

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

ҚАРШИ ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

**5420100 Биология бакалавр йўналиши талабалари учун
биотехнология фанидан**

М А Ё Р У З А М А Т Н И

Тузувчи: биология фанлари номзоди **И.Ҳайитов**

Қарши 2007

Кириш

Ген мухандислиги фанини ўқиташдан мақсад талабаларга тирик организмлар-ирсий белгилари ҳақидаги ахборот жойлашган ДНК молекуласининг тузилиши ва аҳамияти, ген молекуляр биологияси; генетик мухандисликнинг моддий асослари, трансформация, трансдукция, кўчиб юривчи генетик элементлар-транспозонлар, плазмидалар, вируслар, бактериофаглар, рестриктазалар, рекомбинант ДНК олиш, генларни клонлаш, ҳужайра мухандислиги, ҳужайра ва тўқималарни сунъий шароитда ўстириш технологияси; генетик мухандисликнинг ўсимликлар селекциясида қўлланилиши; ген мухандислигига асосланган биотехнологиянинг аграр саноатдаги илмий-техник тараққиётни тезлаштиришдаги аҳамияти; гибридомалар олиш технологияси ва унинг қишлоқ хўжалигида ва чорвачиликда қўлланилиши ҳамда генетик мухандисликнинг истиқболлари ҳақида аннқ билим беришдан иборат.

Ушбу фаннинг асосий вазифаси замонавий ген мухандислиги ютуқларини халқ хўжалиги амалиётида кенг қўламда қўллашдан иборат. Ген мухандислигини ўрганишда назарий билимларни ўзлаштириш уларни амалий машғулотлар ва семинарлар ёрдамида чуқурлаштиришни таълаб қилади. Талабалар биотехнология ва ген мухандислиги курсини мукамал ўрганиш учун мазкур фан бўйича дарсликлардан ташқари ушбу соҳага тегишли чоп этилган ва чоп этилаётган адабиётлар, илмий журналлар ва вақтли манбалардан фойдаланиш тавсия этилади.

2. Бу фанни микробиология, биокимё, цитология, генетика ва селекция, физиология, экология, ўсимликшунослнк, биофизика, фитопатология, вирусология, молекуляр биология ва бошқа фанлар билан узвий боғлиқ. Амалий ген мухандислигини қишлоқ хўжалигида тадбиқ қилишнинг моддий асосларини ҳам талабаларга ўргатади.

Тирик организмлар ирсий ахборотини сунъий йўл билан маълум мақсадга мувофиқ ўзгартириш жараёни генетик мухандислик фанининг асосий устқурмаси ҳисобланади. Генетик мухандислик ҳужайра, хромосома ва ген даражасида амалга оширилади. Ҳужайра даражасидаги генетик мухандислик икки ҳужайрани ўзаро қўшилиш йўли билан амалга оширилади. Хромосома даражасидаги генетик мухандислик ҳужайра ядросига қўшимча хромосомалар киритиш орқали амалга оширилади. Ген даражасидаги генетик мухандислик ёки ген мухандислиги энг мураккаб бўлиб, қуйидаги босқичлар асосида амалга оширилади:

1 Қимматли хўжалик аҳамияти касб этадиган ген функцияси орқали қидириб топилиди, ажратиб олинади, клонланади ва тузилиши ўрганилади.

2. Ажритиб олинган ген хромосома ДНКси билан рекомбинацияланувчи бирор фаг геноми, транспозон ёки плазида ДНКси билан бириктирилиб вектор конструкция яратилади.

3. Вектор конструкция трансформация усули билан ҳужайрага киритилади ва трансген ҳужайра олинади. Трансген ҳужайрадан сунъий равишда етук ўсимлик ўстирилади. Ушбу усулдан фойдаланиб ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар ҳужайраларидан трансген формалар олиш мумкин.

4. Хулоса қилиб айтганда биотехнология ва ген муҳандислиги ютуқларини чуқур ўрганиш ва улардан оқилона фойдаланиш трансген ўсимликлар ва ҳайвонлар олиш биотехнологиясининг юзага келишида асосий омил бўлиб хизмат қилади. Бу усул билан қимматли хўжалик аҳамиятига эга бўлган бир қатор ўсимликлар ва наслдор қорамол клонлари яратилди.

Ҳужайра муҳандислиги усулларида фойдаланиб, тирик организмлардан гибрид ҳужайралар олиш биотехнологияси яратилди ва бу асосида моноклонал антителолар олиш йўлга қўйилди.

Ген муҳандислиги биотехнологиясининг ютуқлари саноат кўламида ва қишлоқ хўжалигида кенг қўлланилмоқда.

Антибиотиклар, аминокислоталар, витаминлар ва гормонлар ишлаб чиқарилмоқда, наслдор қорамол клонлари яратилмоқда, тупроқда ва сувда заҳарли пестицид қолдиқларини парчалайдиган микроорганизмларни трансген штаммлари олинмоқда, атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлар генлари асосида тупроқни азотли ўғитлар билан бойитиш муаммоси ечилмоқда, зарарли ҳашаротларга ва патоген микроорганизмларга чидамли, экологияни асровчи трансген ўсимлик навлари етнштирилмоқда, ирсий касалликларни тезкор ташхис қилиш учун диагностикалар тайёрланмоқда, шунингдек ген терапия такомиллаштирилмоқда.

Бугунги кунда генетик муҳандисликка асосланган биотехнология тезкор ошиб бораётган, инсон эҳтиёжларини қондириш учун классик технологиялардан ўта самарали эканлигини тўла намоён қилди.

Мавзуни мустаҳкамлаш учун саволлар

1. Генетик муҳандислик нима ва унинг асосий босқичларини айтиб беринг.
2. Ген муҳандислиги биотехнологиясининг қишлоқ хўжалигида ишлатилиш истиқболлари ҳақида гапириб беринг.
3. Ген муҳандислиги биотехнологиясининг қорвачиликда ва ветеринарияда ишлатилиш истиқболлари ҳақида гапириб беринг.

II-Мавзу. Ген молекуляр биологияси . Генетик жараёнларнинг молекуляр механизми.

Режа:

1. Нуклеин кислотасининг ирсий ахборотни сақловчи ва наслдан-наслга ўтказувчи сифатида асосий структуравий ва функционал хоссалари.
2. ДНК, РНК ва оксил молекулаларининг биосинтези. ДНК репликацияси.
3. Мутация жараёни ва ДНК репарацияси.
 - 1 Про- ва эукариот организмларда трансляция жараёнининг кечиши.
5. Хулосалар.

Адабиётлар 5; 7; 13; 14.

1. Ҳар бир тирик организмнинг ирсий белгилари ҳақидаги ахборот ДНК занжирида нуклеотидлар кетма-кетлиги асосида жойлашган. Нуклеин кислоталари юқори молекуляр биополимер бўлиб, жуда кўп мономерлардан тузилгандир. Бу мономерлар нуклеотидлар деб аталади. Шунинг учун ДНК занжири полинуклеотид молекула деб аталади. Мононуклеотидлар фосфат, моносахарид пентоза-рибоза ёки дезоксирибозадан ва азот асосларидан: пурин ва примидин асосидан ташкил топган. Азот асосларини кўпинча номларнинг ҳарфлари билан кўрсатиш қабул қилинган: *аденин А (A), гуанин Г(G), цитозин (Ц) (C), урацил У (U), тимин Т (T)* ДНК молекуласи фосфат кислота, дезоксирибоза ва аденин, гуанин, цитозин ва тамин нуклеотидларини тутати. РНК занжири ДНК молекуласидан фарқли ўлароқ дезоксирибоза ўрнига рибоза ва тимин ўрнига урацил тутати. Нуклеин кислоталаридаги нуклеотидлар кетма-кетлиги уларнинг бирламчи структурасини ташкил этади. ДНК молекуласининг қўш занжири унинг иккиламчи структурасини на унинг фазовий конформацияси учламчи структурасини ташкил этади. ДНК занжиридаги Г-Ц нуклеотидлари учта, А-Т нуклеотидлари иккита водород боғи билан боғлангандир. ДНК молекуласининг асосий физик хусусиятларига: нуклеотид таркиби, температураси, сузиш зичлиги, циклик ёки циклик бўлмаган структураси, оптик зичлиги ва молекуляр массаси киради. ДНК ўсимлик ҳужайрасида ядрога, хлоропластда ва митохондрияда жойлашган. Ҳайвон ҳужайрасида эса ядрога ва митохондрияда жойлашган. Бактерияларда ҳужайра ички мембраналари билан бириккан ҳолда, вирусларда эса оксил қобиғи билан ўралган ҳолда учрайди.

РНК молекуласи ўзининг функционал хусусиятларига кўра уч типга бўлинади (иРНК; рРНК; тРНК). Улар ўз ўлчами билан бир-биридан катта фарқ қилади (тРНК-70-100; рРНК-100-3100; иРНК-25000" 1000000 нуклеотид).

тРНК оксил синтези жараёнида фаоллашган аминокислотани аминоксил учига бириктириб олиб, уни рибосомадаги махсус жойга ўтказиши ва ўзи рибосомалар юзаси

буйича тортилган иРНКнинг аниқ кичик қисмига комплементарлик асосида боғланади. Мазкур жараёнда тРНК айна аминокислотани синтезланаётган оксил молекуласининг маълум жойига ўрнашишини мРНКдаги код асосида амалга оширади, яъни адапторлик ролини ўйнайди.

иРНК ДНК занжиридаги ирсий ахборотдан нусха олиб, кўчириб олинган ахборотни сақлайди ва оксил синтези жараёнида матрица вазифасини бажаради. иРНКдаги нуклеотидлар қаторини оксил молекуласидаги аминокислоталар қаторига ўтиши, яъни нуклеин кислотадаги маълумотни тегишли аминокислоталар қатори шаклида амалга ошиши информациянинг ўқилиши деб аталади.

рРНК 50дан ортиқ оксил молекулалари билан бириккан ҳолда рибосоманинг структурасини тузишда хизмат қилади.

2. Тирик организмда олдиндан мавжуд қолип асосида янги ДНК молекуласининг яратилиши нуклеин кислоталарининг синтезланиш йўлидир. Мавжуд ДНК молекуласидан нусха олиш репликация деб аталади. Репликация жараёни ДНК-полимераза I, II, III, ДНК-лигаза ва ревертаза ферментлари ёрдамида амалга ошади. Рер-оксил ёрдамида ДНК қуш занжири ажралади ва ДНКга боғланадиган оксил молекулалари ёрдамида ДНКнинг ажралган занжирлари стабил ҳолатда сақланиб турилади. ДНК-полимераза III ферменти ДНКнинг 3' учидан 5' учигача ДНКнинг битта занжирини тўла синтез қилиш қобилиятига эга. ДНК синтези фақат ДНКнинг 3' учидан 5' учига қараб бориши туфайли ДНКнинг иккинчи занжири праймаза, ДНК-полимераза I ва ДНК-лигаза ферментлари ёрдамида амалга ошади. Праймаза. (ревертаза) ферменти ёрдамида ДНКнинг иккинчи занжири синтези учун праймер синтез қилинади ва ДНК-полимераза III ферменти ёрдамида праймер нуклеотидлар кетма-кетлигидан ДНК синтези бошланади ва ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида бу нуклеотидлар кетма-кетлиги бир оз узайтирилади. Кўплаб ҳосил бўлган ДНК фрагментлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади. Бу жараён ДНКнинг иккинчи занжири тўла синтез бўлгунча давом этади. Янги ДНК занжири тайёр ДНКнинг нусхасига, матрицасига қараб тузилади. Бу жараёнда матрица вазифасини ДНК кўш занжирининг бир ипи бажаради.

РНК синтези жараёни транскрипция деб аталади. Ҳар учала типдаги РНК синтези турли типдаги РНК-полимераза (РНК-полимераза I, II, III) ферментлари ёрдамида амалга оширилади. рРНК синтези РНК-полимераза I ферменти, иРНК РНК-полимераза II ферменти ва тРНК ҳамда кичик ўлчамли ядро РНКси молекулалари РНК-полимераза III ферменти ёрдамда амалга оширилади. Ҳамма РНК молекулалари синтези учун ДНКнинг битта ипи матрица вазифасини ўтайди.

Оксил синтези рибосомаларда ўтади. Рибосома ҳужайра метаболизми учун зарур бўлган оксиллар синтезини ДНКдан олинган информация асосида кодлаш механизмига

мувофиқ амалга оширади.

ДНК занжиридан олинган иРНК нуклеотидлар тартиби шаклидаги информация рибосома ёрдамида оқсил молекуласидаги аминокислоталар тартибига кўчирилади. Оқсил синтези жараёни трансляция (таржима қилиш) деб аталади. Нуклеин кислоталарда ҳар бир аминокислоталарни танийдиган ва танлаб бириктириб олиб ташишда воситачилиқ қиладиган бирин-кетин учта нуклеотидлар комбинацияси мавжудки, бу ўз навбатида аминокислота коди, оқсил коди, кодон, кенг маънода генетик код деб юритилади. Оқсил молекуласига кирадиган аминокислоталар 20та бўлганлигидан кодонлар сони ҳам 20 дан кам бўлиши мумкин эмас. Бунда ҳосил бўладиган комбинациялар сони $64-4^3$, кодланадиган аминокислоталар тонидан анча кўп, лекин маълум бўлдики 20 та аминокислотадан 18 таси биттадан ортик 2,3,4, ва 6 кодон билан кодлана олар экан. Бундан гашкари, учта кодон УАА, УАГ, УГЦ аминокислоталарни кодламайди ва полипептид занжирининг тугаганидан дарак беради, улар терминаторлар, тугатувчилар деб ҳам аталади.

Полирибосомаларда оқсил синтези иРНКнинг 5' учидан бошланиб 3' учидан тугайди. Оқсил синтези тугагач иРНК рибосомадан ажралиб чиқади ва рибосома иккита субпарчаларга диссоциацияланади.

3. ДНК молекуласи тузилишини ташки номуқобил омиллар таъсирида ўзгариши мутация дейилади. Мутацияга учраган ДНК молекуласида ирсий ахборот ўзгаради ва организмнинг нормал ҳолатда яшашига кескин таъсир кўрсатади. Тирик организмнинг мутант (ўзгарган) формалари вужудга келади. Бошқа организмлардан фарқли улароқ ўсимлик ва микроорганизмларнинг хўжалик аҳамияти юқори бўлган мутант формалари халқ хўжалигида кенг қўламда фойдаланилади. Инсон организмдаги мутацион ўзгаришлар оғир касалликлар келиб чиқишига сабаб бўлади (оқ қон касаллиги).

Мутацияга учраган ДНК молекуласини асл ҳолатига қайтиш жараёни ДНК репарацияси дейилади. Репарация жараёни ДНКаза, ДНК-полимераза II ва ДНК-лигаза ферментлари иштирокида амалга оширилади. Бу ферментлар тазими ёрдамида ДНКнинг тузилиши дастлабки нормал ҳолатига қайтади.

4. Прокариот организмларда трансляция жараёни иРНК транскрипцияси тугамасданок бошланади. Шу боисдан прокариот организмлар иРНКси полицистрон иРНК деб аталади. Эукариотларда ядрода синтез бўлган иРНК 3' учидан poly (A) "дум" ва 5' учи эса метин гуанозин қолдиғи билан химояланган бўлади. Шу йўсинда модификацияланган иРНК молекуласи ядродан цитоплазма бўшлиғига чиқади ва трансляция жараёнида иштиради. Шу боисдан эукариот организмларнинг иРНКси моноцистрон иРНК деб аталади.

5. Хулоса қилиб айтадиган бўлсак ДНК молекуласи ирсий ахборотни ўзида сақлаб наслдан-наслга ўтказишдек мураккаб вазифани бажаради. ДНК молекуласининг

структурвий ўзгариши ирсий ахборотнинг ўзгаришига олиб келади. Репарация ходисаси эса тирик организм ирсий белгиларини узгармай сақланишини таминлайди.

Про- ва эукариот организмларда транскрипция ва трансляция жараёнлари турлича кечади бу ўзгариш организмларнинг турли эволюция таракқиёти натижасида вужудга келган.

Мавзун мустаҳкамлаш учун саволлар

1. ДНК ва РНК ҳужайра компонентларида қандай тақсимланган?
2. ДНК молекуласи РНК молекуласидан нима билан фарқ қилади?
3. ДНКнинг куш занжми қандай тузилган?
4. РНКнинг типлари, ҳужайрада жойлашиши ва оқсил синтезидаги аҳамиятини таърифлаб беринг
5. Мутацион ўзгаришнинг ирсий мохиятини тушунтириб беринг.
6. ДНК синтезини схемали тарифлаб беринг.
7. Рибосоманинг асосий структурвий компонентлари ва ҳужайрада бажарадиган роли ҳақида маълумот беринг.
8. Репликация, транскрипция ва трансляция жараёнларини тушунтиринг.

1П-Мавзу: Ген мухандислигининг моддий асослари.

Режа:

1. Бактерия клонлари ва штаммларини олиш.
2. Трансформация ва трансдукция ходисаси.
3. Транспозонлар, плазмидалар ва рестриктазалар.
4. Хулосалар.

Адабиётлар 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 16.

1. Қадим замонларда инсоният ҳаётий жараёнлар асосида онгсиз равишда сутдан катик, буғдойдан бўза ва хамиртуруш ҳамда мева шарбатидан шароб ёки сирка тайёрлаш технологиясидан фойдаланганлар. Лекин бу маҳсулотлар микроблар ёки бактериялар иштрокида ҳогил бўлишини билмаганлар.

Буюк француз олими Луи Пастер томонидан пастеризация усули яратилиши (сут ёки мева шарбатини 100 50 ОС қиздириш шўли билан уларни бижғиш жараёнидан ҳолос қилиш пастеризация деб аталади) биотехнологияда микроорганизмлардан онгли равишда фойдаланишга асос солди.

Пастер ўзининг кейинги тажрибаларини бактерияларни клонлашга бағшлади. Бактерияларни клонлаш қуйдагича амалга ошади: сунъий суюқ озуда ўсаётган бактерия стерил шароитда агар-агар моддаси билан аралаштирилган қаттиқ сунъий озуқа сатҳига ўтказилади. Қаттиқ агар-агар сатҳига тушган ҳар бир бактерия ҳужайраси кетма-кет бўлина бошлайди. Натижада бир она ҳужайрадан ҳосил бўлган бактериялар авлодининг колонияси вужудга келади ва бу колония клон деб аталади. Клон таркибидаги ҳар бир ҳужайра барча ирсий хоссалари жиҳатидан она ҳужайрага ўхшашдир. Клондан ажратиб олинган ҳар бир ҳужайра бўлинганда ирсий белгилари ўзгармасдан авлод ҳужайрага ўтади.

Биотехнология жараёнида фақат мақсадга мувофиқ хоссаларга эга бўлган бактерия клонлари танлаб олиниб кўпайтирилади (ўстирилади) ва ишлатилади.

Инсоният XIX аср ўрталаригача бактериялар пластик ўзгарувчандир, яъни ирсиятсиз деб ҳисоблаб келган. Лекин Луи Пастер бактерияларнинг хилма-хиллигини, уларнинг ирсияти мавжудлигини ва барча хусусиятларини ирсиятга тўла боғлиқлигини, бактерияларни клонлаш угулини кашф этиш билан илк бор кўрсатиб берди. Табиатдаги мавжуд микроорганизмлар мақсадга ҳар доим ҳам мос келавермайди. Тадқиқотчилар маълум ирсий хоссага эга бўлган бактерия штаммлари (штамм ирсий ўзгарган клон) хилма-хиллигини мутаген моддаларни қўллаш натижасида кўпайтирадилар ва клонлаш орқалл стлекция қиладилар.

Бактерия ёкл замбуруғлар ирсиятининг мутацион ўзгариши уларнинг биологик

хусусиятларининг ўзгаришига олиб келади. Бунинг габаби ҳужайрада кечаётган биохимиявий жараёнларнинг ҳар бир босқичини алоҳида генлар томонидан бошқарилишидадир. Агар генларни луклеотидлар кетма-кетлиги ташқи номуқобил омиллар таъсирида ўзгарса, бу генлар синтез қилаётган ферментларнинг фаоллиги ҳам ўзгаради.

Мутацион жараён мутаген моддалар ёки рентген ва ультрабинафша нурлар таъсирида бир неча юзлаб марта ошиши мумкин. Клоллаш усули билан мутант штамларнинг мақсадга мувофиқлари селскция қилинади ва биотехнологик жараёнда ишлатилади. Сўнгги йилларда ген муҳандислиги усули билан хоҳлаган геннинг исталган иуклеотидини алмаштириш биотехнологияси ишлаб чиқилди. Ҳозирги кунда бу усул мукаммаллаштирилмоқда. Бу усул йўналтирилган мутация деб аталади.

2. Трансформация ҳодисасининг очилиши ген муҳандислиги биотехнологиясида янги бир эрани бошлаб берди. Бу ҳодиса 1928 йил Гриффитс томонидан кашф этилди. Трансформация жараёнига қуйидагича таъриф бериш мумкин. Маълум шароитда бир организм ирсий молекуласи ҳар қандай бўлагининг иккинчи организм ирсий молекуласи таркибига бирикиш ҳодисасига трансформация деб аталади. Ген муҳандислиги усули билан организмнинг ирсиятини ўзгартиришда трансформация кенг қўлланилади.

Гриффитс трансформация жараёнини ўз тажрибасида қуйидагича изоҳлайди. Патоген пневмококк бактериясининг S-штамми билан зарарлантирилган сичқон ўлади. Ушбу бактериянинг нопатоген штамми R-штамми билан зарарлантирилган сичқон тирик қолади. Патоген S-штамми қиздириш йўли билан ўлдириб бактериянинг нопатоген R-штамми билан зарарлантирилган сичқон тирик қолади. Ўлдирилган S-штаммини тирик R-штамми билан аралаштириб сичқонга юборилганда сичқон ўлади. Унинг қонидан тирик S-штамми топишган. Бундан кўрнатиб турибдики ўлдирилган S-штамми ирсий молекуласидаги касаллик чақарувчи ген тирик R-штамми ирсиятига ўтган ва унинг ирсиятини S-штаммига хос ўзгартирган, яъни трансформация қилган.

Трансдукция ҳодисаси бактерия ва уларнинг фағлари ўртасида содир бўлади. Махсус тузилишга эга бўлган ДНК бўлагининг хромосома билан бирикиши ва ундан ажралиб чиқиш жараёнига трансдукция деб аталади. Трансдукция АҚШ олими Львов томонидан 1953 йилда кашф этилган. Бу кашфиётга қадар бактерия ҳужайрасига фағлар (вирусларнинг бактерия ҳужайрасида кўпаядиган хили) кирганда уларнинг ҳужайрада кўпайиши ва оқибатда бактерия ёрилиб ўлиши маълум эди. Фағ билан зарарланган бактерия колонияси йўқолади, яъни лизис бўлади. Шу сабабли бу жараён фағларнинг литик реакцияси деб аталади. Айни пайтда фағ билан зарарланган бактерия ҳужайраларининг айримлари офатдам кутилиб қолиши кузатилган. Бундай ҳужайра ичига тушган фағнинг ирсий молекуласи бактерия хромосомасининг махсус нуклеотидлари изчиллигини кесиб бирикиши натижасида фаол ҳо

татдан кўлая олмайдиган, яъни бактерияни лизис қила олмайдигал нофаол профаг ҳолатига ўтади. Бунинг натижасида бактерия ҳужайраси офатдан кутилади. Офатдан кутилган бактерия лизоген бактерия, бу жараён эса лизоген реакцияси деб аталади. Лизоген бактериялар спонтан равишда, яъни ўз-ўзидан ёки физик-кимёвий таъсир натижасида фаг ирсий молекуласи ажралиб чиқиб муҳитдаги бошқа бактерияни зарарлантиради ва ниҳоят, уларни ўлдиради ёки айрим ҳолларда бактерия хромосомаси билан бирикиб профаг ҳолатига ўтади.

Трансдукция жараёнида *E.coli* бактерия хромосомаси ва λ фаг ирсий молекуласининг ўзаро боғланиши ёки рекомбинациялланиши молекуляр жиҳатдан қуйидагича кечади. Лекин λ фаг трансдукцияс ҳар доим бу даражада аниқ амалга ошмайди. Профаг ҳолатида λ фаг бактерия геномидан айрим генларни ҳатто 3 та структура ген ва промотордан иборат лактоза оперонини (оперон ўзаро боғлиқ ҳолдаги транскрипцияланувчи ва регулятор элемент воситасида идора қилинувчи генлар изчиллиги) бириктирилган ҳолда ажралиши кузатилган, Бундай рекомбинант λ фаг билан *E.coli* нинг lac^- штамми, яъни лактозани парчаловчи гени мутация натижасида ишламайдиган штамми зарарлантирилса, трансдукция натижасида lac^+ штамм лизоген lac^+ штаммга айланади. Демак, фаг lac^+ штаммдан лактоза парчаловчи оперонни lac^- штаммга трансдукция қилади.

Фаг ирсий молекуласида бактерия хромосомасини нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқ таниб ёпишқоқ учлар ҳосил қилиб қирқувчи *интеграза* ферментининг генлари мавжуд. Ушбу фермент ёрдамида фаг ирсий молекуласи бактерия хромосомасига ўрнашади ва ДНК-лигаза ферменти ёрдамида унинг таркибий қисми сифатида тўла бириктирилади.

3. Кўчиб юрувчи генетик элементлар – транспозонларни. Ўсимликлар организмида транспозонларни биринчи бор АҚШ олимаси Барбара Мак Клинтон, микроорганизмларда АҚШ олими Ахмад Бухорий ва ҳашаротларда Россия олими Георгий Георгиев кашф этган. Кўчиб юрувчи генетик элементлар айна вақтда транспозицион элементлар ёки транспозонлар деб ҳам аталади. Транспозонларнинг кашф этилиши генетик муҳандисликнинг ривожланишида муҳим аҳамиятга эга бўлди. Транспозонлар хилма-хил структурага эга бўлсаларда, барча транспозон молекуласининг икки четида махсус нуклеотидлар изчиллиги, марказий қисмда эса ДНК молекуласининг белгиланган жойида "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб нуклеик кесувчи транспозаза ферментини синтез қилувчи ген мавжуддир. Транспозаза ферменти ҳужайрадаги ДНК молекуласини "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб кесади ва айна пайтда транспозон учларига қовуштиради. Ҳосил бўлган хромосома ДНК си ва транспозон ДНК сидан иборат қовушма ҳужайра ДНК бўлақларини боғловчи фермент лигаза таъсирида ўзаро боғланади. Транспозонларнинг ҳужайра ДНКсига интеграцияси қуйидагича амалга ошади. Транспозонлар хромосомада ўз ўрнини

ўзгартирганда ирсият ҳам ўзгаради. Одатда яшаш муҳити кескин ўзгарганда транспозонларнинг кўчиб юриши ортади.

Шу сабабдан кўчиб юривчи генетик элементлар иштирокида ген муҳандислигига асосланган кўпгина биотехнологик жараёнлар яратилган.

Плазмидалар. Бактерия ва тубан эукариот организмлар ҳужайраларида асосий хромосомадан ташқари, кичик ўлчамга эга бўлган ҳалқасимон ёки чизиксимон структурага эга бўлган қўшимча хромасомалар мавжуддир. Бу мини-хромосомалар плазмидалар деб аталади. Плазмида ДНКси кўпи билан 3-10 тагача генларни ўзида сақлайди. Бу генлар, асосан антибиотик ёки заҳарли токсинларни парчаловчи ферментларни синтезига жавобгардир. Шу туфайли плазмидалар бактерия, ачитки ва замбуруғларнинг антибиотик ва заҳарли токсинларга чидамлилигини таъминлайди. Плазмиданинг антабиотик парчаловчи генлари бир плазмидадан иккинчисига транспозонлар билан бириккан ҳолатда ҳам кўчиб ўта олади. Бу молекуляр жараён касал чакирувчи микробларнинг антибиотикларга чидамлилигини ниҳоятда оширади. Плазмидалар ўз хусусиятига кўра иккига бўлинади. Биринчиси транспозон ёки бактериофаг ирсий молекуласи каби ҳужайра асосий хромосомасининг махсус ДНК изчиллигини кесиб, рекомбинация бўла оладиган плазмидалар. Бундай рекомбинацияланувчи плазмидалар трансмиссибл, яъни наслдан-наслга ўтувчи плазмидалар деб аталади. Трансмиссибл плазмида асосий хромосомага бириккандан кейин ўз мустақиллигини йўқотади. Асосий хромосомадан мустақил равишда ўз-ўзини репликация қила олмайди. Айти пайтда бундай плазмидаларда жойлашган генлар асосий хромосомада ўз фаолиятини бажаради. Ҳужайра бўлинганда рекомбинацияланувчи плазмида генлари асосий хромосома генлари бириккан ҳолда наслдан-наслга берилади. Иккинчи тоифа плазмидалар автоном ҳолда репликацияланувчи плазмидалар деб аталади. Бундай плазмидалар асосий хромосомага бирика олмайди, асосий хромосомалардан мустақил равишда ўз-ўзини **репликация** йўли билан ўнлаб ва ҳатто юзлаб марта кўпайтира олади. **Автоном** плазмидалар бактерия ёки замбуруғ ҳужайраси бўлинганда қиз ҳужайралар орасида тасодиқий равишда тақсимланади. Шу билан бирга автоном плазмида бир ҳужайрадан иккинчи ҳужайрага, ҳужайра қобиғи ва мембранасининг тешикчалари (пора) орқали ўта олади.

Табиатда бирор микроорганизм ҳужайрасига ташқаридан ёт генетик материал кирса, у дарҳол ҳужайрадаги нуклеаза ферментлари иштирокида парчалаб ташланади.

ДНК молекуласини майда бўлақларга булувчи ферментлар **эндонуклеазалар** ёки **рестриктазалар** деб аталади. Ҳар бир рестриктаза тўрт ёки кўпроқ махсус нуклеотид жуфтларни таниб олиб бокланади ва ДНК молекуласини кесади. Айрим рестриктазалар ДНК қўш занжирини қайчи сингари шартта икки бўлақка бўлади. Бундай рестриктазаларга

Alu I, Bgl I, Hae III, Hpa I, EcoKV, Hinc II, Pvu II, Rsa I, Sca I, Sma I ва бошқаларини мисол қилиб келтириш мумкин.

Шу билан бирга қўш занжир ДНК молекуласини "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб кесувчи рестриктазалар ҳам мавжуд (Aat II, Acc III, Apa I, Bam HI, Eco RI, Hind III ва бошқалар). Бу рестриктазалар вазифаси жиҳатдан транспозазага ўхшашлиги кўриниб гурибди. Шунинг учун ҳам бу рестриктазалар ҳосил қилган "ёпишқоқ" учлардан фойдаланиб, ҳар хил ДНК бўлақларини бир-бирига боғлаш соддалашади. Ана шу хусусияти туфайли бу хил рестриктазалар ген муҳандислигида кенг қўлланилади. Ҳозирги кунгача 500 дан ортиқ хилма хил рестриктазалар тозаланиб олинган ва ўрганилган.

Одатда микроорганизм ирсий моддасининг хромосомаси бир нечта миллион нуклеотид жуфтлари изчиллигидан иборат. Ўсимлик ёки ҳайвон геноми бир неча юз миллиондан то 1 миллиардгача нуклеотид жуфтлари изчиллигидан тузилган. Бундай буюк молекула юқорида қайд қилинган хилма-хил рестрикция эңдонуклеазалар иштирокида кўплаб парчаларга бўлиш мумкин. Эңдонуклеаза ишпфокида парчаланган ДНК бўлақлари **электрофорез** мосламасида махсус молекуляр "элак" тешикларида юқори кучланишли электр майдони таъсирида молекуланинг заряди ва ўлчамига биноан ажратилади. ДНК бўлақларини махсус бўёқ билан бўяш натижасида ультра бинафша нурлари ёрдамида оддий кўз билан кўрилади. ДНК нинг майда бўлақлари электр майдонида гел ковакларидан йирик бўлақларга нисбатан тез ҳаракат қилгани учун уларнинг стартдан босиб ўтган масофасини ўлчаб ДНК бўлагининг катта кичиклиги аниқланади. Электрофорез мосламасида бир-биридан фақат бир нуклеотид кам ёки кўплиги билан фарқланувчи ДНК бўлақларини ажратиш мумкин. Рестрикция эңдонуклеаза ферментларининг очилиши ва электрофорез мосламасида ДНК бўлақларини ўта аниқлик билан бир-биридан ажратишнинг такомиллашуви гигант ДНК молекуласидан исталган ДНК бўлагини ажратиб олиш имконини беради.

1, Хулоса қилиб айтганимизда ген муҳандислиги биотехнологиясининг моддий асосларига бактерияларни клонлаш, трансформация ва трансдукция жараёнлари, транснозоллар, плазмидалар ва рестрикция эңдонуклеаза ферментларини тўла фундаменал асосларини ўрганиш киради. Юқорида қайд қилинган биологик фаол моддалар ген муҳандислиги биотехнологиясининг амалий жараёнларида ўта қимматли омил ҳисобланади.

Саволлар

1. Бактерия клонлари ва штаммларини таърифлаб беринг.
2. Трансформация ва трансдукция ҳодисаси нима?
3. Фагларнинг литик ва лизоген реакциялари ҳақида тушунча беринг.
4. Профаг ҳақида тушунча беринг.
5. Трастозонлар нима ?
6. Трастозон молекулаларининг ҳужайра ирсиятига таъсирини изоҳлаб беринг.
7. Плазмидаларнинг асосий вазифасини таърифлаб беринг.

8. Қайси тоифадаги плазмидалар бактерияларнинг антибиотикка чидамлилигини амалга оширади?
9. Асосий хромогрома билан рекомбинация бўла оладиган ва рекомбинация бўла олмайдиган плазмидаларли ҳужайра ирсиятига таъсирини қиёсий таққосланг.
10. Рестрикцион эндонуклеазалар ҳақида тушунча беринг

IV-Мавзу: Рекомбинант ДНК олиш, генлар библиотекасини яратиш ва индивидуал генларни ажраташ технологияси.

Режа:

1 Рекомбинант ДНК олиш усуллари

2 Вектор молекулалар, генлар библиотекасини яратиш ва индивидуал генларни ажратиш технологияси.

3Хулоса

Адабиётлар 4; 5; 8; 12; 16.

1.Ген мухандислигининг пойдевори-рекомбинант ДНКлар технологияси генетик структураларини бирга қўшиш техникаси молекуляр биологиянинг энг муҳим ютуқлари дандир. Бу технологиядан фойдаланиб зарур маҳсулотни (оқсилни) кодирлайдиган ДНК молекуласининг кичик бир қисми генни кесиб олиш, унинг ёт ген билан комбинациясини яратиш, сўнгра бу янги геномни муносиб хужайраларга киритиб хўжайин хужайра ДНКсининг синтез механизми ёрдамида кўп марталаб кўпайтириш мумкин.

Супъий шароитда рекомбинант ДНК олиш ва генларни клонлаш илк бор 1972 йилда АҚШ олимлари Бойер ва Коэн томонидан амалга оширилган, Бу олимлар E.coli бактериясининг хромосома ДНКсига ва шу бактерия плазмидасига алоҳида идишларда EcoRI рестриктаза ферменти билан ишлов берганлар. Плазмида таркибида фақат 1 дона EcoRI рестриктаза ферменти таниб кесадиган махсус нуклеотидлар изчиллиги бўлганлиги сабабли фермент плазмиданинг ҳалқасимон ДНК кўш занжирини фақат бир жойидан кесиб, плазмидани "ёпишқоқ" учли очик ҳолатга ўтказди. Хромосома ДНК молекуласида EcoRI рестриктаза ферменти таний оладиган махсус нуклеотидлар изчиллиги қандай бўлса, бу молекула шунча бўлакка бўлинади.

Турли хил ўлчамга эга бўлган ДНК молекуласи электрофорез услуби ёрдамида ажратиб олинади. Ажратаб олинган "ёпишқоқ" учли хромосома ДНКси бўлаги очик ҳолатдаги "ёпишқоқ" учли плазмида ДНКга билан аралаштирилиб лигаза ферменти ёрдамида тикланади. Натижада плазмида таркибига хромосома ДНК бўлаги киритилади. Шу боисдан рекомбинант ДНК га қуйидагича тариф бериш мумкин: ҳар қандай тиркк организм ирсий молекуласининг исталган бўлагини вектор молекулаларига бирикишидан ҳосил бўлган супъий ДНК рекомбинант ДНК дейилади.

Рекомбинант ДНК олишда учта- коннектор, рестриктаза лигаза ва линкер молекулалари усулларидан фойдаланилади. Коннектор усулида рекомбинацияда иштирок этувчи ДНК бўлагининг 3' учига дезоксинуклеотидилтрансфераза ферменти ёрдамида маълум узунликдаги олиго (dA) - сегменти уланади. Иккинчи учига эса олиго ((dT) - сегменти уланади. Бу ДНК бўлаклари аралаштирилганда dA ва dT сегментларнинг водород боғлари асосида комплементар бирикиши туфайли ҳалқасимон ДНК структураси ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган ДНК даги бир занжирли бўш жойлар ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида, тўлдирилади.

Рестриктаза-лигаза усули энг содда ва осон рекомбинант ДНК олиш усули ҳисобланади. Бу усулда ДНК молекуласи ва вектор плазмида "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилувчи рестриктаза билан қирқилади ва аралаштирилган ҳолда маълум шароитда реассоциация қилинади. Комплементарлик хусусиятига кўра ДНК молекулалари ўзаро водород боғлари ёрдамида бирикиб халқасимон структура ҳоғил қилади ва ДНК занжирининг бирикмаган жойлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади.

Линкер молекулаларидан фойдаланиш усулида ДНК молекуласига ва вектор плазмидага Т4 фаг ДНК-лигаза ферменти ёрдамида махсус нуклеотид кетма-кетлигига эга бўлган линкер молекула уланади. Олинган икки турдаги ДНК молекуласи рестриктаза ферменти ёрдамида қирқилиб аралаштирилган ҳолда реассоциация қилинади. ДНК ва вектор плазмида молекулаларининг бирикмаган жойлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади. Шу йўсинда рекомбинант ДНК молекуласи ҳосил бўлади.

2. Рекомбинант ДНК автоном репликация бўлиши учун жавоб берадиган ДНК бўлаги вектор молекулалари дейилади. Вектор молекулалар ўз вазифасига кўра икки типга бўлинади. Биринчиси автопом репликация бўлувчи векторлар. Иккинчиси хромосомага интеграция бўлувчи векторлар. Вектор молекулалар ген муҳандислиги биотехнологиясида генларни клонлашда ва трансформация қилишда асосий иш қуроли бўлиб хизмат қилади.

Вектор молекулалари вазифасини фаг ДНК лари, плазмидалар ва ўсимликларни хлоропласт ҳамда митохондрия ДНК лари ўташи мумкин. Хўжалик аҳамияти қимматли бўлган генларни ажратиш учун ген библиотекаси тузилади. Хромосомал ДНК асосида ген библиотекасини тузиш қуйидагича амалга оширилади: ДНК ва вектор молекулалар рестриктаза ферменти ёрдамида қирқилади ва маълум шароитда реассоциация қилинади. Нуклеотидлар орасида уланмай қолган бўшлиқ ДНК-лигаза ферменти ёрдамида ўзаро бириктирилади. Олинган рекомбинант ДНК бактерия хужайрасига трансформация қилинади. Хромосомал ДНКда мавжуд генларни тўла клонлаш учун ДНК ўлчамига ва олинган клонларни сонига эътибор бериш керак. Бу кўрсаткич қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади,

$$1п(1-)$$

$$1п(1-x/y)$$

бунда:

x-клонланаётган ДНК ўлчами), у-гаплоид геномнинг ўлчзми ва $p=0,99$ га тенг булса 99 га тенг хромосомал ДНКнинг уникал қисми клонланади.

Генларни клонлашда кўпинча кДНК библиотекасини *тузиш* мақсадга мувофиқдир. Бу ҳолда махсус поли (Y) ва олиго (dT) колонкалари ёрдамида учларида поли (A) нуклеотидлар кетма-кетлигини сақловчи иРНК тРНК ва рРНК дан ажратиб олинади. Олинган иРНК молекуласи олиго (dT) нуклеотидлари билан аралаштирилиб реассоциация қилинади. Бунда иРНК молекуласининг поли (A) учига dA ва dT қўш занжирли сегмент ҳосил бўлади. Ушбу икки

занжирли сегментнинг олиго (dT) учи кДНК синтезини амалга оширувчи ревертаза ферменти учун праймер (кДНК синтезининг бошланиш нуқтаси) вазифасини ўтайди.

Синтез қилинган кДНК молекуласи қисқа учли икки занжирли структура билан тугалланади. кДНК синтезида матрица вазифасини ўтаган иРНК молекуласи NaOH билан парчаланади натажада қисқа икки занжирли ва тўлиқ иРНК молекуласига комплементар бўлган бир занжирли кДНК молекуласи ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган қисқа икки занжирли структура кДНК нинг иккинчи занжирини синтез қилишда праймер вазифасини ўтайди. ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида кДНКнинг иккинчи занжири синтез қилинади. Ҳосил бўлган кДНКнинг бир занжирли қисми SI-нуклеаза ферменти ёрдамида парчаланади ва икки занжирли кДНК молекуласи ҳосил бўлади. Шу йўсинда ҳосил бўлган кДНК молекуласи вектор молекуаларига уланган ҳолда клонланади.

Ҳар икки усул билан яратилган геном библиотекасидан индивидуал генларни ажратиб олиш қуйидагича амалга оширилади рекомбинант плазмада денатурация қилинади (100°C ҳароратда 5 мин., 0,2н NaOH эритмасида 15 мин), бир занжирли ДНК молекуласи стабил қўзғалмайдиган ҳолатда туриши учун нитроцеллюлоза фильтрига бириктирилади. Олинган филтр [^{32}P] АТФ нуклеотида билан нишонланган иРНК молекуласи билан гибридизация қилинади. Молекуляр гибридизация жараёнида фильтрига бириккан рекомбинант ДНК молекуласига комплементарлик қонунияти асосида нишонланган иРНК молекулалари бирикади. Ҳосил бўлган гибрид ДНК молекуласи денатурация қилиниб нишонланган иРНК молекуласи (элюция ёрдамида) ажратиб олинади. Олинган иРНК молекуласи хужайрасиз оксил синтез қилиш тизимида текшириб кўрилади. Ҳосил бўлган оксил молекуласининг идентификация қилиш йўли билан индивидуал генларни ажратиб олишга амалга оширилади.

Хулосалар. Хулоса қилиб айтадиган бўлсак. Ген муҳандислиги услублари билан аниқ режа асосида микроорганизмлар, ўсимликлар, ҳайвонларнинг янги шакллари юзага келтирувчи генларини конструкция қилиш мумкин экан. Генлар библиотекасини яратиш хўжалик аҳамиятига эга бўлган геиларни ажратиш, улардан индивидуал генларни олиш ва вектор молекуляр таркибига трансформация қилиши учун зарурдир.

Саволлар:

- 1 Рекомбинант ДНК деганда нимани тушунаси?
- 2 Рекомбинант ДНК олиш усуллари айтиб беринг?
- 3 Вектор молекула нима?
- 4 Генлар библиотекаси натиш қандай усуллар билан амалга оширилади?

У-Мавзу: Хужайра мухандислиги.

Режа:

- 1 Хужайра мухандислигининг моҳияти ва вазифалари.
- 2 Орган, тўқима ва протопластни сунъий озуқа муҳитларида ўстириш. Стериллаш усуллари. Озуқа муҳитини танлашнинг асосий принциплари.
- 3 Каллус тўқимасини олиш, протопластларни олиш.
- 4 Хужайра суспензияси культураси. Алоҳида хужайралар культураси.
5. Хулосалар.

Адабиётлар 1; 9; 15.

1. Неча минг йиллардан бери инсон учун зарур бўлган озиқ овқат маҳсулотларини олишда ананавий биотехнологиядан фойдаланиб келинган. Ҳозирги вақтда ривожланиб бораётган биотехнологиянинг янги босқичининг мукаммаллашиб бориши билангина эмас балки янгиларишг пайдо бўлиши билан ҳам боғлиқдир. Ҳайвон, ўсимлик ва микроорганизмларнинг орган, тўқима ва хужайраларининг ўстирилиши янги биотехнологиянинг объекти бўлиб қолди.

Хужайра биотехнологияси хужайра, тўқима ва протопластларнинг культураларидан фойдаланишга асосланган. Хужайраларнинг манипуляцияси учун, уларни ўсимликлардан ажратиб олиб, ўсимлик организмидан ташқарида яшаб қупайиши учун зарур шароит яратиш лозим.

Ажратилган хужайра ва тўқималарни сунъий озуқа муҳитларда стерил шароитда ўстириш усули ажратилган *In vitro* тўқималар культураси деб аталади.

Ажратилган хужайра ва тўқималар культурасининг биотехнологиядаги аҳамиятини унча йўналшда кўриш мумкин. **Биринчи йўналиш** ўсимлик хужайраларининг медицина, парфюмерия ва косметика учун зарур бўлган маҳсулотлар, халқ хўжалигининг бошқатармоқлари учун иккиламчи синтез моддалар, стероидлар, гликозидлар, гармонлар, эфир ёғларини ишлаб чиқариш билан боғлиқ. (Иккиламчи моддалар озуқа муҳитларда ўстирилган каллус тўқималаридан олинади).

Иккинчи йўналиш - ажратилган тўқима культураларини кўпайтириш ва вирусдан ҳоли экиш материали олишда фойдаланилади. Бу усул ўсимликларни клонал микрокўпайтириш дейилади, бир йилда битта мерестемадан минглаб ўсимликлар олиш имкониятини беради.

Учинчи йўналиш - алоҳида хужайраларни ўсимликлар селекциясида қўллашдир. Бунда тез ривожланувчи ноқулай ташқи факторларга: Кўрғочиликка, шўр тупроққа, паст ва юқори ҳароратга чидамли ўсимликлар олишда фойдаланилади. Шу билан бирга бу йўналиш изоляцияланган протопластларни бир бирига қўшиб соматик дурагайлар олиш йўли билан янги ўсимликларни ярагиш имконини беради. Ген мухандислиги усуллари ёрдамида

изоляцияланган протопластларга бегона генларни киритиш, кейинчалик янги хусусиятли ўсимликлар олиш, ажратилган чангдон ва уруғмуртакларни сунъий муҳитда ўстириб гаплоидлар олиш мумкин.

Хужайра тўқималари культурасини қўллашда ютуқларга эришиш учун бнрилчи навбатда физиологик жараёнларнинг оптимизациясини, хужайраларнинг нормал бўлинишини, уларнинг дифференцировкасини ва улардан бутун ўсимлик регенерациясини таъмлллаш зарур.

2. Келйинги 20 йил мобойнида оргая, тўқима ва протопластларни сунъий шароитда ўстириш услублари ишлаб чиқилди ва такомиллаштирилди. Шу йўсинда ўстирилган каллус культураларидан бир қанча трансген формалар олинди ва ҳозирги куида халқ хўжалигида кенг қўламда ишлатилмоқда. Бу жараёни амалга ошириш учул амалётчи аввалом бор тажриба манбаини ва ишлатиладиган асбоб ускуналарни тўла стериллашга эришлши лозим.

Биологик манбаларлл стериллашни 5 та усули мавжуд:

1.Намли иссқлик ёки иссиқ сув буғи йўли билан стерилизациялаш. Бунда ўсувчи (вегитатив) хужайралар 60-70°C ҳароратда 5-10 дақиқа давомида стерилланса спораларни йўқотиш учун 120-130°C 30 дақиқа, 1 атосфера босим билан таъсир этиш керак. Бундай стерлллаш махсус қурилма автоклавда бажариладл. Бу усул ёрдамида тажриба идишлари, тайёрланадиган озуқа муҳитлари стерилланади.

2.Қуруқ иссиқлик таъсирида стериллаш, Бундай стериллаш қуритиш шкафларпда амалга олшрлладл. Бунда 160°C ҳароратда 2 соат (бу ҳароратда пахта ёки қўғоз куймайди) ёки 180°C ҳароратда 30 дақиқада стерилланади.

3.Филътрация йўли бллан стериллаш. Термик ишловга чидамсиз биологик фаол моддаларни стерлллаш, флльтрлаш усули ёрдамлда амалга олшрлладл. Бунда асосан бактерия ва вирус заррачаларини ушлаб қолувчи филътрлардан фойдаланилади.

3.Нур таъсирида стериллаш (ультрабинафша ва радиоактив нурлар)

5.Кимёвий стериллашга этилен оксиди, β-прополактан, диэтилпирокарбонат, спирт, AgO₃, калций гипохлорид, кислоталар билан стериллаш киради.

Ўсимликдан ажратилган хужайра ва тўқималар ўстириладиган озуқа муҳиtida ўсимликларни ўсиши учун керакли бўладиган ҳамма макроэлементлардан: азот, фосфор, калий, калций, олтингугурт, магний, темир, микроэлементлардан: бор, рух, мис, кобальт, марганец, йод молибден, шунингдек витаминлар, угелеводлар, фитогармонлар бўлиши керак. Баъзи озуқа муҳитлари таркибида эса казеини гидролизати ва баъзи аминокислоталар бўлиши керак. Бундан ташқари, озуқа муҳити таркибига, хужайраларнинг темирга бўлган талабини турли рН курсаткичларида қолдириш учун ЭДТА (этилендиамин-тетрасирка кислота) ёки унинг натрийли тузи киритилиши керак. Ажратилган хужайра ва

туқималар ўстириладиган озуқа муҳитининг асосий таркибий қисмини углеводлар ташкил қилади, чунки хужайра ва туқималар автотроф озуқаланиш қобилятига эга эмас. Кўпинча углевод манбаи сифатида сахароза ёки глюкозанинг 20-40г/л миқдори қўлланилади. Углеводли озуқа манбаи сифатида полисахаридлар ишлатилмайди, чунки баъзи туқималар асосан ўсмалар актив гидролитик ферментларга, (амилаза ва бошқалар) эга бўлиб, крахмал эритмаси бор озуқа муҳитларида ўсиши мумкин. Ўсиш регуляторлари хужайралар дедифференцировкаси ва хужайра туқималари индукцияси учун зарурдур. Шунинг учун каллусли туқималар олишда озуқа муҳитлари таркибига ауксин (хужайра дедифференцировкасини юзага келтирувчилар) ва цитокининни (дедифференциалланган хужайраларнинг бўлинишини индукцияловчи) киритиш керак. Поя морфогенези индукциясида озуқа муҳити таркибида ауксиннинг миқдори камроқ бўлиши ёки умуман бўлмаглиги мумкин. Иккала гармонларга ёки уларнинг биттасига нисбатан автономлик шу хужайраларнинг гармон ишлаб чиқариш қобилятига боғлиқ. Ауксин манбаи сифатида озуқа муҳитларда 2,4 дихлорфеноксисирка кислотаси (2,4-Д) % 1-10 мг/мл; индолилсирка кислота (ИСК)-1-30 мг/л, α-нафтилсирка кислотаси (НСК)-0,1-2,0 мг/л, кабилар ишлатилади. Кўпинча 2,4-Д ишлатилади, (НСК) 2,4-Д га нисбатан 30 марта кам активликка эгадир. Каллуснинг ривожланиши учун кўпинча ауксиннинг юқори миқдори, ишлатилади, туқима кейинги қайта экилганида ауксиннинг миқдори бир неча марта кам бўлганда ҳам туқима ўсиши давом этаверади. Сунъий озуқа муҳитларида цитокинин манбаи сифатида кинетини, 6-бензил аминопурин (6-БАП) ва зеатин (0,001-10мг/л) қўлланилади. Ажратилган туқималарнинг ўсишида ва оргоногенез индукциясида 6-БАП кинетинга нисбатан юқори активликни намоён қилади. Баъзи озуқа муҳитлари таркибига аденин қиради.

Ауксини ва цитокининлардан ташқари баъзи озуқа муҳитлари таркибида гибберил кислота (ГК) тутади. Озуқа муҳитида ГКнинг бўлиши шарт бўлмаса ҳам, баъзи ҳолларда у изоляцияланган туқималарнинг ўсишини тезлаштиради. Бирламчи каллус индукциясини ва унинг ўсиши фаолиятини тезлаштириш учун озуқа муҳитига ўсимлик экстрактлари ёки шарбатлари қўшилади. Кокос сути-кокос ёнғоғи суюқ эндосперми ўсиш тезлигини ошириш хусусиятига эга. Қаттиқ озуқа муҳитини тайёрлашда денгиз сув ўтларидан олинадиган полисахарид агар-агардан фойдаланилади. “Bacto agar” ва ўзимизда ишлаб чиқариладиган бактериал агарда кераксиз қўшимчаларнинг миқдори камроқ бўлади. Бундай агарларни қаттиқ озуқа муҳити тайёрлашда тозаламасдан ишлаташ мумкин. Одатда қаттиқ озуқа муҳити тайёрлашда 5-7 % агардан фойдаланилади. Вақтдан унумли фойдаланиш учун макро- ва микро тузлар ҳамда витаминлар эритмалари юқори миқдордаги бошланғич эритмаларини тайёрлаб, уларни кўп марта суюлтириб ишлаташ мумкин. Концентранган эритмалар музлатгичда сақланади, витаминли эритмалар минусли ҳароратда сақланади.

Макротузлар эритмалари 10-20 марта кўп миқдорда, микротузлар эритаалари 100-1000 марта кўп миқдорда, витаминлар эритмалари эса 1000 марта кўп даражали миқдорда тайёрланади. Ҳар-хил турларга мансуб ўсимликлар хужайралари, тўқималари ва органларини ўстиришида турли таркибдаги озуқа муҳитларидан фойдаланилади. Кўпмнча Мурасига-Скуга, Уайт; Гамборга (В-5) озуқа муҳитлари ишлашладп. Мурасиге-Скуга озуқа муҳитларидан турлича модификациялар билан апикал меристемалар ўстиришида ва ўсимликни микрокўпайтириш да фойдаланилади.

3.Ажратилган тўқималар культураси деганда одатда каллус тўқимаси ёки шиш тўқимаси тасаввур этилади.

Каллус бу дедифференцияланган хужайралардан иборат ташкилланмаган масса. Каллуснинг ҳосил бўлиши ва ўсиши **ауксин** ҳамда **цитокиин** гуруҳларига мансуб бўлган фитогармонлар томонидан пазорат қилинади. Ихтисослашган тўқиманинг дифференцияланган хужайралари ауксин таъсирида дедифференцировкани енгади, цитокиненлар таъсирида эса актив бўлинишга ўтиб, каллусли тўқима ҳосил қилади. Икки паллали ўсимликлар каллуслари, фитогармон тутувчи турли сунъий озуқа муҳитларида турли органлар эксплантларида: асептик ўсувчи уруғларда, поя ва илдиз бўлакларида, изоляцияланган паренхима бўлакларида, туганак тўқималарда, изоляцияланган поя муртагида, баргда осон ҳосил бўлади.

In vitro каллус тўқимаси асосан оқ ёки сарғиш рангда бўлади. Каллус қарий бошлаганда фенол бирикмалари тўпланиши натижасида кўйғир рангга кира бошлайди.

Каллус тўқимаси аморф бўлиб, аниқ анатомик тузилишга эга эмас. Лекин келиб чиқишига, ўсиш шароитига боғлиқ ҳолда у:

1. *Пўк алоҳида майда агрегатларга тез парчаланувчи.*
2. *Ўрта зичликдаги, меристематик маркази яхши кўринадиган.*
3. *Зич, камбий, элементлари дифференцияланаётган ва системага тушаётган ҳолатда бўлади.*

Ўсимлик хужайрасининг дифференцировкиси ва каллусга айланиш учун озуқа муҳит таркибида фитогармонлар: ауксин ва цитокиненлар иштирок этиши лозим. Ауксин хужайра дифференцировкиси жараёнини юзага келтириб, бўлинишга тайёрлайди, цитокинин эса дифференцияланган хужайраларни бўлинишга олиб келади. Агар гармонсиз озуқа муҳитларига дифференцияланган ўсимлик экспланти жойлаштирилса (поя, барг, илдиз бўлаги) хужайра бўлиниши кетмайди ва каллус ҳосил бўлмайди. Бу дифференцияланган хужайраларнинг бўлиниш хусусиятига эга эмаслигини кўрсатади. Ҳар бир хужайра ўсишнинг бўлиниш, . чўзилиш, дифференцировка фазаларини ўташи керак.. Дедифференцияланган хужайраларнинг бўлиниши натижада каллус ҳосил бўлади.

Хужайраларнинг in vitro дифференцияланган ҳолатдан дедифференцияланган ҳолатга

ўтиши ва ҳужайраларнинг актив бўлиниши генларнинг активлигининг ўзгариши билан боғлиқ. Баъзи генларнинг фаоллашуви баъзиларининг пассивлашуви ҳужайранинг оксил таркибининг ўзгаришига олиб келади. Каллус ҳужайраларида специфик оксиллар пайдо бўлади ва бир вақтнинг ўзида баргнинг фотосинтезига таалукли оксиллар камаяди ёки умуман йўқолиб кетади. Ҳужайралар дедифференцияланиб каллус ҳосил қилиш жараёнида ҳужайрада биохимиявий ва цитологик ўзгаришлар рўй беради. Дедифференцировка захира моддалар сарфланиб ҳужайра органеллаларининг парчаланишидан бошланади. Дедифференцировка индукциясидан 6-12 соат ўтганидан сўнг ҳужайра қобиғи пўкаклашади ва шишади, эркин рибосомалар сони ортади, гольджп аппарати элементларининг сони кўпаяди, ядрочаларнинг ўлчами катталашади ва сони ошади.

Каллус ҳужайрасининг ривожланиш цикли. Каллус ҳужайралари қариб, бўлиниш хусусиятларини йўқотмасликлари учун эксплантда пайдо бўлган бирламчи каллус 4-6 ҳафтадан сўнг янги озуқа муҳитига ўтказилади. Бу муолажани пассивлаш дейилади. Доимий пассивлаш йўли билан ҳужайраларни бўлиниш қобилятини ўн йиллаб сақлаб туриш мумкин.

Каллус ҳужайраларининг ўсиш эгри чизиғи S-симон шаклга эга. Бундай ўсишни каллус ҳужайраларининг суспензия культураларида осон кўриш мумкин. Ўсиш эгри чизиғи 5 та фазани ўз ичига олади.

1. Латент ёки лаг-фаза даври бўлиб бунда ҳужайраларнинг массаси ва сон кўпаймайди лекин ҳужайралар бўлинишга тайёрланади.

2. Логорифмик ёки экспоненциал ўсиши фазаси бўлиб, ҳужайраларнинг митотик фаоллиги ортади, каллус культурасининг вазни катталашади ва ҳужайранинг ўсиш тезлиги ошади.

3. Линияли фаза бўлиб бунда ўсиш тезлиги доимий ёки бир хил бўлади.

4. Ўсишнинг секинлашиш фазас бўлиб бунда, ҳужайранинг митотик активлиги бирданига пасаяди.

5. Ўсиш эгри чизиғи–юқори нуктага чиқади. Шу даврдан бошлаб ҳужайраларнинг парчаланиши бошланади, лекин ҳужайралар бўлиниши ҳисобига уларнинг сони ўсиши билан хали тенглашаётган бўлади, умуман олганда ҳужайра массасининг ўсиш тезлиги нолга тенг. Стационар фазадан сўнг ҳужайранинг ўлиш даври бошланади, бунда тирик ҳужайралар сони камаяди.

Каллус ҳужайраларининг ўзига ҳослиги. Каллус ҳужайралари *in vitro* ўсимлик организми нормал ота–она ҳужайраларга ҳос бўлган физиологик, биохимиявий хусусиятларга эга бўлади. Улар иккиламчи метоболитик синтез қилиш қобилятини сақлаб қолади. Каллус тўқималарининг юқори ҳароратга, осмотик актив моддаларга чидамлилиги хусусиятлари билан нормал ўсимликларга ўхшашдир. Уларнинг нормал ўсимликлардан фарқ қиладиган томони, уларда специфик оксилларнинг пайдо бўлиши ва баргнинг фотосинтез қилувчи ҳужайраларига ҳос

бўлган оксиллар микдорининг камайишига ёки йўқолиб кетишидир,

Каллус хужайрасининг генетикаси. Узоқ вақтгача каллус хужайралари генетик бир хил деб ҳисобланарди. Лекин 60-йилларда каллус хужайраларининг генетик гетерогенлиги маълум бўлди. Каллус хужайралари хромосомалар сони билан фарқ қилади. Меристематик тўқималар *in vitro* генетик турғун бўлади. Каллус ва суспензия культураларида бошланғич ўсимликга хос диплоид хужайралар тўпламини 3; 4; 5; ва ундан кўпроқ хромосомалар тўплами полиплоид хужайраларни учратиш мумкин. Ундан ташқари каллус тўқималари кульчураида анеуплоидни ҳам кузатиш мумкин. Каллус хужайралари қанча узоқ вақт ўстирилса улар пloidлиги билан шунчалик кўп фарқ қилади. Тамаки каллус тўқимасини 4 йил ўстирилгандан сўнг диплоид хужайра умуман қолмайди, ҳамма хужайралар полиплоид ёки анеуплоид бўлади.

Протопласт олиш. 1892 йили Дж Клерк томонидан биринчи марга плазмолизни (цитоплазмани хужайра деворига яқин қаватини хужайранинг қаттиқ қобиғидан ажратилгани) ўрганиш мақсадида протопласт ажратиш олган. У сув ўсимлиги телоферезниш барг туқималарини плазмолизлаган. Бунда протопласт ҳосил бўлган. Протопласт олишнинг бир неча усуллари мавжуд:

Протопластларни механик тарзда ажратиш; Масалан: пияз эпидермисини юпка қатламини 0,1 м сахарозага солиб қўйилади, сўнгра устара ёрдамида кесилади. Ўсимлик протопластларини ажратиш соҳасида олиб борилган изланишлар натижасида механик усулни такомиллаштириб янги услубларнинг юлага келишига сабаб бўлди. Бунга ферментлар ёрдамида хужайра деворини парчалашни мисол қилиб келтириш мумкин. Бактериялар хужайра деворини **лизоцим ферменти** ёрдамида парчалаш мумкин. Е. Кокин юқори ўсимликлардан ферментлар иштирокида протопласт олишни йўлга қўйди.

Ферментлар ёрдамида протопласт олишнинг механик тарзда протопласт олишдан устунлиги томони шундаки:

- 1) Бир вақтнинг ўзида кўп микдорда протопласт ажратиш мумкин
- 2) Протопластларни кучли осмотик сиқилишнинг ҳолати йўқ
- 3) Хужайра тоза ва зарарланмаган бўлади
- 4) Услуб нисбаган тезроқ бажарилади

Хужайра деворини парчалаш учун уч хил целлюлоза, гемицеллюлоза ва пектиназа ферментларидан фойдаланилади. Бу ферментларнинг таъсири хужайра девори компонентларини парчалашга йўналтирилган бўлади. Бу компонентларга целлюлоза, гемицеллюлоза ва пектин моддалари киради.

Протопластларни ажратишда хужайраларнинг тузилиш хусусиятларига қараб фермент препаратлари танланади. Масалан, мевалардан протопласт олиш учун хужайрадаги пектин

нинг миқдори юқори бўлганлиги сабаби пектиназа ферментидан фойдаланилади. Мевалардан протопласт олиш учта жараёни ўз ичига олади:

- 1) ферментлар билан ишлов бериш
- 2) протопластларин олиш
- 3) ҳужайра қобиқларидан интакт протопластларни ажратиш.

Баргдан протопласт олишда барг тўқималари эпидермисдан хали этилади, нектиназа фермент билан биргаликда целлюлоза ферменти (ҳужайра деворининг целлюлозали компонентларини парчалайди) билан ишлов берилади.

И. Такебе асосан тамаки барги учун протопластларни ажраташ услубини ишлаб чиқди. 50-70 кунлик соғлом ўсимликдан тўла шакиллаган барг олиниб, 70% ли этанолга солиниб, сўнг 15-20 дақиқага 10% ли кальций гинохлорид эритмасига солинади ва дистилланган сув билан бир неча марта ювилади. Пинцет ёрдамида баргдан эпидермис олиниб, скальпел билан 4 см² катталиктидаги бўлақларга бўлинади.

Эпидермисдан тозаланган барг тўқималарига биринчи босқичда нектиназа ферменти иккинчи босқичда целлюлоза ферменти билан ишлов берилади.

Оптимал шароитлар протопластларни олишда турли тўқималар индивидуал танланади. Яшашга мослашган, натив протопластлар олишда осмотик стабилизаторларни танлаш муҳим омиллардан ҳисобланади, бу ўсимликларнинг физиологик ҳолатига қараб танланади.

Протопластлар қоронғу ёки ярим қоронғу жойларда ажратилади, бунда pH 5,4-6,2 бўлиши керак. Протопластларнинг турғунлиги CaCl₂ ва MgCl₂ нинг юқори миқдори ушлаб туради.

Протопластларни олишда, шунингдек ҳужайра суспензияси ва каллус культураларидан ҳам фойдаланиш мумкин.

4. Каллусни суяқ озуқа муҳитига солиб, доимий чайқатиб аралаштириш йўли ҳужайралар суспензияси билан олинади. Пектиназа ферментидан фойдаланиб эксплантдан суспензион культура олиш мумкин. Олдин эксплант юзасида каллус чўқимаси ҳосил қилинади, сўнг ундан алоҳида ҳужайралар ва ҳужайра агрегатлари олинади натижада ҳужайра суспензияси ҳосил бўлади. 100 мл суспензия олиш учун 2-3 г янги каллус тўқимаси керак бўлади.

Суспензия ҳужайраларнинг бўлиниши каллус ҳужайралари индукцияси ва ўсиши учун зарур бўлган гормонлар ауксин, цитокининлар иштирокида боради. Суспензия 2,4Д ли озуқа муҳитида ўстирилган пўк каллусдан яхшироқ ҳосил бўлади.

Ҳужайра суспензиясидан биотехнологияда иккиламчи бўлган метаболитлар яни доривор моддалар олишда, ҳужайра биомассасини ўстиришда ва ҳужайра селекциясида фойдаланилади. Ҳужайра суспензияси билан ишлашда уларнинг ҳарактеристикасини, яшаш қобилятини, суспензион культурдаги зичлигини агрегирланиш даражасини, ўсиш тезлигини билиш зарур. Уларнинг яшаш қобиллятини бўйб аниқланади. Бунда метил кўк ёки Эвакс кўк бўёғидан

фойдаланилади. Бунда тирик ҳужайралар бўялмайди, нобуд бўлган ҳужайралар кўк рангга бўялади. Генетик ва физиологик изланишлар учун, шунингдек ҳужайра селекциясида фойдаланиш учун алоҳида ҳужайраларни ўстириш катта аҳамиятга эга. Алоҳида ҳужайралардан олинган клон-авлодлар генетик бир хил эмасликнинг сабабларини билишда ёрдам беради. Ажратилган протопластдан олинган яқка гибрид ҳужайра кейинги бўлинишида гибрид ҳужайралардан иборат клон олиш имкониятини беради. Алоҳида ҳужайралар ўсимлик тўқимаси ҳужайра суспензиясидан ферментлар билан мацерацияланганидан сўнг, ажратилган протопластлардан ҳужайра девори тикланганидан сўнг ажратиб олинади. Бир ҳужайрали фракциялар олиш учун, колбадаги суспензияни тиндириб қўйиб, устки суяқ қисмидан олса бўлади. Бунда йирик агрегатлар колба тагига чўкади. Бундан ташқари алоҳида ҳужайраларни мацерацияловчи ферментлардан фойдаланиб, сахароза градиентида центрифугалаб, ёки металл элактдан филтрлаб олиш мумкин.

Алоҳида ҳужайраларнинг бўлиниб кўпайиши учун махсус услублар ишлаб чиқилган, 1950 йил Джонсон «энага» услубини таклиф этди, бунда «энага» вазифасини филтёр қоғоз билан, ундан ажратилган каллус тўқимаси бўлаги бажаради. «Энага» иштарокида алоҳида ҳужайра бўлишиб, ҳужайра-клон индивидуал колония беради. Ҳужайра бўлинишининг индукцияси учун «озукалантирувчи қатлам» дан фойдаланиш мумкин. Ҳужайра бўлинишини стимуллаш ва муҳитни кондиционирлаш учун интенсив бўлинаётган ҳужайра культураси ўсаётган озука муҳитдан қўшилади.

5 Хулоса қилиб айтганда биотехнологиянинг янги босқичи ҳужайра муҳандислигидан фойдаланиб орган, тўқима ва ҳужайраларни сунъий озука муҳитларида ўстириб, улардан медицина ва халқ хўжалигининг бошқа тармоқлари учун иккиламчи синтез моддалар, вируслардан ҳоли экиш материаллари олиш, ташқи ноқулай шароитга чидамлар тез ривожланадиган ўсимликлар олишда фойдаланилади. Каллус тўқималаридан трансген формалар олиш ҳозирги кунда халқ хўжалигида кенг ишлатилмоқда. Каллус тўқималаридан ҳужайралар суспензияси олиниб, доривор моддаларга бўлган иккиламчи метаболитлар олишда, ҳужайралар биомассасини ўстиришда, ҳужайра селскциясида кенг қўлланилмоқда

Саволлар:

1. Ҳужайра муҳандислиги фани нимани ўрганади?
2. Орган, тўқима, ҳужайра ва протопластни ўстиришдан мақсад нима?
3. Каллус тўқима қандан ҳосил бўлади?
4. Ҳужайранинг яшаш қобилиятини қандай аниқлаш мумкин?
3. Ҳужайра суспензияси нимага керак?
5. Алоҳида ҳужайралар олиш услубини айтиб тушунтиринг ?

У1 Манзу: Ўсимликлар селекциясида In vitro усулини қўллаш

Режа:

1. In vitro сулидан фойдаланиб яшашга мослашмаган дурагайларни кўпайтириш
 2. Хужайра селекциясининг аҳамияти ва вфзалиги
 3. Ажратилган протопластларнинг бир-бирига қўшиш усуллари
1. Хулсаолар

Адабиётлар: 1,9, 15

1. Хужайра технологиясининг яна бир йўналиши бу хужайра технологиясидан селекциядан фойдаланишдир. Бу усулдан фойдаланиб, селекция жараёнларини тезлаштириш ва осонлаштариш, ўсимликларнинг янги шакллари ва навларини яратиш мумкин.

Ажратилган хужайра ва тўқималарни In vitro ўстаришни иккита гуруҳга бўлиш мумкин.

1-гуруҳ. Бу ёрдамчи технология бўлиб, селекциянинг ўрнини боса олмайди, лекин унга хизмат қилади.

Бунга In vitro уруғлантириш, уруғмуртакни ва етилмаган гибрид муртакларни ўстириш, чангдон ва микроспораларни ўстириб гаплоид олиш, ажратилган хужайраларни криосаклаш, алоҳида гибридларни клонал микрокўпайтиришни киритиш мумкин.

2-гуруҳ селекциянинг ананавий услубларидан фарқ қилувчи услублар билан ўсимликларнинг янги шакл ва навларни олиш: каллус тўқмасидан фойдаланиб хужайра селекцияси, соматик гибридизация, ген муҳандислиги услубларини қўллаш.

In vitro уруғлантириш. Танланган жуфтларни табиий шароитда уруғлантириш мумкин бўлмаган ҳолларда бу усулдан фойдаланилади.

In vitro уруғлантиришни икки хил йўл билан амалга ошириш мумкин.

а) Тугунча сиртига чанг қўйилган ҳолда суний агарли муҳитларда ўстирилади.

б) тунчани ёриб озуқа муҳитга уруғмуртакли плацента бўлаги жойлаштирилади унга яқинроқ жойда ёки плацента тўқимасида тайёр чанг ўстирилади. Уруғланиш кетган-кетмаганлигини уруғмуртаклар ўлчамининг тезикда ўсишидан аниқлаш мумкин. Шакилланган муртак тинч ҳолатга ўтмасдан, тезликда ўсиб гибрид авлоднинг ўсиши бошланади.

Постгам чатишмасликни енгитиш. Постгам чатишмаслик чанглангандан гўпг келиб чиқади. Бунда ривожланмаган, пуч, унмайдиган уруғлар ҳосил бўлади. Бунга сабаб муртак билан эндосперманинг ривожланиш вақтининг тўғри келмаслиги бўлиши мумкин. Эндосперма ёмон ривожланганида муртак нормал ўсмайди. Бундай ҳолларда етилган пуч уруғлардан муртак ажратиб олинади ва озуқа муҳитда ўстирилади.

Муртакларни суний озуқа муҳитларда ўстириш **эмбриокультура** деб аталади. Етилган муртакларни минерал тузлар ва сахароза тутувчи физиологик актив моддалар солинмаган оддий озуқа муҳитларида ўстириш мумкин. Ҳозирги кунда эмбриокультура

ларни селекцияда қўллаш, қишлоқ хўжалик ўсимликларини узоқ формаларини чатиштириб янги дурагайлар олишда катта аҳамият касб этмоқда.

Ажратилган муртаклар культураси ёрдамида нафақат узоқ дурагайлашда ёки постгам чатишмасликни енгишда балки қимматли дурагайларни микроқўпайтиришда ҳам фойдаланилади. Микроқўпайтириш каллус тўқималаридан каллусогенез, морфогенезнинг индукцияси ва регенерант - ўсимлик олиш йўлини беради

In vitro гаплоидлар олиш, уларни селекцияда қўллаш. Гаплоид ўхшашликлардан фойдаланиб керакли комбинацияларни тезроқ топиш ва қисқа вақт ичида нав яратиш мумкин. Гаплоидлар стабил гомозигот тизимлар олишда ишлатилади. Гаплоид асослар стерилдир, лекин уларнинг хромосомалар тўпламини колхицин ёрдамида икки марта қўпайтириш мумкин ва диплоид гомозигот ўсимликлар олиш мумкин.

Ажратилган тўқималар культурасидан фойдаланиб гаплоид олишнинг **учта** усули бор:

Андрогенез - Ажратилган чангдои ва микроспораларни сунъий озуқа муҳитларида ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

Гипогенез - Ажратилган уруғмуртаклардан сунъий озуқа муҳитида ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

Партеногенез - Дурагай муртакдан гаплоид олиш.

Каллус тўқимасида регенерант-ўсимлик олиш технологияси ишлаб чиқилгандан сўнг бошланғич ўсимликдан фенотипик ва генотипик хусусиятлари билан фарқ қилувчи ўсимликларнинг янги шакллари яратиш имконияти пайдо бўлди. Бу «сомаклон» деб атала бошланди. Сомаклон ўзгарувчанликнинг генетик табиати ва соматоклонал ўзгарувчанликнинг механизми кам ўрганилган.

Дифференцияланган ҳужайралар, нормал ўсимликларда турли даражадаги пloidликка эга лекин айрим турларгина диплоид ҳужайраларга хосдир. Онтогенез жараёнида турли ploidли ҳужайралар келиб чиқиши мумкин. Соматоклонал вариантлардан қишлоқ хўжалиги амалиётида қўлланилади. Буларга, оталик ва оналик ўсимлигидан биохимиявий, цитогенетик хусусияглари билан фарқ қилувчи шаклларнинг пайдо бўлиши киради.

2.Сомаклонларни олишни ҳужайра селекцияси билан бирга олиб борилса яхши натижаларга эришиш мумкин. Ҳужайра селекциясини қуйидаги услублар билан амалга ошириш мумкин.

- тўғри селекция (позитив),** бунда ҳужайранинг маълум мутантлари яшаши керак.
- нотўғри селекция (негатив),** бунда бўлинаётган ёввойи тип ҳужайраларни танлаб йўқотишга метаболитик фаол булмаган ҳужайраларнинг яшаб кетишига, лекин уларда мутацион ўзгаришларнинг қўшимча идентификациясига асосланган.
- умумий селекция,** бунда ҳамма ҳужайра клонлари алоҳида ўрганилади.

• юзики селекция ёки носелектив танлаш, бунда тизим вариантлари ҳамма популяциялар ичидан кўринишига қараб ёки буюклимливий усуллар орқали аниқланади.

Тўғри селекция кўпроқ тарқалган усуллардан бўлиб, гербицидларга, антибиотикларга, токсинларга, оғир металлларга, тузларга ва бошқа антиметоболитларга чидамли регенерант (янги) ўсимликлар олишда фойдаланилади.

3.Хужайра селекцияси ишларини амалга ошириш учун каллус, суспензион култура ёки **ажратилган протопластлардан** фолдалаллш мумкин. Хужайра селекциясининг кейинги услубларидан бири бу соматик хужайралардан олинган протопластларни бир бирига қўшишдир. Бу услуб, оддий жинсий йўл билан чатиштириш имкони бўлмаган ўсимликларнинг филогенетик узоқ турларини чатиштириш имкониятини беради.

Протопласт - бу пектин-целлюлозали қобикдан махрум этилган тирик хужайрадир. Ҳозирги вақтда протопластларни ўсимликларнинг илдиз, барг, гул, меваларидан, картошка туганагидан, турли шишлардан, микроспоралардан ва турли органлар тўқималаридан ажаратиб олиш мумкин. Пектолигик, целлюлотик ферментлар ва осмотик актив моддалар эритмалари билан протопластларни зарарламасдан хужайра деворини парчалашга эришиш мумкин.

Агар ажаратилган протопластлар озуқа муҳитларига экилса 3-4 кундан сўнг яна уларнинг хужайра девори тикланиб, хужайралар бўлимлишга ўтади. 12-14 инчи кун ҳамма хужайралар **микроколониаларга** айланади. Шунданс сўнг ҳосил бўлан 20-40 та хужайралардан иборат микроколониалар янги озуқа муҳитига ўтказилади, бу ерда улар каллус ҳосил қилади, Шу каллуслардан регенерант-ўсимлик олиш мумкин. Ажратилган протопластлар қўшилиш хусусиятига эга. Бир хил ўсимликлар протопласти, ҳар-хил турга мансуб ўсимликлар протопласти ва турли оилага мансуб ўсимликлар протопластларини қўшиш мумкин. Протопластларнинг қўшилишидан гибридлар ёки цибридлар ҳосил бўлади. Цибрид хужайра иккала партнернинг биттасининг цитоплазмасига, иккинчисининг ядросига эга бўлади. Цибридизация цитоплазма (ЦМС) хосгаларига эга бўлган генларни, баъзи гербицид ва патогенларга чидамлилиқ гелларини ўтказиш имконини беради.

4.Хулоға қилиб айтганда, хужайра технологиясидан фойдаланиб, селекция жараёнларини тезлаштириш ва осонлаштириш, ўсимликларнинг ялғи шаклларини ва навларини яратиш мумкин.Ажратилган хужайра ва тўқималарни In vitro ўстиш, постгам чатишмасликни енгиш, эмбриокультуралар олиш, қимматли дурагайлари микрокўпайтириш, In vitro гаплоидлар, сомоклонлар олиш имкониятини беради.

Саволлар:

1. Хужайра технологиясидан селекцияда фойдаланиш деганда нимани тушнасиз?
2. Ажратилган хужайра ва тўқималарни In vitro ўстириш усулларини айтиб бериш ?
3. Протопластдан регенерант-ўсимлик олиш босқичларида нималар килиш керак?
- 4 Протопластдан ҳосил бўлган гибрид ва цибрид хужайраларнинг фарқи нимада?.

УП-Мавзу. Ўсимликларни соғломлаштириш ва клонал микрокўпайтириш.

Режа:

1. 1п VII го ўсулларида фойдаланиб ўсимликларни микроклонал кўпайтириш.
2. Клонал микрокўпайтиришнинг босқичлари ва услублари.
3. Вируссиз экиш материаллари олиш технологияси.
4. Хужайра ва тўқималар банкини криосақлаш.
5. Хулосалар.

Адабиётлар 1, 9,15.

1.Хужайра ва тўқималар культураси соҳасида эришилган ютуқлар вегетатив кўпайтирининг янги усуларининг яратиш имкониятига эга бўлди. Бу услуб анавий услубларга нисбатан бир қатор қулайликларга эга. Генетик бир хил экиш материалларини меристема культурасидан фойдаланиб вируссиз ўсимликлар олиш, юқори ўсиш коэффициенти, селекцион даврнинг қисқалиги, ўсимликларнинг ювенил фазадан репродуктив фазага ўтиришининг тезлашиши, қийин кўпайувчи ўсимликларнинг кўпайтирилиши, бутун йил давомида ишни давом эттириш, экиш материалларини экиш ўстириш майдонида тежалиши имкониятини беради. 50 йилларда француз олими Ж.Морел томонидан биринчи орхидея ўсимлигидан регенрант -ўсимлик олинди. In vitro апикал меристемаларни ўстириш усулидан фойдаланди. Бирламчи эксплант сифатида ўсимликларнинг юқорл меристемаларидан фойдаланилади.

2.Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш жараёнини 4та босқичга бўлиш мумкин:

- 1- донор ўсимлик танлаш, эпсплантларни ажратиш ва яхши ўсувчи стерил культура олиш;
- 2 - максимал миқдорда мериклонга эришилгандан сунг хусусий микрокўпайтириш;
- 3- кўпайтирилган новдада илдиз ҳосил қилиш, уларни тупроқ шароитида ўсишига кўникма ҳосил қилиш;
- 4 - ўсимликларни иссиқхона гаароптида ўстприш ва уларни далага экишга тайёрлаш.

Клонал микрокўпайтиришнинг бир қанча усуллари мавжуд. Адабиётларда берилган услублардан келиб чиққан ҳолда қуйидаги йўллар билан бу жараённи амалга ошириш мумкин. Ўсимликда мавжуд бўлган меристемани фаоллаштириш; эксплант тўқималарида адвентив куртакларнинг пайдо бўлиш индукцияси; соматик эмбриогенез индукцияси; бирламчи ва қайта экилувчи каллус тўқимаси адвентив куртакларнинг дифференциацияси.

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришда ўсимликда мавжуд бўлган меристемаларни фаоллаш услуби кенг қўлланилади. **Бу иккита йўл билан амалга оширилади:**

а) поянинг юқори меристемасини олиб ташлаш ва In vitro гармонсиз муҳитда новдаларни микроқаламчалош

б) бачки новдаларни ривожлантиришни индуцирлаш учун озук муҳитга цитокинин каби

таъсирли моддаларни кўшиш. Цитокинин сифатида 6-бензиламинопурин (БАП) ёки 6-фурфурил-аминопурин, (кинетан) шунингдек 2-изопентениладенин (2 ip) ва зеатиндан фойдаланилади. Шундай тарзда олинган новдалар оналик эксплантлардан ажратилади ва бачки меристемалардан новдаларнинг кўпроқ ҳосил бўлиши учун яна янги тайёрланган муҳитда ўстирилади.

Ҳозирги вақтда бу услубдан фойдаланиб, қишлоқ хўжалиги ўсимликлари, техник ўсимликлар, сабзавот-мевалар, тропик ва субтропик ўсимликлар, декоратив ўсимликларнинг вируссиз экиш материаллари олиш ишлари йўлга қўйилган. Баъзи қишлоқ хўжалик ўсимликлари масалан картошка учун клонал микрокўпайтириш технологияси ишлаб чиқаришнинг асосини ташкил қилади. Ўсимликда мавжуд бўлган меристеманинг активацияси усули картошканинг битта меристемасидан юз мингдан кўпроқ ўсимлик олиш имконини беради. Технология асосида пробиркаларда хўжалик аҳамиятига молик қимматли уруғлик материаллар - микротуганаклар яратилмоқда.

3.Клонал микрокўпайтиришнинг асосий хусусияти бу генетик бир хил, вируссиз экиш материаллари олишдир. Бунга аперксларнинг меристема тўқималаридан ва поя органларига хос бачки куртаклардан фойдаланиб эришиш мумкин. Клонал микрокўпайтиришни муваффақиятли меристематик эксплантнинг ўлчамига боғлиқ. Барг асоси ва поя тўқимаси қанча катта бўлса морфогенез жараёни енгилроқ кечади ва нормал, пробирка ўсимлигининг ҳосил бўлиши билан тугалланади.

Бошланғич ўсимликларни термотерапея ва хемотерапея қилиш йўли билан вируссиз апикал меристемалар олиш мумкин

Термотерапея усули, In vivo шунингдек In vitro шароитларда қуруқ, пгспк, ҳавони қўллашга асосланган. Юқори ҳарорат вирус заррачаларига уларнинг рибонуклеин кислоталари ва оксил қобиқлари орқали таъсир қилиб, уларнинг парчаланишига ва вирус заррачаларининг зарарлаш қобилиятининг йўқолишига олиб келади. Термотерапеяда ўсимликлар термокамераларга жойланади ва ҳароратни 25° дан 37°С гача оширилади. Ҳар куни ҳарорат 2° С га кўтарилади. Камерадаги ўруғлик 3 минг лк, намлик 90%ни ташкил қилиши керак.

Хемотерапея усули - апикал меристемалар ўстирилаётган озуқа муҳитига гуанозин -1β-Д-рибофуранозил, 1,2,4-триазол, 3-карбоксимид (виразол) 20-50 мг/лнинг қўшилишга асосланган. Бу вирусга қарши препарат бўлиб, кенг таъсир спектрига эга.

4.Криосақлаш. Суяқ азотда (-196°С ҳароратли) ўсимликлар соматик ҳужайраларининг криосақланиши биотехнологияда янги йўналиш бўлиб, 1970 йилларда кенг ривожлана бошлади. Ушбу технологиянинг мақсадм, генофонднинг културада In vitro сақланиши, селекционерларни генофонд билан, дурағайлаш учун зарур бўлган чанглари, уникал уруғлар, ҳар -хил турдаги ўсимликларнинг трансформация қилинган, мутант, гибрид ҳужайралар, зиготик ва соматик

муртаклар билан таъминлашдир. Ҳозирги вақтда каллус тўқимларидан, ажратилган протопластлар, меристемалар, поя учларни криосақлаш шароитлари ишлаб чиқилган.

Криосақлаш ишларини амалга ошириш учун аввалом бор ҳужайраларнинг специфика сини ҳисобга олиб кичкина воқуолали, кам сувли майда ҳужайраларни танлаб олиш керак.

Криоконсервация жараёни ҳужайраларни музлатишга тайёрлашдан бошланади, буни бир неча услубларда амалга ошириш мумкин: ҳужайраларни осмотик актив моддзлар маннит, сорбит, аминокислоталар тутувчи озуқа муҳитларида ўстириш.

Криопротекторларни ҳужайраларнинг осмотик ва механик таъсирлардан сақловчи модаларни танлаш.

Бувга диметилсульфооксид (ДМСО, 5-10%), глицерин (10-20%), шунингдек поливинилпирролидон (МВП), дестран, полиэтиленгликол (ПЭГ) киради. Музлатиш 0°C дан -40°C гача ҳароратда олиб борилади. Шундай тарзда секин музлатиш натижасида ҳужайралар таркибидаги сувдан ҳоли бўлиб, -40°C да ҳужайралар батомом сувсизланиб, ўсимлик материалли ампулани суяқ азотга солишга имконли туғилади.

Хулоса қилиб айтиш мумкинки, ҳужайра ва тўқималарни ўстиришда, эришилган ютуқлар, генетик бир хил экиш материаллари лойишни, вируссиз ўсимликлар олиш, селекцион даврни қисқартириш, қийин кўпайувчи ўсимликларни кўпайтириш имкониятини беради.

Биотехнологиянинг янги йўналиши криосақлаш усулидан фойдаланиб, соматик ҳужайралар, уникал уруғларни, ўсимликларнинг-трансформация килинган гибрид ҳужайралари, зиготик ва соматик ҳужайраларни, протопластларни, меристемаларни, поя учларини музлатиб сақлашга имкон бериш мумкин.

Саволлар:

1. Микрклонал кўпайтиришнинг афзаллиги нимада?
2. Микрклонал кўпайтириш босқичларини айтиб беринг.
3. Вируссиз экиш материаллари олишнинг афзалликларини тушунтиринг.
4. Ҳужайралар ва тўқималар банкини сақлашдан мақсад нима?

УШ-Мавзу: Ўсимликларни гормон системаси.

Рсжа:

1. Ўсимликларни ўстириш ва ривожлантириш регуляторлари.
2. Фитогормонлар таъсириниш молекуляр механизми.
3. Фитогормонлар ва фиторегуляторларни олиш биотехнологияси.
4. Қишлоқ хўжалиги амалиётида фиторегуляторларни қўллаш.
5. Хулоса лар.

Адабиётлар: 1, 9, 15.

1. Ўсимликларни ўстириш ва ривожлантириш регуляторлари бирикмалар бўлиб, жуда кам миқдори ўсимликларнинг моддалар алмашинувига таъсир этиб, уларнинг ўсиш ва ривожланиш жараёнларини ўзгартиради. Улар олдин кўп йиллик ўсимликларнинг қаламчала рида илдиз ҳосил қилиш учун сўнг, донли ўсимликларнинг эгилиб қолишининг олдини олишда фойдаланилган эди, ҳозирги вақтда эса қишлоқ хўжалиги ўсимликларини интенсив ўстириш технологиясида қўлланилади. Фиторегуляторлар ёрдамида ўсимликларнинг ноқулай ташқи шароитга чидамлилигини, қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг ҳосилдорлигини ошириш, маҳсулдор навларнинг баъзи камчиликларини йўқотишга муваффақ бўлинмоқда. Агрономлар, физиологлар, химиклар ҳосилдорликни ошириш учун янги зарарсиз препаратлар ва технологиялар ишлаб чиқишмоқда.

2. Фитогормонлар асосан ўсимликларнинг генетик аппаратига таъсир қилади. Ҳозирги вақтда бу таъсир, *биринчидан* бир қатор гормонал генларнинг экспрессияси стимуляцияси ҳисобига, *иккинчидан* ДНКнинг метилланишининг умумий камайиши ҳисобига намоён бўлиш аниқланган. Фитогормонларнинг ўсимлик генетик аппаратига таъсири :қуйидагилар да намоён бўлади: фитогормонлар оксил рецептори билан бирлашади ва бевосита рецептор-гормон бирикмаси кўринишида ёки қатор оралиқ реакциялар орқали ДНК билан бирлашган оксил билан ва насл информацияларининг ўқилишига қаршилик қилувчи репрессор-оксиллар билан бирлашади. Бунинг натижагида репрессорлар билан ДНК молекуласи орасидаги ўзаро боғлиқлик бузилади ва озод бўлган генлар маълумот ўқилишини ва ударга таалукли оксил ферментлар биосинтезини амалга оширади. Фитогормонларнинг бундай ҳаракати танлов асосида юзага келади, яъни маълум фитогормонлар ДНКнинг бутун молекуласидан эмас балки алоҳида геплардан репрессор тўсиқларни олади.

Геномга фитогормонлар таъсирининг *иккинчи* усули шундан иборатки, унинг таъсирида ДНКнинг метилланиш даражаси камаяди ва бунинг ҳисобига генетик маълумотларнинг ўқилишини умумий қобиляти ўсади. Бу таъсир механизми ҳали охиригача ўрганилмаган бўлиб, фақат цитокининларни ДНКга ўрнашиб олиб, метил гуруҳларнинг (CH_3) бирлашишига

қаршилик қилиши маълум.

3.Тадқиқотчилар олдида доимо у ёки бу фиторегуляторларни олиш муаммоси туради. Уларнинг *in vitro* синтезини амалга ошириш учун кўп маблағ талаб қилинади. Бундай ҳолларда микроорганизмлар ёрдамида зарур молекулалар синтез қилинади. Худди шу услуб билан ҳамма гибберинлар, абсциз кислотаси ишлаб чиқариш, амалга оширилади.

Кейинги вақтларда микроорганизмлардан ажратиб олинган, умумий стимулловчи таъсирга эга юқори эффектив фиторегуляторлар пафдо бўлди. Мисол учун, симбионт-2 препаратини олсак, бу бирикма ауксинлар ва цитокининлар типи бўйича эффектив таъсирни намоён қилади. Кўп тарқалган микробиологик синтез препаратлар витаминлар, типи бўйича, биохимик реакцияларни активлаштириб, натижада ҳосилдорликни оширади ёки бирор фойда ли хоссаларни намоён бўлишига таъсир этади.

4.Қишлоқ хўжалиги амалиётида фиторегуляторларни қўллаш ўсимликларнинг ўсиш жараёнларини фаол бошқариш имкониятини беради. Ҳозирги вақтда **ретардант-**моддалар кенг тарқалган бўлиб, бу моддалар сабзавотлар, мевалар ва тоқларнинг бўйига ортиқча ўсишини тўхтатиб генератив аъзоларнинг ривожланишини тезлаштиришга, бошоқли ўсимликларнинг эгилиб қолмаслигинини олдини олишга эришиш мумкин. Ретардантлар таъсири ўсимликлар гормонал системасига таъсири билан боғлиқ. Ниҳолларнинг вегетатив ривожланиши фитогормонлар комплекси билан бошқарилади, аммо **гибберелин** асосий стимулловчи таъсир кўрсатади. Ретардант моддалар вақтича биосинтезни сусайтириб, гибберелиннинг фитогармонал таъсирини тўхтатиш хусусиятига эга. Ҳозирги вақтда ўсимликларнинг ўсиш жараёнларини бошқариш билан бир қаторда уларнинг физиологик тинч ҳолатини бошқариш имкониятлари ҳам мавжуд. Бу ҳолат одатда, картошка ва пиёзнинг сақланишини яхшилаш учун уларнинг физиологик тинч ҳолатини кучайтиради ёки тескари ҳолатини юзага келтиради, яъни Жанубий районлардан картошкadan икки марта ҳосил олиш учун туганакларнинг тинч ҳолати бузилади. Ўсимликларнинг физиологик тинч ҳолатини, шунингдек ўсиш жараёнини фитогармонал системалар орқали назорат қилинади. Бунда абсцизов кислотаси тинч ҳолатни стимуллайди, гибберелин ва цитокининлар бу ҳолатдан чиқишни таъминлайди. Ниҳоллар, уруғлар, захира органларида вегетацион давр охирида фитогормон-ингибиторлар (абсцизов кислота)нинг максимал миқдори тўпланади. Яровизация, стратификация ёки сақлаш даврида абсцизов кислота парчаланади ва ўсимликлардаги бор бўлган ва янгидан синтезланувчи гибберелинлар ва цитокининлар, ўсиш жараёнини бошланиши таъминлайди.

4.Хулоса қилиб айтганда, ўсимликларнинг ўстириш ва ривожлантириш фиторегуляторлари, ўсимликларнинг онтогенезини бошқаришда асосий қурол бўлиб хизмат қилади

. **Фиторегуляторлар** - хужайраларнинг дифференцировкасида, хужайраларнинг бўлинишида, янги тўқима ва органларнинг пайдо бўлишида, ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишида, уларнинг ҳосилдорлигини оширишда, маҳсулот сифатани яхшилашни бошқарувчи асосий моддалар ҳисобланади.

Саволлар:

1. Ўсимликларга ўстириш ва ривожлантириш гормонлари қандай таъсир этади
2. Фитогармонларнинг таъсир механизмини тушунтиринг.
3. Ретардант моддаларнинг ўсимликларга таъсир механизмини тушунтиринг.
4. Фитогармонлардан қишлоқ хўжалигида фойдаланиш йўллари айтиб беринг?

1X-Мавзу: Ўсимликшунослик ва чорвачиликда ген ва ҳужайра мухандислиги ютуқларининг қўлланилиш истикболлари.

Режа:

1. Ўсимликшуносликда ген ва ҳужайра мухандислиги ютуқларининг
2. Чорвачиликда ген ва ҳужайра мухандислиги ютуқларининг қўлланилиш
3. Хулосалар.

Адабиётлар 1; 5; 9; 16.

1.Сўнги10 йил мобайнида ген мухандислиги биотехнологиясига асосланган методология ўсимлик селекциясида катта бурилиш ясади. Ҳар хил турга мансуб ўсимлик ҳужайраларини қўшиб янги ўсимлик турлари яратиш биотехнологияси ишлаб чиқилди. Бу технологте тез кунда ўзининг истикболи чексиз эканлигини намоён қилди. Нашжада тадқиқотчилар ҳужайра генотипини қайта тузиш ва генотипга мақсадга мувофиқ ёт генлар киритиш эвазига ҳужайра ирсиятини ўзгартириш имкониятига эга бўлдилар. Ирсияти ўзгартирилган ўсимликларидан ва ўсимликларнинг ҳар қандай ҳужайрасидан сунъий шароитда етук организм яраташ биотехнологияси ишлаб чиқилди.

Классик генетика усули билан ирсиятни ўзгартиришнинг асосий камчилиги икки генотип частиштирилганда уларнинг барча хўжалик учун молик ва молик эмас генлари ўзаро рекомбинацияланшидир. Натижада яратилган навга генетик тадқиқотчи истаган гендан ташқари, навнинг хусусиятини бузувчи кўпдан кўп генлар ҳам ўтади.

Ген мухандислиги усулини қўллаганда бу муаммо енгил хал қилинади. Бунинг учун такомиллаштираётган ўсимлик нави ҳужайрасига қимматбаҳо сифатли ген кириталади ва бу ҳужайрадан етук ўсимлик олинади. Муайян бир генни ўсимлик ҳужайрасига киритиш плазмида векторлари ёрдамида амалга оширилади. Ҳозирги кунда ўсимликшуносликда бундай вектор вазифасини агробактериянинг Тi плазмидаси ўтамоқда. Табиатда агробактериянинг Тi плазмида сакловчи тури ўсимликни зарарлантиради. Зарарланган ўсимлик танасидаги ҳужайралар палапартиш бўлиниши натижасида шиш ҳосил бўлади. Бу шишни Тi плазмида геномининг тДНК бўлаги чакиради. Бунинг сабаби тДНК нинг ўсимлик ҳужайраси геномига бирикиши ва унинг хусусиятини бузишидир. тДНКнинг бу хусусиятидан ген мухандислигида кенг фойдаланнади.

Ўсимлик ирсиятини ген мухандислик усули билан ўзгартириш учун плазмиданинг тДНК қисми рестриктаза билан кесиб олинади ва рВК 322 плазмидаси билан бириктирилиб клонланади. Яратилган сунъий плазмида вектор **конструкция деб** аталади. Вектор конструкциянинг тДНК қисмига хўжалик аҳамияти учун қимматли бўлган ўсимлик гени кўчириб ўтказилади. Натижада тДНК шиш чакириш қобилиятини йўқотади, чунки ёт ген тДНКни икки бўлакка бўлиб юборган. Таркибида тДНК ва ёт

генга эга вектор конструкция ўсимлик протопластига киритилиб хромосома ДНКсига бирикиши натижасида ёт ген ўсимлик ирсиятига ўтказилади. Сўнгги йилларда вектор молекула таркибига киритилган ёт генларни ўта кучли электр майдони таъсирида ёки махсус ген отувчи замбарак воситасида ўсимлик ёки хайвон ҳужайрасига киритиш усуллари ишлаб чиқилган. Лекин бу усуллар техник жihatдан мураккаб ва қиммат бўлганлиги сабабли махсус ҳоллардагина ишлатилади. Генетик трансформация қилинган ўсимлик ҳужайрасидан трансген ўсимлик олинади

Трансформация қилинган ўсимлик ҳужайраси бўлиниши натижасида, маълум бир программа бўйича ривожланмайдиган ҳужайралар тўплами ҳосил бўлади. Бундай тўплам **каллус тўқима** деб аталади. Каллус тўқима ҳужайраларидан айримлари ўсимлик гормони ва бошқа регулятор моддалар таъсирида маълум программа бўйича бўлина, бошлайди. Натижада бундай ҳужайралардан босқичма-босқич ўсимлик эмбрион тўқимаси ва барча жihatдан нормал, вояга етган трансген ўсимлик олинади. Трансген ўсимликнинг ҳар бир ҳужайраси хромосомасида кўчириб ўтказилган ген гақланади. Шу сабабдан трансген ўсимлик жинсий йўл билан кўпайтириланда ёт ген наслдан - наслга берилади. Ген муҳандислигидан фойдаланган ҳолда ҳозирги кунда кўсак қуртига чидамли ғўза ва колорада қўнғизига чидамли картошка ўсимлиги етиштирилган.

Ўзбекистон Фанлар Академияси қошидаги микробиология илмий текшириш институти олимлари профессор Т.Ю.Юсупов раҳбарлиги остида ген муҳандислиги биотехнологияси услубларидан фойдаланган ҳолда *Bac.thuringiensis* энтомопатоген бактерияси асосида экологик тоза микроб инсектицид моддалари яратилган ва унинг рекомбинант ДНК (pCaVItoxneo; pGHm2toxneo) шаклида клонланган генларини ғўза ва мош ўсимлигига ўтказиб зараркунанда ҳашаротларга бардошли трансген ўсимлик формалари олинган.

Бу олимлар гуруҳи дунёда биринчи бўлиб инсектици оксиллар генини сақловчи pGH2toxneo бифункционал рекомбинант плазмидани ғўза ўсимлигига ўтказиш учун "чанг-плазида"суспензиясини реципиент-ўсимликларнинг (*G. hirsutum* L.108-Ф нави; *G. barbadense* L.6037 нави) оналик органларига табиий чатиштириш услуби ёрдамида трансформация қилиш технологиясини ишлаб чиқди. Олинган илмий амалий натажалар реципиент-ўсимлик гули чангидан экзоген ДНКни ўсимлик ҳужайрасига трансформация қилишда фойдаланиш мумкинлигини тасдиқлайди.

Ушбу гуруҳ олимлари ташаббуси билан мош ўсимлиги илдизи ва туганакларини зараркунанда ҳашаротлардан химоя қилиш мақсадида симбиотик туганак бактерияларнинг *tox*-ген сақловчи трансформант МТЛ-12; МТЛ-17 штаммлари олинди. Олинган трансформант штаммлар ёрдамида мош ўсимлигига инокуляция қилинди ва ҳашаротларга чидамли янги ўсимлик формалари яратилди. Трансформат штаммларнинг ҳашарот

личинкаларига нисбатан қўланилган 10^8 мл/ хужайра миқдоридаги суспензияси 60-95% | гача инсектицид фаолликка эга эканлиги исботланди.

Мазкур йўналишдаги илмий изланишлар генетика ва ўсимликлар эксприментал биологияси институтда академик А.А.Абдукаримов раҳбарлигида кенг қўламда амалга оширилмоқда ва халқ хўжалигида ўзининг қўлланилиш истиқболларини намоён қилмоқда.

2. Кейинги вақтларда хужайра муҳандислигини қўлланиш натижасида ҳайвонларнинг клонини олиш биотехнологияси яратилди. Юқорида келтирилишича, клон ибораси, асосан бир бактерия хужайраси бўлиниши натижасида ҳосил бўлган, ирсияти миқдор ва сифат жиҳатидан бир хил тенг бўлган бактерия колонияси ёки айнан бир гендан кўчириб олинган ген нусхалари йиғиндисини ифодалаш учун ишлатилади.

Юксак ҳайвонлар вегетатив йўл билан кўпаймаслиги сабабли уларнинг клонларини олиш яқин йилларгача муаммо бўлиб келар эди. 1977 йилда инглиз олими **Ж.Гердон** томонидан хужайра муҳандислиги усулини қўлланиши натижасида юксак ҳайвонлар клонларини яратиш биотехнологияси ишлаб чиқилди.

Сўнгги йилларда энг ижобий кўрсаткичга эга бўлган қорамол тухум хужайрасини сунъий шароитда уруғлантирилгандан кейин зотсиз қорамолга кўчириб ўтказиш йўли билан зотли қорамол клонини яратиш биотехнологияси амалий самара берди.

Молекуляр генетика, хужайра муҳандислиги ҳамда ген муҳандислиги фанларининг ривожланиши биотехнология фанининг истиқболлиги яна ҳам оширди. Натижада тадқиқотчилар хужайра генотипини қайта тузиш ва генотипга, мақсадга мувофиқ ёт генлар киритиш эвазига хужайра ирсиятини ўзгартириш имкониятига эга бўлдилар. Ирсияти ўзгартирилган ҳайвон тухум хужайрасидан сунъий шароитда етук организм яраташ биотехнологияси ишлаб чиқилди. Ирсий касаллик келтириб чиқарувчи генларнинг излаб топиш, ажратиш олиб ўрганиш, уларни соғлом генлар билан алмаштириш эвазига ирсий соғлом ҳайвонлар турини яраташдек ўта қимматли технология вужудга келди.

Ҳайвон организмни трансформация қилиш ва бу жараёнда ишлатиладиган маркерлар тизими ишлаб чиқилди. Ҳайвон вирус-лари асосидаги вектор молекулалар конструкциялари яратилди. Ҳайвон организмга генларни киритиш ва ген терапиясининг кўпгина муаммолари ечилди. Рекомбинант ДНК олиш технологияси-дан фойдаланиб гормон моддаларни микробиологик синтез қилиш, тез ривожланувчи трансген ҳайвон олиш, рекомбинант ДНКни зиготаларга киритиш, ядрони клонлаш технологиялари яратилди.

Ген муҳандислиги усуллари ёрдамида вирус ва бошқа микроб вакциналари ва диагностикалар ҳамда патоген омилларга чидам-лиликлнинг янги шаклини яратиш муаммолари ҳал қилинди. Ҳайвонлар ичак бўшлиғи микрофлорасида алмаштинмайдиган аминокислоталар, ферментлар ва витаминлар синтезини кучайтариш учун янги генлар

клонланди ва ҳайвон организмга трансформация қилинган.

3. Хулоса қиладиган бўлсак, тадқиқотчилар ўсимликчилик ва чорвачиликда ген ва ҳужайра муҳандислиги услубларидан фойда-ланиб, ҳужайра генотипини қайта т^ҳзиш, генотипга мақсадга мувофиқ генлар киритиш эвазига ҳужайра ирсиятини ўзгартириш им-кониятига эга бўлдилар. Ҳозирги кунда Ўзбекистонда ғўза ва бошқа ўсимликларнинг зараркунандаларга чидамли формалари олинган.

Ҳужайра муҳандислигини қўлланилиши натажасида ҳайвонларнинг клонларини олиш биотехнологияси яратилган, ҳайвон тухум ҳужайрасидан сунъий шароитда етук организм яратиш биотех-нологияси ишлаб чиқилган. Ирсий касаллик келтириб чиқарувчи генларни излаб топиш, ажратиб олиб ўрганиш, уларни соғлом генлар билан алмаштариш эвазига ўта қимматли биотехнология вужудга келди.

Саволлар:

- 1.Ті плазмидада тДНК бўлагига ёт ген киритиб трансген ўсимлик олинса, трансген ўсимликда тДНК шиш ҳосил қилмайди. Нима учун? Изохлаб беринг.
2. Трансген ўсимлик олиш технологиясини тарифлаб беринг.
3. Ген муҳандислиги биотехнологиясининг қишлоқ хўжалигида ва чорвачиликда ишлатилиш истиқболлари ҳақида тушунтиринг
- 4.Ўсимликларни зараркунанда хашаротларга чидамли формаларини яратиш технологияси деганда нимани тушунаси?
- э. Ген муҳандислиги биотехнологиясининг асосий роли ва ишлатилиш соҳаларини айтиб беринг.