi	Mavjud	Mavjud* d*

* O‘z-
o‘zidanboradiganmutatsiyanatijasidafunktsiyasiyo‘qoladigangenlarsaqlovchisichqonl
ar.

** Insonning eGFR (epidermalhujayralarningo‘shishfaktorigaretseptorbo‘lgangen)
geninisaqlovchitransgensichqonlar. EGFRgeniniyuqoridarajada
ekspressiyanishinatijasidaspermatogenezbuziladi,
spermatozoidlarharakatsizbo‘libqoladivao‘shishdavridaKartagenersindromikabiyurakn
inghamrivojlanishibuziladi.

Transgenhayvonlarnio‘rganishasosidagenterapiyasiusullariniishlab
chiqish

Birqarashda «terapiya» va «transgentehnologiyalar» atamalaribir-
birigamutlaqobegonadektuyuladi. Aslidaunday emas.
Bugungikundatransgentehnologiyalarasosidatibbiyotningyangiyo‘nalishi —

genterapiyasivujudgakeldi. Insongenomibilanishlanayotgandamutahassisdanjudakatta ehtiyotkorliktalab etiladi.

Biroqo‘taog‘irkasalliklarbilanog‘riganbemorhayotinisqaqlabqolishuchunba‘zidagenom gao‘zgartirishlarkiritishgato‘g‘rikeladi. Olimlar, masalan, saraton, OITSkabikasalliklarnidavolashkeyinchaliktransgentehnologiyalaryordamidaamalgao shiriladidebumidqiladilar.

Genterapiyasidasomatiktransfektsiyausulidanfoydalaniladi.

Bundabemororganizminingma‘lumbirhujayravato‘qimalarigagenetikkontruksiya kiritiladi.

Amerikasog‘liqnisaqlashassotsiatsiyasikeltirganma‘lumotlargaqaraganda,

AQSHdabirgina 1999 yilningo‘zida 200 gayaqingenoterapevtikishlanmalarklinikoldisinovlarigaruhsat etilgan. Genoterapevtikishlanmalarboshqadavolashusullarikabitransgenhayvonlardasinovdan o‘tkazilmoqda.

Transgenhayvonlar – insonorganlarimanbai

Bufantastikloyihanibajarishanchamurakkab. Lekindolzarbligijudayuqori.

CHunkibutundunyodadonorlikorganlarigatalabkatta.

Ko‘plabbemorlarulargabuyrakyoki yurakko‘chiribo‘tkazishlari uchunnavbatkutadilar.

Lekinnavbatlari etibkelgunichahayotdanko‘zymadilar.

Balkiushbumuammonitransgenhayvonlaryordamidahalqilishmumkindirdeganfikrlarh amyo‘q emas.

Bemorgahayvonorganinito‘g‘ridan-to‘g‘riko‘chiribo‘tkazibbo‘lmaydi. Sababi, bemorimmuntizimibegonaorgangaqarshilikko‘rsatadi.

Ushbuholatnioldiniolishuchuntransgencho‘chqayaratishlozim.

YAratilgancho‘chqaningbegonaorgangaqarshilikko‘rsatuvchigenlarinokautqilinganbo‘lishikerak.

Nokautqilingangenlarnio‘rnigaodamningbegonaorgangaqarshilikko‘rsatuvchigenlarikiritiladi.

Transgenhayvonlarniklonlash

Transgenhayvonlaryaratish – judamurakkabjarayon. Statistikma'lumotlargako'ra, in'ektsiyaqilingan 40 tasichqonzigotasidanbittatransgensichqon, in'ektsiyaqilingan 100 taqo'yyoki echkizigotasidanbittatransgenqo'yyoki echki, in'ektsiyaqilingan 1500 taqoramolzigotasidanfaqatbittatransgenqoramololinadi. Olingantransgenhayvonlarning 50% kamroqqismitransgenoqsilni ekpressiyalaydi. Ba'zidagen ekpressiyalanganibilanmahsulotsutbilanajralibchiqmaydi. Bunisabablarihaliohirigachaaniqlangan emas.

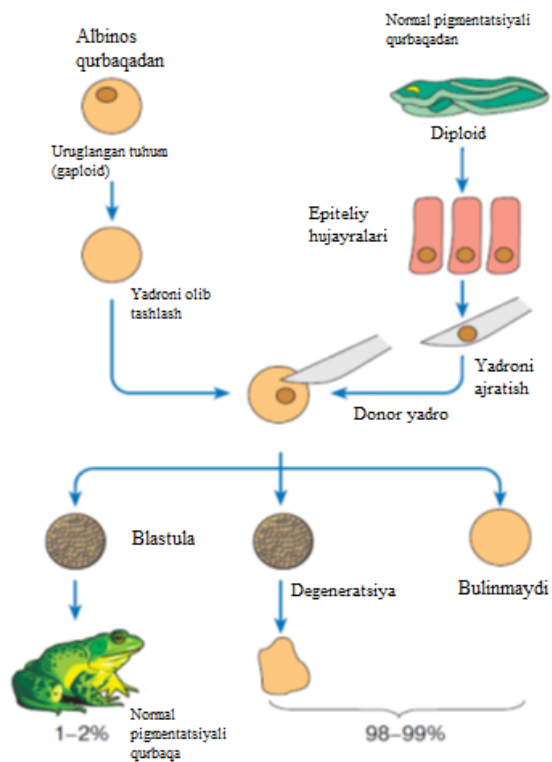
Barchaparametrlarbo'yichaidealtransgenhayvonolingantaqdirdahamyanabirmuammot ug'iladi.

Olinganidealtransgenhayvonninghammabelgilarihamuningkeyingiavlodlarigao'taver maydi.

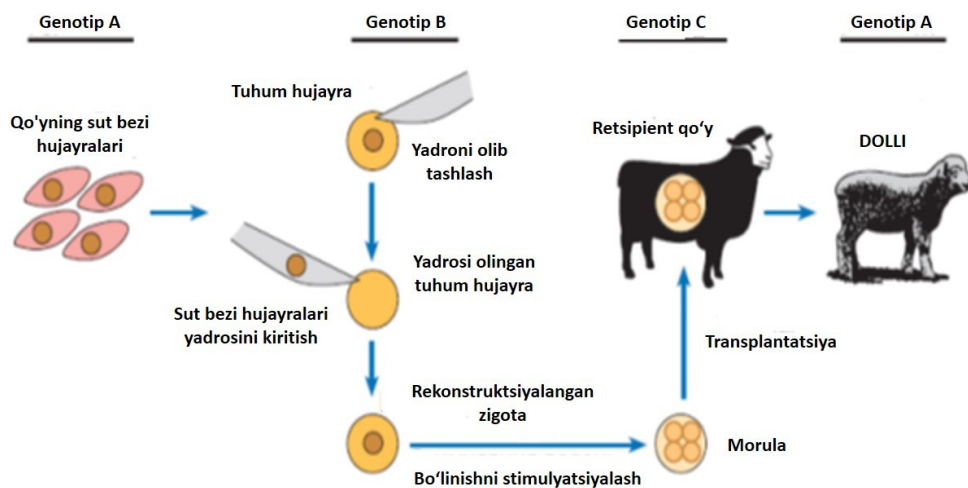
SHuninguchunolimlartomonidantransgenhayvonolishganisbatansut emizuvchilarniklonlashgako'proq e'tiborqaratilmoqda.

Klonlashyordamidabirmartaolinganidealprodutsent-hayvonniqayta-qaytayanginushalariniko'paytirishmumkin.

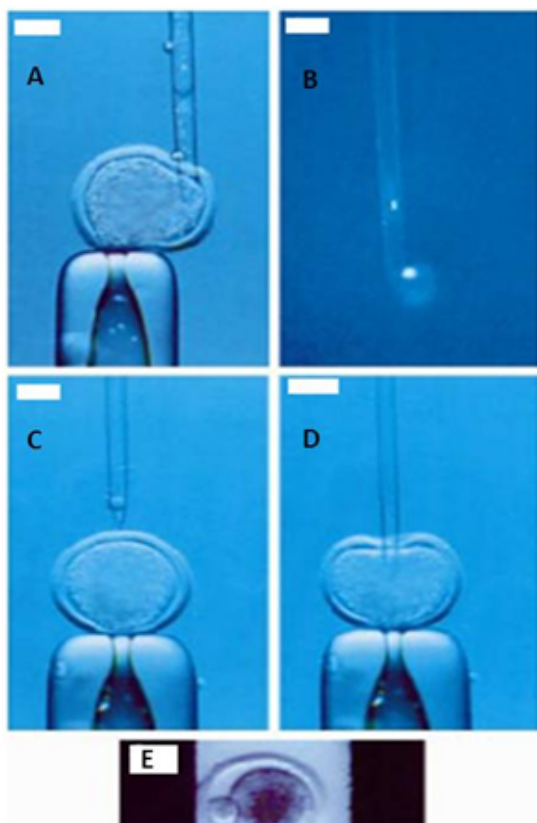
Ko'paytirilganyanginushalarya'niklonlarorqalitibbiyotvafarmakologiyadako'pqo'llan iladiganodamoqsillarigabo'lgan ehtiyojniqondirsabo'ladi.



Qurbaqakloniniolishningqisqartirilganshemasi.



YAnVilmuttajribalariasosidasut emizuvchilarkloniniolishprintsipi.
Tuhumhujayrasitoplazmasivadonorhujayraturliranglardako'rsatilgan.



Qo'ykloniniolishningdastlabkibosqichlari:

qo'yhujayrasiningyadrosiniolibtashlashvayadrosiolinganhujayranisomatikhujayrabilanqo'shish: A-
ingichkashishamikropipetkayordamidatuhumhujayraningyadrosiniolibtashlash; B-
tuhumhujayraningyadrosiniolibtashlashoperatsiyasiningmuvaaffaqiyatlichiqqan-chiqmaganinitekshirish:
olinganyadroDNKsiul'trabinafshanurlardayaltiraydi; C-
somatikhujayratutganshishamikropipetkatuhumhujayragayaqinlashtirilmoqda; D- somatikhujayrani (yadrosibilanbirga)
tuhumhujayragakiritish; e-
elektrmaydonita'siridasomatikvatuhumhujayraniqo'shilishi.

Takrorlash uchun savollar:

1. Transgen gametalari mavjud hayvonlarni saralash. Transgen gomozigotalarni selektsiya qilish ya'ni transgen hayvonlarni o'zaro chatishtirish;
2. Transgen hayvonlar podasi;

3. Transgen hayvon sutidan dorivor oqsilni ajralishi

10. Mavzu. XIMER HAYVONLARNI YARATISH

Reja:

- 1.Xayvon xujayralar kulturalashning asosiy tamoyillari va ulardan foydalanish.
2. Ximer xayvonlar yaratish usullari.
3. Somatik xujayralar gibridizatsiyasi.
- 4.Gibridoma.

Xujayralarni kulturalash - [in vitro](#) sharoitida prokariot va eukariotlarning alohida xujayralari sun'iy ravishda nazorat qilinayotgan sharoitda o'stirishdir. Qo'yilgan masadga qarab xayvon xujayralarini kulturalashni ikkita yo'nalishga bo'lish mumkin.:

-*xujayralar kulturalasi*;

- *organ va to'qimalar kulturalasi (organlar kulturalasi)*.

Strukturani tashkillanishidan maxrum bo'lgan xujayralar kulturalasi gistiopik arxitekturani yo'qotadi, maxsus sharoit bo'lmaganda mukamal xolatga kela olmaydi. Kulturalarda xujayralar ko'payib, katta miqdorda xujayralar massasini olish imkonini beradi, so'ng maqsadga qarab ishlatiladi.

Xujayralar kulturalasi tarixi. XX asrda fiziolog S.Ringer natriy, kaliy,kalsiy va magniy xloridning tuzli eritmasini yaratib, unda xayvonlarning yuragini organizmdan tashqarida ishlab turishiga erishdi. 1885 yilda Vilgelm RU tovuq embrionini suyak iligini bir qismini iliq fiz eritmada bir necha kun ushlab turdi. [Ross Granvill Xarrison](#) 1907 –1910 yillarda to'qimalarni kulturalash bo'yicha olgan natijalarini e'lon qildi. 1910 yilda [Peyton Raus](#), jo'ja sarkomasini xujayralar kulturalasi bilan ish olib borib, sog'lom xayvonlardja shishlarni hosil bo'lishini indutsirladi. Keyinroq onkogen viruslarni kashf etdi. Xujayralarni kulturalash usuli 19540-1950 yillarda virusologiyadagi izlanishlar hisobiga rivojlana boshladi.

1.Xayvon xujayralar kulturalashning asosiy tamoyillari va ulardan foydalanish.

Xujayralarni ajratish

Organizmdan tashqarida kulturalash uchun xujayralar bir necha xil usullar bilan olinadi. Xujayralar qondan ajratilishi mumkin, lekin faqat leykotsitlar kulturalada o'sish xususiyatiga ega. Yumshoq to'qimalardan ko'p yadroli xujayralar xujayra matriksini parchalovchi fermentlar [kollagenaza](#), [tripsin](#), [pronaza](#) lar yordamida ajratilishi mumkin. Bundan tashqari oziqa muxiti yuzasida to'qima bo'laklarini ham o'stirish mumkin. Ob'ektdan olingan xujayralar kulturalasi birlamchi xujayralar deyiladi. Ko'pchilik birlamchi xujayralardan foydalanish muddati cheklangan. Ma'lum miqdorda bo'lingandan so'ng bo'linish to'xtaydi va xayot faoliyatini to'xtatadi.

Xujayralarni kulturalash

Xujayralar maxsus oziqa muxitlarda , doimiy xaroratda o'stiriladi, sut emizuvchilar xujayralari uchun inkubatoridagi xujayralar bo'linishini amalga oshirish uchun maxsus xavo muxiti zarur. Xavodagi uglekislota va suv bug'lari konsentratsiyasi boshqariladi. Turli xujayralar kulturasini uchun oziqa muxiti turlicha bo'lib, ular rN, glyukoza miqdori va o'sish faktorlari tarkibi bilan farq qiladi. O'sish faktorlari oziqa muxitiga qon zardobi bilan birga qo'shiladi. Xujayralarni kulturalashda sterillikga qat'iy e'tibor berish zarur. Xujayralarni suspenziya yoki adgeziv xolatlarda o'stirish mumkin. Ba'zi xujayralar masalan qon xujayralari oziqa muxitida muallaq xolatda mavjud bo'ladi. Adgeziv xujayralarni o'stirish uchun yuza zarur bo'lib, masalan xujayralar to'qimasi yokixujayradan tashqari matriks elementlari bilan qoplangan plastik zarur bo'ladi. Ko'pchilik yumshoq va qattiq to'qimalar xujayralari adgezivli bo'ladi. Adgeziv tipdagi kulturadan organotipik xujayralar kulturasini ajratiladi.

Xujayralarni o'stirishning o'ziga xosligi

Xujayralar kulturada o'stirilganda doimiy bo'linishi natijasida kulturada miqdori ortib ketishi mumkin. Natijada quyidagi muammolar kelib chiqishi mumkin:

Oziqa muxitida xujayralar ajratgan maxsulotlar, toksinlarning to'planishi.

Kulturada xayot faoliti to'xtatgan o'lik xujayralarni to'planishi.

Xujayralarning ko'p miqdorda ko'payishi natijasida xujayra sikli, bo'linishi, o'sishi sekinlashadi, xujayralar o'sishi sekinlashdi va o'ladi

Xujayralar kulturasining normal funksiyalanishi uchun muntazam ravishda oziqa muxitini almashtirib turish zarur bo'ladi. Kulturaning mikroorganizmlar bilan ifloslanishini olidini olish uchun antibiotiklar qo'shiladi.

Xayvon xujayralar kulturasidan foydalanish. Xujayralar kulturasidan sanoat asosida fermentlar, garomlar, monoklonal antitelolar, interleykinlar, limfokinlar, rakga qarshi preparatlar olinadi. Ko'pchilik oddiy oqsillarni bakteriyalar kulturalaridan olish mumkin bo'lsa ham murakkab oqsillardan masalan glikoproteinlar hozirgi kunda faqat xayvon xujayralaridan olinadi. Ulardan biri eritropoetin gormoni shunday muxim oqsillardan biri hisoblanadi. Sut emizuvchilar xujayralar kulturasini o'stirish ancha ko'p mablag' talab qilgani uchun hozirgi kunda murakkab oqsillarni ishlab chiqarishda xashorotlar yoki yuksak o'simliklar xujayralar kulturasidan foydalanishni taqozo etadi.

Xayvon xujayralarni duragaylash. Usul tarixi. Somatik xujayralarning bir-birlari bilan qo'shilishi xaqidagi fikrlar XIX asrning boshlarida ko'p yadroli xujayralar ochilishi munosabati bilan aytilgan edi. Somatik xujayralarning duragaylarini 1960 yilda Barskiy shogirdlari bilan birgalikda duragay xujayralar tizimlarini ajratganligi xaqidagi ma'lumotlarni chop etildi. Duragay xujayralar sichqon sarkomasidan ajratilgan bitta xujayradan ajratilgan ikkita tizimni aralashtirish orqali olingan. Boshlang'ich tizimlar xromosomalar morfologiyasi va soni bilan hamda ularni sichqonlarga yuborilganda shish hosil qilish xususiyati bilan farq qilgan. Duragay xujayralar boshlang'ich tizimlardan xromosomalar soni bilan farq qiladi, shuningdek ikkiala ota-ona xujayralarning yuza antigenlarini tutadi. Turli turlarga mansub xayvonlarning xujayralaridan duragay xujayralar olish mumkinligi

isbotlandi. Proliferatsiyalanish xususiyatiga ega bo'lgan turlararo duragaylarni o'rganish natijasida ikkita muxim kuzatishlar amalga oshirildi:

- duragaylarda ikkala genom ham yuzaga chiqishi mumkin;
- uzoq yashovchi turlararo duragaylarda bir turning xromosomasi nasldan naslga beriladi.

Xujayralarning qo'shilishini stimullash shart emas. Bu jarayon in vivo dagi kabi in vitro sharoitida ham maxsus agentlar qo'shilmasdan amalga oshishi mumkin. Bunday turdagi xujayralarning qo'shilishi tasodifiy ravishda yuzaga keladi, ulardan ba'zilar ontogenez jarayonida evolyusiyadan dasturlangan xolda amalga oshadi. Xujayra ichidagi membranalar qo'shilishi mumkin, lekin xujayrani chegaralab turuvchi membranalarning qo'shilishi hozirgi kunga qadar yechimini topmagan muammolardan biri xisoblanadi

Shu bilan birga normal xujayralar tabiiy sharoitda kamdan kam xollarda bir-birlari bilan qo'shilishib ketadi. Bundan urug'lanish jarayoni mustasno.

Sut emizuvchilarning xujayralari tabiiy sharoitda qo'shilishi mumkin. Masalan, muskul trubkalarining shakllanishida xujayralar qo'shilishi, polikarionlar – bir yadroli mioblastlarning qo'shilishidan hosil bo'ladi. Shish xujayralarning qo'shilishi odatiy xol bo'lib, shish xujayralari in vivo sharoitida xatto normal xujayralar bilan ham qo'shilishi mumkin. in vitro sharoitida xujayralarning spontan qo'shilishi bo'yicha tajribalar o'tkazilgandato'qimalarida turli genotiplar xujayrasini tutuvchi "ximer" yoki allofen xayvonlar olingan.

2. Ximer xayvonlar yaratish usullari

1. **Agregatsion-** bu usulda xomilador urg'ochi xayvonning bachadonidan 8ta blastomer bosqichidagi murtak olinadi. Turli genotipga ega bo'lgan ikkita xayvondan olingan blastomerlar maxsus sharoitda agregatsiyalanib 16ta xujayrali murtak hosil qiladi. bunday tarkibdagi murtaklar in vitro blastotsista bosqichigacha rivojlantiriladi, yolg'on xomiladorlik belgisini maxsus gormonlar ta'sir ettirilgan urg'ochi xayvonning bachadoniga yuboriladi. Natijada allofen xayvonlar paydo bo'ladi.

2. **In'eksion** - bu usulda blastotsista bosqichidagi embrionlardan foydalaniladi. Blastotsistalarning xujayra ichi massasiga mikromanipulyatorlar yordamida boshqa organizmdan olingan resipient blastotsel yuboriladi.

In'eksiya usuli turlararo ximerlar olishda keng qo'llaniladi. Birinchi turlararo ximerlar bir-birlari bilan chatishmaydigan M. musculus i M. Caroli turlariga mansub sichqonlardan olingan. Lekin ular ikki xaftalik muddatda nobud bo'lgan.

1973 yili R. Gardner va M. Djonson tomonidan sichqon va kalamushning ximer xayvoni olingan. 1980 yillarda qishloq xo'jalik xayvonlarini ximer xayvonlarini olishga xarakat qilishgan. Ikki xil turga mansub bo'lgan buzoqlarning ximer avlodini agregatsion usuli yordamida olishga muyassar bo'lishgan. 1984 yilda qo'y va echkinning ikkala usulni qo'llash orqali bir vaqtning o'zida Angliya va Germaniyada olingan. Ximer xayvonlar genetik mozaikasini avloddan avlodga bermaydi. Lekin birinchi avlodda sut va go'shtga bo'lgan maxsuldorligi saqlab qolinadi.

3. Somatik xujayralar gibrizatsiyasi. Usul asosida xujayralar qo'shilishi yotadi, natijada ikkala ota-onaning yadrosini tutuvchi geterokarionlar hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan geterokarionlardan ikkita bir yadroli duragay xujayralar rivojlanadi.

1965yilda angliya olimi G.Xarris birinchi bo‘lib inson va sichqon xujayralaridan hosil bo‘lgan geterokarionlarni oldi. Bunday sun‘iy duragaylashni bir-biridan uzoq bo‘lgan turlarga mansub bo‘lgan somatik xujayralardan olish mumkin. Xatto o‘simlik inson va xayvon xujayralari duragaylarini ham olish mumkin. Bu usul yordamida monoklonal antitelolar olish uchun gibridomalar yaratilgan.

Xayvonot olami uchun spermani muzlatilgan holda uzoq vaqt saqlash, sun‘iy urug‘lantirish usullarining yaratilishi katta ahamiyatga ega bo‘ldi. Gen va xujayra muxandisligi usullari yordamida in vitro sharoitida sut emizuvchilarni sun‘iy urug‘lantirish va yetarli darajada rivodlanishning boshlang‘ich darajasida bo‘lgan murtaklarni yetarli miqdorda olish mumkin. Xayvonlarni genetik yaxshilash embrionlarni transplantatsiyalash va mikromanipulyatsiya usullari(bir tuxum xujayrali egizaklar olish, embrionlarni turlararo ko‘chirib o‘tqazish, ximerlar olish)ning yaratilishi bilan bog‘liq bo‘ldi. 1996 yilda shotlandiyada inson oqsili geni kiritilgan beshta qo‘zichoqlar olindi.

4.Gibridoma normal xujayraning shishlar bilan qo‘shilishidan hosil bo‘lgan xujayra. Maxsus oqsil masalan, antitela (normal xujayraga xos) sintez qilish va cheklanmagan o‘sinh xususiyatiga ega bo‘lgan xujayralar. Gibridomalar sintez qiladigan monoklonal antitelolar biologiya va tibbiyotning turli soxalarida qo‘llaniladi. Xozirgi kunda boshqa oqsillarni masalan, qonning ivitish omillarini, garmonlarni sintez qiluvchi gibridomalar olish bo‘yicha ilmiy ishlar olib borilmoqda.

O‘z – o‘zini nazorat qilish uchun savollar.

1. Klonli mikroko‘paytirish usuli an’anaviy usullariga nisbatan qanday afzalliklarga ega?
2. O‘simliklarni klonli mikroko‘paytirish tarixi xakida ma’lumot berin
3. O‘simliklarni klonli mikroko‘paytirish qanday bosqichlar va usullardan iborat?
4. Sog‘lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari qanday olinadi?
5. O‘simliklarni klonli mikroko‘paytirishga qanday genetik fiziologik gormonal va fizik omillar ta’sir etadi?
- 6.Ximer xayvonlar yaratishning qanday usullari bor?
- 7.Xayvon xujayralardan qanday maksadlarda foydalaniladi?

Tavsiya etiladigan adabiyotlar ruyxati

- 1 Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi Toshkent “Fan va texnologiya” nashriyoti, 2010
- 2 Antipova L.V., Glotova I.A., Jarinov A.I. Prikladnaya biotexnologiya Ucheb. posobie dlya vuzov. Voronej: Voronej. gos. texnol. akad., 2000. -420 s.
- 3 Ashmarin I. Molekularnaya biologiya. Leningrad 1977. – 366 s.
- 4 Beker M.Ye., Liepinish G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya. M.:

- Agropromizdat, 1990. – 284 s.
- 5 Biotexnologiya: Ucheb. posobie dlya vuzov. V 8 kn./Pod. red. N.S.Yegorova., V.D.Samuilova. M.: Vysshaya shkola, 1997. – 228 s.
 - 6 Volova G. Biotexnologiya. Izd-vo otdeleniya Rossiyskoy Akademii nauk. 1999. – 252 s.
 - 7 Sheveluxa V.S. va boshq. Selskoxozyaystvennaya biotexnologiya. M.1999
 - 8 Maniatis T., Frich E., Sambruk Dj. Molekularnoe klonirovanie Moskva. Mir. 1984. 4771

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

11. Mavzu. GENOMNI TAHRIR QILISH

Mavzu: Genomni tahrir qilish.

Reja:

- 1. Genomni tahrir qilish tizimlarining predmeti, maqsad va vazifasi**
- 2. Genomni tahrir qilish tizimlarining asosiy yo‘nalishlari: Transgenez. Antisens. Yangi avlod texnologiyalari: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.**
- 3. Xulosalar.**
- 4. Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yhati.**
- 5. Mavzular bo‘yicha tuzilgan savollar ro‘yhati.**

Genomni tahrir qilish.

Transgenez. Antisens. Yangi avlod texnologiyalari: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.

O'simliklar, hayvonlar va odam genomining to'liq o'rganilishi orqali olingan bilimlarni biotexnologiya, molekular biologiya, qishloq xo'jaligi va tibbiyot sohalarida juda keng miqyosda qo'llash uchun katta imkoniyatlar ochib bermoqda. Biroq genomning alohida elementlarining funksional o'zaro bog'liklarini va ularning fenotipik belgilarini hamda alohida kasalliklarning patogenezi shakllanishidagi rolini tushunish uchun genomlarning faqatgina nukleotid ketma-ketliklari to'g'risidagi ma'lumotlar yetarli emas.

Postgenom sohasida genomlardagi DNKlarni manipulyatsiya (boshqarish) qilish, genlar ekspressiyasini va regulyator elementlarning ishlarini boshqarish va vizuallashtirish imkonini beruvchi usullar faol rivojlanib bormoqda. Ammo barcha usullar ham samaradorligi, havfsizligi hamda keng doiradagi tadqiqotchilar qo'llashi uchun yuqori talablarga javob bermaydi. So'nggi bir necha yillar ichida genomlarni tahrirlash uchun TALEN, Zinc Finger va CRISPR/Cas9 (inglizcha CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, o'zbek tilida - muntazam guruxlarda joylashgan qisqa palindromik takrorlar) kabi yangi texnologiyalar vujudga keldi. Ushbu yaqinda paydo bo'lgan tizimlar allaqachon genom muxandisligining samarali va ishonchli texnologiyalariga aylanib ulgirdi. Bu innavatsion texnologiyalarni zamonaviy biologiyaning asosiy model ob'ektlari genomlarini tahrir qilishda hamda genomlarning funksional skriningi, odam irsiy kasalliklari xujayra modellarini yaratish, epigenomikasini o'rganish va xujayrada sodir bo'ladigan jarayonlarni vizualizatsiya qilishda qo'llaniladi.

Transgenez

Transgenez - bu biron tirik organizm genomiga boshqa bir begona genning kiritilish jarayoni tushuniladi, buning natijasida organizmda rekombinant DNK, ya'ni ikki yoki undan ortiq organizmlar DNKlari birlashuvi hosil bo'ladi. Natijada organizm nasldan-naslga beriladigan yangi xususiyatlarga ega bo'lishi mumkin. Transgen organizmlar begona genlarni ekspressiyalashi mumkin, genetik kod barcha tirik organizmlar uchun bir xildir, ya'ni hamma organizmlarda DNK izchilligi bir xil aminokislota izchilligini kodirlaydi. Rekombinant DNKlar tuzish va hosil qilish gen muxandisligi sohasida amalga oshiriladi.

Gen muxandisligi sohasining tarixi 1972 yilda amerikalik olim Pol Berg laboratoriyasida rekombinant DNK yaratilishi bilan boshlangan. Bu tajribada olimlar ichak tayoqchasi genomini bakteriofag va virus (SV40) genlari bilan birlashtirgan. Mana shu kashfiyotdan so'ng gen muxandisligi sohasida ulkan yutuqlarga erishildi, molekular-genetik mexanizmlar va hodisalar mukammal o'rganildi va kashf etildi, endilikda bu hodisalarni *in vitro* sharoitida amalga oshirish mumkin. Bakteriya hamda viruslarning molekular genetikasi va biokimyosi sohasidagi izlanishlar DNKni manipulyatsiya (boshqarish) qilish usullarini ishlab chiqish, turli vektor tizimlari va ularni xujayraga kiritish usul va uslublarini yaratish imkonini berdi. Bu

orqali nafaqat transgen mikroorganizmlar, balki genetik modifikatsiyalangan o'simliklar va hayvonlar olishga erishildi.

Sohaning shiddat bilan rivojlanishi biotexnologiya va seleksiya yo'nalishlarining taraqqiyotiga turtki berib, gen muxandisligining amaliy sohasini yuzaga keltirdi. Biroq an'anaviy gen muxandisligi usullari bir qator kamchilik va cheklovlarga ega, bulardan bittasi - odam va hayvonlarning katta genomlarini manipulyatsiya qilish o'ta murakkabligidadir.

Halqaro "Odam genomi" loyihasi doirasida 1990-2003 yillar davomida odam yadro DNKsining nukleotid ketma-ketligi aniqlandi va yaqin 20,5 ming genlar identifikatsiya qilindi. Bu kabi ko'plab loyihalar hozirgi vaqtda ham olib borilmoqda, asosiy biologik model ob'ektlar genomlari - ichak tayoqchasi, nematoda, drozofila pashasi, sichqon va hakovlarda nukleotid ketma-ketligi allaqachon o'qib bo'lingan. Bu loyihalar orqali DNKning faqat nukleotid ketma-ketliklari to'g'risidagi ma'lumotlar olish imkoni bor, ammo genom alohida elementlarining funksiyasi va ularning o'zaro butun genom tizimiga bog'liklari to'g'risidagi biron ma'lumot olish imkoni yo'q. Odam genomidagi funksional o'zaro bog'liklarni anglash, nafaqat irsiy patologiyalarning sabab-oqibatlarini, balki ko'p omillarga bog'liq bo'lgan kasalliklarning sabablarini aniqlash va ularni davolash uchun nishonlar ham topish imkonini beradi.

Qayirda? Odam genomi Milliy tadqiqot instituti 2003 yilda yangi halqaro loyiha ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements, o'zbek tilida- DNK elementlari ensiklopediyasi) ustida ish boshladi. Bunda loyihadan maqsad – olimlarning intilish va izlanishlarini birlashtirgan holda RNK va oqsillar darajasida faol bo'lgan elementlar, fundamental genetik jarayonlarni (transkripsiya, translatsiya va replikatsiya) nazorat qiluvchi reguliyator elementlar va odam genomi funksional elementlarining to'liq ro'yxatini olish edi. Bu kabi funksional o'zaro aloqadorliklarni aniqlash uchun quyidagi ikki strategiya qo'llaniladi: genni o'chirish (nakout yoki nokdaun) hamda gen faoliyatini yoki uning ektopik ekspressiyasini kuchaytirish. An'anaviy usullar - gomologik rekombinatsiyalar qo'llangan transgenез sichqonlarda, bundan tashqari virusli va lentivirusli vektorlarning qo'llanilishi nafaqat qimmat, balki juda katta mehnat talab etadi, ular o'ta qat'iy belgilangan genom lokusida aniq o'zgarishlar kiritish imkonini bermaydi.

Hozirgi kunda olimlar ixtiyorida bir necha texnologiyalar paydo bo'ldi, bular orqali o'simliklar, hayvonlar va odam genomlarini o'ta yuqori aniqlikda tahrirlash imkonini beradi.

Fok I – endonukleazalar domeni bilan bog'langan oqsil domeninig "Rux barmoqchalari" tipi sayt-spesifik nukleaza sifatida faol bo'lib DNKni in vitro sharoitida qat'iy belgilangan uchastkalarini o'ta aniqlikda qirqishi allaqachon 1996 yilda birinchi marta ko'rsatib berilgan edi. Shu kabi ximerik oqsillar modulli strukturaga ega bo'lib har bir "rux barmoqchalari" domeni bir nukleotid tripletini taniydi (Zinc-finger Nuclease, ZFN). Bu kulturalanadigan xujayralar jumladan plyuripotent tana xujayralari hamda model hayvonlar va o'simliklarda asosiy tahrirlash usuliga aylandi. Ammo ZFN texnologiyasi murakkabligi va har bir aniq genom lokuslari uchun oqsil domenlarining konstruksiyasini tuzishga yuqori harajat

talab etilishi, bir nukleotidli almashinuv yoki domenlar aro o‘zaro noto‘g‘ri ta’sirlar sababli DNK-nishonning noaniq qirqilishi ehtimolliklari kabi bir nechta kamchiliklarga ega. Shuning uchun genomni tahrirlovchi yangi texnologiyalar topish maqsadida faol izlanishlar davom etdi. So‘nggi yillarda bu izlanishlar genomlarni tahrirlash imkonini beruvchi yangi instrumentlarning yaratilishiga sabab bo‘ldi. Bu tizimlar – TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases, ya’ni transkripsiyani faollashtiruvchilarga o‘xshash effektor nukleazalar) va CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ya’ni - muntazam bir-biridan bir xil uzoqlikda joylashgan qisqa palindromik guruxlar takrorlari). Ushbu tizimlar odam, o‘simliklar va hayvonlar xujayrasida yuqori samarali ishlarni amalga oshirish va ular uchun konstruksiyalar tuzishning nisbatan soddaligi bilan farq qiladi. Bu kabi texnologiyalar genomlar ustida turli xil manipulyatsiyalarni amalga oshirishda faol qo‘llanilmoqda va bu orqali transgen va mutant hayvon va o‘simliklar yaratish hamda kulturalanadigan odam plyuripotent xujayralari asosida kasalliklar modelini yaratish va tadqiq etish kabi bir qator murakkab muammolarni hal etish uchun imkon yaratadi. Bundan tashqari epigenomikasini o‘rganish va xromosoma lokuslarini xujayra siklida o‘tkazish uchun TALEN DNK- bog‘lovchi domenlari asosidagi ximerik oqsillar va faoliyati to‘xtatilgan (inaktivatsiya) Cas9 nukleazalaridan genlar transkripsiyasini boshqarish bo‘yicha olib borilgan tajribalarda foydalanilgan.

TALEN texnologiyasi

Halqaro nufuzli “Nature Methods” jurnali tomonidan 2011 yilda genomlarni yuqori darajadagi aniqlikda tahrirlash imkonini beruvchi usullar qatori TALEN tizimi ham yil texnologiyasi (usuli) deb e’lon qilindi. Bu texnologiyaning yaratilish tarixi Xanthomonas avlodi bakteriyalarining o‘rganilishi bilan bog‘liq. Ushbu bakteriyalar sholi, qalampir, pomidor kabi o‘simliklarning patogeni hisoblanib qishloq xo‘jaligiga katta iqtisodiy zarar keltiradi, bu esa ularning sinchkovlik bilan o‘rganilishiga sabab bo‘ldi. Ma’lum bo‘ldiki, bakteriyalar o‘simliklar xujayralarining sitoplazmasiga effektor oqsillarni (TALE, Transcription Activator-Like Effectors) ajratib chiqaradi, bu esa o‘simliklar xujayrasidagi jarayonlarga ta’sir etib patogenlarga nisbatan chalinuvchanlik darajasini oshiradi. Keyinchalik effektor (ta’sir etuvchi) oqsillarning faoliyat mexanizmlarini o‘rganish natijasida, ular eukariotlardagi transkripsiya omillarini takrorlab DNK bilan bog‘lana olish va o‘zlarining gen-nishonlarining ekspressiyasini faollashtirish qobiliyatiga ega ekanligi aniqlandi.

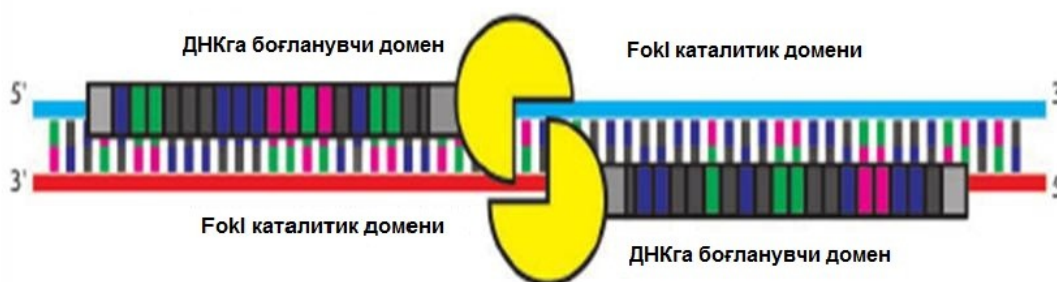
TALE oqsillari DNKga bog‘lanishi, domen va yadroda joylashish signali hamda maqsaddagi genning transkripsiyasini faollashtirish uchun javobgar markaziy domendan tashkil topgan. Birinchi marta ushbu oqsillarning DNKga bog‘lana olish qobiliyatlari 2007 yilda tavsiflangan edi, bir yil o‘tib esa ikki gurux olimlar tomonidan TALE oqsillarining nishonlangan DNK izchilliklarini tanib olish kodlari aniqlandi. DNKga bog‘lanuvchi domen monomerlardan tashkil topganligi va ularning har biri bitta nukleotid bilan nishonlangan nukleotid ketma-kemligiga bog‘lanishi ko‘rsatib berildi.

Monomerlar ikkitasi yuqori o'zgaruvchan (Repeat Variable Diresidue, RVD) 12- va 13- pozitsiyalarda joylashgan 34 aminokislotalar qoldig'idan iborat tandem takrorlarni namoyish etadi. Bunda aynan o'sha yuqori o'zgaruvchan aminokislotalar belgilangan nukleotidlarni tanib olishga javobgar hisoblanadi. Bu kod tug'ma (degenerativ вырожденный) hisoblanadi. Ba'zi yuqori o'zgaruvchan aminokislotalar bir necha nukleotidlar bilan turli samaradorlik bilan bog'lanishi mumkin. Bunda TALE monomerlari bog'lanadigan 5'- oxir nukleotid ketma-ketligi oldidan nishonlangan DNK molekulasida doim faqat timidin nukleotidi joylashgan bo'ladi, bu esa bog'lanish samaradorligiga ta'sir etadi. So'nggi 3'-uchi tanib olish saytiga bog'lanuvchi tandemli takror 20 aminokislota qoldig'idan iborat bo'lib u yarim takror deb nomlanadi.

TALE oqsillari yordamida DNK kodlarining o'qilishi aniqlanganidan so'ng o'zining soddaligi (bir monomer- bir nukleotid) bilan butun dunyo olimlarining qiziqishini uyg'otdi va TALEN - ximerik nukleazalar yaratish bo'yicha birinchi tajribalar amalga oshirildi. Shu maqsadda TALE domeniga bog'lanib DNKni kodirlovchi izchillikni plazmada vektoriga kiritildi, bu vektor ilgari ZFN texnologiyasini yaratishda foydalanilgan. Natijada DNKga bog'lanuvchi domenni va FokI restriksiyalari endonukleazalarining katalitik domenini o'z ichiga olgan sun'iy ximerik nukleazalar ekspressiya qiluvchi genetik konstruksiyalar yaratildi. Bu texnologiya DNK-bog'lovchi domen turli yuqori o'zgaruvchan monomerlarni (Repeat Variable Diresidue, RVD) birlashtirgan holda istalgan nukleotid izchilligi nishon bo'lgan sun'iy nukleazalar yaratish imkonini beradi. Ko'p hollarda A, T, G, C nukleotidlarini mos ravishda bog'lash uchun Asn va Ile (NI), Asn va Gly (NG), ikki Asn (NN), His va Asp (HD) larni o'z ichiga olgan yuqori o'zgaruvchan (RVD) monomerlardan foydalaniladi. Bunda yuqori o'zgaruvchan monomerlar-RVD NN, A hamda G sifatida bog'lanishi mumkin. Ko'plab tajribalarda guaninning yanada spesifikroq bog'lanishi uchun NH yoki NK monomerlari qo'llanilganida keraksiz nishonga bog'lanish xatoliklarini kamaytiradi. Yuqori o'zgaruvchan monomerlardagi RVD (H yoki N) birinchi aminokislota qoldig'i bevosita nukleotidga bog'lanishda qatnashmaydi, lekin fazoviy konformatsiyani stabillash uchun javob berishi aniqlandi. Ikkinchi aminokislota qoldig'i nukleotid bilan o'zaro bog'lanadi, bunda bog'lanish tabiati turlicha: D va N azotli asoslar bilan vodorod bog'larini hosil qiladi, lekin I va G Van-der-Vaals kuchi hisobiga nishonlangan nukleotidlar bilan bog'lanadi.

Domenga bog'lanuvchi sun'iy DNK yadro lokalizatsiyasi signaliga, N- uchi domeni va FokI katalitik domeniga ega bo'lgan yarimtakror genetik konstruksiyaga kirgiziladi. Sun'iy nukleazalar uchun ishonlangan saytlar quyidagicha tanlab olinadi: ular DNKning turli zanjirlarida bo'lishi va speyser izchilligida kichik uchastkalarga (12-25 j.n.) ajratilgan bo'lishi kerak bo'ladi. Sun'iy nukleazalarning yadroga borib joylashishi bilan ular nishonlangan saytlar bilan bog'lanadi, natijada S uchlarida joylashgan ximerik oqsillarning FokI domenlari dimerizatsiyalanadi va speyser ketma-ketligiga ikki zanjirli bo'shliq hosil qiladi. (1-rasm)

Геномнинг мақсадли (нишонли) локуси



TALEN химерик оқсиллари жуфтлиги

Оқсил доменлари ёрдамида нуклеотидларни таниб олиш коди

NI = A NG = T NN = G HD = C

1-rasm. TALEN химерик оқсиллари yordamida ikki ipli (zanjirli) bo'shliq kiritish sxemasi. DNKga bog'lanuvchi оқсил domenining bir monomeri DNKning maqsadli (nishonli) izchilligida bir nukleotidni tanib oladi. Bog'lanish uchun monomerdagi ikki aminokislota qoldig'i javob beradi, tanib olish kodi keltirilgan (aminokislota qoldiqlari bir harfda ifodalanadi). Tanib olish saytlari masofada DNKning turli zanjirlarida joylashgan, bu esa FokI katalitik domenlari dimerizatsiyasi uchun yetarlidir. FokI dimeri sifatida DNKga ikki zanjirli bo'shliq kiritadi.

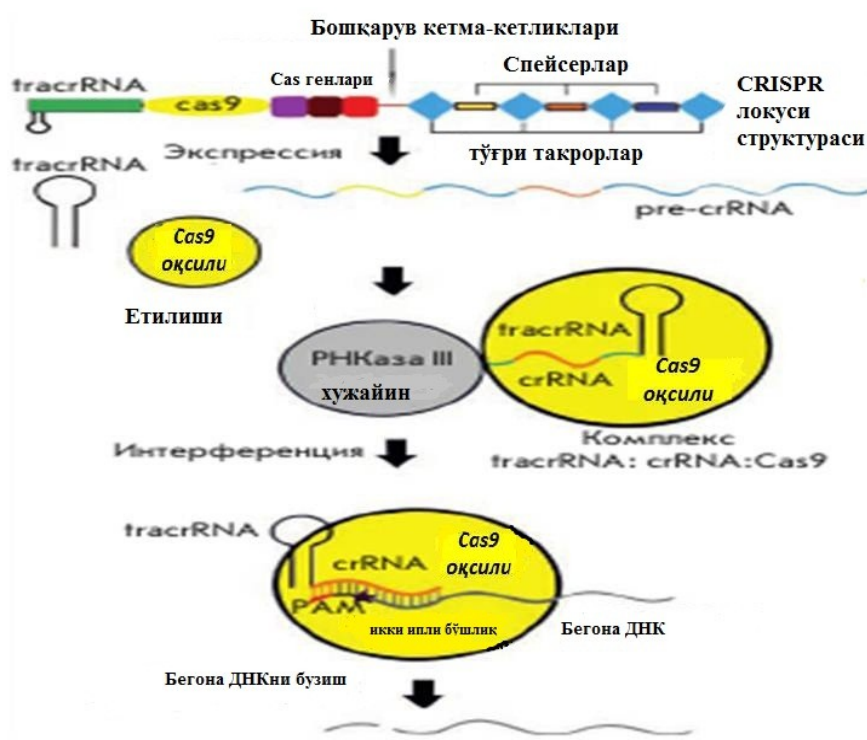
Nazariy jihatdan DNKga bog'lanuvchi domenlarning ma'lum tanib olish saytlari bilan genomning istalgan uchastkasiga TALEN sun'iy nukleazalari yordamida ikki zanjirli bo'shliq kiritish mumkin. TALEN nukleazalari saytlarini tanlashdagi yagona cheklov, bu nishonlangan ketma-ketlikdagi 5'-uchi oldidan T ning mavjud bo'lish zaruriyatidir. Ammo speyser ketma-ketligi uzunligini o'zgartirish bilan ko'p hollarda sayt tanlovlarini amalga oshirish mumkin. DNKga bog'lanadigan domenning W232 qoldig'i N-oxir uchastkasining tarkibida 5'- T bilan o'zaro birikadi, bunda u TALEN ning nishonlangan saytlar bilan birikish samaradorligiga ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ammo A, G, yoki C bilan bog'lana oluvchi TALEN N-oxirli domenining mutant variantlarining seleksiyasi natijasida bu muammoni hal etish imkoni bor.

CRISPR/Cas

TALEN химерик оқсиллари tizimi kashf qilinganidan ikki yil o'tib CRISPR genomni tahrir qilish texnologiyasini faol qo'llash rivojlandi. Bu texnologiya elementlari kodirlamaydigan RNK va Cas (CRISPR-associated) оқсиллари hisoblanadi. TALEN химерик оқсилларидan farqli ravishda CRISPR/Cas tizimi yordamida tanib olish

xususiyati nishonlangan DNK va kodirlamaydigan RNKlarning o‘zaro komplementar bog‘lanishi hisobiga amalga oshiriladi.

Bunda nukleaza faolligiga ega kodirlamaydigan RNK va Cas oqsillaridan iborat kompleks hosil bo‘ladi. Ba’zi bakteriya genlarida 1987 yilda sirli takrorlar aniqlangan, ularning funksiyalari qariyb 20 yil davomida noma’lumligicha qoldi. Bakteriya genlarining sekvens qilinishi genomda analogik nukleotid ketma-ketligi ega bo‘lgan ko‘plab mikroorganizmlarning aniqlanishiga sabab bo‘ldi, bular xarakterli strukturaga ega, ya’ni noyob DNK-speyserlarining qisqa uchastkalari bir-biridan qisqa palindrom takrorlar bilan ajralgan (2-rasm). Aynan ushbu xususiyatiga ko‘ra ular CRISPR deb nomlandi.



2-расм. Бактерия хужайраларида CRISPR/Cas9 ҳаракатланиши механизми

Bundan tashqari bu kabi CRISPR kassetalari bevosita oqsil mahsulotlari nukleaza va xelikaza faolligiga ega bo‘lgan Cas genlari (CRISPR-associated- CRISPR bilan assotsiatsiyalangan) yaqinida joylashgan bo‘ladi. Bir-biridan bexabar bioinformatiklarning uch guruxi speyser DNK ko‘plab fag va plazmidalarning DNKsiga gomolog ekanligini 2005 yilda ma’lum qildi. 2007 yilda CRISPR speyser lokusida mavjud va bakteriofagga chidamli bo‘lib borayotgan *Streptococcus thermophilus* xujayralari bakteriofagning genom DNKsiga komplementar ekanligi aniqlandi. Shu tarzda CRISPR/Cas texnologiyasi noyob mexanizm bo‘lib mikroorganizmlarni begona DNK kirishidan himoyalashi va restriksiya-modifikatsiya tizimi bilan bir qatorda faol bo‘lib genetik ma’lumotlarni gorizontal ko‘chirilishini cheklashi aniqlandi.

CRISPR- tizimlari prokariot organizmlar o'rtasida keng tarqalgan: ular 87% arxey va 48% eubakteriyalarda aniqlangan. Shuning uchun har xil organizm turlarida genomdagi (1-18) CRISPR-kassetalari miqdori kabi takrorlarning miqdori (o'rtacha 60) va xajmi (o'rtacha 23-37 n.j.), shuningdek speyserlarning soni va xajmi (17-84 n.j.) o'zgaruvchan bo'ladi. Bunda bir kasseta ichidagi speyserlar va takrorlarning uzunligi o'zgarish va takrorlar ketma-ketligi esa bir xil bo'ladi.

Himoya mexanizmi uch asosiy bosqichdan iboratdir (2-rasm). Birinchi adaptatsiya bosqichida bakteriya xujayrasiga kirgan begona DNKning kichik fragmenti yangi speyser hosil qilib xo'jayin genomining CRISPR-lokusiga o'rnatiladi. Virus genomida bu fragment protospeyser sifatida speyserga komplementar va qisqa (2-5 n.j.) flankirlangan konservativ izchillikda mavjud bo'ladi, bu PAM (Protospacer Adjacent Motif; protospeyserga tegishli motiv) deb nomlanadi. Yangi speyser doim CRISPR kassetasi oldidan AT ga boy lider ketma-ketlik tarafidan o'rinishadi, xuddi shu joyda promotor elementlari va regulyator oqsillarning o'tkazish saytlari joylashgan. Barcha izlanishlarga ko'ra, aynan shu tarzda ko'pchilik CRISPR/Cas-tizimlarining nishonlari hosil bo'ladi.

Transkripsiyaning ikkinchi bosqichida barcha CRISPR lokuslari pre-crRNA (poly-spacer precursor crRNA; CRISPR RNKning yarim speyserli o'tmishdoshi) uzunligida transkripsiyalanadi (2-rasm). Yetilmagan transkripning yetilgan crRNA holatiga protsessing qilinishi CRISPR/Cas-tizimlarida ko'p hollarda Cas6 endonukleazalari tomonidan amalga oshiriladi. 39-45 nukleotid uzunligidagi qisqa crRNA (CRISPR RNK) bir speyser izchilligiga ega bo'lib oxirlarida sterjen-bigiz strukturasining shakllanishida ishtirok etuvchi takrorlar joylashgan: gidroksil guruxiga ega takrorning so'nggi sakkiz nukleotidlari 5' uchida sterjen hosil qiladi, va to'g'nog'ichsimon struktura 2', 3'-siklik fosfat bilan 3'-uchida ilmoqli urchuq (bigiz)ni hosil qiladi.

Uchinchi bosqich – begona RNK yoki DNKni interferensiya (faoliyatini susaytirish) qilish, bu jarayon crnA va cas-oqsillari kompleksining o'zaro ta'siri hisobiga amalga oshiriladi. CrnA komplementar holda protospeyserning ketma-ketligini tanib oladi va cas-oqsillari ularning buzilishini ta'minlaydi (2-rasm).

DNK-nishonlarni effektor majmuasi bilan degradatsiya qilish uchun crnA nukleotidlarining DNK-nishonlari bilan o'zaro -2, -3, -4 pozitsiyalarda (agar +1 protospeyserning birinchi asosiga qabul qilinsa) komplementar birikishi ro'y bermasligi kerak. CrnA va DNK-nishonlarning o'zaro komplementar birikishi ushbu pozitsiyalarda effektor majmuasining shakllanishini buzadi, bu esa genom DNKsini qirqishga va uning keyinchalik degradatsiyaga uchrashiga to'sqinlik qiladi.

Viruslar va ularning xo'jayin organizmlarining uzoq koevolyusiyasi viruslarda crISPr-interferensiyalarga qarshi himoya mexanizmlarining paydo bo'lishiga olib keldi.

Bu bakteriya va arxeylarda crISPr/cas-tizimlarining katta xilma-xilliklarga ega ekanligi bilan tushuntiriladi.

Bioinformatik tadqiqotlar barcha crISPr/cas-tizimlarini asosiy uch tipga (I–III) va bu tiplarni yana kamida 10 ta guruxlarga bo'ladi. Hozirgi kunda bulardan S. Pyogenes patogenidan ajratib olingan II-A tipining crISPr/cas-tizimi genom muxandisligida

faol qo'llaniladi. Bu bakteriyada cas genining minimal to'plami aniqlangan. Birgina polufunksional cas9 oqsili pre-crRNA protsessingini hamda begona DNKning interferensiyasini amalga oshiradi.

CrRNA protsessingi kodirlamaydigan kichik RNK - tracrRNA (trans-activating crRNA; transaktiviruyuvchi crRNK) bilan ham bog'liq bo'ladi. TracrRNA molekulalari pre-crRNA ketma-ketliklarining takrorlari bilan dupleks hosil qilib komplementar bog'lanadi, xo'jayin xujayralarning ribonukleazalaridan biri -RNKaza III, cas9 ishtirokida 5' uchida 20-nukleotidli speyser ketma-ketligiga ega bo'lgan yetuk crRNA ning hosil bo'lishi bilan dupleksni qirqadi. Butun lokusga Mg²⁺ ionlari ishtirokida cas9 ikki zanjirli ajralish kiritadi, bunda bu fermentning HnH nukleaza domeni crRNA ga komplementar DNK ipini qirqadi va RuvC -domeni nokomplementar ipni qirqadi. Cas9 *S. pyogenes* uchun DNK-nishon o'zida bevosita qirqish amalga oshiriladigan uch nukleotiddan so'ng 5'-nGG-3' RAM ni tutmog'i lozim. II tipining Cas9 uchun *S. thermophilus* va *Neisseria meningitidis* nishonlari mos ravishda boshqa konsensusga ega- 5'-nGGnG-3' va 5'-nnnnGAtt-3'.

Genom muxandisligida TALEN va CRISPR/Cas9 texnologiyalarini qo'llash.

Genom muxandisligining umumiy strategiyasi sayt-spesifik nukleazalar yordamida to'rt asosiy bosqichdan iborat:

- Genomda maqsadli nukleotid ketma-ketligini tanlab olish.
- Tanlab olingan nishonga yo'naltirilgan nukleaza konstruksiyasini yaratish.
- Ushbu konstruksiyani xujayra yadrosiga kiritish.
- Olingan mutatsiyalarning tahlili.

Genomda maqsadli (nishonli) nukleotid ketma-ketligini tanlab olish.

TALEN va CRISPR/Cas9 texnologiyalari yordamida ishlaganda ikki zanjirli bo'linmalarni spetsifik kiritish uchun saytlarni sinchkovlik bilan tanlab olish zarur. Dastlabki bioinformatik tahlillarga ko'ra, genomga ikki zanjirli bo'linmalarni kiritish maqsadsiz effektlarning ham ehtimolligi borligi bilan tushuntiriladi.

Kerakli saytlarni tanlashda ketma-ketliklarning takrorlanishidan va genomning boshqa rayonidagi yuqori gomologiyalaridan qochish talab etiladi.

TALEN ximerik oqsillari tizimidan foydalanilganda bir necha sabablarga ko'ra maqsadsiz effektlari vujudga keladi. Birinchidan, bu spetsifik nukleotidlar va RVD bog'lanishning effektivligidagi farqlardir. NN va HD monomerlari nukleotidlar bilan kuchli vodorod bog'lar hosil qiladi, bu vaqtda NG va NI – kuchsiz shakllanadi. Bu DNK-taniydigan domenlarni maqsadli saytlardan bir necha nukleotidlarga farqlanuvchi saytlar bilan bog'lanishiga imkon berishi mumkin. Ikkinchidan, kodning tug'ma bo'lgani uchun monomerlarning nukleotidlar bilan bog'lanish ehtimolligi mavjud, masalan, NG va A larning o'zaro bog'lanishi. Uchinchidan, ikki nukleazalarning FokI domenlari bir hil DNKga bog'lanuvchi domenlari (gomodimerlarning hosil bo'lishi) bilan dimerizatsiyaga uchrashi mumkin. Bu muammo majburiy geterodimerlar sifatida ishlovchi FokI domenlariga ega TALEN

tizimini yaratish orqali bir qator ishlarni amalga oshirish davomida hal etilgan. Ehtimolli maqsadsiz effektlar nukleazalar tanish saytlari orasidagi speyser DNKning xajmi qayd etilmaganligi natijasida sodir bo'lishi mumkin. Bu xususiyat FokI domenlari dimerizatsiyalanishi uchun yetarli masofada joylashgan nukleazalarning maqsadsiz saytlar bilan bog'lanishida ikki zanjirli bo'shliq kiritish imkonini beradi.

S. pyogenes cas9 nukleazalari 5'-NGG-3' konsensusi bilan RAM larning majburiy ishtirokini talab etadi, bunda kam miqdorda bo'lsa ham u nishonlarni tanlashni cheklaydi. Xususan, odam genomida maqsadli (nishon) saytlar har 8–12 n.j. laridan so'ng joylashgan bo'ladi. CRISPR/cas9 tizimining asosiy kamchiligi – maqsadsiz mutatsiyalar paydo bo'lishining nisbatan yuqori ehtimolligidadir. In vitro, bakteriyalarda va odam xujayralarida olib borilgan tajribalarda

20 nukleotidli sgRNA (single guide RNA) larning speyser uchastkalarida ba'zi bir nukleotid almashinuvlari CRISPR/cas9 tizimining sezilarli darajada faolligini susaytirishga olib kelishi ma'lum qilingan, ayniqsa agar bu almashinuvlar sgRNA ning so'nggi 10–12 nukleotidlari 3'-oxirlarida joylashgan bo'lsa. Shu bilan bir vaqtda sgRNA ning 5'-oxiridagi almashinuvlar tizimning faoliyati uchun hech qanday ta'sir o'tkazmaydi. Ammo ma'lumki, agar sgRNA ning 3'-oxiridagi bir yoki ikki nukleotidli almashinuvlar CRISPR/cas9 tizimining faoliyatiga ta'sir etmaydi, va aksincha, agar 5'-oxirida joylashgan bo'lsa faoliyatga to'sqinlik qiladi. Umuman olganda, maqsadsiz effekt cas9 uchun 5'-oxiri nukleotidlariga nisbatan kam ahamiyatga ega ketma-ketlikni yo'naltiruvchi 3'-oxiridagi –8–12 n.j. almashinuvlarning joylashishlari bo'yicha aniqlanadi, bunda Cas9 i sgRNA larga kiritiladigan almashinuvlar va aynan nishon-sayt xususiyatlarining konsentratsiyasi va miqdori uchdan oshmasligi lozim. Ko'rsatilgan kamchiliklarni yengish cas9 ortologlarini qo'llashga asoslangan usullarni qidirish va ishlab chiqishga imkon beradi. Bularning faolligini ta'minlash uchun murakkab konsensus ketma-ketlikka ega RAM zarur hisoblanadi. Masalan, II tip N. meningitidis CRISPR/cas PAM larni 5'-NNNNGATT-3', konsensusi bilan taniydi, bu jarayonda nishon tanlash imkoniyatini cheklab spesifiklikni oshirishi mumkin.

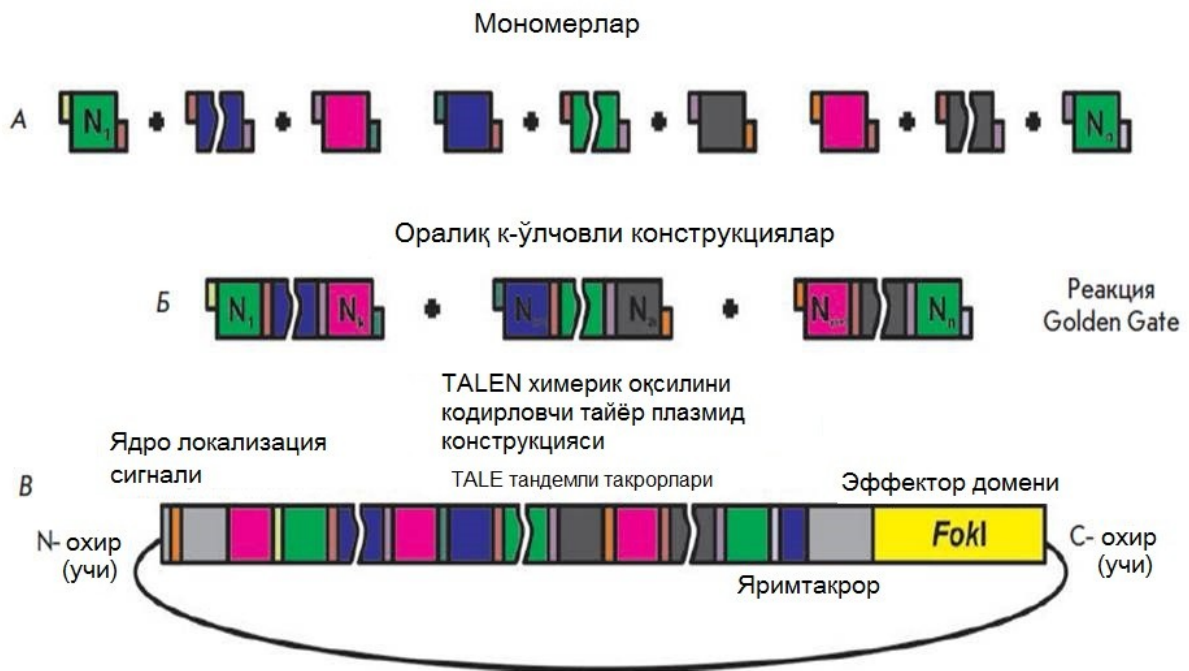
CRISPR/cas tizimlari yordamida genomni tahrir qilish spesifikligini oshirish maqsadida sgRNA juftligi (ZFN va TALEN juftlik analoglari singari) bilan ikki Cas9 nikazalaridan foydalaniladi. Ushbu sgRNA juftligi FokI domenlari bilan faqat ikki mustaqil oqsillarning ta'siri asnosida DNKga bo'shliq (parchalash) kiritadi. Bir katalitik faol domenlarning mutatsiyasi (HNHda D10A va RuvCda H840A) Cas9 nukleazasini DNK-nikazaga aylantiradi. Agar DNKning ikkala zanjirini Cas9 nikaza juftligi bilan qirgilsa sayt spesifik ikki zanjirli bo'shliqlar hosil qilishga olib keladi, bu bo'shliqlar DNK uchlarining (oxirlari) nogomologik (NHEJ- non-homologous end joining) tikilishi yordamida qayta juftlashadi, bunda alohida bo'lgan bir zanjirli parchalanishlar yuqori ekssiziya (BER- base excision repair) asosida samarali ravishda qayta juftlashadi. Ikki Cas9 nikazalarini sgRNA juftligi bilan qo'llash maqsadsiz mutatsiyalarning hosil bo'lishini sezilarli darajada kamaytirishi va bu jarayonda maqsadsiz mutatsiyalarning chiqishi butunlay nukleazalarning qo'llanilishiga bog'liqligi ko'rsatib berilgan.

Keltirilgan CRISPR/ Cas9 va TALEN tizimlari yordamida maqsadli (nishonli) saytlarni tanib olish imkoniyatlari shu kabi saytlarni qidirishda qo'llash uchun kompyuter algoritmlarini tuzishda e'tiborga olingan. Hozirda turli kompaniyalar tomonidan yaratilgan onlayn dasturlash ta'minotlari mavjud bo'lib, ular CRISPR/ Cas9 va TALEN tizimlarining potensial saytlarini tanlash, hamda ehtimolli maqsadsiz effektlarni aniqlash uchun ham mo'ljallangan.

CRISPR/ Cas9 va TALEN ekspressiyalovchi konstruksiyalar yaratish.

TALEN. DNKga bog'lanuvchi domen deyarli bir xil takrorlardan tashkil topgan, shuning uchun TALEN ni ekspressiya qiluvchi genetik konstruksiya tuzishda texnik xarakterga ega muammolarni hal etish talab etiladi. Bu borada 20-30 va undan ortiq monomerlardan iborat TALE DNKga bog'lanuvchi domenlarini yaratish imkonini beruvchi bir qator usullar taklif etilgan. Ushba strategiyalardan biri DNKni II tipli restriksiya endonukleazalari va ligirlash-REAL (REstriction and Ligation) bilan gidrolizlash orqali DNKni standart klonlashtirishga asoslangan. Bunda birinchi bosqichda 5'- va 3'- oxirlaridan (uchlari) restriksiya endonukleaza saytlari kiritilgan monomerlar kutubxonasi tayyorlanadi. DNK gidrolizidan so'ng juftlikdagi ligirlash jarayonlari o'tkaziladi va buning natijasida dimerlar (N_1N_2 , N_3N_4 , $N_{2k-1}N_{2k}$) hosil bo'ladi, bular keyinchalik tetramerlarga birlashadi. Bunda to'g'ri ketma-ketlikka turli restriksiya endonukleazalarini qo'llash orqali erishiladi. Bu usul murakkab va uzoq vaqt talab etadi, har bir bosqichda reaksiya mahsulotlarini tozalash hamda yo'nalishning to'g'riligini tasdiqlab borish ham talab etiladi. Bu jarayonlarni tezlashtirish maqsadida mono-, di-, tri- va tetramerlarni o'z ichiga olgan 376 elementlardan iborat kutubxona yaratilgan.

Effektivlikni oshirish va yig'ish jarayonlarini tezlashtirish maqsadida Golden Gate reaksiyasi qo'llaniladi, bu bir reaksiya aralashmasida bir vaqtning o'zida ligirlash va restriksiya endonukleazalari yordamida gidrolizlash imkonini beradi (3-rasm).



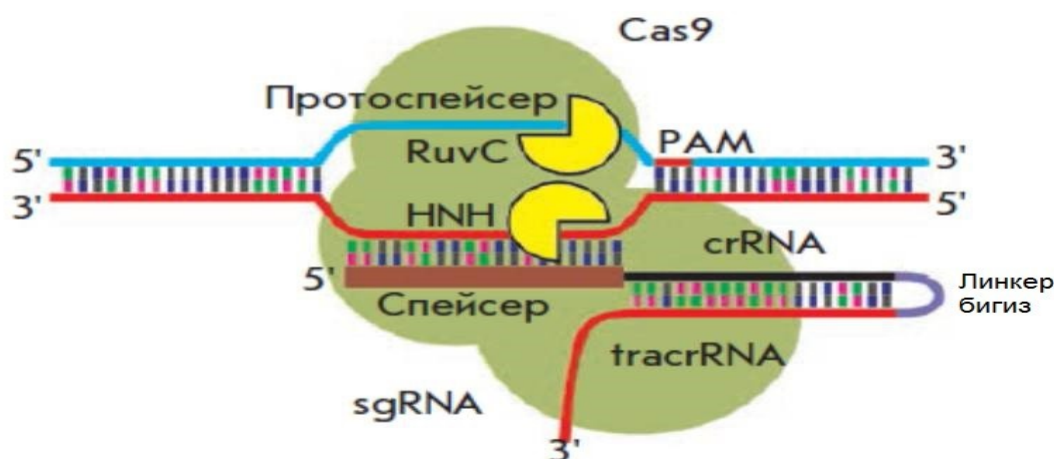
3-рasm. TALEN химерик оқсилларини експрессияловчи генетик конструксияларни yaratish uchun Golden Gate клонlash tizimi asosida modulli ierarxik ligirlash strategiyasining sxemasi. A- birinchi bosqichda detallar to‘plamidan iborat o‘ziga xos “konstruktor”ni taqdim etuvchi monomerlar kutubxonasi yaratiladi. Ushbu detallar-spesifik oligonukleotid praymerlar yordamida amplifikatsiya qilingan monomerlarning ketma-ketliklaridir. praymerlar shu tarzda tuziladiki, IIS tipli endonukleaza restriksiyalarining gidrolizi natijasida yopishqoq uchlar hosil bo‘lishi zarur, bu yopishqoq uchlar tayyor konstruksiyada monomer pozitsiyasini (joylashuvini) aniqlab beradi. B- bir Golden Gate reaksiyasida bir vaqtning o‘zida bir necha monomerlarni ligirlash imkoniyati bor, bularning natijasida oraliq k-o‘lchovli konstruksiyalar olinadi. V- so‘nggi bosqichda Golden Gate reaksiyasi o‘tkaziladi, buning natijasida bir necha oraliq k-o‘lchovli konstruksiyalarning va TALEN ning qolgan elementlarini o‘zida tutgan “asos” plazmidalarning restriksiya va ligirlash hodisasi sodir bo‘ladi.

CRISPR/Cas9. In vitro sharoitlarda va bakteriya xujayralarida CRISPR/ Cas9 yordamida DNKni qirgish uchun quyidagi komponentlar talab etiladi va yetarli hisoblanadi: kodirlamaydigan RNK tracrRNA va pre-crRNA, RNKaza III va Cas9 oqsili. Ushbu tizimni sut emizuvchilar xujayralarida qo‘llash bir qator afzalliklarni beradi.

Birinchidan, SpCase9 (Cas9 *S. pyogenes*) nukleazasi kodonlar tomonidan optimallashtirilgan yuqori eukariotlar xujayrasidagi transkripsiya jarayoniga moslashishi zarur hamda yadro kompartmentalizatsiyasini ta‘minlash uchun yadro lokalizatsiyasi signallarini birlashtirish lozim (NLS- nuclear localization signal). Ikki NLS Cas9 ni yadroga samarali (effektiv) yo‘naltirish uchun yetarlidir.

Ikkinchidan, eukariot xujayralarda pre-crRNA larni tayyor bo'lishi uchun ekzogen RNKaza III kiritilishi talab etilmaydi, chunki bu vazifani o'z xujayra RNKazalari samarali amalga oshiradi.

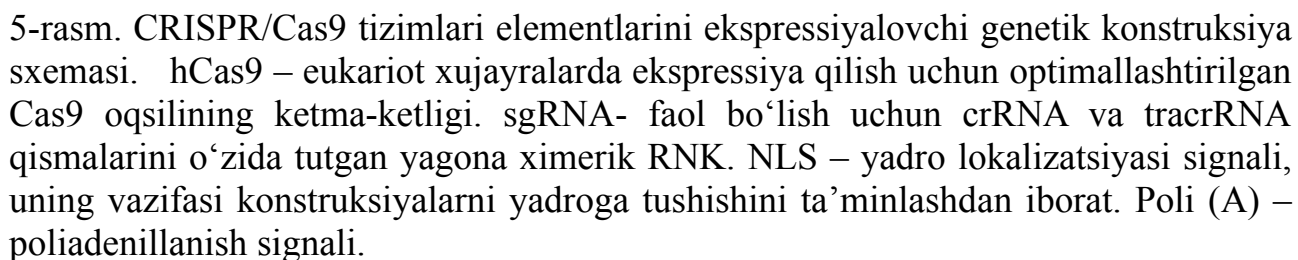
Uchinchidan, kodirlamaydigan ikki RNK o'rniga ko'pincha yagona ximerik sgRNA kiritiladi, bunda sintetik struktura "bigiz-asos" yordamida tabiiy crRNA-tracrRNA duplekslarni o'rnini bosish maqsadida yetuk crRNA tracrRNA qismi bilan birlashgan bo'ladi (4-rasm). sgRNA transkripsiyasi uchun mos keluvchi promotor talab etiladi, masalan RNK-polimeraza III aloqador U6- promotori.



4-rasm. Maqsadli (nishonli) lokuslarga ikki zanjirli bo'shliq kiritish uchun yagona ximerik sgRNA. SgRNA majmuasi va Cas9 DNKning tanlangan saytlariga ikki zanjirli bo'shliq kiritish imkoniyatiga ega. SgRNA- sun'iy yaratilgan konstruksiya bo'lib u o'zi bilan RNK ning bir molekulasiga birlashgan CRISPR/Cas9: srRNA-tracrRNA tizimining elementlarini taqdim etadi. Protospeyser - CRISPR/Cas9 tizimi taniydigan sayt. Speyser – sgRNA tarkibidagi ketma-ketlik bo'lib, maqsadli saytning o'zaro komplementar bog'lanish prinsipi bo'yicha bog'lanishiga javob beradi. RuvC va HNH – katalitik domenlar bo'lib, DNK zanjirlarining maqsadli saytlarida ikki zanjirli bo'shliq kiritadi. PAM – qisqa motiv (NGG- CRISPR/Cas9 sharoitida), uning mavjudligi protospeyserning 3'- oxiridan (uchidan) ikki zanjirli bo'shliq kiritish talab etiladi.

Feng Zang laboratoriyasida dastlabli plazmida konstruksiyalari yaratilgan, bu konstruksiya CRISPR/Cas9 ishlashi uchun talab etiladigan elementlaridan tashkil topgan. PX260/pX334 plazmidalari uch ekspressiyalovchi kassetalarni o'zida tutadi: Cas9-nukleaza/nikaza, CRISPR RNK-matritsasi va tracrRNA (5-rasm). Nishon-izchilligini o'zgartirish uchun bu konstruksiyadan faqatgina dastlabki 30-nukleotidli yo'naltiruvchi izchillikni kesib olish talab etiladi. Bu izchilliklar BbsI flankirlangan saytlar hisoblanib, uni sun'iy sintez qilingan izchilliklar bilan almashtiriladi. Ushbu jarayonni amalga oshirish uchun maqsadli ketma-ketlikka komplementar va mos ravishda yopishqoq uchlarni o'zida tutgan 30-a'zoli oligonukleotidlar birga erib va plazmidaga ligirlanadi.

The diagram illustrates the components of the CRISPR-Cas9 system. At the top, a red arrow labeled "U6-промотор" points to the start of the DNA sequence. This is followed by a blue box labeled "crRNA", a green box labeled "tracrRNA", and an orange arrow labeled "Сут емізувчлар промотори". Below these boxes, a black line indicates base pairing between the crRNA and tracrRNA regions. The crRNA sequence is shown as 5' GNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN 3', and the tracrRNA sequence is 3' CNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 5'. To the right of the promoter is a yellow oval labeled "hCas9", flanked by two red circles labeled "NLS", and ending with a blue box labeled "поли(А)".



Odam, sichqon va boshqa organizmlar xujayra kulturalarining transformatsiyasi uchun ko'pincha plazmidalardan foydalaniladi, bu plazmidalar cas9 va in vitro sgRNA nukleazalarning ishlab chiqarilishini ta'minlaydi. Butun organizm transformatsiyasi uchun Sas9 mRNK lariga va bir xujayrali embrionlarning sgRNA lariga mikroin'eksiya maxsus usullari ishlab chiqilgan. Bu usul sichqon, danio (*Danio rerio*) va drozofilalarda faol qo'llaniladi. Keng qamrovdagi gen nokauti uchun sgRNAlarning katta kutubxonalaridan foydalanib lentivirus vektorlar qo'llaniladi. Xujayralari zich xujayra devoriga ega o'simliklarda protoplastlarning plazmida transformatsiya usuli hamda *Agrobacterium tumefaciens* yordamidagi agroinfiltratsiya usuli qo'llaniladi.

Genom muxandisligida TALEN va CRISPR/Cas qo'llanilishi.

Nukleaza	Ob'ekt	Gen	Qo'llanishi
TALEN	Odam xujayralari (Homo sapiens)	ccr5, akt2, e17k, angptl3, apob, atgl, c6orf106, celser2, cftr, ciita, foxo1, foxo3, gli1, glut4, hbb, hdac1, hdac2, hdac6, hmga2, hoxa13, hoxa9, hoxc13, hpert, il2rg, jak2, kras, linc00116, maoa, map2k4, mdm2, met, mlh1, msh2, mutyh, myc, mycl1, mycn, nbn, ncor1, ncor2, nlrc5, ntf3, pdgfra, pdgfrb, phf8, plin1, pms2, ppp1r12c (aavsl), ptch1, pten, rara, rbbp5, recql4, ret, runx1, sdhb, sdhc, sdhd, setdb1, sirt6, smad2, sort1, sox2, klf4ss18, suz12, tfe3, tp53, trib1, tsc2, ttn, vhl, xpa, xpc, abl1, alk, apc, atm, axin2, bax, bcl6, bmp1a, brca1, brca2, cbx3, cbx8, ccnd1, cdc73, cdk4, cdh4, chd7, cttnb1, cyld, ddb2, ercc2, ewsr1, ext1, ext2, ezh2, fanca, fance, fancf, fancg, fes, fgfr1, fh, flcn, flt4, mstn, aavsl, oct4, pitx3	nokaut, kiritish
	Achitqi (Saccharomyces cerevisiae)	URA3, ADE2, LYS3	nokaut, kiritish
	Nematoda (Caenorhabditis elegans)	ben-1, tex-1, sdc-2	nokaut
	Drozofila (Drosophila melanogaster)	yellow, crhdr1, ponzr1, bmil, cdh5, dip2a, elmo1, epas1b, fh, golden, gria3, hey2, hif1ab, ikzf1, jak3, moesina, myod, phf6, ppp1cab, ryr1a, ryr3, scl6a3, tbx6, tnkb, th, fam46c, smad5	nokaut, kiritish
	Ipak qurti (Bombyx mori)	blos2	nokaut
	Chigirtka (Gryllus bimaculatus)	lac2	nokaut
	Qurbaqa (Xenopus tropicalis)	ets1, foxd3, grp78/bip, hhex, noggin, ptf1a/p48, sox9, vpp1	nokaut

	Sichqon (Mus musculus)	c9orf72, fus, lepr, pak1ip1, gpr55, rprm, fbxo6, smurf1, tmem74, wdr20a, dcaf13, fam73a, mlk1, mstn, pibf1, sepw1, rab38, zic2	nokaut, kiritish
	Kalamush (Rattus norvegicus)	bmpr2, IgM	nokaut
	Cho'chqa (Sus scrofa)	amely, dmd, gdf8, ggta, ghdrhdr, il2rg, ldlr, rag2, rela (p65), sry	nokaut
	Sigir (Bos taurus)	acan, gdf8, ggta, mstn, prnp	nokaut
	Arabidopsis (Arabidopsis thaliana)	adh1	nokaut
	Tamaki (Nicotiana benthamiana)	surA, surB, hax3	nokaut, kiritish
	Toroyoq o'ti (Brachypodium distachyon)	aba1, cxk2, coi1, hta1, rht, sbp, smc6, spl	nokaut
	Sholi (Oryza sativa)	avrxa7, pthxo3, badh2, ckx2, dep1, sd1	nokaut
CRIS PR/ Cas	Achitqi (Saccharomyces cerevisiae)	CAN1, ADE2	nokaut, kiritish
	Odam xujayralari (Homo sapiens)	dnmt3b-tdTomato, pou5f1(oct4), emx1, dyrk1a, grin2b, egfp, ccr5, c4bpb, pvalb, aavs, akt2, celsr2, ciita, glut4, linc00116, sort1, ldlr	kiritish
	Nematoda (Caenorhabditis elegans)	dpy-11, unc-4, ben-1, unc-36, daf-2, klp-12, lab-1, egfp, dpy-11, lin-5, rol-1, dpy-3, unc-1, dpy-13, unc-119, klp-12	nokaut, kiritish
	Drozofila (Drosophila melanogaster)	yellow, white, rosy, cg14251 (k81), cg3708cg17629 (kl-3), light	nokaut, kiritish
	Danio (Danio rerio)	etsrp, gata5, etsrp, gsk3b, apoea, fh, fh1, th1, rgs4, tia11, tph1a, drd3, egfp, tyr, gol, mitfa, ddx19, sema3fb, dre-mir-126a, dre-mir-126b, dre-mir-17a-1–dre-mir-92a-1, dre-mir-17a-2–dre-mir-92a-2, fgd5, ensdarg00000070653, ensdarg00000076787, psmf1, dre-mir-126a, dre-mir-17a-2, dre-mir-92a-2, tardbp, tardbpl, c13h9orf72	nokaut, kiritish, xromoso mada qayta-qurish

	Qurbaqa (<i>Xenopus tropicalis</i>)	tyr, six3	nokaut
	Choʻchqa (<i>Sus scrofa</i>)	gdf8, p65	nokaut, kiritish
	Sichqon (<i>Mus musculus</i>)	tet1, tet2, tet3, sry, uty, rosa26, hprr, egfp, th, rheb, uhrf2	nokaut, kiritish
	Kalamush (<i>Rattus norvegicus</i>)	dnmt1, dnmt3a, dnmt3b, tet1, tet2, tet3, mc3r, mc4r	nokaut, kiritish
	Arabidopsis (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	pds33, fls2, bri1, jaz1, gaj, chl, chl2, 5g13930	nokaut, kiritish
	Tamaki (<i>Nicotiana benthamiana</i>)	pds	nokaut, kiritish
	Sholi (<i>Oryza sativa</i>)	ods, badh2, mrk2, 02g2s3w8e2e3t, 1r1o, cs5w, esep1, 4 ysa, myb1, cao1, lazy1	nokaut, kiritish
	Bugʻdoy (<i>Triticum aestivum</i>)	mlo	nokaut

XULOSA

TALEN va CRISPR/Cas9 tizimlarini yaratish genom muxandisligining rivojlanishida muhim bosqichlardan hisoblanadi. Bu tizimlarning yaratilishi, ularning arzon va sodda tuzilishi fundamental va shu qatorda amaliy fanlarning rivojlanishiga kuchli turtki berdi. Bu texnologiyalarni oziq-ovqat, qishloq xoʻjaligi va tibbiyot kabi turli sohalarda qoʻllanilishi haqiqatdan ham hayratlanarli yutuqlarga sabab boʻlmoqda.

Ammo hozirgacha ularning qoʻllanilishi boʻyicha spesifik va havfsizligiga bogʻliq (nojoʻya taʼsirlari ehtimolligi tufayli) bir necha muammolar ochiqligicha qolmoqda, masalan, davolashda qoʻllash uchun organizmga qanday kiritish mumkinligi va ushbu tizimlardan qaysi biri samarali va havfsiz degan savollar hanuzgacha ochiqligicha qolmoqda.

CRISPR/Cas9 texnologiyasi ZFN va TALEN usullariga nisbatan bir qancha afzalliklarga ega, yaʼni uni yaratish bir muncha oson va yuqori samarador boʻlib, turli xujayra liniyalari va organizmlari genomlarida yuqori ishlab chiqarish va koʻp tarmoqli tahrirlash imkoniyatiga ega.

Dlya pereorientatsii na novuyu mishen nujno tolko pomenyat 20-nukleo-tidnuyu napravlyayushuyu posledovatelnost sgrnA. Prichem cas9 vnosit razryv strogo mejdu 17-m i 18-m nukleotidami v selevoy posledovatelnosti (schitaya ot 5'-konsa speysera), t.ye. na rasstoyanii trex nukleotidov ot RAM. A odnovremennoe redaktirova-nie neskolkix genov znachitelno uproshaetsya vvedeniem kombinatsii sgrnA. Ispolzovanie nikazy i modifikatsiya konstruksii sgrnA dlya bolee tochnogo uznvaniya misheni v genome pozvolyaet izbejat nejelatelnyx netselevykh effektov.

Bugungi kunda texnologiyalarning qaysi birini qoʻllash kerakligi boʻyicha aniq javoblar mavjud emas. Bu texnologiyalarni juda yaxshi tushinib baholash uchun ularni oʻz afzalliklariga ega kichik detallarigacha bir-biriga solishtirib oʻrganish talab

etiladi. Shunda ham bu savollarga universal javob topish imkoni bo‘ladi deyish qiyin hamda har bir konkret jarayon uchun turli hil variantlarni qo‘llash va ularning ichidan maqsad muvofiqlarini tanlab olish kerak bo‘ladi.

Tandem
Xanthomonas
Domenlarining
Genom lokuslari
Nukleotid tripletini
Plyuripotent
Kodirlaydi
Ektopik
Lentivirusli
Ximerik

Mavzular bo‘yicha tuzilgan savollar ro‘yhati.

1. Gen muxandisligi tarixi to‘g‘risida nimalarni bilasiz?
2. DNK, RNK va oqsillarning o‘zaro faolligi to‘g‘risida nimalarni bilasiz?
3. Genomni tahrir qilish imkonini beruvchi qanaqa texnologiyalar mavjud?
4. Transgenez nima?
5. Zinc Finger qanaqa texnologiya?
6. TALEN texnologiyasi to‘g‘risida nimalarni bilasiz?
7. TALEN texnologiyasining ishlash mexanizmi qanaqa?
8. CRISPR qanaqa texnologiya?
9. CRISPR texnologiyasining ishlash mexanizmi qanaqa?
10. Genomni tahrir qilish texnologiyalarining afzallik va kamchiliklari nimaladan iborat?
11. Domen, manomer nima?
12. Genomni tahrir qilish texnologiyalarini qaysi sohalarda qo‘llash mumkin?
13. Qanaqa model organizmlarni bilasiz? Nega model organizmlar deyiladi?
14. Sun‘iy tuzilgan genom konstruksiyalarini organizmga kiritishning qanday usullarini bilasiz?
15. Hozirgi kunda dunyo ilm-fanida genomni tahrir qilish texnologiyalari asosida qanaqa tadqiqotlar amalga oshirilmoqda (oshirilgan), nimalarga erishilmoqda va bu haqda ommaning fikri qanaqa?

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

1. Capecchi M.R. // Nat. Rev. Genet. 2005. V. 6. № 6. P. 507–512.
2. Kim Y.G., Cha J., Chandrasegaran S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. № 3. P. 1156–1160.
3. Bibikova M., Golic M., Golic K.G., Carroll D. // Genetics. 2002. V. 161. № 3. P. 1169–1175.
4. Townsend J.A., Wright D.A., Winfrei R.J., Fu F., Maeder M.L., Joung J.K., Voytas D.F. // Nature. 2009. V. 459. № 7245. P. 442–445.
5. Zhang F., Maeder M.L., Unger-Wallace E., Hoshaw J.P., Reyon D., Christian M., Li X., Pierick c.J., Dobbs D., Peterson t., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. № 26. P. 12028–12033.
6. Torikai H., Reik A., Liu P.Q., Zhou Y., Zhang L., Maiti S., Huls H., Miller J.C., Kebriaei P., Rabinovitch B., et al. // Blood. 2012. V. 119. № 24. P. 5697–5705.
7. Provani E., Genovese P., Lombardo A., Magnani Z., Liu P.Q., Reik A., Chu V., Paschon D.E., Zhang L., Kuball J., et al. // Nat. Med. 2012. V. 18. № 5. P. 807–815.
8. Lombardo A., Cesana D., Genovese P., Di Stefano B., Provani E., Colombo D.F., Neri M., Magnani Z., Cantore A., Lo Riso P., et al. // Nat. Methods. 2011. V. 8. № 10. P. 861–869.
9. Becker M. // Nat. Methods. 2012. V. 9. № 1. P. 1.
10. Schornack S., Meyer A., Rumer P., Jordan T., Lahaye t. // J. Plant Physiol. 2006. V. 163. № 3. P. 256–272.
11. Romer P., Hahn S., Jordan T., Strauss T., Bonas U., Lahaye T. // Science. 2007. V. 318. № 5850. P. 645–648.
12. Boch J., Scholze H., Schornack S., Landgraf A., Hahn S., Kay S., Lahaye T., Nickstandt A., Bonas U., et al. // Science. 2009. V. 326. № 5959. P. 1509–1512.
13. Moscou M.J., Bogdanove A.J. // Science. 2009. V. 326. № 5959. P. 1501.
14. Lamb B.M., Mercer A.c., Barbas c.F. // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. № 21. P. 9779–9785.
15. Christian M., Cermak T., Doyle E.L., Schmidt C., Zhang F., Hummel A., Bogdanove A.J., Voytas D.F. // Genetics. 2010. V. 186. № 2. P. 757–761.

12. Mavzu. ODAM GENOMI

Reja:

1. Odam genomining tuzilishi.
2. Xalqaro “Odam genomi” loyihasi haqida.
3. Odam genomini o'rganishning ahamiyati.

Odam genomi – bu odam organizmi to‘qima hujayralarida mavjud bo‘lgan irsiy (genetik) material umumiy yig‘indisi hisoblanadi. Odam genomi hujayra yadrosi va shuningek, mitoxondriyalar tarkibida joylashgan 23 juft xromosomalardan tashkil topgan. Bunda xromosomalarning 22 jufti autosomal va bir jufti jinsiy xromosomalardan (*X* va *Y* xromosomalari) tashkil topgan.

Odamning xar bir somatik xujayra yadrosida 23 juft xromosoma bo‘lib: xar bir xromosomada bir molekula DNK joylashadi. Odamda bitta xujayradagi 46 molekula DNK uzunligi taxminan 2 metr, nukleotid juftlari soni 6,4 mlrd. Odam tanasidagi hamma xujayralar umumiy DNK uzunligi (taxminan ular 5×10^{13}) 10^{11} km ni tashkil etadi, bu qarib yerdan quyoshgacha bo‘lgan masofadan 1000 marta ko‘proqdir. Odamda genlarning soni 30 ming dan 40 ming oralig‘ida.

Odam genomi loyihasi bo‘yicha amalga oshirilgan tadqiqotlar davomida odam genomi tarkibida 20 000 – 25 000 faol holatdagi genlar aniqlangan.

Odam genomi tarkibida 28 000 atrofidagi genlar tavsiflangan.

Irsiyat va o‘zgaruvchanlikni muayyan genetik apparat faoliyati taminlaydi. Hozirgi davrda genetik apparat tuzilishi 3 bosqichga ajratiladi: gen, xromosoma va genom.

Genomning tuzilishi va faoliyatining asosiy prinsiplari to‘liq DNK molekulasi xususiyatlari bilan belgilanadi.

Xromasomalarda genlar bir tekis joylashmagan.

Xar bir xromosoma ko‘p va kam gen uchastkalaridan tashkil topgan.

Odam genomidagi genlar boshqa oddiy organizmlarga qaraganda ancha ko‘proq. Buning sababi odam genomida alternativ splaysing keng tarqalganligi.

Alternativ splaysing bu bir gen bir qancha mRNK va shunga muvofiq oqsillar ishlab chiqarish jarayoni. Eukariot genomida ko‘pchilik genlar ekzon va intronlardan tashkil topgan. Transkripsiyadan keyingi splaysing jarayonida pre-mRNKdan intronlar kesib tashlanadi.

Transkript oxirgi tarkibida ekzon o‘chishi va yonishi mumkin. Shunday qilib alternativ splaysing yordamida ko‘p miqdorda ttranskript va oqsillarni olish mumkin. Splaysingning turli saytlari birlashishi yordamida induvidual genlarning ko‘p miqdorda mRNK ekspressiya qilishi mumkin, ular ko‘plab antagonistik funksiyali oqsillarni kodlaydi. Bir turdagi ekzon splaysingda alternativ yo‘li bilan intronga aylanishi mumkin. Splaysingning xar xil turlari bir xil oqsillarda turli xil izoformlar hosil bo‘lishiga olib kelishi mumkin. Masalan troponin geni(muskuil oqsili) 18 ta ekzondan iborat , ular ko‘p sondagi izoformlarni kodlaydi. Turli troponin izoformlar turli to‘qimalarda va turli rivojlanish bosqichlarida hosil bo‘ladi.

Oqsil kodlovchi ketma-ketliklar (ekzonlardan tashkil topgan ketma-ketlik) ular genomning 1,5% dan kamrog‘ini tashkil etadi.

Odam genomi tarkibida oqsillarni kodlovchi genlardan tashqari minglab RNK-genlar bor. Bularga tRNK, rRNK, mikroRNK vaboshqa oqsil kodlamaydigan RNK ketma-ketliklar kiradi.

Odam genomida ko‘p miqdorda turli xil ketma-ketliklar topilgan, ular genlar regulyatsiyasiga javob beradi. Regulyatsiya deganda gen ekspressiyasi nazorati tushuniladi (DNK molekulasi uchastkasidan mRNK hosil bo‘lishi). Normal holatda

bu qisqa ketma-ketliklar gen bilan bir qatorda, gohida gen ichida joylashadi. Ba'zan ular gendan ma'lum masofada joylashadi (enxanserlar).

Ma'lum regulyator ketma-ketliklarni xisobga olmaganda odam genomida ko'p miqdorda ob'ektlar massasi bor, lekin ularning vazifasi shu kungacha aniqlanmagan. Odam genomining 97% xajmini shu ob'ektlar egallaydi.

Bu ob'ektlarga:

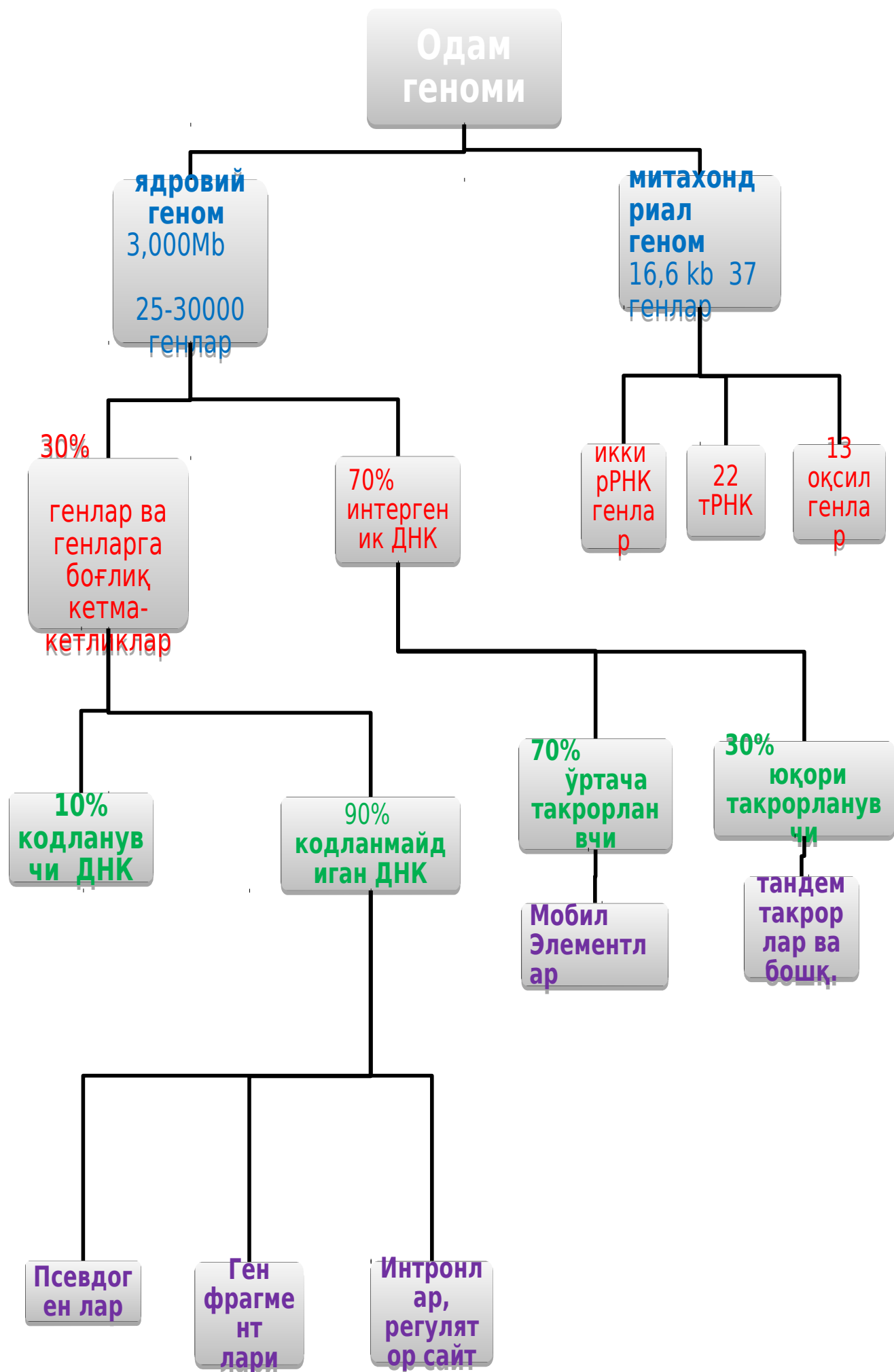
- Takrorlar;
 - Tandem takrorlar
 - satellit DNK
 - minisatellitlar
 - mikrosatellitlar
- Dispejir takrorlar
 - Sine (short interspersed nuclear element)
 - Line (long interspersed nuclear element)
- Transpozonlar
- Retrotranspozonlar
 - [LTR](#)- (long terminal repeat)
 - [Ty1-copia](#)
 - [Ty3gypsy](#)
 - Ne LTR-ы
- DNK transpozonlar
- psevdogenlar

Tandem takrorlar - DNK fragmentidagi takrorlanuvchi ketma-ketliklar. O'lchamiga qarab uch sinfga bo'linadi: satellit DNK, minisatellitlar va mikrosatellitlar.

Satellit DNK – Eukariot organizmlar genomiga tegishli bo'lgan komponent, tandem tuzilishdagi takror nukleotid ketma-ketliklaridan tashkil topgan. Satellit DNK oqsil kodlamaydi va xromosomaning geteroxromatinida joylashgan. Satellit DNK xromosomaning telomer va sentromer sohalari uchun xarakterli.

Oldiniga “satellit dnk” termini eukariotik genomning ultrasentrifuga gradienti yordamida ajralgan qismi hisoblangan. AT/GS miqdori va tarkibi bo'yicha DNK ning asosiy massasidan farqlanishi kerak. Satellit DNK. Ko'p takrorlanuvchi satellit nukleotid ketma-ketligi uzunligi 100 ming dan 1 mln nukleotidlardan tashkil topgan. Takrorlanuvchi ketma-ketliklar 100 juft asosdan tashkil topgan. Odamda satellit alfoid DNK hamma xromosomalarning sentromerlarida joylashgan. Bitta takror uzunligi 171juft asosdan tashkil topgan, xar bir xromosomadagi takrorlanuvchi xududlar o'lchami 3-5% ga yaqin. Satellitlarning katta qismi odamlarda va boshqa organizmlarda sentromerada joylashgan. Minisatellitlar. 7 tadan 100tagacha nukleotid

uzunliklardan tashkil topgan DNK fragmentidagi takrorlar. Ular odam genomida 1000dan ortiq joylarda uchraydi. DNK daktiloskopiya gibrizidatsiya tekshiruvlari uchun , ma'lum populyatsiyani aniqlash bo'yicha populyatsion – genetik tekshiruvlarda qarindoshlikni aniqlashda xuddi molekular markerlar singari foydalaniladi. Odam va boshqa sut emizuvchi organizmlar telomerida tandem takrorlar GGGTTA ketma-ketlikdan tashkil topgan. Mikrosatellitlar (yoki oddiy qisqa tandem takrorlar)- DNKdagi 1- 6 juft asos uzunlikdagi takrorlanuvchi fragmentlar. Mikrosatellitlar nukleotidlar ketma-ketligini yuqori tezlikda o'zgarishi bilan tavsiflanadi, DNK replikatsiyasi va nuqtali mutatsiyada ko'chib o'tadi. Mikrosatellitlar minisatellitlar kabi populyatsion genetik tekshiruvlarda molekular markerlar singari foydalaniladi. Transpozonlar –organizmda uchraydigan DNK qismi bo'lib,o'z joyini o'zgartirish qobiliyatiga ega. Ular genom doirasidagina ko'payaa oladi. Transpozonlar “sakrovchi genlar” nomi bilan mashhur, ular genetik mobil elementlarning bir vakili hisoblanadi. Transpozonlar genomning kodlanmaydigan qismiga kiradi. DNK nukleotidlar ketma-ketligi asosida oqsil tarkibidagi aminokislotalar ketma-ketligi haqidagi informatsiyani tashimaydi. Shunga qaramay mobil elementlarning bir qancha sinflari tarkibida fermentlar ketma-yetligi haqidagi ma'lumot bo'ladi. Bu fermentlar transpozon xarakatlanishini transkripsiya va katalizatsiya qiladi. Masalan, DNK transpozonlar vva DDP1 - transpozaza , BORS1 va BORS2 fermentlarini kodlaydi. Xar xil organizmlarda transpozonlar turli xil darajada tarqalgan. Masalan, odamlarda transpozonlar DNK ketma-ketligining 45% ni tashkil qiladi. Drozofil meva pashshasida transpozonlar butun genomning 15-20% ni tashkil qiladi. O'simliklarda transpozonlar genomning asosiy qismini egallaydi. Makkajo'xorida transpozonlar butun genomning 85% ni tashkil qiladi. 2012 yilda 96 ta odam kasalliklari ro'yxatga olingan. Buning sababi genetik mobil elementlarning de novo kirishi natijasidir. Alu – takrorlar xromosoma aberratsiyasini keltirib chiqaradi. Mana shu xromosom aberratsiyasi natijasida 50 dan ortiq kasalliklar kelib chiqishiga sabab bo'ladi.



Psevdogenlar – struktur genlarning funktsiya bajarmaydigan analogi hisoblanadi. Oqsillarni kodlash qobiliyatini yo‘qotgan va xujayroda ekspressiya bo‘lmaydi. Psevdogen oddiy funksional genlardan kelib chiqqan, mutatsiya natijasida ekspressiya qobiliyatini yo‘qotgan (stop kodonlarning paydo bo‘lishi, o‘qish doirasining siljishi va shu kabilar).

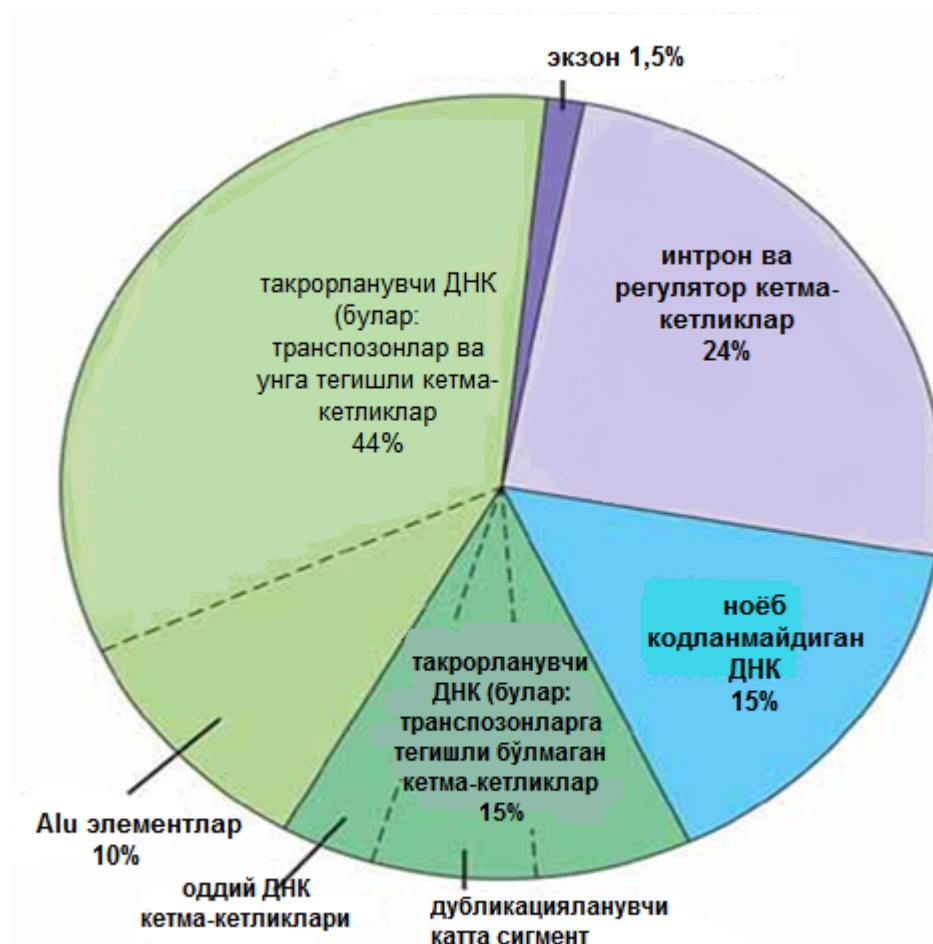
Retropsevdogenlarning soni o‘rtacha miqdorda funksional genlardan ko‘proq.

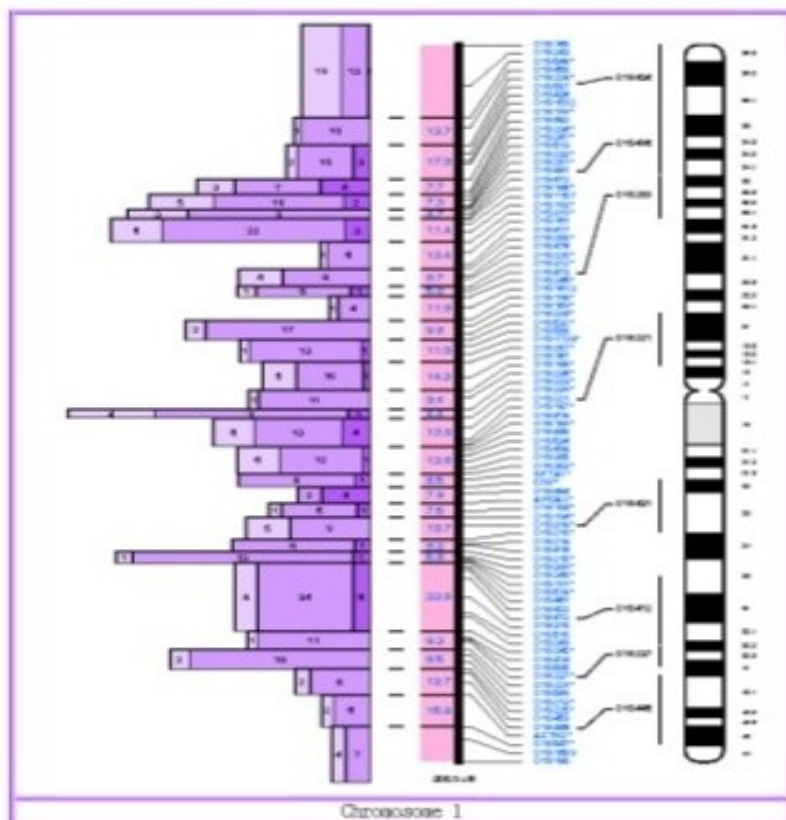
Viruslar - odam genomining 1% ga yaqini retroviruslardir (endogen retroviruslar). Bu genlar odatda egasiga foyda keltirmaydi, ba’zi xolatlarda istisno bo‘lishi mumkin. Maslan, 43 million yil oldin odam va maymunlar ajdodlari genomida retrovirus genlari paydo bo‘lgan, ular virus qobig‘ining hosil bo‘lishida xizmat qilgan. Odamlarda va maymunlarda bu genlar yo‘ldosh(plasenta) ishlashida qatnashadi. Ko‘p miqdordagi retroviruslar odam ajdodlari genomiga 25 million yillar oldin ko‘chib o‘tgan.

ODAM GENOMI STRUKTURASI

ЭКЗОН-1,5%

**мобил
элементлар
~50%**





ODAM 1-XROMOSOMASINING GENETIK XARITASI

Odam genomini o'rganish bo'yicha ilmiy tadqiqotlar – ya'ni, odam genomini xaritasini tuzib chiqish ishlari AQSh da 1984–yilda rejalashtirilgan.

20 asrning 70 yillari boshlarigacha odam genetik kartalari tuzish juda sekin darajada rivojlangan. Odamning birinchi geni (rangni ajrata olmaslik geni) 1911 yilda X-xromosomasida kartalashtirilgan. Birinchi Autosom geni 1968 yilda kartalashtirilgan. 1973 yilga kelib odam xromosomasida 64 ta gen kartalashtirilgan. 1994 yilda esa 5000 struktur genlar va 60000 dan ziyod DNK marker ketma-ketliklari kartalashtirilgan.

1996 yilga kelib qisqa tandem dinukleotid ketma-ketliklaridan tashkil topgan yuqori informativ polimorf xududlar 5264 analizi asosida odam genomining to'liq xaritasi yuzaga keldi; bu genetik markerlardan 2032 tasining o'rni aniqlandi va ular orasidagi o'rtacha masofa 1,6 sM ni tashkil etdi.

kDNK minglab fragmenti nukleotidlar ketma-ketligi aniqlandi, DNK ketma – ketligini kompyuterda izlash imkoniyati ochildi va oqsil molekulasidagi aminokislota ketma-ketligi aniqlandi.

Kompyuter algoritmi asosida genlarning soni aniqlangan, bu aniqlangan genlarning odam genomida oqsillarni kodlaydi. Xalqaro konsorsium 31780ta oqsil kodlovchi genlarni aniqlagan, selera Genomiks firmasi esa 39114ta genlarni aniqlagan.

1988– yilda AQShda odam genomini struktursining sekvenirlanishi yo'nalishida izlanishlar boshlangan. 1990–yilda Halqaro loyiha J.Uotson rahbarligida

keng miqyosda amalga oshirila boshlangan. Shuningdek, bu yo‘nalishdagi tadqiqotlarga 1988–yilda akademik A.A.Baev (Rossiya) ham jalb qilingan.

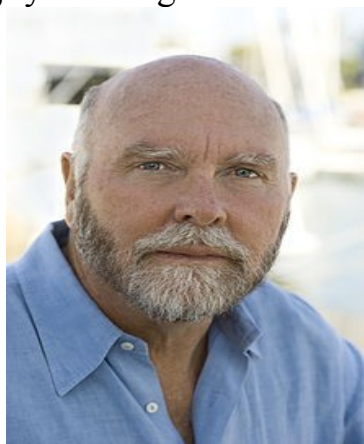
1990–yilda odam genomini o‘rganish bo‘yicha Halqaro tashkilot (HUGO) tashkil qilingan va unga akademik A.D.Mirzabekov rahbarlik qilishi belgilangan.

1990–yillarda odam genomini o‘rganish yo‘nalishida Halqaro loyiha bo‘yicha ilmiy tadqiqotlar uchun 60 000 000 AQSh dollari qiymatida mablag‘ sarflangan, shuningdek 1996–1999 yillar davomida AQShda bu yo‘nalishda har yili 200 000 000 – 250 000 000 AQSh dollari sarflanganligi qayd qilinadi.

«Odam genomi» loyihasi (*The Human Genome Project*) – odam genomining to‘liq holatda nukleotidlar ketma – ketligini aniqlash maqsadida 1990–yilda boshlangan. Bu yo‘nalishdagi asosiy ilmiy tadqiqotlar AQSh, Angliya, Kanada davlatlari olimlari tomonidan amalga oshirilishi qayd qilinadi. Turli davlat qatnashchilari odam genomini o‘rganish uchun 23 juft xromosomalarning hammasini o‘zaro bo‘lib oldilar.

Ish tahminan 2005yil, 15 yilda tugatildi

1998 – yilda AQShda [Kreyg Venter](#) tomonidan odam genomi strukturasi bo‘yicha olingan ma’lumotlarni patentlash g‘oyasi ilgari surilgan, biroq 2000–yilda AQSh hukumati tomonidan bu yo‘nalishda olingan ilmiy tadqiqotlar natijalari oshkoralik tavsifga ega bo‘lishi va hamma uchun foydalanish qulayligi ta’minlanishi maqsadga muvofiqligi qayd qilingan. Shu sababli, hozirgi vaqtda Internet tarmoqlarida «UCSC Genome Browser» kabi odam genomi haqidagi ma’lumotlar joylashtirilgan brauzerlar funktsiya bajarishi tashkil qilingan.



Dj. Venter

Genomni o‘qish yildan yilga o‘tib baraverdi. Agar dunyo bo‘ylab birinchi yil bir necha million nukleotid jufti o‘qilgan bo‘lsa, 1999 yil shaxsiy amerika«Celera» firmasi Dj.Venter boshchiligida 10mln. nukleotid juftini bir sutkada rasshifrovka (aniqladi) qildi.

Xalqaro dasturning asosiy maqsadi odam genomdagi barcha genom DNK nukleotid ketma-ketligini aniqlash, genlarni identifikatsiya qilish va genlarning joylashgan o‘rnini aniqlash(kartalashtirish).

“Odam genomi“ dasturi asosiy vazifalari quyidagi bosqichlarni o‘z ichiga oladi:

-Birinchii bosqichda o'rtacha 2 mln.dan ortiq bo'lmagan asoslarning (1mln asos 1 megabaza-1Mb ga teng, base-asos inglizchadan olingan) batafsil genetik xaritasini tuzish va genlar orasidagi masofani belgilashni tamomlash.

-Ikkinchi bosqichda har bir xromosomaning qisqacha taxminiy fiziologik xaritasini tuzish.(0,1Mb o'lchamli).

-Uchinchi bosqichda alohida klon bo'yicha xarakterlanagan butun genomning yuqori aniqlikdagi fiziologik kartasini olish(klon 5 Kb ni o'z ichiga oladi).

-To'rtinchi bosqichda odam genomi umumiy DNK sining to'liq birlamchi strukturasi (cekvensini) aniqlanishga ajratilgan. (1 asos o'lchamda)

-Beshinchi bosqich oxirgi bosqich topilgan nukleotidlar ketma-ketligi asosida organizmdagi hamma genlarning joylashgan o'rni va ularning funksional ahamiyatini aniqlash.

«Odam genomi» loyihasi (The Human Genome Project) bo'yicha ilmiy tadqiqotlar natijalari dunyoning yetakchi ilmiy jurnallarida nashr qilingan. The Human Genome Project natijalari yakunida ishlab chiqilgan odam genomi strukturasi qog'oz varianti London muzeyida saqlanadi.

Boshqa eukariot organizmlar genomiga taqqoslaganda odamda genomida immun tizimiga javob beruvchi genlar keng tarqalgan, nerv tizimimni rivojlantiruvchi faktorlar, mielin oqsillari, signal molekulalari, potensial boshqariluvchi ion kanallar va sinaptik retseptorlar oqsili, sitoskletning tuzilishida vezikulalar xarakatida, xujayra ichki va tashqi signalizatsiyasi taminlanishida gomeostazni rag'batlantiruvchi tizimlar yaxshi rivojlangan. Odamda juda katta miqdorda genlar transkripsiyada va translyatsiyada ishtirok etadi. Shu 2000 genlarning ichida 900 tasi oqsillar oilasiga mansub ularning tarkibida rux barmoqlari saqlaydi.

Odam genomi 28000 nukleotid juftlaridan iborat bo'lib shundan 8 ekzon, uni kodlovchi 1340 ketma-ketlik nukleotid juftlaridan iborat. Bu gen 447 ta aminokislota kodlaydi.

Odam genomidagi eng katta genom- muskul oqsili geni bo'lib distrofin(2,4 * 106 n. j.) tashkil topgan. Sklet muskullarining egiluvchanligini susaytirishiga javobgar bo'lgan fibrilyar oqsili titin, u 27000 aminokislota qoldig'idan iborat. Uning geni 234 ekzondan iborat. Odam genomidagi oqsil kodlovchi genlarning ichida titin oqsilini kodlovchi genda eng ko'p ekzonlar topilgan. Odam genomi eukariot organizmlar ichida eng murakkabi hisoblanadi. DNKning ketma-ketligi bir turdan ko'proq mRNKlarni kodlashi mumkin.

ОРГАНИЗМЛАРДА ГЕНОМЛАРНИНГ СОЛИШТИРМА ЎЛЧАМЛАРИ

ОРГАНИЗМЛАР	Ўлчами (bp)	генлар сони	ўртача ген зичлиги	хромосомалар сони
<i>Homo sapiens</i> (одам)	3.2 млрд	~25,000	1 gene / 100,000 bases	46
<i>Mus musculus</i> (сичқон)	2.6 млрд	~25,000	1 gene / 100,000 bases	40
<i>Drosophila melanogaster</i> (дрозофила мева пашшаси)	137млн	13,000	1 gene / 9,000 bases	8
<i>Arabidopsis thaliana</i> (ўсимлик)	100 млн	25,000	1 gene / 4000 bases	10
<i>Caenorhabditis elegans</i> (аскарида)	97млн	19,000	1 gene / 5000 bases	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ачитқи)	12.1млн	6000	1 gene / 2000 bases	32
<i>Escherichia coli</i> (бактерия)	4.6 млн	3200	1 gene / 1400 bases	1
<i>H. influenzae</i> (бактерия)	1.8 млн	1700	1 gene / 1000 bases	1

Odam genomini o‘rganish – bevosita genlarning funksiyasiga aniqlik kiritish va turli xil kasalliklarni gen terapiya usulida davolash uslublarini ishlab chiqish imkoni beradi. Masalan, 2008–yilda odam organizmida hayot kechiruvchi mikroflora tur tarkibini o‘rganishga qaratilgan – «Odam mikrobiomi» (NMR) Halqaro loyihasi ishlab chiqilgan va bu yo‘nalishdagi ishlar davom ettirilmoqda. Aynan, «mikrobiom» atamasi 2001–yilda odam organizmida hayot kechiruvchi mikroorganizmlar genomini tavsiflash maqsadida fanga kiritilgan. Jumladan, hozirgi vaqtda odam organizmida ovqat hazm qilish tizimida hayot kechiruvchi mikroflora genomini o‘rganish bo‘yicha yirik ilmiy markaz sifatida – «MetaHIT» Yevropa konsorsiumi faoliyat olib bormoqda.

Odam genomini o‘rganish molekular tibbiyotda irsiy va irsiylanmaydigan kasalliklarni diagnostika, davolvsh va profilaktikasi uchun katta ahamiyat kasb etadi.

Odam genomini o‘rganishning ahamiyati shundan iboratki tibbiyot nuqtai nazaridan eng muhim bo‘lgan yomon sifatli o‘smalar, gipertoniya va ateroskleroz kabi kasalliklarni irsiylanishi uchun ma’sul genlarni aniqlash.

Odam genomi nukleotidlari ketma–ketliklarini o‘rganish yo‘anlishida amalga oshiriluvchi ilmiy tadqiqotlar asosida, turli xil kasalliklar, jumladan irsiy kasalliklarning genetik asosini aniqlash va amaliy nuqtai nazardan, gen terapiya usullarini ishlab chiqish imkoni tug‘iladi.

Foydalanilgan adabiyotlar

- A. A. Baev. Itogi Nauki i tekhniki. Genom Cheloveka. VINITI. c 4 (1990).
- V. S. Baranov. Gennaya terapiya — meditsina XXI veka. Sorosovskiy Obrazovat. Jurnal №3, 1 (1999).
- V. S. Baranov. Programma «Genom cheloveka» kak nauchnaya osnova profilakticheskoy meditsiny. Vestn. Ros. Akad. Med. Nauk b **10** 27 (2000).
- V. N. Gorbunova, V. S. Baranov. Vvedenie v molekularnuyu diagnostiku i genoterapiyu nasledstvennykh zabolevaniy. SP «Spesialnaya literatura» 287 (1997).
- V. I. Ivanov, B. G. Yudin. Etiko–pravovye aspekty programmy «Genom cheloveka». M. 189 (1998).
- V. P. Puzыrev, V. A. Stepanov. *Patologicheskaya anatomiya genoma cheloveka* (Novosibirsk: «Nauka») 223 (1997).
- Kiselev L.L. *Genom cheloveka i biologiya XXI veka*. – Vestnik Rossiyskoy AN, 2000, t. 20, № 5
- Yankovskiy N.K. *GenEtika: chto zabit Yevropu, a chto Rossiyu*. – Ximiya i jizn, 2000, № 8
- Mikroflora pishchevaritelnogo trakta / Pod red. A.I.Xavkina. – M.: «Fond sotsialnoy pediatrii», 2006. – 416 s.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001). [Initial sequencing and analysis of the human genome](#). Nature 409: 860-921.
- Venter, JC, et al (2001). «The sequence of the human genome. Science 291: 1304-1351.
- IHGSC (2004). [Finishing the euchromatic sequence of the human genome](#). Nature 431: 931-945.
- Fiers W, Contreres R, Duerinck F, Haegeman G, Iserentant D, Merregaert J, Min Jou W, Molemans F, Raeymaekers A, Van den Berghe A, Volckaert G, Ysebaert M. Complete nucleotide sequence of bacteriophage MS2 RNA: primary and [secondary structure](#) of the replicase gene, Nature. 1976 Apr 8;260(5551):500-7.
- Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, Hutchison CA, Slocombe PM, Smith M., Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA, Nature. 1977 Feb 24;265(5596):687-95

15-MAVZU: TIBBIYOT VA FARMASEVTIKA UCHUN IKKILAMCHI SINTEZ MODDALARI OLISH

Reja:

1. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus xujayralari kulturas
2. *In vitro* kallus hujayralarining ikkilamchi metabolitlar sintezi
3. Ikkilamchi sintez moddalarning kultural suspenziyalari o‘stirish

Tayanch so‘zlar: hujayra biomassasi, hujayralar suspenziyasi, fermenter, ikkilamchi metabolitlar.

1. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus xujayralari kulturas.

O‘simlikdan alohida ajratilgan hujayralarni *in vitro* sharoitida subkulturalash usullari mavjud bo‘lib, bu usullar yordamida olingan kallus to‘qimalaridan nazariy izlanishlar uchun, shuningdek amaliy qo‘llash uchun ham foydalaniladi. Ajratilgan hujayra, to‘qima va organlarning ikkilamchi metabolism moddalarni sintezlash xususiyati muhim ahamiyat kasb etadi. Ulardan tibbiyot, o‘simliklar himoyasi, veterinariya, ozuqa yem ishlab chiqarish, oziqa-ovqat sanoati, parfyumeriya uchun zarur moddalar ishlab chiqarishda foydalanish mumkin. Bu yo‘nalishdagi ishlarga tadqiqotchilarning qiziqishi tasodif emas, chunki fiziologik faol moddalar olish uchun hujayralar biotexnologiyasining ana’anaviy tarzda o‘simliklar xom-ashyosi olishga nisbatan: 1) hujayra biomassasini olish mavsumga, iqlim va tuproq sharoitlariga bog‘liq emas; 2) zarur miqdorda kerakli moddalarni sintezlab beruvchi hujayralar suspenziyasini kulturlashning sharoitini optimallashtirish imkoniyatining mavjudligi; 3) jarayonni avtomatlashtirish mumkinligi kabi bir qancha ustunlik tomonlari bor.

2. *In vitro* kallus hujayralarining ikkilamchi metabolitlar sintezi. **In vitro kulturalanilayotgan kallus hujayralaring intakt o'simlik hujayralari kabi ikkilamchi metabolitlar sintez qilishi aniqlangan. Shuningdek, miqdor va sifat jixatidan ular o'xshash bo'lishi mumkin. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlarni sintezlovchi, turli oilalarga mansub o'simliklar hujayralari kulturasini katta to'plami yig'ilgan. Bulardan uzoq sharq jensheni - diosgeenin manbai sifatida, deltasimon diskoreya - steroid glikozidlar, ilonsimon ravolfiya - aymalinning antiaritmik alkaloidi, steviya - stevoid manbai bo'lib xizmat qiladi. Keyingi vaqtlarda tadqiqotchilarda rezavor tis hujayralarini bioreaktorlarda kulturalashni amalga oshirish katta qiziqish uyg'otmoqda. Aniqlanishicha, bu o'simlikning hujayralari takson-moddalarini sintezlar ekan, bu modda saraton kasalligiga qarshi preparat tayyorlashda ishlatiladi.**

Hujayra biomassasining *in vitro* va *in vivo* sharoitlarda turlicha tezlikda o'sishi tajribalarda aniqlangan. Masalan, 1 yilda jenshen ildizini o'sishi taygada 1 g ni tashkil etsa, plantatsiyalarda esa 3 g. Ildiz hujayralari agarli (*in vitro*) oziqa muhitda o'stirilganda bir kunda 1 l oziqa muhitda 0,4 g quruq massasini olish mumkin. Jenshen hujayrasi suspenziyada o'stirilganda 50 litrli fermenterda bir sutkada bir litr oziqa muhitda 2,0 gr ga yetadi, bu plantatsiyada yetishtirilganiga nisbatan 1000 marta ko'p demakdir. Jenshenning qimmatbaholigini hisobga olib (plantatsiyada yetishtirilgan o'simlikning ildizining 1 kilogrammi 100-150 AQSh dollari, yovvoyi holda o'suvchilarining bahosi bir necha ming AQSh dollari turishi mumkin) uning hujayra kulturasini olishni biotexnologik usuli e'tiborga molikdir. 4.3. jadvalda yuksak o'simliklar hujayra kulturalari sintezlagan ba'zi iqtisodiy muhim mahsulotlar keltirilgan.

3. **Ikkilamchi sintez moddalarning kultural suspenziyalari o'stirish.** Ikkilamchi sintez moddalarning kultural suspenziyalari bioreaktorlarda o'stirish yo'li bilan olinadi. Bioreaktorlar o'zining konstruksiyasi bo'yicha barbatajli bo'ladi, ularni aralashtirish ko'tarilayotgan havo pufaklari hisobiga havo aeratsiyasi orqali va mexanik aralashtirgichni qo'llash orqali amalga oshiriladi.

Tajribalardan aniqlanishiga ikkilamchi metabolitlar hujayra ichidagi organellalarda: plastidlar, xloroplastlar, mitoxondriyalar va mikoplastlarda sintezlanadi, qo'shni xujayrlarga, yoki oziqa muhitga tashilmaydi, hujayrani bo'sh qismi va vokulasi ko'pincha metabolitlarni yig'ishga xizmat qiladi (Knyazkov I. 1996).

Hujayralar in vitro sharoitida o‘stirilganda ikkilamchi moddalarning miqdor va sifat o‘zgarishi oziqa muhit tarkibi bog‘liq. Masalan, jenshen o‘simligi kulturasida oziqa muhitdagi turli shakldagi azotlarning nisbati steroid saponinlarning mahsuldorligiga ta’sir ko‘rsatishi aniqlandi. Demak ammoniyli va nitratli azotning 1:3 nisbati biomassani oshishiga, 2:3 nisbati mahsuldorligiga ta’sir ko‘rsatmadi, ammo diosgenin to‘planishini kamayishiga olib keldi. Oziqa muhitda saxaroza miqdorining oshirilishi (5%) hujayra massasini o‘shishiga, saxaroza miqdori kamaytirilganda esa (1,5 %) diosgeninning mahsuldorligini oshishiga ta’sir ko‘rsatadi (Shatalova 1998).

Bioreaktorlarda hujayralar kulturasini o‘stirish texnologiyasi keng hajmli jarayon hisoblanadi, ya’ni katta hajmdagi bioreaktorlarda hujayralarni o‘stirish sharoiti ishlab chiqiladi. Hozirgi kunda bir necha kubometr hajmli bioreaktorlarda turli hujayralar kulturalarini muvaffaqiyatli masshtablashtirish bo‘yicha yetarli miqdorda ko‘p omillar yig‘ilgan masalan, DJVERSA (hozirgi vaqtda FYTON) nemis firmasi mutaxassislari bir qator o‘simliklar hujayralarini 75000 litrli hajmga ega bo‘lgan bioreaktorlarda o‘stirishga erishganlar.

O‘z – o‘zini nazorat qilish uchun savollar.

1. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus xujayralari kulturasining rli nimadan iborat?

2. In vitro kallus hujayralarining ikkilamchi metabolitlar sintezi qanday amalga oshiriladi?

3. Ikkilamchi sintez moddalarning kultural suspenziyalari o‘stirish sharoitlariga nimalar kiradi?

4. Ikkilamchi metabolitlarga nimalar kiradi?

5. Hujayra biomassasi fermenterlarda qanday ustiriladi?

Tavsiya etiladigan adabiyotlar ruyxati

- 1 Artikova R.M., Murodova S.S. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi Toshkent “Fan va texnologiya” nashriyoti, 2010
- 3 Ashmarin I. Molekularnaya biologiya. Leningrad 1977. – 366 s.
- 4 Beker M.Ye., Liepinush G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya. M.: Agropromizdat, 1990. – 284 s.
- 5 Volova G. Biotexnologiya. Izd-vo otdeleniya Rossiyskoy Akademii nauk. 1999. – 252 s.

4. Mavzu. REKOMBINANT DNK OLIISH TEXNOLOGIYASI

Reja:

- 1. Gen terpiya usullari**
- 2. *Ex vivo* gen terapiyasi**
- 3. *In vivo* gen terapiyasi**

Nazariy qism

Avvallari tibbiyot genetikasi faqatgina bitta muammoni o'rganardi. Bu ham bo'lsa, insonning irsiy kasalliklari kelib chiqish sabablarini aniqlashdir.

Yangi tug'ilgan chaqaloqlarda va homilada irsiy kasalliklarni tashhis (diagnoz) qilish mumkin bo'lgan test-sistemalar ishlab chiqilgan. Diagnostika natijalari bo'yicha oilalarda konsul'tatsiyalar o'tkazilgan. Ba'zida irsiy kasalliklarning og'ir asoratlari mahsus parhez, qon quyish va dori-darmon yordamida kamaytirilgan. Bugungi kunga kelib tibbiyot genetikasi mutahassislari irsiy kasalliklarning nafaqat kelib chiqish sabablarini aniqlash, balki ularni davolash usullarini ham ishlab chiqmoqdalar. Tibbiyot genetikasi sohasidagi tadqiqotlar va erishilgan yutuqlar negizida yangi kontseptsiya – *gen terapiyasi* paydo bo'ldi.

Organizm normal ishlashi uchun bir-biri bilan uzviy bog'liq genlar o'z funktsiyasini to'g'ri bajarishi kerak. Agar genlar ozgina bo'lsada mutatsiyaga uchrasa, buning oqibati juda yomon bo'ladi. Mutatsiya natijasida biron bir ferment faolligi o'zgarsa, hujayrada zaharli substratlar ko'payadi yoki hujayralarga kerakli birikmalar etarlicha etib kelmaydi. Hujayra kerakli birikmalar bilan me'yorida ta'minlanmasa uning faoliyati buziladi. Bu esa o'z navbatida to'qimalar va organlarga salbiy ta'sir qilmasdan qolmaydi. Masalan, inson jigarida fenilalanindegidroksilaza fermenti sintezlanadi. Fenilalanindegidroksilaza - fenilalaninni tirozinga aylanishini katalizlovchi ferment. Fenilalanindegidroksilazani sintezlovchi gen mutatsiyaga uchraganida fenilalanin tirozinga aylanolmaydi. Natijada qonda fenilalanin miqdori oshib ketadi. Qonda fenilalaninni ko'p bo'lishi asab hujayralari (aksonlar) qobig'ini noto'g'ri

shakllanishiga olib keladi. Asab hujayralarining to'g'ri shakllanmagani oqibatida aqliy qoloqlik, zaiflik vujudga keladi. Bu kasallikning nomi – fenilketonuriya. Evropeoid irqiga mansub odamlardan tug'ilgan har 10 000 chaqaloqdan 1 tasida fenilketonuriya uchraydi.

Har bir to'qimaning o'ziga tegishli bo'lgan genlari o'zaro mutanosiblikda ekkpressiyalanadi ya'ni «ishlaydi». Ba'zida shunday mutatsiyalar ro'y beradiki, kasallik deyarli barcha organlar; mushaklar, ko'z, jigar, suyaklar, buyraklar, yurak, nerv sistemasi, teri, miya, oshqozon, ichak sistemasi, qon hosil bo'lish sistemasini shikastlaydi.

Shu boisdan tibbiy-genetik tadqiqotlar o'tkazishdan asosiy maqsad – yuqorida keltirilgani kabi irsiy kasalliklarni davolash usullarini ishlab chiqish.

Jadval №4. Insondagi ayrim monogen kasalliklarni davolash uchun qo'llanilayotgan terapevtik usullar.

«Sog'lom» gendan hosil bo'ladiga n metabolit	Kasallik va uning belgilari	Kasallik ning insonlar da uchrash chastota si	Kasallikni usuli	davolash	Prog noz
Adenozin dezamina za	Og'ir kombinatsiyalangan immuntanqisligi (SCID- severe combined immunodeficiency) T- va V-limfotsitlarni yo'qolishi	1:1 000 000	Suyak transplantatsiya adenozindezaminaza kiritish	iligini qilish;	Kasal lik davol anma sa bemo r 2 yilda n

				so'ng vafot etishi mum kin. Kasal lik davol ansa bemo rning ahvol i yahsh ilanis hi mum kin.
Past zichlikka ega bo'lgan lipoprotei nlar retseptori	Qondagi holesterin miqdorining me'yoridan ko'pligi-giperholesterolemiya, yurak ishemiya hastaligi	1:500 (geterozi gotalar)	Parhez, dori-darmon qabul qilish, jigarni transplantatsiya qilish	Kasal lik davol ansa bemo rning ahvol i yahsh ilanis hi mum

				kin.
Glyukotse rebrozidaz a	Goshe hastaligi, makrofaglarda glyukotserebrozidlar to'planib qoladi va oqibatda jigar, taloq va suyaklar shikastlanadi	1:2 500 (asosan yahudiyl arda uchraydi) Kamdan- kam hollarda boshqa millatlar da uchraydi	Taloq olib tashlanadi, antibiotiklar beriladi, shikastlangan suyaklar davolanadi, suyak iligi transplantatsiya qilinadi, glyukotserebrozidaza fermenti beriladi	Bemo rning ahvol i yahsh ilanis hi mum kin
Qonivishf aktori VIII	Gemofiliya A QonivishfaktoriVIIIo'zgargand aqonningivishmehanizmibuzil adi, surunkaliravishdabo'g'inlargaq onquyulibturadi, jarohatlangantoqimalardanqon oqsa, unito'htatishqiyinbo'ladi	1:10 000 (erkaklar da uchraydi)	Organizmga plazma quyish yordamida qon ivish faktori VIII ni konsentratsiyasini oshirish	Davo lash natija sida bemo r umri uzayi shi mum kin, lekin virusl i infekt siyala r

				bilan kasall anib qolis h ehtim oli bor
Fenilalani ngidroksil aza	Fenilketonuriya Chaqaloqlarqonidafenilalanink onsentratsiyasiniko'pbo'lishi, aqliyqoloqlik	1:10 000	Fenilalanin saqlaydigan mahsulotlardan parhez saqlash	Kasal likka erta tashhi s qo'yil sa va davo anish uzluk siz davo m ettiril sa, bemo r sog'a yib ketish i mum

				kin
α_1 - antitripsin	Emfizema Qon zardobidagi proteazalar ingibitorlarining tanqisligi, o'pkani shikastlanishi, jigar sirrozi	1:3 500	O'rinbosar terapiya; ekologik faktorlarni kamaytirish	Kasal lik sekin roq rivojl anadi
Transme mbranali oqsil, uning buzilishi mukovists idoz kelib chiqishiga sabab bo'ladi	Mukovistsidoz Organlarni birin-ketin shikastlanishi, oshqozonosti bezini yahshi ishlamasligi, ichak va bronhlarda tiqilmalar hosil bo'lishi	1:2 500 (evropeo idlarda)	Antibiotiklar, o'pkani tozalash, quvvatlantiruvchi parhez	Bemo r 20 yoshg acha yasha ydi
Ornitin- transkarba milaza	Giperammoniemiya Mochevinasiklinibuzilishi, ammoniytuzlariniyig'ilibqolish i, arginintanqisligi Kasallikningertarivojlanishich aqaloqtug'ilganidanboshlab 72 soatichidaro'yberadi; chaqaloqdaletargiya, qusish, komavauvafotetadi, agartirikqolsa, miyashikastlanadi Kasallikning kechroq rivojlanadigan turida qusish, letargiya va epilepsiya	1: 40 000	Bemoroqsillgaboymahsul otlardanparhezqiladi, tarkibidaargininko'pbo'lga nmahsulotlarniiste'molqila di, bemorjigaritransplantatsiy aqilinadi. Kasalliknidavolashdadori vositalaridanhamfoydalan iladi	Kasal liknin g kechr oq rivojl anadi gan turi: bemo rning umu miy ahvol

	kuzatiladi			i ancha yahsh ilanis hi mum kin Kasal liknin g erta rivojl anadi gan turi: kasall ik simpt omlar i biroz engill ashad i
Distrofin	Mushak distrofiyasi Holsizlik, madorsizlik	1:7 500 (faqat erkaklard a)	Yahshi ovqatlanish, bemorni nafas olishiga yordam berish, nogironlar aravachasida harakatlantirish	Bemo r umrin i tahmi nan 20

				yoshg acha uzayt irish mum kin
β -globin	O'roqsimon anemiya Surunkali anemiya, bemorda birin-ketin taloq, yurak, buyrak, jigar, miya shikastlanadi	1:500 (afroame rikaliklar da)	Qon quyish, dori-darmon, suyak iligi transplantatsiya, analgetiklar	Simpt omlar biroz engill ashad i; samar ali davl ash usuli mavj ud emas

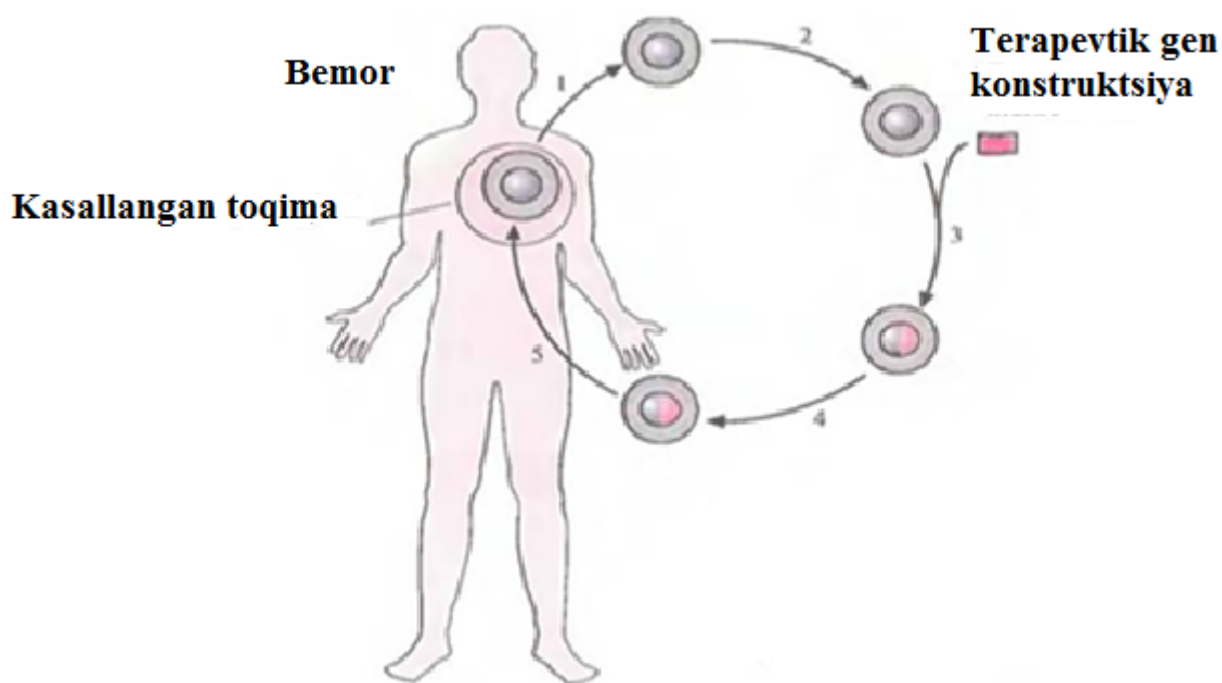
***Ex vivo* gen terapiyasi**

Ex vivo gen terapiyasi bir necha bosqichlarda amalga oshiriladi (rasm.):

1. Bemorning kasallangan hujayralarini ajratib olish.
2. Kasallangan hujayralarga «sog'lom» genlarni kiritib genetik defektni bartaraf etish.
3. Genetik defektlari bartaraf etilgan hujayralarni saralash va o'stirish.
4. O'stirilgan hujayralarni bemor organizmiga infuziya yoki transplantatsiya qilish.

O'stirilgan hujayralar bemor organizmiga infuziya yoki transplantatsiya qilinganda, immun tizimi hujayralarga qarshilik ko'rsatmaydi. Chunki bu hujayralar autologik hujayralardir ya'ni bemorning o'zining organizmidan olingan.

Ex vivo gen terapiyasi samarali bo'lishi uchun kasallangan hujayralarni davolash uchun kiritilayotgan «terapevtik» gen barqaror va uzluksiz «ishlashi» kerak. «Terapevtik» genlarni kasallangan hujayralarga o'tkazishda vektorlardan foydalaniladi. Vektor sifatida sichqonlardan olingan retroviruslardan foydalanish mumkin. Lekin retroviruslarning bir kamchiligi bor - ular bemor oragnizmida havfli o'sma kasalliklarini keltirib chiqarishi mukin.



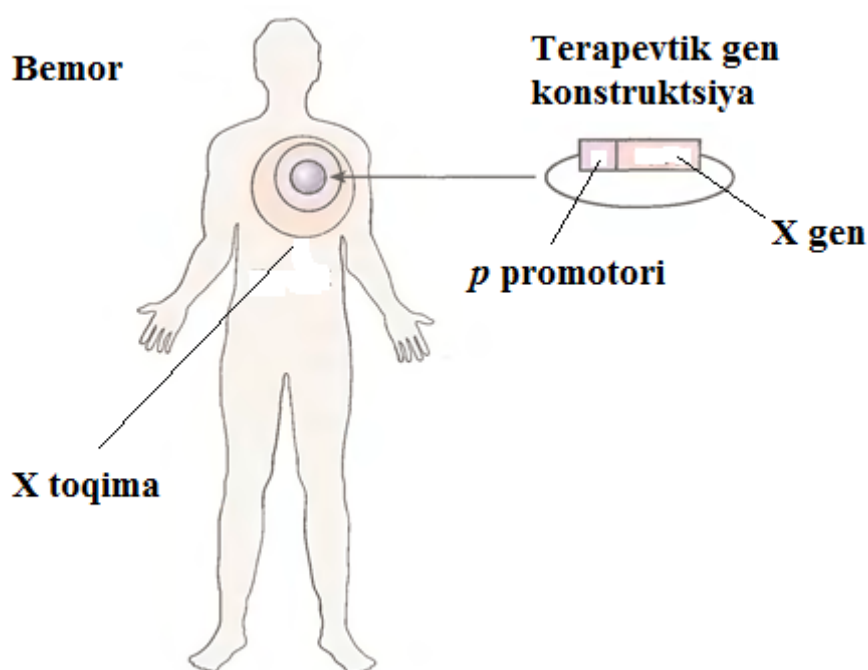
Ex vivo gen terapiyasining shematik ko'rinishi.

***In vivo* gen terapiyasi**

In vivo gen terapiyasi «terapevtik» genni bemorning kasallangan to'qima hujayralariga etkazib berishga asoslanadi. Bunda bemorning kasallangan to'qimasi organizmdan ajratib olinmaydi. «Terapevtik» gen bemor tanasiga retroviruslar yordamida yuboriladi. Retroviruslar faqatgina bo'linayotgan hujayralarga kirib boradi. Biroq to'qima hujayralarining hammasi ham bo'linavermaydi.

Shuni e'tiborga olgan holda olimlar tomonidan virusli va virussiz vektor sistemalar ishlab chiqilgan. «Ideal» vektor sistema quyidagi hususiyatlarga ega bo'lishi shart:

- vektor sistemadagi «terapevtik» gen kasallangan to'qima hujayralari tomonidan yahshiroq yutilishi lozim;
- vektor sistema hujayra yadrosiga kirib borishda hujayrani buzib yubormasligi kerak;
- vektor sistema olib borgan «terapevtik» gen bemor ahvolini yaxshilanishiga kifoya qiladigan darajada ekspressiyalanishi kerak.



rasm.*in vivo* gen terapiyasini shematik ko'rinishi. Klonlangan «terapevtik» gen (Gen X) genetik defektni bartaraf etuvchi oqsilni sintezlaydi. «Terapevtik» gen irsiy kasallikka uchragan bemor tanasiga yuboriladi. «Terapevtik» gen nishon (kasallangan) hujayralarga etib borib, u yerda ekspressiyalanadi. Hujayraga kirgan gen *r* promotori yordamida transkriptsiyalanadi.

GLOSSARIY

Avtonom plazmidlar – asosiy xromosomaga birika olmaydigan va asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o'z – o'zidan replikatsiya qiladigan halqasimon DNK molekulasi.

Avtoklavda strellash – bosim bilan tozalash.

Agrobakterium – (lotincha *Agrobacterium*) o'simliklarni zararlantirishda shish hosil qiladigan tuproq bakterialari.

Agar-agar – ba'zi dengiz o'simliklaridan olinadigan mahsulot: uning tarkibiy qismi uglevodlar qatoriga kiradi. Bu mahsulot mikroorganizmlarga qattiq oziqa muhiti tayyorlashda, qandolatchilikda shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi.

Agaroza – dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaharid: elektroforez va xromotografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.

Agregatsiya – ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi.

Agrobiotsenoz – ekin e qiladigan erlarda yashaydigan organizmlar yig'ndisi.

Adaptatsiya – moslashish, organizmlarning evolyutsiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.

Adenillanish – yo'li bilan fermentlar faolligi o'zgarishining bir turi.

Adenin – azotli organik birikma bo'lib, adenin nukeotidi tarkibiga kiradi.

Azotobakterin – ushbu turga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bacterial o'g'it.

Azotobakteriya – erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.

ATF- makroergin energiya manbai.

Antigen – (*ingl. anti* - qarshi) hujayraga kirganda antitana hosil qiluvchi, organizm uchun yot bo'lgan molukulalar.

Antitana – antigenni neytrallovchi oqsil molekulalari.

Antioksidantlar - tukimalarni yoshartiruvchi modda.

Anaeroblar – kislorodsiz muhitda modda almashinishi va ko'payishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar: faqat anaerob sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar.

Antibiotiklar – mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo`ladigan kiyoviy moddalar: juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharki ta`sir etadi.

Bakteriofaglar – bakteriyalarda parazitlik qiladigan va ularni lizis qiluvchi viruslar.

Biogenez – tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo`lishi.

Biomuxit - tirik organizmlardan iborat bo`lgan muxit.

Biosintez – fermentlar ta`sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarni hosil bo`lishi.

Bioreaktor – biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo`ljallangan sig`im.

Biotexnologiya – tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo`nalishi.

Eksplant – oziqa muhitida inkubatsiya qilinayotgan to`qima yoki organ, yoki kallus to`qimasi olish uchun foydalaniladigan fragmentlar

Elektroforez – molekulalarning elektr maydonida joylashtirilgan maxsus gel ichida kattaligiga ko`ra bir-biridan ajratish usuli.

Eksplant – oziqa muhitida inkubatsiya qilinayotgan to`qima yoki organ , yoki kallus to`qimasi olish uchun foydalaniladigan fragmentlar.

Elektroporatsiya – hujayra membranasida qo`shimcha teshiklarni hosil qilishga yordam beruvchi elektr toki yordamida hujayraga genlarni kiritish usuli.

Endonukleazalar – fosfodiefir bog`larine parchalovchi fermentlar.

Vektor – genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar kichik plazmidlar, viruslar va bakteriofaglar. Sun`iy vektorlar esa DNK – ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNK ni birlashtirish asosida tuziladi.

Vektor konstruksiyasi – biror ahamiyatga ega DNK bo`lagi kiritilgan plasmid, virus yoki ko`chib yuruvchi genetik elementlarning DNK molekulasi.

Viruslar – birorta tirik organizmda rivojlanish xususiyatiga ega bo`lgan, tarkibida nuklein kislotalar, oqsillar, ayrim hollarda lipidlar bo`lgan zarrachalar.

Gaploid – bir organizm turiga xos bo`lgan butun to`plamning yarmi, xromosomalar to`plami bilan harakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.

Gidrolizlanish – suvda erishi.

Gen – bir molekula oqsil sinteziga javobgar bo`lgan DNK bo`lagining bir qismi.

Genlarni klonlash – ko`zlangan DNK bo`lagini vektorlar vositasida ko`paytirish.

Genetik injeneriya - tirik hujayraga yangi genetik struktura kiritish.

Genlar ekspressiyasi- tez va tuxtovsiz genlar.

Genetik kod – nuklein kislotalari molekulalarida ketma – ketlik ko`rinishida yozilgan irsiy axborotning tirik organizmlarga xos yagona tizimi.

Genlar bibliotekasi – butun genomni tutuvchi klonlagan DNK fragmentlari to`plami.

Genotip – organizm tashqi belgi xususiyatlar yig`indisi.

Genom – organizm genlari yig`indisi.

Geterozis – bir-biridan qator xususiyatlari va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyati oshishi.

Gibrid – duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi.

Gormon statusi – ontotogenezida o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati, endogen va ekzogen ta'sirlarga nisbatan hosil bo'lish jarayonlarida gormonlar miqdori va ular orasidagi nisbati.

Destruksiya – moddalarning parchalanishi orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.

Dikaturasiya - fermentlarni kayta tuzilishi.

Didefferensiya – ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanishi.

Differensiyalash – asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.

Immobilizasiya – fermentlar molekulasini buzmasdan uzok vaqtlargacha saklanib turishini ta'minlash.

Inseriya – (ingl. *insertion* - kiritmoq) DNK bo'lagi genomning ma'lum joylariga kirishi.

Induksiya - kuchayish

Inkapsullash - fermentlar yuzasida yupka plenka xosil qilish.

Kinetik – ustiruvchi modda.

Kultivirovanie - ekish, ustirish, parvarish qilish

Kallus tukima- hujayraning bo'linishidan hosil bo'lgan, deyarli ixtisoslashmagan hujayralar massasi.

Klon – bitta hujayradan hosil bo'lgan, irsiy jihatdan o'xshash hujayralar koloniyasi.

Klonal mikroko'payish- Genetik bir-biriga yaqin hujayra va tukimalarni probirkada vegetativ ko'paytirish.

Krossingover- har t xil xromosomalar orasida irsiy belgilarni almashinuvi

Kodon- har bir aminokislotani uchta nukleotidlardan iborat bo'lgan kombinasiyani kodlash.

Kompetensiya – hujayra, to'qimq, organ va organizmning indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilish va rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanishi.

Konsentrsiyalash- Tarkibidagi asosiy moddani miqdorini oshirish.

Ligaza – DNK molekulasi uchlarini bir-biriga ulovchi ferment.

Ligirlash – DNK ning bir zanjiridagi uzulish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bo'g'larining hosil bo'lishi.

Lizogeniya – bakteriofagning bacteria tomonidan nobud qiluvchi.

Marker gen – joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko`rinishga ega gen.

Meristema – faol bo`linayotgan differensiyallanmagan hujayralardan iborat to`qima.

Morfogenez – organ, to`qima, hujayralarning shakllanish jarayoni.
Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.

Modifikasiya - shakli o`zgarishi

Molekulyar genetika – Organizmlar irsiyatining molekulyar asoslarini o`rganuvchi genetika fanining bir bo`limi.

Mutasiya – Organizmlarni kerakli tomonga o`zgartirish.

Monosaharid - Tarkibi bir xil shakar

Metabolizm - yashash sharoiti, modda almashishi.

Prototrof – tormozlovch

Protoplast – hujayra qobig`i maxsus usullar bilan olib tashlangan o`simlik hujayrasi.

Plazmid – xromasomadan tashqarida joylashgan, o`z-o`zini replikatsiya qila oladigan halqali DNK molekulasini.

Pnevmatik aralashtirish – xavo pufakchalari kamayib maxsulotni xajmi oshadi.

Pnevmatik strellash – issiklik bilan tozalash.

Polisaharid – kup xil tarkibli shakar

Polimin - nuklein kislotasini chuktiradigan modda.

Radiasion strellash- Radiasiya bilan tozalash.

Rekombinant tDNK – yot DNK molekulasini vector plazmida tarkibiga kiritishdan olingan olingan genetik konstruksiya.

Restriktaza – (ingl. *restriction* - kesish) DNK molekulasining maxsus nukleotidlar izchilligiga ko`ra bo`laklarga bo`luvchi fermentlar.

Replikasiya - ikkitaga bo`linish

Retrotranspozon – i-RNK matritsa vositasida o`z nusxasini sintazlab, genomninh boshqa joyiga ko`chib o`tadigan virussimon DNK molekulasini.

Reparasiya - Genetik buzilishini bartaraf qilish.

Rekombinasiya – nukleotidlarni birin-ketin kayta taksimlanishi.

Sayt - (ingl. *site* - joy) DNK molekulasidagi yagona nuqta. Kerayotgan jarayonga muvofiq bu nuqta restriksiya sayti, rekombinatsiya sayti yoki transpozitsiya sayti deb yuritiladi.

Sitokinin - o`simlik rangini keltirib chikaruvchi modda.

Strillash - tozalash

Sirkullyasion aralashtirish- xavo pufakchalari suyuklikka kushiladi

Sentrafuga - keraksiz moddalarni markazdan kochirma kuch bilan chuktirish

Stabillash - o`zgarmaydigan xolatga keltirish.

Teskari transkripsiya – bir zanjirli RNK molekulasidan qo`shaloq zanjirli DNK molekulasining sintezlanishi.

Termofill bakteriyalar – issikka chidamli bakteriyalar.

**Transgen o`simlik** – (ingl. trans – ko`chish) yot genni hujayraga kiritib, undan sun`iy sharoitda olingan yaxshi xususiyatli o`simlik.

Transpozonlar – genomdan o`zini qirqib, genomning boshqa joyiga ko`chib o`tadigan genetic strukturalar.

Transpozaza – transpozonlarning ko`chin o`tishini taminlaydigan ferment.

Transformatsiya – bir hujayra DNK bo`lagining ikkinchi hujayra genomiga funksional aktiv holatda ko`chib o`tishi.

Faglar – mikro organizmlar ichiga kirib, unda ko`payib, keyin ularni eritib yuboruvchi viruslar.

Fitogarmon – usishni tezlatuvchi modda

Fermentativ sintez- ferment ta`siridagi sintez.

Fragmentasiya – Genni DNK dan ajratish.

Flotasiya - yuzadagi suyuk kavat yoki kupikni surib olinishi.

Fitoaleksinlar – o`simliklarning kasalliklarga qarshi chidamlilik tizimining patogenlar rivojlanishini pasaytiruvchi genotipik va peal komponentlari.

Fitoregulator – o`simliklarning o`sishi va rivojlanishiga ta`sir etuvchi, o`g`itlar va gerbisitlar ta`siriga ega bo`lmagan tabiiy va sun`iy preparatlar.

Filtrasiya – filtratda kerakli moddani ushlab kolinishi.

Xromotografiya - moddalarni kogozga utkazish.

In vitro – tirik materialni probirkada sun`iy oziqa muhitlarda steril sharoitda o`stirish.

In vivo – tirik materialni tabiiy sharoitda o`stirish.

FAN DASTURI

O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG‘LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI

Ro‘yxatga olindi:

Sog‘liqni saqlash vazirligi

№ BD-_____

201__yil “__” _____

201__yil “__” _____

GEN MUHANDISLIGI FAN DASTURI

Bilim sohasi: 5 000

Sog‘liqni saqlash va ijtimoiy ta’minot

000 –

Ta’lim sohasi: 5 100

Sog‘liqni saqlash

000 –

Ta’lim

5

Biotexnologiya (Farmatsevtik

yo‘nalishi:

320 500 –

biotxnologiya)

Toshkent – 201__

O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligining 201__ yil "____" _____dagi "____" –sonli buyrug'ining _____ - ilovasi bilan fan dasturi ro'yhati tasdiqlangan.

Fan dasturi Sog'liqni saqlash vazirligining Tibbiyot ta'lim muassasalararo Muvofiqlashtiruvchi uslubiy Kengashning 201__ yil "____" dagi "____" sonli bayonnomasi bilan ma'qullangan.

Fan dasturi Sog'liqni saqlash vazirligining Toshkent farmatsevtika instituti tomonidan ishlab chiqildi.

Tuzuvchilar:

- | | |
|---------------|---|
| Z.T.Buriev | - O'zRFA «Genomika va bioinformatika» markazi direktori, b.f.d. |
| N.Q.Rashidova | - Toshkent Farmatsevtika instituti, Biotexnologiya kafedrası assistenti |
| M.O'.Sayliev | - Toshkent Farmatsevtika institute, Biotexnologiya kafedrası assistenti |

Taqrizchilar:

- | | |
|---------------|--|
| G.YU.Malikova | - Toshkent Farmatsevtika institute, "Toksikologik, organik va biologik kimyo" kafedrası dotsenti, b.f.n. |
| I.M.Xalilov | O'zRFA Mikrobiologiya instiuti k.i.x., b.f.n. |

Fan dasturi Oliy va o'rta maxsus, kasb-hunar ta'limi yo'nalishlari bo'yicha O'quv-uslubiy birlashmalar faoliyatini Muvofiqlashtiruvchi Kengashning 201_ yil "____" _____dagi ____-sonli bayonnomasi bilan ma'qullangan

I. O'quv fanining dolzarbligi va oliy kasbiy ta'limdagi o'rni

Kadrlar tayyorlash milliy dasturining asosiy maqsadlaridan biri bo'lgan, tibbiyotda har tomonlama kamol topgan yuksak ma'naviyatli shaxsni tarbiyalab etishtirish, uning ilmiy dunyoqarashini shakllantirishga qaratilgan. Zamonaviy fanlar ichida muhim rol o'ynovchi ushbu "Gen muhandisligi" fani dasturini maqsadi talabalarga zamonaviy fanlardan biri Gen muhandisligi fani asoslarini o'rgatish, genlarning tuzilishi, gen informatsion tahlil usullarini hamda rekombinant DNK olish prinsplarini o'rgatishdan iborat.

O'zbekiston Respublikasi birinchi Prezidenti I.A. Karimovning "Ta'lim, tarbiya va kadrlar tayyorlash tizimini tubdan isloh qilish, barkamol avlodni voyaga etkazish to'g'risida"gi Farmoni hamda Kadrlar tayyorlash Milliy dasturini ta'lim muassasalari, birinchi navbatda Oliy ta'lim muassasalari professor-pedagog xodimlari safidan etuk mutaxassislar tayyorlab, ularni rivojlangan demokratik xorijiy mamlakatlar ta'limidagi ijobiy tajribalrni o'rganib o'qitishning yangi pedagogik texnologiyalarini yaratish, xozirgi kunga kelib dolzarb masalalardan biri bo'lib qoldi.

Ushbu dastur O'zbekiston Respublikasi Prezidentining "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risida"gi 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son farmoni va O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining "O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 13 fevraldagi 81- sonli buyrug'ida belgilangan vazifalar hamda xorijiy adibiyotlarni tarjima qilish asosida ishlab chiqilgan.

II. Oquv fanining maqsadi va vazifalasi

Talabalarga zamonaviy fanlardan biri Gen muhandisligi fani asoslarini o'rgatish, genlarning tuzilishi, gen information tahlil usullarini hamda rekombinant DNK olish prinsplarini o'rgatishdan asosiy maqsadimiz. Talabalarni o'qitishda gen muhandisligi fanining zamonaviy muammolari haqidagi bilimlarini

takomillashtirish, muammolarini aniqlash, tahlil etish va baholash ko'nikma va malakalarini tarkib toptirish.

“Gen muhandisligi” fanining vazifalari:

- Gen muhandisligi fanini o'qitishda pedagogik faoliyat, oliy ta'limda o'qitish jarayonini texnologiyalashtirish bilan bog'liqlikda yuzaga kelayotgan muammolarni aniqlashtirish;

- talabalarining Gen muhandisligi, genetika, biotexnologiya fanlari asosida farmatsevtik muammolarini tahlil etish, ko'nikma va malakalarini shakllantirish;

- Gen muhandisligi fani muammolarini hal etish strategiyalarini ishlab chiqish va amaliyotga tatbiq etishga o'rgatish.

Fan bo'yicha talabalarining bilimi, ko'nikmasi va malakasiga qo'yiladigan talablar:

Gen muhandisligi fanining taraqqiyot yo'nalishlari va innovatsiyalari mavzuini o'zlashtirish jarayonida amalga oshiriladigan masalalar doirasida talabalar tasavvurga ega bo'lish:

- Gen muhandisligi fanini o'qitishda pedagogik faoliyat bilan bog'liqlikda yuzaga keladigan muammolar va ularni hal etish strategiyalari; zamonaviy pedagogik atamalarni qo'llash bilan bog'liq muammolar; oliy ta'limda ilg'or pedagogik texnologiyalarni qo'llash bilan bog'liq muammolar va ularni hal etish yo'llarini bilishi kerak;

- Gen muhandisligi fani muammolariga doir keyslar tuzish, ularni amaliyotda qo'llash ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak;

- Gen muhandisligi fanining muammolarini aniqlash, tahlil etish, baholash va umumlashtirish malakalarini egallashi lozim.

Mavzuning o'quv rejadagi boshqa mavzular bilan bog'liqligi va uzviyligi

Mavzu mazmuni o'quv rejadagi “Biotexnologiya fanlarini” o'qitishda pedagogik maxorat, “Biotexnologiya fanlarini” o'qitishda o'quv-uslubiy ta'minot, o'quv mavzulari bilan uzviy bog'langan holda talabalarni kasbiy tayyorgarlik darajasini o'ttirishga xizmat qiladi.

Fanning o'quv rejadagi boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liqligi va uslubiy jihatdan uzviyligi.

Gen muhandisligi fani V, VI-semestrlarda o'qitiladi. Gen muhandisligi fani biotexnologiya va genetika, molekulyar biotexnologiya fanlaridan olgan bilimlariga asoslanadi. Gen muhandisligi fani farmatsevtik biotexnologiya, xujayra kul'turalari, biofaol moddalar texnologiyasi va boshqa biotexnologik yo'nalishdagi fanlarni o'zlashtirish uchun asos bo'ladi.

III. Asosiy nazariy qism (ma'ruza mashg'ulotlari)

1-mavzu. Gen muhandisligi faniga kirish. Gen muhandisligi tarixi. Gen muhandisligi faninig maqsadi, vazifalari, o'rganish ob'ekti va sub'ekti.

2-mavzu. DNK ning tuzilishi. Nukleotidlar, nukleozidlar, DNK qo'sh spirali, RNK va ribasoma tuzilishi.

3-mavzu. DNK biosintezi, RNK biosintezi, splicing, ribozim, promotor.

4-mavzu. Gen, genom, faktor transkripsa, operon, yadro retseptorlari, gen ekspressiyasi

5-mavzu. Oqsillar biosintezi, folding, shaperonlar.

6-mavzu. Genlarning o'z sofligini saqlashi, interferensa, V(D)J rekombinatsiya reparatsiya, telomerlar.

7-mavzu. Polimeraza zanjirli reaksiya. Amplifikator, Taq-polimeraza, praymer

8-mavzu. Elektroforez ishlash prinsipi.

9-mavzu. Teskari transkriptaza va uning RNK analizida ishlatilishi

10-mavzu. Molekulyar mayoqlar, Real taym PTSR

11-mavzu. Proteomika.rekombinat va Ximer oqsillar olish, poligistidinli teg

12-mavzu. Gen muhandisligida qo'llaniladigan fermentlar. Restrektaza, Ligaza

13-mavzu Suniy restrektazalar. Zinc-finger, TALENs , CRISPR , nukleozimlar

14-mavzu. Polimeraza, integraza, pole (a) polemeraza fermentlarining tuzilishi, vazifasi va gen muhandisligi sohasida qo'llanilishi. Rekombinant DNK olish.

15-mavzu. Vektor konstruktsiyalar. Plazmida, virus, mobil elementlar, transpozonlar, nanochistitsa, lipasoma

16-mavzu. Gen muhandisligida qo'llaniladigan model organizimlar. Ulari transformatsalash usulari. [Escherichia coli](#).

17-mavzu. Bacillus subtilis.

18-mavzu. Saccharomyces cerevisiae.

19-mavzu. Transgen o'simliklar. Transgen o'simlar olish texnologiyasi, o'simlik hujayrasiga vektorni mikroin'ektsiya, gen pushka, agrobakteriya usulida kritish, selektsiya qiish

20-mavzu. Transgen hayvonlar olish

21-mavzu. Genlar overekspressasi

22-mavzu. Gen nakaut usuli. Mikro RNK, interferensa

23-mavzu. DNK klonlash. Somatik xujayra, klonlash metodi, klonlashdagi muammolar.

24-mavzu. Hujayra muhandisligi. Protoplastlar va gibridomalar olish. Onkoviruslar.

25-mavzu. Tibbiyot va farmatsevtika uchun ikkilamchi sintez moddalari olish

26-mavzu. Virussiz o'simliklar olish. o'simliklarni klonli ikroko'paytirish. xayvon xujayralari kulturas

27-mavzu. DNK mikrochip

28-mavzu. Mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash, ularni o'stirish va saqlash usullarini o'rganish

29-mavzu. Hujayra va to'qimalarni sun'iy oziq muhitlarida o'stirish texnikasi.

30-mavzu. Ajratilgan o'simlik hujayralari va to'qimalari to'qimalari bilan ishlash jarayonida sterillash usullari.

31-mavzu. O'simliklardan hujayra organiodlarini ajratish

32-mavzu. Hujayra suspenziyasi holatining ko'rsatkichlari

33-mavzu. Gen terapiyasi.

34-mavzu. Gen injeneryasi orqali olingan vaksinalar

35-mavzu. Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi.

36-mavzu. Biotexnologik etika, ekohafsizlik, bioterorizm.

IV. Amaliy (seminar) va laboratoriya mashg'ulotlar bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar

1. DNK ajratish usullari va vositalari.
2. DNK miqdori va sifatini elektrofarez va spektrofotometr usulida aniqlash.
3. Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR)
4. Gen va PZR mahsulotini gel-elektroforez usulida tekshirish
5. Genni agarozda gelidan kesib olish va tozalash.
6. Umumiy va mikroRNK ajratish usullari va vositalari.
7. Real vaqt PZR. Teskari transkripsiya. RNKdan komplement DNK hosil qilish
8. Restrektazalar tanlash. Rekombinant DNK olish.
9. Praymer tuzish. Virtual (In silico) PZR va BLAST dasturi bilan ishlash
10. In silico usulida vektor konstruktsiyalar tuzish
11. E.coli ni ozuqa muhitga ekish
12. Plazmida DNKsini bakteriya hujayrasiga kiritish (transformatsiya qilish)
13. Rekombinat oqsil ajratib olish
14. Transformatsiya, kallus to'qima va regenerant o'simlik olish
15. O'simliklarni transformatsiyalash
16. miRNKni LR reaksiya orqali olish

17. Overekspressiya uchun konstruktsiya tuzish
18. Protoplasmlar olish
19. Sekvinatsalash
20. BLAST bilan ishlash
21. Snapgene programmasi bilan sihlash
22. Marker genlarni topish
23. GMO analizi
24. Vaksina va gen terapiyasi uchun viruslarni sanoat miqyosida olish met
25. Biotexnologik etika

Laboratoriya ishlarini tashkil etish bo'yicha ko'rsatmalar

“Gen muhandisligi” fani bo'yicha laboratoriya ishlari reaktivlar va zarur jihozlar bilan ta'minlangan laboratoriyalarda o'qituvchi nazoratida o'tkaziladi. Laboratoriya mashg'ulotini o'tkazishda avval talabalar texnika havfsizligi qoidalari bilan tanishadilar. Uslubiy metodik qo'llanmadan foydalanib, ma'ruza darslarida olgan bilimlariga tayangan holda laboratoriya ishi amalga oshiriladi. Laboratoriya ishining nazariy va amaliy ma'lumotlarini to'la o'zlashtirgan talabalargagina tajribani o'tkazish ruxsat etiladi. Mashg'ulotning nazariy va amaliy qismlari hamda o'tatilgan tajriba natijalari laboratoriya daftariga qayd etiladi va olingan hulosalar keltirib, o'qituvchi tomonidan reyting tizimi asosida baholanadi.

V. Mustaqil ta'lim va mustaqil ishlar.

Mustaqil ta'lim uchun tavsiya etilgan mavzular:

1. Hujayradan DNK ajratish usullari.
2. Gen muhandisligida qo'llaniladigan fermentlar: Nukleaza, teskari transkriptaza.
3. *Agrobacterium* uchun vektor konstruksiyasini olish.
4. *O'simlik hujayrasini mikroin'eksiya usulida transformatsiyalash.*
5. Mutagen organizm DNK fragmenti ketma-ketligini aniqlashda qo'llaniladigan avtomatik va Sengera sekvinirlash usullarini taqqoslash.
6. Genom loyihasi.
7. Gen muhandisligi yordamida ekologik muammolarni echish.
8. Gen regulyatorlar
9. RNK tozalash metodi
10. Getvey klonlash
11. Gibson-Assembly klonlash

12. TALEN nukleazalari
13. CRISPR nukleazalari
14. PZR REAL TIME
15. Poliakrilatli elektroforez
16. DNK zond
17. Gen muhandisligida ishlatiladigan operonlar

Mustaqil o'zlashtiriladigan mavzular bo'yicha talabalar tomonidan referatlar hamda prezentatsiyalar tayyorlanadi va uni taqdimoti tashkil etiladi.

VI. Fan bo'yicha kurs ishi

Kurs ishi fan mavzulariga taalluqli masalalar yuzasidan talabalar yakka tartibda tegishli (variantlangan) topshiriq shaklida 5 semestrda beriladi. Kurs ishining hajmi 3035 betdan kam bo'lmashligi, A4 formatdagi varaqlarda yozilishi va tikilib rasmiylashtirilishi lozim. Kurs ishi bajarish tartibi kafedraning uslubiy ko'rsatmasida keltirilgan.

Kurs ishi uchun mavzular:

1. Biotexnologik usul bilan oqsil olish texnologiyasi.
2. Zardob oqsilini olish texnologiyasi.
3. Lipolitik fermentlarni olish texnologiyasi.
4. Biotexnologik usul bilan fermentlar olish texnologiyasi
5. Vaksinalarni olish texnologiyasi.
6. Biotexnologik usul bilan Vitaminlar olish texnologiyasi
7. Aminokislotalarni biotexnologik usul bilan olish texnologiyasi.
8. Immunoglobulin oqsilini rekombinant olish texnologiyasi.
9. Insulin oqsilini rekombinant olish texnologiyasi.
10. Gen–muxandisligi usullarini qo'llagan xolda vaksina olish texnologiyasi.
11. Dori maqsadida rekombinant oqsillarni olish texnologiyasi.
12. Genetik modifikatsiyalangan mahsulotlarni olish texnologiyasi.
13. Biotexnologik yo'l bilan olinadigan nutritsevtiklar va ozuqa qo'shimchalarini olish texnologiyasi.
14. Transgen mahsulotlarni olish texnologiyasi.
15. O'simlik to'qimalari kulturasidan biotexnologik usulda dori vositalarini olish texnologiyasi.

Foydalaniladigan adabiyotlar ro'yxati

Asosiy adabiyotlar

1. A.A. CHirkin -Основы генной инженерии: Методы рекомбинантных ДНК Учебно-методический комплекс для студентов

Qo'shimcha adabiyotlar.

1. Mirziyoev SH.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. Toshkent, "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 29 b.
2. Mirziyoev SH.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 47b.
3. Mirziyoev SH.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 485 b.
4. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risida" gi PF-4947-sonli Farmoni. O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to'plami, 2017 y., 6-son, 70-modda.
5. Shelkunov, S.N. Geneticheskaya injeneriya 2-e izd., ispr. i dop. Novosibirsk: Sib. univ. izd-vo, 2004. - 496s.
6. Glik, B. Molekulyarnaya biotexnologiya: Printsipy i primeneniye [Tekst] / B. Glik, Dj. Pasternak - M.: Mir, 2002. - 589 s.
7. Jimulev, I.A. Obshchaya i molekulyarnaya genetika [Tekst] / I.A. Jimulev. - Novosibirsk: Sibirskoe universitetskoe izdanie, 2003. - 478 s.
8. Dimitriev, A.D. Bioximiya: Uchebnoe posobie [Elektronnyy resurs] / A.D. Dimitriev, E.D.
9. Ambroseva. - M.: Izdatelsko-torgovaya korporatsiya "Dashkov i K-", 2012.- 168s.–Rejim dostupa: <http://znanium.com/bookread.php?book=415230>
10. Sboychakov, V.B. Fiziologiya i bioximiya mikroorganizmov: v kn. Mikrobiologiya s osnovami epidemiologii i metodami mikrobiologicheskix issledovaniy [Elektronnyy resurs] /
11. Sboychakov V.B. 2011. - 608 s. - Rejim dostupa: <http://www.studmedlib.ru/ru/doc/ISBN9785299004045-SCN0005.htm>

Internet saytlari

1. BLAST - <http://www.ncbi.nih.gov/blast>
2. Genetic Analysis / Eds. Griffiths A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., Lewontin R.C. -[http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular genetic](http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular%20genetic)
3. Genomics / Brown E. 2-th ed. - <http://www.ncbi.nih.gov/book/genomic>
4. Modern Genetic Analysis / Eds. Griffiths A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., Lewontin R.C - [http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular genetic](http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular%20genetic)
5. Molecular Cell Biology. /Eds.Lodish H., Berk A., ZipurskyS.L., Matsudaria P., Baltimor D., Darnell D. -4-th ed. - [http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular genetic](http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular%20genetic)

6. [www.vh.org/Providers/Textbooks/Human Anatomy/CrossSectionAtlas.html](http://www.vh.org/Providers/Textbooks/Human%20Anatomy/CrossSectionAtlas.html);
7. <http://anatome.ncl.ac.uk/tutorials/crawler.html>;
8. www.instananatomy.net;
9. [www.meddean.luc.edu/lumen/MedEd/GrossAnatomy/learnem/learnit.html](http://www9.biostr.washington.edu/cgi-bin/DA/Page);
9. <http://www9.biostr.washington.edu/cgi-bin/DA/Page>

ISHCHI FAN DASTURI

**O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi
Toshkent farmatsevtika instituti**

“Tasdiqlayman”

O'quv va tarbiyaviy ishlar
bo'yicha prorektor Z.A.Yuldashev

2020 yil “ ____ ” _____

GEN MUHANDISLIGI FANINING ISHCHI O'QUV DASTURI

Ta'lim sohalari: 5 100 000 – Sog'liqni saqlash
320000 – Ishlab chiqarish texnologiyalari
Ta'lim yo'nalishi: 5320 500 – Biotexnologiya (farmatsevtik
biotexnologiya)

Umumiy o'quv soati: 194
Shu jumladan:

Ma'ruza: 36 soat (5 semestr)

Laboratoriya
mashg'ulotlari: 72 soat (5 semestr)

Mustaqil ish: 86 soat (5 semestr)

Toshkent – 2020

Fanning ishchi o'quv dasturi **O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi** 2020____yil “____”____dagi _____ sonli buyrug'i bilan (buyruqning____ ilovasi) tasdiqlangan “**Gen muxandisligi**” fani dasturi asosida tayyorlangan.

Ishchi-o'quv dasturi Toshkent farmatsevtika instituti MUK 2020 yil “_07” iyuldagi 12 sonli bayoni bilan tasdiqlangan.

Tuzuvchi:

R.B.Norboboyeva- Biotexnologiya kafedrası v.v.b., dotsenti, b.f.n.

Taqrizchilar:

B.A.Abdullaeva - TKTİ VTSUF Ekologiya kafedrası mudiri t.f.n.

F.N.Piraxunova -Toshkent farmatsevtika instituti, Tibbiy va biologik fanlar kafedrası dotsenti, b.f.n.

Sanoat farmatsiyasi

fakulteti dekani:

2020 yil “_30”_iyun Bayonnoma№11_____Mamatqulov Z.O`.

“Biotexnologiya; kafedra

mudiri:

2020 yil “_26”iyun _ Bayonnoma№ 21_____Yusupova N.F.

KIRISH

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

So‘nggi 50 yil mobaynida biotexnologiya taraqqiyoti yuksak darajaga chiqdi. Biotexnologiya rivojining hozirgi bosqichini revolyusion deb atash mumkin. Fan va taraqqiyot rivojlangan sari gen muhandisligi ham alohida fan sifatida ajralib chiqdi. Oxirgi yillarda nuklein kislotalar strukturasi va funksiyasi, DNK restriksiyasi fermentlari, ularning hujayradagi ahamiyati gen muhandisligi usullari orqali aniqlandi. Insoniyatni tashvishga solib turgan eng yirik muammolar, jumladan, oziq-ovqat, sog‘liqni saqlash kabilarni xal etishda gen muhandisligi o‘zining salmoqli xissasini qo‘shib kelmoqda. Gen muhandisligining ulkan yutuqlari jamiyatning ijtimoiy, iqtisodiy taraqqiyoti uchun tezkor va samarali xizmat qilmoqda.

Fanning maqsad va vazifalari

Ta’lim maqsadi - gen muxandisligi usullari yordamida hayvon, o‘simlik, mikroorganizmlar, hujayrasiga boshqa organizmlarni genlarini kiritish va shu genlarning maxsulotlarini olish, o‘simliklarning atrof muhitning stress omillariga qarshi kurashish qobiliyatini oshirish imkoniyatlari bilan tanishtirishdir.

Fanning vazifalari-talabalarga biotexnologiya ob’ektlari bilan ishlash shuningdek, ushbu ob’ektlar bilan ishlash davomida biotexnologik usullardan oqilona foydalanish, gen muxandisligi, rekombinant DNK va RNK olish, hujayralaradan genlarni ajratish, genlar ustida manipulyatsiya o‘tkazish, ularni boshqa organizmlarga kiritish orqali yangi irsiy xususiyatga ega bo‘lgan genetik strukturalar va organizmlar yaratish, hujayralarni biosintetik potensialidan amaliy foydalanish mumkinligini asoslab berish.

Fan bo‘yicha bilimga, ko‘nikma va malakasiga qo‘yidigan talablar.

Talaba:

- genom va hujayra muxandisligining vazifalari;
- oqsillar biosintezining umumiy sxemasi;
- genetik kod tushunchalari;
- gen muxandisligida ishlatiladigan fermentlar;
- plazmida;

- vektorlar tushunchasi;
- rekombinant DNK texnologiyasi;
- gen muxandisligida E.coli ni roli;
- yot genlarni o'simlik hujayrasiga kirgizish yo'llari;
- gen muxandisligi **to'g'risida tasavvurga ega bo'lishi**;
- gen, transkripsiya, protsessing, translyasiya va genetik kodni;
- vektorlarni plazmidalardan farqini;
- rekombinant DNK texnologiyasini;
- vektorni probirkadan hujayraga ko'chirish, transformatsiya jarayonini;
- DNK-vektorni ekspressiya tizimiga transfeksiyasi;
- prokariot genlarning ekspressiyasini o'ziga xosligi;
- aloxida va qarindosh genlarni klonlash;
- gen muxandisligida E.coli ning rolini;
- insulinni gen muxandislik metodi yordamida olishni;
- hayvon hujayralari transformatsiyasining usullarini bilishi va ulardan foydalana olishi;
- gen muxandisligida yuqori sifatli vektorlarning xususiyatlari, restriksiya va ligirlash **bilishi va ulardan foydalana olishi**;
- gibridoma texnologiyasi;
- genomni konstruksiya qilishning prinsiplari;
- mikroorganizmlar, o'simliklar va hayvonlarni klonlash;
- odamni klonlash muammolari;
- transgen hayvonlar xaqida tasavvurga ega bo'lishi
- kerakli xususiyatlarga ega bo'lgan o'simliklar yaratish, hayvon hujayralari transfeksiyasi;
- biotexnologik ishlab chiqarishda xom ashyo va produtsentlar xaqida;
- to'qimalarni o'stiruvchi peptid vektorlari va boshqa biologik mahsulotlarning yangi avlodlari bo'yicha **ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak**;

Gen muhandisligi fanining boshqa fanlar bilan integratsiyasi:

gen muhandisligi fanini mukammal o'zlashtirish uchun talabalar quyidagi fanlardan yetarli bilim, ko'nikma va malakaga ega bo'lishlari kerak:

- biologik kimyo;
- mikrobiologiya;
- molekulyar biologiya
- genetika;
- organik kimyo;

2. Ma'ruza mashg'ulotlari

№	Ma'ruza mavzulari	1jadval Dars soatlari

		hajmi
5-semestr		
1.	Gen muhandisligi faniga kirish, faninig ahamiyati va vazifalari	2
2.	Gen ontologiyasi	2
3.	Gen muhandisligining moddiy asoslari	2
4.	Rekombinant DNK olish texnologiyasi	2
5.	Mitoxondrial DNK	
6.	DNK, RNK va kichik RHK larning ahamiyati	2
7.	O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari	2
8.	Hayvonlarni klonlash	2
9.	Transgen hayvonlar yaratish texnologiyasi	2
10.	Ximer hayvonlarni yaratish	2
11.	Genomni tahrir qilish	2
12.	Odam Genomi	2
13.	Organizmlarning genofondini saqlash. Genom bibliotekasi. Gen bank. Bioinfarmatika	2
14.	Gen terapiyasi	2
15.	Tibbiyot va farmatsevtika uchun ikkilamchi sintez moddalari olish	2
16.	Gen muhandisligi orqali olingan vaksinalar	2
17.	GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri	2

1	Biotexnologik etika, bioterorizm. Gen muhandisligida	2
8	bioifarmatika	
Jami		36

Ma'ruz shg'ulotlari multimedia qurilmalari bilan jixozlangan auditoriyalarda yoki masofoviy (onlin) tarzda akademik guruxlar oqimi uchun o'tiladi.

3. Laboratoriya mashg'ulotlari

2jadval

T/r	Laboratoriya mashg'ulotlarining mavzulari	Soat
5-semestr		
14.	Laboratoriyalarda ishlash texnika xavfsizligi qoidalari va steril sharoitida ishlash talablari	4
15.	Laboratoriyalarda ishlashlatiladigan asbob-uskunalar bilan tanishish	4
16.	Laboratoriyalarda ishlash jarayonida sterillash usullarini o'rganish	4
17.	Ozuqa muhitlari tayyorlash	4
18.	Agrobakteriyalar uchun ozuqa muhiti	4
19.	Agarozali gel tayyorlash	4
20.	Plazmid DNKsini ajratish va tozalash uslublari	4
21.	Plazmid DNKsining restriksion tahlili	4
22.	Agarozali gelda DNK elektroforezini amalga oshirish	8
23.	O'simlik bargidan DNK ajratish	8
24.	Protoplastlarni olish usuli	8
25.	Nuklein kislotalar ajratish	8
26.	Oqsillar elektroforezi	8
Jami:		72

Laboratoriya mashg'ulotlari multimedia qurilmalari bilan jihozlangan auditoriyada har bir akademik guruxga alohida o'tiladi. Mashg'ulotlar faol va interfaol usullar yordamida o'tiladi, "Blitstexnologiyasi" va ko'rgazmali materiallar qo'llaniladi.

Darsni olib borish rejasi (xronoharita):

1. O'qituvchining mavzu bo'yicha kirish so'zi - 5 daqiqa;
2. Talabalarning bilimini og'zaki usulda mavzuga tegishli savollar bilan tekshirish -10 daqiqa;
3. Mavzuni tushuntirish: o'qituvchi talabalarning bergan javoblariga qarab, yo'l qo'yilgan xatoliklarni tuzatib, javoblarni umumlashtiradi - 10 daqiqa;
4. Kundalik daftarni tekshirish: (Berilgan mavzu bo'yicha konspektni tekshirish, laborotoriya ishlarinin tekshirish) – 5 daqiqa;
5. Laboratoriya ishini bajarish: (mavzuga tayyor, kundaligi to'g'ri yozilgan talabaga laborotoriya mashg'ulotini bajarish uchun ruxsat beriladi.

- O'qituvchi tomonidan texnologik jarayon va ishni bajarish tartibini nazorat qilib boriladi) -40 daqiqa;
6. Bajarilgan ishni qabul qilish - 10 daqiqa.
- Jami: 80 daqiqa.

4. Talabalar tomonidan olinadigan amaliy ko'nikmalar

3-jadval

#	Mavzu	Amaliy ko'nikma
5-semestr		
1	Gen muhandisligi faniga kirish, faninig ahamiyati va vazifalari	Gen muhandisligi fani mohiyati va vazifalari haqida tushunchaga ega bo'ladilar
2	Gen muxandisligi fermentlari, DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish. Rekombinant DNK olish texnologiyasi.	Gen muxandisligi fermentlari, DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish. Rekombinant DNK olish usullari xaqida ko'nikma xosil bo'ladi.
3	DNK, RNK va kichik RHK larning ahamiyati	DNK, RNK va kichik RHK larning ahamiyati va vazifalari haqida tushunchaga ega bo'ladilar
4	DNK ajratish usullari va vositalari	DNK, uning turlari, ajratish usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
5	O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari	O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi. O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
6	Hayvonlarni klonlash	Hayvonlarni klonlash usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
	Transgen hayvonlar yaratish texnologiyasi	Transgen hayvonlar yaratish texnologiyasi va usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
7	Ximer hayvonlarni yaratish	Ximer hayvonlarni yaratish texnologiyasi va usullari xaqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
8	Genomni tahrir qilish	Genomni tahrir qilish texnologiyasi va usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
9	Odam Genomi	Odam Genomi xaqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
10	Organizmlarning genofondini saqlash. Genom bibliotekasi. Gen bank	Organizmlarning genofondini saqlash. Genom bibliotekasi. Gen bank haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
11	Gen terapiyasi	Gen terapiyasi haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
12	Tibbiyot va farmatsevtika	Tibbiyot va farmatsevtika uchun

	uchun ikkilamchi sintez moddalari olish	ikkilamchi sintez moddalari olish texnologiyasi va usullari haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
13	Gen muhandisligi orqali olingan vaksinalar	Gen muhandisligi orqali olingan vaksinalar olish usullari haqida ko'nikma xosil bo'ladi.
14	Gen muhandisligida bioifarmatika	Gen muhandisligida bioifarmatika haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi
15	Biotexnologik etika, bioterorizm. GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri	Biotexnologik etika, bioterorizm. GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri haqida umumiy ko'nikmaga ega bo'lishadi

5. Mustaqil ta'lim

4jadval

T/R	Mustaqil talim mavzulari	Soat
5-semestr		
1	DNK nukleotidlari ketma-ketligini aniqlash va DNK bo'laklarini sintezlash.	4
2	Transgenез nazariyasi va uning ahamiyati	4
3	Prokariot va eukariot hujayralar genomining biokimyoviy xususiyatlari	4
4	Oqsil biosintezi va uning genetik darajadagi regulyasiyasi	4
5	Genlar ekspressiyasining biokimyoviy boshqarilishi	4
6	Biokimyoviy jarayonlarning genetik regulyasiyasi	4
7	DNK va genetik kodning mohiyati hamda uning biokimyoviy isbotlari	4
8	Gen regulyatorlari	4
9	RNKni tozalash metodlari	4
10	Klonlash usullari	4
11	TALEN nukleazalar	4
12	CRISPR nukleazalar	4
13	Gen muhandisligida ishlatiladigan operonlar	4
14	Gibridomalar texnologiyasi	4
15	Monoklonal antitanalar olish	4

5		
1	Transgenozni biologik xususiyatlari	4
6		
1	Gen muhandisligi yordamida noyob oqsillarni sintezlash	4
7		
1	Mikroorganizmlar yordamida transgen oqsillar olish texnologiyasi	4
8		
1	DNK ni restriktaza yordamida fragmentlarga bo'lish	4
9		
2	Agarozali gelda DNK elektroforezi	4
0		
2	Transgen maxsulotlarni olish	2
1		
2	Biomuhandislik va transgenozda biologik xavfsizlik va genetik xavf	2
2		
2	GMO va ulardan olinadigan maxsulotlar ustidan davlat nazorati va boshqaruvi	2
3		
Ja'mi		86

Mustaqil o'zlashtirilgan mavzular bo'yicha talabalar tomonidan internet ma'lumotlari to'plash, bibliografik annotatsiya va taqdimotlarni tayyorlash, test savollari va vaziyatli masalalarni tuzish tavsiya etiladi.

6. Fan bo'yicha kurs ishi

1. Biotexnologik usul bilan oqsil olish texnologiyasi.
2. Zardob oqsilini olish texnologiyasi.
3. Lipolitik fermentlarni olish texnologiyasi.
4. Biotexnologik usul bilan fermentlar olish texnologiyasi
5. Vaksinalarni olish texnologiyasi.
6. Biotexnologik usul bilan Vitaminlar olish texnologiyasi
7. Aminokislotalarni biotexnologik usul bilan olish texnologiyasi.
8. Immunoglobulin oqsilini rekombinant olish texnologiyasi.
9. Insulin oqsilini rekombinant olish texnologiyasi.
10. Gen-muxandisligi usullarini qo'llagan xolda vaksina olish texnologiyasi.
11. Dori maqsadida rekombinan toqsillarni olish texnologiyasi.
12. Genetik modifikatsiyalangan mahsulotlarni olish texnologiyasi.
13. Biotexnologik yo'l bilan olinadigan nutritsevtiklar va ozuqa qo'shimchalarini olish texnologiyasi.
14. Transgen maxsulotlarni olish texnologiyasi.

15.O‘simlik to‘qimalari kulturasidan biotexnologik usulda dori vositalarini olish texnologiyasi.

7. Fan bo‘yicha ishlab chiqarish amaliyoti

Ishlab chiqarish amaliyoti ta’lim jarayonida taqdim etilgan nazariy bilimlarni mustahkamlash va talabalarning amaliy ko‘nikmalarini shakllantirishga qaratilgan.

	Amaliyot o‘tash kunlarining rejasi	Amaliyot o‘tiladigan joy
1	Amaliyotni o‘tash tartibi. Rejalar va xavfsizlik qoidalari.	Toshfarmi Biotexnologiya kafedrası
2	Biotexnologik ishlab chiqarish jarayonlari bilan tanishish	O‘zRFA “Genomika va Bioinformatika markazi

8. Fan bo‘yicha talabalar bilimni baxolash va nazorat qilish mezonlari

5jadval

Baholash usullari	Ekspress testlar, yozma ishlar, og‘zaki surov
Baholash mezonlari	86-100 ball “a’lo” - fanga oid nazariy va amaliy tushunchalarni to‘la o‘zlashtira olish, tasniflanishini bilish. -fanga oid o‘rganilayotgan biotexnologik obyektga to‘la ta’rif bera olish; -biotexnologik maxsulot olish va uni qo'llash; - biotexnologik jarayonlarni mustaqil ketma ketlikda tanlay olish; - biotexnologik maxsulot olish jarayoniga ta’sir etuvchi omillarni aniqlash; -biotexnologik maxsulotni sifat nazoratini o‘tkaza bilish; 71-85 ball “yaxshi” - biotexnologik jarayon xaqida mustaqil fikr yuritish; - biotexnologik jarayon bosqichlarini to‘g‘ri aks ettira olish; - biotexnologik maxsulot olishda biotexnologik jarayoniga ta’sir etuvchi omillarni aniqlash; -biotexnologik maxsulot sifat nazoratini o‘tkaza bilish va tegishli

	xulosa chiqarish. 55-70 “qoniqarli” -texnologik jarayon bosqichlarini to‘g‘ri aks ettira olish; -tayyorlanayotgan dori shaklining texnologik jarayoniga ta’sir etuvchi omillarni aniqlash; -tayyorlanayotgan dori shaklini me’yoriy xujjat asosida sifat nazoratini o‘tkaza bilish va tegishli xulosa chiqarish.		
	0-54 “qoniqarsiz” -o‘tilgan fanning nazariy va amaliy tushunchalarni bilmaslik; - texnologik jarayon bosqichlari haqida tassavurga ega emaslik; - me’yoriy xujjatlar asosida tayyorlanayotgan dori shaklining sifatiga baho bera olmaslik;		
	Reyting baxolash turlari	Maks. ball	O‘tkazish vaqti
	Joriy nazorat: Laboratoriya mashg‘ulotlarida faolligi, savollarga to‘g‘ri javob berganligi, laboratoriya topshiriqlarni bajarilganligi uchun	45	Semestr boshlangandan ikkinchi mashg'ulotdan oxirgi mashg'ulotga qadar har bir mashg'ulotda 100 ballik tizimda joriy baholanadi, so'ngra ushbu ballar yig'indisidan o'rtacha ball chiqarilib, 0,45 koeffitsientga ko'paytiriladi.
	Mustaqil ta’lim	5	
	Oraliq nazorat: Laboratoriya mashg‘ulotida og‘zaki so‘rov ko‘rinishida qabul qilinadi. Ma’ruzachi o‘qituvchi va laboratoriya mashg‘uloti o‘qituvchisi tomonidan birgalikda o‘tkaziladi.	10 10	Har bir semestrnin g 9 xaftasida Har bir semestrnin g 17 xaftasida

	Oraliq nazorat savollari topshiriqlari 2 hafta avval e'lonlar doskasiga joylashtiriladi. Oraliq nazorat 20 ballni tashkil etib, undan: (86-100 %) 17,2-20,0 A'lo "5" (71-85 %) 14,2-17,2 Yaxshi "4" (55- 70 %) 11-14,2 Qoniqarli "3" (0-54 %) 11 baldan kam Qoniqarsiz "2"		
	Yakuniy nazorat (yozma, og'zaki, test)	30	18 haftada
	JAMI	100	

9. Asosiy va qo'shimcha o'quv adabiyotlar xamda axborot manbalari

Asosiy adabiyotlar

2. A.A. Chirkin-Osnovy gennoyinjenerii: Metody rekombinantnykh DNK Uchebno-metodicheskiy kompleks dlya studentov

Qo'shimcha adabiyotlar.

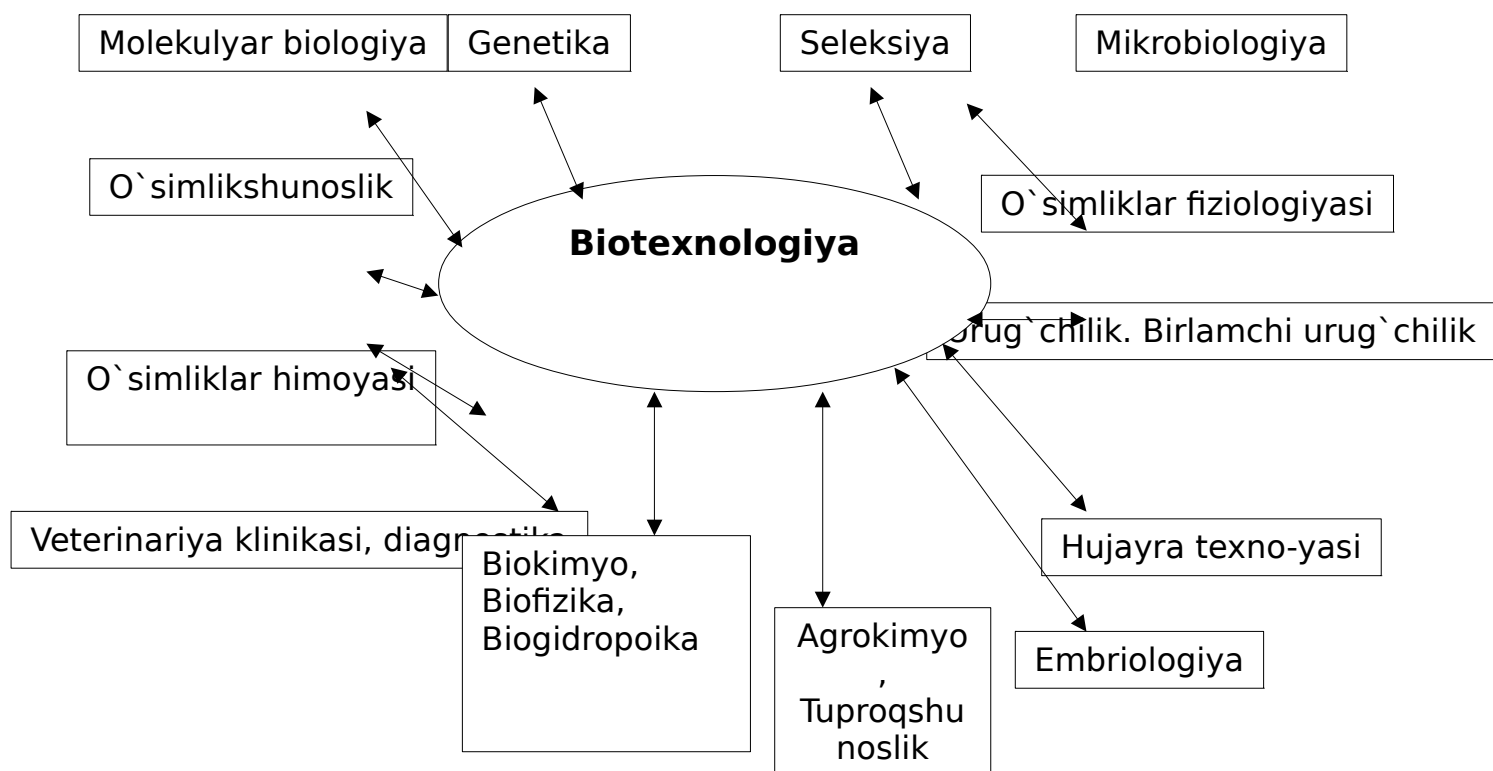
12. Mirziyoyev Sh.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. Toshkent, "O'zbekiston" NMIU, 2017. –29 b.
13. Mirziyoyev Sh.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 47 b.
14. Mirziyoyev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va oliyjanob xalqimiz bilan birga quramiz. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 485 b.
15. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risida" gi PF-4947-sonli Farmoni. O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to'plami, 2017 y., 6-son, 70-modda
16. Щелkunov, S.N. Geneticheskayainjeneriya 2-eizd., ispr. idop. Novosibirsk: Sib. univ. izd-vo,2004. - 496s.
17. Glik, B. Molekulyarnayabiotexnologiya: Printsipyiprimeneniye [Tekst] / B. Glik, Dj. Pasternak - M.: Mir, 2002. - 589 s.
18. A.A. Chirkin -Osnovy gennoy injenerii: Metody rekombinantnykh DNK Uchebno-metodicheskiy kompleks dlya studentov
19. Dr. Rothman -Genetic Engineering Laboratory ManualContents

20. G.A. Juravleva, S.E. Moskalenko, E.E. Andronov, T.V. Matveeva, E.A. Andreeva – Gennaya injeneriya v biotexnologii (seminary) Sankt-Peterburg. 2017g.

Internetsaytlari

10. BLAST - <http://www.ncbi.nih.gov/blast>
11. Genetic Analysis / Eds. Griffiths A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., Lewontin R.C. - http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular_genetic
12. Genomics / Brown E. 2-th ed. - <http://www.ncbi.nih.gov/book/genomic>
13. Modern Genetic Analysis / Eds. Griffiths A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., Lewontin R.C. - http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular_genetic
14. Molecular Cell Biology. /Eds. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell D. -4-th ed. - http://www.ncbi.nih.gov/book/molecular_genetic
15. www.vh.org/Providers/Textbooks/HumanAnatomy/CrossSectionAtlas.html;
16. <http://anatome.ncl.ac.uk/tutorials/crawler.html>;
17. www.instananatomy.net;
18. www.meddean.luc.edu/lumen/MedEd/GrossAnatomy/learnem/learnit.html;
18. <http://www9.biostr.washington.edu/cgibin/DA/Page>

Tarqatma materiallar
Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi» fanining boshqa fanlar bilan aloqasi



Laminar boks- meristema hujayralarini ajratish uchun 100% toza muhitni hosil qilish imkoniyatiga ega. U ish stoli ham deb yuritiladi. Alohida meristema ajratish xonasida turadi.



1-rasm. Laminar boksning tashqi ko'rinishi



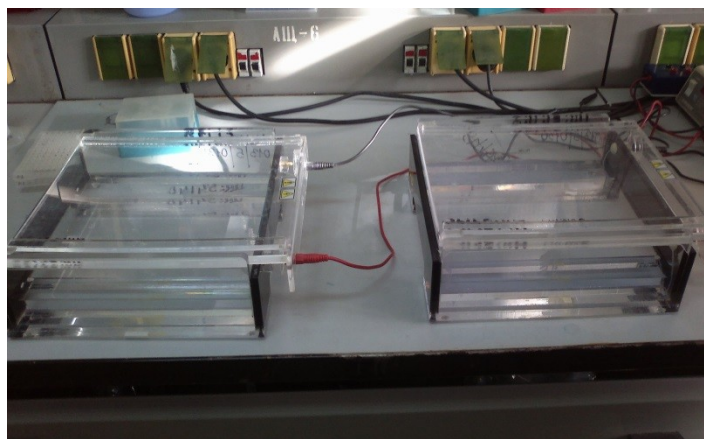
2-rasm. Maxsus boks xonada gaz gorelkasi yordamida ishlash

Avtoklav- probirkalar, qopqoqlar, pinset, qaychi, skalpel, predmet oynasi, mikroigna, kolbalar va boshqa ish jihozlari sterillanadi. 2-3 atmosfera bosimida 20-30 daqiqa.



3-rasm. Avtoklav

Elektroforez qurilma- DNK molekulalarini agaraza gelida o'rganish, oqsillar gelfiltratsiya qilishda ishlatiladi.



4-rasm. Elektroforez qurilma

Sentrifuga- hujayra organoidlarini yuqori tezlik aylanmasida turli qatlamlarga ajratib olishga asoslangan.



5-rasm. Turli xil tipdagi stol sentrifugalari.



6-

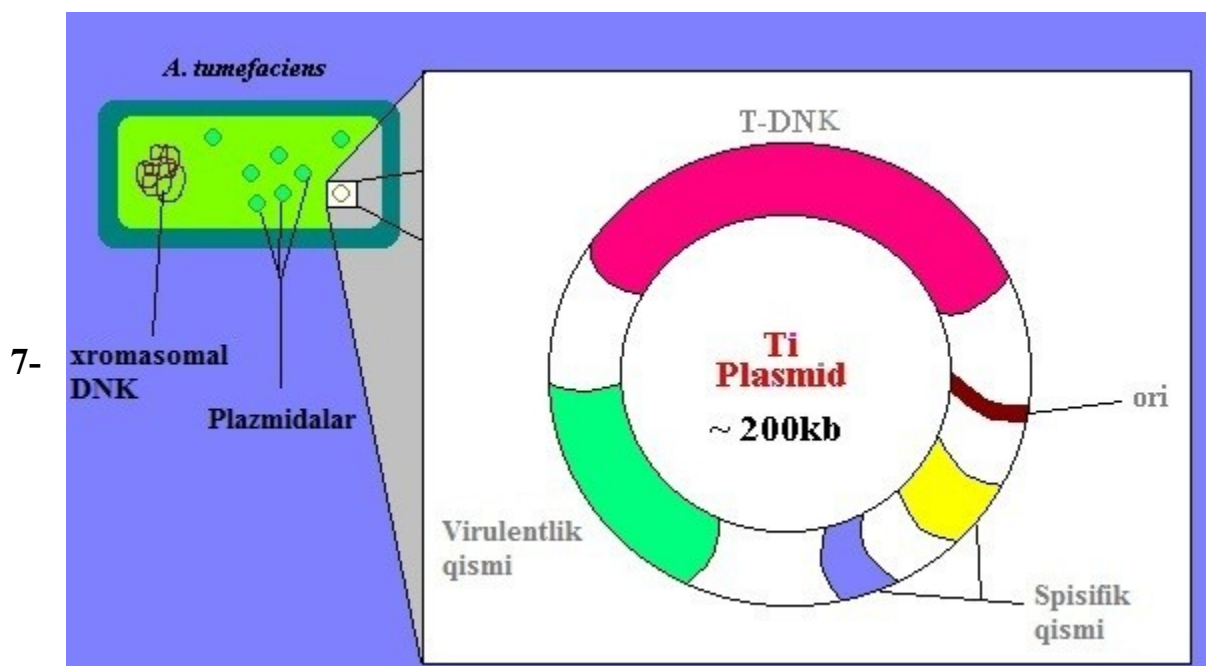
rasm. Suv hammom
Laboratoriya asbob —

uskunalarining vazifalarini yozing

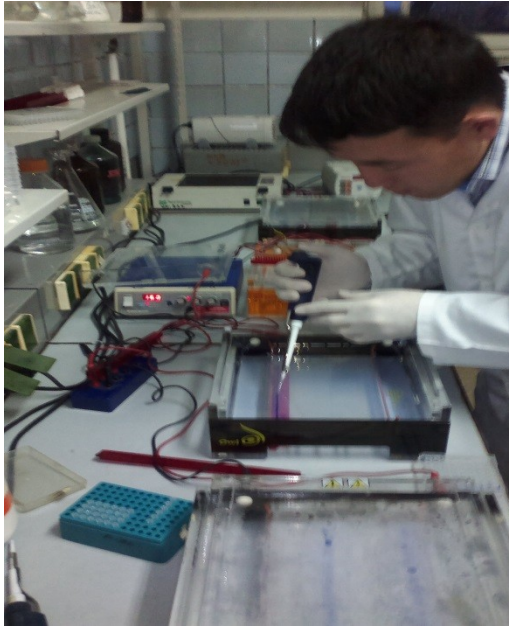
Laboratoriya asbob –uskunalar	Vazifalari
Laminar boks	

Avtoklav	
Mikroskop	
Ionomir	
Avpomidor-samplerlar	
Bakteriotsid lampa	
Termostat	

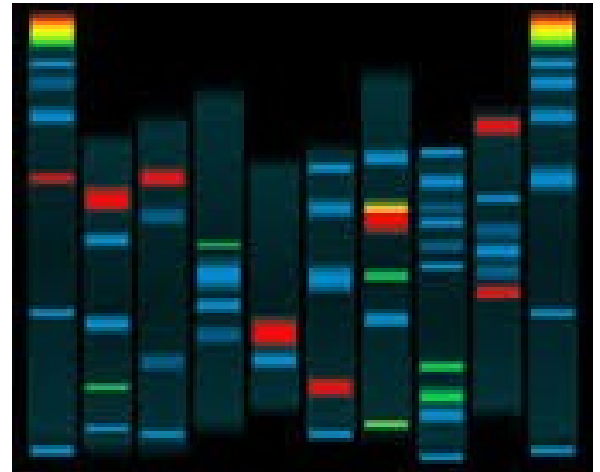
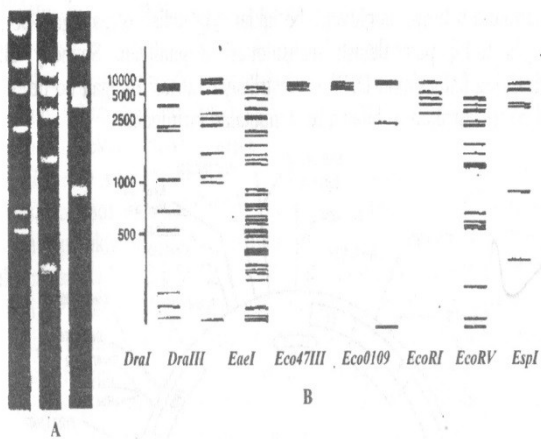
Bakteriya hujayrasidan plazmid DNKsini ajratish



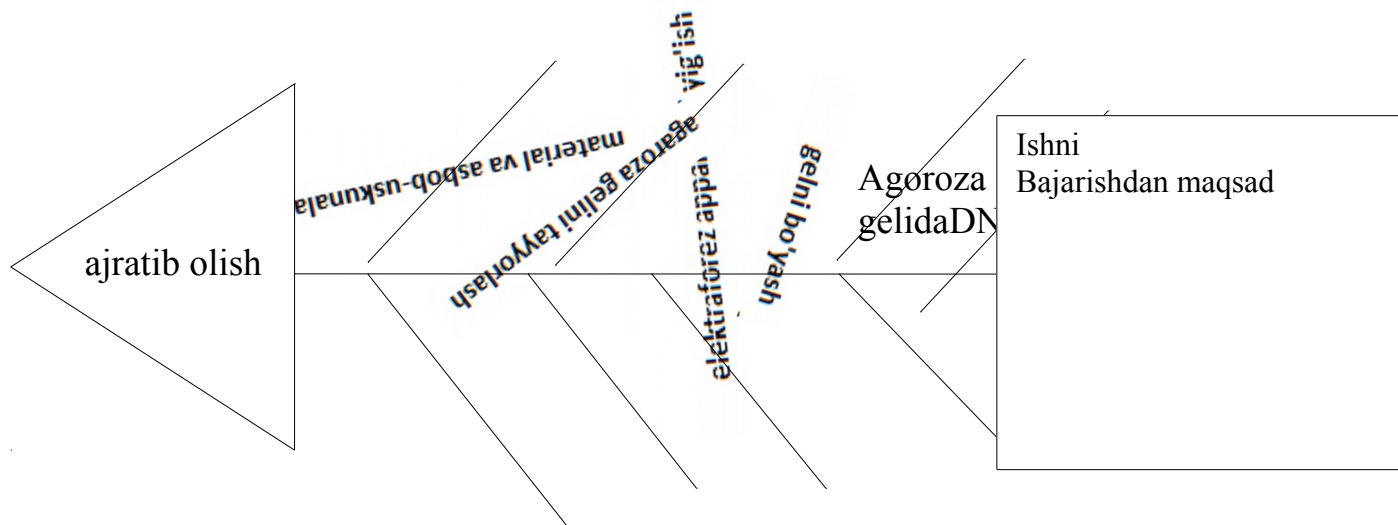
rasm. *A. tumefaciens* hujayrasi va plazmidalari



8-rasm. *Elektroforez qurilmasida ishlash.*



9-rasm. DNK bo'laklarini bo'yalishdan oldingi va keying holatlari
Quyidagi baliq skeliti sxemasidan foydalani savollarga javob bering



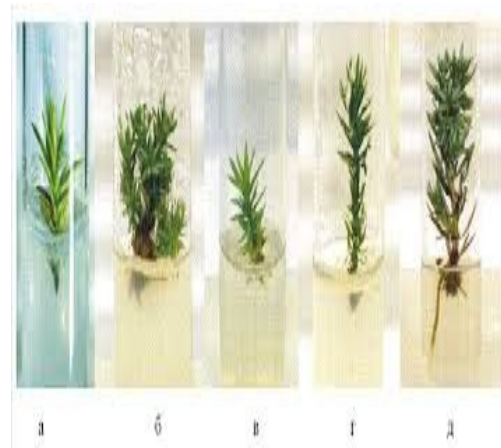
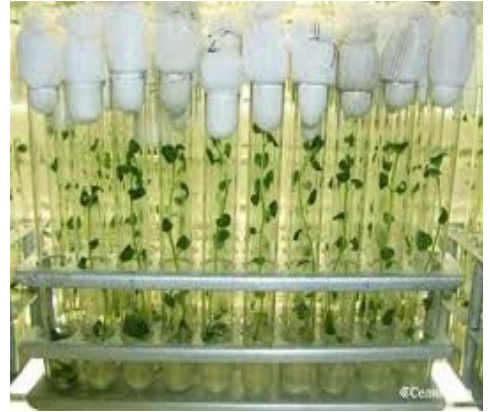


10- rasm. Kartoshka meristemasini ozuqa muhitlarida o'stirish orqali olingan kallus to'qimalar.

Nazorat savollari:

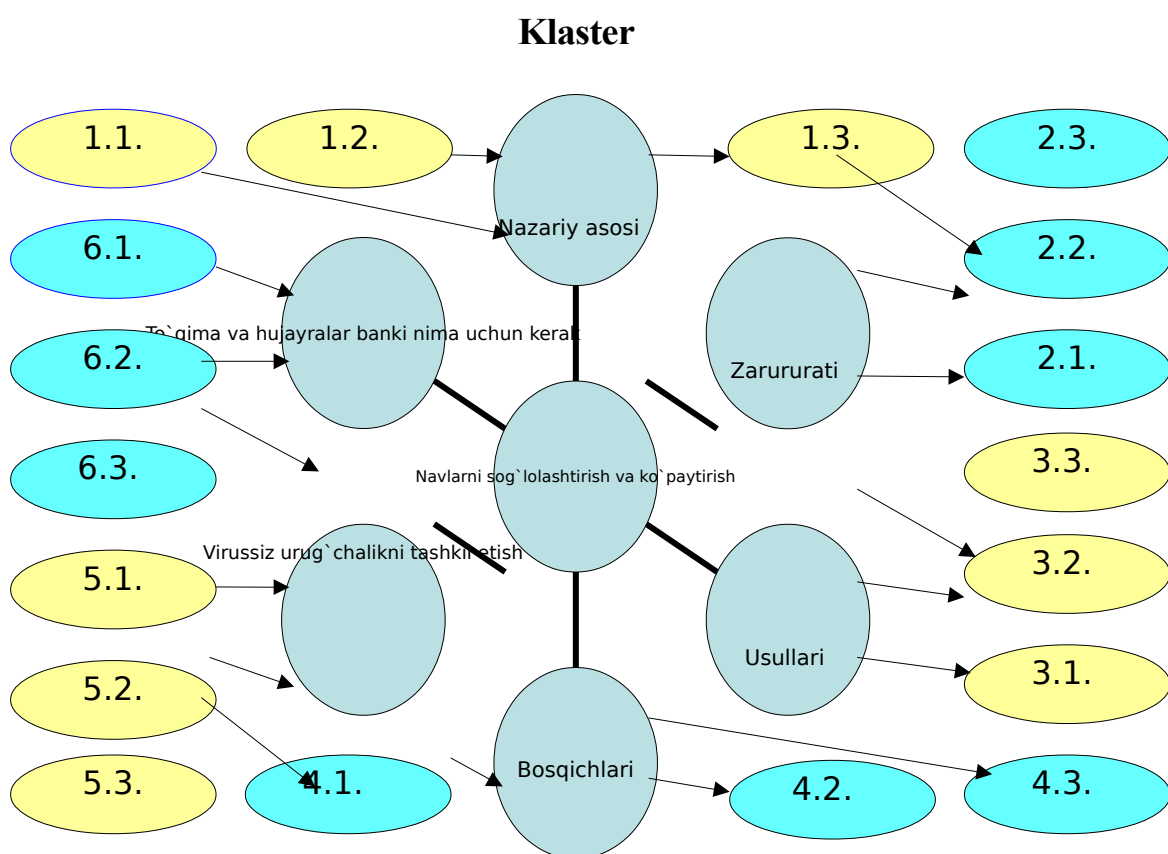
1. Kartoshka apekal meristemasini ajratish va o'stirishda qanday laboratoriya anjomlari kerak bo'ladi.
2. Kartoshka apekal meristemasini ajratish qanday tartibda amalga oshiriladi.
3. Kartoshka apekal meristemasini ajratishda materiallar qanday serillanadi.
4. Ajratilgan meristemalarni ozuqa muhitiga ekish qanday amalga oshiriladi.
5. Quyidagi topshiriqni bajaring. Mikroklanal ko'paytirishning boshqa usullardan afzallik tomonlarini FSMU asosida tushintiring.

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



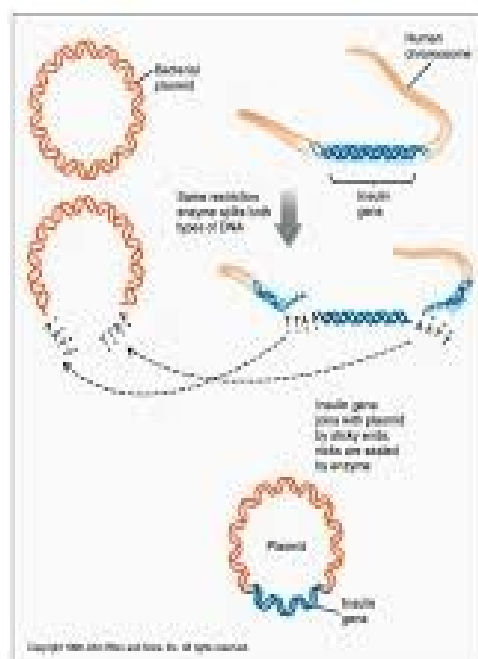
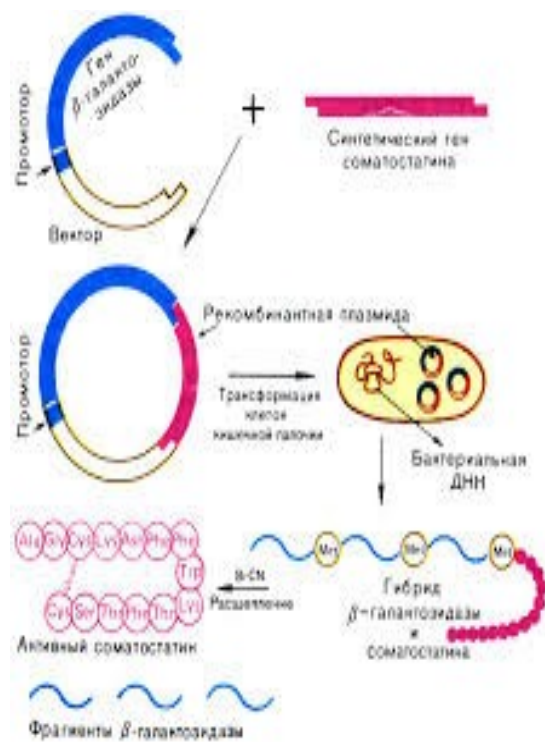
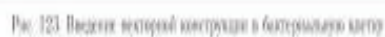


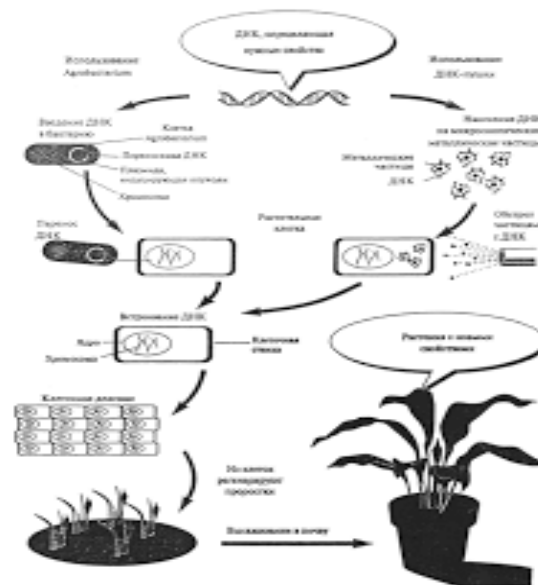
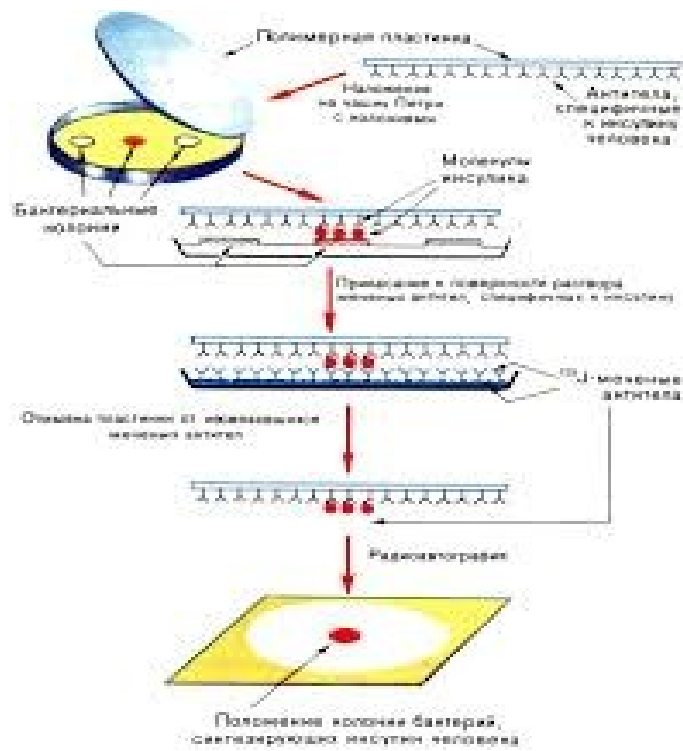
11-rasm. Klonal mikroko`paytirish











IV. Testlar

“Gen muhandisligi fani” (242 -soat)

№1 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Nuklein kislotalar qachon va kim tomonidan kashf etilgan?
*1868 y. F. Misher
1970 y R. Guk
1971y T. SHvann
1978 y Urken

№2 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Gen bu -
*Bitta polipeptid zanjir kodlovchi DNK uchastkasi
Hujayradagi barcha DNKlarining yig‘indisi
Hujayradagi barcha DNKlarining yig‘indisi
Genning kodlanmaydigan qismi

№3 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

<i>Triplet nima?</i>
*Bitta aminokislotani kodlaydigan, uchta nukleotiddan iborat izchillik
Bu genning kodlanmaydigan qismi
xujayradagi DNKlar yig‘indisi
Ko‘chib yuruvchi genetik elementlar

№4 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Restriktaza qanday ferment?
*DNKni malum saytni gidrolizlovchi
Oligonukleotidlarni gidrolizlovchi ferment
Oligonukleotidlarni bog‘lovchi ferment
DNKni modifikasiyalovchi ferment

№5 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

RNK-polimeraza qanday ferment?
*Ribonukleozidtrifosfatdan RNKni sintezlovchi ferment.
RNKni modifikasiyalovchi ferment.
RNKni gidrolizlovchi ferment
RNKni polimerizasiyalovchi ferment.

№6 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarning monomeri bu-
*Aminokislotalar
Nukleosomalar
Nukleotidlar
Uglevodlar

№7 Fan bobi-1; Fan bo’limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Nukleotidlar – _____ ning monomeridir
*Nuklein kislotalar
Oqsillar
Yog‘lar
Uglevodlar

№8 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oddiy oqsillar _____ dan tashkil topgan
*Faqat aminokislotalar
Lipidlar va aminokislotalar
Uglevodlar va aminokislotalar
Metallar va aminokislotalar

№9 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

RNKning necha turi mavjud?
*3
4
5
2

№10 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Replikatsiya deb _____ ga aytiladi
*DNK sintezi.
RNK sintezi
Yog‘larning sintezi
Oqsil sintezi

№11 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Biopolimer molekulalarga quyidagilar kiradi:
*Oqsillar, uglevodlar, nuklein kislotalar
Yog‘lar, lipidlar
Monosaxaridlar, xolesterinlar
Tuzlar disaxaridlar

№12 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Kimyoviy tabiatiga ko‘ra ferment – bu:
*Oqsil
Uglevod
Lipid
Metall

№13 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Protoplastlarni ajratishda qanday usul samarali?
*Fermentativ

Mexanik
Kimiyoviy
Fizik-kimiyoviy

№14 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Epidermis nima?
*O'simlik bargini tashqi yupqa devoriyplenkali qatlam
Xujayra devori
Protoplast
Xujayra membranasi

№15 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi- 3;

DNKni denaturasiyasi necha xaroratda olib boriladi?
*95°C
40 °C
72 °C
60 °C

№16 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Denaturlangan DNK bilan praymer necha xaroratda inkubasiya qilinadi?
*60 °C
40 °C
72 °C
95 °C

№17 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

DNKni polimerizatsiya reaksiyasi necha xaroratda olib boriladi?
*72 °C
40 °C
60 °C
95 °C

№18 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Irsiyat birligi DNKni bir organizmdan boshqasiga o'tqazish strategiyasini kim ishlab chiqqan ?
*Stenli Koen va Gerbert Boyer 1973 y
Uotson, Krik 1972 y
M.M.SHemyakin va YU.Ovchov-nikov 1970 y
M.Bayernik 1938 y

№19 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Intron va ekzonlar _____ da bo'lmaydi
*Bakteriyalar
O'simliklar

Xayvonlar
Achitqilar

№20 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Patogen organizmni geni kodlaydigan maxsulot nima uchun zarur?
*Organizmni hayoti va faoliyatini ushlab turish
Xujayrani ko'payishi
To'qimaga invaziya bo'lishi
Antimikrob moddalarni inaktivatsiyasi

№21 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Zamburug' hujayralaridan protoplastlar olish uchun nima ishlatiladi?
* Ulitka fermenti
Pepsin
Tripsin
Lizosim

№22 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Bakteriofag bu
*Bakteriyalar
Uglevodlarni bog'lovchi
DNKni ulash uchun
Xujayra

№23 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Oqsilar denaturatsiyasi bu-
*Oqsilning natv xolatining yo'qotilishi
Oqsil molekulasida qo'shimcha guruxlarning paydo bo'lishi
Oqsilning nativ xolatining tiklanishi
Oqsillar molekulasida lipidli guruxlarning paydo bo'lishi

№24 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Mutagenlar —
*Mutatsiyalar xosil bo'lish chastotasini oshiruvchi fizik, kimyoviy yoki biologik agentlar
Bir avloddan jinssiz yo'l bilan hosil bo'lgan genetik bir hil hujayralar
Turli avlodlardan xosil bo'lgan xujayralar
Bir xil avloddan xosil bo'lgan genetik har hil hujayralar

№25 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Replikatsiya nima?
*Mavjud DNKdan nusxa olish
Mavjud genni o'zgartirish
RNK sintezi

Oqsil sintezi

№26 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transkripsiya bu
*RNK sintezi
Oqsillar sintezi
DNK sintezi
Uglevodlar sintezi

№27 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsil _____ da sintezlanadi
*Ribosoma
Xromosoma
Mitoxondriya
Xujayra devori

№28 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Translyasiya bu
*Oqsil biosintezi
DNK sintezi
RNK sintezi
Uglevodlar sintezi

№29 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2

Mutatsiya —
*Genetik materialning o'zgarishi
Jinssiz yo'l bilan xosil bo'lgan xujayra
DNK tarkibidagi ma'lum bir qismlarning bir-biriga to'g'ri kelishi
DNK zanjirining tiklanishi

№30 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Restriktazalar nimalardan olinadi?
*Mikroorganizmlardan
Sut emizuvchilardan
O'simliklardan
Baliqlardan

№31 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Klon nima?
*Bir gendan nusxa olingan genlar nusxasi to'plami
Rekombinant xujayra
Transgen xujayra
Antibiotikka chidamli bakteriyalar shtammi

№32 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Qanday o'simlik transgen o'simlik deb ataladi?
*Genomiga qo'shimcha gen kiritilgan
Xujayrasida plazmidasi mavjud bo'lgan
O'zining nasliy belgilarini saqlab qoluvchi
Genetik jarayonlari sekinlashtirilgan

№33 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Restriktaza fermenti DNKni quyidagi tamoyil asosida tanib kesadi:
*5-6 juft nukleotidlar izchilligini tanib kesadi
11-12 juft nukleotidlar izchilligini tanib kesadi
2-3 juft nukleotidlar izchilligini tanib kesadi
10-20 juft nukleotidlar izchilligini tanib kesadi

№34 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Gen-marker usuli nima uchun zarur?
*Rekombinantlarni aniqlash uchun
Xujayradagi biologik jarayonlarni tezlashtirish uchun
Rekombinant DNKning faolligini oshirish uchun
Genlarni fermentlar bilan kesish uchun

№35 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Ligazalar _____ reaksiyasini katalizlaydi:
*Substratning molekulalarini biriktirish
Suv ishtirokida polimerlarni parchalash
Oksidlanish-qaytarilish
Guruxlarni ko'chirish

№36 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Biopolimer molekulalarga _____ lar kiradi:
*Oqsillar, uglevodlar, nuklein kislotalar
Yog'lar, uglevodlar, monosaxaridlar
Lipidlar, uglevodlar, nuklein kislotalar
Glyukoza, yog'lar, oqsillar

№37 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarning monomeri bu-
*Aminokislotalar
Nukleosomalar
Nukleotidlar
Uglevodlar

№38

Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Nukleotidlar – _____ ning monomeridir
*Nuklein kislotalar
Oqsillar
Yog'lar
Uglevodlar

№39 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oddiy oqsillar _____ dan tashkil topgan:
*Faqat aminokislotalar
Lipidlar va aminokislotalar
Uglevodlar va aminokislotalar
Metallar va aminokislotalar

№40 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Polipeptidlar _____ natijasida hosil bo'ladi:
*Bitta aminokislotalarning amino-guruxi ikkinchi amino-kislotalarning karboksil guruxi bilan birlashishi
Ikkita aminokislotalarning aminoguruxlarning birikishi;
Ikkita aminokislotalarning karboksil guruxlari birlashishi
Bir organizm aminokislotalarining boshqa organizm aminokislotalari bilan birikishi

№41 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

DNKning tarkibi _____ lardan iborat:
*Fosfat kislota, Dezoksiriboza, Adenin, Guanin, Sitozin, Timin
Sulfat kislota, Riboza, Adenin, Guanin, Sitozin, Uratsil
Xloridkislota, Riboza, Adenin, Guanin, Sitozin, Timin
Fosfat kislota, Adenin, Guanin, Sitozin, Uratsil

№42 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Suvda eruvchan oqsillar _____ deb ataladi
*Albuminlar
Globulinlar
Sitozinlar
Miozinlar

№43 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNK replikasi mexanizmi _____ hisoblanadi
*Yarimkonservativ
Konservativ
Konservati emas
Komplementar

№44 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNKdagi RNK polmeraza bog'lanadigan joy _____ deyiladi
*Promotor
Kodon
Sayt
Dupleks

№45 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Oqsil biosintezida tRNKni roli
*Ribosomani amino kislotalar bilan taminlaydi
Ribosomaning tashkiliy elementi xisoblanadi
Nuklein kislotalarni aktivlaydi
Nukleotidlarni ribosomaga tashib keladi

№46 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transkripsiya natijasida _____ xosil bo'ladi
*RNKning barcha tiplari
DNK
uglevodlar
Oqsillar

№47 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillar sintezi _____ deb ataladi
*translyasiya
transkripsiya
replikatsiya
terminatsiya

№48 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Initsiatsiya kodoniaminokislotasini kodlaydi:
*metionin
asparagin
lizin
Glutamin

№49 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

RNK tarkibiga _____ kirmaydi:
*timin
Adenin
Sitozin
uratsil

№50 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Adenin va timin orasida nechta vodorod bog'i xosil bo'ladi?

*kkita
uchta
bog‘ hosil qilmaydi
bitta

№51 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNK zanjirida guanin va sitozin orasida nechta vodorod bog‘i hosil qiladi
*uchta
ikkita
bog‘ hosil qilmaydi
bitta

№52 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Ribosoma qayerda sintezlanadi?
*yadrochada
Vakuolada
Mitoxondriyada
sitoplazmada

№53 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Yadro qobig‘i nechta membranadan tashkil topgan?
*ikkita
Uchta
Beshta
bitta

№54 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Xujayraning asosiy DNKsining 99% i qayerda joylashgan?
*yadroda
Membranada
Vakuolada
sitoplazmada

№55 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Nuklein kislotalar qachon va kim tomonidan kashf etilgan?
*1868 y. F. Misher
1970 y. R. Guk
1971y. T. Shvann
1978 y. Urken

№56 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Ribosoma nechta subbirlikdan tashkil topgan ?

*ikkita
Beshta
Uchta
oltita

№57 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Tabiatda xujayraga kirgan begona DNK xujayraning _____ fermenti tomonidan parchalab tashlanadi.
*restrikta
Metilaza
Ligaza
transkriptaza

№58 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Transformatsiya nima?
*bir organizmning boshqa organizm genetik axborotning bir o'ziga biriktirib olishi
Bitta triplet yordamida bir nechta aminokislotalarning kodlanishi
genning kodlanmaydigan qismi
reparatsiyadan so'ng DNKning tiklanishi

№59 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Gen bu-
*bitta polipeptid zanjir kodlovchi DNK uchastkasi
xujayradagi barcha DNKlarining yig'indisi
xujayradagi barcha DNKlarining yig'indisi
genning kodlanmaydigan qismi

№60 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Genom bu-
*Xujayradagi barcha DNKlarining yig'indisi
Bu genning kodlanmaydigan qismi
Bir organizmning boshqa organizmning ba'zi belgilarini o'ziga yozib oladigan joy
Ko'chib yuruvchi genetik elementlar

№61 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Promotor
*DNKning RNK polimeraza bilan bog'lanadigan joyi
Bu genning kodlanmaydigan qismi
xujayradagi DNKlar yig'indisi
Ko'chib yuruvchi genetik elementlar

№62 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

YUqori molekulyar polimer moddalarning molekulyar og'irligini aniqlash usullari bu
*Sedimentatsiya, elektroforez, xromotografiya
Elyuatsiya, refraktometr
flotatsiya, spidometr
Filtratsiya, blot gibridizatsiya

№63 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Triplet nima?
*Bitta aminokislotani kodlaydigan, uchta nukleotiddan iborat izchillik
Bu genning kodlanmaydigan qismi
xujayradagi DNKlar yig'indisi
Ko'chib yuruvchi genetik elementlar

№64 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Transpozonlar
*Ko'chib yuruvchi genetik elementlar
bitta aminokislotani kodlovchi izchillik
DNK bo'linishini amalga oshiradigan joy
DNK molekulalarning yig'indisi

№65 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Vektor-bu
*Xo'jayin xujayrada avtonom xolda tarkibida begona genlarning replikasiyasini amalga oshiruvchi DNK molekulasi
<i>Xujayrada yog'lar sintezini boshqaruvchi ketma-ketlik</i>
Bitta aminokislotani kodlaydigan uchta nukleotidlar izchilligi
Genlarning kodlan-maydigan qismi

№66 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNK va vektorlar _____ fermenti yordamida kesiladi
*Restriktaza
RNK polimeraza
DNK ligaza
Topoizomeraza

№67 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Translyasiyada elongatsiya jarayoni bu
*Polipeptid zanjirining uzayishi
oqsil sintezining boshlanishi
Oqsil sintezining boshlanishi
aminokislotalarning tRNKga ulanishi

№68 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

<u>Terminator</u> - <i>bu</i>
*Transkripsiya jarayoning oxiriga etganini bildiruvchi DNK nukleotidlarning o'ziga xos ketma-ketligi
Rekombinatsiya jarayoning oxiriga etganini bildiruvchi DNK nukleotidlarning o'ziga xos ketma-ketligi
polimerizatsiya jarayoning oxiriga etganini bildiruvchi DNK nukleotidlarning o'ziga xos ketma-ketligi
Oqsil sintezi boshlaniganligini bildiruvchi ketma-ketlik

№69 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Kapsid nima?
*virusning oqsil qobig'i
plazmidaning tashqi membranasi
O'simliklarni himoyalovchi qoplam
Bakteriyalarning fermenti

№70 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

RNKning necha turi mavjud?
*3
4
6
5

№71 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transpozonlar kim tomonidan kashf etilgan?
*Barbara Mak-Klintok
Pol Berg
Frederik Senger
L. Paster

№72 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Tripletlarning hosil bo'lish imkoniyati:
*64ta
28ta
72ta
98ta

№73 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Replikatsiya deb _____ ga aytiladi
*DNK sintezi
RNK sintezi

yogʻlarning sintezi
oqsil sintezi

№74 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Biopolimer molekulalarga quyidagilar kiradi:
*oqsillar, uglevodlar, nuklein kislotalar
Yogʻlar, lipidlar
Monosaxaridlar, xolesterinlar
tuzlar, disaxaridlar

№75 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Kimyoviy tabiatiga koʻra ferment – bu:
*oqsil
uglevod
lipid
metall

№76 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Escherichia coli dan ajratilgan restriktaza
*Eco
Hind,
Bam
Bsu

№77 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNKni ulashda eng koʻp ishlatiladigan usul
*restriktaza-ligaza
konnektor
linkerni qoʻllash
komplementarlik

№78 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Bakteriya xujayralari uchun marker sifatida _____ xujayralaridan foydalaniladi
*antibiotiklar
laktozalar
Timidinkinazalar
lizotsim

№79 Fan bobi-1; Fan boʻlimi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Intron va ekzonlar _____ da boʻlmaydi
*bakteriyalar
oʻsimliklar

Xayvonlar
achitqilar

№80 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Xujayralar muxandisligi
*kulturalash, duragaylash va rekonstruksiyalash asosida yangi tipdagi xujayralarni konstruksiyasini yaratish usuli
Bir organizmning genini ajratib boshqa organizmga o'tkazish usullari
Duragay DNK yaratish usullari
Bakteriyaga genni kiritish usuli

№81 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Restriksiya —
*kerakli genlarni «qirqish»
Vektorni bakteriyaga kiritish
Tirk xujayralarda xosil bo'ladigan modda
ba'zi elementlar bir necha marta takrorlangan DNK bo'lgan

№82 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Gen muxandisligi-
*Bir organizm genomidan kerakli genini ajratib boshqa organizm genomiga kiritish imkoniyatini beruvchi usullar majmuasi
*kulturalash, duragaylash va rekonstruksiyalash asosida yangi tipdagi xujayralarni konstruksiyasini yaratish usuli
Xujayralarning transformatsiyalanish xususiyatini amalga oshirish usullari
Xujayra qobig'ini parchalash usullari

№83 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transformatsiya bu
*vektorni bakteriyaga kiritish
Kerakli genlarni «qirqish»
DNKni xujayradan ajratish
RNKdan DNK sintez qilish

№84 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Bakteriofagbu
*bakteriyalar virusi
Uglevodlarni bog'lovchi oqsillar
DNKni ulash uchun ishlatiladigan ferment
Xujayra metaboliti

№85 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Ribosomaning kichik subbirligining o'lchami
*30 S

50 S
20 S
16 S

№86 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Genlar banki (bibliotekasi) bu
*Rekombinant DNK tarkibidagi mazkur organizmning to'liq genlari to'plami
Genlarning informatsiyasini tutuvchi RNK
Virusning oqsil qobig'i
genetik bir xil genlar guruxi

№87 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Renaturatsiya bu
*DNK molekulasiining fazoviy strukturasining tiklanishi
DNK molekulasiining ikkiga ko'payish jarayoni
Izolyasiyalangan DNK yordamida DNK informatsiyasini ko'chirish
Ixujayraniing irsiy o'zgarishini amalga oshirish

№88 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Mutagenlar —
*mutatsiyalar xosil bo'lish chastotasini oshiruvchi fizik, kimyoviy yoki biologik agentlar
bir avloddan jinssiz yo'l bilan hosil bo'lgan genetik bir hil hujayralar
Turli avlodlardan xosil bo'lgan xujayralar
Bir xil avloddan xosil bo'lgan genetik har hil hujayralar

№89 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Mutatsiya —
*genetik materialning o'zgarishi
Jinssiz yo'l bilan xosil bo'lgan xujayra
DNK tarkibidagi ma'lum bir qismlarning bir-biriga to'g'ri kelishi
DNK zanjirining tiklanishi

№90 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Nukleazalar —.
*nuklein kislotalar molekulasini parchalovchi fermentlar
DNK sintezini amalga oshiradigan fermentlar
DNK spiralini ochuvchi fermentlar
RNKning ikkinchi zanjirini hosil qiluvchi fermentlar

№91 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

DNK reparatsiyasi —
*Strukturasi buzilgan DNK ning birlamchi 1strukturasini tiklash
DNK si o'zgartirilgan xujayra olish

DNK strukturasida qo‘shimcha molekulalar xosil qilish
DNK molekulasining ikkiga ajralishi

№92 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

SHTamm —
*bir xujayradan ko‘paygan xujayralar tizimi
YAdrosiz hujayralar
Turli organizmdan olingan xujayralar tizimi
Viruslar yordamida parchalangan bakteriya xujayrasi

№93 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Eukariotlar —
*hujayrasi yadro tutuvchi organizmlar
Xujayrasida yadrosi bo‘lmagan organizmlar
Xujayrasida oqsil sintezi bo‘lmagan organizmlar
Xujayrasi mitoxondriya tutmaydigan organizmlary

№94 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsilni tuzilishi bo‘yicha malumotni _____ beradi
*informacion RNK
t-RNK
pibosomaRNK
transpozonlar

№95 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Bakteriy hujayrasiga recombinant plasmidani kiritish _____ deyiladi
*transformaciya
Ligirlash
skrining
restikciya

№96 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Ligirlash bu
*DNK fragmentini plazmidaga kiritish va yopishqoq uchlarni tikish
Transformaciylanganbacteriyni tanlash
Recombinant plasmidani bakteriya kiritish;
DNKni ajratish

№97 Fan bob-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Bir organizmdan malumotlarni ikkinchi organizmga kiritish uslublar majmuasi
*Gen injeneriyasi
Hromosoma injeneriyasi
Hujayra injeneriyasi

geterozis

№98 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Gen injeneriyasi ni paydo bo'lgan yil
*1972
1970
1974g
1982

№99 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Replikatsiya nima?
*mavjud DNKdan nusxa olish
mavjud genni o'zgartirish
RNK sintezi
Oqsil sintezi

№100 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transformachiyalangan bakteriy klonini _____ tanlash
*skrining
Transformaciy
Ligirlash
restikciy

№101 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Gen injenerligini asoschisi
*Pola Berga
Verner Alber
Fisher
Govard Temin

№102 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Qaysi usul yordamida virussiz o'simlik olinishi mumkin
* Meristema hujayralarini sun'iy muhitda ustirish
O'simliklarni genomini o'zgarishkiritish
O'simlikni vaksinasiya qilish
O'simliklarni o'zaro gibridini olish

№103 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillar shakliga ko'ra _____ bo'ladi
*Fibrilyar va globulyar.
Birlamchi va ikkilamchi.
Protein va proteid

Katalitik va struktura

№104 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik protoplastini kim va qachon ajratib olgan?

*1892, Dj. Klerker

1932, I. Tokabe

1838, R. Guk

1900, T. SHvann

№105 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Terminasiya

*Makromolekulalarni sintezini to'gallanishi

DNKni parchalanishi

RNKni parchalanishi

Oqsillarni gidrolizlanishi

№106 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Hujayra kulturasi usullarini rivojlanish davrini aniqlang

*30 yillar

20 yillar

40 yillar

70 yillar

№107 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Fermentlar yordamida yoki mehanik usulda hujayra qobig'idan ayrilgan o'simlik hujayrasi organoidi

*ajratilgan protoplast

Inokulyum

SHtamm

Eksplantat

№108 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Bitta hujayradan hosil bo'lgan to'qima
--

*Kallus

SHtamm

Inokulyum

Klon

№109 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Qaysi subhujayra strukturalarida oqsil sintezi ketadi?
--

*Ribosoma

Yadro

Hujayra membranasi
Golji apparati

№110 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Quyida keltirilganlardan qaysilari nuklein kislotalarda uchraydi? a) timin;b) tiamin; v) arginin; g) sistein; d) urasil; ye) adenin; j) guanin; z) sitozin
*Timin, urasil, adenin, guanin, sitozin
Timin, tiamin, arginin, guanin, sitozin
Tiamin, arginin, sistein, urasil, sitozin
Arginin, sistein, adenin, sitozin

№111 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Biokimyo qonuniyatlari?
*Tabiat qonuniyatlaridir
Molekulyar mantiq qonuniyatlaridir
Fizik-kimyoviy qonuniyatlardir
Fizik qonuniyatlardir

№112 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Har bir t-RNK o'zining antikodon qismiga ega. SHuni bilgan hujayrada nechta t-RNK uchraydi? Oqsil sintezida nechta t—RNK qatnashadi?
*20 dan ortiq
20
16
18

№113 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Mikroorganizmlar gen injeneriyasida vektor sifatida qaysi molekulalar ishlatiladi?
*Plazmidalar
i—RNK
Viruslar DNK va RNKasi
Faglar nukleoidlari

№114 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Nechta kodon oqsil sintezi jarayonida aminokislotalarga kodlana oladi?
*20
64
61
5

№115 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarning birlamchi strukturasi qaysi bog' hisobiga hosil bo'ladi?
*Peptid bog'i
Vodorod bog'i

Disulfid bog'i.
Efir bog'i

№116 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

O'rni qoplanmaydigan aminokislotalar bular...?
*Organizmدا sintezlanmaydigan va boshqa tur oziq ovqat maxsulotlaridan qabul qilinadigan aminokislotalar
Aromatik aminokislotalar
Organizmدا sintezlanadigan aminokislotalar
Geteratsiklik aminokislotalar

№117 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillar biosintezi quyidagi bosqichlardan iborat:
*DNK-RNK-oqsil
Aminokislota-nuklein kislotalar-oqsil
Uglevod-aminokislota-oqsil
RNK-lipid-oqsil

№118 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Rekombinat DNK-larni olishdaqanday ferment qirqish uchun ishlatiladi?
*Restriktaza
Revertaza
Lipaza
Nukleaza

№119 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsil gidrolizlanganda nima hosil bo'ladi?
*20 xildagi turli xil aminokislotalar hosil bo'ladi
Azotli asos hosil bo'ladi
Noorganik kislotalar hosil bo'ladi.
Organik kislotalar hosil bo'ladi.

№120 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsil biosintezi xujayra _____ boradi?
*Ribosomasida
Organoidlarida
Xloroplastida
Tsitoplazmasida

№121 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarning tarkibiy elementlari...
*Uglerod, Kislrorod, Azot, Vodorod, Oltingugurt
Uglerod, Fosfor, Kislrorod, Vodorod, Kaliy

Uglerod, Magniy, Azot, Vodorod, Oltingugurt
Uglerod, Kislorod, Kalsiy, Vodorod, Oltingugurt

№122 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Denaturatsiya nima?
*Ular yuqori temperatura, kuchli kislota va ishqorlar ta'sirida tabiiy "nativ" xususiyatini yo'qotishidir
Oqsil moddalarni eritmalarda erishiga aytilad
Oqsillarni strukturalariga aytiladi
Oqsillarni aminokislota tarkibiga aytiladi

№123 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transgen o'simlik yaratishda fitogormonlar qanday maqsadda qo'llaniladi?
*O'simlik hujayrasini o'sishini tezlashtirish
O'simlikgenomidajoylashtirilgannito'g'riyo'naltirish
RNK sintezini kuchaytirish
Transgen hujayralar sonini ko'paytirish

№124 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Qaysi usul yordamida somatik hujayralardan hayvon organizmini tiklash mumkin?
*Somatik hujayrani inaktivasiyaga uchragan jinsiy hujayra bilan birlashtirish yordamida;
Somatik hujayralarni sun'iy muhitda ko'paytirish yordamida;
Somatik hujayrani embrion bilan ko'shish yordamida
Transformasiyaga uchragan hujayralarni ko'paytirish yordamida

№125 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Transgen hayvonlar yaratishda qaysi strukturalarni vektor sifatida qo'llash mumkin?
*Viruslar
Plazmidalar
Yadro DNK-si
RNK

№126 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'rni qoplanmaydigan aminokislotalar bular...?
*Organizmdagi sintezlanmaydigan aminokislotalardir
Geterotsiklik aminokislotalardir
Organik kislotalardir
Aromatik aminokislotalar

№127 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Monoklonal antitelalar qanday texnologiya asosida olinadi?
--

*Gibridom texnologiya asosida
Biokatalitik jarayonlarni stimullash asosida
Ajratilgan protoplastlar qo'shilishi asosida
Hujayralar klonini yaratish texnologiyasi asosida

№128 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Gibridom texnologiya asosida qanday antitelalar olinadi?
*Monoklonal antitelalar
Nishonlangan antitelalar
Poliklonal antitelalar
Vidga kirish antitelalar

№129 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillar shakliga ko'ra _____ bo'ladi
*Fibrillar va globulyar.
Birlamchi va ikkilamchi.
Protein va proteid
Katalitik va struktura

№130 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Turli kasalliklar diagnostikasida zamon talabiga javob beradigan testni ko'rsating?
*Immunoferment testlar
Presipitasion testlar
Agglyutinasion testlar
Diffuzion testlar

№131 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Biuret reaksiyasida oqsil eritmasiga _____ va _____ ta'sir ettirilib, _____ hosil qilinadi
*NaOH va CuSO ₄ , ko'k-binafsha rang
NaOH va NaCl, ko'k rang
NaOH va CuSO ₄ , sariq rang
HNO ₃ va temperatura, sariq rang

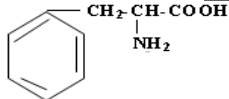
№132 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Genetik kod universalligi bu –
*Yerdagi barcha tirik mavjudotlar uchun yagona kodning mavjudligi;
Ikkita aminokislotaning aminoguruxlarning birikishi
Ikkita aminokislotaning karboksil guruxlari birlashishi
Bir organizm aminokislotasining boshqa organizm aminokislotasi bilan birikishi

№133 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Ma'lum pH muhitda oqsil zaryadining neytral holatga kelishi?
*Oqsilningizoelektrik nuqtasi deyiladi
Oqsilning denaturatsiyasi deyiladi
Oqsilning biologik funktsiyasi deyiladi
Oqsilning gidrolizi deyiladi

№134 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Oqsil tarkibidagi aminokislotani umumiy formulasini belgilang?
$\begin{array}{c} \text{R} \cdots \text{CH} \cdots \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} \quad \text{R - radikal}$
$\begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$


№135 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarning eng muhim biologik funksiyalariga ko'ra necha xil bo'ladi?
*7
6
5
4

№136 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsil tarkibiga kiruvchi 20 xil aminokislotalar kimyoviy strukturasiga ko'ra bir-biridan radikal qismi bilan farq qiladi va asosiy nechta sinfga bo'linadi?
*6
5
4
7

№137 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Agarda oqsil molekulasida erkin karboksil gruppalarining soni, erkin amin gruppalarining sonidan ko'p bo'lsa u holda oqsil molekulasining umumiy zaryadi (...) bo'ladi
*Manfiy (-)
Neytral (+) va (-)
Musbat (+)
(0) ga teng

№138 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Gen muhandisligida bakteriofag λ qo'llashning qanday afzalliklari bor?
*Vektor sifatida kiritish oson, DNK kiritish mumkin bo'lgan katta qismga ega
Katta qulaylikka ega
Vektor sifatida kiritish oson
DNK kiritish mumkin bo'lgan katta qismga ega

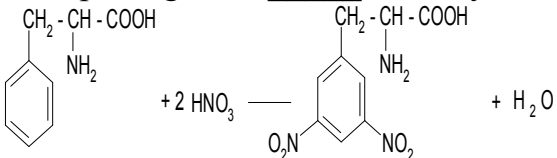
№139 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Murakkab oqsillar oqsil bo'lmagan qismining tarkibiga ko'ra ular quyidagicha?
*Lipoproteidlar, xromoproteidlar, nukleoproteidlar, glikoproteidlar , fosfoproteidlar
Proteidlar, glikoproteidlar, fosfoproteidlar, nukleotidlar, fermentlar
Lipidlar, lipoproteidlar, proteinlar, nukleotidlar, xromoproteidlar, proteidlar
Proteinlar, proteidlar, nuklein kislotalar, nukleotidlar, fermentlar, uglevodlar, lipidlar

№140 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Transkripsiya deb ...?
*i-RNK sintezi jarayoniga aytiladi
Oqsil sintezi aminokislotalar tartibiga aytiladi
DNK sinteziga aytiladi
Murakkab oqsil sinteziga

№141 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Bu oqsillarga xos _____ reaksiya?		
	<i>Fenilalanin</i>	<i>Sariq rangli birikma</i>
*Ksanto protein reaksiya		
Ningidrin reaksiya		
Biuret reaksiya		
Parchalanish reaksiya		

№142 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik protoplastini kim va qachon ajratib olgan?
*1892, Dj. Klerker
1932, I. Tokabe
1838, R. Guk
1900, T. SHvann

№143 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

To'qima (hayvon) qanday fermentlar yordamida dissosiasiyalanadi
*Tripsin, kollagenaza, elastaza
Proteaza, tripsin, amidaza, lizosim
Lizosim, tripsin, amilaza, fosfolipaza
Fosfolipaza, tripsin, amilaza, lizosim

№144 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Birlamchi kallus to'qimasi necha hafta ichida hosil bo'ladi?
*4-6
4-5
2-3
4-8

№145 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Hujayra tashqi qobig'ini parchalash uchun qanday fermentlar qo'llaniladi
*Sellyulaza, gemisellyulaza, pektinaza
Sellyulaza, amilaza, peroksidaza
Peroksidaza, invertaza, amilaza
Pektinaza, amilaza, invertaza

№146 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Klon nima?
*Bir gendan nusxa olingan genlar nusxasi to'plami
Rekombinant xujayra
Transgen xujayra
Mutant xujayra

№147 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Bakteriyalar kloni deganda nimani tushunasiz?
*Genetik o'xshash
Genlarni kombinirlash
DNK zanjirining sintezi
Bakteriyalarning zararsizlanishi

№148 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillarga xos universal rangli sifat reaksiyasi _____ reaksiyasi deyiladi
*Biuret reaksiya
Ksanto protein reaksiya
Parchalanish reaksiya
Ningidrin reaksiya

№149 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Qanday o'simlik transgen o'simlik deb ataladi?
*Genomiga qo'shimcha gen kiritilgan

Xujayrasida plazmidasi mavjud bo'lgan
O'zining nasliy belgilarini saqlab qoluvchi
Genetik jarayonlari sekinlashtirilgan

№150 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Restriktaza nima?
*DNKni kesuvchi ferment
Oqsillarni parchalovchi ferment
DNKni biriktiruvchi ferment
Ovqat xazm qiluvchi ferment

№151 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Suvda eruvchan oqsillar deb _____ ataladi
*Albuminlar
Globulinlar
Sitozinlar
Miozinlar

№152 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Oqsillar sintez _____ deb ataladi
*Translyasiya
Transkripsiya
Replikatsiya
Terminatsiya

№153 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

DNK zanjirida guanin va sitozin orasida nechta vodorod bog'i hosil qiladi?
*Uchta
Ikkita
Bog' hosil qilmaydi
Bitta

№154 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik xujayra devorini qaysi komponentlariga sellyuloza ta'sir etadi?
*Sellyulozaga
Pektinli moddaga
Lipidlarga
Oqsillarga

№155 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik xujayra devorini qaysi komponentlariga pektinaza ta'sir etadi?
*Pektinli moddalarga
Sellyulozaga
Lipidlarga

Oqsillarga

№156 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik xujayra devorini qaysi komponentlariga lipaza ta'sir etadi?
*Lipidlarga
Pektinli moddalarga
Sellyulozaga
Oqsillarga

№157 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik xujayra devorini qaysi komponentlariga pektinaza ta'sir etadi?
*Pektinli moddalarga
Sellyulozaga
Lipidlarga
Oqsillarga

№158 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

O'simlik xujayra devorini qaysi komponentlariga proteinazalar ta'sir etadi?
*Oqsillarga
Lipidlarga
Pektinli moddalarga
Sellyulozaga

№159 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Totipotenlik
*O'simlik somatik xujayralarni o'sishini to'liq ta'minlovchi xususiyati
Xujayrani muxitga nisbatan chidamliligi
Xujdayralarni o'sish tezligi
Xujayralarni bo'linish tezligi

№160 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-1;

Eksplant
*Birlamchi kallus olish uchun mustaqil o'stiriladigan
Xujayra epidermisi
Xujayra devori
Xujayra membranasi

№161 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

O'simlik bargini sterillash uchun gipoxloridnatriyni qanday konsentratsiyasi ishlatiladi?
*0,1%
0,5%
0,02%
1%

№162 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

T-RNK xujayrada necha foiz?
*15%
30%
1%
40%

№163 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Fermentlar yordamida yoki mexanik usulda hujayra kobig'idan ayrilgan o'simlik hujayrasi organoidi
*Ajratilgan protoplast.
inokulyum
eksplant
shtamm

№164 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Qaysi subhujayra strukturalarida oqsil sintezi ketadi?
*ribosoma.
yadro
hujayra membranasi
golji apparati

№165 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Mikroorganizmlar gen injeneriyasida vektor sifatida qaysi molekulalar ishlatiladi?
*plazmidalar.
i—RNK
Viruslar DNK va RNKasi
Faglar nukleoidlari

№166 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Rekombinat DNK-larni olishda qanday ferment qirg'ish uchun ishlatiladi?
*restriktaza.
revertaza
lipaza
nukleaza

№167 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Quyidagi qaysi subhujayra strukturalar transgen o'simliklar olinishida ishlatiladi?
* protoplast.
ribosoma
mitoxondriya
YAdro

№168 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Quyidagi qaysi subhujayra strukturalar transgen o'simliklar olinishida ishlatiladi?
*Protoplast
Ribosoma
Mitohondriya
Yadro

№169 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Transgen hayvonlar yaratishda qaysi strukturalarni vektor sifatida ko'llash mumkin?
* viruslar.
plazmidalar
yadro DNK-si
RNK

№170 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Genetik kod universalligi bu
*Erdagi barcha tirik mavjudotlar uchun yagona kodning mavjudligi.
Ikkita aminokislotaning aminoguruxlarning birikishi
Ikkita aminokislotaning karboksil guruxlari birlashishi .
Bir organizm aminokislotasining boshqa organizm aminokislotasi bilan birikishi

№171 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Antikodon nima
*tRNK dagi mRNKga mos keluvchi nukleotid tripleti.
Fermentlarni kodlaydigan DNK bo'lagi
rRNK to'g'risida ma'lumotlarni saqlaydigan nukleotid
Gen injenerligida qo'llaniladigan RNK molekulasi

№172 Fan bobi-1; Fan bo'limi-3; Qiyinlik darajasi-2;

Vektor nima?
*Gen injenerligida qo'llaniladigan o'zicha replikasiyalanadigan DNK molekulasi.
Fermentlarni kodlaydigan DNK bo'lagi
rRNK to'g'risida ma'lumotlarni saqlaydigan DNK bo'lagi
Gen injenerligida qo'llaniladigan RNK molekulasi

№173 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Gen nima?
*Funksional oqsilni yoki RNK va rRNKni kodlaydigan transkripsiyaalanadigan hromosoma bulagi.
Gen injenerligida qo'llaniladigan RNK molekulasi

RNK to'g'risida ma'lumotlarni saqlaydigan nukleotid ketma ketligi
rRNK to'g'risida ma'lumotlarni saqlaydigan nukleotid ketma ketligi

№174 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Genom nima?
*Ma'lum organizm hromosomasidagi gennlar to'plami.
Ma'lum organizm hromosomasidagi DNK molekulasi
Ma'lum organizm hromosomasidagi RNK molekulasi
Ma'lum organizm DNK va RNK

№175 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

DNK-ligaza qanday funksiyani bajaradi?
*Fosfodiefir bog'larni hosil qiluvchi ferment.
Reaksiya tezligini oshiruvchi modda
DNKni gidrolizlovchi ferment
DNK fermenti

№176 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Initsiatsiya tushunchasi nima?
*Biopolimerlarni sintezini boshlanishi.
Reaksiya tezligini oshiruvchi modda
Reaksiya tezligini kamaytiruvchi modda
Reaksiya tezligini tuhtatuvchi modda

№177 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Intron nima?
*Genni kodlamaydigan qismi.
Genni kodlaydigan qismi
DNK bo'lagi
RNK bo'lagi

№178 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Rekombinant DNK bu
*Begona gen kiritilgan DNK molekulasi.
Qisman gidrolizlangan nukleotid .
Hujayradan ajratilgan RNK molekulasi
Birlashtirilgan RNK molekulasi

№179 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Gen injeneriyasida marker gen nima uchun kerak ?
*Vektor kirgan xujayralar hosil qiladigan koloniyalarni tanlab olish.
"Ishchi genni" vektorga qo'shish

Vektorni stabililigini oshirish
Vektorni xo‘jayin xujayraga kiritish

№180 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Qanday usullar bilan virussiz o‘simliklar olinishi mumkin?
* meristema to‘qimalarni steril sharoitida o‘stirish.
Viruslar qarshi immunitet xosil qilish orqali
o‘simliklarni o‘zaro chatishtirish orqali
meristemalarni miroorganizmlar bilan birga o‘stirish orqali

№181 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

O‘simlik xujayralaridan biomassa o‘stirish bilanshug‘ullanadi
*Xujayralar muxandisligi
Gen muxandisligi
mikrobiologiya
sitologiya

№182 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Termoterapeya usulida sterillash qanday amalga oshiriladi
*Issiq xavo yordamida.
Kimyoviy moddalr yordamida
Gormonlar yordamida
Kislotalar yordamida

№183 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Xujayra va to‘qimalarni uzoq vaqt muzlatilgan xolda saqlash usuli qanday ataladi?
*kriokonservatsiya.
xemoterapiya
termoterapiya
elektroporatsiya

№184 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

DNKning kimyoviy sikvensilar tomonidan taklif etilgan
*Maksam va Gilbert.
Mendeleev va Maksam
Nyuton va Gilbert
Paster va Maksam

№185 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

O‘simlik bargini sterillash uchun gipoxloridnatriyni qanday konsentratsiyasi
--

ishlatiladi?
*0,1%
0,5%
0,02%
1%

№186 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

DNKning fermentativ sikvensiomonidan taklif etilgan
*Senger.
Maksam
Paster
Darvin

№187 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

O'simlik xujayralaridan protoplastlar birinchi martayo'l bilan olingan
*mexanik.
Kislotali gidrolizlash
Ishqor bilan ishlov berish
Fermentlar yordamida

№188 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

O'simliklarning protoplastlarini fermentlar yordamida birinchi martaolgan
*Kokking
L.Paster
CH.Darvin
A..Muzaffarov

№189 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Klonlanayotgan materialning genetik stabilligini ta'minlash maqsadida eksplant sifatidato'qimalarni olish maqsadga muvofiq
*YOsh.
qari
uzun
kalta

№190 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Tripletlarning hosil bo'lish imkoniyati:
*64ta
28ta
72ta
98ta

№191 Fan bobi-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Klonli mikroko‘paytirishda eksplant sifatida o‘simlikningtutuvchi organilaridan foydalanish maqsadga muvofiq
*meristema.
parenxima
ksilema
floema

№192 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Transpozonlar kim tomonidan kashf etilgan?
*Barbara Mak-Klintok
Pol Berg
Frederik Senger
L. Paster

№193 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Makkajo‘xorida transpozonlar butun genomning necha % ni tashkil qiladi.
*85%
1%
10%
50%

№194 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Sakrovchi genlar” nomi bilan mashhur genomning kodlanmaydigan qismi?
*Tranpozonlar
Satellit DNK
Retroviruslar
DNK

№195 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Genning faoligini oshiruvchi va susaytiruvchi gen uchastkalari qanday ataladi.
*Enxanserlar va Saylenserlar
Promotrlar va RNK polemeraza
Ekzonlar
Intronlar

№196 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Plazmida DNKsi o‘zida qancha miqdorda genlarni saqlaydi?
*3-10 tagacha
19-20 tagacha
40-50 tagacha
80 ta

№197 Fan bobi-1; Fan bo‘limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

Bioobekt hujayrasida nishon sifatida nimadan foydalaniladi?
*Dezoksiribonuklein kislota
DNK-polimeraza
RNK-polimeraza
tRNK-polimeraza

№198 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Rekombinant DNK ni avtonom replikatsiya bo'lishi uchun javob beradigan DNK bo'lagi nima deyiladi?
*Vektor molekulalari
Oraliq moddalar
Askulyar moddalar
Moddalar

№199 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-2;

DNK molekulasini mayda bo'laklarga bo'luvchi fermentlar nima deb ataladi?
*Kesuvchi endonukleazalar yoki restriktazalar
Plazmidlar
Nukleaza
Aat II,

№200 Fan bob-1; Fan bo'limi-1; Qiyinlik darajasi-3;

Tabiatda biror mikroorganizm hujayrasiga tashqaridan yot genetik material kirsam, u qaysi hujayra fermentlari orqali darhol parchalab tashlanadi
*Nukleaza
Ligaza
Transpozon
Fermentlar

Биотехнология кафедраси в.б.доценти Р.Б. Норбобоева томонидан Ген
муҳандислиги фани бўйича ўтказилган тест синовиларига тайёрланган
"Тест" лар тўпламига

ТАҚРИЗ.

Турли мутахассисликлари бўйича кадрлар тайёрлаш тизимини такомиллаштириш мамлакатимиз тараққиётининг муҳим шартларидан биридир. Шу муносабат билан замонавий таълим дастурлари асосида самарали таълим ва малакали кадрлар тайёрлашни таъминлаш масалалари Ўзбекистон Республикаси "Кадрлар тайёрлаш миллий дастури" ва "Таълим тўғрисида" ги қонунларда ўз аксини топган.

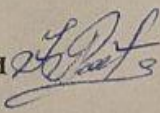
Ўқув жараёнини ташкил этиш ва бошқаришнинг замонавий талаблари ўқитувчининг талабалар билан ишлашида катта муваффақиятларни таъминлайдиган ўзини ўзи бошқариш усуллари ва усулларида фойдаланиш зарурлигини кўрсатади. Ҳар қандай ўқитувчининг асосий мақсади ўқишни самарали қилишдир ва бунинг учун ўз-ўзини ўрганиш ва ўзини ўзи бошқариш муҳим рол ўйнайди. Синов бу усуллардан биридир.

Биотехнология кафедраси в.б.доценти Р.Б. Норбобоева Ген муҳандислиги фанининг назарий жиҳатлари, ҳар бир мавзу учун саволлар кетма-кет равишда тузилган ва тузилиши, номенклатураси, ишлаб чиқариш усуллари ва фаннинг хусусиятларини ўз ичига олади.

Таъкидлашим керакки, ушбу тестларнинг фарматсевтика соҳасидаги мутахассисларни назорат қилиш учун профессионал йўналишига қарамай, улар олий ўқув юртлири учун ген муҳандислиги умумий дастурини деярли тўлиқ акс эттиради. Шунинг учун, ушбу тестларни ген муҳандислиги фани ўқитиладиган институт талабалари учун тавсия қилиш мумкин.

Тошкент фармацевтика институти

Саноат фармацияси факультети

Тиббий ва биологик фанлар кафедраси доценти  Ф.Н.Пирахунова

Биотехнология кафедраси в.б.доценти Р.Б. Норбобоева томонидан Ген муҳандислигифани бўйича ўтказилган тест синовиларига тайёрланган "Тест" лар тўпламига

ТАҚРИЗ.

Кадрлар тайёрлаш тизимини такомиллаштириш мамлакатимиз тараққиётининг муҳим шартларидан бири бўлиб, бугунги кунда Илм-фаннинг турли мутахассисликлари бўйича кадрлар тайёрлашга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Шу муносабат билан замонавий таълим дастурлари асосида самарали таълим ва малакали кадрлар тайёрлашни таъминлаш масалалари Ўзбекистон Республикаси "Кадрлар тайёрлаш миллий дастури" ва "Таълим тўғрисида" ги қонунларда ўз аксини топган.

Ўқув жараёнини ташкил этиш ва бошқаришнинг замонавий талаблари ўқитувчининг талабалар билан ишлашида катта муваффақиятларни таъминлайдиган ўзини ўзи бошқариш усуллари ва усулларида фойдаланиш зарурлигини кўрсатади. Ҳар қандай ўқитувчининг асосий мақсади ўқишни самарали қилишдир ва бунинг учун ўз-ўзини ўрганиш ва ўзини ўзи бошқариш муҳим рол ўйнайди. Синов бу усуллардан биридир.

Биотехнология кафедраси в.б.доценти Р.Б. Норбобоева Ген муҳандислиги фанининг назарий жиҳатлари, ҳар бир мавзу учун саволлар кетма-кет равишда тузилган ва тузилиши, номенклатураси, ишлаб чиқариш усуллари ва фаннинг хусусиятларини ўз ичига олади.

Таъкидлашим керакки, ушбу тестларнинг фарматсевтика соҳасидаги мутахассисларни назорат қилиш учун профессионал йўналишига қарамай, улар олий ўқув юртлари учун ген муҳандислигумумий дастурини деярли тўлиқ акс эттиради. Шунинг учун, ушбу тестларни ген муҳандислиги фани ўқитиладиган институт талабалари учун тавсия қилиш мумкин.

ТКТИВТСУФ

Эналогия кафедраси мудири:



т.ф.н., доц. Б.А.Абдуллаева

