

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

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

BIOLOGIYA FAKULTETI

GENETIKA VA BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI

RO‘YXATGA OLINDI

№ _____
2019 y “____” _____

«TASDIQLAYMAN»

Samarqand davlat universiteti
o‘quv ishlari bo‘yicha prorektori:
_____ prof. A.Soleev
_____ 2019 y

M.SULTANOV, P.R.XAZRATOV
“OZIQ-OVQAT TEXNOLOGIYASI ASOSLARI”
fanidan
O‘QUV-USLUBIY MAJMUUA
(«5320500-Biologiya»)

SAMARQAND – 2019

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

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

BIOLOGIYA FAKULTETI

GENETIKA VA BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI

RO‘YXATGA OLINDI

№ _____
2019 y “____” _____

«TASDIQLAYMAN»

Samarqand davlat universiteti
o‘quv ishlari bo‘yicha prorektori:
_____ prof. A.Soleev
_____ 2019 y

ISHCHI O‘QUV DASTURI

Bilim sohasi: 300000- Ishlab chiqarish texnik soha

Ta’lim sohasi: 320000- Ishlab chiqarish texnologiyalari

Ta’lim yo‘nalishi: 5320500 – Biotexnologiya (oziq-ovqat, ozuqa,
kimyo va tibbiyot)

**“OZIQ-OVQAT TEXNOLOGIYASI ASOSLARI”
fanidan
O‘QUV-USLUBIY MAJMUUA
(Moodle tizimi reja asosida)**

Tuzuvchi: SamDU Biologiya fakulteti, Genetika va
biotexnologiya kafedrasi dotsenti M.Sultanov,
ass. b.f.n. P.R.Xazratov

Kafedra mudiri: dots.G.A.Dushanova

Fakultet dekani: dots.X.O.Keldiyorov

SAMARQAND – 2019

Fanning o'quv-uslubiy majmuasi "Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari" fanining fan dasturi asosida ishlab chiqilgan.

TUZUVCHILAR: SamDU Biologiya fakulteti, Genetika va biotexnologiya kafedrası dotsenti M.Sultanov, ass. b.f.n. P.R.Xazratov

Genetika va biotexnologiya kafedrası mudiri: dots. G.A. Dushanova

Fakultet o'quv-uslubiy kengash raisi: dots. N.A. Allanazarova

Fakultet kengashi raisi: dots. X.O. Keldiyorov

O'quv uslubiy majmua SamDU biologiya fakultet kengashida ko'rib chiqilgan va foydalanishga tavsiya etilgan (2019 yil ____ sonli majlis bayonnomasi).

SamDU o'quv uslubiy boshqarma boshlig'i: Aliqulov B.S.

M U N D A R I J A:

- 1. SILLABUS (YO‘NALISHNING NAMUNAVIY VA ISHCHI O‘QUV REJASI, FANNING NAMUNAVIY VA ISHCHI O‘QUV DASTURI)**
- 2. O‘TILAYOTGAN FANNING ASOSIY NAZARIY MATERIALI (MA‘RUZALAR MATNI)**
- 3. GLOSSARIY**
- 4. FOYDALANILGAN ADABIYOTLARNING ELEKTRON SHAKLI**
- 5. MAVZULAR BO‘YICHA TAQDIMOTLAR, MUSTAQIL TA‘LIM UCHUN MATERIALLAR (ILMIY MAQOLALAR VA BOSHQA MANBALAR)**
- 6. LABORATORIYA (AMALIY YOKI SEMINAR) MASHG‘ULOTLARI MATERIALLARI**
- 7. QO‘SHIMCHA MATERIALLAR (VIDEOLAR, KEYS-STADILAR VA BOSHQALAR)**

1. SILLABUS (YO'NALISHNING
NAMUNAVIY VA ISHCHI O'QUV
REJASI, FANNING NAMUNAVIY
VA ISHCHI DASTURI)

Umumiy ma'lumotlar

1	OTM	SamDU	Manzili: Unisversitet xiyoboni, 5
2	Fakultet	Biologiya fakulteti	Manzili: Biologiya fakulteti binosi
3	Kafedra	Genetika va biotexnologiya	Manzili: Biologiya binosi, 2-qavat, 201-xona
4	Bilim va ta'lim sohasi	Bilim sohasi: 100000 – gumanitar soha	Ta'lim sohasi: 140000 – Tabiiy fanlar
5	Ta'lim yo'nalishi, kurs, guruh	5140100 – Biologiya (turlar bo'yicha)	– guruhlar
6	Fan (o'quv soatlari)	Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari	O'quv soatlari: ma'ruza – __ soat seminar mashg'. – __ soat mustaqil ish – __ soat
7	Kursning davomiyligi	5 – semestr	02.02.2019 – 22.05.2020
8	O'qituvchi (lavozimi, unvoni, elektron pochta)	Ma'ruza o'qituvchisi: Sultanov Mirzoravshanbek	
		Seminar mashg'ulotlari o'qituvchisi: Xazratov Pulat Raximovich	assistent, e-mail:
9	Dars joyi va vaqti	Ma'ruza	Biologiya binosi, 1 – qavat, 112 – aud.
		Seminar mashg'ulotlari	Genetika lab., __ – guruhlar
10	Konsultatsiya joyi va vaqti	Ma'ruza	Biologiya binosi, genetika laboratoriyasi, payshanba, soat 15.00 – 16.00
		Seminar mashg'ulot	Biologiya binosi, genetika laboratoriyasi, juma, soat 15.00 – 16.00
11	Shaxsiy grafik asosida ishlash vaqti	ARM o'quv zali	Dushanba, chorshanba, shanba kunlari, 15.00 dan 17.00 gacha

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3.12	Биотехнология	180		108	44	20	28	16		72						6		
3.13	Эволюция назарияси	120		72	32			40		48							8	
3.14	Умумий психология	120		72	36			36		48					4			
3.15	Умумий педагогика	120		72	36			36		48						4		
3.16	Биологияни ўқитиш методикаси	120		72	24	32		16		48						4		
3.17	Еш физиологияси ва гигиена	60		36	18	18				24				2				
	Танлов фанлари	420		252	96	78		78		168					6			12
4.00	Ихтисослик фанлари	819	12	492	246	96		150		327					2	4	16	20
4.01	Геномика асослари	120		72	36			36		48					2	2		
4.02	Ионлантирувчи нурлар биологияси	120		72	36	36				48						2	4	
4.03	Биотибиёт асослари	100		60	30	30				40							4	2
4.04	Биологияда физик-кимёвий тадқиқот усуллари	100		60	30	30				40							4	2
	Танлов фанлар	379		228	114			114		151							4	16
5.00	Қўшимча фанлар	450	6	216	108	108				234					6	6		
	Жами	6966		4128	1614	1346	610	558	3 кн	2838	32	32	32	32	32	32	32	32
	Малакавий ва педагогик амалиёт	1080																
	Битирув малакавий иши	324																
	Аттестациялар	972																
	Жами	2376																
	ҲАММАСИ	9342																

Изоҳ:

- Олий таълим муассасаси ихтисослик фанларининг дастурларини ишлаб чиқишда кадрлар буюртмачиларининг талабларини эътиборга олади.
- Харбий тайёргарлик машғулотлари қўшимча фанлар блокининг соатлари ҳисобига, харбий йилга эса таътил вақти ҳисобига ўтказилади. Харбий тайёргарлик машғулотлари ўтказилмайдиган ҳолларда ушбу блокдан меҳнат бозори ва кадрлар буюртмачиларининг талабларига мосланувчанлиги ва ҳаракатчанлигини таъминловчи фанлар учун ОТМ Кенгашининг қарори билан фойдаланилади.
- Ўқув режа асосида олий таълим муассасаси ҳар йили ишчи ўқув режасини тузади. Бунда олий таълим муассасасига талабалар юкласининг ҳафталик ҳажмини сақлаган ҳолда ўқув фанлари блоки ҳажмини 5 фондгача, блоклар таркибидаги фанлар ҳажмини 10 фондгача ўзгартириш ҳукуқи берилди.
- Битирув малакавий ишини бажариш муддатлари таркибига уни ҳимоя қилиш ҳам киритилади.
- Хорижий тил фанининг охириги 7-8-семестрларида битирувчи курслар учун қўшимча фанлар блоки ва танлов фанлари соатлари ҳисобидан ҳар ҳафтада 2 соатдан "Хорижий тил" фани ўқитилади.
- *Жисмоний маданият фани таркибида "Валеология асослари" курсидан 10 соат ҳажмда маъруза, 8 соат ҳажмда амалий машғулот ўқитилиши кўзда тутилади.
- Ўқув режага киритиладиган ихтисосликка оид фанларнинг амалий машғулотлари ва лаборатория ишлари олий таълим муассасаси ҳамда базавий ташкилот ва корхоналарда ўтказилади.
- Назария ва амалиёт яхлитлигини таъминлаш учун талабаларнинг малакавий амалиётлари базавий ташкилот ва корхоналарда ўтказилади.

Ўқув жараёнининг таркибий қисмлари	Ҳафталар сон	Семестр	Давлат аттестацияси
Назарий таълим	129	1-8	1. Гуманитар ва ижтимоий-иқтисодий фанлардан
Малакавий ва педагогик амалиёт	20	2,4,6,7	2. Хорижий тил
Аттестациялар	16+2(Д)	1-8	3. Битирув малакавий ишини ҳимоя қилиш
Битирув малакавий иши	6	8	
Таътиллар	31	1-8	
Жами	204		

Янги дастурлар ва ўқув адабиётларининг жорий этилишини назорат қилиш Бош бошқармаси бошлиғи

О.Исмаилов

Маънавий-ахлоқий тарбия бошқармаси бошлиғи

О.Базиров

ОЎМҚХТМ директори

Б.Рахимов

ЎМУ ректори

А.Марахимов

Кадрлар буюртмачиси:

ЎзР ФА Ботаника ва зоология институти директори

К.Тожибаев

Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг Олий ва ўрта махсус, касб-хунар таълими йўналишлари бўйича ўқув-услубий бирлашмалар фаолиятини мувофиқлаштирувчи кенгашида маъқудланган

2017 йил 18.08 даги 4 - сонли баённома

3-10/15

Академик даража - БАКАЛАВР
Ўқиш муддати - 4 йил
Таълим шакли - кундузги

1. ЎҚУВ ЖАРАЁНИ ЖАДВАЛИ

[illegible]

Назрий таълим	М	Малака амалиёт	П	Педагогик амалиёт	А	Аттестация	Д	Давлат аттестацияси	Б	Битирув маълумотий иши	Т	Таътил
---------------	---	----------------	---	-------------------	---	------------	---	---------------------	---	------------------------	---	--------

T/p	Ўқув фанлари, блоклар ва фаолият турларининг номлари	Талабанинг ўқув юкламаси, соатларда									Соатларнинг курс, семестр ва ҳафталик бўйича тақсими															
		Умумий юклама ҳажми		Аудитория машғулоти, соатларда						Мустақил таълим	1-курс				2-курс				3-курс				4-курс			
				Жами	Маъруза	Амалий	Лаборатория	Семинар	Курс лойиҳаси (иши)		Курслардаги ҳафталик сони				Курслардаги ҳафталик сони				Курслардаги ҳафталик сони							
											43				44				44				42			
											Семестрлар				Семестрлар				Семестрлар							
											1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
соат		%		Семестрдаги аудитория машғулоти ҳафталик сони						Семестрдаги аудитория машғулоти ҳафталик сони																
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19								
1.00	Гуманитар ва иқтисодий-иқтисодий фанлар	1045	15	666	152	368		146		379	180	144	144	90	72	36										
1.01	Ўзбекистон тарихи	92		54	26			28		38	54															
1.02	Миллий ғоя: Ўзбекистонни ривожлантириш стратегияси	62		36	18			18		26		36														
1.03	Диншунослик	62		36	18			18		26		36														
1.04	Фуқаролик жамияти	92		54	26			28		38			54													
1.05	Фалсафа	124		72	36			36		52		72														
1.06	Иқтисодиёт назарияси	60		36	18			18		24				36												
1.07	Ўзбек (рус) тили	126		90		90				36	54	36														
1.08	Хорижий тил	303		216		216				87	36	36	36	36	36	36										
1.09	Жисмоний маданият	124		72	10	62				52	36	36														
1.09.1	Жисмоний маданият ва спорт	80		54		54				26	18	36														
1.09.2	Валеология асослари	44		18	10	8				26	18															
2.00	Математик ва табиий-илмий фанлар	1148	16	648	262	140	246			500	252	180	180	36			72									
2.01	Олий математика	158		90	44	46				68	54	36														
2.02	Биологияда информатика ва замонавий ахборот технологиялари	120		72	36	36				48	72															
2.03	Математик моделлаштириш ва статистик усуллар	120		72	36	36				48		72														
2.04	Физика	192		108	40		68			84		108														
2.04.1	Кимё	384		216	80		136			168	72	72	72													
2.04.2	Анорганик ва органик кимё	128		72	28		44			56	72															
2.04.3	Аналитик кимё	128		72	28		44			56		72														
2.05	Физик ва коллоид кимё	128		72	24		48			56		72														
2.06	Экология	94		54	22	32				40	54															
2.07	Тупроқшунослик асослари	64		36	16	20				28																

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3.10	Одам ва ҳайвонлар физиологияси	120		72	32		40			48				72				
3.11	Биофизика	180		108	44		64			72						108		
3.12	Биотехнология	180		108	44	20	28	16		72						108		
3.13	Эволюция назарияси	120		72	32			40		48							72	
3.14	Умумий психология	120		72	36			36		48					72			
3.15	Умумий педагогика	120		72	36			36		48						72		
3.16	Биологияни ўқитиш методикаси	120		72	24	32		16		48						72		
3.17	Еш физиологияси ва гигиена	60		36	18	18				24				36				
3.18	Танлов фанлари	420		252	96	78		78		168					108			144
3.18.01	1) Ботаника тадқиқот усуллари, 2) Зоология тадқиқот усуллари, 3) Биокимёвий тадқиқот усуллари, 4) Ўсимликлар физиологияси тадқиқот усуллари, 5) Генетика тадқиқот усуллари	178		108	36	36		36		70					108			
3.18.02	1) Энтомология, 2) Маҳаллий ўсимликлар, 3) Ўсимликлар экофизиологияси, 4) Рацион ҳаёфизининг таъмиловчи технологияси, 5) Одам генетикаси	242		144	60	42		42		98								144
4.00	Ихтисослик фанлари	819	12	492	200	100	72	100		327					36	72	144	240
4.01	Геномика асослари	120		72	36			36		48					36	36		
4.02	Ионантирувчи инурлар биологияси	120		72	36	36				48						36	36	
4.03	Биотиббиёт асослари	100		60	30	30				40							30	30
4.04	Биологияда физик-кимёвий тадқиқот усуллари	100		60	30	30				40							30	30
4.05	Танлов фанлари	379		228	114			114		151							48	180
4.05.1	Герпетология	70		30	14			16		40							30	
4.05.2	Саноат микробиологияси	118		68	40			28		50								68
4.05.3	1) Паразитология, 2) Фитопатология, 3) Маҳаллий ўсимликларни еттиштириш, 4) Гематология ва биологик материаллар таҳлили, 5) Молекуляр генетика	191		130	60			70		61							18	112
5.00	Қўшимча фанлар	450	7	216	108	108				234					108	108		
5.01	Ўсимликларни биологик усудда зимоя қилиш	120		54	26	28				66						54		
5.02	Биометрия	106		54	28	26				52					54			
5.03	Интродукция, ландшафт дизайн ва гулчилик асослари	120		54	26	28				66					54			
5.03	Энтомология	104		54	28	26				50						54		
	Жами	6966		4128	1550	1286	682	520	3 ки	2838	576	576	576	576	576	576	288	384
	Малака амалиёти	1080										162		216		216	486	
	Якуний давлат аттестацияси	324																324
	Аттестация	972									108	108	108	108	108	108	108	216
	ҲАММАСИ	9342																

Изоҳ:

- Ўқув фанлари ҳажмининг камида 25 фоизи мустақил таълим тарзида ўзлаштирилиши шарт.
- Битирув малакавий ишнини бажариш муддатлари таркибига уни ҳимоя қилиш ҳам киритилади.

Ўқув жараёнининг таркибий қисмлари	Ҳафталар сони	Семестр	Давлат аттестацияси
Назарий таълим	129	1-8	1. Гуманитар ва ижтимоий-иқтисодий фанлардан
Малака амалиёти	20	2,4,6,7,8	2. Хорижий тил
Аттестациялар	16+2(Д)	1-8	3. Битирув малакавий ишнини ҳимоя қилиш
Битирув малакавий иши	6	8	
Таътил	31	1-8	
Жами	204		

Маъмур ишчи ўқув режа Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2017- йил "24" августдаги № 100-қарори билан тасдиқланган ўқув режа асосида тузилди.

Самарқанд давлат университети ўқув услубий кенгаши томонидан маъқулланган,
2019 йил _____ да,
басниқ _____
Ўқув услубий кенгаши раиси _____
Самарқанд давлат университети ўқув услубий кенгаши томонидан тасдиқланган,
2019 йил _____ да,
Илмий кенгаши раиси _____

Биология факултети Кенгаши раиси _____
Ботаника кафедраси муdiri: _____
Зоология кафедраси муdiri: _____
Генетика ва биотехнология кафедраси муdiri: _____
Ўсимликлар физиологияси ва микробиология кафедраси муdiri: _____
Одам ва ҳайвонлар физиологияси ва биокимё кафедраси муdiri: _____
Х.А. Кейдаров
Х.К. Хайдаров
А.Р. Жабборов
И.Ш. Джаббаров
С.Х. Ҳороков
М.С. Кузиев

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

Ro'yxatga olindi:
№ BD – 5230100-3.04
2018 yil “26” 05

Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi

2018 yil “14” 06

OZIQ - OVQAT BIOTEXNOLOGIYASI

FAN DASTURI

Bilim sohasi:	300 000 –	Ishlab chiqarish- texnik soha
	600000 -	Xizmatlar soxalari
Ta'lim sohasi:	320 000-	Ishlab chiqarish texnologiyasi
	610000-	Xizmat ko'rsatish soxasi
Ta'lim yo'nalishlari:	5320500-	Biotexnologiya (oziq-ovqat, ozuqa, kimyo va qishloq xo'jaligi)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi (yog'-moy mahsulotlari)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi (don mahsulotlari)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi(non, makaron, qandolatchilik mahsulotlari)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi (qand va bijg'ish mahsulotlari)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi (go'sht-sut va konserva mahsulotlari)
	5321000-	Oziq-ovqat texnologiyasi (oziq-ovqat xavfsizligi)
	5610100-	Xizmatlar sohasi (ovqatlanishni tashkil etish va servis)

TOSHKENT – 2018

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

Ushbu fan dasturida oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari ishlab chiqarishdagi eng asosiy texnologik jarayonlarni o'rganish orqali xalq xo'jaligining turli sohalari uchun o'ta zarur mahsulotlar ishlab chiqarishning imkoniyatlarini yaratish, fanning rivojlanish tendensiyasi va istiqbollari hamda Respublikamizning ijtimoiy-iqtisodiy rivojlanishidagi tutgan o'rni kabi masalalarni o'rganishni ko'zda tutadi.

II. O'quv fanining maqsadi va vazifasi

Fanni o'qitilishidan maqsad – oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonlari va xom ashyolari xaqida talabalarga aniq bilim berish, hamda biotexnologik yondoshishlar asosida iste'mol mahsulotlar olishni zamonoviy texnologiyasini, konstruksiyalari, ishlash prinsiplari hamda ishlab chiqarishni tashkil etish bo'yicha umumiy texnologik jarayonlar jihozlari bo'yicha yo'nalish profiliga mos bilim, ko'nikma va malakani shakllantirishdir.

Fanning vazifasi – talabalarni oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari ishlab chiqarishdagi biotexnologik va mikrobiologik ishlab chiqarishda keng qo'llaniladigan jarayonlarni va ob'ektlar bilan tanishtirish, ulardan foydalanish usullarini o'rgatish hamda mavjud ishlab chiqarish jarayonlarini takomillashtirish ko'nikmalarini shakllantirish, fanning hozirgi zamonda tutgan o'rni va fan yutuqlari bilan talabalarni tanishtirishdan iboratdir.

Oziq –ovqat biotexnologiyasi fanini o'zlashtirish jarayonida bakalavr:

- funksional oziqlar yaratish;
- oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlar ishlab chiqarishning fizik-kimyoviy va biokimyoviy asoslari;
- oziq-ovqat va ozuqaning biologik va energetik qiymati;
- organizmda energiya almashinuvi;
- GMO va GMO sifat mahsulotlar genetik xavfsizligi haqida tasavvurga ega bo'lishi;
- fermentlarni oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda qo'llashni;
- lipidlar va vitaminlar ishlab chiqarish biotexnologiyasini;
- biologik faol moddalar ishlab chiqarishni;
- oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalaniladigan antioksidantlar, konservantlar, bo'yovchi moddalar, aromatizatorlardan foydalanishni;
- laktozasiz sut olish biotexnologiyasini;
- biotexnologik jarayonlarni amalga oshirish va nazorat qilish;
- mahsulot tannarxini arzonlashtirish imkoniyatlarini shakllantirishda iqtisodiy-

ijtimoiy va ekologik talablardan kelib chiqib tanlash ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak.

Ushbu fanni ixtisoslik fanlar majmuasiga taalluqli bo'lib, talabalar uni IV semestrda o'rganishadi.

Dasturni amalga oshirish o'quv rejasida rejalashtirilgan "Biotexnologiya asoslari", "Biokimyo", "Molekulyar biologiya", "Mikrobiologiya" fanlaridan yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlik talab etiladi.

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

1-Modul. Fanga kirish

Oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari biotexnologiyasi fanning ahamiyati va vazifalari. Oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari biotexnologiyasining rivojlanish tarixi va asosiy yo'nalishlari. Biotexnologiyaning imkoniyatlari. Biotexnologiyaning ob'ektlari. Inson organizmida oziq-ovqat mahsulotlari tarkibining funksiyasi.

2-Modul. Sut va sut mahsulotlari ishlab chikarish biotexnologiyasi

Laktozasiz sut olish texnologiyasi. Sut zardobini qayta ishlash va qandli moddalar olish texnologiyasi. Pishloq, brinza, yogurt, qatiq, va boshqa mahsulotlar ishlab chiqarishda fermentlarni va mikroorganizmlarni ahamiyati. Jarayonni biokimyoviy asoslari.

3-Modul. Bijg'ish mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiya

Vino, pivo, spirt, kvas, sidr va boshqa ichimliklar ishlab chiqarishda biotexnologik jarayonlar.

4-Modul. Non va non mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiya

Non mahsulotlari ishlab chiqarishda fermentlarni va achitqilarni qo'llashning biokimyoviy asoslari. Qo'llanilayotgan fermentlarni turlari va xususiyatlari. Sifati kam unlardan non mahsuloti ishlab chiqarishda fermentlarni ahamiyati

5-Modul. Qandli moddalar ishlab chiqarish texnologiyasida biotexnologik usullar

Kraxmaldan glyukoza olish texnologiyasi. Kraxmalni suyultirishda bosqichlari. Kraxmal eritmasini qandlashtirish. Glyukoza siropini aktivlangan ko'mir yordamida rangsizlantirish. Glyukoza-fruktoza siropini olish. Glyukozani glyukoizomeraza fermenti orqali fruktozaga aylantirish. Jarayonni biokimyoviy va texnologik asoslari.

6-Modul. Fermentatsiyalangan oziq-ovqat mahsulotlari va funksional qo'shimchalar

Meva va sabzavotlarni fermentatsiya qilish. Choy. Kofe. Soya mahsulotlari.

7-Modul. Biologik faol moddalar va ularni olish biotexnologiyasi

Mikroorganizmlar biomassasidan oqsil preparatlar olishdagi asosiy talabalar. Qo'ziqorinlarning kimyoviy tarkibi va oziqaviy qiymati. Qo'ziqorinlarni o'stirish usullari. Achitqilardan oqsil izolyati olish texnologiyasi. Suv o'tlari oqsil manbai sifatida. Aminokislotalardan oziqa qo'shimchasi sifatida foydalanish. Aminokislotalarni olish usullari.

8-Modul. Istemol organik kislotalari ishlab chiqarish biotexnologiyasi

Limon kislota. Sirka kislota. Sut kislota. Mikrobiologik usullar yordamida olinadigan boshqa organik kislotalar.

9-Modul. Aromatizatorlar va xushbo'ylikni oshiruvchi moddalar

Oziq-ovqat mahsulotlari uchun foydalaniladigan aromatizatorlarning tarkibi. Ularni ishlab chiqarish usullari. Aromatizatorlar va xushbo'ylikni oshiruvchi moddalarni olishning mikrobiologik usuli. Aromatizatorlarning mikrobiologik turg'unligi.

10-Modul. Oziqa tolalar

Oziqa tolalarning inson organizmidagi ahamiyati. Oziqaviy tolalar klassifikatsiyasi. Oziqa tolalar olish usullari.

11-Modul. Radioprotektorlar

Radioprotektorlarning organizmdagi vazifalari. Enterosorbent va biosorbentlar. Xozirgi kunda enterosorbentlarning davolash ta'siri to'rtta mexanizmi.

12-Modul. Shirin ta'm beruvchi moddalar

Tabiiy shirin ta'm beruvchi moddalar. Sun'iy shirinlashtiruvchilar. Shirin ta'xm beruvchi moddalarni olishning biotexnologik usullari. Shirin ta'm beruvchi moddalarni ishlatish meyyorlari.

13-Modul. Oziq-ovqat mahsulotlarinining antioksidantlari

Antioksidantlarning ishlatilish soxalari. Antioksidantlarning klassifikatsiyasi. Tabiiy antioksidantlar.

14-Modul. Konservantlar

Konservantlarning oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishdagi roli. Oziq-ovqat mahsulotlari konservantlariga quyidagi talabalar qo'yiladi. Kimyoviy konservantlar Biologik konservantlari

15-Modul. Oziq-ovqat mahsulotlarida foydalaniladigan bo'yoqlar

Oziqaviy bo'yoqlarning klassifikatsiyasi. Tabiiy bo'yoqlarni olish usullari. Tabiiy bo'yoqlarni olishning biotexnologik usullari.

16-Modul. Quyultiruvchi moddalar

Gel xosil qiluvchi va quyudtiruvchi moddalarning tavsifi. Biotexnologik yo'llar bilan olinadiga emulgatorlar va stabilizatorlar.

17-Modul. Fermentli preparatlar ishlab chiqarish

Oziq-ovqat soxasida foydalaniladigan fermentli preparatlar. Fermentli preparatlarni biotexnologik olish usullari. Ferment preparatlarining biologik ta'siri.

18-Modul. Vitaminli preparatlar ishlab chiqarish

Vitaminlar olish manba'lari. Vitaminlarini biotexnologik ishlab chiqarish usullari. B₂ va B₁₂ vitaminlari.

IV. Laboratoriya mashg'ulotlarni tashkil etish bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar

Laboratoriya mashg'ulotlar uchun quyidagi mavzular tavsiya etiladi:

1. Biotexnologiya laboratoriyasida ishlash qonun qoidalari.
2. Oziqa maxsulotlaridan oqsil ajratish
3. Meva-sabzavotlar tarkibidagi shakarlarni aniqlash
4. Non ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan foydalanish
5. Sut maxsulotlari tarkibidagi sut kislota miqdorini aniqlash
6. Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi kul moddalar miqdorini aniqlash
7. Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi uglevodlarni aniqlash
8. Salqin ichimliklar tarkibidagi sun'iy shirin ta'm beruvchilarni aniqlash usullari
9. Brinza-pishloq tayyorlash jarayonini o'rganish

Laboratoriya mashg'ulotlari multimedia qurilmalari bilan jihozlangan auditoriyada bir akadem. guruhga bir o'qituvchi tomonidan o'tkazilishi lozim. Mashg'ulotlar faol va interfaol usullar yordamida o'tilishi, mos ravishda munosib pedagogik va axborot texnologiyalar qo'llanilishi maqsadga muvofiq.

V. Mustaqil ta'lim va mustaqil ishlar

Mustaqil ta'lim uchun tavsiya etiladigan mavzular:

1. Lizin ishlab chiqarish texnologiyasi
2. Biotexnologik usulda olingan oziq-ovqat mahsulotlarini genetik xavfsizligi
3. Asparagin va glyutamin aminokislotalarni ishlab chiqarish biotexnologiyasi
4. Meva va sabzavotlardan pyure ishlab chiqarish biotexnologiyasi.
5. Soya mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi.
6. Erming xom ashyo resurslari.
7. Mikroorganizmlarni kulturalashning biotexnologik jarayonlari.
8. Oziqa oqsillar olishda biotexnologiya.
9. Suv o'tlaridan oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiya.
10. Oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalaniladigan oziqa qo'shimchalari va ingredient.
11. Oziq-ovqat mahsulotlarining oziqa qiymatini oshirishda biotexnologiya.
12. Oziq-ovqat biotexnologiyasi rivojlanishidagi zamonaviy yo'nalishlar.
13. Ichimlik suvini tozalashning biotexnologik usuli.
14. Suv o'tlaridan oqsillar olish biotexnologiyasi.
15. Vitamin V₁₂ ishlab chiqarish texnologiyasi
16. Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishda biotexnologiya
17. Non mahsulotlari ishlab chiqarishda fermentlardan foydalanish
18. Go'sht mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiya

VI. Asosiy va qo'shimcha o'quv adabiyotlar hamda axborot manbaalari

Asosiy adabiyotlar

1. Stahl, Ulf, Donalies, Ute E.B., Nevoigt, Elke, "Food Biotechnology" 2015. Swedish Institute. Croatia
2. N.A.Xo'jamshukurov, Q.D.Davranov, Oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari biotexnologiyasi. Darslik.T:Tafakkur bo'stoni.2014. 176b.
3. N.A.Xo'jamshukurov, D.Q.Maksumova, Biotexnologik jarayon jixozlari. Darslik. T.:Tafakkur bo'stoni.2014. 160b.

Qo'shimcha adabiyotlar

4. Mirziyoyev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz, T. "O'zbekiston", 2017.- 488 b,
5. Mirziyoyev Sh.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash-yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi, T. "O'zbekiston", 2017.- 48 b l
6. Mirziyoyev Sh.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz , T. "O'zbekiston", 2016 .-56 b
7. Q.Davranov. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. O'quv qo'llanma. T.2008 502 b.
8. Davronov K.D., Xo'jamshukurov N.A. Umumiy va texnik mikrobiologiya. O'quv qo'llanma. T.: O'zbekiston ensiklopediyasi. 2004. -279 b.

Internet saytlari

9. www.milesta.ru
10. www.biotex.com
11. www.ziyonet.uz

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O'RTA-MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

Ro'yxatga olindi:

№ _____
“ ” _____ 2019- yil

“TASDIQLAYMAN”

Samarqand davlat universiteti o'quv ishlari
bo'yicha prorektori:

_____ prof.A.Soleyev
“ ” _____ 2019-yil

**«OZIQ-OVQAT TEXNOLOGIYASI ASOSLARI »
fanining**

ISHCHI O'QUV DASTURI

BILIM SOHASI:	300000	–	Ishlab chiqarish texnik soha
TA'LIM SOHASI:	320000	–	Ishlab chiqarish texnologiyalari
TA'LIM YO'NALISHI:	5320500	–	Biotexnologiya

SAMARQAND - 2019

Fanning ishchi o'quv dasturi 2019- yilda tasdiqlangan o'quv reja va namunaviy o'quv dasturiga muvofiq ishlab chiqildi.

Tuzuvchilar:

- | | | |
|-----------------|---|---|
| Hazratov P.R. | - | SamDU Biologiya fakulteti, Genetika va biotexnologiya kafedrası katta o'qituvchisi, biologiya fanlari nomzodi |
| Axanboyev.SH U. | - | SamDU Biologiya fakulteti, Genetika va biotexnologiya kafedrası assistenti |

Taqrizchilar:

- | | | |
|---------------|---|---|
| Davranov Q.D. | - | O'zMU Biologiya-tuproqshunoslik fakulteti, Mikrobiologiya kafedrası professori, biologiya fanlari doktori |
| Sultonov R.M. | - | SamDU Biologiya fakulteti, Genetika va biotexnologiya kafedrası dotsenti, biologiya fanlari nomzodi |

Fanning ishchi o'quv dasturi "Genetika va biotexnologiya" kafedrasining 2019-yil "____"-avgustdagi 1-son yig'ilishida muhokamadan o'tgan.

Kafedra mudiri:

dots. G.A.Dushanova

Fanning ishchi o'quv dasturi Biologiya fakultetining o'quv uslubiy kengashida muhokama etilgan va foydalanishga tavsiya qilingan (2019-yil "____"-avgustdagi 1-son yig'ilish bayonnomasi)

Fakultet o'quv-uslubiy kengashi raisi:

dots. N.A.Allanazarova

Fanning ishchi o'quv dasturi Biologiya fakultetining Ilmiy kengashida muhokama etilgan va foydalanishga tavsiya qilingan (2019-yil "____"-avgustdagi 1-son yig'ilish bayonnomasi)

Fakultet ilmiy kengashi raisi:

dots.X.Keldiyarov

"KELISHILDI"

O'quv uslubiy boshqarma boshlig'i:

_____ **dots. B.S.Aliqulov**

Kirish

Oziq ovqat texnologiya asoslari fani oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlarini ishlab chiqarishdagi eng asosiy texnologik jarayonlarni o'rganish orqali xalq xo'jaligining turli sohalari uchun zarur mahsulotlar ishlab chiqarishning imkoniyatlarini yaratish, fanning rivojlanish tendensiyasi va istiqbollari hamda respublikamizning ijtimoiy-iqtisodiy rivojlanishidagi ahamiyatini oshirish mohiyatini tushuntirish uchun zarur bo'lgan bilimlarni berishni ko'zda tutadi. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari fani ixtisoslik fanlari blokiga kirib, 3-kursda o'qitilishi maqsadga muvofiq.

O'quv fanning maqsad va vazifalari

Ma'lumki oziq-ovqat sanoati biotexnologiya fanining barcha tarmoqlari bilan chambarchas bo'g'liqdir. "Oziq-ovqat texnologiyalari asoslari" fanini o'qitishdan maqsad talabalarda oziq-ovqat va oziqa mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonlari hamda biotexnologik usullar asosida ekologik toza oziqa mahsulotlari va xom-ashyolari ishlab chiqarishning zamonaviy texnologiyalari, konstruksiyalari va ishlash prinsiplari bo'yicha bilim va ko'nikmani shakllantirishdan iborat.

Fan bo'yicha talabalarning bilim, malaka va ko'nikmalariga qo'yilgan talablar

Oziq ovqat texnologiya asoslari fanini o'zlashtirish jarayonida amalga oshiriladigan vazifalar doirasida talaba:

- oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlar ishlab chiqarishni biotexnologik jarayonlari, asosiy uskunlari va jihozlari, asosiy uskuna va jihozlardan foydalanish, biotexnologik jarayonlarda qo'llaniladigan asosiy xom-ashyo va manbalar, jarayonlarni tashkil etishning asosiy prinsiplari. Biotexnologik jarayonlarda ikkilamchi xom-ashyo va materiallardan foydalanish imkoniyatlari ulardan foydalanish usullarini to'g'risida tasavvurlarga ega bo'ladi.

- fermentlari asosida glyukoza, glyukoza-fruktoza siropi, oqsil gidrolizati olish, biotexnologik jarayonlar uchun ozuqa muhitini tayyorlash, jarayonlarni amalga oshirishda havoni tozalash uskunalaridan foydalanish usullari, qoldiq mahsulotlar va chiqindilarning utilizatsiyasi, tayyor mahsulotga qo'yilgan talablar, sterilizatsiyalangan xom ashyo olish uskunlari va texnologiyasi, biotexnologik jarayonlarni amalga oshirish va nazorat qilish, nazorat qilish detektorlari va ularning turlarini bilishi va ulardan foydalana olishi;

- biotexnologik jarayonlarni tashkil etish va amalga oshirishda zarur bo'ladigan produtsent, manba va mahsulot turlariga qo'yilgan davlat nazorati bo'yicha talablar va standartlar, ozuqa xomashyosi tayyorlashda biotexnologik usullardan samarali foydalanish, oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlari ishlab chiqarishda qo'llaniladigan mikroorganizmlar, ularni turlari va xususiyatlari, oziq-ovqat ishlab chiqarish korxonalari chiqindilarini qayta ishlash texnologiyasi, olinadigan mahsulot turining xususiyatidan kelib chiqib texnologik jarayon, muvofiq uskunalar va jihozlarni tanlash, biotexnologik jarayonlarni amalga oshirishda o'ta zarur bo'lgan texnik, mehnat va fuqaro muhofazasi, biotexnologik sanoat miqyosida mikroorganizmlarni o'stirish texnologiyasi, fermentlar, organik kislotalar va shu kabi o'ta zarur mahsulotlarni olish texnologiyalari, jarayonlarni tashkil etish manbalarini tanlash, jarayonlarni jadallashtirish, ishlab chiqarish tizimini mo'tadillashtirish, mahsulot tannarxini arzonlashtirish imkoniyatlarini shakllantirishda iqtisodiy-ijtimoiy va ekologik talablardan kelib chiqib tanlash ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak.

Fanning o'quv rejadagi boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liqligi

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fani bir qancha umumbiologik fanlar: botanika, zoologiya, biokimyo, fiziologiya, biofizika, irsiyat qonuniyatlarini o'rganuvchi genetika, hamda organizmlarni atrof muhit bilan o'zaro munosabatlarni o'rganuvchi ekologiya, tirik organizmni ichki va tashqi tuzilishini o'rganuvchi anatomiya va morfologiya fanlari bilan birgalikda tabiiy fanlar: kimyo, fizika, matematika va zamonaviy kompyuter texnikasi mumtoz va zamonaviy uslublari yordamida organizmlarda sodir bo'ladigan murakkab jarayonlardagi ilmiy ma'lumotlarni olishda foydalaniladi.

Fanni o'qitishda zamonaviy axborot va pedagogik texnologiyalar

Talabalarning Oziq ovqat texnologiya asoslari fanini o'zlashtirishlari uchun o'qitishning ilg'or va zamonaviy usullaridan foydalanish, yangi informatsion-pedagogik texnologiyalarni tadbiq qilish muhim ahamiyatga egadir. Fanni o'zlashtirishda darslik, o'quv va uslubiy qo'llanmalar, ma'ruza matnlari, tarqatma materiallar, elektron materiallar foydalaniladi. Fanning o'qitish turlari dasturda ko'rsatilgan mavzular ma'ruza, amaliy mashg'ulotlar shaklida olib boriladi. shuningdek atroflicha bilim olishni ta'minlash maqsadida talabalarga mustaqil ish mavzulari ham beriladi. Ma'lumotlar ko'rgazmali o'quv qurollari, kodoskop, multimedia yordamida olib boriladi. Ma'ruza va seminar darslarida mos ravishda fanning ilg'or texnologiyalardan foydalanilgan holda olib boriladi.

“Oziq ovqat texnologiya asoslari” kursini o'rganishda quyidagi asosiy konseptual yondashuvlardan foydalaniladi:

- Shaxsga yo'naltirilgan ta'lim;
- Tizimli yondashuv;
- Faoliyatga yo'naltirilgan yondashuv;
- Dialogik yondashuv;
- Hamkorlikda ta'limni tashkil etish;
- Muammoli ta'lim;

Axborotni taqdim etishning zamonaviy vositalari va usullarini qo'llash – yangi kompyuter va axborot texnologiyalarini o'quv jarayonida qo'llash;

O'qitishning usullari va texnikasi –ma'ruza, muammoli ta'lim, kichik guruhlarda ishlash, munozarali dars;

O'qitishni tashkil etish shakllari –dialog, polilog, o'zaro hamkorlikga asoslangan frontal, kollektiv va guruh;

O'qitish vositalari – o'qitishning an'anaviy shakllari (darslik, ma'ruza matni) va yangi axborot texnologiyalari;

Teskari aloqa usullari va vositalari – blits so'rov, joriy, oraliq va yakuniy baholash natijalari asosida tahlil o'tkazish;

Boshqarish usullari va vositalari – auditoriya soatlari va darsdan tashqari mustaqil ishlarning nazoratini vazifalar berish orqali amalga oshirish;

Monitoring va baholash – talabalarning o'quv mashg'ulotlarida egallagan bilimlari natijalari test topshiriqlari, yozma ish variantlari va og'zaki so'rov asosida aniqlanadi va baholanadi.

” Oziq ovqat texnologiya asoslari” fanidan mashg'ulotlarning mavzular va soatlar bo'yicha taqsimlanishi

t/r	Mavzular nomi	jami soat	Ma'ruza	Amaliy	Laboratoriya	Mustaqil ta'lim
1	Oziq -ovqat texnologiyalari asoslari faniga kirish.		2			
2	Sut va sut mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi		2	2	2	4
3	Bijg'ish mahsulotlari ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari		4		2	4
4	Non va non mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi		2	2	2	4
5	Qandli moddalar ishlab chiqarish texnologiyasida biotexnologik usullar		2	2	2	4

6	Fermentatsiyalangan oziq-ovqat mahsulotlari va funksional qo'shimchalar		2		2	4
7	Biologik faol moddalar va ularni olish biotexnologiyasi.		4	2	2	6
8	Iste'mol organik kislotalari ishlab chiqarish biotexnologiyasi		4		2	4
9	Aromatizatorlar va xushbo'ylikni oshiruvchi moddalar.		2	2	2	4
10	Oziqa tolalar.		2		2	4
11	Shirin ta'm beruvchi moddalar olishning biotexnologik usullari		4	2	2	4
12	Oziq-ovqat mahsulotlarining antioksidantlari		2		2	4
13	Konservantlar		4		2	4
14	Oziq-ovqat mahsulotlarida foydalaniladigan bo'yoqlar olishning biotexnologik usullari.		4	2	2	4
15	Gel hosil qiluvchi va quyultiruvchi moddalar biotexnologiyasi		2		2	4
16	Fermentli preparatlar ishlab chiqarish.		4	2	2	4
17	Vitaminli preparatlar ishlab chiqarish biotexnologiyasi		4	2	2	6
18	Biosensorlar		4		2	4
	Jami	180	54	18	36	72

Asosiy qism. Fanning uslubiy jihatdan uzviy ketma-ketligi

Asosiy qismda fanning mavzulari mantiqiy ketma-ketligi, ushbu fanlarda qo'llaniladigan pedagogik texnologiyalar va foydalaniladigan adabiyotlar ro'yxati hamda ulardan foydalanish bo'yicha ko'rsatmalar keltirilmoqda.

Ma'ruza mashg'ulotlari:

Oziq-ovqat texnologiyalari asoslari” faniga kirish. “Oziq-ovqat texnologiyalari” asoslari fanining predmeti, vazifasiva oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish sanoatidagi ahamiyati

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*
Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2

Sut va sut mahsulotlari ishlab chiqarishbiotexnologiyasi. Laktozasiz sut olish texnologiyasi. Sut zardobini qayta ishlash va qandli moddalar olish texnologiyasi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*
Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q2, Q3.

Bijg'ish mahsulotlari ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari. Bijg'ish mahsulotalari ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning ahamiyati. Vino, pivo, spirt, kvas, sidr va boshqa ichimliklar ishlab chiqarishning biotexnologik jarayonlari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *Venn diagrammasi, munozara, muammoli ta'lim*
Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2.

Non va non mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi. Non mahsulotlari ishlab chiqarish texnologiyasi.Non mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalaniladigan fermentlarva achitqilarning turlari va xususiyatlari

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*
Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Qandli moddalar ishlab chiqarish texnologiyasida biotexnologik usullar

Kraxmaldan glyukoza olish texnologiyasi. Kraxmalni suyultirishbosqichlari. Kraxmal eritmasini qandlashtirish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q2, Q3.

Fermentatsiyalangan oziq-ovqat mahsulotlari va funksional qo'shimchalar

Meva va sabzavotlarni fermentatsiya qilish. Choy, kofe, soya mahsulotlari ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *Venn diagrammasi, munozara, muammoli ta'lim*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2.

Biologik faol moddalar va ularni olish biotexnologiyasi. Mikroorganizmlar biomassasidan oqsil preparatlar olishdagi asosiy talabalar. Qo'ziqorinlarning kimyoviy tarkibi va oziqaviy qiymati

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Iste'mol organik kislotalari ishlab chiqarish biotexnologiyasi. Limon kislota. Sirka kislota. Sut kislota. Mikrobiologik usullar yordamida olinadigan boshqa organik kislotalar.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q2, Q3.

Aromatizatorlar va xushbo'ylikni oshiruvchi moddalar. Oziq-ovqat mahsulotlari uchun foydalaniladigan aromatizatorlarning tarkibi. Ularni ishlab chiqarish usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Oziqa tolalar. Oziqa tolalarning inson organizmidagi ahamiyati. Oziqaviy tolalarklassifikatsiyasi. Oziqa tolalar olish usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q2, Q3.

Shirin ta'm beruvchi moddalar olishning biotexnologik usullari. Tabiiy shirin ta'm beruvchi moddalar. Sun'iy shirinlashtiruvchilar. Shirin ta'm beruvchi moddalarni olishning biotexnologik usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Oziq-ovqat mahsulotlarining antioksidantlari. Antioksidantlarning ishlatilish soxalari. Antioksidantlarning klassifikatsiyasi. Tabiiy antioksidantlar.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *Venn diagrammasi, munozara, muammoli ta'lim*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2.

Konservantlar. Konservantlarning oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishdagi roli. Oziq-ovqat mahsulotlari konservantlariga quyidagi talabalar qo'yiladi. Kimyoviy konservantlar. Biologik konservantlar.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q2, Q3.

Oziq-ovqat mahsulotlarida foydalaniladigan bo'yoqlar olishning biotexnologik usullari. Oziqaviy bo'yoqlarining klassifikatsiyasi. Tabiiy bo'yoqlarni olish usullari. Tabiiy bo'yoqlarni olishning biotexnologik usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Gel hosil qiluvchi va quyultiruvchi moddalar biotexnologiyasi. Gel hosil qiluvchi va quyultiruvchi moddalarning tavsifi. Biotexnologik yo'llar bilan olinadigan emulgatorlar va stabilizatorlar.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *Venn diagrammasi, munozara, muammoli ta'lim*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2.

Fermentli preparatlar ishlab chiqarish. Oziq-ovqat sanoatida foydalaniladigan fermentli preparatlar. Fermentli preparatlarni biotexnologik olish usullari. Imobillangan fermentlardan oziq-ovqat sanoatida foydalanish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q2; Q1, Q2.

Vitaminli preparatlar ishlab chiqarish biotexnologiyasi. Vitaminlar olish manba'lari. Biotexnologik usullar yordamida vitaminlar ishlab chiqarish asoslari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2.

Biosensorlar. Oziq-ovqat mahsulotlari sifati va xavfsizligini nazorat qilishda biosensornlarning ahamiyati. Oziqa mahsulotlari tarkibidagi patogen mikroorganizmlarni aniqlashda biosensornlardan foydalanish. Fermentativ va mikrobiologik biosensornlar. ning klassifikatsiyasi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *Venn diagrammasi, munozara, muammoli ta'lim*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fani bo'yicha ma'ruza mashg'ulotlarining kalendar tematik rejasi

t/r	Mavzular nomi	soat
1	Oziq -ovqat texnologiyalari asoslari faniga kirish.	2
2	Sut va sut mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
3	Bijg'ish mahsulotlari ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari	4
4	Non va non mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
5	Qandli moddalar ishlab chiqarish texnologiyasida biotexnologik usullar	2
6	Fermentatsiyalangan oziq-ovqat mahsulotlari va funksional qo'shimchalar	2
7	Biologik faol moddalar va ularni olish biotexnologiyasi.	4
8	Iste'mol organik kislotalari ishlab chiqarish biotexnologiyasi	4
9	Aromatizatorlar va xushbo'ylikni oshiruvchi moddalar.	2
10	Oziqa tolalar.	2
11	Shirin ta'm beruvchi moddalar olishning biotexnologik usullari	4
12	Oziq-ovqat mahsulotlarining antioksidantlari	2
13	Konservantlar	4
14	Oziq-ovqat mahsulotlarida foydalaniladigan bo'yoqlar olishning biotexnologik usullari.	4
15	Gel hosil qiluvchi va quyultiruvchi moddalar biotexnologiyasi	2
16	Fermentli preparatlar ishlab chiqarish.	4
17	Vitaminli preparatlar ishlab chiqarish biotexnologiyasi	4
18	Biosensorlar	4
	Jami	54

Amaliy mashg'ulotlarining tavsiya etiladigan mavzulari

Pivo mahsulotlari ishlab chiqarish olish texnologiyasi

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2,.

Vinodan meva sirkasini olish biotexnologiyasi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *munozara, aqliy hujum, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q3,

O'simlik xom - ashyolari, konservalarining sifatini organoleptik belgilarga

asosan baxolash

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q3, Q3

Salqin ichimliklar tarkibidagi shirin ta'm beruvchi podslastitellarni aniqlash usullarini o'rganish

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2

Salqin ichimliklar tarkibidagi sun'iy shirin ta'm beruvchilarni aniqlash usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; VA3; Q1; Q3, Q4.

O'simlik xom - ashyolari, konservalarining sifatini organoleptik belgilarga asosan baholash

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *munozara, aqliy hujum, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q3,

Non mahsulotlari ishlab chiqarishda achitqi zamburug'laridan foydalanish.**Xamirturush ishlab chiqarish texnologiyasi.**

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2.

Sut kislotali mikroorganizmlar bakterial preparatlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q3, .

Oziqa bo'yoqlari, shirinlashtiruvchi va ta'mni oshiruvchi moddalar ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2,

Achitqi zamburug'lari biomassasi asosida oqsil vitaminli va oqsil lipidli konsentratlar ishlab chiqarish texnologiyasi.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *munozara, aqliy hujum, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q3,

Mikroorganizmlar biomassasi va kultura suyuqligidan mahsulotlarni ajratishning biotexnologik asoslari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q3, Q4.

Maqsadli mahsulotni tozalash, konsentrlash va quritish usullari. Maqsadli mahsulotlarni stabillash, modifikatsiyalash va standartlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q2; Q3;

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fani bo'yicha amaliy mashg'ulotlarining kalendar tematik rejasi

t/r	Mavzular nomi	soat
1	Pivo va vinodan sirka kislota ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
2	O'simlik xom - ashyolari, konservalarining sifatini organoleptik belgilarga asosan baxolash	2
3	Salqin ichimliklar tarkibidagi shirin ta'm beruvchi podslastitellarni aniqlash usullarini o'rganish	2
4	Non mahsulotlari ishlab chiqarishda achitqi zamburug'laridan foydalanish. Xamirturush ishlab chiqarish texnologiyasi.	2
5	Sut kislotali mikroorganizmlar bakterial preparatlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
6	Oziqa bo'yoqlari, shirinlashtiruvchi va ta'mni oshiruvchi moddalar ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari.	2

7	Achitqi zamburug'lari biomassasi asosida oqsil vitaminli va oqsil lipidli konsentratlar ishlab chiqarish texnologiyasi.	2
8	Mikroorganizmlar biomassasi va kultura suyuqligidan maxsulotlarni ajratishning biotexnologik asoslari.	2
9	Maqsadli mahsulotni tozalash, konsentrlash va quritish usullari. Maqsadli maxsulotlarni stabillash, modifikatsiyalash va standartlash.	2
	Jami	18

Laboratoriya mashg'ulotlarining tavsiya etiladigan mavzulari

Biotexnologiya laboratoriyasida ishlash qonun qoidalari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q2; Q3, Q4.

Oziqa maxsulotlaridan oqsil ajratish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q4.

Meva-sabzavotlar tarkibidagi shakarlarni aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q4.

Non ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan foydalanish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q2; Q3, Q4.

Sut maxsulotlari tarkibidagi sut kislota miqdorini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q4.

Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi kul moddalar miqdorini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q2; Q3, Q4.

Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi uglevodlarni aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *muammoli ta'lim, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q4.

Salqin ichimliklar tarkibidagi sun'iy shirin ta'm beruvchilarni aniqlash usullari.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q4.

Brinza-pishloq tayyorlash jarayonini o'rganish.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *klaster, munozara, blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q2; Q3, Q4.

“Oziq ovqat texnologiya asoslari” fani bo'yicha laboratoriya mashg'ulotlarining kalendar tematik rejasi.

t/r	Mavzular nomi	soat
1	Biotexnologiya laboratoriyasida ishlash qonun qoidalari.	2
2	Oziqa maxsulotlaridan oqsil ajratish.	4
3	Meva-sabzavotlar tarkibidagi shakarlarni aniqlash.	4

4	Non ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan foydalanish.	4
5	Sut maxsulotlari tarkibidagi sut kislota miqdorini aniqlash.	6
6	Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi kul moddalar miqdorini aniqlash.	4
7	Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi uglevodlarni aniqlash.	4
8	Salqin ichimliklar tarkibidagi sun'iy shirin ta'm beruvchilarni aniqlash usullari.	4
9	Brinza-pishloq tayyorlash jarayonini o'rganish.	4
	Jami	36

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fanidan mustaqil ta'limni tashkil etishning shakli va mazmuni

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fanidan talabani mustaqil ta'limi shu fanni o'rganish jarayonining tarkibiy qismi bo'lib, uslubiy va axborot resurslari bilan ta'minlangan. Ushbu mustaqil ish topshiriqlari adabiyotlar asosida bajariladi.

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fanidan talabani mustaqil ta'limi majmuasi fanning barcha mavzularini qamrab olgan va 18 ta mavzu ko'rinishida shakllantirilgan.

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fanidan talabalar mustaqil ta'limining mazmuni va hajmi

t/r	Mustaqil ta'lim mavzulari nomi	Berilgan topshiriqlar	Bajarish muddati	soat
1	. Lizin ishlab chiqarish texnologiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	1,2, - haftalar	2 soat
2	Biotexnologik usulda olingan oziq-ovqat mahsulotlarini genetik xavfsizligi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	3,4, - haftalar	2 soat
3	Asparagin va glyutamin aminokislotalami ishlab chiqarish biotexnologiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	4,5, - haftalar	2 soat
4	Meva va sabzavotlardan pyure ishlab chiqarish biotexnologiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	5,6- haftalar	2 soat
5	Soya mahsulotlari ishlab chiqarish biotexnologiyasi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	6,7, - haftalar	2 soat
6	Kofe mahsulotlari ishlab chiqarishning biotexnologik asoslari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	8,9- haftalar	2 soat
7	Mikroorganizmlami kulturalashning biotexnologik jarayonlari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	10,11 - haftalar	2 soat
8	Biotexnologik usullar yordamida oziqa mahsulotlari uchun ishlatiladigan oqsillar olish.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	11,12,- haftalar	2 soat
9	Choy mahsulotlari ishlab chiqarish texnologiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	13,14- haftalar	2 soat

10	Oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalaniladigan oziqoqo'shimchalari va ingredientlari	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	14,15 - haftalar	2 soat
11	Oziq-ovqat mahsulotlarining oziqa qiymatini oshirishda biotexnologiyaning roli	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish2	14,15 - haftalar	2 soat
12	Oziq-ovqat biotexnologiyasi fanining zamonaviy yo'nalishlari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	14,16 - haftalar	2 soat
13	1chimlik suvini tozalashning biotexnologik usullari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	17,18 - haftalar	2 soat
14	Suv o'tlaridan oqsillar olish biotexnologiyasi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	18,19 - haftalar	2 soat
15	Vitamin B2 ishlab chiqarish texnologiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	18,19 - haftalar	2 soat
16	Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarishning biotexnologik usullari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	19,20 - haftalar	2 soat
17	Non mahsulotlari ishlab chiqarishda fermentlarning ahamiyati	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	19,20 - haftalar	2 soat
18	Go'sht mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiyaning roli	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	21,22 - haftalar	2 soat
Jami				36 soat

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fanidan talabalar bilimini reyting tizimi asosida baholash mezonlari

"Oziq ovqat texnologiya asoslari" fani bo'yicha reyting jadvallari, nazorat turi, shakli, soni hamda har bir nazoratga ajratilgan maksimal ball, shuningdek joriy va oraliq nazoratlarining saralash ballari haqidagi ma'lumotlar fan bo'yicha birinchi mashg'ulotda talabalarga e'lon qilinadi.

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

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

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

- **yakuniy nazorat (YaN)** - semestr yakunida muayyan fan bo'yicha nazariy bilim va amaliy ko'nikmalarni talabalar tomonidan o'zlashtirish darajasini baholash usuli. Yakuniy nazorat asosan

tayanch tushuncha va iboralarga asoslangan “Yozma ish” shaklida o‘tkaziladi.

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

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

Talabaniy bilim saviyasi, ko‘nikma va malakalarini nazorat qilishning reyting tizimi asosida talabaniy fan bo‘yicha o‘zlashtirish darajasi ballar orqali ifodalanadi.

«Evolutsion ta’limot» fani bo‘yicha talabalarning semestr davomidagi o‘zlashtirish ko‘rsatkichi 100 ballik tizimda baholanadi.

Ushbu 100 ball baholash turlari bo‘yicha quyidagicha taqsimlanadi:

Ya.N.-30 ball, qolgan 70 ball esa J.N.-35 ball va O.N.-35 ball qilib taqsimlanadi.

Ball	Baho	Talabalarning bilim darajasi
86-100	A‘lo	Xulosa va qaror qabul qilish. Ijodiy fikrlay olish. Mustaqil mushohada yurita olish. Olgan bilimlarini amalda qo‘llay olish. Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish. Tasavvurga ega bo‘lish.
71-85	Yaxshi	Mustaqil mushohada qilish. Olgan bilimlarini amalda qo‘llay olish. Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish. Tasavvurga ega bo‘lish.
55-70	Qoniqarli	Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish Tasavvurga ega bo‘lish.
0-54	Qoniqarsiz	Aniq tasavvurga ega bo‘lmaslik. Bilmaslik.

- Fan bo‘yicha saralash bali 55 ballni tashkil etadi. Talabaniy saralash balidan past bo‘lgan o‘zlashtirishi reyting daftarchasida qayd etilmaydi.

- Talabalarning o‘quv fani bo‘yicha mustaqil ishi joriy, oraliq va yakuniy nazoratlar jarayonida tegishli topshiriqlarni bajarishi va unga ajratilgan ballardan kelib chiqqan holda baholanadi.

- Talabaniy fan bo‘yicha reytingi quyidagicha aniqlanadi:

$$R = \frac{V * O'}{100}$$

- bu yerda: V- semestrda fanga ajratilgan umumiy o‘quv yuklamasi (soatlarda); O’ -fan bo‘yicha o‘zlashtirish darajasi (ballarda).

- Fan bo‘yicha joriy va oraliq nazoratlarga ajratilgan umumiy ballning 55 foizi saralash ball hisoblanib, ushbu foizdan kam ball to‘plagan talaba yakuniy nazoratga kiritilmaydi.

- Joriy **JN** va oraliq **ON** turlari bo‘yicha 55bal va undan yuqori balni to‘plagan talaba fanni o‘zlashtirgan deb hisoblanadi va ushbu fan bo‘yicha yakuniy nazoratga kirmasligiga yo‘l qo‘yiladi.

- Talabaniy semestr davomida fan bo‘yicha to‘plagan umumiy bali har bir nazorat turidan belgilangan qoidalarga muvofiq to‘plagan bal‘lari yig‘indisiga teng.

- ON** va **YaN** turlari kalendar tematik rejaga muvofiq dekanat tomonidan tuzilgan reyting nazorat jadvallari asosida o‘tkaziladi. **YaN** semestrning oxirgi 2 haftasi mobaynida o‘tkaziladi.

- JN** va **ON** nazoratlarda saralash balidan kam ball to‘plagan va uzrli sabablarga ko‘ra nazoratlarda qatnasha olmagan talabaga qayta topshirish uchun, navbatdagi shu nazorat turigacha, so‘nggi joriy va oraliq nazoratlar uchun esa yakuniy nazoratgacha bo‘lgan muddat beriladi.

- Talabaniy semestrda **JN** va **ON** turlari bo‘yicha to‘plagan ballari ushbu nazorat turlari umumiy balining 55 foizidan kam bo‘lsa yoki semestr yakuniy joriy, oraliq va yakuniy nazorat

turlari bo'yicha to'plagan ballari yig'indisi 55 baldan kam bo'lsa, u akademik qarzidor deb hisoblanadi.

- Talaba nazorat natijalaridan norozi bo'lsa, fan bo'yicha nazorat turi natijalari e'lon qilingan vaqtdan boshlab bir kun mobaynida fakultet dekaniga ariza bilan murojaat etishi mumkin. Bunday holda fakultet dekanining taqdimnomasiga ko'ra rektor buyrug'i bilan 3 (uch) a'zodan kam bo'lmagan tarkibda apellyasiya komissiyasi tashkil etiladi.

- Apellyasiya komissiyasi talabalarining arizalarini ko'rib chiqib, shu kunning o'zida xulosasini bildiradi.

- Baholashning o'rnatilgan talablar asosida belgilangan muddatlarda o'tkazilishi hamda rasmiylashtirilishi fakultet dekani, kafedra muduri, o'quv-uslubiy boshqarma hamda ichki nazorat va monitoring bo'limi tomonidan nazorat qilinadi.

Talabalar ON dan to'playdigan ballarning namunaviy mezonlari

№	Ko'rsatkichlar	ON	
		maks	1-ON
	Darslarga qatnashganlik darajasi. Ma'ruza darslaridagi faolligi, <u>konspekt daftarlarining yuritilishi va to'liqligi.</u>	8	0-8
	Talabalarining mustaqil ta'lim topshiriqlarini o'z vaqtida va <u>sifatli bajarishi va o'zlashtirish.</u>	8	0-8
	Og'zaki savol-javoblar, kollokvium va boshqa nazorat turlari <u>natijalari bo'yicha</u>	19	0-19
Jami ON ballari		35	0-35

Talabalar JN dan to'playdigan ballarning namunaviy mezonlari

№	Ko'rsatkichlar	JN		
		maks	1-JN	2-JN
	Darslarga qatnashganlik va o'zlashtirishi darajasi. Amaliy mashg'ulotlardagi faolligi, amaliy mashg'ulot daftarlarining yuritilishi va holati	15	0-7	0-8
	Mustaqil ta'lim topshiriqlarining o'z vaqtida va sifatli bajarilishi. Mavzular bo'yicha uy vazifalarini bajarilish va o'zlashtirishi darajasi.	10	0-5	0-5
	Yozma nazorat ishi yoki test savollariga berilgan javoblar	10	0-5	0-5
Jami JN ballari		35	0-17	0-18

Yakuniy nazorat "Yozma ish" shaklida belgilangan bo'lsa, u holda yakuniy nazorat 30 ballik "Yozma ish" variantlari asosida o'tkaziladi.

Agar yakuniy nazorat markazlashgan test asosida tashkil etilgan bo'lib fan bo'yicha yakuniy nazorat "Yozma ish" shaklida belgilangan bo'lsa, u holda yakuniy nazorat quyidagi jadval asosida amalga oshiriladi.

	Ko'rsatkichlar	YaN ballari	
		maks	O'zgarish oralig'i
1	Fan bo'yicha yakuniy yozma ish nazorati	6	0-6
2	Fan bo'yicha yakuniy test nazorati	24	0-24
	Jami	30	0-30

Yakuniy nazoratda "Yozma ish"larni baholash mezonlari

Yakuniy nazorat “Yozma ish” shaklida amalga oshirilganda, sinov ko’p variantli usulda o’tkaziladi. Har bir variant 5 ta nazariy savoldan iborat. Nazariy savollar fan bo’yicha tayanch so’z va iboralar asosida tuzilgan bo’lib, fanning barcha mavzularini o’z ichiga qamrab olgan.

Har bir nazariy savolga yozilgan javoblar bo’yicha o’zlashtirish ko’rsatkichi 0-6 ball oralig’ida baholanadi.. Talaba maksimal 30 ball to’plashi mumkin.

Yozma sinov bo’yicha umumiy o’zlashtirish ko’rsatkichini aniqlash uchun variantda berilgan savollarning har biri uchun yozilgan javoblarga qo’yilgan o’zlashtirish ballari qo’shiladi va yig’indi talabaning yakuniy nazorat bo’yicha o’zlashtirish bali hisoblanadi.

Asosiy va qo’shimcha o’quv adabiyotlar hamda axborot manbalari

Asosiy adabiyotlar

1. N.A.Xo’jamshukurov, Q.D.Davranov, Oziq-ovqat va ozuqa mahsulotlaribiotexnologiyasi. Darslik.T:Tafakkur bo’stoni.2014
- 2.P.Mirxamidova, A.H.Vahobov, Q.Davranov, G.S.Tursunboyeva “Mikrobiologiya va biotexnologiya asoslari” Toshkent-2013
3. Q.Davranov. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. O ’quvqo’llanma. T.2008
4. N.A.Xo’jamshukurov, D.Q.Maksumova, Biotexnologik jarayon jixozlari.Darslik. T.:Tafakkur bo’stoni.2014

Qo’shimcha adabiyotlar

1. Mirziyoyev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birgaquramiz, T. “O’zbekiston”, 2017.
2. Mirziyoyev Sh.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta’minlash-yurttaraqqiyoti va xalq farovonligining garovi, T. “O’zbekiston”, 2017.
3. Mirziyoyev Sh.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatinibirgalikda barpo etamiz , T. “O'zbekiston”, 2016 .
4. Davranov Q.D., Alikulov B.S. “Nanobiotexnologiya ” Darslik.T:Toshkent Lesson press nashriyoti-2019 .
5. Davronov K.D., Xo'jamshukurov N.A. Umumiy va texnik mikrobiologiya.O'quv qo'llanma. T.: O'zbekiston ensiklopediyasi. 2004.

Internet saytlari

1. www.biotechnology.ru
2. www.biotech.com
3. www.ziyonet.uz
4. www.studybiotechnology.com
5. www.twirpx.com

**2. O'TILAYOTGAN FANNING ASOSIY
NAZARIY MATERIALLARI
(MA'RUZALAR MATNI)**

1-MA`RUZA

Mavzu: Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining asosiy tushunchalari va ta'rifi.

Reja:

1. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari tushunchasining mazmuni.
2. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining dolzarb vazifalari.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari so'zi grekcha so'zlar yig'indisi bo'lib, «bios» - hayot, «texne» - san'at, texnika va «logos» – tushuncha, ta'limot ma'nolarini bildiradi.

“Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari” terminini fanga 1917 yilda venger injeneri **Karl Ereki** kiritgan. Uning ta'rifiga ko'ra “**oziq-ovqat texnologiyasi asoslari** – bu tirik organizmlar yordamida xom ashyodan u yoki bu mahsulot olinadigan ishlarning barcha turidir”.

Biologik texnologiya (**oziq-ovqat texnologiyasi asoslari**) inson faoliyati yordamida har xil muhitda foydali mahsulot olish boshqaruvini taminlay olishdir. Bu texnologiyalar har xil biologik agentlar va sistemalar- mikroorganizmlar, viruslar, o'simlik va hayvonlar hujayrasi va to'qimalarida hamda hujayradan tashqari modda va komponentlarining katabolitik jarayonlarning patensialiga asoslangan. Hozirda dunyoning hamma mamlakatlarida biotexnologiyaga asoslangan amaliy ishlar muhim o'rin egallagan. Bugungi kunda bu sohada AQSH va Yaponiya davlatlari yetakchilari hisoblanadi, ular oziq-ovqat texnologiyasi asoslariga asoslangan tajriba va izlanishlarini qishlog' xo'jalik, farmaseftika, oziq-ovqat va kimyo sanoatida qo'llab kelmoqdalar. Boshqa holatlarda, fermentli preparatlar, aminokislata, oqsil va dori-darmonlar ishlab chiqarishda G'arbiy Yevropa davlatlari (GFR, Fransiya, Buyukbritaniya) va Rossiya davlatlari katta o'rin tutadi. Bu davlatlar ichki kuchlari, yangi texnika va texnologiya, fundamental bilimlar hamda har xil biotexnologik obyektlari borligi bilan harakterlanadi.

Bugungi kunda oziq-ovqat texnologiyasi asoslarini aslida nima ekanini aniqlash juda qiyin. Bu tushuncha terminologik lug'atlarda juda chuqur va har xil qalqin qilinadi. Shu bilan birga oziq-ovqat texnologiyasi asoslari sohasiga bo'lgan qiziqishlar va bu boradagi juda keng qamrovli izlanishlar uni harqanday ishlab chiqarishda va hatto inson hayotidagi o'zgarishlarga sabab bo'lishi so'ngi yillarda tez sur'atda oshib bormoqda.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari yoki biologik jarayonlar texnologiyasi- biologik agentlar yoki ularning majmualaridan (mikroorganizmlar, o'simliklar va hayvon hujayralari, ularning komponentlaridan) kerakli maxsulotlar ishlab chiqarish maqsadida sanoatda foydalanish degan ma'noni beradi.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari jarayonlaridan mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralari, ulardan ajratilgan fermentlar, hujayra organnellalari, ularni o'rab turgan membranalar sof yoki immobillashgan holatda oqsil, organik kislotalar, aminokislotalar, spirtlar, dorivor moddalar, fermentlar, garmonlar va boshqa moddalar ishlab chiqarishda yoki ba'zi bir organik moddalarni (masalan, biogaz) ishlab chiqarish, sof holda metall ajratish, oqova suvlarni va qishloq xo'jalik yoki sanoat chiqindilarini qayta ishlashda keng foydalaniladi.

Fan sifatida o'tgan asrning 60-yillaridan shakllana boshlagan oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining tarixiga chuqurroq nazar tashlasak mikroorganizmlar yordamida "bijg'itish", "achitish" jarayonlari insoniyat tomonidan qadimdan keng ishlatilib kelinayotganligini guvohi bo'lamiz. Sutdan- qatiq, uzumdan- vino va sirka, achitqilar yordamida -non va boshqa bir qancha biotexnologik jarayonlarning qachon ixtiro qilinganligi hozircha noma'lum.

Umuman, yuqorida zikr etilgan mikroorganizmlar yordamida amalga oshiriladigan biotexnologik jarayonlar hozirgacha insoniyatning ro'zg'or yuritishida keng qo'llab kelinmoqda.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining mohiyatini tushunish uchun misollarga murojaat qilaylik. Bakteriya hujayrasi har 20-60 minutda, achitqi zamburug'lari 1,5-2,0 soatda ikkiga bo'linib ko'paysa, sut emizuvchilar hujayralarining ikkiga bo'linishi uchun 24 soat kerak bo'ladi. Bir kecha-kunduzda 500 kilogrammli qoramol 500 gramm oqsil moddasi to'plasa, 500 kilogramm achitqi zamburug'i 500000 kilogramm yoki undan 1000 marotaba ko'proq oqsil to'playdi.

Yana bir misol: 1 kub metr oziqa muhitida achitqi zamburug'lari 24 soatda 30 kilogramm oqsil to'playdi, shuncha miqdorda oqsil to'plash uchun 18 gektar erga no'xat ekib, uch oy parvarish qilish lozim bo'ladi.

Qolaversa, mikroob etishtirish na ob-havoga va na faslga bog'liq. Ularni eng arzon oziqa muhitida- har xil chiqindilar, kletchatkada, metanol, metan gazi va vodorodda o'stirish mumkin. Mikroorganizmlar nafaqat oqsil, balki turli fermentlar, yog'lar, vitaminlar, polisaxaridlar va boshqa bir qator foydali maxsulotlar sintez qiladi.

Bugunga kelib, zamonaviy biotexnologik usullar gen muhandisligi yordamida farmatsevtika uchun interferonlar, insulin, somatotropin, gepatitga qarshi vaksina, fermentlar, klinik tadqiqotlar uchun diagnostik ashyolar (narkomaniya, gepatit va boshqa bir qator yuqumli kasalliklarni aniqlash uchun test tizimlar, biokimyoviy tekshirishlar uchun reaktivlar, egiluvchan biologik plastmassalar, antibiotiklar, bioaralashmali boshqa ko'plab maxsulotlar) ishlab chiqariladi.

Pivo, spirt, kir yuvish vositalari, to'qimachilik va teri oshlash kabi jaryonlarda ishlatiladigan ferment preparatlari ishlab chiqarish va qo'llash ham keng yo'lga qo'yilgan.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining asosiy yo‘nalishlarini, shartli ravishda, quyidagicha tavsiflash mumkin:

- * oziqa maxsulotlari oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi;*
- * qishloq xo‘jaligida ishlatiladigan preparatlar oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi;*
- * sanoat maxsulotlari oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi;*
- * dorivor moddalar, diagnostika va reaktivlar oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi;*
- * biogidrometallurgiyada ishlatiladigan oziq-ovqat texnologiyasi asoslari;*
- * tabiatni muhofaza qilishi uchun zarur bo‘lgan oziq-ovqat texnologiyasi asoslarilar.*

Odatda, mikroorganizmlarni foydali va zararli deb o‘rganishga harakat qilinadi. Bu fikr mutlaqo to‘g‘ri emas. Fikrimizcha, barcha mikroorganizmlar foydali, chunki ular tabiatda modda almashinuvida faol qatnashadi va ko‘plab xilma-xil hayotiy zarur moddalar sintez qiladi. Binobarin, mikroorganizmlar biz yashab turgan dunyoning eng qudratli ishlab chiqaruvchi kuchidir.

Ular har xil fizik-kimyoviy muhitga chidamli, tez moslanuvchan, turli oziqa muhitida yashash qobiliyatiga ega.

Biologik jarayonlarda achitqi zamburug‘lari, mikromitsetlar, bakteriyalar va aktinomitsetlar (shulali zamburug‘lar) kabi mikroorganizmlardan foydalaniladi. Butun mavjudot mikroorganizmlarsiz yashay olmaydi, mikroorganizmlarning o‘zi esa yashayveradi. Aytaylik, ovqat hazm qilish tizimida faol qatnashadigan mikroorganizmlar miqdori kamayib ketsa, disbakterioz va u bilan bog‘liq boshqa kasalliklar ro‘y beradi. Yana bir misol, tuprog‘i sterillangan, ya‘ni mikroblari o‘ldirilgan tupvklarga o‘simlik o‘tkazib barcha kerakli mineral o‘g‘itlarni ham sterillangan holda solsangiz, ko‘chat 4-5 kundayoq so‘lib qoladi.

XXI – asrga zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslari ulkan yutuqlar bilan kirib keldi. Inson genomining to‘la o‘qilishi, oldindan rejalashtirilgan xususiyatlarga ega bo‘lgan shtamlarni yarata bilish, qarimaslik sirlarini ochish sari intilish, bir so‘z bilan aytganda abadiylikka intilish bugungi kun fani yutuqlari oldida afsona emasligi hammaga ma‘lumdir.

O‘tgan asrning 80 – 90 yillaridan boshlab, dunyo olimlarining “XXI – asr oziq-ovqat texnologiyasi asoslari asri” bo‘ladi degan bashoratom o‘z so‘zlari bejiz emasligi ko‘plab misollar bilan o‘z tasdig‘ini topmoqda.

Rivojlangan, zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslari fanining asosida uning ulkan yutuqlarining manbai bo‘lmish mikroorganizmlar dunyosi yotadi. SHunday ekan erishilgan yutuqlarda ko‘z ilg‘amas, jajji organizmlarning ham o‘z o‘rni bor albatta.

Keling, endi ushbu tarmoqlarning respublikamizda rivojlanishi uchun nimalarga e‘tibor berishimiz lozimligi haqida fikr yuritaylik. Dastlab,

e'tiborimizni butun jahon diqqat e'tiborida turgan oqsil muammosiga qaratmoqchimiz. Statistik ma'lumotlarga ko'ra: dunyoda oqsil tanqisligi yiliga deyarli 12 –15 mln. tonnani tashkil etadi. Bu bilan bog'liq bo'lgan quyidagi ma'lumotlar sizlarni befarq qoldirmaydi deb o'ylaymiz:

Dunyo bo'yicha 850 mln. dan ortiq kishi oqisilga muhtoj, shundan 200 mln. dan ortiqrog'i 5 yoshda bo'lgan bolalardir. 50 mln. dan ortiq kishi ochlikdan vafot etadi, ulardan 40 mln dan ortiqrog'i yosh bolalardir. 1 sutkada o'rtacha 11000 yosh bola hayotdan ko'z yumadi. Albatta keltirilgan jumlar har bir insonni larzaga solmay qo'ymaydi.

Xo'sh oqsil muammosini hal qilish uchun qanday ishlar amalga oshirilmoqda, qolaversa, Mikrobiologiya sanoati qay darajada hissa qo'shmoqda.

Oqsil muammosini hal qilish uchun dastlabki urinishlar eru-xotin Tausonlarning achitqilar va bakteriyalarni o'stirish uchun parafindan foydalanishni taklif etishgandan boshlangan edi. T.A.Tauson achitqilarning parafindan oksidlanishning ayrim oraliq maxsulotlari va V₁ vitaminini sintez qilishni isbotlab beradi. Bu dastlabki urinishlar edi albatta. SHundan keyin S.I. Kuznetsova, B.I. Isochenko, L.D. SHturim, G.N. Mogilevskiy va boshqa shu kabi olimlarning izlanishlari, nazariy va amaliy tajribalari ko'pgina mikroorganizmlar uglevodorodlarni oksidlay olishi mumkinligini rad etib bo'lmas darajada isbotladi.

Bu tadqiqotlar insoniyat oldida oqsil tanqisligi o'tkir muammo bo'lib turgan bir paytda ayniqsa, katta e'tiborni jalb etadi.

Fransiya, Italiya, YAponiya va AQSH kabi jahonning rivojlangan mamlakatlarida ham neftdan oqsil olish muammolarini echish uchun ilmiy izlanishlar olib borildi va bir qadar o'z echimini topdi.

Fikrimizni kengaytirgan holda o'quvchilarga tushunarli bo'lishi uchun bu jarayonda mikroorganizmlar faoliyati mexanizmi haqida to'xtalib o'tishni joiz deb hisoblaymiz.

Achitqi va bakteriyalar parafindan biomassa hosil qilish uchun o'zlariga kerakli bo'lgan uglerodni va hujayraning hayotiy faoliyati uchun energiya manbai bo'lib xizmat qiladigan, oqsil va vitaminlarni sintezlaydigan, raqib va dushmanlardan himoya qiladigan vodorodni topib oldilar. SHuning uchun ham biosintezning nihoyatda yuqori bosqichda o'tishi va o'ta maxsuldorligi ajablanarli hol emas.

Fikrimizning isboti sifatida quyidagi misollarni keltirmoqchimiz: Mikroorganizmlar 1 t. mo'tadil tuzilishdagi parafinlardan (10% namlikdagi tayyor maxsulotga hisoblanganda) 580–630 kg oqsil bo'lgan 1 t. biomassa hosil qiladi. Ayni paytda gidroliz zavodlari shuncha miqdordagi achitqi maxsuloti ishlab chiqarish uchun esa 5,5–6,4 tonna mutlaqo quruq holdagi yog'ochdan foydalaniladi. Oradagi farq albatta jiddiy qolaversa parafinda yog'ochga nisbatan

uglerod va vodorodlar miqdori nihoyatda ko'p bo'lib, biosintez jarayoniga sezilarli ta'sir ko'rsatadi.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining dolzarb vazifalari.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining 1-chi vazifasi sifatida qo'yidagi larni hosil qilish va xalk xujaligida keng qo'llash belgilangan .

-Tibbiyot uchun yangi biologik faol moddalar va dorivor preparatlar (interferon, insulin, odam buyini o'stiruvchi gormon , monoklonal antitela va.x.zo) ulardan sog'liqni saqlashda, oldindan diagnoz quyishi va og'ir kasallarni davolashda foydalanish, shu jumladan virusli preparatlar olish.

-o'simliklarni kasalliklar va zararkunandalardan himoya qilishining mikrobiologik vositalari, bakterial o'g'itlar, o'simlikni o'stiruvchi regulyatorlar, yangi serhosil, muhitning noqulay omillariga chidamli nav va gibridlarini gen va hujayra injeneriyasi usullari yordamida olish.

- chorva mollarining mahsuldorligini oshirish uchun qimmatli oziqa qo'shimchalari va biologik aktiv moddalar (oziqabop oqsil, aminokislotalar, fermentlar, vitaminlar, veterenariya preparatlari va.x.zo) -qishloq xo'jalik xayvonlarininga effektiv profilaktikasi, diagnostikasi va terapiyasi uchun bioinjeneriyaning yangi usullarini qo'llash.

- oziq-ovqat, kimyo, mikrobiologiya va boshqa sohalarda foydalanish maqsadida muhim xo'jalik mahsulotlari olish yangi texnologiyasini yaratish.

- qishloq xo'jalik, sanoat va maishiy xizmat qoldiqlarini qayta ishlashning chuqur va effektiv texnologiyasini qo'llash, korxonalar foydalangan suv va gaz qoldiqlaridan biogaz va o'g'itlar olishda foydalanish.

Mutaxassislarining xisob kitobiga qaraganda 90-yillarining o'rtalarida biotexnologik mahsulotlar, ishlabchiqarish hajmi 130-150 mlrd sumi tashkil etadi. Bu muommalarni xal etish ancha mushkul ish, chunki tirik organizm juda murakkabdir.

Har qanday bioob'ekt - bir butun sistemadir, uning elementlarining birortasini erkin o'zgartirib bo'lmaydi, albatta boshqa elementlari ham o'zgarishga uchraydi.

Har qanday ta'sir ob'ektda faqat foydali, bizning xoxishimizga mos o'zgarishga olib kelmaydi, genomning qayta kurish, o'zgarishi organizmning birdan bir nechta belgilariga ta'sir etadi. Odamda hujayralarni rak hujayralariga aylantiradigan, ya'ni qayta o'zgartiradigan genlar mavjud.

Undan tashkari ekosistema bir butun sistema bo'lib uning biror bir komponentining o'zgarishi boshqa komponentlariga uz ta'sirini ko'rsatadi. Madaniy o'simlikka plazmida yordamida transplantasiyalangan gen, keyinchalik begona utga ham utkazilishi mumkin .

Genetik va hujayra injeneriyasining prokariot organizmlardagi muvofakiyati yuqorida kursatilgan qiyinchiliklarni xal qilish mumkinligini ko'rsatadi.

Murakkab sistemalarda esa, ya'ni eukariot organizmlarda fundamental bilimlar tuplanilib birinchi kadam tashlanmoqda.

2-MA`RUZA

Mavzu: Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining qisqacha tarixi. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining zamonaviy yo`nalishlari.

Reja:

3. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining qisqacha tarixi.
4. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining zamonaviy yo`nalishlari.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining qisqacha rivojlanish tarixini quyidagi jadval orqali ifodaladik.

Sana	Voqealar
1917	Karl Ereki «oziq-ovqat texnologiyasi asoslari» terminini kiritgan
1943	Sanoat miqyosida penitsillin ishlab chiqarilgan
1944	Everi, Mak Leod va Mak Kartilar genetik material DNKdan tuzilganligini ko`rsatib berishgan
1953	Uotson va Krik DNK molekulasining tuzilishini aniqlashgan
1961	“Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari va bioinjeneriya” jurnali ta`sis etilgan
1961-1966	Genetik kod rasshifrovka qilindi
1970	Birinchi restriksion endonukleaza ajratib olingan
1972	To`liq hajmli tRNK geni sintez qilingan
1973	Rekombinant DNK texnologiyasiga asos solingan
1975	Monoklonal antitela olingan
1976	Rekombinant DNKni olish bo`yicha yo`riqnoma ishlangan
1976	DNKning nukleotid ketma-ketligini aniqlash metodi ishlab chiqilgan
1978	<i>E.coli</i> yordamida inson insulini ishlab chiqilgan
1982	Rekombinant DNK texnologiyasi bo`yicha olingan 1 vaksinani hayvonlarda qo`llashga ruxsat berilgan
1983	Gibrid Ti-plazmidadan foydalanib o`simliklar transformatsiyalangan

1988	Polimerazaning zanjir reaksiyasi metodi yaratilgan
1990	Insonning somatik hujayrasidan foydalanib gen terapiyasi sinash rejasi tasdiqlandi
1990	“Inson genomi” loyihasi bo’yicha ishlar boshlandi
1994-1995	Inson xromosomasining genetik va fizik haritasi chop etildi
1996	Rekombinant DNK katta miqdorda sotildi
1997	Somatik hujayradan sut emizuvchi klonlashtirildi

O'zbekistonda oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining rivojlanishi va shakllanishini O'zR FA akad. O.S.Sodiqov nomidagi bioorganik Kimyo instituti tashkil etilganidan bilishimiz mumkin. Ushbu institut 1977 yilda O'zbekiston Respublikasi FA tarkibidagi bioorganik kimyo bo'limi (1973 y.) negizida tashkil etilgan. Institutning asosiy ilmiy yo'nalishi hayvon va o'simliklar organizmidagi bioorganik kimyo jarayonlarini, ya'ni yuqori va quyi molekulyar tabiatga ega bo'lgan biologik faol moddalarning tuzilishi, funksiyasi o'rganilib, ularni sintetik usulda olish yo'llari ishlab chiqildi. Tabiiy biologik faol modda – gossipolning polimorf modifikatsiyasi kompleks hosil qilishi birinchi bo'lib isbotlandi va uning asosida yigirmadan ortiq yangi dorilar, biologik moddalar asosida esa 30 dan ortiq dori preparatlari olindi. Bulardan viruslarga qarshi ishlatiladigan 3%li gossipol linimenti, immunomodulyator - timoptin, qon to'xtatuvchi “Lagoden”, xlamidiyaga qarshi qo'llaniladigan dorivor vosita “Polinil” va bioorganika institutining tajriba sinov bazasida ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda qo'llanilmoqda. Jahon andozalariga mos keladigan paxta moyini va kam gossipolli paxta kunjarasini olish texnologiyasi ishlab chiqilib, O'zbekiston Respublikasining ko'pchilik yog'-moy ekstraksiya zavodlarida litsenziya asosida qo'llanilmoqda.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari sohasida O'zbekiston asosan O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining mikrobiologiya institutida, genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutida hamda Respublika Kimyo birlashmasiga qarashli bir qator zavodlarda ishlar olib borilmoqda. Oziq-ovqat texnologiyasi asoslari ixtisosligi birinchi o'zbek akademiki A.G.Xolmurodov (1939-1996) fuzalium avlodiga mansub zamburug'lardan NAD struktura-funksional bog'liqligini o'rganish hayvon va o'simliklardan ajratib olingan ikkilamchi mahsulotlarni qayta ishlashning jahon standartlariga mos keladigan yangi texnologiyalarini hamda o'simliklarni himoya qiluvchi ekologik toza vositalarni olish ustida tadqiqotlar olib borishdan iborat. Institutda olib borilgan yuqori va quyi

molekulyar bioregulyatorlarni kompleks tadqiq etish natijasida zaharli jonivorlar zaharidan 50 dan ortiq biologik faol oqsil va peptidlar ajratib olindi. Ulardan 15 dan ortig'ining kimyoviy tuzilishi va ta'sir mexanizmi o'rganildi. G'o'zadan fitogormonlarning retseptorlari ajratib olindi va fizik-kimyoviy xossalari o'rganildi, ularning paxta bargini to'kishdagi regulyatorlik roli isbotlandi. Natijada g'o'za defoliatsiyasida ro'y beradigan jarayonning molekulyar mexanizmi ko'rsatildi va defoliatsiyalovchi hamda o'sishni tezlashtiruvchi faollikka ega bo'lgan birikmalarni tanlash ko'rsatkichlari ishlab chiqildi. G'o'za o'sishi jarayonida organizm ferment sistemalarining paxta tolasi hosil bo'lishidagi roli o'rganildi va sellyo'loza biosintezi jarayonining molekulyar mexanizmi isbotlandi. O'simliklar zararkunanda hashorotlari fero kofermenti va vitaminlar kompleksi (B guruhiga kiruvchi vitaminlar, vitamin PP, A va h.k.) tayyorlash texnologiyasini yaratdi.

Professor Q.D.Davronov tomonidan yog' parchalovchi ferment-lipaza tayyorlash texnologiyasini «Yer malhami» biopreparatini yaratdi. Bu preparat azot yo'tuvchi mikroorganizmlar asosida tayyorlangan bo'lib, mamlakatimiz qishloq xo'jaligida qo'llanilmoqda. Bundan tashqari K.D.Davronov rahbarligida sellyo'loza lignin biokarkasini (g'o'zapoya, somon, kanop poyasi, qirindi va b.) maxsus tayyorlangan bazidiometsitlarning fermentlari ishtirokida tabiiy sellyuloza – lignin birikmalari parchalanishi amaliyotda ko'rsatib berildi.

Akademik M.I.Mavloniy O'zbekistonda uchraydigan achitqi zamburug'larni tahlil qilib, ularni novvoychilik vinochilik va chorvachilikka qo'l keladigan turlarini oldi va ular asosida maxsus xamirturushlar va vinochilik uchun achitqi tayyorlash texnologiyalarini yaratdi.

Mikrobiologiya instituti olimi J.Toshpo'latov somon va g'o'zapoyani parchalashda «*Trichoderma harzianum*» zamburug'i fermentlaridan foydalanish mumkinligini ilmiy asoslab berdi. Bu texnologiya qo'llanilganda somonda shakar miqdori 6-7% ga yetgani, vitaminlar, aminokislotalar paydo bo'lib, somonni ozuqa birligi bir necha barobar oshganligi isbotlab berilgan.

O'zbek olimlaridan T.G.Gulomova, Z.R.Axmedova, S.M.Xodjiboeva, Z.F.Ismoilov, I.J.Jumaniyozov va boshqalar mamlakatimizda mikrob oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisining rivojlantirish ustida chuqur ilmiy va amaliy ishlar olib bormoqdalar. Shuningdek, marhum professorlar M.M.Murodov va T.YU.Yusupovlar olib borgan chuqur ilmiy izlanishlar asosida katta ilmiy amaliy nazariyalar yaratilgan.

Oziq-ovqat texnologiyasi asoslarini fan sifatida ikki yo'nalishini ko'rsatish mumkin:

1. Hozirgi zamon oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi.

2. Klassik oziq-ovqat texnologiyasi asoslari.

Hozirgi zamon oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi gen va hujayra injenerligi usullari genetik transformatsiya qilingan obyektlarni yaratish texnologiyalari, ular orasida turli mahsulotlarni ishlab chiqarishdir.

Klassik oziq-ovqat texnologiyasi asoslari esa tabiiy biologik obyektlardan foydalangan holda turli moddalarni ishlab chiqarish usullari va texnologiyalaridir (non pishirish, pivo, vino, sirka, qatiq tayyorlash).

Zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslari hozirgi davrga kelib keng ko'lamda rivojlandi va qator bo'limlari vujudga keldi, masalan:

1. Sanoat oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi. Bunda biotexnologik jarayonlar amalga oshirishining umuiy tamoyillari o'rganiladi, oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining asosiy obyektlari va uni qo'llash mumkin bo'lgan sohalar, mikroorganizmlar ishlatiladigan bir qator keng ko'lamli sanoat oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi bilan tanishiladi.

2. Hujayra injenerligi. Bu qismning asosiy maqsadi – hujayra kulturasini olish va bu obyektlardan amaliyotda foydalanish bilan tanishtirishdir. Bunda hayvon va o'simlik hujayralari kulturasini olish usullari bilan tanishtiriladi. Hujayra oziq-ovqat texnologiyasi asoslarisi yordamida seleksiyada chidamli, mahsuldorlik va sifatli o'simlik va hujayralarning muhim formalari va liniyalarini olish, qimmatli genotiplarni ko'paytirish, oziq ovqat, yem va tibbiyotda ishlatiladigan qimmatli biologik faol moddalarni olish tezlashdi.

3. Gen injeneriyasi. Zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslarining asosiy yutug'i genetik transformatsiya, ya'ni begona gen va boshqa irsiy belgilarni tashuvchi materiallarni mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralariga o'tkazish, yangi belgi va xususiyatli transgen organizmlarni olishdir.

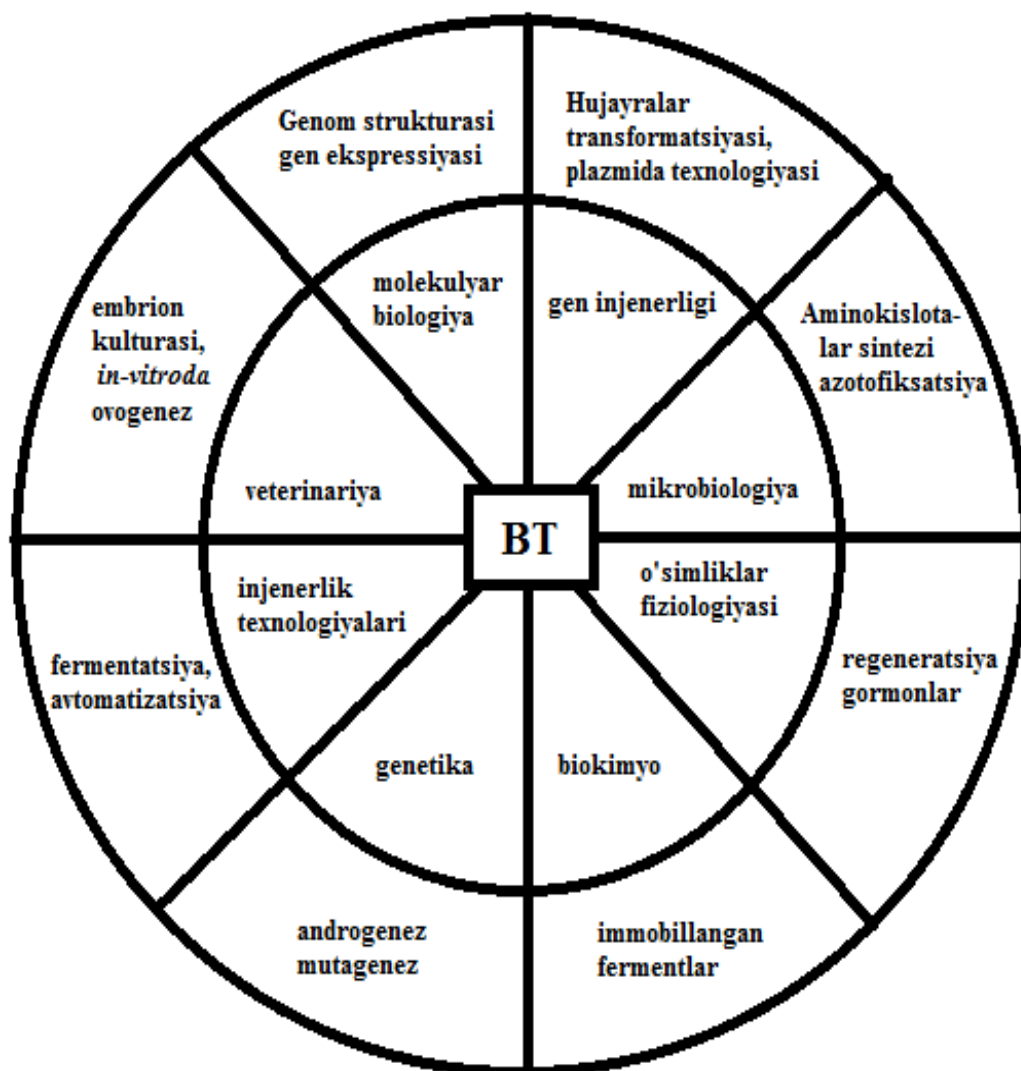
Zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslari 1953-yilda Djeyms Uotson (AQSH) va Frensis Kriklar (Angliya) ning DNK molekulasini qo'sh spiralining fazoviy tuzilishi to'g'risidagi kashfiyotidan so'ng boshlandi. 1972-yilda Pol Berg rahbarlik qilib turgan laboratoriyada DNKning rekombinant molekulasini sintez qilingandan keyin oziq-ovqat texnologiyasi asoslarida yangi strategik yo'nalish paydo bo'ldi. Bu esa zamonaviy oziq-ovqat texnologiyasi asoslari fanida inqilobiy burilish yasadi.

Yuksak kashfiyotlar oralig'idagi tadqiqotlar mashhur olimlar G.Boyer, S.Koen, D.Morr, A.Bayev, A.Belozerskiy, O.Eyveri, G.Ga-mov, 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 genlarning ekspressiya mexanizmlari, oqsil biosintezining kashf etilishiga bog'liq ishlar bilan to'ldirildi.

O'tgan asrning 50- yillariga kelib, oziq-ovqat texnologiyasi asoslarida yana bir muhim yangi yo'nalish - hujayra muhandisligi vujudga keldi. Uning asoschilari P.F.Uayt (AQSH) va D.Gotre (Fransiya)lardir. Ularning bu yo'nalish-ning davomchilari sifatida A.Kursanov, R.G.Butenkolar (Rossiya) tomonidan yaratilgan maktabga juda ko'plabyosh mutaxassislarni jalb etish orqali amalga oshirilgan sohaga oid tadqiqotlarini ko'rsatish mumkin.

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

Biotexnologiyaning ilmiy va amaliy yutuqlari zamonaviy fanda juda yuqori darajada amalga oshirilishi fundamental izlanishlar bilan chambarchas bog'liq. Qo'yidagi sxemada biotexnologiyaning boshqa fanlar asosida shakllangan sohaları ifodalangan.



Biotexnologiyada yangi ishlanmalarni yaratish, rivojlantirish va jarayonlardan optimal foydalanish maqsadida kimyo, mikrobiologiya, biokimyo, molekulyar biologiya, kimyoviy texnologiya va kompyuter texnikasi metodlaridan keng foydalaniladi.

**Qishloq xo'jalik biotexnologiyasining
asosiy yo'nalishlari**

№	Asosiy yo'nalishlar	Qishloq xo'jaligida ishlatiladigan mahsulot	Biomahsulot	Yirik kompaniya va davlatlar
1	Transgenli o'simliklar olish	Yuqori sifatli xususiyatlarga ega (yuqori oqsilli, ta'mi yaxshi), kasallik, zararkunandalarga bardoshli, yaxshi saqlanuvchan, tashiluvchan va mahsulot sifati buzilmaydigan	Tashqi muhit noqulayliklariga (issiqqa, sovuqqa, qurg'oqchilikka, sho'rga va boshq.) bardoshli bo'lishi	AQSh (Stine, Mogen, USD, DuPont., UCB). Fillippin (IRRI). Hindiston (ICRISAT), Meksika (CIMMYT), Kanada (Alberta Research, NRC)
2	Tuproq unumdorligini oshirish	Azot to'plovchi bakteriyali shtammlarni ishlab chiqarish	Rekombinant bakteriya shtammlarini olish. Tuproqni ortiqcha moddalardan (gerbetsid, pestitsid, o'g'itlar qoldiqlaridan) tozalash.	AQSh (DuPont, Genentech, Genset), Angliya (Amersham, Shmith Kine, Beecham), Germaniya (Merck-co)
3	Transgenli o'rmon daraxt o'simliklari olish	-	Tez o'suvchan, mustahkam, sifatli transgenli daraxt o'simliklari olish (katta hajmli, yengil)	AQSh (Agouron, Schering – Plough cor.), Human Genome Sciences, Biochem, Pharma Inc, Texas AcM
4	Hayvonlar infeksiyon kasalliklariga diagnostika qo'yish va profilaktika sikli	Qishloq xo'jalik hayvonlarining bakterial, virus, parazit kasalliklariga vaksina ishlab chiqarish, diagnostika qilish	Kasalliklarga vaksina ishlab chiqarish, DNK asosida diagnostika qilish. DNKli vaksina ishlab chiqarish	AQSh (Agen, Pfizer, UCD, USPA, LSU, Appolon), Shvetsiya (Hoffmann La Roch) Angliya (Smith Kine Beech mon)
5	Transgenli hayvonlar olish	-	-	AQSh (Agouron, Schering Plough corp., Human- Genome-Sciences, Biochem, Pharma Inc) Angliya (Smith Kine Beechman)

3-MA`RUZA

Mavzu: Fermentlar muhandisligining asosiy tushunchalari.

Reja:

1. Fermentlar (enzimlar) haqida tushuncha;
2. Fermentlarning xalq xo'jaligidagi ahamiyati;
3. Fermentlar ishlab chiqarish texnologiyasi
4. Fermentlar produtsentlarini o'stirish jarayoniga ta'sir etuvchi omillar

Fermentlar (enzimlar) - xilma-xil biokimyoviy va kimyoviy reaksiyalarni amalga oshiruvchi oqsil tabiatiga ega bo'lgan biokatalizatorlardir. Fermentlardan biologik katalizator sifatida odamlar, turli xil sohadagi amaliy faoliyatlarida keng foydalanib kelishmoqda. Fermentlar manbai hayvon to'qimalari, o'simliklar hujayralari va mikroorganizmlar bo'lishi mumkin. Hozirgi zamonda ikki mingdan ortiq fermentlar borligi aniqlangan, ulardan bir necha yuztasi alohida modda sifatida toza holda ajratib olingan. Mikroorganizmlar fermentlar ishlab chiqaruvchi manba sifatida alohida qiziqish uyg'otadi, chunki ular arzon muhitda tez o'sadilar. Ishlatiladigan ozuqa tarkibiga qarab, kerakli fermentni, xoxlagancha tayyorlash imkoniyatini beradilar. Buning ustiga ko'pgina mikroorganizmlar fermentlarni o'z hujayra qobiqlaridan tashqariga chiqaradilar, bu esa mikroorganizmlardan yanada faolroq foydalanish imkoniyatini yaratadi.

Metabolizmning katta intensivligidan tashqari mikroorganizmlar biomassasini o'sish tezligi juda kattadir. Bu qisqa vaqt orliqida ayrim vaqtlari 24-72 soat ichida ferment ajratish uchun juda katta miqdorda ham-ashyo olish mumkin, uni hayvon va o'simlik xom ashyolari bilan solishtirib bo'lmaydi.

Ko'plab mikroorganizmlarning muhim xususiyatlaridan yana biri ular ozuqa sifatida har xil chiqindilardan foydalanib o'sish qobiliyatiga egadirlar (öellyuloza, neft uglevodorodlari, metan, metanol va boshqalar). Mikroorganizmlar foydalana oladigan ayrim xom-ashyolar odam va hayvonlar uchun zaharlidir. SHunday ekan mikroorganizmlar fermentlar sintez qilish bilan bir qatorda, atrof-muhit muhofazasi uchun ham xizmat qiladilar.

Ayrim fermentlarning sintezlanish miqdori mikroorganizmlar hujayrasida juda yuqori bo'lishi mumkin. Masalan: ribulezobisfosfatkarboksilazaning miqdori ayrim vaqtlarda fototrof bakteriyalar sintez qiladigan suvda eriydigan oqsilning 40-60% ni tashkil etadi.

Yuqorida ta'kidlanganidek ko'p mikroorganizmlar katta miqdorda kulötüral muhitga chiqadigan fermentlar hosil qiladilar. Bu fermentlar asosan oqsil, kraxmal, öellyuloza, yog'larni va boshqa suvda erimaydigan moddalarni parchalaydigan gidrolazalarga ta'luqlidir. Bir qancha fermentlar faqat mikroorganizmlardagina

uchraydi. Molekula holdagi azotdan ammiak hosil qilishda ishtirok etadigan nitrogenaza fermenti azotni o'zlashtirish qobiliyatiga ega bo'lgan bakteriyalardagina uchrashi aniqlangan.

Ayrim bakteriyalarning harakterli xususiyatlaridan yana biri ularning anorganik substratlarni: ammiakni, nitritlarni, sulüfid va oltingugurtni boshqa birikmalarini, va shunga o'xshash ikki valentli temirni oksidlash qobiliyatidir. Bunday jarayonlarni amalga oshishi mikroorganizmlarda alohida fermentlarning mavjudligi bilan bog'liqdir. Bir qancha bakteriyalar va suv o'tlari molekula holdagi vodorod hosil qilishi hamda oksidlanish-qaytarilish reaköiyalarini olib boruvchi degidrogenaza fermentlari saqlashi aniqlangan.

Ko'pchilik bakteriyalar ularga metan, metanol, metillangan aminlarni, uglerod oksidini va boshqa bir xil uglerodli birikmalardan substrat sifatida foydalanib, o'sish va rivojlanishga yordam beradigan fermentlarni sintezlash qobiliyatiga ega. Atrof muhitni, uni ifloslantiruvchi bir qancha moddalardan tozalash mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan fermentlar hisobiga amalga oshiriladi, ular plastmassa, pestiöidlarni va boshqa zaharli murakkab birikmalarni oddiy tarkibiy qismga parchalab yuboradilar.

Fermentlar klassifikatsiyasi. qabul qilingan klassifikasiya tizimiga binoan hamma fermentlar olti sinfga bo'linadi:

- *Oksidoreduktazalar;*
- *Transferazalar;*
- *Gidrolazalar;*
- *Liazalar;*
- *Izomerazalar;*
- *Ligazalar (sintetazalar).*

Keng miqdorda qo'llaniladigan mikroorganizmlar fermenti - gidrolazalar sinfiga kiruvchilardir (glikozidazalar, peptidazalar va boshqalar).

Bular glikozid, peptid, efir va ayrim boshqa bog'larga suv ishtirokida ta'sir qiladi. Gidrolazalar ko'pincha hujayra tashqarisidagi (ekzogen) fermentlardir. hujayradan chiqib, ular kulütural muhitda to'planadi. Bu fermentlarni olish hujayra ichidagi (endogen) fermentlarni ajratishga nisbatan qulay va arzonidir.

Glikozidazalar. *Glikozidazalar* -glikozid bog'larini gidroliz qiluvchi fermentlardir. Bular ko'p vaqtlardan beri o'rganiladi va ishlatiladi. Bu guruhga kraxmalni gidroliz qiluvchi amilolitik fermentlar, β -amilazalar va glikoamilazalar kiradi. Ko'p mikroorganizmlar α -amilaza hosil qiladi, β -amilaza sintezi esa kam kuzatiladi.

Amaliy maqsadlarda qo'llaniladigan α -amilazani ajratuvchi ***Bacillus licheniformis***, ***Bac.amyloliquefaciens***, ***Aspergillus oryzae*** va boshqa

mikroorganizmlardir. α -amilaza **Bac. licheniformis** dan olinadigan juda yuqori haroratga chidamli va kraxmalni 100

S atrofida haroratda gidroliz qilish qobiliyatiga egadir. Mikroorganizmlarning ekstremal sharoitda taraqqiy qilish qobiliyatini, ya'ni past va yuqori haroratda, molekulyar kislorod mavjud bo'lmaganda, ishqorli va kislotali muhitda, to'zni yuqori konöentraöiyasida o'sishi ko'pincha ularning fermentlari harakteri bilan aniqlanadi.

SHunday qilib, xulosa qilib shuni aytish mumkinki, mikroorganizmlarda juda yuqori faol fermentativ reaköiya olib borish qobiliyati mavjud, mikroorganizmlar, boshqa yo'llar bilan amalga oshirib bo'lmaydigan juda ko'p jarayonlarni o'zlarining maxsus fermentlari tufayli amalga oshirish imkoniyatiga egalar.

Makro- va mikroorganizmlarda bir xil funköiyali fermentlar, o'zlarining xossa va xususiyatlari jihatidan har xil bo'lishi mumkin va mikroorganizmlarda o'zini faolligini yuzaga chiqarishi uchun alohida sharoitga muhtoj bo'ladi. SHuning uchun turli xil mikroorganizmlar fermentlarini o'rganish juda muhim vazifadir.

Glyukoamilaza - (1,4- α -D-glyukan-glyukanogidrolaza) asosan zamburug'larda keng o'rganilgan. **Asp.niger** zamburug'ida u molekulyar massasi 100 000 dalüton atrofida bo'lgan ikkita glikoproteinlardan iborat. Demak, bu fermentni xususiyatlari bir-biridan farq qiladigan ikkita formasi (shakli) mavjud.

Dekstranaza - (1,6- α -D-glyukan-glyukanogidrolaza) dekistrindagi 1,6-glikozid bog'iga ta'sir qiladi.

Laktoza yoki β -galoktozidaza (β -D-galoktozid-galoktogidrolazalar) laktozani glyukoza va galaktozaga aylantiradi. Bu ferment **E.Coli**, **Asp.niger**, **Sacch.cerevisiae**, **Curvularia inaequalis**, **Alternaria tenuis** va ayrim boshqa mikroorganizmlarda sintez bo'ladi.

Invertaza - (β -D-fruktofuranozid-fruktogidrolaza) saharozeni glyukozaga va fruktozaga parchalaydi. Uni **Aspergillus** turkumi vakillari (**Asp.awamori**, **Asp.batatae**, **Asp.niger**), achitqi zamburug'i, **Bacillus subtilis** va **Bac.diastaticus** larning alohida shtammlari hosil qiladi.

Öellyulolitik fermentlar (öellyulazalar) - faol oqsillarning murakkab kompleksidir, öellyuloza molekulasining har xil bog'lariga ta'sir qiladi, S komponent (ekzonukleaza) tabiiy holdagi öellyulozaga (paxta, filütr qog'ozi) ta'sir qiladi. S_x -komponenti (endonukleaza) eriydigan shaklga o'tkazilgan kletchatkani (karbosimetilöellyulozani) gidrolizlaydi.

Öellyuloza bilan bir qatorda mikroorganizmlar öellobiaza (β -glyukozidaza) hosil qiladi, bu ferment öellyulozani va gemiöellyulozani parchalaydi. Öellyulozani gidrolizining oxirgi bosqichi, glyukoza hosil bo'lishi bilan tugallanadi.

Sanoatda ishlab chiqariladigan öellyulolitik ferment preparatlari odatda S₁ va S_x va shunga o'xshash öellobiaza va gemiöellyuloza fermentlari bo'lib, bu

preparatlarning pH ko'rsatkichi 3,0 dan 8,0 gacha. Mana shu rN lar oralig'ida ular turg'undirlar. Öellyulazani hosil qiluvchilar ko'pincha miöelliali zamburug'lardir, shulardan **Penicillium notatum**, **P.vuriabili**, **P.iriense**, **Trichoderma roseum**, **Verticillium alboatrum** va boshqalardir.

Pektinazalar - pektinni parchalovchi fermentlar sintez qiladi. Pektolitik fermentlar kompleks hosil qiladi, uni alohida komponentlari pektin molekulasini har xil joylaridan parchalaydi.

Pektinazalar (poligalakturonazalar) mikroorganizm-larda keng tarqalgan bo'lib o'simliklarda kam uchraydi.

Proteinazalar. Proteinazalar yoki proteazalar - (peptid-peptid-gidrolazalar) oqsil molekulasidagi peptid bog'larini uzish reaköiyasini kataliz qiladi, natijada erkin aminokislotalar di- va polipeptidlar hosil qiladi. Bunday fermentlar juda ko'p. Ulardan ayrimlari kristall holatda olingan. Mikroorganizmlar proteinazasi o'zlarining xossalari bilan tubdan farq qilishi mumkin. Ular neytral bo'lishi mumkin (**Bacillus subtilis**, **Asp.terricola**), kislotali (**Asp.foetidus**) va ishqorli, ya'ni pH ning har xil darajasida faoldirlar. Ayrim mikroorganizmlar bir qancha proteinazalar sintezlash qobiliyatiga egadirlar. Masalan: **Actinomyces fradiae** 6 ta proteinaza sintezlaydi.

Amilazalar - bakteriya va zamburug'lardan olinadigan amilazalar kraxmalni kichik molekulyar shakarlar: dekistrinlar, glyukozalar, maltozalargacha parchalaydi. Bakterial proteazalar pishloq pishirishda va teri oshlashda oqsillarni buzishda qo'llaniladi. **Bacillus sp.** dan olinadigan glyukoizoizomeraza fermenti glyukozani fruktozaga aylantirishda yordamlashadi. Keyingi vaqtlarda olimlar diqqat e'tiborini quyidagilar o'ziga tortmoqda: öiklodikstringlyukoziltransferaza (ÖDGT) ga moslashish, öiklodekstrinlar birikmalarining ishlab chiqarilish: kimyoviy va farmakologik ishlab chiqarishda, oziq-ovqat mahsulotlari sifatini oshirishda, kosmetika va boshqalar ishlab chiqarishda zarurdir.

Lipazalar - (3.1.1.3-triaöil gliöeroloda gidrolazalar lipid (yog') almashinuvida ishtirok etadigan, katta amaliy qiziqish uyg'otadigan fermentlar.

Kulütura o'sadigan muhitga ajratadigan lipazalarni ishlab chiqaruvchilarning ko'pi miöeliali zamburug'lardir. Ulardan **Aspergillus**, **Mucor**, **Geotrichum**, ayrim achitqi zamburug'lar (**Candida**) va bakteriyalardir (**Pseudomonas**). Lipazalar triaöilgliöerollarni parchalab yog' kislotalari va gliöerin hosil qiladi. Sanoat asosida ko'p miqdorda ishlab chiqarilayotgan va keng miqyosda xalq xo'jaligida qo'llanilayotgan fermentlardan tashqari, kam miqdorda olinadigan va kam sohada qo'llaniladigan bir qancha fermentlar ham bor, lekin bularning ayrimlari o'ta darajada muhimdir.

Bular qatoriga restriktazalar (endonukleazalar), nuklein kislotalarni

parchalovchi fermentlar va ligazalar - ularni sintezida ishtirok qiladigan fermentlar kiradi. Bu fermentlar gen muxandisligi ilmiy ishlarini olib borishda zarurdir. Bularni ham har xil mikroorganizmlar ishlab chiqaradi.

Mikroorganizmlar fermentlaridan xalq xo'jaligining turli xil sohalarida foydalanish juda ham istiqbollidir. Hozirgi vaqtda mikroorganizmlardan olingan ferment preparatlari sanoatning ko'p sohalarida qishloq xo'jaligida va tibbiyotda qo'llanib kelinmoqda (1-jadval).

1-jadval

Ishlab chiqarish sanoatida ba'zi bir fermentlarni ishlab chiqarish uchun foydalaniladigan mikroorganizmlar

Ferment	Zamburug'lar	Bakteriyalar
α -amilaza	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
Glyukoamilaza	<i>Aspergillus niger</i> <i>Rhizopus niveus</i> <i>Endomycopsis sp.</i>	
Pullanaza		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Dekstranaza	<i>Penicillium sp.</i>	
β -Glyukonaza	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Glyukoizomeraza		<i>Actinoplanes missouriensis</i>
Invertaza	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Sacch. Cerevisiae</i>	
Sellyulazalar	<i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma roseum</i> <i>Trichoderma viride</i>	
Pektinazalar	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus awomori</i>	

Proteinazalar	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Mucor mihei</i> <i>Mucor rouxii</i> <i>Mucor pusillus</i> <i>Endothia parasitica</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus stearothermophilus</i>
Lipazalar	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus awomori</i> <i>Candida cylindrical</i> <i>Mucor mihei</i> <i>Rhizoopus sp.</i>	
Glyukooksidaza	<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium amagaskiense</i> <i>Penicillium vitale</i> <i>Penicillium notatum</i>	
Katalaza	<i>Aspergillus sp.</i>	
Deatsetilaza	<i>Aspergillus sp.</i>	
Aspartaza		<i>Escherichia coli</i>
Fumaraza		<i>Escherichia coli</i>
Penitsillinamidaza		<i>Escherichia coli</i>

Pivo va vino tayyorlashda solod oʻrniga zamburugʻning amilaza ferment preparatidan foydalaniladi. Bu ishlab chiqarishni arzonlashtiradi va qalla harajatini kamaytiradi. SHunga oʻxshash amilaza eriydigan kraxmal, dekstrin olish uchun ham ishlatiladi. Amilaza fermenti bilan berilgan, sabzavot va mevalardan olingan mahsulotlar oʻzining tarkibida koʻp miqdorda qand moddalari saqlaydi va yaxshi hazm boʻladi, ayniqsa, bu bolalarga foydalidir. Non va non mahsulotlari tayyorlashda amilaza xamirni achishini tezlashtiradi va nonning sifatini yaxshilaydi. Konditer sanoatida achitqi zamburugʻining invertazasidan (saxarozasi) foydalaniladi, saxarozani glyukoza va fruktozaga aylantirib beradi, u saxarozani yuqori miqdorida kristallanishining oldini oladi. Zamburugʻlarning pektinazasi meva va uzum sharbatini tindirish uchun ishlatiladi. Vino ishlab chiqarishda uzum sharbati

chiqish miqdorini ko'paytirish uchun va kofe ishlab chiqarishda qo'llaniladi. Glyukoamilazadan pivo tayyorlash sanoatida pivodan dekstrin qoldig'ini tozalash uchun ishlatiladi. Glyukoizomeraza saxarozani o'rniga glyukoza-fruktozali sharbat olishda foydalaniladi. Laktoza, laktozasiz sut olish uchun ishlatiladi. Laktozalar yordamida tarkibida ko'p miqdorda laktoza bo'lgan sut zardobidan qand (glyukoza, galaktoza) olinadi. Zamburug'larni glyukozaoksidazasi katta ahamiyatga ega, chunki bular oziq ovqat mahsulotlarini glyukoza qoldig'idan va molekulyar kisloroddan ozod qiladi va bu bilan ularni saqlash muddatini o'zaytiradi.

Glyukozaoksidazani tuxum kukuniga, mayonezga, pivoga ularni uzoq muddatga saqlash uchun ma'lum miqdorda qo'shiladi. Bu ferment yordamida askarbin kislotasining (C-vitamin) oksidlanishi sekinlashadi.

Öellyuloza preparatidan kartoshkani qandlashtirishda, kartoshka va g'alladan kraxmal olishda, suv o'tidan agar-agar chiqarishni ko'paytirishda, sabzavot pastasi tayyorlashda, öitrus mevalari qobig'ini ajratishda foydalaniladi. o'simlik öellyulozasini qandgacha parchalashda ishlatilmoqda.

Mikroorganizmlardan olingan proteolitik fermentlar pishloq tayyorlashda, uni quyuqlashtirish uchun ishlatiladigan renin o'rnini bosishi mumkin, keyinchalik ulardan go'shtni yumshatish (tendirizaöiya) uchun foydalanila boshlandi. Bundan tashqari, baliq tuzlanganda uning pishishini tezlatish, vino va pivo tayyorlashda ishlatilmoqda. Lipaza sutni quruq holda ishlab chiqarishda o'z o'rnini topgan, pishloq tayyorlashda, uning pishishini tezlashtirish uchun, pishloqqa maxsus ta'm va yoqimli hid berish uchun ishlatiladi. To'qimachilik sanoatida mikroorganizmlarning fermentlari zig'irning samoniga ishlov berib, undan tola olish uchun ko'pdan beri va keng qo'llanib kelinmoqda. Zig'irni namlash jarayonida ishtirok etadigan asosiy mikroorganizm sifatida **Clastridium** turkumiga kiruvchi anaerob bakteriya tan olingan. Namlash vaqtida ketayotgan jarayonda zig'ir samonidan pektin moddasi parchalanadi va uning tolasi ajralib chiqadi.

Teri ishlab chiqarish sanoatida mikrob proteaza fermenti terini oshlashda va uni mayinlashtirishda ishlatiladi. Tarkibida proteaza va lipaza bo'lgan kompleks preparatni ishlatish natijasida jarayon tezlashadi va yuqori sifatli jun olish imkoniyati vujudga keladi.

YUvish vositalari ishlab chiqarishda mikrob fermentlari keng miqyosda qo'llanilmoqda. Odatda ularga proteolitik, amiliolitik va lipolitik faollikka ega bo'lgan **Bac.subtilis** fermentlari qo'shiladi. Preparatlar sirtqi faol moddalar bilan birgalikda ishlatiladi. Tarkibida ferment bo'lgan yuvish vositalari yuvish muddatini qisqartiradi, to'qimalarni saqlanish qobiliyatini o'zaytiradi, chunki yuvish 40-60⁰S dan oshmagan haroratda olib boriladi.

Fermentlarni qishloq xo'jaligida qo'llanilishi ikki yo'nalishda olib borilmoqda:

1. hayvonlarni ozuqasida foydalaniladi.
2. ferment bilan ozuqaga ishlov berib, ularni hazm bo'lishini oshiriladi.

Aspergillus oryzae ni ozuqa muhiti yuzasida o‘stirish usuli bilan amilorizin - preparati olinadi, bu asosan o‘stirilgan zamburug‘ning qurigani bo‘lib, tarkibidan α -amilaza, dekstrinaza, malütoza, glyukoamilaza va proteaza bo‘ladi. Glyukovamotin - kepakda o‘stirilgan *Asp. awamori* kulüturasining qurigani, tarkibiy qismi α -amilaza, dekstrinaza, malütoza, glyukoamilaza, nordon proteinaza va gemiöellyulozadan iborat. Amilosubtillin preparati tarkibida α -amilaza, proteaza, β -glyukonaza va lizis qiluvchi fermentlar bo‘ladi.

Mikrob fermentlari tibbiyotning turli xil sohalarida terapevtik vosita sifatida va klinik analizlarni olib borishda qo‘llaniladi. yallig‘lanish jarayonlarini va kuyishni davolash uchun proteinaza preparatlari qo‘llaniladi. Odam organizmida ayrim fermentlarni sintezlanishi buzilganda, alohida va kompleks holda fermentlar iste’mol qilinadi. Masalan: oshqozon osti bezini funköiyasi buzilganda, tarkibida proteinaza, amilaza va lipaza kompleksi bo‘lgan preparat qabul qilinadi. Laktaza va glyukoamilaza sintez qilish qobiliyati yo‘qolganda mikroorganizmlardan olingan shu nomli fermentlardan foydalaniladi. Ovqat hazm qilish jarayoni buzilganda ayrim vaqtlarda kompleks fermentlar (α -amilaza, sellyulaza, lipaza va proteinaza) iste’mol qilinadi. Mikrob fermentlarini tibbiyotda qo‘llash juda istiqbollidir.

4-MA`RUZA

Mavzu: Fermentlarni immobilizatsiyalash.

Reja:

1. Fermentlarni immobilizatsiyalash tushunchasi va uning rivojlanishi;
2. Immobilizatsiyalash usullari.

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

Immobilizatsiya qilingan fermentlarni sanoat miqyosida olish va ularni ishlatish muammosi juda katta guruh mutaxassislarini hamkorlikda ishlashlarini taqazo etadi. Bu muammoni hal qilishni dolzarbligi esa, oliy ta’lim oldida bunday mutaxassislarni tayyorlashdek o‘ta muhim muammoni qo‘yadi. Bugungi kunga kelib bu muammoga bag‘ishlangan yuzlab monografiyalar, ilmiy maqolalar to‘planmalari hamda minglab ilmiy - eksperimental maqolalar chop etilgan. Yuqorida keltirilgan manbalardan keltirilganidek, fermentlar tizimi xalq xo‘jaligini har xil tarmoqlarda:

oziq-ovqat, farmatsevtika, to'qimachilik, chorvachilik va boshqa bir qator sohalarda keng qo'llanilib kelinmoqda. Shunday bo'lishiga qaramasdan fermentlarni qo'llash masalasi uzoq vaqtlardan beri rivoj topmasdan kelgan. Bunga asosiy sabab fermentlar va fermentlar tizimining iqtisodiy qimmatligi edi. Ishlatilgan fermentlar tashlab yuborilavergan, buning ustiga ularni ishlab chiqarishni o'zi ham juda qimmat bo'lgan.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Fermentlarni adsorbentlarga bog'lash natijasida geterogen katalizatorlar hosil bo'lishi o'z isbotini topgach, 1971 yilda Xeniker (AQSH) tomonidan fermentlar

muxandisligi bo'yicha o'tkazilgan birinchi umumjahon konferensiyasida "Immobilizatsiya qilingan fermentlar" qonunga kiritildi. Ilmiy adabiyotlarda ba'zi vaqtlarda "erimaydigan fermentlar", "matritsaga kiritilgan fermentlar" degan iboralar ham uchrab turadi. Ularning asosiy mohiyati suvda erimaydigan sorbentlarga yopishtirilgan (tarmashtirilgan, ulangan va x.k.) degan ma'no bilan bog'liq.

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

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

Birinchi, ularni reaksiya muhitidan ajratib olish juda ham oson, bu esa:

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

Oxirgi badda (v) ko'rsatilgan ustunlik oziq-ovqat va farmatsevtika sanoatida juda katta rol o'ynaydi.

Ikkinchi, immobilizatsiya qilingan fermentlarni ishlatish sharoitida to'xtovsiz olib borishga imkon beradi, masalan, oqib o'tadigan maxsus ustunlarda (kolonkalarda) va fermentativ reaksiyaning tozaligini boshqarish, demak, kerakli maxsulotni miqdorini oshirish (oqish tezligini o'zgartirish hisobidan) imkoniyatini beradi.

Uchinchi, fermentni immobilizatsiya yoki modifikatsiya qilish uni xosca va xususiyatlarini kerakli tomonga o'zgarish jarayonlarini tashkil qilish mumkin. Immobilizatsiya qilingan fermentlarni olinishi, fermentlarni hayotga tadbiiq qilishni yangi, avvallari imkoniyati bo'lmagan yo'llarini ochib berdi.

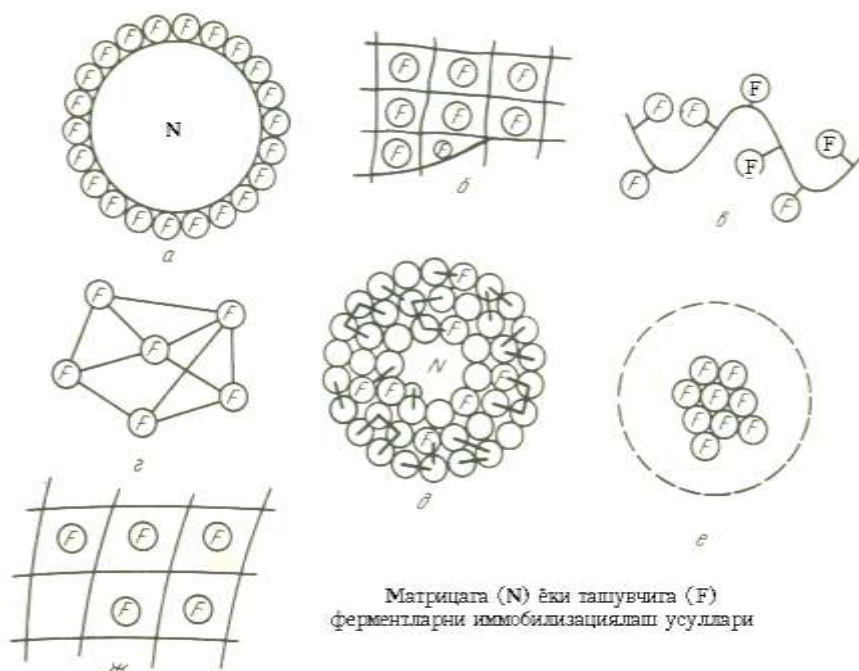
Immobilizatsiya qilish usullari ikkiga bo'linadi:

- 1) fizikaviy yo'llar bilan immobilizatsiya qilish;
- 2) kimyoviy yo'llar bilan immobilizatsiya qilish;

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

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

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



1-rasm. Immobilizatsiya usullari

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

Organik polimerli tashuvchilar

Bunday polimerlarni ikki sinfga bo'lish mumkin: tabiiy polimerlar va sun'iy polimerlar. O'z navbatida tabiiy polimerlarni ham biokimyoviy xossalariga qarab guruhlariga bo'lish mumkin; polisaxaridlar; oqsil, lipid tabiatli tashuvchilar. Sun'iy,

ya'ni sintez yo'li bilan olingan polimerlar ham guruhlariga bo'linadi, masalan, makromolekularni asosiy zanjirni kimyoviy tuzilishiga qarab, polimetilenlik, poliamidlik, poliefirlik tashuvchilar va x.k.

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

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

Fizik usullarda immobilizatsiya qilish

Yuqori ko'rsatib o'tilganidek, fermentni immobilizatsiyasi deyilganda, uni (fermentni) qanday bir alohida fazaga kiritilishi suv fazasidan ajralib turadigan va shunday vaziyatda o'zini asosiy xususiyati - substrat yoki effektorlar bilan aloqada bo'lish imkoniyatidan judo bo'lmasligini tushiniladi. Shu aniqlikdan kelib chiqqan holda, fizikaviy immobilizatsiya qilish usullarini to'rt guruhga bo'lish mumkin:

- a) suvda erimaydigan "tashuvchi" larga adsorbsiya qilish;
- b) gel teshikchalariga kiritish;
- c) yarim o'tkazgich membranalar yordamida fermentni reaksiyon tizimini boshqa qismidan ajratish;
- d) fermentni ikki fazalik reaksiyon muhitga kiritish, bunday sharoitda ferment suvda eruvchan bo'ladi va ikkinchi fazaga kira olmaydi.

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

bajarish mumkinligi, tashuvchilarni arzonligi va boshqa bir qator ustunliklarga ega bo'lganligi uchun fermentlar muxandisligida keng qo'llanilib kelinmoqda.

Adsorbsion immobilizatsiya qilish uchun "tashuvchi" lar

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

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

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

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

Adsorbsion immobilizatsiya qilish usullari

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

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

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

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

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

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

"Tashuvchi" satxida adsorbsiya bo'lgan ferment molekullari har xil kuchlar hisobiga, xususan nospetsifik Van-der-Vaals, elektrostatik, o'zaro ta'sirlar, vodorod bog'lari va gidrofob bog'lar hisobiga amalga oshiriladi. Sanab o'tilgan bog'larni nisbiy ishtiroki ferment molekulasidagi faollik guruhlari yoki "tashuvchi"ning kimyoviy tabiatiga bog'liq bo'ladi. Ko'pchilik hollarda asosiy vazifani elektrostatik o'zaro ta'sirlar va vodorod bog'lari tashkil etadi.

Ba'zi vaqtlarda o'zaro ta'sir kuchi oqibatida "tashuvchi"ning tuzilishi buzilishigacha borish mumkin. Masalan, ba'zi o'simlik hujayralarini sitodeks granulariga adsorbsiya qilinganda hujayra devori deformatsiyaga uchragani kuzatilgan.

Fermentlar adsorbsiyasiga ta'sir etuvchi omillar

Adsorbsiya o'tish jarayoni va ferment bilan "tashuvchi" orasidagi bog'ni mustaxkamligi, ko'pchilik hollarda immobilizatsiya qilish sharoitiga bog'liq bo'ladi.

Ferment adsorbsiyasiga ta'sir etuvchi omillarga quyidagilar kiradi: tashuvchini g'ovakligi va sirtini faolligidir.

Tashuvchini sorbsiya qilish hajmi uning sirtini faolligiga to'g'ri proporsional oqsil yoki fermentga kelganda bu qonuniyat faqatgina tashuvchini g'ovakligi oqsil molekulasidan anchagina katta bo'lgandagina o'z kuchini saklaydi. Tashuvchini g'ovakligi juda kichik bo'lganda, fermentlar g'ovaklarga sig'masalar, fermentlar uchun tashuvchilar satxining ma'lum bir qismigina foydali bo'ladi xolos.

Bunday paytlarda tashuvchining sorbsiya qilish imkoniyatlari juda kam bo'ladi, boshqacha qilib aytganda, g'ovaklar qancha kichik bo'lsa, tashuvchining adsorbsiya qilish imkoniyatlari shuncha kam bo'ladi. ~ovaklarni mo'tadil hajmini hisoblashni birinchilardan bo'lib buni 1976 yilda R.Messing taklif etgan.

U shisha va sopol materiallardan tashuvchi sifatida foydalana turib, ularni g'ovaklarini kattaligini (hajmini) o'lchab chiqdi va g'ovaklarni kattaligi ferment bo'yidan taxminan 2 marotaba katta bo'lgan hollarda tashuvchini adsorbsion imkoniyatlari maksimum bo'lishini tajribalardan isbotlab berdi.

Bunday holda substratni molekulyar o'lchami fermentdan ancha kichik bo'lmog'i va sorbsiya qilingan ferment g'ovaklariga bimalol kirib turishlari lozim, albatta.

Substrat molekulasi hajmi fermentnikidan katta bo'lgan hollarda tashuvchining g'ovakligi substrat molekulasi bilan belgilanadi. Ba'zi bir hollarda substratni o'zi tashuvchi vazifasini bajarishi ham mumkin. Masalan, sellyulaza fermentini immobilizatsiya qilish uchun uning substrati bo'lgan sellyulozadan keng foydalaniladi.

pH belgilari

Reaksiya muhiti immobilizatsiya qilish jarayonida juda katta ahamiyatga ega, ayniqsa sorbsiya, elektrostatik o'zaro ta'sir yordamida amalga oshirilgan holatlarda.

Bunga asosiy sabab rN o'zgarishi bilan oqsil yoki tashuvchining sorbsiya uchun javobgar bo'lgan ionogen guruhlarni ionizatsiyasi o'zgaradi. Ionalmashuv xossalriga ega bo'lmagan tashuvchilardan foydalanganda, sorbsiya oqsil yoki fermentni izoelektrik nuqtasida amalga oshirilsa yaxshi natija beradi.

Ammo bu qonuniyatni chetlab o'tish hollari ham uchraydi. Masalan, albuminni lateksga sorbsiya bo'lishini har xil rN da o'rganib chiqilganda bu jarayonni rN ga aloqadorligi W simon bo'lganligi, ko'mirda adsorbsiya qilinganda esa mo'tadil rN 3 dan 6 gacha o'zgarishi, bu o'zgarish ko'mirni tabiatiga bog'liqligi isbotlangan.

Ion kuchi

Ferment bilan tashuvchi orasidagi bog'lanishni kuchiga ta'sir ko'rsatuvchi omildir. Tuzlarni yuqori miqdorda tashuvchi sirtidan elektrostatik yo'l bilan bog'langan fermentni siqib chiqaradi.

Boshqacha qilib aytganda, ion kuchini oshishi bilan fermentni desorbsiyasi oshib boradi. Ba'zi hollarda bunga aksincha ta'sir ham uchraydi, buni oqsilni "tuzlanishi" deb ataladi.

Fermentning miqdori

Eritmada fermentni miqdori oshib borgan sari, uni sorbsiya bo'lishi va immobilizatsiya bo'lgan fermentni katalitik faolligi oshib boradi.

Immobilizatsiya bo'lgan ferment faolligini, eritmadagi ferment miqdoriga nisbatan taqqoslab o'rganganda shu narsa ma'lum bo'ldiki, fermentni eritmadagi miqdorini oshib borishi bilan ma'lum nuqtagacha fermentni katalitik faolligi oshib boradi va undan keyin o'zgarmasdan qoladi va hatto kamayishi ham mumkin.

Tekshirishlar shuni ko'rsatdiki, fermentni faolligi tashuvchi satxini butunlay qoplab olgunga qadar faollik oshib boradi, keyin esa ferment 2-chi, 3-chi qavat hosil qiladi va x.k. Oxirida, tashuvchining eng tepa qismida yopishgan fermentlar faollik

ko'rsatadi, tagida qolganlari esa substrat bilan aloqa qila olmaydilar va o'z-o'zidan "ishsiz" qoladilar. SHuning uchun ham immobilizatsiya bo'lgan fermentni faolligi kamayadi.

Harorat

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

Demak, adsorbsiya yo'li bilan immobilizatsiya qilishni mo'tadil sharoiti bo'lish kerak. Bunday harorat adsorbsiya qilinadigan fermentni tabiati va tashuvchi satxiga bog'liq bo'lib, har bir ferment yoki tashuvchi uchun qator tajribalar orqali topiladi.

SHunday qilib, fermentlarni adsorbsiya yo'li bilan immobilizatsiya qilish bir qator omillarga bog'liq bo'lib, faqat tajribalar asosida aniq topiladi. quyida ferment bilan tashuvchi orasidagi bog'ni kuchaytirishga xizmat qiluvchi omillar haqida fikr yuritamiz.

Fermentni tashuvchi bilan bog'lanish kuchini oshiruvchi usullar.

Oldindan modifikatsiya qilingan tashuvchilarga immobilizatsiya qilish

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

Buning ustiga, oldindan modifikatsiya qilmaslik adsorbsiya qilingan fermentni faolligini butunlay yo'qolishigacha olib kelish mumkin. Masalan, agar fermentni mo'tadilligi nordon sharoitda past bo'lsa, silikagelga sorbsiya qilingan fermentni faolligi butunlay yo'qoladi, chunki, silikagelni satxi nordon muhitga ega ($rN_{q4,0}$).

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

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

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

Oldindan modifikatsiya qilingan fermentlarni immobilizatsiya qilish

Ionalmashuvchi tashuvchilarga adsorbsiya yo'li bilan immobilizatsiya qilishda izoelektrik nuqtasi va rN –mo'tadilligi bir-biriga yaqin bo'lgan fermentlar bilan ishlanganda qator muammolar paydo bo'ladi. Ferment bilan tashuvchi orasidagi mustaxkam bog'lanish faqatgina, izoelektrik nuqtadan uzoqroq bo'lgan rN da, ya'ni fermentni katalitik xususiyati past bo'lgan sharoitda amalga oshiriladi.

SHuning uchun, ham fermentni oldindan modifikatsiya qilish, ya'ni ferment molekulasiga yangi ionogen guruhlar (polikislotalar, karboksimetil, sellyuloza, yantar kislotasi va x.k.) kiritish maqsadga muvofiq bo'ladi. Masalan, L-ximotripsin xlortriazinli rang bilan aralashtirilganda, uni izoelektrik nuqtasi ishqoriy tomonga siljishi, va shu tufayli ferment ko'pgina tashuvchilarga adsorbsiya bo'lishi, oqibat natijada esa katalitik faolligi saqlanib qolishi isbotlangan.

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

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

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

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

Ma'lum vaqtdan keyin tortib turgan kuch olinadi va neylon yana o'z holatiga keladi, ferment esa g'ovaklarda siqilib qoladi. Elektr toki yordamida ushlab usuli, immobilizatsiyaning yangi usullaridan bo'lib, membranalar yordamida ajratilgan elektrodlar bilan kollektorlarda elektr maydoni hosil qilinadi. Kollektor qilib silikagel, ion almashuv smolalari, minerallar ishlatilishi mumkin.

Ferment kollektorlarda elektrostatik va dipol-dipollik o‘zaro ta’sir kuchlari orqali ushlanib qoladi. Bu usulni yomon tomoni shundan iboratki, immobilizatsiya tizimi hamisha elektr toki ta’sirida bo‘lishi shart. Tok uzilsa yoki o‘chsa ferment tashuvchidan yuvilib ketadi.

Adsorbsiya yo‘li bilan immobilizatsiya qilishning afzalligi va kamchiliklari

Afzalligi	<u>Kamchiligi</u>
Sorbentning arzonligi	Ferment va tashuvchi orasidagi bog‘ni mustaxkam emasligi
Eksperimentlarni osonligi	Umumiy yagona yo‘riqnomani yo‘qligi
Bir vaqtni o‘zida fermentni tozalash mumkinligi	

Gel ichiga kiritish yo‘li bilan immobilizatsiya qilish

Bu usulni mohiyati shundan iboratki, ferment molekulasini, qattiq to‘qilgan polimer zanjirlaridan iborat bo‘lgan gel hosil qiluvchi uchlamchi elaklarga o‘rnatiladi. Zanjir bog‘lari orasidagi masofa ferment molekulasidan kichik bo‘lgani uchun, u maxkam siqilib turadi va polimerdan chiqib keta olmaydi. Ferment bilan tashuvchi orasidagi bog‘ni mustaxkamligini oshiruvchi omil rolini ferment va tashuvchi gel orasida paydo bo‘lgan vodorod bog‘lari ham o‘ynashi mumkin.

Polimer zanjirlari orasidagi bo‘shliq suv bilan to‘ldirilgan bo‘ladi. Masalan, akril kislota hosilalari asosida paydo bo‘lgan gelda, uning miqdoriga qarab, 50 dan 90% gacha suv bo‘lishi mumkin.

Fermentlarni gelda immobilizatsiya qilishning ikki usuli bor. Birinchisi, ferment monomer eritmasida eritiladi so‘ngra polimerizatsiya qilinadi. Bunday eritmaga ko‘pchilik hollarda bifunksional agentlar ham qo‘shiladi.

Ikkinchisi, P.Bertfeld va Dj.Uenlar ishlatgan N-N' metilen-bisakrilamidni polimerizatsiya qilish asosida olinadigan immobilizatsiyalangan fermentlar.

Gelga kiritish yo‘li bilan immobilizatsiya qilish usuli o‘zining soddaligi bilan ajralib turadi. Bu usul bilan fermentni xoxlagan geometrik konformatsiyada (sferik zarrachalar va x.k.) olish va fermentni tashuvchi ichida bir tekis tarqalishiga erishish mumkin.

Ko'pchilik polimer gellar o'zlarining mexanik va kimyoviy issiqqa chidamliligi bilan ajralib turadi. Bu xususiyatlar esa fermentlarni bir necha marotabalab ishlatish imkonini beradi. Bu usul universal usul bo'lib nafaqat barcha xildagi fermentlar, balki poliferment tizimlar, hujayra va hujayra fragmentlarini immobilizatsiya qilish uchun ham to'g'ri keladi. Bu usulni ijobiy tomonlaridan yana biri - uni fermentga mo'tadillik berish imkoniyatidir. Va nihoyat bu usulda immobilizatsiya qilingan ferment, bakteriologik zararlanishdan qo'rqmaydi chunki, ferment molekulasidan katta bo'lgan bakteriyalar gelni ichiga kira olmaydilar.

Usulning eng katta kamchiligi ba'zi bir holatda polimer matrikslari substratni diffuziyasiga xalaqit beradi va shu tufayli fermentni faolligi past bo'lishi mumkin. SHunday ekan, substrat sifatida yuqori molekulali moddalar ishlatilganda bu usuldan butunlay foydalanish mumkin emas.

Yarim o'tkazgich membranalar yordamida immobilizatsiya qilish

Bu usul kichik molekulali substratni suvdagi eritmasi, katta molekulaga ega bo'lgan ferment eritmasidan yarim o'tkazgich membrana yordamida ajralib turishiga asoslangan. YArim o'tkazgich membrana substratni oson o'tkazadi, ferment esa membranadan o'ta olmaydi. Bu usulni har xil modifikatsiyasi, yarim o'tkazgich membranalarni olish va ularni tabiati asosida yaratilgandir.

Mikrokapsulalash - usuli birinchi bo'lib, 1964 yilda T.CHang tomonidan yaratilgan. Bu usul - fermentni suvdagi eritmasini mikrokapsulalar ichiga joylashtirishdan iborat. Mayda teshikli polimer plyonkalardan tashkil topgan kichik koptokchalar ichidagi fermentlarni tashqariga chiqishi belgilab qo'yilgan. Kapsulalarni olish usuliga qarab, ularni o'lchami hal xil bo'ladi (10 dan 100 mikrometrgacha).

Mikrokapsulalar olishning ikki usuli mavjud bo'lib, birinchisida fermentni suvdagi eritmasi PAV (sirt faol moddalar) saqllovchi dietilefiri bilan kuchli aralashtirish natijasida dispers holatga o'tkaziladi. PAV - bu erda emulgator vazifasini bajaradi. Hosil bo'lgan emulsiyaga, to'xtatmasdan polimerning e'firdagi eritmasi qo'shib boriladi.

Polimer (nitrat sellyuloza), suvda erimasligi sababli emulsiyaga tekkan joyda yupqa membrana mikrokapsula hosil qiladi. Tayyor bo'lgan mikrokapsula sentrifuga yordamida yoki filtrlash yo'li bilan ajratib olinadi.

Mikrokapsula hosil qilishning ikkinchi yo'li - ikki moddaning fazalararo polikondensatsiya qilishiga asoslangan. Moddalardan biri suvning mayda emulsiyalarida ikkinchisi esa organik fazada erigan bo'ladi. Ko'p tarqalganlardan biri poliamid mikrokapsulasi.

Bu mikrokapsula 1,6-geksametilendiamin (suv fazasi) va sebatsin kislotasining xlor gidridi (organik faza) asosida olinadi. Bu usul faqatgina yuqori rN ga chidamli

bo'lgan (diamin eritmasi) fermentlar uchun ishlatilishi mumkin. Mikroapsula hosil qilish uchun ishlatiladigan ferment eritmasi 10% atrofida inert oqsil moddasi (gemoglobin) saqlashi lozim. Bu oqsil kapsula ichida kerakli bosim bo'lishini hamda fermentni mo'tadilligini ta'minlaydi. Fermentni mo'tadilligini oshirishi uchun glutaraldegid bilan ishlov beradi, ba'zida esa adsorbsiya yoki gelga kiritish yo'li bilan immobilizatsiya qilinadi.

Ba'zi holatlarda immobilizatsiya qilish uchun molekulalari kovalent bog'langan oqsillardan tashkil topgan membranalar ham foydalaniladi.

Ikkilamchi emulgirlash. Bu yo'l bilan immobilizatsiya qilganda, avvalo fermentni suvdagi eritmasini organik polimerdagi emulsiyasi tayyorlanadi. Tayyor emulsiyani yana bir bor suvda dispersiya qilinadi. Natijada, fermentni suvdagi eritmasini saqlagan organik moddani (polimerni) emulsiyasi hosil bo'ladi. Vaqt o'tishi bilan organik eritma qotadi, va immobilashgan ferment saqlovchi polimer zarrachalari hosil bo'ladi.

1972 yilda S.Mey va N.Li lar bu usulni modifikatsiya qildilar va membrana hosil qiluvchi materialar sifatida suvda erimaydigan polimer o'rniga katta molekulyar massaga ega bo'lgan suyuq uglevodorodlardan foydalanishni tavsiya qildilar. Bu usul suyuq membranalarida immobilizatsiya qilish deb ataldi. Bundan tashqari tolaga kiritish, liposomaga kiritish, mikroemulsiya hosil qilish kabi bir qator usullar mavjud.

Fermentlarni immobilizatsiya qilishinig kimyoviy usullari

Kimyoviy usullarni boshqa usullardan asosiy farqi kimyoviy ta'sir natijasida ferment bilan tashuvchi orasida qo'shimcha kovalent bog'i paydo bo'ladi. Bu usulda immobilizatsiya qilingan fermentlarni kamida ikkita ustunligi bor. Birinchidan, ferment va tashuvchi orasidagi kovalent bog', hosil bo'lgan kon'yugatni yuqori mustaxkam qiladi. Boshqacha qilib aytganda ferment ishtirokida o'tadigan reaksiyalarni pH, harorati va boshqa ko'rsatkichlarini o'zgartirish, fermentni desorbsiyasiga, shu tufayli olinadigan maxsulotni ifloslanishiga olib kelmaydi.

Bu esa ayniqsa meditsina, oziq-ovqat maxsulotlari, analitik ishlar uchun reaktivlar olishda o'ta muhim ahamiyat kasb etadi. Ikkinchidan, kimyoviy modifikatsiya fermentni faolligini va mo'tadilligini oshirishiga olib keladi. Faqatgina kimyoviy yo'l bilan, ko'p nuqtalik bog'lanishlar natijasida fermentni mo'tadilligini oshirish mumkin. Bu usulni kamchiligi, ba'zi-bir fermentlar kimyoviy modifikatsiya jarayonida o'z faolligini yo'qotib qo'yadilar.

5-MA`RUZA

Mavzu: Fermentlar muxandisligi.

Reja:

1. Ferment preparatlarining olinishi;
2. Sof holdagifermentlarni olish usullari.

Tozalanmagan ferment preparati - mikroorganizm kulturasini mo''tadil sharoitda namligi 8-12% ga olib kelingan va butun ozuqa muhiti qoldiqlari bilan birgalikdagi massasidir. Tozalanmagan ferment preparati kulturani qattiq yoki suyuq ozuqa muhitida o'stirish yo'li bilan olinishi mumkin. Suyuq muhitda o'sgan kultura quritishdan oldin biomassasi va ozuqa muhiti qoldiqlaridan qisman tozalangan yoki shundayligicha quritilgan bo'ladi. Qattiq ozuqa muhitida o'stirilgan mikroorganizm kulturasini odatda 35 dan 58 % gacha namlikka zga bo'ladi. Bunday mahsulot chidamsiz bo'lganligi sababli uni tezda ishlab chiqarishga joriy qilish yoki namligini 10-12% gacha quritib olish kerak. Quritish jarayonidan oldin, o'stirish xonasidan olingan mikroorganizm maydalanadi va keyin quritiladi. Mikroorganizm kulturalarini quritish uchun tasmali, tonnelli, shaxtali, barabanli, javonli (shkafli) va tebranuvchan quritgichlardan foydalanish mumkin. Ishlab chiqarishda, yuqorida qayd qilinganlariga nisbatan ko'proq to'g'ri yo'naltirilgan baraban tipidagi quritgichlar ishlatiladi. Bunda xo'l kultura issiqlik beruvchi qurilma bilan birgalikda 80-85°S da quritgichga tushadi. Bunday yuqori haroratda quritiluvchi xo'l mikroorganizmlarning mayda bo'laklaridagi namni bug'lanishi hisobiga qattiq qizib ketish holati kuzatilmaydi va undagi fermentlarning faolligi to'liq saqlanadi. Ko'pchilik barabanli quritgichlarning ichki tomonida parraksimon kurakchalar mavjud bo'lib, baraban 6-8 min⁻¹ tezlikda aylanishi hisobiga quritilayotgan materialni bir tekisda tarqalishini va quritilishini ta'minlaydi. Shuning uchun bunday tipdagi quritgichda quritilgan mahsulot butun massasi bo'ylab bir xil namlikka ega bo'ladi. Ushbu quritgichda mikroorganizm bo'lakchalari 3-7 min. davomida quritiladi, berilayotgan issiqlik tezligi 2-3 m/s, 80-85°S haroratda hamda chiqishda esa 60-65°S bo'ladi va quritilayotgan material harorati 40°Sdir. Quritish jarayonida atigi 3-10% gacha ferment faolligi yo'qotilishi mumkin.

Mikroorganizmlarni quritishda ishlatiladigan quritgichlarning yana bir turi – germetik berk bo'lgan lentali bug' konveyerli quritgichdir. Bunday qurilmalarda fermentning faolligi ko'p yo'qotiladi, lekin ular ixcham va yuqori samaradorlikka ega.

Qattiq ozuqa muhitida o'stirilgan mikroorganizmlarni quritish uchun har xil konstruksiyali quritgichlardan foydalanish mumkin, qaysiki mahsulotning faolligi pasayishini minimumgacha tushirishni, uning quritgichda 5-8 min. davomida

bo'lishi va chiqishida 40-42°C dan pastda bo'lishini ta'minlaydi. Tayyor quruq mikroorganizmlar maxsus qoplash mashinalarida 25-40 kg qilib qoplanadi va tayyor mahsulotlar omboriga yuboriladi. Ko'pchilik produtsentlar sintez qilgan fermentlarning asosiy qismini suyuq ozuqa muhitiga chiqaradilar va to'playdilar. Toza ferment preparatlarini produtsentning biomassasi bilan birgalikda filtrlarda, sentrifugalarda yoki separatorlarda ajratiladi. Biomassani filtrlash samarasi ishlatilayotgan uskuna tipiga, ozuqa muhit tarkibiga, ajratilayotgan bo'lakchalar katta-kichikligiga, erimagan fraksiyalar miqdoriga, filtrlovchi materialning fizik-kimyoviy xususiyatlariga, harorat rejimiga va boshqa omillarga uzviy bog'liqdir. Filtrlash jarayonini yaxshilash maqsadida kultural muhit kimyoviy qayta ishlanadi, ya'ni ishqoriyligi rN 8-8,5 ga keltirib 0,1%li NaCl eritmasi va har xil kizelgurlar (diatomit, radiolit, mikrozil, klargel va x.k.) qo'shiladi. Bu to'ldiruvchilar filtrlash samarasini oshiradi, lekin ferment faolligiga salbiy ta'sir qiladi. Olingan biomassa (bioshrot) sterilizatsiya qilinadi va quritilib chorva mollariga yem sifatida ishlatiladi. Kultural suyuqlik filtrati esa toza ferment preparati olish uchun qayta ishlashga yuboriladi.

Qattiq ozuqa muhitida o'stirilgan mikroorganizmlardan fermentlarni ekstraksiya qilish. Barcha fermentlar asosan suvda eruvchandir. Shuning uchun eng yaxshi ekstragent bo'lib suv hisoblanadi. Mikroorganizmlardan fermentlarni olish uchun ular mayda qilinib hujayra devorlari mexanik yoki avtomatik holda buzilib, ekstraksiya jarayoniga jalb etiladi. Bu usulda ham xo'l holdagi, ham quruq holdagi mikroorganizmdan ferment eritmasini olish mumkin. Biomassadan ferment ekstraksiyasini to'liq amalga oshirish uchun harorat, rN, jarayon davomiyligi, ekstraksiya uskunasiining konstruktiv xususiyatlari, ajratilayotgan ferment tabiati va boshqa bir qancha omillarga bog'liq. Bu omillar har bir produtsent misolida alohida tadqiqotlar yordamida aniqlanadi va tavsiya etiladi. Masalan, harorat ekstraksiya jarayoniga katta ta'sir ko'rsatadi, ya'ni juda ko'p fermentlar termolabil bo'lib, hattoki 35-40°C da inaktivatsiyaga uchraydi. Shuning uchun zavod sharoitida iloji boricha suvning harorati 22-25°C da ushlab turiladi va har bir mikroflora o'smasligi uchun antiseptiklardan (formalin, benzol, toluol, xloroform va x.k.)dan foydalaniladi. Ko'pchilik holatlarda fermentlarni rN 5-7 ko'rsatkichida to'liq ajratib olish mumkin.

Vakuum-bug'lantirish usulida ferment eritmalarini quyuglashtirish. Qattiq va suyuq ozuqa muhitlarida o'stirilgan mikroorganizmlarning ekstraktlari saqlash uchun chidamsizdir. Tayyor texnik preparat formalarini (P2x va G2x) olish va ularni quyuglashtirish kerak. Quruq texnik yoki toza ferment preparatlarini vakuum-bug'lantirish usuli ham bir bosqich bo'lib hisoblanadi.

Odatda fermentlar bug'lantirish haroratiga juda ta'sirchan bo'ladi. Shuning uchun quyuqlashtirishning asosiy sharti past haroratda qaynatish va jarayonni qisqa muddatda olib borish bilan birga, bug'lantirilayotgan suyuqlikni qizib ketishi va fermentlar inaktivatsiyaga uchrashini oldini olishdir. Agarda quyuqlashtirilayotgan eritma qanchalik toza bo'lsa, shunchalik kam miqdorda har xil moddalarni kam tutadi va undagi ferment yuqori haroratga juda ham ta'sirchan bo'ladi. Qattiq ozuqa muhitida o'stirilgan organizm ekstraktida juda ko'p miqdorda himoyalovchi birikmalar bo'ladi va ular quyuqlashtirish jarayonida ferment inaktivatsiyasini oldini oladi, lekin kultural suyuqlikni quyuqlashtirishda buning aksini kuzatish mumkin, ya'ni ferment ko'p miqdorda faolligini yo'qotadi. Quyuqlashtirish jarayonida ferment eritmalaridagi moddalarning miqdori va mineral tarkibi birmuncha o'zgaradi, quruq modda hisobiga esa 11-20 %ga kamayadi va quyuqlashgan ekstraktning rN ko'rsatkichi ham o'zgaradi. Produksentning turiga qarab ularning kultural suyuqliklari ham har xil kimyoviy tarkibga va fermentlar kompleksiga ega bo'lganligi uchun, vakuum-bug'lantirishning harorat rejimlari tadqiqot yo'li bilan aniqlanadi.

Ferment eritmalarini membranalar yordamida tozalash Membranali tozalash usuliga dializ va elektrodializ, baromembranali usulga esa qaytariluvchi osmos, ultrafiltratsiya, mikrofiltratsiya va nozik filtratsiya kabilar kiradi.

Eritmadagi moddalarni dializ usulida ajratish – membranani modda massasiga qarab tanlab o'tkazuvchanlik xususiyatiga asoslangan. Bu jarayon uchun yarimo'tkazgich membrananing har ikki tomonida eritmalar konsentratsiyasini farqi vujudga kelishi kerak. Dializ jarayonini ushbu tenglik bilan ifodalash mumkin:

$$Q = DdS\Delta C$$

Bunda, Q – ma'lum vaqt ichida membranadan o'tgan modda miqdori, Dd – dializ koeffitsiyenti, S – membrana sirtining yuzasi, ΔC – membrananing har ikki tomonidagi moddalarning konsentratsiyasi farqi.

Dializdan ferment preparatlarini kichik molekulali moddalardan tozalashda foydalaniladi. Masalan, ferment eritmalarini shakar, aminokislotalar, mineral tuzlar va boshqalardan 60-100% gacha bo'lgan miqdorda tozalashga erishish mumkin. Ayniqsa, fermentlar yuqori konsentratsiyali tuzlar bilan cho'ktirilganda dializdan va elektrodializdan unumli foydalanish kerak. Lekin to'rtlamchi strukturaga ega bo'lgan fermentlarni va metallofermentlarni ajratishda elektrodializdan foydalanish mumkin emas, ya'ni ferment ushbu jarayonda o'z faolligini yo'qotadi.

Dializ jarayoni juda sekin o'tuvchi jarayondir, hamda eritmaning miqdori ko'p bo'lganda, juda ko'p miqdorda membrana sarflanadi. Dializda quyidagi har xil

ko'rinishdagi yarimo'tkazgich membranalar ishlatiladi, pergament, sellofanning har xil turlari, ultrafiltratsiyada ishlatiladigan membranalar va boshqalardir. Dializ usuli bir qancha kamchiliklarga ega bo'lganligi sababli hozirgi kunda ishlab chiqarishda ishlatilmaydi. Ba'zan ilmiy laboratoriyalarda fermentlarni yuqori tozalikda olish uchun ishlatilishi mumkin.

Baromembrana usuli ishlatiladigan membranalar tirqishlarining katta-kichikligiga qarab sinflanadi. Masalan, qaytariluvchan osmos ($\approx 3 \times 10^{-4}$ mkm); gelfiltratsiya (15x10,5 mkm); mikrofiltratsiya (0,2 mkm) va nozik filtratsiya (10 mkm) dir.

Cho'ktirish usullari va uning nazariyasi. Sanoat uchun zarur bo'lgan ko'pchilik fermentlar suvda eruvchan oqsillardir. Ferment eritmalari olinish manbalariga qarab mikroorganizmlar lizatleri, ekstraktleri, kultural suyuqlik filtratlari, o'simlik yoki hayvon to'qimalari gomogenatlari bulishi mumkin. Bu ferment eritmalari tarkibi juda murakkab sistemaga ega. Unda fermentlardan tashqari kolloid tabiatiga ega bo'lgan har xil birikma va moddalar ham uchraydi. Bunday murakkab sistemalardan fermentlarni ajratib olish mushkul vazifadir.

Ma'lumki, oqsilning gidrofob guruhlari oqsil molekulasi ichida to'planib harakat joylashadi. Oqsilning har xil erituvchilarda erish darajasi molekula sirtida gidrofob va gidrofil qoldiqlarning tarqalishi bilan belgilanadi. Oqsillarni asosiy erituvchisi bo'lgan suvning ba'zi xususiyatlarini (harorat, rN, ion kuchi, neytral tuzlar, organik erituvchilarni yoki inert birikmalarni qo'shish yo'li bilan) o'zgartirish hisobiga oqsil molekulasining gidrat yoki solvat qatlamiga ta'sir qilib agregatsiyaga uchratish va cho'kmaga tushirish mumkin. Sanoatda asosan organik erituvchilar yoki tuzlar bilan cho'ktirishdan foydalaniladi. Bu usullar bir-biridan cho'ktirish mexanizmi bilan farqlanadi.

Neytral tuzlar yordamida cho'ktirish. Bu jarayon asosan oqsil molekulasining gidrofobligi darajasiga bog'liq. Tipik oqsil molekulasi sirtida bir qator aminokislotalar (tirozin, triptofan, leysin, izoleysin, metionin, valin va fenilalanin) zanjiri shaklida yopishgan gidrofob qismlarga ega. Oqsil molekulasining gidrofob qismi suv bilan to'qnashganda suv molekulalari bilan oriyentirlangan qavat hosil bo'ladi va shu joylar «muzlatilgan» holatda bo'ladi. Bunday tartibli strukturalar termodinamik jihatdan chidamli emasdir. Agar suv molekulalarini oqsil tabiatiga o'xshamagan moddalar bilan immobilizatsiya qilinsa, oqsil molekulalari o'zaro ta'sirlashib agregatlar hosil qila boshlaydi. Ma'lumki, tuzlarning ionlari gidratlanadi. Agar oqsil eritmasiga ma'lum miqdorda suv qo'shilsa u suv bilan bog'lanadi va suvdan bo'shagan oqsil molekulalari agregat hosil qiladi. Tuz ionlari

qancha ko'p bo'lsa, oqsillarning agregatlanishi ham shuncha kuchayadi va cho'kmaga tushishi ortadi.

Tuzlar bilan cho'ktirish jarayoni ta'siriga ko'ra har xil oqsillarga har xil bo'ladi. Bu birinchidan, oqsil molekulasida sirtidagi gidrofob qismlarning miqdori va razmeriga bog'liq. Qancha shunday qismlar ko'p bo'lsa, oqsil shuncha tez cho'kmaga tushadi. Ba'zi oqsillar borki, tuzlarning eng yuqori konsentratsiyalarida cho'kmaga tushmaydi. Cho'ktirish jarayonida oqsillar yonida turgan boshqa oqsillar bilan ham agregat hosil qilib cho'kmaga tushishi mumkin. Bunda bir qancha fermentlar kompleksini olish mumkin. Lekin fraksiyalarga bo'lib cho'ktirilsa bir muncha yuqori natijaga erishish mumkin.

Oqsillarni tuzli eritmalarda eruvchanligi Konning empirik tenglamasiga bo'ysunadi:

$$\lg S = \lg S_0 - k_s \mu$$

bunda S , S_0 - oqsilning tuzli eritma va toza suvdagi eruvchanligi; k_s – tuzlash konstantasi, μ – eritmaning ion kuchi.

Tuzlar bilan cho'ktirish jarayonini unumli o'tkazish uchun $k_s \mu$ ko'rsatkichi iloji boricha katta bo'lishi kerak. k_s ko'rsatkichi tuzning tabiatiga bog'liq bo'lib, vodorod ionlari konsentratsiyasiga bog'liq emas. Ushbu jarayon gidrofob o'zaro ta'sirga asoslangan bo'lsada uning borishiga ta'sir qiluvchi boshqa omillar ham mavjuddir. Ular: muhit rN i, harorat. Ferment eritmasi tozaligi darajasi, jarayonni o'tkazish muddati va boshqalardir.

Tuz bilan cho'ktirishda asosan ishqoriy metallarning neytral tuzlari ishlatiladi. Har xil ionlarning cho'ktirish effekti ularning ion kuchiga bog'liq. Natriy tuzlari anionlarini tuzlash ta'siri kuchiga qarab quyidagicha joylashtirish mumkin: $\text{SO}_4^{2-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{J}^- > \text{CNS}^-$, hamda kationlarni esa quyidagicha $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > (\text{NH}_4)^+$.

Ferment preparatlarini tuz yordamida cho'ktirilganda ularning tarkibida 60-85% gacha har xil ballast qo'shimcha moddalar uchrashi mumkin. Ushbu jarayonning eng qiyin bosqichi, bu - tuzni qo'shish va uni eritishdir. Eritmada tuzning lokal konsentratsiyasini oshirib yubormaslik uchun u avval maydalanib, sekin astalik bilan ma'lum bir qismdan qo'shib boriladi va tinmay aralashtirib turiladi. Aralashtirish davomida ko'pik hosil bo'lishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Jarayon erigan na agregatlangan oqsillarning muvozanati hosil bo'lguncha 20-40 min, ba'zida bir necha soat davom etadi.

Tuz bilan cho'ktirish juda ham ko'p omillarga bog'liq bo'lgan murakkab texnologik jarayondir. Shuni esda tutish kerakki, tuz hech qachon fermentni butunlay cho'ktirmaydi, balki uning eruvchanligini pasaytiradi, xolos. Agar eritmada 1 mg/ml oqsil bo'lsa uning 90%i cho'kmaga tushishi mumkin, lekin zritmada bor-yo'g'i 0,1 mg/ml oqsil bo'lsa hech qanday ferment preparatini olishning iloji bo'lmaydi.

Neytral tuzlar bilan oqsillarni cho'ktirib ferment preparatlarini olish usullari asosan chet ellarda keng tarqalgan.

Organik erituvchilar yordamida cho'ktirish. Fermentlarni suvda eruvchan organik erituvchilar bilan cho'ktirish usullari sanoat miqyosida keng ko'lamda qo'llaniladi. Oqsillarni cho'ktirish samarasi organik erituvchilar ta'sirida suvning faolligini kamayishi bilan uzviy bog'liqdir. Erituvchining konsentratsiyasi ortishi bilan fermentning zaryadlangan gidrofil molekulalarini suv ta'sirida solvatlanish qobiliyati pasayadi. Oqsilning gidrofob qismidagi suv molekulalari organik erituvchi tomoniga o'ta boshlaydi va natijada fermentning eruvchanligi pasayadi. Oqibatda oqsil molekulalari agregatlanadi va cho'kmaga tushadi.

Oqsillarni agregatlanishi elektrostatik va Van-der-Vaals kuchlari ta'sirida, alohida joylashgan oqsil molekulalari o'rtasida yuzaga keladi.

Oqsillarni agregatlanishi jarayoni va cho'kma hosil bo'lishi cho'ktirishning bir qancha omillariga bog'liqdir. Shulardan biri oqsil molekulasining razmeridir. Cho'ktirish jarayonida oqsil molekulasining razmeri qanchalik katta bo'lsa, erituvchining salbiy ta'sir qiluvchi konsentratsiyasi shunchalik past bo'ladi. Bu bog'liqlikka molekulaning gidrofoblik darajasi, solvat qavatiga chidamliligi na boshqa omillar ta'sir qilishi mumkin.

Cho'ktirish uchun ishlatiladigan organik erituvchi suv bilan to'liq aralashishi va ferment bilan esa aloqada bo'lmasligi kerak. Asosan bu jarayon uchun etil spirti, atseton va izopropil spirti keng qo'llanilsa, metanol, n-propanol, dioksan, 2-metoksietanol va boshqa spirtlar, ketonlar, efirlar va ularning aralashmalari kamroq ishlatiladi. Erituvchilarni tanlashda ularning toksikligiga, portlash xavfidan xolisligiga va pegeneratsiya bo'lish qobiliyatiga e'tibor berish kerak. Ishlab chiqarish uchun eng yaroqlilari bo'lib etil spirti va izopropanol hisoblansa, atsetonning ko'rsatkichlari esa sal pastroqdir. Bular orasida eng istiqbollisi izopropanoldir. Bu erituvchilar yordamida fermentlarni komplekslarga ajratish yoki fraksiyalar holida cho'ktirib olish mumkin.

Ferment preparatlarini cho'ktirish uchun nafaqat erituvchining tabiati va konsentratsiyasi, balki elektrolitlarning ishtiroki, cho'ktirish harorati, muhit rN

ko'rsatkichi, quruq moddalarning tarkibi na miqdori kabi bir qancha omillarga e'tibor berish kerak. Cho'ktirish eritmasida ba'zi ionlarning uchrashi ferment mo''tadilligiga ta'sir qilishi mumkin. Masalan, Ca^{2+} ionlari α -amilaza, proteinaza, glyukoamilaza fermentlari faolligiga ijobiy ta'sir qilsa, magniy, manganets, kobalt kabi metall ionlari himoya vazifasini bajaradi. Shular bilan birgalikda ba'zi metallarning (Fe^{2+} , Pb^{2+} , Si^{2+} , Ag^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , Hg^{+} va x.k.) ionlari salbiy ta'sir ko'rsatadi va ularning eritmada bo'lishi maqcadra muvofiq emasdir. Eritmada elektrolitlarning bo'lishi erituvchi sarfini kamaytirishga va cho'kma strukturasini yaxshilashga xizmat qiladi.

Ferment eritmasi va erituvchining harorati ferment cho'ktirish jarayonida past bo'lishiga harakat qilish kerak. Spirt va fermentning suvli eritmasi aralashtirilganda issiqlik ajralib chiqishi va aralashma harorati 5-10⁰S ga ko'tariladi. Agarda spirt oldindan sovutilgan bo'lmasa fermentlarning inaktivatsiyasini kuzatish mumkin. Bu hodisa nafaqat termoinaktivatsiyaga, hattoki ferment molekulasini denaturatsiyagacha olib keladi.

Ferment preparatlarini cho'ktirishda rN ko'rsatkichi juda katta ahamiyatga ega. Bir xil ferment eritmasidan har xil rN ko'rsatkichi ta'sirida bir-biridan cho'kmasi miqdori va ferment faolligi bilan farq qiluvchi preparatlar olish mumkin. Ma'lumki, fermentlar o'zlarining izoelektrik nuqtalarida oqsil agregatlari hosil qilib to'liq cho'kmaga tushadilar. Oqsillarni izoelektrik nuqtalarida cho'ktiruvchi reagentlar ishlatmay cho'ktirish jarayoni izoelektrik cho'ktirish deyiladi. Organik cho'ktiruvchilarni izoelektrik nuqta rNga yaqii rN da qo'llash fermentlarni oson cho'ktirish va erituvchini kam miqdorda sarflash uchun xizmat qiladi. rN ko'rsatkichi izoelektrik nuqtadan chetga chiqsa cho'kma unumi va ferment faolligi 30-50% gacha yo'qotiladi.

Faol fermentni preparat yoki mo''tadil strukturali cho'kma holida olish uchun eritmada 10-12% atrofida quruq modda miqdori bo'lishi kerak. Ko'p tadqiqotlardan ma'lumki, fermentlarni cho'ktirishda, ayniqsa proteolitik fermentlarni, quruq moddaning eng optimal miqdori 10% bo'lishi kerak.

Yuqorida qayd qilingan omillar qatorida ferment zritmalarini erituvchi bilan aloqada bo'lish muddati ham katta ahamiyatga zga. Ferment sanoatida to'xtovsiz ishlaydigan cho'ktiruvchilarda ushbu vaqtni juda ham qisqartirishga erishilgandir, bu albatga ferment faolligini kamayishini oldini oladi.

Fermentlarni tozalash usullari.

Fermentlar va boshqa oqsil moddalari har xil erimaydigan adsorbsiya (surilish) qobiliyatiga ega. Bu xususiyat oqsil aralashmalarini birikmalarga ajratishda va ayniqsa fermentlarni laboratoriya sharoitida tozalashda, hamda gomogen bo'lgan ferment preparatlarini olishda ishlatiladi. Adsorbsiya usuli, shu bilan birga kolonkali xromatografiya usullari fermentlarni yuqori darajada toza va ko'p miqdorda olish imkonini beradi.

Oqsillarning muhim adsorbentlari bo'lib, hap xil ionalmashuvchilar, ya'ni kalsiy fosfat, alyuminiy gidroksid gellari va ma'lum tipdagi fermentlar uchun maxsus bo'lgan har xil affin adsorbentlar hisoblanadi. Fermentlarni tozalash va oqsillarni ajratish texnologiyasi qanday tipdagi usulda bo'lishiga qaramay quyidagilarga asoslanadi. Ferment mahsulotini o'z tarkibiga olgan oqsillar aralashmasi ma'qul bo'lgan erituvchida (buferda) eritiladi va shu erituvchi bilan muvozanatlangan kolonkaga yuboriladi. Keyin shu kolonkadan ma'lum tarkibga ega bo'lgan buferni yoki konsentratsiyasi o'sib boruvchi gradiyentli yuvish eritmasi, yoki bo'lmasa ushbu ferment uchun maxsus bo'lgan bog'lovchi (ligand) yordamida oqsil bosqichma-bosqich yuvib olinadi. Kolonkadan yuvib olingan ferment preparatlari fraksiyalar to'plamida yig'iladi va fermentni toza preparatini olish uchun boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi.

Ionalmashuv xromatografiya usuli. Bu usulda oqsillar elektrostatik kuch yordamida bog'lanadilar, ya'ni bu hodisa zaryadlangan oqsil sirtlari va zaryadlangan ionalmashuv birikma guruhlarining zich qatlami o'rtasida yuzaga keladi. Tipik ionalmashuvchi sifatida bo'ktirilgan dietilaminoetil (DEAE-) yoki karboksimetil (KM) sellyulozani ko'rsatish mumkin. Ular bo'ktirilgan holatda zaryadli guruhlarining 0,5 M konsentratsiyasiga zga bo'ladi. Bu zaryadlap kolonkada qapama-qarshi bo'lgan ionlarni (metall ionlari, xlor ionlari, bufer va h.k. neytrallaydi. Odatda oqsilning umumiy zaryad belgisi ion almashuvchiga o'tirgan ion belgisi bilan bir xil bo'ladi va kolonkadan o'tish jarayonida aynan uni siqib chiqaradi. Shuning uchun ham bu jarayon xususiyatiga qarab "ion almashuv" jumlasini qo'llaniladi.

Kolonkada adsorbsiyalangan kepakli oqsilni yuvish uchun affin usulidan tashqari ikki usuldan foydalaniladi. Birinchi usul - buferning rN ko'rsatkichini ma'lum darajaga o'zgartirish bilan ion kuchini oshirib, adsorbent va oqsil o'rtasidagi elektrostatik o'zaro ta'sirni kamaytirishdir. Bu usul umuman yaxshi natija bermaydi. Chunki bufer hajmini kichik bo'lganligi uchun rN ko'rsatkichini birdaniga o'zgar-tirish oqsil aralashmalariga va boshqa birikmalarning yomon ajralishiga sabab bo'ladi. Keyingi yillarda bu usul L.L.Slyuyterman va boshqalar (1981) tomonidan xromatofokus usuliga o'tkazish yo'li bilan takomillashtirilmoqda. Bunda

yuvish jarayonida amfolit tipidagi bufer hajmi yuqori bo'lgan buferlardan foydalaniladi va shu usul keyinchalik sanoat miqyosida o'z o'rnini topishi mumkin.

Ikkinchi usul keng miqyosda foydalanilayotgan kaliy yoki natriy xlorid tuzlari yordamida gradiyent tuzishga asoslangan. Tuz ionlari ishtirokida mustaqil oqsil na adsorbentlar o'rtasidagi o'zaro tortish kuchi kamayadi. Tuz ionlari konsentratsiyasini oshishi bilan adsorbentga bog'langan oqsillar o'z o'rinlarini ularga bo'shatadilar va o'zlari kolonkadan yuvilib chiqa boshlaydilar. Shu bilan birga tuz ionlari ta'sirida adsorbentlar o'zaro yaqinlashib oqsil harakati uchun tor yo'lkalar hosil qiladi va bu hodisa fermentlarni kolonkadan chiqishida fraksiyalarga ajratib olish imkonini beradi.

Affinli xromatografiya usuli. Bu usul oqsil va fermentlarni tozalash va ajratishning adsorbsiya hodisasiga asoslangan usullari ichida alohida o'rinni egallaydi. Ko'pincha uni affinli xromatografiya yoki bioaffinli yoki bo'lmasa biospetsifik xromatografiya deyiladi.

Ma'lumki, barcha biologik faol birikmalar, xususan fermentlar ham ligandlar yoki affinli ligandlar deb nomlanadigan birikmalarga maxsus bog'lanish xususiyatlariga egadir. Agarda shunday ligandlarni inert matritsaga kovalent bog'lasa faqat kerakli fermentni ushlovchi va qolgan oqsil va moddalarni o'tkazib yuboruvchi maxsus adsorbentni olish mumkin.

Maxsus yuvuvchilardan yoki jarayon sharoitlari farqi asosida ligandni fermentga bo'lgan xususiyatini o'zgartirish yo'li bilan oqsilni desorbsiyaga uchratib, tozalash natijasida bitta yuqori tozalikka ega bo'lgan fermentni olish mumkindir. Lekin ligand va uni ushlab turuvchini tanlash juda qiyin vazifadir. Ko'pchilik hollarda affinli adsorbentlarni sintez qilishda tozalanayotgan fermentning xususiyatlarini e'tiborga olish kerak. Affinli xromatografiya uchun har xil turdagi erimaydigan sorbentlardan foydalanadi, lekin eng ko'p tarqalgani ko'ndalang qilib ulangan agaroz donachalaridir. Ular yuqori bosimda o'z shaklini saqlaydi va buferlarni hamda erituvchilarni almashtirishga bardoshlidir.

Gelxromatografiya usuli. Gelfiltratsiya jarayonini amalga oshirish uchun dekstran asosida olingan gellardan foydalaniladi va ular yordamida razmeriga qarab har xil makromolekulalarni tez ajratish mumkin. Gel ochiq holdagi ko'ndalang tikilgan uch o'lchamli molekula turi bo'lib, kolonkalarni oson to'ldirish uchun yumaloq donachalar (granula) ko'rinishida bo'ladi. Donachalarda kichik teshikchalari bo'lib, ularga faqat juda kichik molekulali birikmalar kiradi va yirik molekulalar esa kirmaydi. Bu usul gellarning aynan shu xususiyatiga asoslangandir.

Bu usul fermentlarni tozalash va ajratishda nafaqat laboratoriya, balki sanoat miqyosida ham keng qo'llaniladi. Gelfiltratsiya uchun ko'ndalang tikilgan dekstran (sefadekslar va sefakrillar) gellaridan, ko'ndalang tikilgan poliakrilamid gellaridan (biogellar), akrilamid polimer zanjiri yopishtirilgan agaroz gellardan (ultragellar) va b. agaroz gellaridan foydalaniladi.

Kolonkada ferment eritmasining bir qismi gel donachalar orasida va bir qismi esa donachalarning teshikchalari ichida joylashadi. Gelfiltratsiya – bu tarqaluvchan xromatografiyaning bir shakli bo'lib, eritilgan moddalar eritmaning bir muncha yuzada joylashgan harakatchan va ichki tomonida joylashgan kam harakatli qismlarida tarqalgan bo'ladi. Kolonkada eritilgan moddaning ushlab qolinish darajasi uning gel teshikchalariga kira olish qobiliyatiga bog'liqdir. Shuning uchun gelfiltratsiya jarayonida kolonkadan avval yuqori molekulali moddalar va keyin esa kichik molekulalilari birin-ketin chiqa boshlaydi. Bunda gel molekulyar to'r vazifasini bajaradi Bu jarayon ideal ravishda olib borilishi uchun gel tayyorlangan material erigan birikmalar ta'siriga juda ham inert bo'lishi kerak. Afsuski bugungi kunda ishlatilayotgan barcha gellar inert emas va ba'zan ma'lum pN ko'rsatkichida ular surish qobiliyatini namoyon qilishi mumkin, masalan, shunday gellarga sefakrillarni kiritish mumkin. Gelfiltratsiya usuli bilan mayda gel donachalarida yuqori bosim ostida juda ko'p har xil moddalarning, shu jumladan oqsillarning aralashmalari ajratilmoqda. Bu yangi yuqori bosim ostida suyuq xromatografiya uslubi qisqa vaqt ichida yuqori darajali ajratish imkonini beradi va u fermentlarni tozalashning oxirgi bosqichlarida juda ham unumlidir.

6-MA`RUZA

Mavzu: Mutagenез va mutantlarni ajratish usullari. Eukariot mikroorganizmlar gibrizatsiyasi.

Reja:

1. Mutagenез va mutantlarni ajratish usullari;
2. Eukariot mikroorganizmlar gibrizatsiyasi.

DNK molekulasi strukturasini tashqi nomuqobil omillar ta'sirida o'zgarishi mutatsiya deyiladi. Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasida irsiy axborot o'zgaradi va organizmning mo'tadil holatda yashashiga keskin ta'sir ko'rsatadi. Tirik organizmning mutant formalari vujudga keladi. Boshqa organizmlardan farqli o'laroq o'simlik va mikroorganizmlarning xo'jalik ahamiyati yuqori bo'lgan mutant formalari xalq xo'jaligida keng ko'lamda foydalaniladi (1-jadval).

1-jadval.

Auksotrof mutantlar yordamida L-aminokislotalarining birlamchi metabolitlarini olinishi

Amino-kislota	Produtsent	Tansiq modda	Substrat	Kultural suyuqlikda aminokislotalar miqdori, g/l
L-lizin	Breviobacterium flavum	Treonin, metionin yoki gomoserin	Glyukoza saxaroza	60-100
L-trionin	Escherichia coli	Lizin, metionin, izoleysin	Glyukoza	20
L-ornitin	Corynebacterium glutamicum	Arginin	Glyukoza	26
L-fenil-alanin	Arthrobacter parafineus	Tirozin	H-alkanlar	15
L-tirozin	Corynebacterium sp.	Fenilalanin	H-alkanlar	19
L-valin	Corynebacterium glutamicum	Izoleysin	Glyukoza	11

Inson organizmidagi mo‘tatsion o‘zgarishlar og‘ir kasalliklarni kelib chiqishiga sabab bo‘ladi (oq qon kasalligi).

Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasini asl holatiga qaytish jarayoni DNK reparatsiyasi deyiladi. Reparatsiya jarayoni DNK aza, DNK-polimeraza II va DNK-ligaza fermentlari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu fermentlar tizimi yordamida DNK strukturasi dastlabki mo‘tadil holatiga qaytadi.

Biotexnologiya sanoatida produtsent sifatida prokariotlar – (bir hujayrali, yadrosi mukammal bo‘lmagan organizmlar) – bakteriyalar, aktinomitsetlar, rikketsiyalar va tuban eukariotlar (bir va ko‘p hujayrali, yadrosi mukammal, xromosomalari maxsus lipoproteid tabiatli membranalar bilan o‘ralgan) – achitqi va mitselial zamburug‘lar, eng sodda jonivorlar va suv o‘tlari hamda ularni har xil usullar (seleksiya, mutagenez, hujayra va gen muxandisligi) orqali olingan mutantlaridan foydalaniladi.

Bugungi kunda biotexnologik jarayonlarda tabiatda tarqalgan 100 mingdan ortiq turkumga mansub bo‘lgan mikroorganizmlardan faqatgina bir necha yuztasi ishlatiladi xolos.

Mikrobiologiya sanoatida ishlatish uchun tavsiya etiladigan produtsentlarga katta talablar qo'yadi, ularning umumiy lari quyidagilardan iborat:

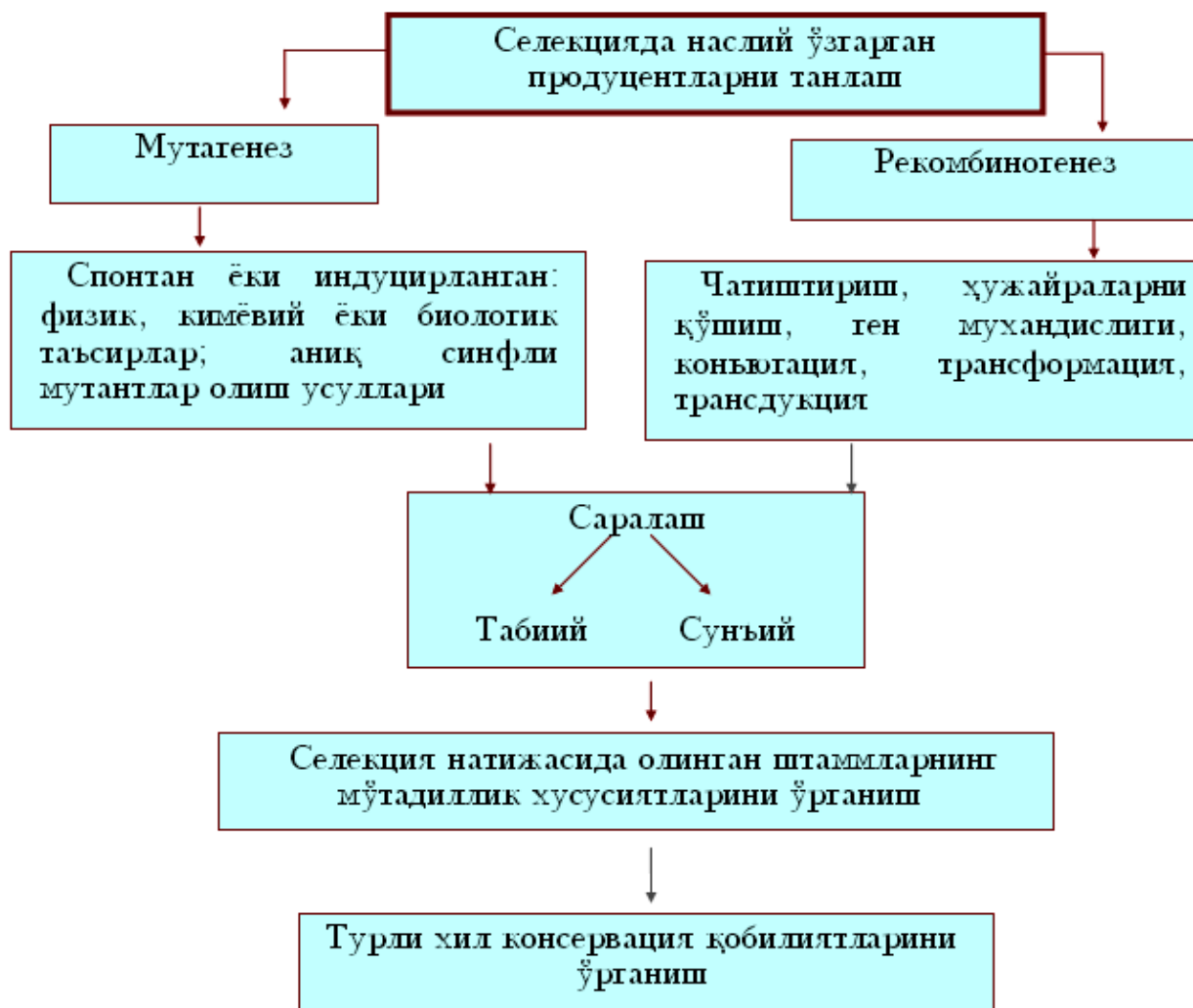
- ✓ ***o'sish tezligining balandligi,***
- ✓ ***arzon oziqa muhitida o'sishi,***
- ✓ ***boshqa mikrofloraga va fagga chidamliligi,***
- ✓ ***yuqori hosildorligi.***

Mikroorganizmlarning tabiiy shtammlarini hosildorligi ko'pincha talab darajasidan past bo'ladi.

Hosildor shtammlar yaratish uchun yo'naltirilgan seleksiya - usulidan foydalaniladi (1-chizma).

Buning uchun kimyoviy mutagenlar yoki radiatsion nurlardan foydalaniladi. Seleksiya va tanlov ishlari ba'zida yillab vaqt egallaydi va natijada mikrob hosildorligini 100 va undan ham ko'proq marotabalab oshirish mumkin bo'ladi. Masalan, hozirgi davrda sanoat usulida ishlatib kelinayotgan penitsillin antibiotigi sintez qiladigan produtsentning faolligi dastlabki shtammlarga qaraganda 10 ming marotabadan oshib ketgan.

Yuqori faollikga yoki hosildorlikga ega bo'lgan shtamm yaratish uchun seleksioner, tabiiy shtammni genetik materiallarini o'rganish borasida o'ta murakkab, o'ta nafis ishlarni amalga oshirishi lozim bo'ladi. Bunda, genlarni rekombinatsiyasi bilan bog'liq bo'lgan barcha usullardan, xususan: kon'yugatsiya, transduksiya, transformatsiya va boshqa genetik jarayonlardan foydalanishga to'g'ri keladi.

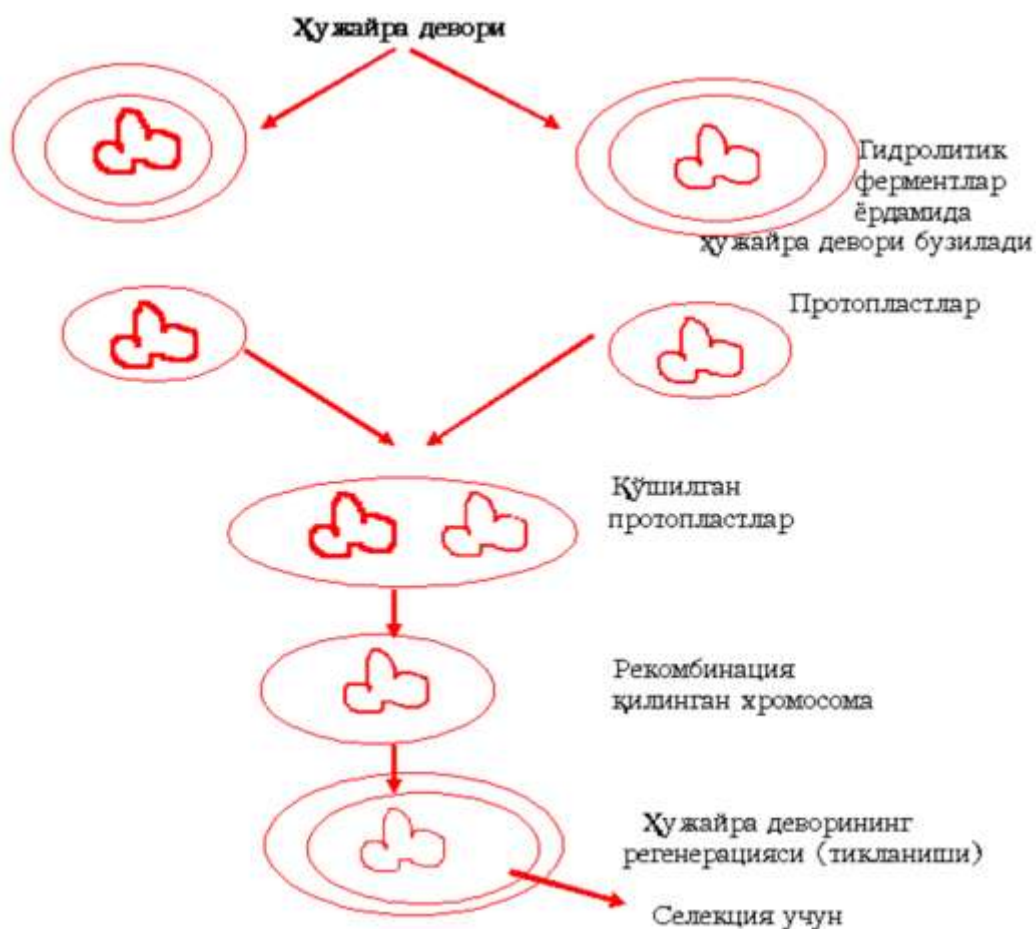


1-chizma. Mikroorganizmlar seleksiyasi

Masalan, kon'yugatsiya usuli (bakteriyalar orasida genetik materiallar bilan almashish), neft qoldiqlarini faol parchalovchi *Pseudomonas putida* shtammini yaratishda samarali foydalanilgan edi.

Ko'pincha transduksiya (bakteriya viruslari-bakteriofaglar yordamida bir bakteriyadan boshqa bakteriyaga genlar o'tkazish) va amplifikatsiya (kerakli genlarni nusxa sonini ko'paytirish) usullaridan keng foydalanish orqali har xil fiziologik faol moddalar sintez qiluvchi hosildor shtammlar yaratilgan. Ko'pgina mikroorganizmlarda antibiotik sintez qiluvchi genlar va ularni boshqaruvchilari xromosomalarda emas, balki plazmidalarda (xromosomadan tashqaridagi DNK) joylashgan bo'ladi. Bunday paytda amplifikatsiya orqali hujayradagi plazmidalar sonini ko'paytirish orqali shtammlarni hosildorligini oshirish mumkin.

Seleksiya ishlarini yana bir yo'li bu har-xil bakteriyalar protoplastlarini bir-biriga birlashtirish natijasida genetik rekombinantlar olish yo'lidir (2-chizma).



2-chizma. Protoplastlarning qo‘shilishi orqali maxsuldor mutant shtammlar olish mexanizmi

7-MA`RUZA

Mavzu: Gen injenerligi mohiyati va tarixi. Klonlash uchun DNK manbalari.

Reja:

1. Gen injenerligi mohiyati va tarixi;
2. Klonlash uchun DNK manbalari.
3. Biotexnologiya obyektlariga quyiladigan talablar.

Biotexnologik jarayonlarni muvofiqlashtirish tirik organizmlar ishtirokida o‘tadi, bunda asosiy e’tibor ularning genetik xususiyatlarini yaxshilashga qaratiladi. Buning uchun an’anaviy usullarda sun’iy mutagenез metodlaridan

ya'ni irsiyatga turli xil fizik va kimyoviy faktorlar ta'sir ettirib mutatsiyalar hosil qilish kabilardan foydalaniladi. Bugungi kunda rekombinant DNK texnologiyasiga asoslangan yangidan-yangi metodlarning ishlab chiqilishi va amaliyotda qo'llanilishi bu sohada ulkan o'zgarishlarga olib keldi. Genetik materiallarning modifikatsiyasi har xil usullarda (*in vivo* va *in vitro*) sharoitlarda amalga oshiriladi, shunga ko'ra u ikki yo'nalish *genetik muhandislik* va *hujayra muhandisligi* ga bo'linadi.

Gen muhandisligi – biotexnologiyaning tez rivojlanib borayotgan yo'nalishlaridan biri bo'lib, molekular biologiya, genetika, biokimyo fanlarining uzviyligida vujudga kelgan va turli xil organizmlarda genetik manipulyatsiyalar olib borish imkonini beradi.

Birinchi marotaba F.Misher 1869 yilda nuklein kislotalar haqida xabar qilgan bo'lsa, 1944 yilga kelib O.T.Everi va uning hamkasblari aynan DNK irsiy axborotlarni saqlashda xizmat qilishini isbotlashdi. Ular tozalangan dezoksiribozali kislota yordamida kasallik chaqirmaydigan pnevmokok shtammini kasallik chaqiradigan shtamiga transformatsiyasini o'rgandilar. 1953 yilda D.Uotson va F.Kriklar DNK strukturasi modelini yaratishgan bo'lsa, 1966 yilda M.Nirenberg, S.Ochao, X.Mattei va N.Koranalar genetik kod tripletlarini aniqlashdi va nuklein kislotalar metabolizmida ishtirok etadigan fermentlarni (*ligaza* va *restriktazalar*) ajratib olishdi.

1-jadval.

Yangi biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari

Kashf etilgan vaqti	Bajarilgan ishlar
1973 yil	Birinchi gen klonlangan
1974 yil	Birinchi bakteriya genlarini klonlash ekspressiyasi amalga oshirildi.
1975 yil	Birinchi gibridoma yaratilgan
1976 yil	Rekombinant DNK texnologiyasidan ishlab chiqarishda foydalanish boshlangan.
1980 yil	Gen muxandisli usullari yordamida olingan mikroorganizm shtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan.
1981 yil	Monoklonal antitella to'plamlaridan foydalanish mumkinligi to'g'risidagi qaror qabul qilingan. Birinchi marta genlarni avtomatik sintezatori sotuvga chiqarildi.
1982 yil	Tibbiyotda rekombinant DNK - insulini va hayvonlar uchun birinchi rekombinant DNK dan foydalanishga ruxsat berildi.

1983 yil	Birinchi marotaba gen ekspressiyasidan bir o'simlikdan boshqa turida foydalanish mumkinligi isbotlandi.
----------	---

Gen muhandisligining asosiy vujudga kelish davri 1973 yil deb hisoblash mumkin, chunki 1972 – 1973 yillarda P.Berg, G.Boyer, S.Koen va ularning hamkasblari birinchi rekombinant DNK ni yaratdilar. Bu SV40 virusining DNK fragmenti, λ bakteriofag va *E.coli*.ning laktoza opeonini tutgan rekombinant DNK edi. Bu kashfiyotdan 10 yil o'tib transgen o'simlik, keyinroq transgen sichqon va 20 yildan so'ng transgen qo'y olindi. Bugungi kunga kelib esa gen muhandisligi yo'li bilan hatto tug'ilajak bolani ota – onasining xohish istagiga ko'ra oldindan programmashtirish yo'llari yaratilgan. Masalan, Virdjiniya shtatida tug'ilgan Jessika Kollinz dunyoga kelmasdanoq mashhur bo'ldi, chunki u dunyoda birinchi ota – onasining buyurtmasi asosida jinsi tanlangan bola bo'ldi. Olimlar odamdagi barcha belgi xususiyatlarni genlar belgilab berishiga asoslanib oldindan tug'ilajak bolani buyurtma asosida unda ko'zi va sochining rangi, quloq, burun kabi azolarning tuzilishini hatto uning xulq – atvorini ham tanlash mumkinligini aytishmoqda.

Gen muhandisligi o'zida *in vitro* fundamintal aktiv genetik strukturalarni (rekombinant DNK) yoki bo'lmasa sun'iy yaratilgan genetik dasturlarni namoyon qiladi. E.S.Piruzyan fikricha gen muhandisligi – bu ekperimental tajribalar sistemasi bo'lib, laboratoriya sharoitida (probirkalarda) sun'iy genetik strukturalar, rekombinant yoki gibrid DNK molekulasini yaratish imkonini beradi. Gen muhandisligining asosiy tadqiqot obyekti DNK molekulasini bo'lib, unda tirik hujayraning tuzilishi va funksiyalari haqidagi irsiy axborotlar kodlangan bo'ladi.

DNK – komplementarlik qonuniyati asosida qurilgan qo'sh zanjirli polimer molekuladir. Komplementarlik birinchidan – molekulaning turg'unligini, ikkinchidan – qiz zanjirning sintezi vaqtida aniq qayta tiklanishini ta'minlaydi. DNK monomeri to'rt xil tipdagi nukleotidlardan tashkil topgan va ularning har biri uglevod – dezoksiriboza, fosfat kislota qoldig'i va azot asoslaridan tuzilgan. Nukleotidlar bir – birida azotli asoslari bilan farqlansa ularning o'zi ham purinli (*adenin va guanin*) va pirimidinli (*sitozin va timin*) azot asoslari bo'lishi bilan farqlanadi. RNK da timin o'rniga uratsil uchraydi.

DNK molekulasining o'lchami komplementar nukleotidlar juftligi bilan hisoblanib ularda nukleotidlar jufti bir necha milliontagacha bo'lishi mumkin. Odamning birinchi xromosoma DNK si 263 million nukleotid juftidan iborat.

Hujayrada sintezlanadigan har qanday oqsil haqidagi informatsiya genlarda saqlanadi, DNK ni esa shunday genlar yig'indisi deb qarash mumkin. DNK dagi genlarning aksariyat qismi oqsil sintezi uchun javobgar bo'lsa boshqalari ayrimlari molekulalarni (masalan, ribosomal RNK) sintezi uchun javobgar bo'ladi.

Ko'rinib turibdiki, gen muhandisligi asosida ma'lum bir maqsadga yo'naltirilgan sun'iy genetik sistemani organizmdan tashqarida yaratish va uni tirik organizmlarga kiritish yo'li bilan yangi organizmlar (yoki mavjudlarini

modifikatsiyalash) olish maqsadi yotadi. Bunda ma'lum bir genni maxsus fermentlar yordamida bir organizm DNK molekulasidan (donor DNK) kesib olib ikkinchi retsiptiyen organizmga kiritishni ko'zda tutadi. Genlarning bu tariqa ko'chirilishi **transgenoz**, ko'chirib o'tkazilgan yod gen tutgan DNK li organizm esa **transgenli** deyiladi.

Gen muhandisligining tadqiqot obyektlari viruslar, bakteriyalar, zamburug'lar, hayvonlar va o'simliklarning hujayralaridir. Bu tirik mavjudodlarning DNK molekulasi hujayraning boshqa moddalaridan tozalab olingandan keyin ular orasidagi moddiy farq yo'qoladi. Har qanday manbadan ajratib, tozalangan DNK molekulasi enzimlar vositasida spetsifik bo'laklarga parchalanishi va qaytadan bu bo'laklarni ulovchi enzim vositasida ehtiyozga mos ravishda ulanishi mumkin. Hozirgi zamon gen muhandisligi usullari vositasida probirkada har qanday DNK molekulasi bo'laklarini aynan ko'paytirish yoki DNK zanjiridagi xohlagan nukleotidni boshqasi bilan almashtirish mumkin.

Biotexnologik jarayonning mohiyatini belgilovchi asosiy bo'g'in hujayra hisoblanadi. Unda kerakli mahsulot sintezlanadi. Yu.A.Ovchinnikov aytganidek hujayra o'ziga xos kichkina kimyoviy zavod bo'lib, unumdorlikda, kelishilgan xolda ma'lum dastur asosida ishlaydi. Unda minutida yuzlab murakkab birikmalar, gigant biopolimerlar va birinchi novbatda oqsillar sintezlanadi.

Hozirgi biotexnologik ishlab chiqarishning asosi – bu mikrobiologik sintezdir, ya'ni har xil moddalarni mikroorganizmlar yordamida sintezlanishidir. Bunda o'simlik va hayvon obyektlari keng qo'llanilmaydi, chunki ularni o'stirish sharoitiga talabi yuqori, bu esa ishlab chiqarishni qimmatlashtiradi. Obyekt tabiatidan qat'iy nazar biotexnologik jarayonning boshlang'ich davrida hujayra va to'qimaning toza kulturasini olish zarur. Bu kulturalar bilan manipulyasiyalar bajarish mikrobiologiyaning klassik usullariga asoslangan. Mikroorganizmlar dunyosi xilma-xil bo'lib, ularga bakteriyalar, aktinomisetlar, rikkestiyalar – prokariotlar va achitqi, ipsimon zamburug'lar, sodda hayvonlar, suv o'tlari kabi eukariotlar kiradi. Hozirgi vaqtda 100 mingdan ortiq mikroorganizmlar turlari mavjud. Bu mikroorganizmlar ichidan bizni qiziqtiruvchi formalarni topish zarur. U yoki bu modda hosil qiluvchi mikroorganizmni qanday tanlash mumkin?

Bu masalani hal qilish uchun mikroorganizmlar tanlanib, ularning namunasi ular yashaydigan joydan olinadi. Masalan, uglevodorodlarni oksidlaydigan mikroorganizmlar benzokolonka yaqinidagi tuproqda, vino achitqisi uzumda ko'p uchraydi, anaerob sellyo'loza parchalovchi va metan hosil qiluvchi mikroorganizmlar kavsh qaytaruvchi hayvonlar qatqorinida uchraydi. Olingan namunalar maxsus tarkibli suyuq oziq muhitiga solinadi. Bunday muhit elektiv deb ataladi. Har qanday muhitdagi har xil faktorlar o'zgartirilib bizni qiziqtiruvchi produtsent rivojlanishi uchun sharoit yaratiladi. Bunday omillarga energiya,

uglevod, azot, pH qiymati, harorat osmatik bosim va boshqalarni kiritish mumkin.

Xolesterinoksidaza to'planishi uchun uglerodning eng birinchi manbai sifatida xolesterindan foydalaniladi. Uglevodorod oksidlovchi mikroorganizmlar uchun o'stirish muhiti sifatida parafin olinadi. Mikroorganizmlarni to'plovchi muhiti shunday olinadi. Keyingi bosqich toza kulturalar ajratish bo'lib, buning uchun qattiq oziq muhiti olinadi, unda to'plovchi muhitdan namunalar olinib ekiladi. Mikroorganizmlarning alohida hujayralari qattiq muhitda koloniyalar hosil qiladi. Bu koloniyalar qayta ekilib produtsentning toza kulturasi olinadi.

Sanoatda nisbatan kam, ya'ni 100 tur mikroorganizmlardan foydalanilib, ularga bir necha ming shtammlar kiradi. L.I.Vorobyeva (1987y) fikricha sanoat shtammlari qo'yidagi talabarga javob berishi kerak.

- arzon va ko'p miqdorda bo'lgan substratlarda o'sishi;
- biomassa o'sish tezligi yuqori bo'lishi va oxirgi mahsulot paydo qilishi yuqori bo'lib, oziq substratni oz istimol qilishi;
- chet mahsulotlar hosil bo'lishi minimal bo'lib, yo'llanma biosintetik faollik nomoyon etishi;
- genetik bir jinsli bo'lishi, mahsuldorligi turg'un va oziq substratiga talabi, o'stirishga talabi turg'un bo'lishi;
- fag va boshqa yot mikrofloragi chidamli bo'lishi;
- odam va tashqi muhit uchun zararsiz bo'lishi;
- produtsentlar termofil bo'lishi kerak, chunki bunda substratning yot mikroflora bilan ifloslanishi sodir bo'lmaydi;
- biosintezning oxirgi mahsuloti iqtisodiy va xalq xo'jaligi uchun muhim bo'lishi va substratdan oson ajralishi zarur;
- tez o'sish qobiliyatiga ega bo'lishi;
- o'z hayot faoliyatida arzon substratlardan foydalanishi;
- yot mikroflora bilan zararlanishga chidamli bo'lishi zarur;

Bular hammasi mahsulot tan narxini tushiradi. 500 kg massaga ega bo'lgan sigir 1-sutkada 0,5 kg oqsil sintezlasa, xuddi shuncha oqsilni 5 gr massaga ega bo'lgan achitqidan olish mumkin. Fotosintezlovchi mikroorganizmlar biotexnologik ishlab chiqarishda katta qiziqish tug'dirib kelmoqdaki, ular o'z hayot faoliyatida yorug'lik energiyasidan foydalanadi va uglekislota qaytarilishi natijasida hujayraning har xil moddalarini sintezlaydi. Sianobakteriyalar va eukariotlar atmosfera havosini o'zlashtirish, ya'ni energiyaning eng arzon manbaidan, foydalanadi. Fototrof

mikroorganizmlar ammiak, vodorod, oqsil va har xil biopreparatlar ishlab chiqarishda perspektiv hisoblanadi.

Biotexnologiyada optimal obyekt bo'lib termofil mikroorganizmlar xizmat qiladi, chunki ular 60-80 C da , ba'zilar 180 Cda, dengizlar ostidagi suvlarda esa atmosfera bosimi ostida 300 C da mikroorganizmlar kislorod produtsentlari hisoblanishi aniqlangan. Termofillarni ishlab chiqarishda qo'llash sterilizatsiyada sarflanadigan xorajatlarni kamaytiradi, bundan tashqari ulardan olingan fermentlar masalan proteozalar qizdirishga va organik erituvchilarga chidamli bo'ladi. Obyektni ajratish va tanlash biotexnologik jarayonning muhim davri hisoblanib, undan keyingi bosqichlarda seleksion usullari yordamida produtsent organizmlar ma'lum yo'nalishda o'zgartiriladi. Seleksiya bu mutantlarni ma'lum maqsadlar uchun tanlash, ya'ni DNKning nukleotidlar tartibida saqlash yo'li bilan strukturali modifikatsiya natijasida sodir bo'lgan irsiy o'zgarishdir. Seleksiyaning bosh yo'li produtsentlarni ko'r-ko'rona tanlashdan ma'lum programma asosida ularning genomini konstruksiyalash. Spontan mutatsiyalarni tanlash mikroorganizmlarni har xil texnologik jarayonlarda qo'llashda muhim rol o'ynadi. DNK strukturasining o'zgarishi juda kam uchraydi. Mutatsiya sodir bo'lishi uchun gen o'rtacha 10^{10} marta ikkilanishi ya'ni, reduplikatsiyalanishi zarur. Mikroorganizmlar populyatsiyasi juda zich bo'lib 1 ml da 10 ta hujayra bo'lishi mumkin. Agar ular bir necha avlod ko'paytirilsa va katta xajimda o'stirilsa ancha ko'p mutatsiyalar olish imkonini beradi.

8-MA'RUZA

Mavzu: Vektor molekulalar: plazmidalar, λ - bakteriofagiga asoslangan vektorlar, kosmidalar. Rekombinant molekulali klonlarni identifikatsiyalash usullari. Mikroorganizmlarda yot genlarning ekspressiyasi

Reja:

1. Vektor tushunchasining mazmuni va uning xillari;
2. Vektor molekulalar yordamida genlar bankini yaratish.

Tarkibida qo'shimcha irsiy axborotlar to'tuvchi rekombinant DNK molekulalarini hujayralarga kiritish va uning barqarorligini saqlash gen muhandisligining asosiy kalit operatsiyasi hisoblanadi. Buni amalga oshirish uchun vektor molekulalardan foydalaniladi. Agar DNK shundayligicha hujayraga kiritilsa, bakteriya hujayralaridagi fermentlar ularni nukleotidlarga parchalab tashlaydi. Ba'zi hollarda DNK hujayraga kirib o'rnamishi mumkin, lekin hujayraning bo'linishi jarayonida u nasldan-naslga berilmay yo'qolib ketadi. Rekombinant DNK hujayraning genetik apparatini 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 transfer-matsiyasini (boshqa organizmga ko'chishini) ta'minlovchi DNK molekulasini *vektor* deb ataladi. Vektor hujayraga qo'shimcha irsiy axbo-rot 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 soni (amplifikatsiyasi) ni 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 (BAC va YAC) sun'iy vektorlaridan foydalaniladi.
2. Ekspression vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligini aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Shuningdek, sutemizuvchilar, o'simliklar va achitqi hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan. Eukariot organizmlar uchun ko'p lonli ekspression tizimlar yaratilgan ekspression vektorlar poliade-nillanish sayti va mazkur organizmda ishlash qobiliyatiga ega promotordan iborat ekspression kasseta tutadi.
3. Transformatsiya uchun vektorlar. Bu vektorlardan retsipient gcnomiga 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. Hozirgi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan holda (ekspression, klonlash uchun, transformatsiya uchun vektorlar) gen muhandisligi 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 chidamliik genidan foydalaniladi. Bu genlarning oqsil mahsuloti-fermentlar antibiotiklarni modiflkatsiyalaydi va ularning ta'sirini inaktivlashtiradi (kuchsizlantiradi). Masalan, nptll geni kanamitsin antibiotigini inaktivlashtiruvchi neomitsin fosfotransferaza genini kodirlaydi. Hakteriya hujayrasi nptll geni ishtirokida kanamitsinga nisbatan chidamliik hosil qiladi va shu antibiotik oziqa muhitlarida o'sib, klon va lujayralar koloniyasini hosil qiladi. Odatda tarkibida nptll geni bo'lmagan hujayralar bunday oziqa muhitlarida o'sa olmaydi va nobud bo'ladi. Demak, vektor konstruksiya tarkibida nptll genini tutishi vektor ishtirok etayotgan hujayralarni aniqlash va ularni tanlab olish imkonini beradi.

Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidalar va o'simliklarni xloroplast hamda mitoxondrial DNK lari o'tashi mumkin.

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

DNK va vektor molekulalar restriktaza fermenti yordamida qirqiladi va ma'lum sharoitda reassotsiatsiya qilinadi. Nukleotidlar orasida ulanmay qolgan bo'shliq DNK-ligaza fermenti yordamida o'zaro biriktiriladi. Olingan rekombinant DNK bakteriya hujayrasiga transformatsiya qilinadi. Xromosomal DNK da mavjud genlarni to'la klonlash uchun DNK o'lchamiga va olingan klonlarni soniga e'tibor berish kerak.

Genlarni klonlashda ko'pincha kDNK bibliotekasini tuzish maqsadga muvofiqdir. Bu holda maxsus poli (Y) va oligo (dT) kolonkalari yordamida uchlarida poli (A) nukleotidlar ketma-ketligini saqlovchi iRNK tRNK va pRNK dan ajratib olinadi. Olingan iRNK molekulasi oligo (dT) nukleotidlari bilan aralashtirilib reassotsiatsiya qilinadi. Bunda iRNK molekulasining poli (A) uchida dA-dT qo'sh zanjirli segment hosil bo'ladi. Ushbu ikki zanjirli segmentning oligo (dT) uchi kDNK sintezini amalga oshiruvchi revertaza fermenti uchun praymer (kDNK sintezining boshlanish nuqtasi) vazifasini o'taydi.

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

Hosil bo'lgan qisqa ikki zanjirli struktura kDNK ning ikkinchi zanjirini sintez qilishda praymer vazifasini o'taydi. DNK-polimeraza I fermenti yordamida kDNK ning ikkinchi zanjiri sintez qilinadi. Hosil bo'lgan kDNK ning bir zanjirli qismi SI-nukleaza fermenti yordamida parchalanadi va ikki

zanjirli kDNK molekulasi hosil bo'ladi. Shu yusinda hosil bo'lgan kDNK molekulasi vektor molekulalariga ulangan holda klonlanadi.

Har ikki usul bilan yaratilgan genom bibliotekasidan individual genlarni ajratib olish quyidagicha amalga oshiriladi - rekombinant plazmida denaturatsiya qilinadi (100°C haroratda 5 min., 0,2 N NaOH eritmasida 15 min.) bir zanjirli DNK molekulasi stabil qo'zg'almaydigan holatda turishi uchun nitrotsellyuloza filtriga biriktiriladi. Olingan filtr [$g^{-32}P$] ATF nukleotidi bilan nishonlangan iRNK molekulasi bilan gibridizatsiya qilinadi.

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

Hosil bo'lgan gibrid DNK molekulasi denaturatsiya qilinib nishonlangan iRNK molekulasi ajratib olinadi (elyusiya yordamida). Olingan iRNK molekulasi hujayrasiz oqsil sintez qilish tizimida tekshirib kuriladi. Hosil bo'lgan oqsil molekulasi identifikatsiya qilish yo'li bilan individual genlarni ajratib olish amalga oshiriladi.

9-MA`RUZA

Mavzu: Gen injenerligi fermentlari: revertazalar, restriktazalar, ligazalar, DNKazalar, RNKazalar

Reja:

1. Restriktazalar;
2. Gen injenerligining boshqa fermentlari.

Gen muhandisligida qo'llaniladigan qariyb barcha fermentlar bakteriyalar hujayrasidan ajratib olinadi va prokariot hamda eukariotlar hujayrasidagi DNK lar ustida "qirqish" yoki "tikish" kabi ishlar bajariladi.

Rekombinant DNK konstruksiyasini yaratishda qo'llaniladigan fermentlar bir necha guruhga ajratiladi:

- DNK ni fragmentlarga bo'luvchi fermentlar (restriktazalar);
- DNK ni ona DNK dan (DNK – polimerazalar) yoki RNK dan (Teskari transkriptazalar, revertazalar) sintezlovchi fermentlar;
- DNK fragmentlarini biriktiruvchi (ligazalar) fermentlar;
- DNK fragmenti oxirlarini o'zgartiruvchi fermentlar.

Restriktazalar (restriksion endonukleazalar) – yordamida DNK molekulasi fragmentlarga ajratiladi. Bu fermentlar yuqori speksifiglikka ega bo'lib, DNK

molekulasidagi azotli asoslar izchilligini (**restriksion saytlar**) tanib kesadi. Gen muhandisligida restriktazalarni donor DNK dan kerakli uchastkalarni qirqib olishda ishlatiladi.

Restriktazalar asosan bakteriyalardan lekin, ayrimlari achitqi va bir hujayrali suvo'tlardan ham ajratib olinadi. Restriktazalarning nomenklakutasi 1973 yilda S.Simit va D.Natanslar tomonidan taklif etilgan.

E.coli ning alohida shtammi DNK si boshqa shtammi hujayrasi (masalan, B shtammi DNKsi C shtammi hujayrasi) ga kiritilganda, odatda, genetik faollik ko'rsata olmaydi, chunki u maxsus fermentlar-restriktazalar bilan tezda bo'laklarga bo'lib yuboriladi. Bu hodisa 1953-yilda aniqlangan edi. Hozirgi kunda turli xil mikroorganizmlardan mingdan ortiq har xil restriktazalar ajratib olingan bo'lib, gen muhandisligida 200 dan ortiq turi keng qo'llanilmoqda. Shunday qilib, bir turdagi restriktaza ta'sirida bitta va aynan o'sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi fragmentlar yig'indisini hosil qiladi. Restriktazala nomlanishida ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olish mumkin. Masalan, *Escherichia coli*-*EcoRI*, *EcoRV*, *Haemophilus influenzae* - *Hinf I*, *Streptomyces albus* - *Sal I*, *Thermus aquaticus* - *Taq I*.

Restriktaza fermentlarining tabiiy funksiyasi bakteriyani yod DNK molekulasidan himoya qilish (avalam bor hujayra ichiga kirib unda transformatsiya chaqiruvchi bakteriofag DNK sidan) hisoblanadi. Ular fag DNK sini bo'laklarga ajratib uni ko'payishini chegarab turadi. Barteriyaning shaxsiy DNK si DNK – metilaza fermenti bilan metillangan (modifikatsiyalangan) bo'lganligidan restriktazalar unga ta'sir etmaydi.

1-jadval.

Gen muxandisligida qo'llaniladigan ba'zi bir restriktazalar tavsifi

Restriktazalar	Restriktaza olingan mikroorganizmlar	Restriktazalarning “aniqlaydigan” va kesadigan oxirgi uchlari
Eco RI	Escherichia coli RI	-G-A-A-T-T-C- -C-T-T-A-A-G-
Hind III	Haemophilus influenza	-A-A-G-C-T-T- -T-T-C-G-A-A-
Sal I	Streptomyces albus	-G-T-C-G-A-C- -C-A-G-C-T-G-

Bam I	Bacillus amyloliquefaciens	-G-G-A-T-C-C- -C-C-T-A-G-G-
Hpa II	Haemophilus parainfluenzae	-C-C-G-G- -G-G-C-C-
Alu I	Arthrobacter luteus	-A-G-C-T- -T-C-G-T-
Haem III	Haemophilus aegyptius	-G-G-C-C- -C-C-G-G-
Sma	Serratia marcescens SD	-C-C-C-G-G-G- -G-G-G-C-C-C-

Restriktazalar DNK nukleotidlarini tanib qirqishiga ko'ra to'mtoq (simmetrik) va yopishqoq (nosimmetrik) uchlar hosil qiladigan turlarga bo'linadi. To'mtoq uchlar hosil qilib kesuvchi restriktazalar bakterilarga nisbatan yod DNK larga (patogen bakteriofaglar DNK sidan himoyalanişda) nisbatan ta'sir etsa, yopishqoq uch hosil qiluvchilar bir turdagi bakteriyalarda o'zaro almashinib (plazmidlar va ko'chib yuruvchi genetik elementlar) yuruvchi DNK ga ta'sir etadi. Yopishqoq uchlar hosil qilib qirquvchi restriktazalar ham o'z navbatida yopishqoq uchlardagi nukleotidlar soniga ko'ra (to'rttadan sakkiztagacha nukleotidlar orasidan) bir biridan farqlanadi. Ularning ichida to'rtta nukleotidlar orasidan kesuvchi restriktazalar gen muhandisligida eng ko'p qo'llaniladi. Hozirgi kunda 150 dan ko'proq restriksion saytlarni tanib kesuvchi 2000 dan ortiq restritaza fermentlari ajratib olingan.

DNK – polimeraza va teskari transkriptazalar. DNK – polimerazalar DNK ni ona DNK dan sintezlovchi fermentlar bo'lib, birinchi marotaba *E.coli* hujayrasidan 1958 yilda A.Kornberg va uning hamkasblari tomonidan DNK – polimeraza I ajratib olingan. Bu ferment malekulyar og'irligi 110 mingga teng bitta polipeptid zanjindan tuzilgan, u polimerizatsiyalanish reaksiyalarini katalizlaydi. Gen muhandisligida keng qo'llaniladigan fermentlardan biri *Ecoli* ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimerazasi I hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukleotidlarni biriktirish yo'li bilan DNK zanjirini 5' -3' yo'nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjirni hosil qilishda qo'llaniladi (bir zanjirli matritsa — DNK siga qo'shilganda praymer ishtirokida ikki hissa ortishi kuzatiladi). Bu xususiyat DNK-bibliotekalarini tuzishda, DNK zanjiridagi «bo'shliq» larni to'ldirishda va DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo'lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo'llaniladi. Tabiiy holdagi DNK – polimerazalar DNK reparatsiyasida (DNK ning shikastlangan qismlarini qayta tiklash) ham muhim rol o'ynaydi. Bundan tashqari maxsus termostabil DNK polimerazalar Tth va Taq -

polimerazalar issiq suv chiqadigan buloqlar (geyzerlar) da yashovchi bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, *polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR)* usuli yordamida DNKning istalgan bo'lagi ustida ko'plab ishlarni amalga oshirish imkonini berdi. PZR usuli asosida Taq - polimeraza yotadi, u gen muhandisligining eski usullarini nafaqat soddalashtirish, balki alohida genlarni va yaxlit genomni ham molekular nishonlashni amalga oshirishga sharoit yaratadi.

RNK ga bog'liq DNK – polimerazalar ya'ni **revertazalar** bu komplimentar DNK zanjirini mRNK dan sintezlovchi fermentlar bo'lib, birinchi marta 1970 yilda G.Temin va S.Mizutalar tomonidan o'sma viruslaridan ajratib olishgan. Revertaza yordamida sitezlangan qo'sh zanjirli *komplimentar DNK* (kDNK) molekulasini vektorlarga kiritib gibrid DNK lar shaklida ko'paytirish yo'li bilan keyingi tadqiqotlarda foydalanish mumkin. *kDNK* genlarining tuzilishini o'rganish bu genlarning genomdagi to'liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

Ligazalar – DNK fragmentlarining 3' va 5' oxirlarini fosfodiefir bog'lari hosilqilib tikuvchi fermentlar hisoblanadi. Bu jarayon **ligirlash** deb ataladi. Gen muhandisligida ko'pincha ligirlash uchun T4 faginging DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo'lagini «yopishqoq uchli» yoki «to'mtoq uchli» qismlari biriktiriladi. Bu eng ko'p qo'llaniladigan fermentlardan biridir.

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

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

Bundan tashqari, nukleazalarni ikki tipga: ekzonukleazalar va endonukleazalarga bo'lish mumkin. Ekzonukleazalar, odatda, molekulalarni 5' yoki 3' erkin uchlaridan boshlab gidrolizlasa, endonukleazalar DNK molekulasi bo'lagi yoki halqasimon DNK molekulasining ichki ketma – ketliklaridan boshlab

parchalaydi. Nukleaza *Bal 31* – bu ferment DNK dagi nukleotidlar izchilligini nospeksifik parchalash xususiyatiga ega. U nosimmetrik (yopishqoq uchli) DNK fragmentlarida “to’mtiq” uchlar hosil qilishda yoki DNK fragmentlarini qisqartirib funksional ahamiyatli qismlarni bir – biriga yaqinlashtirishda ishtirok etadi.

10-MA`RUZA

Mavzu: O`simliklar gen muhandisligi.

Reja:

1. Gen injenerligi asosida transgenli o`simliklar olish.
2. Kasallik va zararkunandalarga bardoshli ekin navlarini olish.
3. Fotosintez va gen injenerligi

O`simliklar yer yuzasida dastlabki organizmlar hayot manbai bo`lib, quyosh energiyasidan okilona foydalanadi. K.A.Timiryazov o`simliklari kosmik ta`rifini bergan. Yer yuzasiga barcha energiya ishlab chiqaruvchi stansiyalar yiliga 9×10^{12} kVt.s., o`simliklarda esa yiliga  $1,7 \times 10^{18}$  kkal  $2 \times 10^{15}$  kVt.s quyosh energiyasini oladi. Kishilar issiqlik, suv, atom elektrostansiyalari kurib foydalansa, tabiat – 90 A keladigan xlorofill molekulalarini yaratgan. Shulardan anglash mumkinki o`simliklarni molekulyar darajada o`rganish, hujayra texnologiyasi, gen injenerligini yo`lga quyilishi ulkan muammolarni hal qilish mumkin.

O`simliklarda genlarni ko`chirish (transgenoz) tabiatda mavjud holatdir. Genlarni ko`chib yurishini viruslar, bakteriyalar ta`minlaydi. O`simliklarni poya, ildiz qismlarida zararlangan to`qimalarda Agrobakterikum tumefatsiyens tufayli o`sma (shishi) hosil bo`ladi. Bu xromosamaning bakterial tipi Ti plazmida tufayli yuz beradi. U bakteriya va o`simlik hujayra kabi ko`payishi kobiliyatiga ega va o`simlik genomi tarkibiga qo`shilib ketadi.

Ti plazmida tarkibida regulyatorlik xossasi bilan birga opin moddalarni sintez qiluvchi genlari, fitogarmonlar (Auksin, sitokinin) ni sintez qiluvchi genlar plazmida DNK sida kodlashgan.

Plazmida hujayralarni sun`iy muhitda o`stirishda ularga regulyatorlar kerak bo`lmaydi.

Shunday qilib, Ti-plazmida tabiatan genlarni bakteriyadan o`simliklarga ko`chiruvchi vektor hisoblanadi. Shu plazmida asosida vektorli sistemalar konstruksiyasi (tuzilmasi) ishlab chiqilgan. U turli genlarni ko`chirishga moslashtirilgan.

Istiqbolli vektorlardan biri – Agrobakterikum rizogenens asosida maxsus genetik tuzilma bo`lib, M.F.Shmyakin shogirdlari bilan turli xil organizmga xos genlar tarkibida hosil qilgan. Ushbu tuzilma in`eksiya yo`li bilan o`simlik shonachasiga yuborish yo`li bilan transgenli g`o`za navlari olingan (A.P.Ibragimov). O`simlik genlarni ko`chirishining yana bir usuli o`simlik to`qimalarini inkubatsiya qilishdir. Lekin genlarni to`g`ridan – to`g`ri ko`chirish usuli ham bor. Galla

o'simliklarida transgenli shakllarni olishni makbul yo'li protoplastlarni qo'shish va shu asosda regeneratsiya qilib fertil o'simlik olishdir.

1984 yil D.Senford., Ye Valf va N.Allen Kornel universitetida AQShda) genlarni ko'chirishni yangi usulini – biolistika (biologik ballastika) usulini ishlab chikdi.

Maxsus vakumli qurilmada volfram mikro qismlari (4 mkm) bilan tamaki mozaika RNK virusi o'simlik to'qimalarini buzib, hujayra ichiga volfram qismlari bilan kirib virus bo'laklari ko'paya boradi.

AQShda ushbu usulda fertilli soya o'simligi olingan. Biolistika yo'li bilan makkajo'xori changdonlarini transformatsiya qilish fertill transgenli makkajo'xori olingan. Ushbu usulni afzalligi transgenoz agrobakteriosiz amalga oshirilib, kallus to'qimalarni hosil kiish, ulardan regenerant olish shart emas.

Shunga qaramasdan transgenli formalar ko'proq Ti plazmada orqali olingan. Yaqinda AQShning bir firmasiga Yevropa patent byurosi tamonidan genlarni ko'chirish bo'yicha birinchi patent berilgan. Avstraliyada gen injenerligi yo'li bilan yo'ng'ichka o'simligi olingan, uni qorako'l qo'ylari iste'mol qilganda junlarni o'sishi tezlashar ekan. Yo'ng'ichka DNK siga goroxning oltingugurt saqllovchi oqsil molekulalarini sintez qiluvchi genlarini kodlashtirish amalga oshirilgan. Bu tufayli yiliga jun ishlab chiqarish 5% ga oshirilgan. Ushbu genlar sebarga o'simligiga o'tkazish bo'yicha tadqiqotlar olib borilmoqda. G'alla ekinlari don oqsil tarkibidagi lizin treonin moddalarini ko'paytirishi asosiy mummolardan hisoblanadi. Ushbu muammoni hal qilishda genlarni kimyoviy sintez yo'li bilan almashtirib bo'lmaydigan aminokislotalarni saklovchi polipeptidlarni hosil qilish. K.Djeyns shogirdlari bilan 80% almashtirib bo'lmaydigan aminokislotalarni kodlashtiruvchi DNK fragmentini sintezlashga erishgan. Agrobakteriya vektori yordami bilan tamaki o'simligiga ushbu gen yuborilgan. Regeniratsiya tufayli o'simlikda sun'iy oqsil moddalarini ko'pligi qayd qilingan.

O'simliklarda shirin ta'm beruvchi tamutin oqsil saklovchi va uni kodlovchi genlar yordamida mevalarni iste'mol sifatini oshirish mumkin. AQShda pomidor rezavor mevalarni uzoq saqlanishini belgilovchi poligalakturozoza fermenti faoliyatining kamaytirish yo'li bilan amalga oshirilgan. Agrobakteriya yordamida gen tuzilmasini o'zgartirib poligalokturozoza fermenti kamaytirilgan. Bu pomidor mevalarni ham xomida terib olishni va tez pishirish uchun etilen bila ishlashni oldini oladi.

O'simliklarda virusli kasalliklarga bardoshli navlar olish yo'lga qo'yilmoqda. I.T.Atabekov v K.T.Skryabin tamaki «X» – virusi genini kartoshkaga o'tkazib shu virusga bardoshli xususiyat hosil qilingan.

AQShda «Monsanto» firmasi pomidor o'simligiga tamaki moziaka viruslarini saqllovchi genlarini o'tkazib, shu virusga bardoshli xususiyat hosil qilgan.

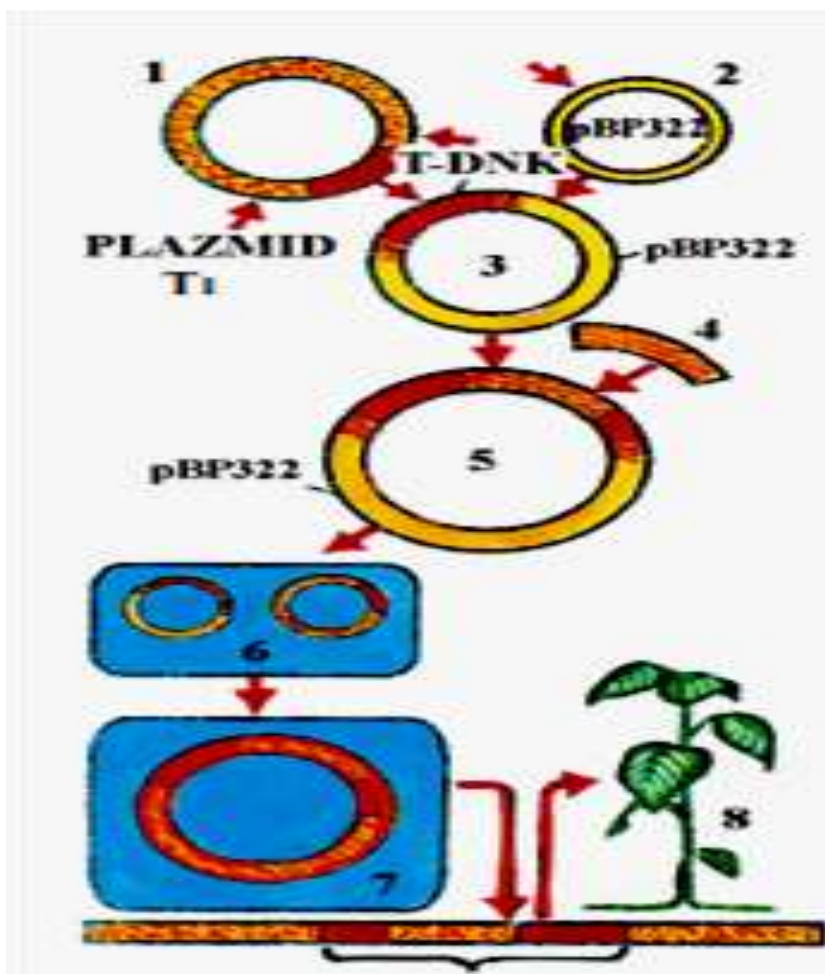
Zararkunandalarga bardoshli o'simliklar olishda qishloq xo'jalik ekinlari navlari zararkunandalari asosida olinadi. Basillus turingensis bakteriyasi mavjud

bo‘lib, u o‘ziga xos oqsil sintezlaydi, qaysiki hashorat oziqlanganda uni halokatga olib keladi.

Ushbu bakteriya asosida hashoratga bardoshli AQShda g‘o‘za, tamaki, pomidor navlari olingan. Xitoyda qishloq xo‘jalik akademiyasining biotexnologiya markazida entomotsid geni *Bacillus thuringiensis* bakteriyasidan genlarni ko‘chirish asosida transgenli sholi, karam o‘simliklari olingan.

O‘simliklar kuyosh energiyasidan kelayotgan yorug‘lik to‘lqinini 3 – 4 % gacha qismini o‘zlashtiradi. Fotosintez jarayonini tezlashtirib o‘simlik mahsuldorligini oshirish mumkin. Ma’lumki, ikki guruh o‘simliklar bor. Ular CO_2 uglevodlar (C_3) birikma va tur uglerod (C_4) birikma hosil qiladi. C_4 guruhiga oid o‘simliklar (mak-kajo‘xori, jo‘xori, lavlagi va tropik o‘simliklar) da C_3 guruhiga oid o‘simliklarga (g‘alla ekinlari) nisbatan bir barobar fotosintez faolligi yuqoridir.

Fotosintez jarayonining oshirishning asosiy yo‘li RBK fotosintez fermentini faolligini oshirishdir. RBK fermenti faolligi C_4 guruhda C_3 guruhidagi o‘simliklarga nisbatan 60 marta yuqoridir. Lekin S_3 guruhidagi ba’zi ekinlarda (kungaboqar) fotosintez RBK fermenti faolligi makkajo‘xoridan qolishmaydi. Shu sababli kungaboqarda RBK fermentini boshqaradigan genlarni C_3 guruhidagi boshqa o‘simliklarga o‘tkazish lozimligi ehtimoldan yiroq emas.



Agrobakteriyadan olingan Ti-plazmid (1) unikal restriksion saytli plazmid (2) bilan biriktirilib vektor konstruksiya (3) yaratadi. Vektor konstruksiyaning T-DNK qismiga begona gen (4) rekombinatsiyalanadi va shish hosil qila olmaydigan Ti plazmid asosida vektor (5) olinadi. Bu vektor TDNK qismi deb tashlangan Ti-plazmidli maxsus agrobakteriyaga shtammiga kiritiladi (6). Yaratilgan rekombinat agrobakteriya o'simlik protoplast bilan birga sun'iy sharoitda o'stirilganda (7) vektor (8) o'simlik genomiga rekombinatsiya bo'ladi.

10-MA`RUZA

Mavzu: Bakteriyalarda konyugasiya va plazmidalar. Faglar va transduksiya. Transpozonlardan foydalanish. IS - elementlar. Transformasiya.

Reja:

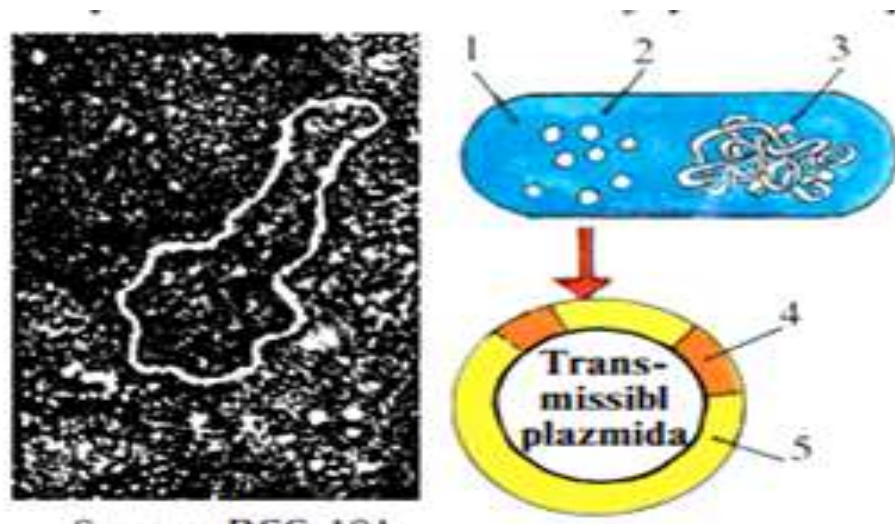
1. Plazmidlar va ularning xillari;
2. Faglar va transduksiya.
3. Transpozonlar va IS elementlar.
4. Transformatsiya.

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

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

Birinchisi transpozon yoki bakteriofag irsiy molekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasining maxsus DNK izchilligini kesib, rekombinatsiya bo'la oladigan plazmidlar.

Bunday rekombinatsiyalanuvchi plazmidlar transmissibl, ya'ni nasldan-naslga o'tuvchi plazmidlar deb ataladi.

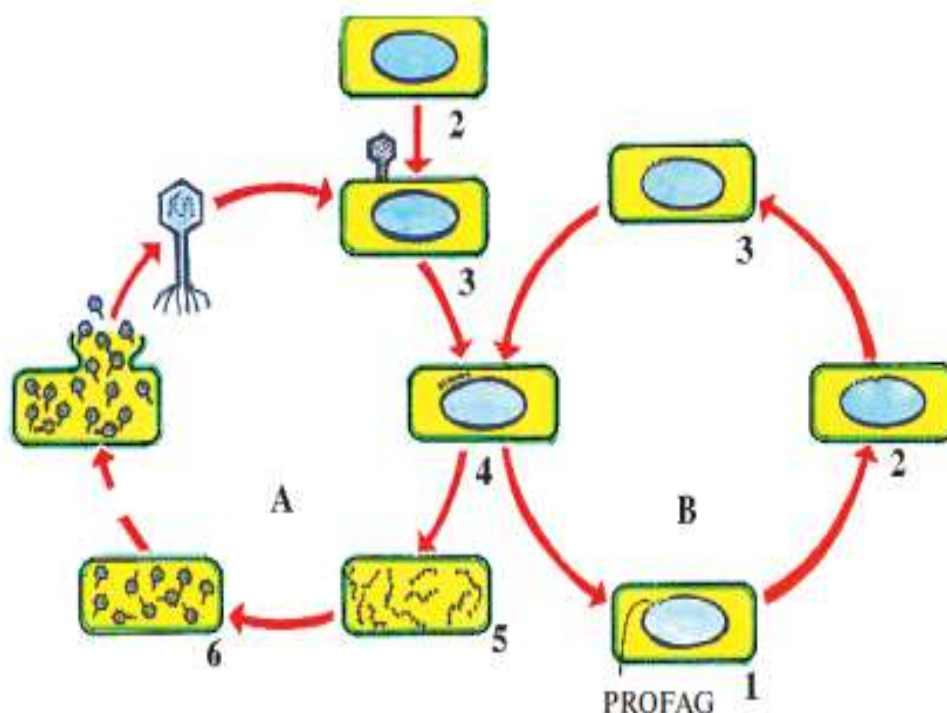


1-rasm. Plazmidlarning ko`rinishi

Transmissibl plazmid asosiy xromosomaga birikkandan keyin o'z mustaqilligini yo'qotadi. Asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikasiya qila olmaydi. Ayni paytda bunday plazmidlarda joylashagan genlar asosiy xromosomada o'z faoliyatini bajaradi. Hujayra bo'linganda rekombinatsiyalanuvchi plazmid genlari asosiy xromosoma genlari birikkan holda nasldan-naslga beriladi. Ikkinchi toifa plazmidlar avtonom holda replikasiyalanuvchi plazmidlar deb ataladi. Bunday plazmidlar asosiy xromosomaga birika olmaydi, asosiy xromosomalardan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikasiya yo'li bilan o'nlab va hatto yuzlab marta ko'payтира oladi. Avtonom plazmidlar bakteriya yoki zamburug' bo'linganda qiz hujayralar orasida tasodifiy ravishda taqsimlanadi. SHu bilan birga avtonom plazmid bir hujayradan ikkinchisiga hujayra qobig'i va membranasining teshiklaridan o'ta oladi.

Transduksiya – ma'lum sharoitda maxsus tuzilishga ega bo'lgan bakteriofag DNK bo'lagining bakteriya xromosomasiga birikishi va undan ajralib chiqish jarayonida bakteriya xromosomasining bir bo'lagini o'ziga biriktirib olib chiqish jarayoni.

DNK irsiyatning moddiy asosi ekanligi ikkinchi marotaba 1952 yili A.Xersh va M.Cheyz bakteriofaglar ustida o'tkazgan tajribasida isbotlandi. Ular N.Zinder, Dj.Lederblar bilan bir vaqtda transduksiya hodisasini kashf etdilar. Transduksiya atamasi ostida DNK molekulasini bir bakteriyadan ikkinchi bakteriyaga bakteriofaglar yordamida o'tkazilishi tushuniladi.



2-rasm. Faglarning hayot sikli

Mazkur tajribaga qadar bakteriofaglar bakteriya tanasiga kirganda ularning hujayrasida ko'payib bakteriyalar yorilib o'lishi va natijada bakteriofagalar bilan zararlangan bakteriya koloniyasi lizis bo'lishi ma'lum edi. Bu jarayon faglarning litik reaksiyasi deb ataladi. Ayrim hollarda fag bilan zararlangan bakteriya hujayralarining ba'zilar ofatdan qutilib qolishi mumkin. Buning asl sababi bakteriya tanasiga tushgan fagning irsiy molekulasi bakteriya xromosomasining maxsus nukleotidlari izchilligini kesib, unga birikishi va faol holatdan ko'paya olmaydigan ya'ni bakteriyani lizis qila olmaydigan nofaol - profag holatga o'tishi bo'lgan. Ofatdan qutilgan bakteriya lizogen bakteriya, bu jarayon esa lizogen reaksiyasi deb nomlanadi. Ayrim holatlarda o'z-o'zidan yoki fizik-kimyoviy omillar ta'siri tufayli bakteriya xromosomasidagi fag irsiy molekulasi ajralishi va boshqa bakteriyalarni zararlantirishi, o'ldirishi yoki bakteriya xromosomasi bilan birikib profag holatga o'tishi mumkin. Binobarin, transduksiya hodisasi ham organizmlar irsiyatini moddiy asosi DNK ekanligidan dalolat beradi.

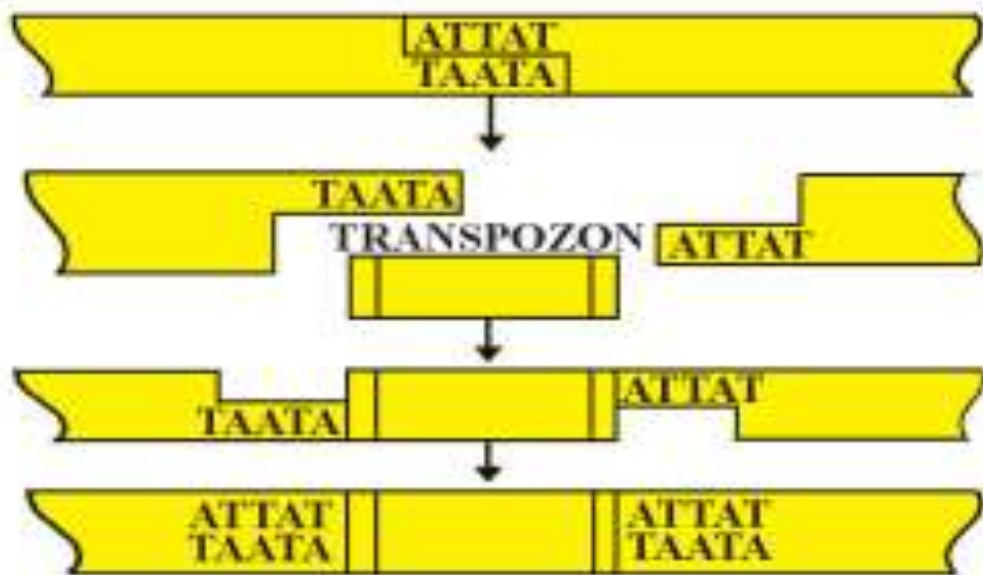
Irsiyatning moddiy asosi DNK ekanligani isbotlovchi yana bir misol bakteriyalarning kon'yugatsiyasidir. Bakteriyalar odatda jinssiz – bo'linish yo'li bilan ko'payadilar. Lekin ularda "jinsiy" ko'payish – bakteriyalar kon'yugatsiyasi ham sodir bo'ladi. Kon'yugatsiya paytida bakteriyalar ayrim qismlari bilan yaqinlashib, ikki bakteriya yadrosi orasida sitoplazmatik ko'prik hosil bo'ladi va u orqali donor bakteriya xromosomasining ayrim bo'lagi retsepiyent bakteriya tanasiga o'tadi va natijada retsepiyent bakteriya fenotipda donor bakteriya xossasini o'zida namoyon etadi.

Transpozonlarning kashf etilishi genetik muxandislikning rivojlanishida muhim ahamiyatga ega bo'ldi.

Ko'chib yuruvchi genetik elementlar-transpozonlarni o'simlik organizmida AQSH olimasi Barbara Mak Klinton, mikroorganizmlarda AQSH olimi Axmad Buxoriy va xasharotlarda Rossiya olimi Georgiy Georgiev kashf etgan.

Ko'chib yuruvchi genetik elementlar ayni vaqtda transpozitsion elementlar yoki transpozonlar deb ham ataladi. Transpozonlar xilma-xil strukturaga ega bo'lsalar-da, barcha transpozon molekulalarining ikki chetida maxsus nukleotidlar izchilligi, markaziy qismda esa DNK molekulasining belgilangan joyida "yopishqoq" uchlar hosil qilib notekis kesuvchi transpozaza fermentini sintez qiluvchi gen mavjuddir.

Transpozaza fermenti hujayradagi DNK molekulasini " yopishqoq" uchlar hosil qilib kesadi va ayni paytda transpozon uchlariga qovushtiradi. Hosil bo'lgan xromosoma DNKsi va transpozon DNKsidan iborat qovushma hujayra DNK bo'laklarini bog'lovchi ferment ligaza ta'sirida o'zaro bog'lanadi. Transpozonlarning hujayra DNKsiga integratsiyasi quyidagicha amalga oshadi.



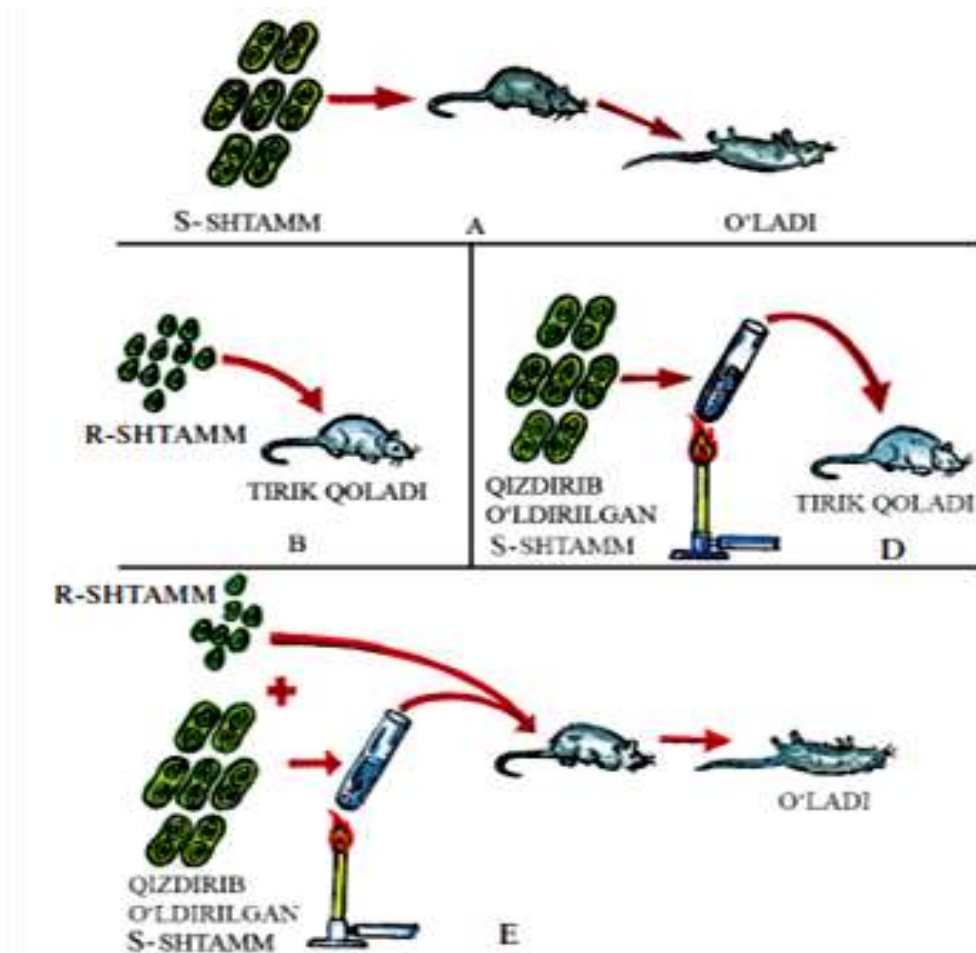
3-rasm. Traspozonlarning tuzilishi

Transformatsiya – ma'lum sharoitda bir organizm irsiy molekulasi har qanday bo'lagining ikkinchi organizm irsiy molekulasi tarkibiga birikish hodisasidir. Bu yo'l bilan organizm irsiylantiriladi.

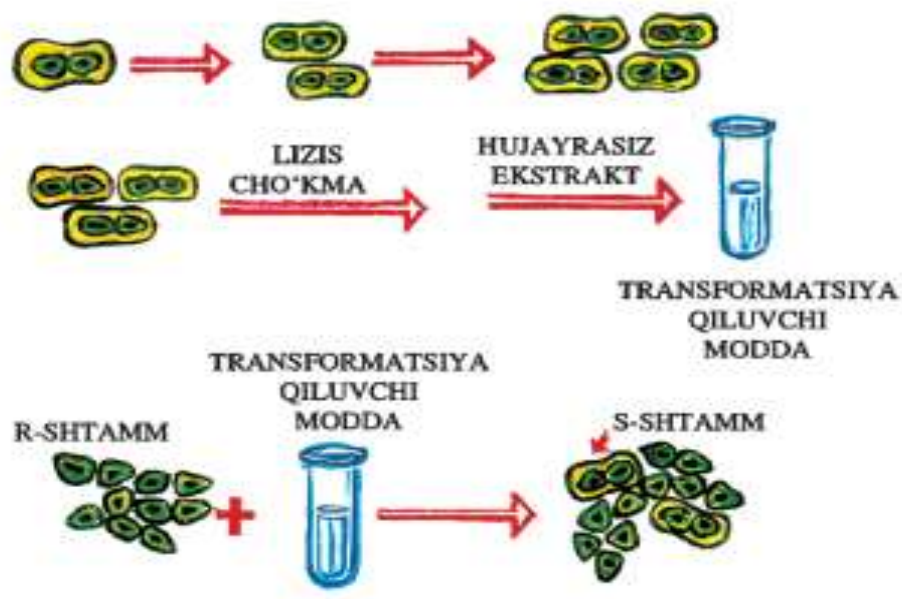
DNK ning genetik roli birinchi marotaba zotiljam kasalligini qo'zg'atuvchi yumaloq shakldagi bakteriyalar-pnevmonoklarda isbotlangan. Pnevmonoklardagi transformatsiya xodisasi 1928 yili ingliz bakteriologi F.Griffits tomonidan ixtiro qilingan. Uning tajribasi pnevmokoklarning ikki S va R formalari ustida o'tkazilgan. Bakteriyalarning S shtammi agardan tayyorlangan quyuq ozuqa muhitida tekis, yorqin koloniya hosil qiladi. U polisaharid kapsulaga ega bo'lib

sichqonlarga yuqtirilgach ular o'limiga sababchi bo'ladi. Bakteriyalarning R shtammi kapsulasiz bo'lib, quyuq ozuqa muhitida g'adir-budur koloniya hosil etadi va shtamm sichqonlarga yuqtirilganda, ular omon qoladilar. Tajribada S shtammli bakteriyalar 65-70° S issiqlik ta'sirida o'ldirilgach, ularning patogenlik xususiyati yo'qoladi. F.Griffits tajribalarining birida o'lgan S shtamm qoldig'i bilan tirik R shtamm bakteriyalar aralashgan holda sichqonlar tanasiga yuqtirilganda, ba'zi bir sichqonlarning o'lganligi kuzatilgan. O'lgan sichqonlar tanasi tekshirilganda ularda tirik S bakteriyalar borligi aniqlangan. Boshqa sichqonlarga issiqlik ta'sirida o'lgan S shtammli bakteriyalar yoki tirik R bakteriyalar alohida-alohida yuborilganda sichqonlar o'lmay, tirik qolgan (60-rasm). O'tkazilgan tajriba asosida agar o'lgan S bakteriya va tirik R shtamm birga bo'lsa, u holda R shtamm o'lgan S shtamm xossasiga ega bo'lishi mumkin degan xulosaga kelindi. Lekin olim bakteriyalar qanday moddasi irsiy xossani tashib yurishini bila olmadi.

1944 yilga kelib O.Everi, K.Mak Leod va M.Mak Karti Griffits tajribasini qaytadan takrorladilar va S shtammida uning patogenlik xususiyatini tashib yuruvchi DNK ekanligini ma'lum qildilar. Shunday qilib dastlab bakteriyalarda DNKning irsiyatga aloqadorligi isbotlab berildi.



4-rasm. Griffit tajribasining sxemali ifodasi



5-rasm. Transformatsiya

11-MA'RUZA

Mavzu: Hayvonlar gen muhandisligi.

Reja:

1. Chorvachilikda qishloq xo'jaligi biotexnologiyasidan foydalanish.
2. Hayvonlarda gen injenerligining asosiy usullari.
3. Transgenli hayvonlar olish va ko'paytirish.
4. Veterinariyada gen injenerligidan diagnoz quyishda foydalanish.

Viruslar bilan prokariot hujayralar orasidagi materiallarning ko'chirilishini, tabiiy sharoitda bakterialarda o'tadigan rekombinatsiya mexanizmlarini o'rganish, plazmidalar va mo'tadil faglarining hujayradagi hayotini tushunish genlar ustida turli manipulyatsiyalar o'tkazish imkonini beradi. Olimlar qo'lida DNK ning kerakli bir qismini bakteriya hujayrasiga ko'chirib o'tqazadigan sistema-plazmidalar ham bor. Bunday transmessiv ko'chirib o'tkazuvchi halqli molekulalar-plazmidalar va mo'tadil viruslar vektor deb ataladi. Ularni tabiatning o'zi biologlarga taqdim qilgan sovg'a bo'ldi. Shunday ekan, endi bakteriyalarni kul'turada (ular o'sadigan muhitda) insonlar uchun kerakli oqsillarni, fermentlarni sintezlashga majbur qilib bo'lasmikan?

Bu g'oyalarni amalda yuzaga chiqishi gen injenerligi yoki genetik injenerlik deb atalgan va katta istiqbolga ega bo'lgan yangi sohani dunyoga keltirdi.

Gen injenerligi qisqacha aytganda, genlar ustida turli manipulyatsiyalar o'tkazish, ularni to'la o'rganish asosida funksional qisimlariga ega bo'lish, kerakli joyidan kesish, kerakmas qismini olib tashlab, kerak bo'lgan qisimlarini boshqa genlardan yoki sintez yo'li bilan olib ulash va shu usulda tayyorlangan duragay yoki rekombinant genni muvofiq organizmga kiritib zarur turlarni yoki preparatlarni sintez qilish va hokazo texnologiyaning yig'indisidir.

Hayvonlarda gen injenerligini qo'llash inson uchun kerakli (foydali) genlarni genomga joylashning bajarilishiga bog'liq. Mana shunday klonlashtirilgan genni hujayra yadrosiga joylab qo'yishning ikki usuli: pronukleusga genni purkash va virus trasnfeksiyasi usullari mavjud.

Birinchi usul bilan kerakli gen oldin DNK molekulasiga ulanib so'ngra pronukleusga joylab qo'yiladi. Shunday yo'l bilan Vigler va boshqalar herpes virusdan (NSV-1) olingan va DNK molekulasiga ulangan timidinkinaza fermentini nazorat qiladigan genni sichqon hujayrasiga kiritishdi. Sichqon hujayrasida ushbu ferment bo'lmagan natijada bir necha bo'g'in davomida sichqon hujayralarida timidinkinaza fermenti bo'lgan.

Ikkinchi usul, ya'ni virus infeksiyasi (transfeksiyasi) hayvonlar hujayrasiga tabiiy genetik informatsiya kiritish hisoblanadi. Bundan tashqari viruslar hujayra transformatsiyasida kerakli (foydali) genlarni kiritish uchun ham hizmat qiladi.

Hozirgi vaqtda har xil retroviruslar (teskari transkripsiya qiluvchi RNK saqlovchi viruslar oilasi) sistemasi vektorlari yaratilgan bo'lib, ular qushlar va sutemizuvchilar organizmiga tashqaridan gen kiritish xususiyatiga ega.

Genlar organizmga kiritishda viruslardan tashqari mobil elementlar ham mavjud bo'lib bu 1983 yilda drozofila genomidan ajratilgan. Eng ko'p qo'llaniladigan usullardan biri genlarni zigotaning pronukleusiga in'eksiya qilishdir. Qishloq xo'jalik hayvonlari zigotasida pronekleusni ajratish qiyin bo'lgani uchun in'eksiyani aniq qilishni qiyinlashtiradi. Shunga qaramay Hammer va boshqalar 1985 yilda birinchi bo'lib transgen cho'chqa oldilar. Lekin tajribalar mahsuli juda past edi. Masalan, bitta transgen qo'zi olish uchun 1032 zigotaga in'eksiya qilish, 20 ta transgen cho'chqa bolasini olish uchun esa 20035 zigotga in'eksiya qilishga to'g'ri keladi.

Zooinjenerlar uchun genlarni hayvon hujayrasiga kiritish va genomiga tartib bilan joylashtirish usullari muhim hisoblanadi. Hozirgi vaqtda shu sohada bir necha xil metodlar ishlatiladi. Jumladan virus bilan kiritish, ximiyaviy, fizikoviy yo'l bilan, hujayralarni qo'shish va yangi usul-retrovirusni ishlatish.

Birinchi usulda DNK saqlaydigan viruslar genlarni ko'chirib o'tkazishda vektor sifatida foydalaniladi. Lekin ko'pchilik hozirgacha o'rganilgan viruslar kiritilgan hujayrani yemirilishi va yo'q qilinishi (litik vektor) mumkin. Bundan tashqari ular trasformatsiya qilishda retroviruslarga nisbatan kam samara beradi. Shuning uchun ham ularni hayvonlarda keng miqyosda ishlatish mumkin emas. Lekin bunday vektorlar vaksinalarni ishlab chiqarishda samara berishi mumkin.

Ikkinchi usul genlarni tartib bilan joylashtirishda keng qo'llaniladi va bunda DNK fosfat kalsiy bilan qo'shib hujayraga kiritiladi. Bu usulning va boshqa ximik usullarning ijobiy tomoni shundaki ular nisbatan oddiy va alohida asbob-uskuna talab qilmaydi, hamda infeksiya chaqirmaydi. Shuning uchun ham bu usul mutloq havfli emas. Lekin bu usulning kamchiligi tashqaridan kiritilgan DNK ning juda kam o'zlashtirilishida.

Fizikaviy usul ikki asosiy klassda-mikroin'eksiya va elektroporatsiya yo'li bilan olib boriladi. Elektroporatsiya nisbatan yangi usul bo'lib, DNK molekulasini

elektr toki yordamida hujayra membranasidan olib o'tishga yordam beradi. Lekin bu usul yo'li bilan genlarning genomga o'tkazilishi xususiyati noma'lum.

Mikroin'eksiya usuli-samarali hisoblanib, keng qo'llanildi. Gordonning aniqlashicha plazmidli DNK nasilga beriladi. Bunday hayvonlar, ya'ni o'zining genomida ekzogen geni bor organizmlar transgen hayvonlar deyiladi.

12-MA`RUZA

Mavzu: Mikroorganizmlar kulturalarini o`stirishning biotexnologik asoslari.

Reja:

1. Mikroorganizmlar manbalarini tanlash va ajratish.
2. Mikroorganizmlar kulturasini o`stirish..
3. Ozuqa muhitlar.

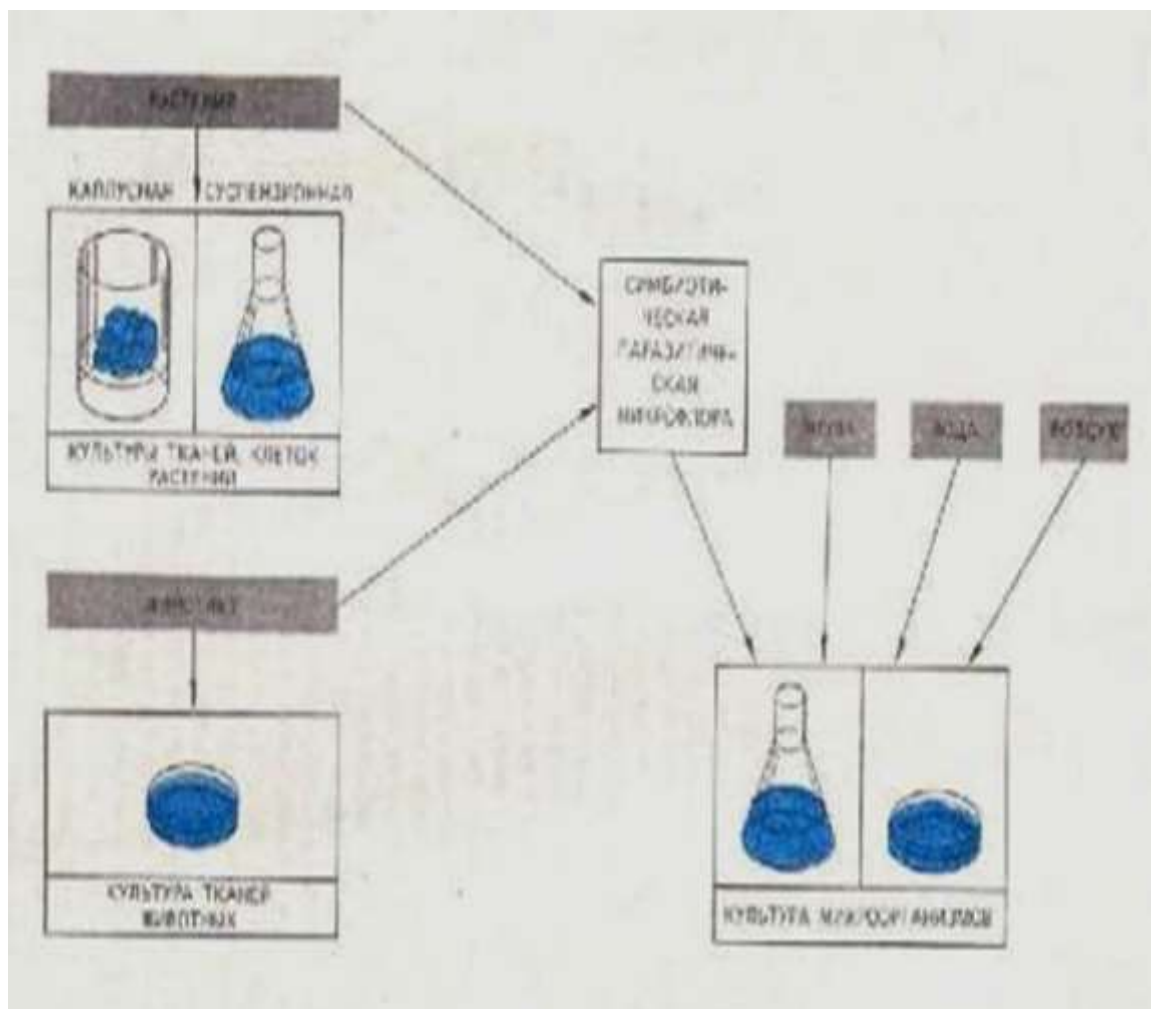
Biotexnologik jarayonning mohiyatini belgilovchi asosiy bo'g'in hujayra xisoblanadi. Unda kerakli mahsulot sintezlanadi. Yu.A.Ovchinnikov aytganidek hujayra uziga xos kichkina ximiyaviy zavod bo'lib, unumdorlikda, kelishilgan xolda ma'lum dastur asosida ishlaydi. Unda minutida 100lab murakkab birikmalar, gigant biopolimerlar va 1-nchi novbatda-oqsillar sintezlanadi.

Xozirgi biotexnologik ishlab chiqarishning asosi - bu mikrobiologik sintezdir, ya'ni har xil moddalarni mikroorganizmlar yordamida sintezlanishidir. O'simlik va xayvon ob'ektlari kengi qo'llanilmaydi, chunki ularning o'stirish sharoitiga talabi yuqori, bu esa ishlab chiqarishni qimmatlashtiradi. Ob'ekt tabiatidan kat'iy nazar biotexnologik jarayonning boshlagich davrida hujayra va to'qimaning toza kul'turasini olish zarur. Bu kul'turalar bilan manipulyasiyalar bajarish mikrobiologiyaning klassik usullariga asoslangan. Mikroorganizmlar dunyosi xilma-xil bo'lib, ularga bakteriyalar, aktinomisetlar, rikkestiyalar-prokariotlar va achatki, ipsimon zamburug'lar, sodda xayvonlar, suv o'tlari kabi-eukariotlar kiradi. Xozirgi vaqtda 100 mingdan ortik mikroorganizmlar turlari mavjud. Bu mikroorganizmlar ichidan bizni qiziktiruvchi formalarni topish zarur. U yoki bu modda hosil kiluvchimikroorganizmni qanday tanlash mumkin?

Bu masalani xal qilish uchun mikroorganizmlar tanlanadi. Ularning namunasi ular yashaydigan joydan olinadi. Masalan, uglevodorodlarni oksidlaydigan mikroorganizmlar benzokolonka yaqinidagi tuprokdan, vino achitqisi uzumda ko'p uchraydi, anaerob sellyuloza parchalovchi va metan hosil kiluvchi mikroorganizmlar kavsh qaytaruvchi xayvonlar katkorinida uchraydi.Olingan namunalar maxsus tarkibi suyuq oziq muhitiga solinadi. Bunday muhit elektiv deb ataladi.Har qanday muhitdagi har xil faktorlar o'zgartirilib bizni kichiqtiruvchi produsent rivojlanishi uchun sharoit yaratiladi. Bunday omillarga energiya , uglevod, azot, pH qiymapti, harorat osmatik bosim va boshqalarni kiritish mumkin.

Xolesterinoksidaza tuplanishi uchun uglerodning eng birinchi manbai sifatida xolesterindan foydalaniladi, uglevodorod oksidlovchi mikroorganizmlar

Mikroorganizmlarning tuplovchi muhiti shunday olinadi. Keyingi bosqich-toza kul'turalar ajratish. Buning uchun qattiq oziq muhiti olinadi, unda tuplovchi muhitdan nomunalar olinib eqiladi. Mikroorganizmlarning aloxida hujayralari qattiq muhitda aloxitda koloniyalar hosil qiladi. Bu koloniyalar qayta ekilib produsentning toza kul'turasi olinadi.



Mikrobiologik sanoat produsentlarga bir qancha talablar quyadi bu texnologik ishlab chiqarish nuqtai nazarida muhitdir.

101

vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularni sintetik analoglarini saqlashi kerak. Ba'zi ozuqa muhitlari aminokislotalar, kazzin gidrolizoti, EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uni natriyli tuzi (bu tuz temirni hujayra kirishiga yordam beradi) va boshqa kerakli moddalar saqlaydi.

Kallus to'qima olish uchun, alohida hollarda oziqa muhitiga kokos yong'og'ini (kakos suti), kashtan daraxtini endospermasini qo'shiladi. Karbon suvlar ozuqa uchun eng kerakli komponentlar hisoblanadi. Bunga sabab, ko'p hollarda ajratib olingan hujayra va to'qimalarni avtotrof oziqlanishga qurlari etmaydi. Karbon suv sifatida ko'proq 2-3 % li saxaroza yoki glyukoza eritmasidan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarni tabaqalanishi (dedifferensirovki) va hujayra bo'linishini kuchaytirish (induksiya) uchun kerak. Shuning uchun ham kallusli to'qimalar olish uchun mo'ljallangan ozuqa muhiti tarkibida albatta auksinlar (hujayra bo'linishini kuchaytiruvchi) bo'lishi shart. Poya morfogenezi induksiya qilganda muhit tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki butunlay olib tashlash mumkin. Gormon saqlamaydigan ozuqa muhitida shish va «o'rgangan» to'qimalar o'sadi. Har ikki guruh gormonlariga yoki ulardan birortasiga avtonomlik, bu hujayralarni o'zlarini gormon sintez qilish xususiyati bilan bog'liq.

Auksin manbai sifatida ozuqa muhitiga 2,4-dixlorfenoksi sirka kislota (2,4-D), indolil-3-sirka kislota (IUK), L-naftil sirka kislota (NUK) qo'shiladi. Yaxshi o'suvchi kallus olish uchun ko'proq 2,4-D dan foydalaniladi, chunki IUK, 2,4-D ga nisbatan 30 marotaba kuchsizdir.

Sun'iy ozuqa muhitiga qo'shish uchun, sitokinin manbai sifatida, kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin ishlatiladi. 6-BAP va zeatin ajratilgan to'qimalarni o'sishiga organogenezni induksiyasiga kinetinga nisbatan faolroq ta'sir ko'rsatadi. Ba'zi bir ozuqa muhitlar tarkibiga adenin ham qo'shiladi.

Hozirgi paytda juda ko'p sonli ozuqa muhitlarni tarkibi aniq bo'lsada, ajratib olingan o'simlik to'qimalarini *in vitro* sharoitida o'stirish uchun T.Murasiga va F.Skuga muhitlari ishlatiladi. Bu muhitni tarkibi birinchi marorta 1962 yilda e'lon qilingan va u juda yaxshi balanslangan ozuqa moddalari tarkibiga ega va boshqalardan ammoniyli va nitratli azotni nisbati bilan farq qiladi (1-jadval).

1-jadval.

O'simliklarni ajratib olingan to'qimalarini o'stirish uchun ishlatiladigan ozuqa muhitlarini tarkibi

Ozuqa muhiti komponentlari	<i>miqdori, mg/l</i>			
	Murasiga-Skuga	Gamborga	Shenka - Xildebrandta	Gressxoff-Dou

NH_4NO_3	1650	2500	2500	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	300	-
KNO_3	1900	-	-	1000
$\text{CaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{Mg SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	130	-	-
KH_2PO_4	170	-	-	-
Na_2EDTA	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	27,85	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	-	150	-	90,0
N_3VO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0

KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoU}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Glitsin	2,0	-	-	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotasi	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin-HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin HCl	1,0	10,0	5,0	-
2,4–	-	0,1-1,0	-	-
Kinetin	-	0,1	0,1	-
Glutamin	-	-	-	2,0
Saxaroza	30000	30000	30000	20000

Qattiq ozuqa muhit tayyorlash uchun agar–agrar ishlatiladi. Agar–agar dengiz suv o‘tlaridan olinadigan polisaxariddir. Vaqtdan unumli foydalanish maqsadida, makro- va mikroelementlar eritmalari hamda vitaminlar va fitogormonlar quyuqroq qilib tayyorlanadi va sovuq sharoitda saqlanadi hamda kerak bo‘lganda suyultirilib ishlatiladi.

13-MA`RUZA

Mavzu: Yuksak o`simliklar hujayra kulturasini.

Reja:

1. O`simliklar hujayra va to`qimalari kulturalari, ularni o`stirish bosqichlari .
2. O`simliklarni mikroklonal ko`paytirish.

Ajratilgan to`qimalar kulturasini odatda yoki kallusli, yoki shish (juda kam holatda) to`qima bulishi mumkin. Kallusli kultura tabakdlashmagan (dedifferensirovannuy) hujayralardan tashkil topgan, tartibsiz to`qimalardir. Keyinroq ular kallusliga ixtisoslashadi, ya`ni uziga xos ravishda tabakalashadi. Kallus degani kadoq (kotib kolgan) degan ma`noni anglatib, in vitro sharoitida aloxida olingan to`qimalarni (eksplantlar) bir qismida va butun o`simlikni bir qismida (shikastlanganda) paydo bulishi mumkin. In vitro sharoitida kallus to`qima, asosan oq yoki sarikrog juda xm kam xolatlarda och-yashil rangda bo`ladi. Kallus hujayralar kdriganda, tuq kungir rangga kiradilar, bunga sabab ularda fenol birikmalarini tuplanishi bilan bogliq Vaqt utishi bilan fenollar oksidlanib, linonga aylanadilar. Ulardan kutulish maqsidda ozuqa muhitiga antioksidantlar kushiladi. Kallus to`qimalar amorf bo`lib, ma`lum bir anatomik tuzilishga ega eamslar, ammo kelib - chiqishi va o`stirish sharoitiga kdrab, har xil konsistensiyaga (suyuq - kuyuk va x.) ega bo`ladilar:

- > **Birinchi** - uvalanib ketadigan puk xolatda kichik agregatlarga yengil maydalanib ketadigan, ko`pli suvlangan qujayralar;
- > **Ikkinchi** — urta zichli yaxshi namoyon bo`lib turadigan meristemali uchokdar;
- > **Uchinchi** — zich xolatda, unda kambiy (o`simlik putlogi tagidagi bulinuvchan hujayralar) elementlari va o`tkazuvchi tizim tabakalashgan (differensiatsiya) xolatda uchraydi.

Har bir hujayra o`sishni uch bosqichda utadi:

- > **Bo`linish;**
- > **Cho`zilish;**
- > **tabaqalanishi (differensirovka).**

Oxirgi bosqichni (fazani) harakterli tomoni hujayrani ikkilamchi kobigini kalinlashuvi va hujayrani bulinishga bo`lgan kobiliyatini yukotishidir. Differensiatsiyaga uchragan hujayralar yana kaytadan bulinish kobiliyatiga ega bulishi

uchun, ularni dedifferensirovka bulishi shart, ya`ni hujayra xuddi meristema holatiga kdytishi kerak. Tabakdlangan hujayralarni ko`paytirish tartibsiz, anarxiya shaklida o`sishga olib keladi va okibatda kallus to`qima hosil bo`ladi. Shunday kilib, ixtisoslashgan hujayralarni kallus to`qimalarga aylanishi hujayra bo`linishini kuchaytirish bilan boglik bo`lib, tabakalash jarayonida, hujayra bulinish kobiliyatini yukotadi.

Ozuqa muhiti tarkibida sitokininlarni bulmasligi tamaki usimligini uzak kdtlami parenximasida hujayra siklini to'sib kuyadi. Shuning uchun ham agar ozuqa muhiti tarkibida faqatgina auksin bulsa, hujayra bulinmaydi va turt kunlik davrdan keyin chuzilib, o'sishga utadi. Auksinlarsiz, faqat sitokininlarni uzlari ham gormon sakdamagan ozuqa muhitiga uxshab, o'simlikni kdrishiga olib keladi. Tamaki usimligi misolida keltirilgan dalillar birta gormon sakdagan Oziqa muhitida kallusli to'qima hosil bulishini barchasini tushuntira olmaydi. Bunga zid bo'lgan misollar ham bor. Masalan, bugdoyni yetilmagan kurtaklarida sitokininsiz 2,4-D saklagan Oziqada kallus hosil bulishi yoki kungabokarni urug pallasida sitokinin saklagan auksin sakdamagan Oziqada kallus hosil bulishi va x.k. Kuzatiladign natijalar ko'proq endogen gormonlarga, aniqrogi u yoki bu eksplantni hujayrasida saklanadigan gormonlar bilan ya'ni hujayrani gormonal statuyey bilan bogliq ekanligi isbotlangan. Ba'zi bir olimlarni fikrlaricha, hujayrani bo'linishini auksin yoki sitokinin emas, balki polisaharidlar va boshkd qandaydir induktorlar chakirishi va kallus hosil bulishiga olib kelishi mumkin. Apeksni asosiy qismida kallusli o'sishga utish jarayoni hujayra bo'linishini tuxtashi bilan boshlanadi. Lag - faza 24-28 soat davom etadi. Bu davr mobaynida hujayra kattalashib, to'qimalar shishadi. Lag faza tugagandan keyin hujayra tez bulinib, kallus to'qima hosil kiladi. Shunday kilib, agar ixtisoslashgan hujayralarni dedifferensiatsiyasi fitogarmonlr ta'sirida bulinishni kuchayishi (induksiya) bilan bogliq bulsa, bulinadigan meristemali hujayralarni dedifferensiatsiyasi bo'linishini tuxtash bilan xujyrani ixtisoslanishi va faqatgina undan keyin kallus hosil bulishiga olib keluvchi bulinishni kuchayishi bilan bogliq.

Bir fitogormonnni ta'sir samarasi, nishon to'qimani fiziologik tavsifiga kdrab har xil bulishi mumkin. Hujayrani *in vitro* sharoitida differensiallanganholatdan didefferensiallangan holatga va hujayrani faol bulinishga utishi, genlarni faolligini uzgaRishi bilan boshlanadi. (Epigenomli uzgaRUvchanlik)- Bir genni faollashuvi va ikkinchisini repressiyaga uchrashi hujayradagi oqsil tarkibini uzgarishiga olib keladi. Kallusli hujayralarda uziga xos bo'lgan oqsillar paydo bo'ladi va bir vaqtning uzida bargning fotosintez kiluvchi hujayralarida Oqsillar mivdori pasayadi. Ikki pallali o'simliklarda didefferensiallashgan genlarni repressiya va depressiya jarayonlari nisbatan oson utadi.

Dedifferensiallashgan xujayrlarni kallus to'qimalar hosil bulishiga olib keluvchi tartibsiz ko'payishga utishi bilanbiokimyoviy va sitologik uzgarishlar sodir bo'ladi. Zaxiradagi moddalarni ishlatilishi va ixtisoslashgan hujayra organellalarini parchalanishi bilan dedifferensiallanish boshlanadi. Dedifferensiyanı induksiyasidan 6-12 soat utgandan keyin hujayra qobigi g'ovaklashib shishadi, mustakil ribosomalar soni ko'payib, Goldji apparati elementlari soni ham oshadi. Bu uzgarishlar bulinishdan oldin boshlanadi.

O'stirishga kuyishdan oldin, eksplantlar hujayrasining metabolizmida uzgarishlar sodir bulishini, u esa dedifferensiya yoki travmatik sintez bilan bogliq bulishini xisobga olib kuyish zarur. Bunday jarayonlarni ajratish maqsadida eksplantlarni gormonlar saklamaydigan muhitda 3-6 sutka davomida preinkubatsiya qilish tavsiya etiladi.

Kallusli hujayra o'zini rivojlanish sikliga ega bo'lib, har qanday hujayrani rivojlanishini kdytaradi: bulinish, chuzilish va differensiya va undan keyin kdrish va hujayrani ulish davri. Kallusli differensiyanı ikkilamchi deb atasa bo'ladi, ammo uni morfogenez asosida yotuvchi hujayralarni ikkilamchi differensiya bilan aralashtirib yubormaslik kerak.

Kallus hujayralari nobud bo'lib kolmasligi uchun ularning bulinishga bo'lgan kobiliyatlarini yukotmasliklari uchun, eksplantlarda paydo bo'lgan birlamchi kallus, 4-6 xaftadan keyin yangi tayyorlangan ozuqa muhitiga utkazib turiladi. Bu operatsiyani -passirlash deb ataladi. Uz vaqtida bu jarayon utkazib turilsa, kallus hujayralari un yillab uz bulini xususiyatini yukotmasligi mumkin.

Kallus hujayralarni o'sish chizigi 3.2-rasmdan kurinib turibdiki, S- simon shaklga ega, o'sishi besh fazdan iborat:

- > **1—latent yoki lag-faza** davrida hujayra soni yoki og'irligi uzgarmaydi. Hujayralar bu davrda bulinishga tayyorgarlik kuradilar.
- > **2-faza logariflik yoki eksponensial o'sish fazasi** eng ko'p mitodik faollik bilan va kallus kulturani massasini oshishi bilan umda tezlik bilan o'sish kuzatilishi bilan harakterlanadi.
- > **3-faza tugri chizikli (lineyka)**, bunda hujayralarni o'sish tezligi doimiydir.
- > **4-faza o'sishni sekinlashuv fazasi boshlanadi**, bu bosqichda hujayrani miotetik faolligi keskin pasayadi.
- > **5-faza o'sish chizigi (statsionar) bir tekis xolatga keladi**. Bu davrda hujayralar parchalanadi, ammo hujayra sonini oshishi bilan barobarlanishadi; umuman olqanda bu bosqichda, hujayra massasini kutarilishi nolga teng bo'ladi. Stensionar fazadan keyin hujayralarni degradatsiyasi boshlanadi va bu davrda tirik hujayralarni soni va massasi tobora kamayib boraveradi.

Kallusli hujayralarni o'ziga xosligi

In vitro sharoitida kallusli hujayralar o'simliklaR organizmidagi oddiy hujayralarga xos bo'lgan ko'plab fiziologik va bikimyoviy xususiyatlarni sakdab koladi. Ular, ikkilamchi metabolitlar sintez qilish kobiliyatini yukotmaydilar. Sovuqda chidamlilik xususiyati kallusli hujayralarda, o'simliklardagidek kdytariladi. Bunday xususiyat, tropik yoki subtropik o'simliklardan olingan kallus to'qimalarda bulmaydi. Kallusli to'qimalarga fotodavriylik reaksiyasi xam xos, bu fitoxron faolligini sakdab kolinganligi bilan boglikdir.

O'simliklarni normal va kallusli to'qimalari uchun umumiylik yana kdtor belgilarda namoyon bo'ladi, xususan, yukori haroratga chidamliliq osmotik faol moddalarga, shurlanishga chidamlilik va x.k. Shuning bilan birga, kallusli to'qimalarni normal

to'qimalardan farkli tomonlari xam bor. Ularda spetsifik sursillar paydo bo'ladi va umumiy oqsil mikdori, xususan bargda fotosintez jarayonida kdnashadigan oqsillar kamayadi yoki butunlay yukrladi. Kallusli hujayralar ulkan genetik geterogenligi va fiziologik sinxronlikni buzulganligi bilan fark kiladi.

Organizm nazoratidan chikdanligi sababli. Kallusli hujayralarni o'sishi tartibsiz, sinxronsiz ravishda utadi va chegaralanmaydi. Bundan 65 yil avval R.Gotre tomonidan olingan sabzining kallusli hujayrasi, yangi ozuqa muhitiga utkazib turish xisobidan xrzirgacha yashab kelmokda.

Ochiq tuprokda usuvchi o'simlikga nisbatan, kallusli hujayralarni hujayra sikli uzunrokdir.

Kallusli hujayra uziga xos tomonlaridan yana biri-ularni yoshini har xilligi (geterogenligi). Kallus to'qima bir vaqtini uzida yosh hujayralar (G- fazadagi), kdri (G2) va S - fazalar ishtirok etadilar.

Kallusli hujayralarni energiya almashinuvida xam ancha farq kuzatiladi. Ular, normal hujayralarga nisbatan kislorodni kam iste'mol kiladilar. 1938 yilda Romstorn bunday xususiyat meristematik hujayralarda xam borligini kuzatgan edi, demak bu xususiyat faol bulinadigan hujayralar uchun xosdir. Kallus hujayralarni nafas olish koefitsenti birdan katta. Masalan nuxat kallus hujayrasida bu son 3,5 dan katta (A.V. Romanova, 1988).

Bu nafas olish bilan bijgish orpasidagi nisbat bijgishni kuchayish tomoniga, surilganligini ya'ni Paster effektini pasayishini ko'rsatadi.

Paster effekta deganda, bijg'ishni kislorod ishtirokida nafas olish bilan bosishni tushuniladi.

Nafas olish substratlari uzgarmagan sharoitda, nafas olish koefitsentini ko'payishi, nafas olish bijgishni tuxtataolmayotganligini va xatto kislorodli sharoitida xam kallusli hujayralarda nafas olish bilan bir kdtorda, uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi bijgish jarayoni sodir bulayotganligidan xabar beradi. Tartibsiz o'sishda uglevorodlarni kislorodsiz parchalanishiga misol kilib, bulinadigan hujayralarda etil spiritini tuplanishini kursatish mumkin. Ilmiy adabiyotlarda bunday misollarni ko'plab topsa bo'ladi.

Kallus hujayralarni mitoxondriyalari, meristem hujayralarga uxshab, juda past rivojlangan ularda kristlar kam, bu esa aerob nafas olishga ta'sir kursatmasdan kolmaydi. Paster effektini buzilishi ko'proq xayvonlarni shish hujayralarida kuzatiladi. Bu xodisa Varburg tomonidan aniqlangan bo'lsada xrzirgacha aniq tushuntira olingancha emas. Paster effektini buzilishi okibatida kelib chiqadigan anaerob glikoliz (uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi), kislorod ishtirokida shishli hujayralarni uglevodlar iste'mol qilishini keskin (19 marotabaga) oshirib yuboradi.

Kallusli hujayralarni nafas olish harakterini uzgarishi bilan bir kdtorda uglevodlarni kislorodsiz prchalanishini kuchayishi yunalishida, bulinadigan hujayralar uchun zarur bo'lgan pentozofosfat yo'li tomon siljish namoyon bo'ladi.

Hujayra suspenziyalari kulrurasi

Kallusni suyuq ozuqa muhitiga utkazib, avtomatik ravishda aralashtirish orkdli hujayra suspenziyasi olish mumkin. Fermentlar yordamida. Masalan pektinaza fermenti yordamida tugridan-tugri eksplant to'qimalardan (barg, poya, ildiz va x.k) xam hujayra suspenziyasi tayyorlash mumkin. Dastlab, eksplant yuzasida kallusli to'qima paydo bo'ladi, keyin undan hujayra va hujayra agregatlari ajraladi va okibatda hujayra suspenziyasi olinadi.

100 ml hujayra suspenziyasi olish uchun 2-3 g kallusli to'qima kerak bo'ladi.

Hujayra suspenziyasini tayyorlash uchun eng zarur sharoit - bu domiy ravishda aralashtirib yoki chaykdtib turishdir. Agar hujayra suspenziyasi kimirlamay tursa, undan bulinish natijasida kallusli to'qimalar hosil bo'ladi.

Suspension hujayralarni bo'linishi auksinlar va sitokinlar, ya'ni kallus hujayralarni o'sishi va induksiya uchun zarur bo'lgan gormonlar yordamida

ximoya kilib turiladi. Shunday kilib, suspenziyali hujayralar kallus hujayralarni uzginasi bo'lib, ular da bunday hujayralarga xos bo'lgan barcha xususiyatlar namoyon bo'ladi.

Suspenziya 2,4-D sakdagan muhitda hosil bo'ladigan pukak hujayradan yaxshiroq hosil bo'ladi. Muxit tarkibidan kalsiy olib tashlansa, suspenziya hosil bulishi yengillashadi. Oziqaga pektinaza fermenti aralashtirilsa (bu ferment ozuqa tarkibidagi alohida hujayralarni bir-biriga boglab truvchi pekrat kalsiyni parchalaydi) suspenziya yanada yengilroq hosil bo'ladi.

Biotexnologiyada hujayra suspenziyasidan ikkilamchi metibolitlar olish maqsadida foydalaniladi. Ikkilamchi metabolitlarni ko'pchiligi dorivor moddalar xisoblanadilar va hujayra biomassasini sanoat mikiyosida ko'paytirish va hujayra seleksiyasida keng ishlatiladilar. Bundan tashkdri hujayra suspenziyasidan aloxida protoplastlar olish uchun ham foydalaniladi.

Suspenzion kultur alardan ikkilamchi metabolitlar produtsiyenti sifatida foydalanilganda, davriy yoki okdva usulida ochiq yoki yopiq tizimda hujayralarni ko'paytirish usullari ishlatiladi. Yopiq tizimda hujayra suspenziyasiga toza ozuqa muhiti kiritilmaydi, tizimda domiy rejimda o'stirilganda esa ozuqa muhiti tozasiga almashtirib turiladi.

Suspenzion hujayralar bilan ishlaganda ularni harakteristikasini bilish shart: tirikligi, hujayralarni suspenzion kulturada ko'p yoki kamligi, agregatsiya darajasi, o'sish tezligi va x.k.

Hujayralarni tirik yoki tirik emasligi ularni buyash (kuk metilen yoki Evans kuki) orkdli aniqlanadi. Tirik xujayrlar, hujayra membranasi buyokni utkazmasligi sababli buyalmaydi. Ulik hujayra kobigidan buyoq tez utadi va shuning uchun ham kuk rangga buyaladi. Hujayra suspenziyasini asosiy kursatgichlaridan biri, hujayra populyatsiyasini kdlinligidir. Hujayra soni Fuks-Rozental xisob kamerasida mikroskop ostida matseransiyadan keyin (hujayralarni ajratilgandan keyin) aniqlanadi. Matseratsiya kiluvchi modda sifatida xrom kislotasini 10-20% li eritmasidan foydalaniladi. Bu kislota, hujayralarni biriktirib turuvchi urtadagi plastinkani eritib (gidroliz kilib) yuboradi.

Yaxshi rivojlanuvchi suspenziya, kallusli kulturaga uxshab, S- simon o'sish chizigiga ega. Odatda, passajni davomiyligi 14-16 kundan iborat. Bunda suspeziyaning kdlinligi 5x10 dan 5x10 hujayra 1 ml gacha oshadi. Hujayra sonini ko'payishi, ularni kuruk va xul massasi- suspenzion kulturani asosiy o'sish kriteriyasini tashkil etadi.

Suspenziyani sifati, hujayralarni agregatsiya darajasiga bogliq. Agregatlar 10-12 hujayradan ko'p bulmasligi kerak. Shuning uchun ham yirikroq agregatlardan kutulish maqsadida suspenziyani marlya, naylon yoki metal filtrdan utkaziladi. Bu operatsiya bir vaqttni uzida eksplantlar koldigidan yoki kallus to'qimalarni bulakchalaridan kutulish imkonii beradi.

Hujayra suspenziyasida qimmatbaho ikkilamchi metobolitlardan tashkdri yangi ajoyib birikmalar: komptotetsin, xirringtonin kabi antikanserogenlar, xdr xil peptidlar (proteaza fermenti ingibitori, fitoviruslar ingibitorlari) va boshkd birikmalar sintez bulishi ham kuzatilgan.

Shuni alohida ta'kidlash lozimki, hujayralarni bo'linishi okibatida hujayra biomassasini ko'payishi va ikkilamchi metabolitlarni sintez bulishi xdr xil vaqtga

tugri keladi. Ikkilamchi metabolitlar sintez bulishini maksimumi, o'sishni statsionar fazasiga tugri keladi.

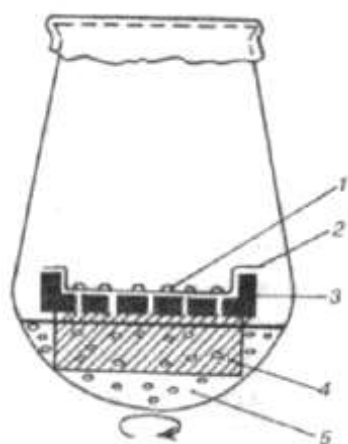
Yagona hujayralar kulturasini

Genetik va fiziologik izlanishlar xdmida xujayroa seleksiyasi amaliyotida ishlatish uchun alohida hujayralar juda katta ahamiyat kasb etadi. Klonni olinishi yagona hujayra avlodini olinishi kallusli hujayralarni genetik bir xil emasligini sabablarini aniqlashga yordam beradi, chunki bu holatda kuzatishlar geterogen eksplat olingan to'qimalarda emas, balki alohida olingan hujayralarda olib boriladi.

Proplastlardan ajratilgan alohida (yagona) gibrid hujayra keyingi bulinishlarida gibrid hujayradan tashkil topgan klon yaratish imkonini beradi. Bu esa izlanuvchilarni ishlarini yengillashtiradi, chunki ajratilgan proplast kulturalarda gibrid bulmagan hujayralardan paydo bo'ladigan yangi hujayralarni alohida ajratish kabi mashakdatli ishdan ozod kiladi. Bundan tashkdri alohida ajratib olingan hujayralarni protoplastlarini urganilganda somatik gibridizatsiya jarayonini o'zini kuzatish ham yaxshiroq bo'ladi. Alohida (yagona) hujayralar hujayra suspenziyalaridan, o'simlik to'qimalaridan, masalan barg mezofillidan uni fermentlar yordamida matseratsiya qilingandan keyin, alohida ajratib olingan proplastlardan ularda hujayra qobigi paydo bo'lganidan keyin ajratib olinadi.

Bir hujayrali fraksiya olish uchun ba'zida suspenzion kulturani kolbada 15-30 min tindirib kuyish kifoya bo'ladi. Bunda yirik agregatlar chukmaga tushadilar. qoldiq ustki suyuklikda esa faqat bir hujayrali kultura yoki kichik agregatlar bo'ladilar. Agar bu yo'l bilan bir hujayrali fraksiya olish imkoniyati bulmasa, fyordamida matseratsiya qilish, saharoza gradiyetida sentrifuga qilish yoki xdr xil elaklardan utkazish usullaridan foydalaniladi.

Yagona hujayralarni o'stirishda biroz kiyinchiliklar seziladi, chunki aloxida hujayra kallusli to'qima usgan sharoitda yaxshi bulinmaydi. Yagona hujayralarni bo'linishiga majbur kiladigan maxsus usullar yaratilgan. 1960 yilda Djonson «enaga» usulini tadbiiq qilgan edi. Bu usulda «enaga» funksiyasini bir kiyem kallusli to'qima bajaradi va ualoxida hujayrani bo'linishiga majbur kiladi va uni aloxida hujayradan filtr qogozii yordamida ajratib olinadi. Bunday sharoitda («enaga» xuzurida) aloxida hujayra bulinib, hujayrani individual koloniyasi - klon xosil kiladi.



- 1-hujayra koloniyalari;
- 2-filtr =OFCO;
- 3-alyumin elak
- 4-penopoliuretan;
- 5-hujayra suspenziyasi

(Z.B. Shamina,1985).

rasm.Makkajo'xorining yagona hujayralari va ajratilgan protoplastlarini o'stirishda «enaga» sifatida suspenzion hujayralar kulturasini ishlatilishi:

Hujayrani bo'linishii muhitni konditsirlash xam tezlatadi, buning uchun unga (muhitga) tez bulinadigan hujayra kulturasini Oziqa muhiti qushilaDi- Konditsiya

qiluvchi faktor hujayra suspenziyasini o'sishni eksponensial fazasida bakterial filtrdan utkazish davrida paydo bo'ladi (olinadi). Moxiyati bo'yicha yukorida zikr etilgan barcha usullar xam bulinadigan hujayralardan chiqadigan konditsiya qiluvchi faktordan foydalanishga asoslangan.

Xrzircha bu faktorni ta'sir mexanizmi va uni kimyoviy tabiati aniq emas. Ammo, bu faktor issikda chidamli, suvda eruvchan, past molekulali modda xamda fitogormonlar bilan almashib bulmasligini aytish mumkin. Shuningdeq bu modda taxminan 700 Dalton molekulyar og'irligiga ega bo'lgan rN 4-11 da mutadil modda ekanligi xam aniqdangan. Shunday kilib, bu modda toza kimyoviy modda bulmasdan, hujayradan ajraladigan faktorlar yigindisi bulsa xam ajab emas.

Kallusli to'qimalarda morfogenez

Hujayra rivojlanishini tabakdeizlangandan keyin utadigan bir necha yo'li ma'lum. Birinchi yo'l - bu butun o'simlikni qayta regeneratsiyasi, balkim, hujayra, to'qima, organlar darajasida tabakdlanish. Ikkinchi yo'l hujayrani kdyta tabakalanish xususiyatini yukrlishi va o'simlikni regeneratsiyasi, mustaxkam tabakdsizlanish, gormonsiz muhitda o'sish xususiyati, ya'ni shishga aylanish. Bunday xossalar eski (kari) kuchat kulturalarga xos. Uchinchi yo'l - kallusli hujayrani normal rivojlanish sikli, uni karib, nobud bulishi bilan tugaydi. Bu holatda hujayra ikkilamchi tabakdlanishga uchraydi va bulinishdan tuxtaydi (o'sishni statsionar fazasi). Ammo bunday tabakdlanish morfogenezga olib kelmaydi va unda kdrigan kallus hujayralari xossalarini mustaxkamlay di.

Kishlok xo'jaligi biotexnologiyasi uchun eng kizikdrlisi butun o'simlikni aloxida hujayrasidan olingan to'qima kulturasini regeneratsiyasi xisoblanadi. Ba'zida bu yo'l aloxida organlar hosil bulish orkdli utadi.

Kallusli to'qimalar kulturasida morfogenez deb hujayralarni tashkil bulmagan massasidan tulakrnl strukturalar hosil bulishiga aytiladi. Morfogenezni ikki asosiy yo'li ma'lum (3.4 -rayem).

TO'QIMAlar kulturasini u organogenez sifatida (monopolyar tuzilishini hosil bulishi, ya'ni aloxida organlarni) kurinish mumkin: ildiz, poya, kamroq feoral (gulli) yoki bargli xamda somatik embriogenez, kurinishida (somatik hujayralardan biftolyar zarodish kurtaksimn tuzilmalar holatida) kurinishi mumkin. Organogenezda dastlab aloxida organlar regeneratsiya bo'ladi, keyin esa ular dan butun o'simlik paydo bo'ladi. Ildiz organogenezi bundan mustasno. Somatik embriogenez natijasida organogenezdan farkli ularoq, ildiz meristemi xamda tepa qavat meristemalariga ega bo'lgan kurtak hosil bo'ladi va undan keyinroq butun o'simlik o'sib chiqadi.

Alohida olingan somatik hujayralarni o'z rivojlanish dasturini to'liq bajara olishi va butun o'simlik organizmi o'sib chiqishi uchun asos yaratib berish xususiyati, o'simlik hujayrasini totipotentligi deb ataladi. O'simlikni har qanday hujayrasi bir xil potensial imkoniyatlrga ega, chunki barcha kerakli genlar to'plamiga ega, demaq hujayra zigotaga xos bo'lgan rivojlanish dasturiga ega. Shuning uchun xam agar gul bargi hujayrasidan yoki poyani uzaksimn parenxima yoki har qanday hujayra to'qimalardan kallus olinganda umuman hujayrani har qanday to'qimasidan butun o'simlik olish mumkin. Ammo, totipotentlik xossalari xdmma vaqt ham namoyon bulavermaydi, chunki xdr xil tipdagi xujaylarni potensial imkoniyatlari bir xil

namoyon bulavermaydi. Ulardan ba'zi birlarida genlar kuchli repressiya holatida bo'ladilar va shu sababli ham totipotentlikni namoyon bulishi chegaralangan bo'ladi.

O'simlik hujayralarida totipotentlik goyasi birinchilardan bo'lib, 1902 yilda G.Xaberlant tomonidan ilgari surilgan bo'lsada, tajribalar bilan isbotlangan emas edi.

«O'simlikni har qanday hujayrasi yangi organizm paydo bulishiga asos bula oladi, faqatgina o'simlik organizmi hujayrani rivojlanish potensiyasini bosib kuygan xolatdagina bunday bulmasligi mumkin» -degan edi Xaberlant. O'simlikdan hujayrani aloxida ajratib olish mana shu potensiyalarni namoyon bulishiga yordam beradi.

Morfogenezni hujayra asosini sitodifferensirovka tashkil kiladi. O'simlikni regeneratsiyasi hujayrani ikkilamchi tabakdlanishidan boshlanadi. Bunda, tabakdeizlangan hujayra boshkddan ixtisoslashgan hujayrani strukturasi va funksiyasini egallaydi.

Kallusli hujayralarni ikkilamchi differensirovkasi har doim xam o'simlikni regeneratsiyasi va morfogenez bilan tugallanavermaydi. Ba'zida u faqat to'qima xosil bulishiga olib keladi xalos (gistodifferensirovka). Shu yo'l bilan kallusli hujayra floemli yoki ksilemli elementlarga aylanishi mumkin. Ikkilamchi tabakdlanishga boshkd bir misol bo'lib, tabakdeizlangan faol proferatsiya kiladigan hujayrani - eski (kari) bulinmaydigan kallusli hujayraga aylanib kolishi xizmat qilish mumkin (rivojlanishni statsionar fazasi).

Barcha kurinishdagi ikkilamchi tabakalanishdan eng katta kizikish uygotadigani, bu morfogenezdir, chunki u kallusli hujayradan butun o'simlik yaratish imkonini beradi.

Shuni ham aloxida ta'kid lozimki, kallusli to'qimalar kulturasidan xosil bo'lgan ildizdan hech kdchon butun o'simlik xosil bulmaydi, poyali organogenezda esa dastlab novda xosil bo'ladi va uni ko'proq auksin sakdagan ozuqa muhitlariga kuchirib utkazilgandan keyin, uzidan ildiz chiqaradi va butun o'simlik hosil kiladi.

F.Skuga va Ye.Miller, 1957 yilda auksin va sitokinin tipidagi fitogarmonlarni balansidagi farq, bir tomondan hujayrani tabakasizlangan va tashkil bulmagan proiferatsiyaga, ikkinchi tomondan esa, u yoki bu tipdagi morfogenezni ikkilamchi tabakdlanishini kuchayishiga olib kelishini ta'kidlab utgan edilar. Demaq auksinlar va sitokininlar, ularni bir-birlariga nisbatiga kdrab, yoki tabakdsizlanishi va kallusli rivojlanishga ugish yoki tabakalanish va kallusli to'qimalar morfogenezini chakirishi nafaqat o'sishni boshqarish balki differensirovkani boshkdrishga olib keladi. Shunday qilib, ozikd muhiti tarkibida:

Auksin > sitokinin = ildiz —> kallusli to'qima
Sitokinin > auksin = poya —> novda —> ildiz —>
o'simlik

Agar organogenezni auksin yoki sitokininlar yordamida kuchaytirish mumkin bulsa, somatik embriogenez- ekzogen fitogarmonlarga umuman bogliq emas. Odatda embriogen

zonalar kallusli to'qimalarda, kallus hosil qilish uchun ishlatilgan Oziqa muhitida paydo bo'ladi. Kallusli to'qimalarda somatik kurtaklarni rivojlanishi, Oziqa muhitidan tabakasizlantiruvchi faktor (2,4-D yoki boimqa auksinlar) olib

tashlangandagina boshlanadi. Usayotgan kurtak ekzogen gormonlarga muxtojlik sezmaydi, chunki uni uzi gormon sintez qilish imkoniyatiga ega va o'zini-uzi gormon bilan ta'minlay oladi.

Somatik embriogenezni gormonga muxtojsizligi, Xaberlandt fikriga, keyinroq esa Stevard tomonidan ilgari surilgan «hujayrani ajratish jarayonini uzi, ulardagi totipotentlikni namoyon bulishini kuchaytiradi, ya'ni morfogenezgga utkazadi» degan fikriga argument bo'lib xizmat kiladi.

Shunday kilib, morfogenez uchun asosiy stimul bo'lib, ozikd muhit tarkibidagi gormonlarni bir-biriga nisbati va o'simlik hujayrasini organizmdan ajratib olish xizmat kiladi. Kallusli to'qimalar kulturasida morfogenezida kushimcha stimul bo'lib, ozuqa muhiti tarkibiga kushilgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba'zi-bir aminokislotalar (proin, tirozin, ba'zida serii), poliaminlar (putressin va spermidin) xizmat kiladilar.

Ba'zi bir xdlatlarda morfogenez jarayonini manniy va sorbiy ham kuchaytiradi. NO₃ ionlari kallus to'qimalarda hosil bo'lgan tartibli strukturalarni rivojlanishi va ta'sir ko'rsatadi, ularni induksiyasini esa NH₄ ioni kuchaytiradi. Gibberel kislotasi poyani o'sishini kuchaytirsa, abssiz kislotasi somatik kurtaklarni differensiyasini kuchaytiradi.

Shunisi kizikdrliki, yukorida keltirilgan moddalardan ba'zilari, masalan kumush nitratlari eski kuchatlarni regeneratsiya xususiyatini uzaytiradi.

Morfogenezni kuchaytiruvchi u yoki bu ta'sir okibatida kallusli hujayra deterinatsiya holatiga utishi kerak bo'lsada, ularni 400-1000 dan bittasi regeneratsiya yo'liga utadilar xolos. Demaq morfogenezgga utish uchun induktorni bulishi yetarli emas, balki hujayra unga javob berishga tayyor bulishi kerak. Morfogenezni stimulini kabul qilish kobiliyati hujayrani kompentligi deb ataladi. Olimlarni fikriga hujayrani kompetentligi tasadduf vokeyliq shuning uchun ham juda kam uchraydi. Shu munosabati bilan o'zini kompetentsizligi tufayli morfogenez stimulini kabul kolaolmaydigan kallusli hujayralar xdyoti tugrisida savol tugilishi mukarrar.

Kuchatlarda bu hujayralar bulinishda davom etadi va ko'prok gormonga muhtojlik yo'liga utib oladi. Ammo, kallus to'qimalarni xdmmasi ham o'zini rivojlanishini gormonga muxtojsizlik bilan tugatmaydi.

Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmokda. Meristematik uchok hujayralari va embrioidli strukturalar hosil bulishiga bosh bo'ladigan hujayralar kallusli hujayralardan RNK va DNK sintezini kuchligi bilan fark kiladi. Bu esa Oqsil almashinuvini uziga xosligi bilan boglik. Oqsil almashinuvini uzgarishi, tabakasizlangan hujayralarda utadigan jarayonlarga uxshash bo'lsada, ularni nihoyasi har xil. R.G. Butenkoning fikricha, reaksiyani spetsifikasi (uziga xosligi), makromolekulalarni sintezini umuman kuchayishi bilan emas (bu proliferatsiyani kuchaytirish uchun zarur), balki mana shu umumiy fonda sodir bulayotgan noyob sintezlar va boimaruvcchi tipga ega bo'lgan Oqsillarni paydo bulishini shart kilib kuyishi bilan boglik.

Kallusli kulturalar to'qimalarini morfogenezgga utishi, nafas olish metabolizmini uzgarishi bilan olib boriladi. Umuman nafas olish (SS bo'yicha) kuchayadi, ammo uni harakteri pentozofosfat yo'lini kuchayishi tomon uzgaradi. Nafas olish fermentlarini faolligi oshadi.

Biokimyoviy uzgarishdan keyin, hujayrani strukturasida reorganizatsiya (kayta buzulish) boshlanadi. Hujayrani biokimyoviy uzgarishi uni tuzilishini uzgarishidan oldin turadi. Morfogenez yo'liga kirgan hujayralarda ribosomalar, mitoxondriyalar soni ko'payadi, ularni ichki tuzilishi uzgaradi. Kallusli hujayralarda morfogenez jarayoni sinxronsiz utadi va uzoq davom etadi. Bir vaqtda kallusli tuqimalarda to'liq tuzilgan strukturalar xamda endigina bu yo'lga kirmoqchi bo'lgan hujayralarni xam kuzatish mumkin.

Meristematik uchoqni hujayralarini vaglobulyar proembrioni sintetik faolligini oshishi, ularni ozuqa muhitidagi moddalar intiladigan attragir (ozuqa muhitini fitogormonlar mikdori ko'proq bo'lgan organga yo'llantiruvchi) markazga aylantirib kuyadi. Bunday holatda atrofdagi kallusli hujayralar yemirilib, hosil bo'lgan embrioidlar kallusli hujayralar massasidan oson tushib ketadi.

Morfogenezda utadigan va kallusli hujayralardan o'simlik paydo bulishi bilan tugaydigan barcha uzgarishlar maxsus genlar orkdli boshkdrib (nazorat qilib) turiladi. Hozirgi vaqtda bir guruh olimlar - morfogenezni belgisi poligenli bo'lib, bir necha xromosomalar bilan nazorat kdpib turiladi, deb xisoblasalar, boshqalari- bu belgi ikkita yadro geni bilan aniqdanadi, degan fikrga kelishgan. Kallusli hujayralarni morfo-genetik faolligi genetik tabiatga ega ekanligini uzi, nima uchun ba'zi-bir xrlarda kallusli tuqimalardan u yoki bu genotiplarni regeneratsiyasini olish mumkin emasligini tushuntirib beradi. ***In vitro*** sharoitida morfogenetik faol genotiplarni chatishtirish - regeneratsion imkoniyatlarni (qobiliyatlarni) oshishiga olib kelishi mumkin.

O'simliklarni klonal mikroko'paytirish

Urugli o'simliklar ikki xil yo'l bilan: urugdan va vegetativ yo'l bilan ko'payadi. Bu ikkala yo'lni ustivorligi xam kamchiligi xam bor. Urugdan ko'payishning kamchiligiga eng avvalo, olingan kuchatlarni genetik xilma-xilligi va yuvenil (urugdan chikdan maysadan yoki vegetativ kurtakdan reproduktiv organlar hosil qilish) davrining uzunligini kursatish mumkin.

Vegetativ ko'payishda ona o'simlikni genotipi saqlanib qoladi va yuvenil davr qisqaroq bo'ladi. Ammo ko'pchilik turlar (eng avvalo yogoch hosil qiladiganlar) uchun vegetativ ko'payish muammosi oxirigacha uz yechimini topgani yuq. Bunga asosiy sabablar kuyidagilar:

- > *Birinchidan, ko'pchilik turlar (navlar) uattoki, yuvenil bossichda uam vegetativ usulda kerakli samara bilan ko'payavermaydi (eman, tilogoch, yongotsdoillar va boshkalar);*
- > *ikkinchidan, o'simliklarni ko'pchilik daraxt navlarini 10-15 yoshdan keyin, kalamcha yordamida ko'paytirish mumkin emas;*
- > *uchinchidan, yap doim %am standart ekish materialli olish mumkin emas (yukumli kasalliklar tuplanishi va utishi mumkin);*
- > *turtinchidan, payvand silish orkali katta yoshli (yogochli) o'simliklarni ko'paytirish juda uam kiyin va murakkab; beshinchidan, yil davomida bir xil genetik materialni olish uchun ishlab chuqilgan texnologiyalar samaradorligining uta pastligidir.*
- > *Hujayra va to'qimalara kulturalari bo'yicha erishilgan yutuklar vegetativ ko'payishni tubdan yangi bo'lgan usulini klonal mikroko'paytirish in vitro sharoitida (probirkada), jinsiy bulmagan yo'l bilan, o'simliklarni dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil bo'lgan navini yaratish).*

Bu usul asosida o'simlik hujayralariga xo bo'lgan noyob xususiyat, totipotentliq ya'ni tao'vni ta'sirini butun o'simlik organizmi hosil bulishiga turtki bulishi yotadi. Albatta, bu usulni boshkd an'anaviy usullardan ustunlik tomonlari juda xam ko'p:

- > *genetik bir xil ekish materialining olinishi;*
- > *meristema to'qimalari kulturalari iillatilishi xisobiga o'simliklarni virusli va boshka yukumli kasalliklardan xoli bulishi;*
- > *ko'payish koeffuyientining yu⁴ oriligi (utchil va gulli o'simliklar uchun 10⁴-10⁵; ninabargli o'simliklar uchun 10);*
- > *seleksiya davrining sikarishi;*
- > *o'simlik rivojlanishshini yuvenil davrdan reproduktiv fazaga utishini tezlashishi;*
- > *an'anaviy yo'llar bilan kiyin ko'payadigan o'simliklarni ko'paytirish;*
- > *ishni yil davomida tashkil etish imkoniyatlarining mavjudliqi va kuchat materiallari o'stirish uchun kerak bo'lgan maydonni tejash;*
- > *o'stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyatlari va x.k.*

Klonal mikroko'paytirishni dastlabki muvaffaqiyatlari utgan asrning 50-yillari oxirida fransuz olimi Jorj Morel orxideya usimligining regenerantini yaratganda erishilgan edi. Bu muvaffakiyatga ushu vaqtlarda yaratilgan, **In vitro** sharoitida o'simliklarni apikal meristemalarini ko'paytirish texnikasi uz xissasini kushgan. Odatda olimlar birlamchi eksplant sifatida utchil o'simliklarni ustki meristemalaridan foydalanadilar, va ozuqa muhiti tarkibini o'simlikni regeneratsiya va paydo bulish jarayonlariga ta'sirini urganadilar. Xuddi shu maqsadda chinnigul, xrizantema, kungabokdr, nuxat, makkajuxoriqokiut va boshkd uismliklar urganib chiqilgan edi.

J.Morel uz tajribalarida xuddi shunday qilib, simbidium (orxideyalar oilasiga mansub o'simlik)ni uchki qismini ishlatgan. U o'sib kelayotgan konussimon kurinishdagi va ikki-uch barg oldi elementlaridan iborat bo'lgan va undan ma'lum sharoitda kubballi, yumalok-prokariotlar paydo bulishini kuzatgan edi.

Xrsil bo'lgan (yetilgan) protokormlarni bulish va keyin aloxida mustakil ravishda yangi tayyorlangan ozuqa muhitida barg va ildiz paydo bulguncha o'stirish mumkin bo'lgan edi. Natijada u, bu jarayon chegarasiz ekanligini va yuqori sifatli genetik bir xil, virussiz ekish materialini juda xam ko'p mikdorda tayyorlash mumkinligini kuzatgan edi.

Rossiyada klonal mikroko'paytirish professor R.G.Butenko nomi bilan bogliq. K.A.Temiryazev nomidagi o'simliklar fiziologiyasi institutida bu olima uz shogirdlari bilan, kartoshka, kdnd lavlagi, chinnigul va boshkd gullarni klonal ko'paytirish sharoitlarini ishlab chikkdn.

Shuni ham eslatib utish urinliki, mikroko'paytirishdan foydalanish doirasi juda keng bo'lib, kundan kunga yanada oshib bormokda. Eng avvalo bu **in vitro** sharoitida o'simliklarni yogochli turlarini, ayniqsa, ingibitorlar va bu usulni yukrli ketayotgan o'simliklar xmda dorivor o'simliklarni ko'paytirish uchun ishlatilganda katta samara beradi.

Yogochli (daraxtlarni) o'simliklarni to'qima kulturasi bo'yicha birinchi ilmiy ishlar 1920 yillarda chop etilgan bo'lib, fransuz olimi Gotre nomi bilan bogliq. Bu makrlalarda tilogoch daraxti kambial to'qimalarini **in vitro** sharoitida kallusogeneza imkoniyatlari (krbilyatlari) borligi xabar qilingan. 1960 yillarda

Mates degan olim birinchi marta **OSIN** daraxti regenerantini olishga erishgan va uni tuprokda ekishgacha yetkazgan. Nina bargli o'simliklarni **in vitro** sharoitida o'stirish uzoq vaqt tajriba sifatida ishlatilib kelindi. Bu o'simlikdan ajratib olingan yuvenil ayniqsa, katta yoshli to'qimalarni o'sishida uziga xos qiyinchiliklar borligi bilan bogliq

Hozirgi vaqtga kelib, **in vitro** sharoitida ko'paytirilgan yogochli o'simliklar soni 40 oilaga mansub bo'lgan 250 turdan oshib ketgan (kashtan, dub, kdyin, zarang, tog teragi, tolnei tog teragi bilan gibridi, sosna, archa va x.k.).

O'simliklarni klonal mikroko'paytirishni usullari va bosqichlari

Klonal mikroko'paytirish jarayonini 4 ga bosqichga bulish mumkin:

- > *birinchi - donor o'simlikni tanlash, eksplantlarni ajratish va yaxshi usadigan steril kultura olish;*
- > *ikkinchi - mikroko'paytirishni uzi, bunda meriklonlarni eng ko'p (maksimal) mikdorini olishga erishiladi;*
- > *uchinchi - ko'paytirilgan navdani ildiz olishi va ularni tuprots sharoitiga moslashtirish, kerak bo'lganda regenerant - o'simliklarni sovuts haroratda (+2°, +10°) saklash;*
- > *turtinchi - o'simlikni issikxona sharoitida o'stirish va ularni maydonga chikarib ekish yoki sotishga tayyorlash (3.8-rasm).*

Klonal mikroko'paytirishni ko'p usullari ma'lum. Ko'plab mualliflar eksplantlarni o'stirishga sharoitni morfogenez jarayoniga ta'sirini urgana borib, o'stirish sharoitini uzgarishiga har xil morfogenetik reaksiya bulishini kuzatganlar, bu esa klonal mikroko'paytirish metodlarini yangi klassifikatsiyasini yaratishiga olib keldi.

Ilmiy adabiyotlardan ma'lum bo'lgan, o'simliklarni mikroko'paytirish uslublari asosida, bu jarayonni kuyidagi yo'llar bilan amalga oshirish mumkin:

- > *o'simlikda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini jadallashtirish (poya apeksi, poyani kurtaklari);*
- > *eksplantlar to'qimalarida tugridan - tugri adventiv kurtaklar xosil bulishini induksiya qilish;*
- > *somatik embriogenezni induksiya qilish;*
- > *birlamchi va kuchat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni tabakalashtirish.*

O'simliklarni klonal mikroko'paytirishda ishlatiladigan asosiy usul - bu o'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish bo'lib, u apikal ustivorlikni (dominirovaniya) olib tashlashga asoslangan (3.9-rasm).

Bunga ikki yo'l bilan erishish mumkin:

- > *poyani tepa meristemasini olib tashlash va keyin navdani in vitro sharoitida gormon satslamagan muuqtda mikrotsalamchalash;*
- > *ozutsa muuqtiga sitokinin ta'siriga ega bo'lgan moddalar kutit (navdani o'sishini kuchaytirish).*

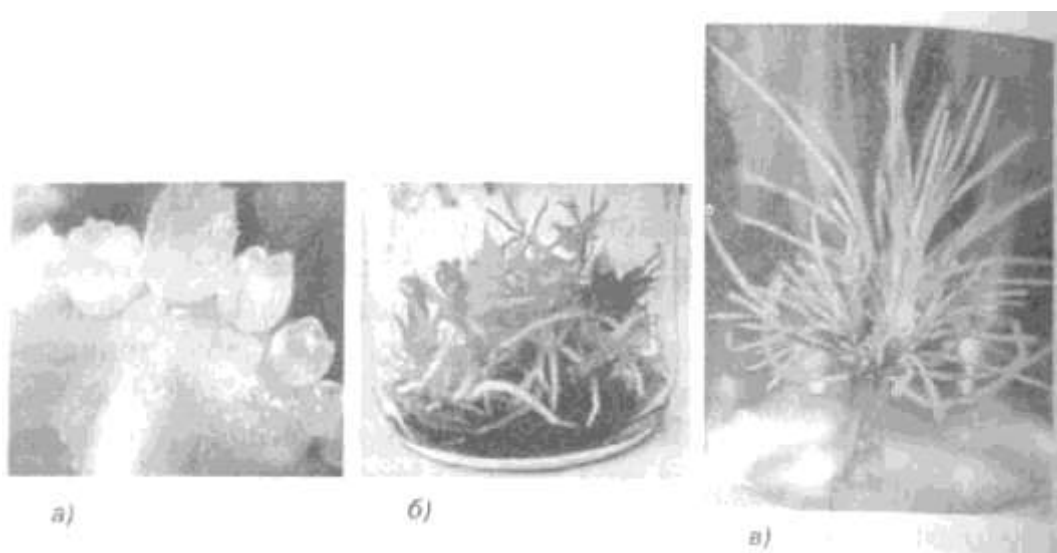
Odatda, sitokinin sifatida - 6-benzilaminopurin (BAP), 6-furfurilaminopurin (kinetin), xamda 2-izopenteniladenin (2ip) va zeatin ishlatiladi.

Shunday yo'l bilan olingan navdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va kdytadan yangi tayyorlangan ozuqa muhitida o'stiriladi. Hozirgi vaqtda bu usul kishloq xo'jalik o'simliklarini virussiz ekuv materiallarini tayyorlashda keng qo'llaniladi. Shu yo'l bilan kdnd lavlagi, tamaki, xmel, topinambur, pomidori, kartoshka, bodring, kalampir, oshkovoq va boshqa o'simliklarni sog'lomlashtirilgan kuchatlarini tayyorlash yo'lga kuyilgan.

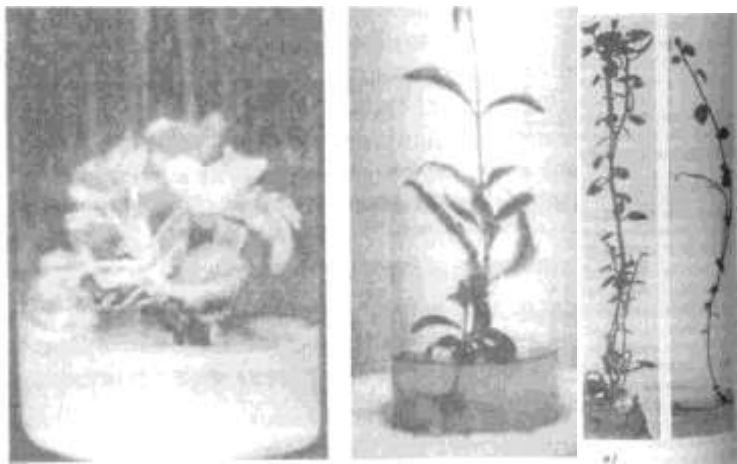
Ikkinchi usul - Bu eksplant to'qimalarida tugridan-tugri adventiv kurtaklar paydo bulishini kuchaytirish (induksiya qilish). Bu usul o'simlikni ajratib olingan qismini kulay ozuqa muhitida yetishmagan qismini (organlarini) xosil qilishiga asoslangan, shunday qilib, butun o'simlik reneratsiya (hosil) qilish.

Adventiv kurtak xosil qilishni o'simlikni xoxlagan organi va to'qimasi (ajratib olingan kurtaq barg, poya, urugpalla, ildizni bir qismi va x.k) asosida tashkil etish mumkin.

Ammo, material zaharlanmagan (yukumli kasalliklardan xoli) bulishi shart. Bu jarayon, odatda aloxida sitokinin yoki uni auksin bilan aralashmasi (10:1 yoki 100:1) sakdagan ozuqa muhitida amalga oshadi. Auksin sifatida ko'proq 3-indolil-3-sirka kislota (IUK) yoki os-naftilsirka kislota (NUK) ishlatiladi.



Bu mikroko'paytirishni eng keng tarkdlgan usuli bo'lib, shu usul bilan ildiz mevali gullar (narsissa, liliya, giatsint, gladiolus, lolakizgaldok); Brassica avlodiga mansub o'simliklar (rangli karam) shuningdek piyoz, sarimsokpiyoz, pomidor va boshkd bir qator o'simliklar kuaytirilgan (3.11- rayem).



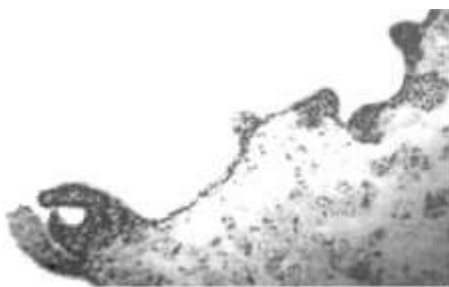
A

b

3.10-rasm. O'simliklarni *in vitro* sharoitida bor bo'lgan meristemalarni o'sishini faollashtirish usuli: a — staxis; b — anor; v — kartoshka.

Yosh va virus bilan kasallanmagan, sog'lom o'simlikni yuqori meristemasini ajratib olib, uni Murasiga va Skugani modifikatsiya qilingan ozikd muhitida o'stiriladi. Ozuqa muhiti 0,1-0,5 mg/l 6- benzilaminopurin (BAP) sakdashi kerak. 3-4 hafta uttandan keyin meristema maysaga aylanadi va uni asosida adventiv kurtaklar xosil bula boshlaydi, xmda tez rivojlanib. Yangi kurtak soldilar. 6-8 xdfa mobaynida kurtaklarni tartibsiz yigindisi (konglomerati) xosil bo'ladi. Bu kurtaklar rivojlanishni har xil bosqichida bo'lib, bir-birlari bilan boglovchi to'qimalar orkdli boglangan bo'ladi. Kalta kdlamchalardan barglar paydo bo'ladi, ularni tagida esa yangi adventiv kurtaklar chikd boshlaydi.

Mana shu kurtaklarni ajratib olib yangi ozuqa muhitiga ekiladi. Sitokinin sakdagan muhitda novdalarni proliferatsiyasi (ko'payish orkali yangi hujayra va to'qimalarni hosil bulishi) davom etadi, gormon sakdamagan muhitda esa 4-6 hafta davomida normal xolatdagi, ildiz va bargli o'simlik xosil bo'ladi. Eksplantni morfogenetik faolligi 3-4 yil mobaynida sakdanadi. Shunday kilib, bitta o'simlikdan bir yilda bir necha million regenerant o'simlik yetishtirish mumukin.



3.13-rasm.
Eksplantni epidermal va subepidermal hujayra =dvatida adventiv kurtaklarni xosil bulishi

Shuningdeq adventiv kurtaklar meristematik hujayralarni yuqori katlamidan pydo bulishi xam kursatib utilgan. Sosna daraxti misolida adventiv kurtakni kurtakni urugpallasini va subepidermal kavatlarida paydo bulishi kuzatilgan va bu jarayon sosna uchun ishlatiladigan sitokininlarga bogliq emasligi kursatib utilgan (3.13-rasm).

Klonal mikroko'paytirishda qo'llaniladigan uchinchi usul. Somatik hujayralardan, tashqi kurinishi zigotali kurtakchaga uxshagan kurtaksimon strukturani tabakalanishiga (differensiatsiya) asoslanadi. Bu usul somatik embriogenez deb nom olgan. In vitro sharoitida kurtak xosil bulishini in vivo (tabiiy) xolatdagidan farki shundan iboratki, somatik kurtaklar, kurtak kopchasidan

tashkirda aseksual rivojlanadilar va uzlarini tashki kurinishlari bo'yicha bir vaqtni uzida poya va ildizni apikal meristemalarini rivojlanishi kuzatiladigan ikki polyarli tuzumani eslatadilar. Somatik kurtaklar rivojlanishni uch bosqichini utaydi: globulyar, yuraksimon, torpedosimon va okibatda maisa bo'lib unib chiqadi. 1950 yillarda sabzi hujayralarida birinchilardan bo'lib kuzatilgan bu kurinish hozirgi davrda Orchidaceae va Rutaceae oilalariga mansub bo'lgan shuningdek boshoklilarni ba'zi birlarini (bugdoy arpa) beda, redis, tok va ba'zi daraxtlar kabi ko'plab o'simliklarni ko'paytirish uchun ishlatilib kelinmoqda.

TO'QIMA kulturasida embrioidlarni paydo bulishi ikki bosqichda amalga oshadi: *Birinchi bossichda hujayra eksplantlari ozutsa muhiti tarkibiga solingan akusinlar, eng avvalo 2,4 - dixlorfenoksirka kislotasi (2,4 -D) xisobidan embrionalga aylanadi.*

> *Ikkinchi bossichda xosil bo'lgan hujayralarni embrioidlargacha rivojlanishiga majbur silish kerak bu esa, ozutsa muhit tarkibidagi auksinlarni mitsdorini kamaytirish yoki ularni butunlay chitsarib tashlash orsali amalga oshiriladi.*

> 14-MA`RUZA

> **Mavzu: Biotexnologiyada odam va hayvon hujayra kulturalarini qo'llash.**

Reja:

- > 1. Hayvonlar hujayra muhandisligi usullari va yutuqlari.
- > 2. Monoklonal va poliklonal antitelolar ishlab chiqarish texnologiyasi.

> Qishloq xo'jaligi hayvonlarining ko'payishi va serpushtlik xususiyati aniq irsiy nazorat ostida amalga oshadi va bular garmonlar statusiga bog'liq. Hayvonlar ko'payishda ayrim garmonlarning ta'sir kuchi aniqlangan. Masalan, FSG (follikulalarning yetilishi nazorat qiladi) va LG (lyutinlashtiruvchi garmon). Gen injeneriyasi oldida mana shu garmonlarni biotexnologik usul bilan ishlab chiqish va shu bilan ularning ko'payishiga ta'sir qilish mumkin.

> Shu nuqtai nazardan, serpushtiligi yuqori bo'lgan hayvonlarning seleksiya qilish yo'li bilan ularning sonini oshirish mumkin. Masalan. Burula zotli qo'ylarda serpushtlik geni o'rganilib, uning tuxumdonga ta'siri aniqlangan. Shu zotni boshqa merinos qo'ylar bilan chatishtirish natijasida va ularni tanlash, saralash ishlari olib borilganda qo'ylarning serpushtligini 40-60%ga oshirish mumkin. Lekin shu darajaga yetkazish uchun kamida 30 yil kerak bo'ladi. Serpushtlik xususiyati genlarning poligen ta'siriga bog'liq. Mana shu jihatlardan foydalanib, gen injenerlik usuli bilan burula-gen deb atalmish genni boshqa qo'ylar genomiga joylab qo'yish tufayli ularning pushtdorligini oshirish mumkin.

> Tibbiyot sohasida embrionlarni ko'chirib o'tkazish befarzandlik muammosini hal qilishda muhim ahamiyatga ega. Ammo bu usulning uy hayvonlarini urchitishda qo'llanilishi ko'pchilikka korongi bo'lsa kerak. Shuning uchun embrionlarni ko'chirib o'tkazishing o'zi nima va bu usulda qanday

muammolar mavjudligi shu maqsadda ko'rsatib o'tishni o'z oldimizga maqsad qilib kuydik.

> Embrionlarni ko'chirib o'tkazish - otalangan qiz hujayralarni bir hayvon tanasidan ikkinchisiga joylab quyishdir.

> Hozirgi paytda bu usulni amalga oshirish turli uy hayvonlarida har xil yo'llar bilan bajarilmokda. Masalan: kuy, echki, to'ng'iz, quyon va boshqalarda laboratoriya hayvonlarida embrionlarni ko'chirib o'tkazish fakat jarrohlik yo'li bilan amalga oshirilsa, qoramollarda hamda yilqilarda bu usul maxsus asboblarda yordamida tanaga ziyor yetkazmasdan bajariladi. Albatta bu ishlarni amalga oshirishda mutaxassisdan yuqori darajada bilim va uquv talab etiladi. Bunda har bir hayvon turining tana tuzilishi va fiziologiyasining o'ziga xosligini unitmaslik kerak. Negaki, embrionni bir turdagi hayvondan olib ikkinchisiga qo'yib bo'lmaydi.

> Uy hayvonlari ichida embrionlarni ko'chirib o'tkazish qoramollarda yaxshi o'rganilgan bo'lib, buning uchun embrion olinadigan sigir (donor) tanasiga maxsus gormonlar yuboriladi, natijada ular tuxumdonida ko'plab kiz hujayralar bachadonga tushadi, Sigir sun'iy qochirish yo'li bilan ana shu kiz hujayralar otalantiriladi va 6-12 kun o'tgandan keyin hali mikroskopik hajmda (0,5-2 mm) bo'lgan embrionlar maxsus suyuqlik yordamida bachadon yuvish yo'li bilan idishlarga tushirib olinadi. Suyuqlik ichidagi embrionlar maxsus mikroblar yordamida topilib sifati aniqlanadi. Shundan keyin ko'chirib o'tkazishga yaraydigan embrionlar boshqa sigirlar (retsipiyentlar) bachadoniga maxsus kateterlar yordamida joylab qo'yiladi. Ko'chirib o'tkazilgan embrion "Yangi" ona qornida rivojlanib ketishi uchun, retsipiyent sigir kuyga kelgandan keyingi vaqt embrion yoshiga to'g'ri kelishi kerak. Sababi, donor va retsipiyent sigirlar bachadonidagi suyuqlik tarkibi ana shundagina bir-biriga mos bo'ladi. Odatda har bir donor uchun 5 tadan retsipiyent tayyorlanadi.

> Mana shu barcha texnik jarayonlar xatosiz amalga oshirilgan taqdirda ko'chirib o'tkazilgan embrion "yangi" ona qornida o'sish va rivojlanishni davom ettirib 285 kundan keyin to'laqonli buzoq bo'lib tug'iladi.

> Agar biz shu sohada qilingan ishlar tarixiga nazar tashlaydigan bo'lsak, embrion shaklini tasvirlash XVIII asrga borib taqaladi. XIX asrning oxirlarida birinchi marotaba Valter Xip tomonidan embrionni ko'chirib o'tkazishga urinib ko'rilgan. Viksonsiya Universitetida Viyett tomonidan 1950 yili birinchi marotaba embrionni ko'chirib o'tkazishdan buzoq olingan. 1974 yili embrionni ko'chirib o'tkazish bo'yicha umumjahon jamiyati (MOPE) tuzilib bunga 26 mamlakat kirgan. Shu jamiyat ma'lumotiga qaraganda jahonda embrionni ko'chirib o'tkazish usuli bilan 1981 yili 35 ming buzoq olingan bo'lsa, 1995 yilga kelib 1 milliondan ziyodroq buzoq olindi. Bu usul ayniqsa AQSh, Fransiya, Angliya, Olmoniya, Gollandiya, Isroil kabi chorvachiligi yuqori darajada rivojlangan mamlakatlarda keng yo'lga qo'yilgan. Xush, bu sohaga shunchalik qiziqishning sababi nimada? Birinchidan ushbu usul bilan hayvonlar urchishidagi tabiiy to'siq buzilib ular ko'payishdagi imkoniyatlar kengaytiriladi. Ma'lumki, urg'ochi uy hayvonlari butun umri davomida 5-10 tadan ziyod nasl koldirmaydi. Vaholanki ularning tuxumdonida yuz minglab pishib yetilmagan qiz xujayralari mavjudligi aniqlongan. Buqalarning nasl qoldirishi borasidagi imkoniyatlari bundan ham ortiq bo'lib, ular yiliga trilliondan

ziyod urug' ishlab chiqishi, sun'iy yo'l bilan 50 ming sigirni qochirish mumkin, lekin tabiiy sharoitda ular faqat o'nlab nasl qoldirish imkoniyatiga ega. Hayvonlar ko'payishidagi mana shu juda katta imkoniyatlar foydalanilmaydi. Bu imkoniyatlardan to'laqonli foydalanishda embrionlarni ko'chirib o'tkazish usuli qo'l keladi. Ayniqsa bu usul yuqori mahsuldor hayvonlar sonini tez ko'paytirishda katta ahamiyatga ega. Masalan, bitta yuqori mahsuldor sigirdan embrionni ko'chirib o'tkazish yo'li bilan yiliga 10 va undan ortiq buzoq olish mumkin. Bunday buzoqlar irsiy jixatdan bir-biriga yaqinligi bilan tabiiy sharoitda olingan buzoqlardan farq qiladi. Bu esa ularni parvarishlashda va keyinchalik sut mahsuloti ishlab chikishda qo'l keladi. Bu usulning yana bir ustunlik tomoni shundaki, qariligi tufayli tabiiy sharoitda nasl qoldirish imkoniyatiga ega bo'lmagan yuqori mahsuldor sigirlardan ham ko'plab embrionlar olib retsiپیent-sigirlarga o'tkazish mumkin. Qishloq xo'jalik hayvonlarini tanlash va saralash tufayli hozirgi paytda yangi texnologiyaga hamda jo'g'rofiy iqlimga mos yangi zotlar yaratilgan. Bundan 100 yil oldin sigirlarning o'rta sut mahsuldorligi yiliga 100-200 litrni tashkil qilgan bo'lsa, hozirgi paytda bu ko'rsatkich ayrim mamlakatlarda 5 ming litrdan oshib ketadi. Lekin O'zbekiston sharoitida bu ko'rsatkich xali ham past bo'lib o'rtacha 2300 litrni tashkil etdi.

> Embrionlar ko'chirib o'tkazishda donor sigirlar sut mahsuldorligi podanikidan 3 ming kg yuqori bo'lganda yaxshi samara berib 5 ming kg dan kam bo'lmasligi kerak. Sigirlarning sut mahsuldorligini oshirish uchun yuqorida aytilgan usulni qo'llash yaxshi natija beradi.

> Ayniqsa hozirgi paytda muammo bo'lib turgan masala hayvonlarni har xil kasalliklarga chidamliligini oshirish borasida bunda ham embrionlarni ko'chirib o'tkazish usuli qo'l keladi. Buning uchun yuqori mahsuldor hayvonlardan olingan embrionlar, sharoitga moslashgan, kasallikka chidamli retsiپیentlarga qo'yiladi. Hozirgi paytda embrionlarni muzlatish va hohlagan payta eritib retsiپیent hayvonlarga qo'yish amaliyotida - keng qo'llanilmoqda. Maxsus muzlatgichlarda muzlatilgan embrionlar dunyoning hohlagan burchagiga olib borilish va shartnoma asosida yuqori mahsuldor podalar yaratilishi mumkin. Eng muhimi shu pul bilan embrionlarni bir mamlakatdan ikkinchisiga olib o'tilganda kasallik tarqalishi extimoli yo'qoladi.

> Bu usulning qimmatli tomoni yana shundaki yo'qolib borayotgan hayvonlar embrionlari uzoq, muddatga muzlatilib ular genofondi yaratiladi. Embrionlarning ko'chirib o'tkazishning yana bir muhim tomoni shundaki, ularni bo'laklarga bo'lib retsiپیentlarga o'rnatish mumkin. Buning uchun embrionlar 60 ta hujayrali bo'lganda ular 2 va 4 bo'laklarga bo'linadi va har qaysisi bittadan retsiپیentga o'tkaziladi. Natijada bir xil irsiyatga ega bo'lgan hayvonlar olinadi.

> Hozirgi paytda chorvachiligi yuqori darajada rivojlangan mamlakatlarda hayvonlarning kunlik o'sishdagi biologik potentsiali egallandi. Ammo sigirlar orasida yiliga 25 ming va undan ortiq sut beradigan hayvonlar mavjud. O'rtacha sut mahsulotini yuqori darajaga yetkazish uchun olimlar tomonidan embrionlar proneukleusiga yuqori darajada sut berishni nazorat qiladigan genlarni o'rnatish ustida ish olib borilmokda.

> Yuqorida biz urg'ochi hayvonlar tuxumdonida yuz minglab qiz hujayralar

otalanish darajasiga yetmasdan surilib ketishini aytgan edik. Hozirgi paytda jahonning ko'pchilik laboratoriyalarida ana shu qiz hujayralar olinib, maxsus suyuqliklarda parvarish qilinib otalanish darajasiga yetkazish na tanadan tashqari (in vitro) otalantirilib retsiptiyentlarga quyish muammosi ustida ishlayapti. Bu sohadagi jiddiy muammolardan biri embrionlarning qaysi jinsga mansubligini aniqlash. Hozirda mavjud bo'lgan usullardan foydalanilganda 70 % embrionlarni jinsi to'g'ri aniqlanyapti. Ana shu muammolar bosqichma-bosqich amalga oshirilsa embrionlarni ko'chirib o'tkazish usuli hayvonlarni urchitishda asosiy usul bo'lib qoladi.

> Ma'lumki amaliy seleksiya ikkita muhim yondoshishga bog'liq, birinchidan irsiy xilma-xillik va ikkinchidan genotiplar seleksiyasiga. Hujayra texnologiyasi irsiy xilma-xillikni yaratishda mutloq boshqacha yo'l tutadi. Bunga o'zini klonlash natijasida hujayrada indutsiyalashgan mutant olish, hujayra seleksiyasi, somatik hujayralarni gibridlash, sitoplazmatik genlarni ko'chirib o'tkazish va boshqalar kiradi: sigirlar, ayniqsa yuqori mahsuldor sigirdan nasl olish past darajada bo'lganligi uchun genetik progress cheklangan bo'ladi. Mana shu tabiiy to'siqni olib tashlash usuli embrionlarni ko'chirib o'tkazish usuli hisoblanadi. Embrionlarni ko'chirib o'tkazish esa o'z navbatida quyidagi 4 omilga bog'liq: 1) ko'plab tuxum hujayralarni chiqarish va ularni otalantirish: 2) embrionni yig'ish: 3) embrionni ko'chirib o'tkazish: 4) embrionni muzlatish va saqlash. Mana shu omillar ichida birinchisi, ya'ni ko'plab tuxum hujayralar chiqarish uchun, donor sigirlar superovulyatsiya qilinadi. Shuni aytish kerakki, jahon miqyosida ham hozirgi paytga kelib, garmonlar bilan ishlov berilgan hayvonlar qancha va qanday sifatda embrion berishni oldindan tavakkal qila olmaydi. Ko'plab tuxum hujayralar chiqarish uchun donorga, gonadotropin garmoni yuborishdan oldin ular tuxumdonidagi sarik tanachaning xajmi 1,5 sm dan oshgan bo'lmasligi yaxshi natijalar berishi e'tirof etilgan. Agar tuxumdonlardan birida hajmi 10 mm va undan kattaroq follikula borligi aniqlansa, unda hayvonlarni garmonlar bilan ishlov bergandan qat'iy nazar yaxshi natijalar bermasligi olimlar tomonidan isbotlangan. Bundan xulosa shuki, urg'ochi hayvonlarni garmonlar bilan ishlov berishdan oldin, ularni tuxumdonlarining fiziologik holati yaxshilab tekshirilishi kerak. Tajribalar shuni ko'rsatdiki hayvonlarning hammasi ham gonadotropin garmoniga bir xil reaksiya beravermaydi.

> Gonadotropin garmonlarini hayvon tanasiga yuborish ular jinsiy davrning 10-12 kunlarni yaxshi natijalar beradi. Bundan tashqari sifatli embrionlar olish yil fasllariga va oziqa to'yim-liligiga bog'liqligi tajribalarda isbotlandi. Sun'iy yo'l bilan ovulyatsiya chaqirish qo'y va echkilarda ham qoramollarnikidek bo'lib, faqat tanaga garmon yuborishni jinsiy davrining 11-13 kunlari tashkil qilinadi va ularning kuyikka kelishi ishlov bergandan keyin 2-4 kundan keyin bo'ladi. Cho'chqalar ko'p nasl beradigan hayvonlar guruhiga kirib, ulardan embrion olish garmonlar bilan ishlov bermasdan ham bajarish mumkin. Shunga qaramasdan garmonlar bilan ishlov berilganda 33-38 % ko'proq embrionlar olish mumkin. Otlarda garmonlar bilan ishlov berilib, embrionlar olish to'lig'icha ishlab chiqilmagan. Shunday qilib, yuqoridagi ma'lumotlardan ayon bo'ladiki, hayvonlarga garmonlar bilan ishlov berib, embrionlar olish ko'p ta'sirga bog'liq. Shuning uchun ham hayvonlardan

sun'iy yo'l bilan embrion olishni oldindan aytish qiyin.

> Garmonlar bilan ishlov berilgan hayvonlarni o'z vaqtida qochirish sifatli va kerakli miqdorda embrion olishda muhim ahamiyat kasb etadi. Garmonlar bilan ishlov berilgandan keyin kuyikka kelgan sigirlarni ovulyatsiyadan 12-18 soat oldin qochirish yaxshi natijalar beradi.

> Odatda ovulyatsiya soni follikulalar - o'rnida vujudga keladigan sariq tanachalar soni bilan o'lchanadi. Ovulyatsiya natijasida chiqqan tuxum hujayralar va ular otalanishdan keyin rivojlanayotgan embrionlarni, hozirgi paytda mavjud bo'lgan zondlar bilan, 60-70 % ini yuvib olish mumkin. Shundan 20 % otalanmagan tuxum hujayralarni tashkil qiladi.

> Hozirgi paytda embrionlarning sifatini aniqlash uch yo'nalishda olib borilmoqda; 1) embrionlarning tashqi ko'rinishidagi bir-biriga bog'liqlik, ularning yoshiga muvofiqligi va ular ko'chirib o'tkazilgandan keyin yashab ketishi; 2) embrionlari modda almashinuvini o'rganib, ular hayotchanligini aniqlash; 3) embrionlar qobig'i va blastomerlar sitoplazmasining har xil bo'yoqlarga nisbatan adsorbsion qobiliyatini o'rganish. Bu usullarni barchasi ham kamchiliklardan holi emas. Shunga qaramasdan hozir amaliyotda embrionlar faqat ularning morfologik ko'rinishi bilan baholanib, sifati aniqlanmoqda.

> Ma'lumki, embrionlarni ko'chirib o'tkazishda bahosi yuqori bo'lgan otalangan tuxum hujayralardan foydalanish yaxshi samara beradi.

> Retsipiyent sigirlarga embrionlarni ko'chirib o'tkazish jarayoni donor-sigirlardan embrionlarni yuvib joylashtirilgan asbob (kateter) tuxumdonida sariq tanachasi bor bachadon shoxining yuqori qismiga ustalik bilan olib borilib tashlanadi.

> Otlarda embrionlarni ko'chirib o'tkazish qoramollardagidek va jarrohlik yo'li bilan amalga oshirilishi mumkin. Kuy va chuchkalarda bu jarayon fakat jarroxlik usuli bilan amalga oshiriladi. ko'chirib o'tkaziladigan embrionlar soni chuchkalarda 4 tadan kam bo'lmasligi kerak. Bundan kam bo'lgan holda embrionlar bachadon devoriga yopishmaydi (inplantatsiya) va ularda keyingi rivojlanish bo'lmaydi.

> Embrionlarni ko'chirib o'tkazishda ularni donor-sigirdan yuvib olingandan keyin retsipiyent-sigirga joylanganiga kadar bo'lgan vaktida qanday saqlash muhim ahamiyatga ega. Bu davr 37 gradusli haroratda, ko'pchilik olimlarning fikricha, 2 soatdan oshmasligi kerak. Lekin bu davrni uzaytirish uchun embrionlarni maxsus asboblarda muzlatish va kerak bo'lganda eritib foydalanish mumkin.

> Embrionlarni muzlatish maxsus avtomat asboblarda amalga oshirilib, belgilangan dasturda ishlaydi, u 3 qismidan iborat bo'lib: elektron bloki, muzlatish kamerasi va suyuq azot saqlanadigan idishdan iborat. Muzlatgich vazifasini azot par bajaradi. Hozirgi paytda embrionlarni muzlatish va eritib retsipiyent hayvonlarga ko'chirib o'tkazish natijasida ko'plab buzoq, qo'zi va cho'chqa bolalari olinmoqda.

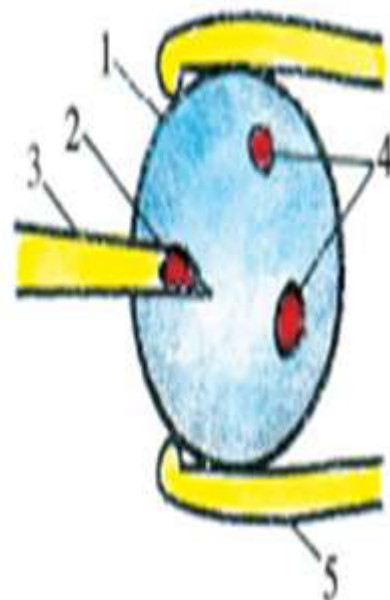
> Embrionlar donor hayvonlardan yuvib olingandan keyin, yoki sun'iy sharoitda tuxum hujayralar o'stirilib, in vitro sharoitida otalantirilgandan so'ng har xil mikromanitulyatsiya ishlari olib borilishi mumkin, Masalan, embrionlar yadrosini boshqa yadrosizlashtirilgan tuxum hujayraga ko'chirish ko'plab bir xil nasl olishni klonlashni beradi. Bu usul ayniqsa sigirlarni xirurgiyasiz yo'l bilan

yuvish ishlatila boshlangandan keyin keng quloch yoydi. Agar yuqori mahsuldor donor-sigiridan beshta 32 hujayrali embrion yuvib olinsa va har bir hujayra yadrosi alohida tuxum hujayraga ko'chirilsa, bir donordan 160 embrion olingan bo'ladi. Briggs va King (1952) aniqlashicha embrionlar yosh paytida ular yadrosi ko'chirilsa hujayraning rivojlanishi yaxshi bo'ladi. Yadrosi ko'chirib o'tkaziladigan embrion kechki stadiyada bo'lsa, hujayra rivojlanishi bo'lmaydi. Chunki embrionlar bu davrda uzlarini RNK sintezini amalga oshira boshlaydi. Oldingi davrda esa ona transkripsiyasi amalga oshiriladi. Shunday qilib qo'y va qoramollarda olib borilgan tajribalar bo'linayotgan yosh embrionlar yadrosini qaytadan programmashtirish, ya'ni ko'chirib o'tkazilgan tuxum hujayraga moslashtirish mumkinligini ko'rsatdi. Shu imkoniyatdan foydalanganda bir embriondan ko'plab andoza olish imkoniyatini beradi.

>

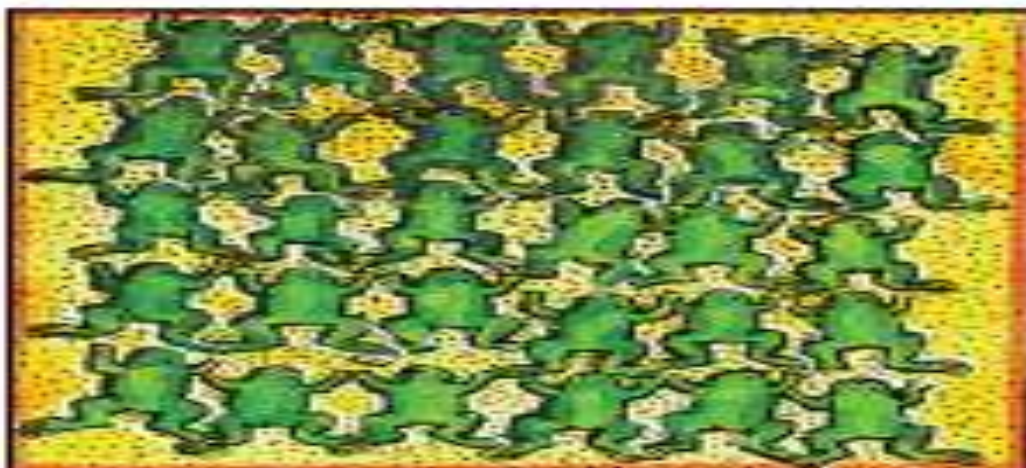
>

Baqa klonlarini olish jarayonida yadroni ko'chirib o'tkazish. Urug'lantirilgan tuxum hujayradan ikkala pronukleus olib tashlanadi va tuxum hujayraga boshqa baqa ilk embrion hujayrasidan yadro olib kiritiladi. 1 — urug'lantirilgan tuxum hujayra; 2 — yot tuxum hujayradan olingan yadro; 3 — mikrotomizgich; 4 — pronukleus olib tashlanishi shart; 5 — ushlab turuvchi tomizgich.

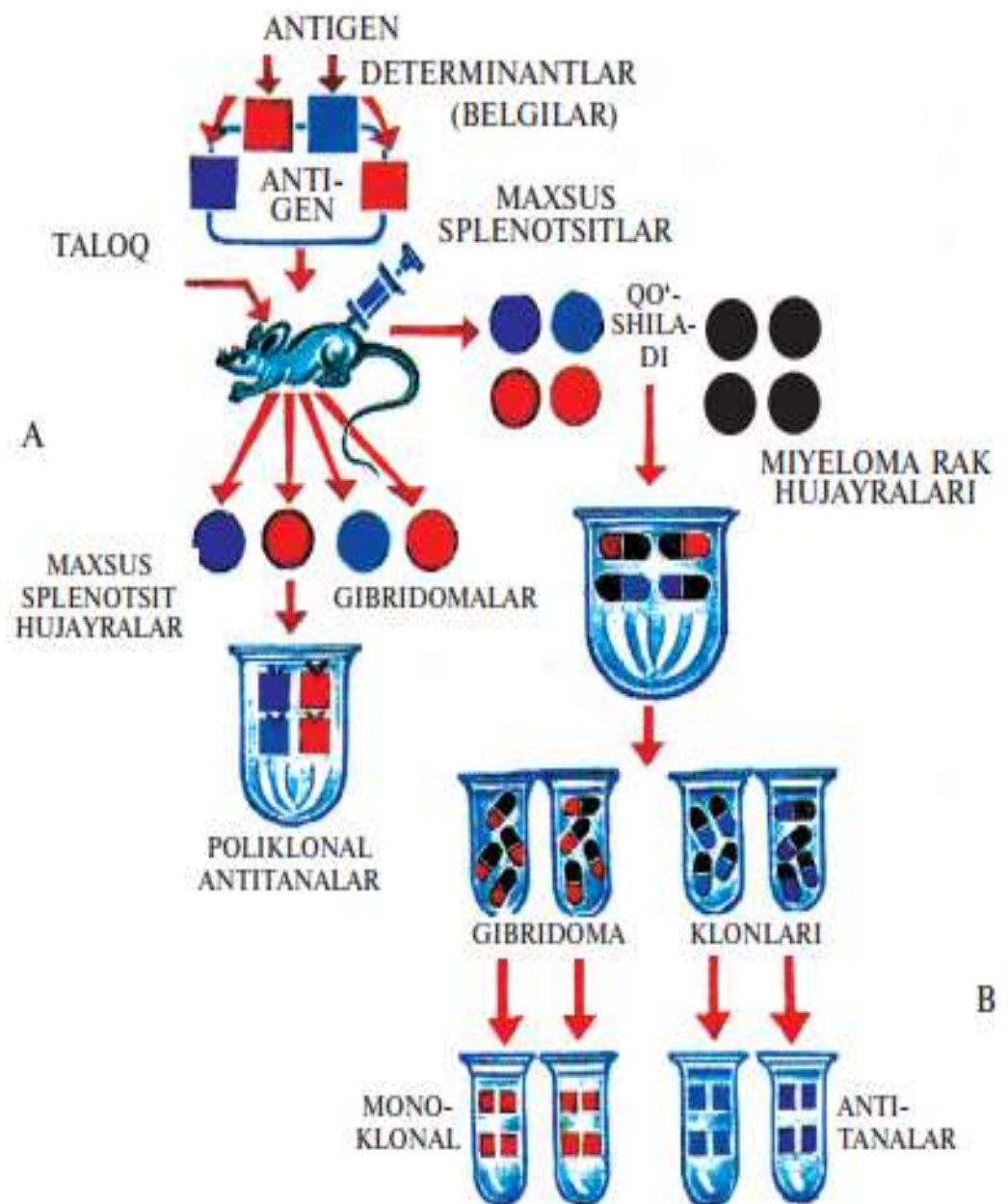


>

>



Yirik qora rangli baqa tuxum hujayrasining pronukleuslarini olib tashlab, o'rniga mayda oq baqa tuxum hujayrasining yadrosi kiritilgan. Shu usul bilan yirik qora baqaning tuxum hujayrasidan mayda oq baqa kloni olingan.



Poliklonal va monoklonal antitana olish sxemasi.

A. Poliklonal antitana olish. Sichqon biror antigen modda bilan immunizatsiya qilinadi. Taloq hujayralarida moddaning har xil antigen guruhlariga alohida antitana sintez qiluvchi maxsus splenotsitlar hosil bo'ladi. Ular moddada faqat o'ziga tegishli antigen guruhni tanib oladi. Hosil bo'lgan har xil antitana aralashmasi *poliklonal antitana* deb ataladi.

B. Gibridoma olish va monoklonal antitana sintezi.

Antigenga javoban hosil bo'lgan splenotsitlar miyeloma (rak) hujayra bilan qo'shib gibridoma olinadi. Gibridoma hujayralar alohida-alohida ko'paytirilib, ularning klonlari hosil qilinadi. Har bir klon gibridoma faqat bir antigen belgini tanib bog'lanuvchi monoklonal antitana sintez qiladi. Monoklonal antitana xastaliklarni o'ta aniq tashxis qilishda ishlatiladi.

3. GLOSSARIY

GLOSSARIY (ATAMALAR IZOHLI LUG'ATI)

Adenozindifosfat (ADF) - hujayraning energetik almashinuvida fosfat guruhni gabul gilib, ATPga aylanuvchi nukleotid.

Adenozintrifosfat (ATF) - fosfat gurullarni ajratib biologik jarayonlarni energiya bilan ta'minlovchi energiyaga boy molekula.

Almashinmaydigan aminokislotalar - odam va hayvon organizmida sintezlan maydigan va ovqat bilan gabul qilinadigan aminokislotalar.

Aminoatsil -t-RNK - oqsil sintezi jarayonida aminokislotalarning ATF energiyasi hisobiga fa'ollashib, tRNK bilan bog'langan shakli.

Aminokislotalar - tarkibida aminoguruh - NH, to'tuvchi organik kislotalar.

Antikodon -iRNKning kodoniga komplementar tRNKdagi uchta nukleotiddan iborat qator.

Agar-agar - ba'zi dengiz o'simliklaridan olinadigan mahsulot; uning tarkibiy qismi uglevodlar qatoriga kiradi, u sovuq suvga solinganida bo'kadi, qaynoq suvda batamom eriydi, eritmasi soviganda ta'msiz va hidsiz, tiniq, iviq cho'kma hosil bo'ladi. Bu mahsulot mikroorga-nizmlarga qattiq oziqa muhiti tayyorlashda, qandolatchilikda shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi.

Agaroza - dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaharid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.

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

Agrobiotsenoz - ekin ekiladigan erlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.

Adaptatsiya - moslashish, organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.

Adventiv kurtaklar - o'simliklardagi kurtaklar, ular odatda paydo qilmaydigan hujayra va to'qimalardan hosil bo'ladi.

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

Adenin - (aminopurin)-azotli organik birikma bo'lib, adenin nukleotidi tarkibiga kiradi.

Azotobakterin - ushbu turga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bakterial o'g'it.

Azotobakteriya - erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakte-riyalar turi.

Akropetal transport - o'simlikda moddalarning poya apikal meristemi yo'nalishi bo'yicha tashilishi.

Amplifikatsiya - xromosoma DNKsi ketma-ketligining qo'shimcha nusxasining hosil bo'lishi.

Anaeroblar - kislorodsiz muhitda modda almashinishi va ko'pa-yishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar; faqat anaerob sharoitda oladigan mikroorganizmlar; fakultativ anaeroblar, kislorodli yoki kislorodsiz sharoitda o'sa oladigan mikroorganizmlar.

Androgenez - mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogeneza yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni.

Antagonist - raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.

Antibiotiklar — mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo'ladigan kimyoviy moddalar; juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharli ta'sir etadi.

Apikal dominantlik - apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemi kurtaklari o'sishini to'xtatilishi.

Attragirlash xususiyati - stimulyator fitogormonlarning oziqa moddalarni o'suvchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.

Auksotrof mutantlar - jinsiy bo'lmagan xromosomalar to'plami (I, 2, 3, va hokazo sonlar bilan belgilanadi).

Bazipetal transport - o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasi ga transport!.

Bakteriofaglar - bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.

Binar - ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorga-nizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayra-larning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.

Biogeneza - tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.

Biomassa - mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralar massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko'rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho'l biomassaning 15-30% ini tashkii etadi; ho'l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho'ktirish natijasida suyuq ozuqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.

Bioreaktor - biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychaiarga nisbatan ishlatiladi.

Biosintez - fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.

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

Vektor - genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi.

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.

Gen - genetik axborotlarning yagona strukturasi muayyan regula-tor funktsiya, bir yoki bir nechta polipeptid zanjirlar, yoki RNK molekulasini kodirlovchi xromosoma qismi (DNK molekulasini).

Genoterapiya-retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik obyekt to'qimalarida genetik sog'iom somatik hujayralarni olish yordamida irsiy kasalliklarini davolash.

Genotip - asos genlarining to'plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.

Genofond - organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.

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

Gibrid - duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.

Ginogenez - murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.

Giflar - ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir nechta hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.

Gormon retseptor kompleks — gormon va oqsil retseptorinij.', birikishi, gormon ta'siri amalga oshirishining birinchi bosqichi.

Gormon statusi — ontogenezda 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 parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.

Didifferensiya - ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanishi,

Diploid - mazkur turga xos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan harakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.

Diploidlash - xromosoma to'plamini ikki marta ko'paytiruvchi model. Xromosomalarning diploid to'plami (avtodigaploid) ota yoki ona xromosomalarini ko'rsatuvchi ikkita gaploid xromosomalar to'plami.

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

DNK - dezoksiribonuklein kislotalar molekulasini, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiq-laridan tashkil topgan.

DNK bo'shlig'i - DNK zanjirida bitta yoki bir nechta nukleotidlarning etishmasligi.

DNK dupleksidagi uzilish - ikki zanjirli DNK zanjirlarining bittasida yonma-yon ikkita nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'ining yo'qligi.

DNK replikatsiyasi - fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekularini ikkilanishi (ikki marta ko'payishi).

Yopishqoq uchlar - komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.

Jinsiy xromosomalar - asosning jinsini belgilovchi xromosomalar (X, Y, W, Z va boshqa harflar bilan belgilanadi).

Zatravka - DNKning bitta zanjiri bilan komplementar hamkorlik qiluvchi qisqa izchillik (ko'pincha RNK); erkin 3' - OH - uch hosil qilib, u asosida DNK-polimeraza dezoksiribonukleotid zanjir sintez qila boshlaydi.

Identifikatsiya - aynan o'xshatish, tenglashtirish, modda yoki mikro-organizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.

Invertirlangan takroriy izchilliklar - Bir molekula tarkibidagi bir-biriga qarama-qarshi tomonlarda joylashgan bir xil izchillikning ikkita nusxasi. Bir-birlariga yonma-yon joylashgan invertirlangan takroriy izchilliklar palindrom hosil qiladi.

Inhibitor - to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).

Induktor - repressor bilan qo'shilib, uning operator bilan qo'shilish xususiyatini yo'qotadigan, nafaol holatga o'tkazadigan past molekulali inodda.

Induksiya - ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.

Inisiatsiya - molekular biologiyadagi translyatsiya jarayonining birinchi bosqichi.

Intron - germing transkripsiyanayotgan «indamas» processing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.

Issiqlik shoki oqsillari (ISHO) - haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.

Klon - bitta hujayra yoki molekuladan olingan hujayra va molekulalar yig'indisi.

Klonlash - populatsiyalarning organlari bilan genetik bir xil hujayralar olish.

Klonli mikroko'paytirish - *in vitro* jinssiz usul yordamida boshlang'ich o'simlik bilan genetik bir xil o'simliklar olish.

Kodon - muayyan aminokislotalar yoki komplementar termi-nalsiyalovchi signalni kodirlovchi nukleotidlar tripleti.

Kompetensiya - hujayra, to'qima, organ va organizmning indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.

Komplementar zanjir - RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlash uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan bin.

Ligaza - DNK zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefir bog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.

Ligirlash - DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog'larining hosil bo'lishi. Bu ibora to'mtoq uchlarni biriktirish hollarida va RNK bogiar hosil bo'lishida ham qo'llaniladi.

Lizis — erib ketish, parchalanish, fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofag-larning ko'payishi natijasida uning erib ketishi.

Marker (DNK) - elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.

Marker gen - joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.

Matritsa — 1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketma-ketligi.

Mahsuldorlik jarayoni - moddalar hosil bo'lishi va metabo-lizmning o'simlikda bir vaqtda kechayotgan fiziologik, biokimyoviy, biofizik va boshqa jarayonlarning yig'indisi, donor-akseptor munosa-batlar va genetik nazorat asosida o'simliklarning xo'jalik ahamiyati qimmatli organlarining shakllanishi, ikkilamchi almashinishni ta'min-lanishi.

Meristema - faol bo'linayotgan differensiyallanmagan hujayra-lardan iborat to'qimalar.

Metabolizm - oraliq almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtdan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi.

Metabolitlar —metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.

Modifikatsiya — mikroorganizmlarning fenotipik o'zgarishi, ya'ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo'lmagan o'zgarishlar.

Morfogenez - organ (organogenez), to'qima(gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyallanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.

Mutagenез - mutagenез o'zgarishning (mutagenезning) ro'y berishi-organizmda irsiy o'zgarishlar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqlovchi va nasldan-nzslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasi o'zgarishi yotadi.

birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.

Nishon - hujayra - u yoki bu fitogormon retseptorini to'tuvchi va fitogormonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolismni o'zgartiruvchi hujayra.

Nuklein kislotalar - turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekular tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.

Operon - genetik regulator strukturaning birligi, tarkibida bitta yoki bir nechta o'zaro birikkan struktura, operon va regulator qismlar genlarini tutadi.

Organogenez - uyushmasdan o'sayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.

Partenogenez - asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.

Plazmida - avtonom replikatsiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.

Poliadenillash - poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3 ueligiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.

Poliploidiya - organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.

Proliferatsiya - hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.

Promoter - genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.

Pronukleus - urug'langan tuxum hujayra yadrosi.

Proton pompasi - maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.

Protoplast - mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.

Profag - bakteriya xromosomasiga o'mashgan fag genomi.

Processing - RNK ning yetilish jarayoni. **Regeneratsiya** - hujayralar tiklanishi.

Rekombinant gen - turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.

Rekombinant DNK - turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.

Rekombinatsiya - krossingover natijasida ota-ona genlarining qayta guruhlanishi (tabaqlanishi).

Reparatsiya - DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK ning uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulasini tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.

Repressiya - gen ekspressiyasini va yoki shunga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.

Repressor - ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.

Restriktazalar - DNK ni ma'lum bir nukleotidlar izchilligida kesadigan fermentlar.

Rivojlanishning yuvenil fazasi - urug' yoki vegetativ kurtakdan vegetativ organlarning reproduktiv organlar hosil qilishga qobiliyatini namoyon bo'lishiga qadar o'sishi va rivojlanishi.

Rizosfera - ildiz atrofidagi tuproqning mikroflorasi-mikroorga-nizmlarning ko'pligi bilan farqlanadigan 2-3 mm qalinlikdagi ildiz atrofida joylashgan tuproq qatlami.

RNK - tarkibiga nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, uratsil), riboza va fosfor kislotasi qoldiqlari kiruvchi ribonuklein kislota molekulasi.

RNK blottingi - RNKni agarozali geldan nitrosellyo'loza filtriga komplementar DNK bilan duragaylash uchun olinishi.

Sayt-o'rinjoylanish-genlar haritasidagi nuqtali mutatsiya o'rni.

Sauzern bo'yicha DNK blottingi - denaturatsiyallangan DNKni komplementar nukleotid ketma-ketlik bilan duragaylash uchun agarozali geldan nitrosellyozali filtrga olinishi.

Segment - karj, bo'lak.

Sekvenirlash - oqsildagi aminokislota qoldig'ini va nuklein kislotalardagi nukleotidiarning ketma-ketligini aniqlash.

Seleksiya - tanlash-hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.

Sinergizm - moddalar, jarayonlar va boshqa omillarning hamkorlikdagi ta'sirini oshiruvchi samara.

Skrining - bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorga-mzmlarmng aralash populyasiyasidan keragini ajratish.

Somaklonal variabellik - kulturalangan somatik hujayralardan regeneratsiyalangan o'simliklardagi xususiyatlarning o'zgarib turishi

Somaklonlar - boshlang'ich shakllaridan muayyan farqlar bilan farqlanuvchi somatik hujayralardan olingan regerant o'simliklar.

Somatik duragay - somatik hujayralar qo'shilishi (duragaylanishi) orqah olingan regerant o'simlik.

Somatik duragaylash - jinsiy jarayondan tashqarida yadro va organellalar genlari va xromasomalarni genetik rekombinatsiyaga cnaqinshjarayoni.

Somatik embriogenez - hujayra va to'qimalar kulturasida murtaksimon strukturalar (embrioidlar) hosil bo'lish jarayoni

Stimulyatorlar - o'simliklarning o'sishini kuchaytiruvchi omil-o'simliklarning o'sishini, hujayralarning bo'linishini tezlashtiradigan kuchaytiruvchi moddalar. Ular tabiiy yoki sintetik holda bo'lishi mumkin. Tabiiy auksinlar, giberellinlar va sitokininlar

Stress oqsillar - noqulay sharoitlarda organizm tomonidan sintez-lanuvchi va stress omillarning organizmga zarali ta'sirini kamaytirish imkonini beruvchi maxsus oqsillar.

Subbirlik - oqsil molekulalarini tashkil etuvchi (to'rtlamchi strukturasi) oqsil globulalari.

Subkulturalash - transplantlarni (inokulumlarni) boshqa kultural idisga yangi oziqa muhitiga o'tkazish.

Totipotentlik - muayyan o'stirish sharoitida o'simliklar somatik hujayralarining o'zining ontogenet rivojlanishi irsiy dasturini to'liq amalga oshirish.

Transplant (inokulyum) - kallus (supenziyal) kulturasining bosh-1^a yangi oziq muhitiga ko'chirib o'tkazishda foydalaniladigan qismi.

Transpozonlar - DNKning bir bo'lagi bo'lib, molekula ichida bir joydan ikkinchi joyga va bir molekuladan ikkinchisiga o'tishga qodir.

Transformatsiya - alohida ajratilgan DNK yordamida hujayraga genetik axborotni kiritish. Transformatsiya yordamida olingan hujayrada ^{va} undan keyingi avlodlarda yangi belgilar DNK yordamida olingan ^{man}badagiga o'xshagan bo'ladi.

O'simliklarni gormon tizimi - fitogormonlar, ularning retseptorlari ^{va} ikkilamchi vositachilaridan iborat regulator kompleks.

Faglar - mikroorganizmlar ichiga kirib, unda ko'payib, keyin ularni ^{er}itib yuboruvchi viruslar.

Faollashtirish - 1) faollikni qo'zg'atish va kuchaytirish; 2) molekular faolligini qo'zg'atib kimyoviy reaksiyaga kirishni tezlatish.

Fenotip - organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.

Ferment - biolqgik katalizator,enzimlar-oqsilning o'ziga xos turi; t'nk hujayralarda ham tezlatkich rolini bajaradi.

Fitoaleksinlar - o'simliklarning kasalliklarga qarshi chidamlilik [^]irmining patogenlar rivojlanishini pasaytiruvchi genotipik va real k^ornponentlari.

Fitogormonlar biosintezi yo'llarining ajralishi - tashqi sharoit kompleks bilan aniqlangan bir necha fitogarmonlar uchun asos bo'lgan ^oraliqdan u yoki bu fitogarmonning, bir necha fitogarmonlarning ^ementativ biosintez yo'li.

Fitoregulatorlar - o'simliklarning o'sishi va rivojlanishiga ta'sir ^eHivchi, o'g'itlar va gerbitsidlar ta'siriga ega bo'lmagan tabiiy va sun'iy P^reparatlar.

Fosforobakterin - fosfor organik birikmalarni parchalash xususiyatiga ega bo'lgan bakteriyalardan tashkil topgan bakteriyali o'g'it.

Fragmentlar - parchalar, qismlar.

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

Elektroforez - elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga o'tishi, bo'laklarga ajratish.

Endonukleazalar - fosfodiefir bog'larini parchalovchi fermentlar.

In vitro - tirik materialni probirkada sun'iy oziqa muhitlarda steril sharoitda o'stirish.

In vivo - tirik materialni tabiiy sharoitda o'stirish.

4. FOYDALANILGAN ADABIYOTLARNING ELEKTRON SHAKLI

HUMAN GENETICS AND SOCIETY COLLECTION

Ronnee Yashon, *Editor*

Biotechnology

Ronnee Yashon
Michael R. Cummings



MOMENTUM PRESS
HEALTH

Update Edition

Academic
Cell

Biotechnology

David P. Clark
Nanette J. Pazdernik

APCell

nature
biotechnology

THE SCIENCE AND BUSINESS OF BIOTECHNOLOGY

VOLUME 30 NUMBER 11 NOVEMBER 2012
www.nature.com/naturebiotechnology

Focus on sequencing
Multiplex drug-pair screening
Biofuel-friendly maize

Next-generation sequencing for identification of candidate genes for *Fusarium* wilt and sterility mosaic disease in pigeonpea (*Cajanus cajan*)

First published: 23 September 2018

<https://doi.org/10.1111/pbi.12470>

Cited by: [22](#)

[SECTIONS](#)

[PDF](#)

[TOOLS](#)

[SHARE](#)

Summary

To map resistance genes for *Fusarium* wilt (FW) and sterility mosaic disease (SMD) in pigeonpea, sequencing-based bulked segregant analysis (Seq-BSA) was used. Resistant (R) and susceptible (S) bulks from the extreme recombinant inbred lines of ICPL 20096 × ICPL 332 were sequenced. Subsequently, SNP index was calculated between R- and S-bulks with the help of draft genome sequence and reference-guided assembly of ICPL 20096 (resistant parent). Seq-BSA has provided seven candidate SNPs for FW and SMD resistance in pigeonpea. In parallel, four additional genotypes were re-sequenced and their combined analysis with R- and S-bulks has provided a total of 8362 nonsynonymous (ns) SNPs. Of 8362 nsSNPs, 60 were found within the 2-Mb flanking regions of seven candidate SNPs identified through Seq-BSA. Haplotype analysis narrowed down to eight nsSNPs in seven genes. These eight nsSNPs were further validated by re-sequencing 11 genotypes that are resistant and susceptible to FW and SMD. This analysis revealed association of four candidate nsSNPs in four genes with FW resistance and four candidate nsSNPs in three genes with SMD resistance. Further, *In silico* protein analysis and expression profiling identified two most promising candidate genes namely *C.cajan_01839* for SMD resistance and *C.cajan_03203* for FW resistance. Identified candidate genomic regions/SNPs will be useful for genomics-assisted breeding in pigeonpea.

Introduction

Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) is an economically important grain legume crop in the developing countries of the tropical and subtropical regions of the world (Varshney *et al.*, [2012a](#)). The crop productivity of pigeonpea is severely affected by biotic stresses such as *Fusarium* wilt (FW) and sterility mosaic disease (SMD). *Fusarium* wilt is caused by *Fusarium udum*, and SMD is caused by a pigeonpea sterility mosaic virus (PSMV) and transmitted by the eriophyid mite, *Aceria cajani*. These two biotic stresses of pigeonpea could result in complete yield loss

(Reddy *et al.*, [2012](#)). The annual losses due to FW and SMD have been reported to be US \$ 113 million (Saxena *et al.*, [2010a](#)).

To develop FW- and SMD-resistant pigeonpea lines through molecular breeding, identification of genomic regions/QTLs or candidate genes responsible for resistance to diseases is an important step. Once a marker (or candidate gene) associated with resistance is identified and validated; marker-assisted selection (MAS) can be used for introgression of resistance in susceptible genotypes (Varshney *et al.*, [2012b](#)). However, traditional QTL mapping approach that involves identification of parental polymorphisms and genotyping the entire population with polymorphic markers is time-consuming and labour intensive (Abe *et al.*, [2012](#)). To map simply inherited traits like disease resistance, bulked segregant analysis (BSA) approach was proposed by Michelmore *et al.* ([1991](#)). Bulk segregant analysis approach involves screening of the extreme bulks along with the parents with a large number of markers, and subsequently, polymorphic markers showing the similar pattern in the bulks with respect to their corresponding parental genotypes are used to screen the entire population. This approach has been extensively used for trait mapping in a number of crops (see Semagn *et al.*, [2010](#)).

Advent of the next-generation sequencing (NGS) technologies and due to declining cost in per sample sequencing has drastically accelerated the pace with which candidate genes/genomic regions were identified (Schneeberger *et al.*, [2009](#)). Consequently, many recent approaches were proposed using BSA combined with whole-genome re-sequencing (WGRS) for rapid identification of candidate genes of interest termed as ‘fast forward genetics’ (Mokry *et al.*, [2011](#)). Next-generation sequencing-based BSA approaches were successfully applied to model crop, *Arabidopsis* (~135 Mb of genome size) for identification of candidate genes for growth habit and colour of leaves (Schneeberger *et al.*, [2009](#); approach SHOREmap), cell wall composition (Austin *et al.*, [2011](#); approach next-generation mapping), suppressor mutant (Uchida *et al.*, [2011](#); approach SNPing; Hartwig *et al.*, [2012](#); approach isogenic mapping-by-sequencing) and gametophyte lethal mutation (Lindner *et al.*, [2012](#); approach SNP-ratio mapping). Such methods have also been successfully applied in crop plants like rice (~389 Mbp of genome size) for identification of candidate genes for pale green leaves, semi dwarfism (Abe *et al.*, [2012](#); approach MutMap), blast resistance (Takagi *et al.*, [2013a](#); approach MutMap-Gap) and lethal phenotype associated with plant development (Fekih *et al.*, [2013](#); approach MutMap+).

Recently, QTL-seq method was proposed in rice, which is a powerful approach for handling quantitative traits (Takagi *et al.*, [2013b](#)). This approach was successfully utilized for mapping genomic region for blast resistance and seedling vigour in rice (Takagi *et al.*, [2013b](#)), flowering associated QTL in cucumber (Lu *et al.*, [2014](#)) and seed size and root trait ratio in chickpea (unpublished). Similarly, WGRS-based BSA approach based on G' statistics was utilized for identification of candidate genomic region for cold tolerance in rice (Yang *et al.*, [2013](#)). In addition, WGRS of contrasting parents has been used for identification of nonsynonymous SNPs (nsSNPs) to map the candidate genes for sheath blight resistance in rice and drought tolerance in maize (Silva *et al.*, [2012](#); Xu *et al.*, [2014](#)).

Fusarium wilt resistance in pigeonpea has been found to be controlled by different gene actions in various genetic backgrounds, ranging from single to multiple genes with complementary to duplicate gene actions (Saxena, [2008](#)). On the other hand, SMD resistance has been found to be governed by a single gene or two recessive genes (Gnanesh *et al.*, [2011](#)). Therefore, for identification of SNPs for multiple genes, associated with FW and SMD resistance in pigeonpea, we have analysed extreme bulks of resistant (R-bulk) and susceptible (S-bulk) RILs using Seq-BSA approach. Furthermore, nonsynonymous SNPs (nsSNPs) approach has been used to

complement Seq-BSA approach. Re-sequencing of additional genotypes, *In silico* protein analysis and transcription profiling have validated and shortlisted candidate genomic regions/SNPs conferring resistance to FW and SMD in pigeonpea.

Results

This study uses a combined approach of Seq-BSA and WGRS-based nsSNPs for identification of candidate resistance genes for FW and SMD. The detailed approach has been illustrated in Figure 1.

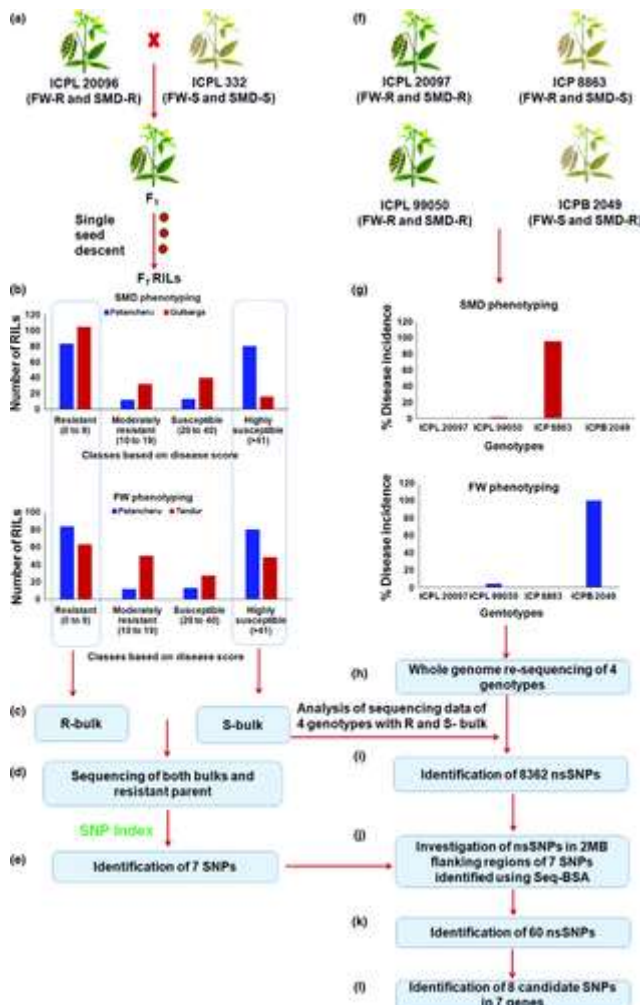


Figure 1
[Open in figure viewerPowerPoint](#)

Schematic representation of the combined approach of sequencing-based bulked segregant analysis (Seq-BSA) and nsSNPs substitution for identification of candidate genes for *Fusarium* wilt (FW) and sterility mosaic disease (SMD) resistance in pigeonpea. (a) Two contrasting parents, ICPL 20096 (R) and ICPL 332 (S) were crossed to develop F₂ RILs segregating for FW and SMD resistance through single-seed descent method. (b, c) Phenotypic score of RILs for FW and SMD resistance resulted in the selection of highly resistant and highly susceptible RILs to form the resistant (R) and susceptible (S) bulks. (d) These two bulks along with resistant parent were subjected to whole-genome re-sequencing (WGRS) for identification of SNPs and SNP index through QTL-seq pipeline. (e) Candidate genome regions were identified based on the SNP index (0 and 1). (f and g) WGRS was performed on the four contrasting parents (ICPL 20097, ICP 8863, ICPL 99050 and ICPB 2049) to identify nsSNPs. (h) WGRS data of the contrasting parents and the bulks defined the nsSNPs associated to the genomic regions to FW and SMD resistance. (i-l) Based on the WGRS data and nsSNPs analysis, candidate genes were subsequently selected for functional validation.

FW and SMD screening of genotypes

Six genotypes namely ICPL 20096, ICPL 332, ICPL 20097, ICP 8863, ICPB 2049 and ICPL 99050 along with one mapping population (ICPL 20096 × ICPL 332) comprising of 188 lines were screened for resistance to FW and SMD in this study. Our screening results showed resistance and/or susceptibility of these genotypes to either or both FW and SMD in multilocation phenotyping. Three genotypes (ICPL 20096, ICPL 20097 and ICPL 99050) were found to be resistant to both FW and SMD, and their disease reaction ranged from 0% to 4.4% for FW and 0.0% for SMD. However, one genotype namely ICPL 332 was found highly susceptible for both FW and SMD with disease reaction of 100% for each disease. The genotypes, ICP 8863 and ICPB 2049, were found to be resistant only to FW (0.6%) and SMD (0%), respectively. The detailed observations are presented in Table 1. Similarly, screening of the mapping population showed disease incidence score from 0% to 100% for FW and 0% to 100% for SMD.

Table 1. List of pigeonpea genotypes with phenotypic score and summary of Illumina sequencing of parental lines and bulks

Sequencing-based BSA (Seq-BSA) approach

Construction and sequencing of R- and S-bulks

Based on the phenotyping data on 188 RILs, 16 resistant and 16 susceptible RILs to FW as well as SMD were selected for the constitution of R- and S-bulks (Figure 2). The phenotypic disease score of 16 RILs of the R-bulk ranged from 0% to 5.0% (for FW) and 0% to 2.6% (for SMD). Similarly, the phenotypic disease score of selected RILs of the S-bulk varied from 80.0% to 100% (for FW) and 72.62% to 100% (for SMD). Each DNA bulk (R- and S-bulk) along with the resistant parent (ICPL 20096) was subjected for whole-genome re-sequencing (WGRS) using Illumina (MiSeq) sequencing platform. As a result, a total of 8.99 Gb (14.85 X coverage) sequence data for R-bulk, 8.43 Gb (13.91 X coverage) for S-bulk and 9.27 Gb data (15.30 X coverage) for ICPL 20096 were generated (Table 1).

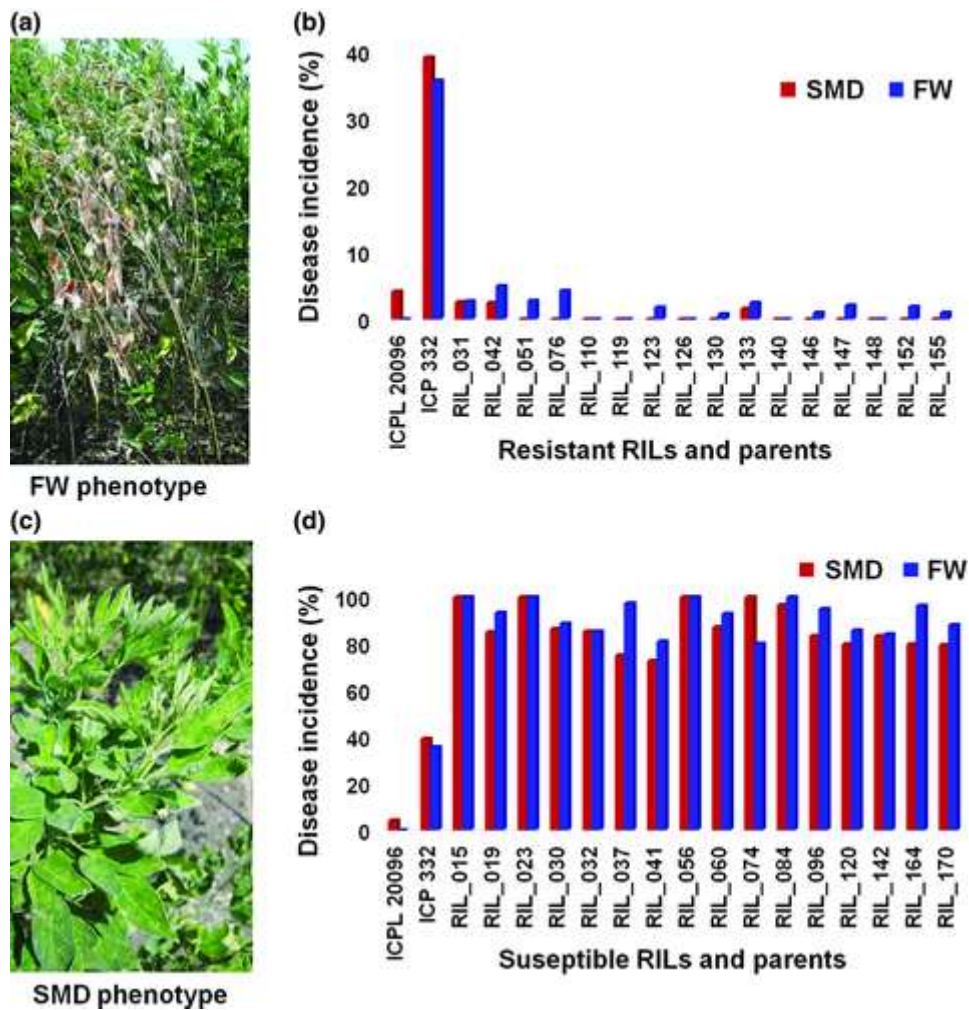


Figure 2

[Open in figure viewer](#)[PowerPoint](#)

Phenotyping of RILs and parents for *Fusarium* wilt (FW) and sterility mosaic disease (SMD) resistance. (a) FW is seed and soil borne fungal disease caused by *Fusarium udum*. *Fusarium* wilt causes the complete death of plant and reduction in yield due to loss of leaf turgidity, interveinal clearing and mild chlorosis to the bright yellow colour of leaves. (b) SMD is a viral disease caused by *Pigeonpea sterility mosaic virus* (PSMV). This disease can be identified as patches of bushy, pale green plants. Due to excess vegetative growth, without growing into reproductive phase, this condition is known as *green plague* of pigeonpea. (c) Based on the phenotyping of RILs for FW and SMD resistance at two different locations, a total of 16 resistant RILs were used to develop resistant bulk (R-bulk). (d) A total of 16 susceptible RILs with percent disease score comparable to susceptible parent were used to produce susceptible bulk (S-bulk).

Genomewide SNP index analysis

A total of 37.53 million filtered reads of the resistant parent (ICPL 20096) were used for developing reference-guided assembly. This resulted in genome coverage of 94.46%. The cleaned sequence data for the R- (36.38 million reads) and S-bulks (33.91 million reads) were then used for mapping onto the developed reference-guided assembly of ICPL 20096. Subsequently, SNP index was calculated from R- and S-bulks using QTL-seq pipeline (<http://genome-e.ibrc.or.jp/home/bioinformatics-team/mutmap>). Based on the stringent selection criteria of read depth ≥ 7 in both bulks and SNP index ≥ 0.3 in either of the bulks, 35 877 SNPs were identified on all 11 linkage groups (Figures S1 and S2). However, only 4139 (11.54%) SNPs were found to have homozygous allele calls in both bulks (Table S1). Finally, seven candidate SNPs with delta SNP index = -1 were selected that were present on five different chromosomes (CCLG02,

CcLG07, CcLG08, CcLG10 and CcLG11) (Table 2 and Figure 3). To identify the causative SNPs for FW and SMD resistance, chi-square test was conducted for the seven SNPs along with neighbouring SNPs (one on each flanking side) in sequence data of both R- and S-bulks. The analysis revealed that the probability of these SNPs to follow 1 : 1 binomial distribution with a P -value < 0.01 did not fit the expected pattern of co-segregation, indicating their causativeness (Table S2).

SNP index = 0 means bulked DNA representing resistant parent genome.

SNP index = 1 means bulked DNA representing susceptible parent.

Δ SNP index = -1 bulked DNA representing resistant parent genome.

Phred quality score ≥ 40 : Probability of incorrect base call 1 in 10 000 (99.99%); Phred quality score ≥ 50 : Probability of incorrect base call 1 in 100 000 (99.999%); Phred quality score ≥ 60 : Probability of incorrect base call 1 in 1 000 000 (99.9999%).

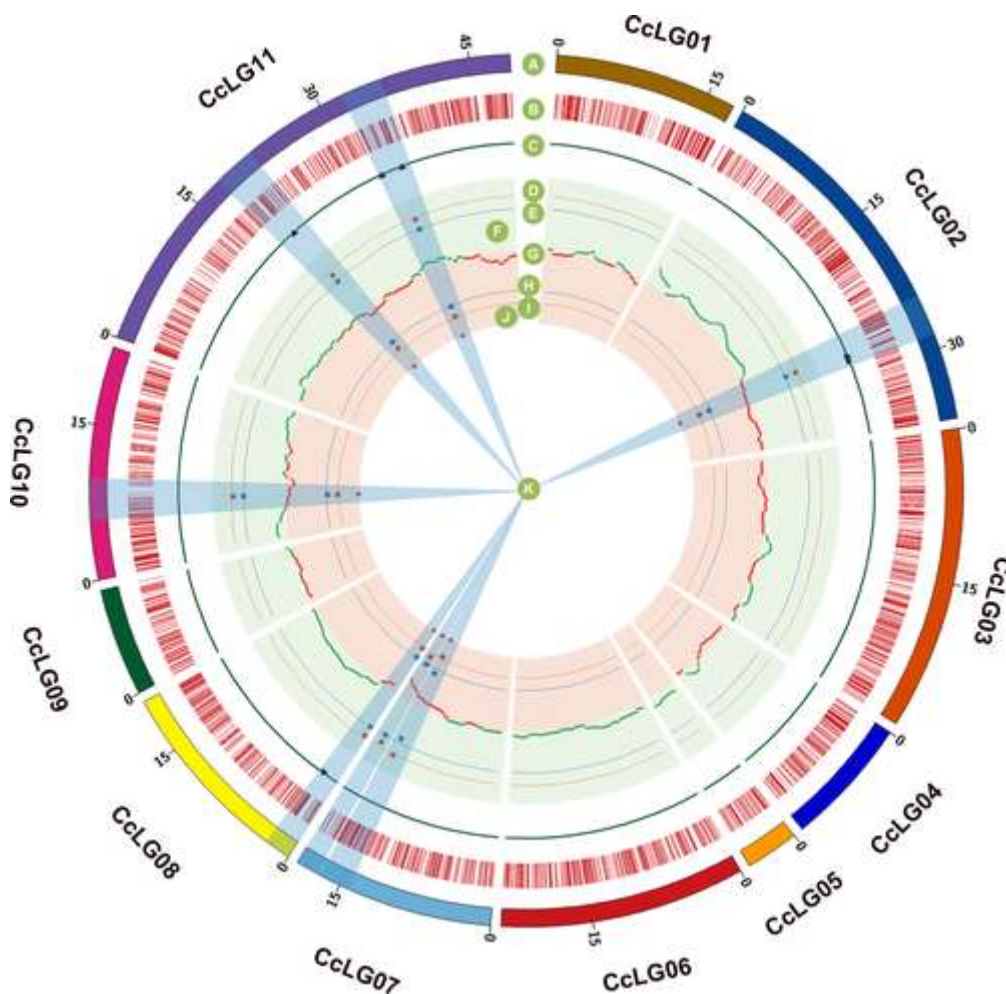


Figure 3

[Open in figure viewerPowerPoint](#)

Global distribution of Δ SNP index and nonsynonymous SNPs. (a) Pseudomolecules of reference genome Asha adopted from Varshney *et al.* (2012a). (b) Genomewide distribution of nonsynonymous SNPs (nsSNPs) identified between resistant and susceptible genotypes and bulks. (c) Positions of identified candidate genes with nsSNPs in the vicinity of identified genomic regions through delta SNP index. (d) Upper probability values at 99% confidence ($P < 0.01$). (e) Upper probability values at 95% confidence ($P < 0.05$). (f) Region in green colour representing SNP index ranging from 0 to 1. (g) Genomewide delta SNP index, including those genomic regions

with 0 and 1 SNP index, that is same in resistant parent (RP) and resistant bulk (R-bulk) but entirely different in susceptible bulk (S-bulk). These particular positions are marked with red dots along with their upper and lower confidence interval values at 99% and 95% probability values. (h) Lower probability values at 99% confidence ($P < 0.01$). (i) Lower probability values at 95% confidence ($P < 0.05$). (j) Region in red colour representing SNP index ranging from 0 to -1 . (k) 2-Mb selected genomic regions flanked both sides to each identified genomic positions with 0 to 1 SNP index for identification of candidate nsSNPs in the target regions.

Nonsynonymous SNPs (nsSNPs) substitution approach

WGRS of additional set of resistant and susceptible genotypes

Four other genotypes viz. ICPL 20097 (resistant to FW and SMD), ICP 8863 (resistant to FW and susceptible to SMD), ICPB 2049 (susceptible to FW and resistant to SMD) and ICPL 99050 (resistant to FW and SMD) were re-sequenced at >10 X coverage (Table 1). In brief, 6.72–10.36 Gb data with 11.09–17.09 X coverage were generated. Alignment of cleaned data from these genotypes and R- and S-bulks from ICPL 20096 $\times$ ICPL 332 population mentioned in Seq-BSA to the draft genome sequence indicated a higher level mapping in the range of 91.64% to 95.41%. In terms of depth coverage, alignment of sequence reads for these samples with respect to the draft genome was found in the range of 9.97 to 15.12 mean depth.

Genomewide nsSNPs

Detailed analysis of WGRS data sets for above four samples and two bulks identified 226 393 SNPs, which ranged from 3915 (CcLG05) to 43 367 (CcLG11) with an average 20 581 SNPs per linkage group (Table S3). The majority of these SNPs (42.18%) were found in the intergenic region while only $\sim 3\%$ SNPs were present in the exonic region (Table S4). Of 226 393 SNPs, only 8362 SNPs were found to be nsSNPs.

Combined approach of Seq-BSA and nsSNP analysis

To obtain converging evidences from the Seq-BSA and nsSNP analysis for causative SNPs, 2-Mb regions of the seven candidate SNPs identified through Seq-BSA were investigated for the presence of nsSNPs identified in the second approach. A total of 60 nsSNPs were detected in seven genomic regions identified using Seq-BSA (Figure 3). Of these 60 nsSNPs, 16 SNPs were found on each CcLG02 and CcLG11 while seven, eight and 13 SNPs were present on CcLG08, CcLG10 and CcLG07, respectively. Subsequently, haplotype analysis was carried out for 60 nsSNPs in all resistant (ICPL 20097 and ICP 99050) and susceptible (ICP 8863 and ICP 2049B) genotypes along with the resistant and susceptible bulks. Of 60 nsSNPs, eight nsSNPs (four on CcLG02, one on CcLG08 and three on CcLG11) showed specific haplotype in all resistant genotypes and R-bulk, while the other (alternate) allele in all susceptible genotypes and S-bulk. These candidate nsSNPs (haplotypes) were found in seven candidate genes present on three linkage groups (CcLG02, CcLG08 and CcLG11).

Association of nsSNPs/genes with resistance to FW/SMD

With an objective to identify association of nsSNPs/genes with resistance to a particular disease, eight nsSNPs were compared in two different combinations of genotypes one each for FW and SMD. For FW, the re-sequencing data of three resistant genotypes (ICPL 99050, ICPL 20097 and ICP 8863) and one susceptible genotype (ICPB 2049) were compared. Similarly, in the case of SMD, the re-sequencing data of three resistant genotypes (ICPL 99050, ICPL 20097 and ICPB 2049) and one susceptible genotype (ICP 8863) were compared (Table 3). Based on WGRS data sets, the SNP identified in candidate gene *C.cajan_07067* (at position 27 324 239 and

27 324 261 bp) had T (R-bulk) to G (S-bulk) substitution at both SNP position and based upon the allele calls in other genotypes this gene was found to be associated with SMD resistance. Similarly, after comparative analyses in other genotypes T (R-bulk) to G (S-bulk) substitution for the candidate gene *C.cajan_07078* (PHD finger protein) and G (R-bulk) to A (S-bulk) substitution for the candidate gene *C.cajan_07124* (rRNA-processing protein) were found specific for FW resistance.

a R: resistant genotype.

b R-bulk: resistant bulk for FW and SMD.

c S-bulk: susceptible bulk for FW and SMD.

d HS: highly susceptible genotype.

Note: genotypes were categorized in different groups based on per cent disease incidence (PDI): resistant (0%–9.99% of PDI), moderately resistance (10%–19.99% of PDI), susceptible (20%–40% of PDI) and highly susceptible (>40% of PDI).

Comparative analysis of candidate genes *C.cajan_15535* (copia-like retrotransposable) and *C.cajan_01839* (serine–threonine protein phosphatase) showed C (R-bulk) to G (S-bulk) and A (R-bulk) to C (S-bulk) substitution, respectively, and based on the allele calls in other genotypes, these two genes were found specific for SMD resistance. Analysis of the remaining candidate genes *C.cajan_02962* (NADH dehydrogenase) and *C.cajan_03203* (retrovirus-like polyprotein) had T (R-bulk) to C (S-bulk) and C (R-bulk) to A (S-bulk) substitutions, respectively, and based on the allele calls in resistant (ICPL 20096, ICPL 99050, ICPL 20097 and ICP 8863) and susceptible (ICPB 2049) genotypes, both of the genes were found to be specific to FW resistance.

Validation of identified SNPs

In addition to using the re-sequencing data from above-mentioned genotypes, a total of 39.29 Gb data with 9.20–14.88 X coverage were generated for six additional genotypes (Table 1). Re-sequencing data from above-mentioned six genotypes and raw sequence reads from draft genome assembly (ICPL 87119) were used to test the association of nsSNPs with the targeted traits. For the validation of FW associated SNPs, two resistant (ICPL 87119, HPL 24) and four susceptible (ICPL 85063, ICPL 332, ICPL 87, ICPL 88039) genotypes were added. In the case of SMD, re-sequencing data from two resistant (ICPL 87119, ICPL 85063) and one susceptible (ICPL 332) genotypes were added for the validation of SMD-associated SNPs. In brief, sequence data of 11 genotypes (six resistant: ICPL 20096, ICPL 99050, ICPL 20097, ICPL 8863, ICPL 87119 and HPL 24; five susceptible: ICPL 85063, ICPL 332, ICPB 2049, ICPL 87 and ICPL 88039) were used to test and validate the association of four nsSNPs for FW resistance. T to G substitution for the gene *C.cajan_07078* and G to A substitution for the gene *C.cajan_07124* were observed in all the resistant and susceptible genotypes, respectively (Table S5). Similarly, T (resistant genotypes) to C (susceptible genotypes) and C (resistant genotypes) to A (susceptible genotypes) substitution were observed for the other two candidate genes, *C.cajan_02962* and *C.cajan_03203*, respectively (Table S5). This analysis unequivocally provided four SNPs in four different candidate genes associated with FW resistance.

Likewise, association of four SNPs targeting three candidate genes (*C.cajan_07067*, *C.cajan_15535* and *C.cajan_01839*) with SMD was also validated using re-sequencing data of eight genotypes (six resistant: ICPL 20096, ICPL 99050, ICPL 20097, ICPB 2049, ICPL 87119 and ICPL 85063; two susceptible: ICPL 8863 and ICPL 332). SNPs at positions 27 324 239 bp and 27 324 261 bp on CcLG02 targeting the same candidate gene, *C.cajan_07067*, showed T to G

substitution for both the SNPs in all the resistant and susceptible genotypes (Table S6). Analysis of SNP for the genes *C.cajan_15535* and *C.cajan_01839* revealed C to G and A to C substitution, respectively, for resistant and susceptible genotypes. These results clearly suggested association of four SNPs in the three candidate genes with SMD resistance.

Functional annotation of candidate genes

The candidate gene *C.cajan_07067* on CcLG02 has two nonsynonymous substitutions at 27 324 239 bp and 27 324 261 bp positions. The nsSNP at 27 324 239 bp had T (in resistant genotypes) to G (in susceptible genotypes) substitution, which leads to change in amino acid from isoleucine (ATT) to methionine (ATG). Another nsSNP at 27 324 261 bp position had a similar T (in resistant genotypes) to G (in susceptible genotypes) substitution but codes for different amino acid serine (TCC) to alanine (GCC). Functional annotation of this candidate gene reveals its role in serine–threonine protein kinase. Similarly, another candidate gene *C.cajan_07078* on CcLG02 had T (in resistant genotypes) to G substitution (in susceptible genotypes), which leads to change the codon from ATG (methionine) to CTG (leucine). The functional annotation of this candidate gene showed similarity to PHD finger protein. *C.cajan_07124* is a third candidate gene on CcLG02 and had G (in resistant genotype) to A (in susceptible genotype) substitution. This substitution leads to change in amino acid from glycine (GGC) to serine (AGC). This gene showed functional similarity to rRNA-processing protein. The candidate gene *C.cajan_15535* on CcLG08 has C (in resistant genotypes) to G (in susceptible genotypes) substitution, which leads to a silent change from CAA (glutamine) to GAA (glutamine). This gene is functionally characterized as copia-like retrotransposable.

The chromosome CcLG11 had three SNP positions 19 958 148 bp, 32 606 065 bp and 35 228 097 bp in three candidate genes *C.cajan_01839*, *C.cajan_02962* and *C.cajan_03203*, respectively. The candidate gene *C.cajan_01839* had A (in resistant genotypes) to C (in susceptible genotypes) substitution resulting effect on exon 1 and leads to change into the codon from TAC (tyrosine) to TCC (serine). Functional characterization of *C.cajan_01839* reveals their role in serine–threonine protein phosphatase an important candidate gene for defence mechanism. At SNP position 32 606 065 bp candidate gene, *C.cajan_02962* had T (in resistant genotypes) to C (in susceptible genotypes) substitution, which leads to change in the amino acid from proline (CCA) to glutamine (CAA) and characterized as *NADH* dehydrogenase. In the same way, another candidate gene *C.cajan_03203* had C (in resistant genotypes) to A (in susceptible genotypes) substitution. The change in nucleotide substitution led to conversion in amino acid from leucine (TTG) to phenylalanine (TTT) and characterized as retrovirus-like polyprotein. Detailed functional annotation of these seven candidate genes is presented in Table S7.

In silico structural analysis of the candidate genes

To understand the structural variation in the candidate genes, nonsynonymous SNPs substitution effects were calculated. For each nsSNPs, the mutation effect was calculated based on proven score value (cut-off = −2.50). As a result, of seven nsSNPs, five mutations did not show any deleterious effect in the protein structure analysis. Therefore, the five genes causing no changes in protein structure were not selected for further study. The remaining two mutations targeting candidate genes, namely *C.cajan_01839* (serine–threonine protein phosphatase) (Figure S3) and *C.cajan_03203* (retrovirus-like polyprotein) (Figure S4), showed deleterious effect on the protein structure with proven score value of −8.56 and −3.69, respectively (Table S7). Proteins 3D structure of the two genes was modelled with >90% accuracy to analyse conformational changes in the translated proteins. In the case of *C.cajan_01839*, secondary protein structure revealed 1% variation in β -sheet model of the resistant and susceptible genotypes. For another

gene *C.cajan_03203*, a variation of 32% for resistant and 31% for susceptible genotypes was observed in the α -helix secondary protein structure.

Expression profiling of candidate genes

Above-mentioned approaches provide converging evidences about causativeness of the *C.cajan_03203* gene with FW and the *C.cajan_01839* gene with SMD. For confirming this at functional level, quantitative real-time PCR (qRT-PCR) for these genes was undertaken on root (for FW) and leaf (for SMD) tissues of the resistant (ICPL 20096) and susceptible (ICPL 332) genotypes for both FW and SMD. The *C.cajan_03203* gene showed 3.45-fold down-regulation in root tissues in the FW-susceptible genotype as compared to 0.50-fold down-regulation in the FW-resistant genotype. Similarly, the *C.cajan_01839* gene showed 2.32-fold up-regulation in leaf tissues in the SMD-susceptible genotype as compared to 0.83-fold up-regulation in the SMD-resistant genotype (Figure S5).

Discussion

Conventional methods of trait mapping required genotyping of all the individuals of the developed mapping population. This process, however, is laborious, time-consuming and costly. Additionally, due to low level of polymorphism in some crop species like, pigeonpea and groundnut, identification of polymorphic markers is another challenging task (Pandey *et al.*, 2011; Saxena *et al.*, 2010b). To overcome these issues, in the recent past, NGS-based technologies have been successfully utilized in trait mapping (see Varshney *et al.*, 2014). Recently sequenced pigeonpea genome opened the new avenues to enable the NGS-based breeding for rapid trait mapping similar to other crops (Varshney *et al.*, 2012a). Next-generation sequencing technologies can generate large number of short reads in less time, and with the help of powerful bioinformatics tools, it is possible to assemble the reads for variant (SNPs) calling between and among genotypes. This approach can be useful for identification of higher number of genomewide SNPs, which can be used in number of applications such as in trait mapping, MAS, etc. (Varshney *et al.*, 2009). In the near future, NGS-derived WGS-based approach is expected to be the approach for trait mapping. In this study, we have applied two WGRS-based methods, that is Seq-BSA and nonsynonymous SNPs substitution to find out the candidate genes for two most dreaded diseases namely FW and SMD for enabling genomics-assisted breeding.

To find out the SNPs associated with the trait of interest, we used the concept of traditional BSA approach as proposed by Michelmore *et al.* (1991). This method has been used to map large number of simply inherited traits (Semagn *et al.*, 2010). Due to continuous advances and reduction in cost of sequencing technologies, we have used BSA approach by sequencing the extreme bulks instead of screening with molecular markers. We constituted and sequenced two pools of 16 plants each for resistance and susceptible to these two diseases and referred the approach as Seq-BSA. Accordingly, the probability (as calculated based on Michelmore *et al.*, 1991; $2(1 - [1/4]^{16})(1/4)^{16}$) of an unlinked locus being polymorphic between bulks of 16 such individuals would be equivalent to 4.65×10^{-10} . Consequently, on the basis of SNP index analysis, we have identified the SNPs that were monomorphic for resistant parent and resistant bulk (SNP index = 0) but entirely different in susceptible bulk (SNP index = 1) with read depth of ≥ 7 . This approach directly reduced the number of SNPs from 4139 to seven (0.0016%) (with SNP index 1 and 0). Out of seven SNPs identified, only one SNP was present in the genic region (*C.cajan_01839*) while the other SNPs were present in the nongenic region. Our findings are similar to the previous studies in which NGS-based pooled analysis does not allow the identification of direct candidate genes but provides information on putative candidate genes in form of associated SNPs (Hartwig *et al.*, 2012).

As the parental genotypes are segregating for two traits, it was difficult to associate the identified SNPs with one or both (FW, SMD) diseases. Therefore, nsSNP substitution-based approach was utilized. This approach was successfully utilized for mapping drought tolerance in maize (Xu *et al.*, [2014](#)) and sheath blight resistance in rice (Silva *et al.*, [2012](#)). This approach identified 8362 nsSNPs between the R- and S-bulks which are too far to be associated with the target trait. In the present study, we combined both Seq-BSA and nsSNP approach that narrowed down putative eight SNPs in seven candidate genes on three different chromosomes (CcLG02, CcLG08 and CcLG11) of pigeonpea. However, we did not identify any nsSNP within flanking regions of the SNPs identified through Seq-BSA on CcLG07 and CcLG10. This may be attributed to the low sequencing depth in these regions. These speculations, however, need to be confirmed by re-sequencing the particular regions at higher depth.

For classification of identified genes in terms of their association with resistance to FW and SMD, detailed haplotype analysis in diverse set of lines, *In silico* structural (protein) analysis and transcript profiling finally provided causativeness of *C.cajan_03203* gene to FW and *C.cajan_01839* gene to SMD. For instance, the single nucleotide mutation in these genes was predicted with deleterious effects for translation at the protein level that was also reflected in the form of conformational change in the secondary structure of these genes. qRT-PCR-based expression studies also showed a similar expression in the susceptible genotype (ICPL 332). The gene *C.cajan_03203* codes for a retrovirus-like polyprotein, which is known to be involved in plant defence against pathogens (Grandbastien, [2014](#)). This gene showed >2-fold up-regulation in the susceptible genotype carrying the mutation as compared to the resistant genotype. Retrovirus-like polyprotein are the mobile genetic elements which can replicate and transpose from one position in the genome to the other position either by RNA intermediate (Class-I) driven reverse transcription or by direct transposition (Class-II) (Grandbastien, [2014](#)). Many of the plant retrotransposons reported to date are transcriptionally activated by various abiotic and biotic factors (Grandbastien, [1998](#)). Fungal pathogens like *Trichoderma viride* and *Cladosporium fulvum* or inoculation with various viral and bacterial pathogens have been shown to activate the retrotransposons (Mhiri *et al.*, [1997](#); Pouteau *et al.*, [1994](#)).

While the gene *C.cajan_01839*, showing causativeness with SMD, has been annotated as serine–threonine protein phosphatase, which is known to be involved in the regulation of specific signal transduction cascades. The mutation in this gene also predicted to have a deleterious effect on the susceptible genotype. This SNP may also be responsible for showing significant down-regulation of the gene in the susceptible genotype and could possibly lead to a defect in the response to SMD. Serine–threonine protein phosphatase is the known principal classes of plant defence genes (Farkas *et al.*, [2007](#)). This gene has been shown to play an important role in defence mechanism of Tobacco mosaic virus resistance (Dunigan and Madlender, [1995](#)).

It is evident from this study that NGS-based approaches do increase not only the precision and power but also saves time in the identification of candidate genes for targeted traits as compared to the conventional mapping methods. We anticipate the accelerated use of NGS-based mapping strategies in all those species, where draft genome sequence has become available. The present study identifies one gene (*C.cajan_03203*) associated with FW and one gene (*C.cajan_01839*) with SMD in pigeonpea. The diagnostic SNPs in these genes can be assayed in some cost-effective marker platform such as CAPS (cleaved amplified polymorphic sequences) or KASP Assay for use in the MAS. Molecular breeding using such genes will help the development of superior lines with enhanced resistance to FW and SMD that will eventually enhance crop productivity of pigeonpea.

Experimental procedures

Plant materials

A total of 11 pigeonpea genotypes were selected based on their FW and SMD responses identified in our previous experiments (Saxena *et al.*, [2010a](#)) (Table [1](#)). Among the selected genotypes, ICPL 20096, ICPL 99050, ICPL 20097, ICPL 8863, ICPL 87119 and HPL 24 were resistant to FW, and ICPL 20096, ICPL 99050, ICPL 20097, ICPB 2049, ICPL 87119, ICPL 85063 were resistant to SMD. Furthermore, ICPL 85063, ICPL 332, ICPB 2049 ICPL 87 and ICPL 88039 were susceptible to FW, and ICP 8863 and ICPL 332 were susceptible to SMD. Two genotypes ICPL 20096 (FW and SMD resistant) and ICPL 332 (FW and SMD susceptible) with contrasting phenotypes were crossed, and the confirmed F_1 s were selfed through single-seed descent method. Finally, a total of 188 F_7 recombinant inbred lines (RILs) were produced.

Phenotyping for FW and SMD resistance

The 11 contrasting genotypes for FW and SMD resistance used in the present study were phenotyped in sick plot nursery at Patancheru (Telangana State, India) during crop season 2012–2013 and 2013–2014. Similarly, the RILs (ICPL 20096× ICPL 332) along with contrasting parents were sown in the sick plot nursery Patancheru and Gulbarga (Karnataka State, India) for FW and Patancheru and Tandur (Telangana State, India) for SMD during crop season 2012–2013 and 2013–2014 in three replications using randomized complete block design (RCBD). The experimental plots were four metres long with row to row spacing of 75 cm and a 20 spacing cm between plants. For satisfactory evaluation, the selection of FW-sick plots was on the basis of disease incidence seen every year and for SMD ‘Leaf Stapling Technique’ (Nene and Reddy, [1976](#)) at two leaf stages was followed. The observations for FW and SMD incidence were recorded at 30 and 90 days after sowing (DAS), and susceptible and resistant RILs were identified using the scale described by Singh *et al.* ([2003](#)). Based on the per cent disease incidence (PDI) score, the RILs and their parental lines were classified into four categories (i) resistant (0%–9.99% of PDI), (ii) moderately resistance (10%–19.99% of PDI), (iii) susceptible (20%–40% of PDI), and (iv) highly susceptible (>40% of PDI).

Construction of sequencing libraries and Illumina sequencing

From 188 RILs, a total of 32 RILs (16 susceptible and 16 resistant) and 10 genotypes (ICPL 20096, ICP 8863, ICPB 2049, ICPL 20097, ICPL 99050, ICPL 332, HPL 24, ICP 85063, ICPL 87 and ICPL 88039) were selected for sequencing. The sequencing data of one genotype namely, ICPL 87119, were used from the already published genome (Varshney *et al.*, [2012a](#)). Genomic DNA was isolated from two to three young leaves from selected RILs and 10 genotypes using NucleoSpin Plant II kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany). Two DNA pools, one resistant bulk (R-bulk) and one susceptible bulk (S-bulk), were prepared by mixing equimolar concentration of DNA samples from resistant and susceptible RILs.

The Illumina libraries for these two bulks and 10 genotypes were prepared using TruSeq DNA sample Prep kit LT (set A) FC-121-2001. Two microgram DNA from each sample was sheared using Bioruptor® NGS (Diagenode, Liege, Belgium), end repaired and adapter ligated. Size selection of libraries was performed using 2% agarose gel to obtain a target insert size of 500–600 bp and purified for further analysis. Further, the libraries were enriched using adaptor compatible PCR primers. The size distribution of amplified DNA libraries was checked on an Agilent Technologies 2100 bioanalyzer using a High Sensitivity chip (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). The DNA libraries were sequenced on Illumina MiSeq platform using MiSeq

Reagent Kit v2 (500 cycles) (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) to generate 250 base paired-end reads.

Alignment of short reads of bulks for Seq-BSA

QTL-seq pipeline (<http://genome-e.ibrc.or.jp/home/bioinformatics-team/mutmap>, developed by Iwate Biotechnology Research Center, Japan) was used for calculating SNP indices. Briefly, the cleaned reads of resistant parent (ICPL 20096) were first aligned to the reference genome (Asha) using inbuilt BWA aligner (Li *et al.*, 2009). Coval was used for postprocessing and filtering of the alignment files (Kosugi *et al.*, 2013). The variants called for the resistant parent were then used to develop reference-guided assembly of the resistant parent (ICPL 20096; resistant parent) by substituting the bases with confidence variants calls in the genome. The reads from R- and S-bulks were then aligned, and variants were called for both the bulks against the developed assembly.

SNP index was calculated at each SNP position for both the bulks as suggested by Abe *et al.* (2012) using the formula:

$$\text{SNP index (at a position)} = \frac{\text{Count of alternate base}}{\text{Count of reads aligned}}$$

The SNPs with read depth <7 in both the bulks and SNP index <0.3 in either of the bulks were filtered out and SNPs with homozygous alleles in both the bulks were used for Δ SNP index calculation using formula:

$$\Delta\text{SNP index} = \text{SNP index in R-bulk} - \text{SNP index in S-bulk}$$

Only, SNP positions with Δ SNP index = -1 (i.e. the allele called in R-bulk was same as that of resistant parent while contrastingly different in S-bulk) were considered as the causal SNPs responsible for the trait of interest. Additionally, chi-square analysis was performed for both the bulks based on the read depth to test the level of significance of associated SNPs at $P < 0.01$.

Identification of nonsynonymous SNPs

The WGRS data of four parents, namely ICPL 20097 (R-FW and R-SMD) and ICP 8863 (R-FW and S-SMD), ICPB 2049 (S-FW and R-SMD) and ICPL 99050 (R-FW and R-SMD), segregating for FW and SMD along with R- and S-bulks were used for nsSNPs identification. The data were aligned against the reference genome of Asha (Varshney *et al.*, 2012a) using Bowtie 2 (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/index.shtml>). The BAM files thus obtained were used for SNP identification using Samtools 1.0 (Li *et al.*, 2009). The SNPs obtained were annotated using SnpEff tool (<http://snpeff.sourceforge.net/>), and nsSNPs were subsequently identified using the stringent criteria as described in Silva *et al.* (2012). Further, nsSNPs present in 2-Mb region flanking the SNP positions identified from Seq-BSA study were selected, and the functions of associated genes were predicted by searching the respective protein sequences against nonredundant (nr) database using BLASTP program implemented in Blast2GO software (Conesa *et al.*, 2005). The results from both the approaches were combined to identify disease-specific nsSNPs.

qRT-PCR for expression profiling

One resistant (ICPL 20096) and one susceptible (ICPL 332) genotypes for both FW and SMD, respectively, were used to validate the functionality of two putative candidate genes. Primers were designed for each candidate genes using Primer 3 software for qRT-PCR experiment using standard criteria (Rosen and Skaletsky, 2000). The list of primers used in the qRT-PCR analysis is provided in Table S8.

FW and SMD stresses were imposed on 10 days old seedlings of ICPL 20096 and ICPL 332 grown in two sets for each stress. Root dip inoculation (FW) and leaf staple techniques (SMD) were followed for stress imposition under glasshouse conditions, and tissues were harvested after seven days of stress. Total RNA was isolated from roots (FW) and leaves (SMD) using XcelGen Plant RNA Mini Kit (Xcelris Genomics, Gujarat, India), while cDNA was synthesized using SuperScript[®] III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen, Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Corporation, Waltham, MA, USA) for qRT-PCR. The qRT-PCR reactions were performed using SYBR green master mix in 96-well plates with two technical replicates and three biological replicates. The qRT-PCR reaction was performed as mentioned previously (Mir *et al.*, 2014). The housekeeping gene *Actin* was used as an endogenous control to normalize the variations in the cDNA samples. The data were compiled from the mean C_t values of all the biological replicates after normalizing with the C_t values of the endogenous control. The relative transcriptional level in terms of fold change was calculated using the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method (Livaka and Schmittgen, 2001). Tukey's post hoc multiple comparison test using SPSS (version 16.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for data analysis at $P < 0.05$ to present significant values statistically. The different and similar letters were considered as statistically nonsignificant.

Protein structure analysis

Phyre 2 (Protein Homology/analogy Recognition Engine v2.0 server (www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2)) was used for 3D modelling structures of proteins. Phyre 2 uses the alignment of hidden Markov models via HH search to significantly improve the accuracy of alignment to known 3D structure models. It also incorporates an *ab initio* folding simulation called Poing to model regions of proteins with no detectable homology (Kelley and Sternberg, 2009). Best models were selected based on superfamilies, confidence key, coverage and amino acid identities.

Acknowledgements

The work was supported by the United States Agency for International Development (USAID) – India Mission and Department of Agriculture and Cooperation, Ministry of Agriculture, Government of India. This work has been undertaken as part of the CGIAR Research Program on Grain Legumes. ICRISAT is a member of CGIAR Consortium.



Август 2006 г.

© Андреева Н.С.

Еще раз об открытии структуры ДНК

Н.С. Андреева,

доктор физико-математических наук, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН

В нашей отечественной литературе роль, которую сыграла Розалинда Франклин в становлении молекулярной биологии, в должной степени не отражена. Как правило, открытие структуры ДНК ассоциируется лишь с именами Дж.Уотсона и Ф.Крика, хотя на самом деле три имени должны фигурировать в подзаголовке этой замечательной работы - *Уотсон-Крик-Франклин*, так как каждый из них внес равноценный, индивидуальный и незаменимый вклад в определение строения вещества наследственности. Но история распорядилась так, что имени Франклин суждено было уйти в небытие *.

* Об этом факте упоминалось недавно в краткой заметке. Подробнее см.: [Корошкин Л.И., Фридман С.А. Пионер молекулярной биологии // Природа. 2004. №8. С.75-77.](#)

Все началось с того, что Уотсон и Крик построили свою модель, опираясь на неопубликованные данные Франклин, и в своей знаменитой статье о структуре ДНК не упомянули ее имя [1]. Серьезное и обстоятельное исследование реального вклада Франклин в установление структуры двойной спирали ДНК проведено А.Клугом [2], который опубликовал в 2004 г. большую подборку различных материалов, а также дневники и рабочие тетради Франклин, позволяющие не только понять ее роль в этих исследованиях, но и проследить шаг за шагом, как развивалась мысль и созревало величайшее открытие XX в. Мне кажется, что подробное описание этого процесса не только интересно, но и весьма поучительно.

Начнем с исходной ситуации. По сути изучением структуры ДНК занимались три группы. Одна из них, биофизическая, была организована при поддержке Совета по медицинским исследованиям (MRC) сэром Дж.Рэндалом в Лондонском Королевском колледже в 1946 г. "для междисциплинарной атаки на секрет хромосом и близких к ним структур". Возглавил ее эрудированный и обстоятельный биофизик М.Уилкинс. В этой группе проходил практику студент Р.Гослинг, рентгенографически исследовавший сперму различных животных. Уилкинс преуспел в получении нитей ДНК вытягиванием их из вязких растворов. Нити давали высокое двойное лучепреломление, что свидетельствовало о параллельной ориентации длинных молекул вдоль оси растяжения. Вместе с Гослингом он снял рентгенограмму влажной нити ДНК, которая оказалась чрезвычайно богатой рентгеновскими отражениями (как впоследствии выяснилось, это была рентгенограмма А-формы ДНК).

Именно она вдохновила молодого американского биолога Дж.Уотсона заняться

5. MAVZULAR BO'YICHA TAQDIMOTLAR, MUSTAQIL TA'LIM UCHUN MATERIALLAR

Biotexnologiya tushunchasining mazmuni

Biotexnologiya so'zi grekcha so'zlar yig'indisi bo'lib, «bios» - hayot, «texne» - san'at, texnika va «logos» – tushuncha, ta'limot ma'nolarini bildiradi.

“Biotexnologiya” terminini fanga 1917 yilda venger injeneri **Karl Ereki** kiritgan. Uning ta'rifiga ko'ra “**biotexnologiya** – bu tirik organizmlar yordamida xom ashyodan u yoki bu mahsulot olinadigan ishlarining barcha turidir”.

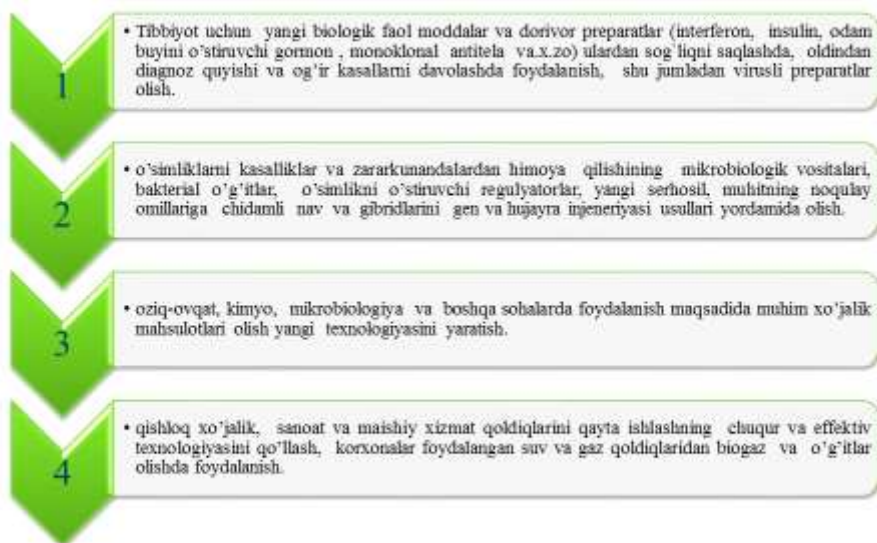
Biologik texnologiya (**biotexnologiya**) inson faoliyati yordamida har xil muhitda foydali mahsulot olish boshqaruvini taminlay olishdir. Bu texnologiyalar har xil biologik agentlar va sistemalar- mikroorganizmlar, viruslar, o'simlik va hayvonlar hujayrasi va to'qimalarida hamda hujayradan tashqari modda va komponentlarining katabolitik jarayonlarning potensialiga asoslangan.

Mavzu: BIOTEXNOLOGIYANING ASOSIY TUSHUNCHALARI VA TA'RIFI

Biotexnologiya
tushunchasining mazmuni

Biotexnologiyaning dolzarb
vazifalari

Biotexnologiyaning dolzarb vazifalari



Mavzu: BIOTEXNOLOGIYANING QISQACHA TARIXI. BIOTEXNOLOGIYANING ZAMONAVIY YO'NALISHLARI

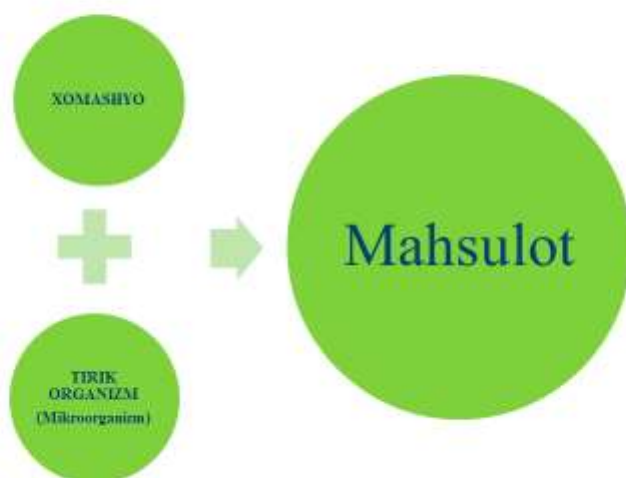
Biotexnologiyaning qisqacha tarixi

Biotexnologiyaning zamonaviy yo'nalishlari

Biotexnologiyaning boshqa fanlar bilan bog'liqligi



Biotexnologiya tushunchasining mazmuni



Biotexnologiyaning qisqacha tarixi



Mavzu: FERMENTLAR MUHANDISLIGINING ASOSIY TUSHUNCHALARI

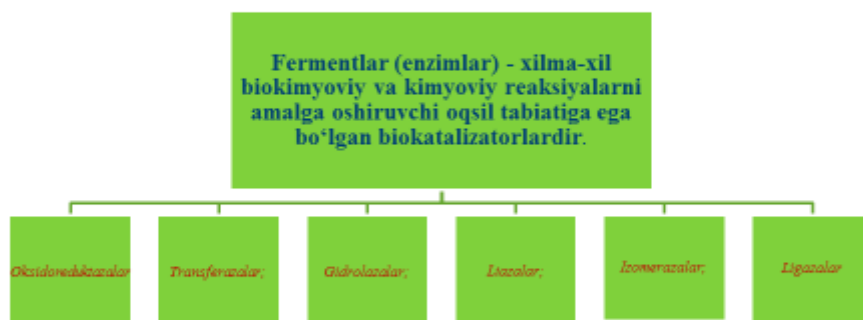
Fermentlar (enzimlar) haqida tushuncha

Fermentlarning xalq xo'jaligidagi ahamiyati

Fermentlar ishlab chiqarish texnologiyasi

Fermentlar produtsentlarini o'stirish jarayoniga ta'sir etuvchi omillar

Fermentlar (enzimlar) haqida tushuncha



Fermentlarning xalq xo'jaligidagi ahamiyati

Mikroorganizmlar fermentlaridan xalq xo'jaligining turli xil sohalarida foydalanish juda ham istiqbolidir. Hozirgi vaqtda mikroorganizmlardan olingan ferment preparatlari sanoatning ko'p sohalarida qishloq xo'jaligida va tibbiyotda qo'llanib kelinmoqda.

α-amilaza	• <i>Aspergillus oryzae</i>, <i>Aspergillus niger</i> • <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>, <i>Bacillus licheniformis</i>
Glyukoamilaza	• <i>Aspergillus niger</i>, <i>Rhizopus niveus</i>, <i>Endomycopsis</i> sp.
Invertaza	• <i>Aspergillus</i> sp., <i>Sacch. Cerevisiae</i>
Sellyulazalar	• <i>Aspergillus niger</i>, <i>Trichoderma roseum</i>, <i>Trichoderma viride</i>
Pektinazalar	• <i>Aspergillus niger</i>, <i>Aspergillus awamori</i>
Lipazalar	• <i>Aspergillus oryzae</i>, <i>Aspergillus awamori</i>, <i>Candida cylindrical</i>, <i>Mucor mhei</i>, <i>Rhizopus</i> sp.

Mavzu: FERMENTLARNI IMMOBILIZATSIYALASH

Fermentlarni immobilizatsiyalash tushunchasi va uning rivojlanishi

Immobilizatsiyalash usullari

Fermentlarni immobilizatsiyalash tushunchasi va uning rivojlanishi

"Immobilizatsiya" - oqsil molekulasining maydonda harakatdan to'xtatish bilan bog'liq bo'lgan har qanday tadbir

1916 yilda
D.J.Nilson va
E.Griffin

- invertaza fermentini ko'mir maydasiga adsorbsiya qilinganda (immobilizatsiya qilinganda), uni faolligi saqlanib qotganligini ko'rsatdilar.

1939 yilda
D.J.Pfanmyuller
va G.Shleyxlar

- proteolitik fermentlarni yog'och qipig'iga adsorbsiya qilish bo'yicha birinchi patentni olishga muvofiq bo'ldilar va olingan fermentni teriga ishlov berishda ishlatish mumkinligini isbotlab berdilar.

1971 yilda
Xeniker

- fermentlar muxandisligi bo'yicha o'tkazilgan birinchi xalqaro konferensiyasida "Immobilizatsiya qilingan fermentlar" qonunga kiritildi. Ilmiy adabiyotlarda ba'zi vaqtlarda "erimaydigan fermentlar", "matritsaga kiritilgan fermentlar" degan iboralar ham uchraydi.

Immobilizatsiya tashuvchilari



Immobilizatsiyalash usullari

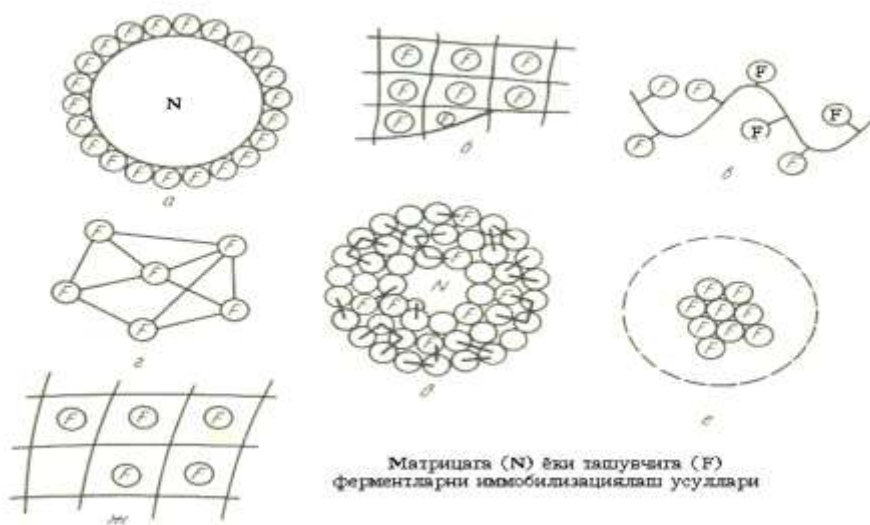
Fizikaviy immobilizatsiya

- suvda erimaydigan "tashuvchi" larga adsorbsiya qilish
- gel teshikchalariga kiritish
- yarim o'tkazgich membranalar yordamida fermentni reaksiyon tizimini boshqa qismidan ajratish
- fermentni ikki fazalik reaksiyon muhitga kiritish

Kimyoviy immobilizatsiya

- kimyoviy ta'sir natijasida ferment bilan tashuvchi orasida qo'shimcha kovalent bog' hosil qilish

Immobilizatsiyalash usullari



Mavzu: FERMENTLAR ISHTIROKIDAGI TEXNOGEN JARAYONLAR

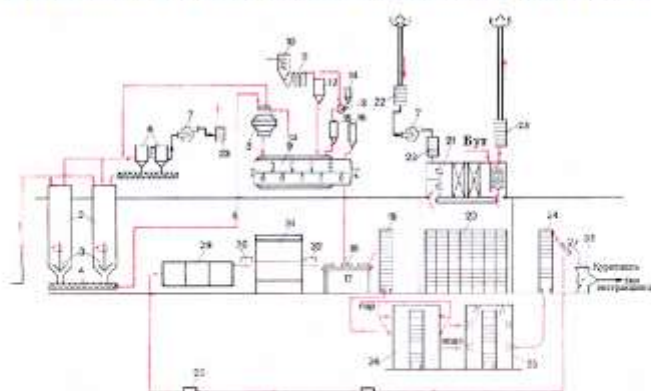
Ferment preparatlarining
olinishi

Sof holdagi fermentlarni
olish usullari

FERMENT PREPARATLARINING OLINISHI



FERMENT PREPARATLARINING OLINISHI



Mikroorganizmlarni yuz qismga ekish usulining texnologik chizmasi

1-donador komponentlarning pnevmotransporti; 2-bunker; 3-voroshitel; 4-shnek; 5-kepek pnevmotransporti; 6-chiquvchi gazlarni tozalash uchun siklonlar; 7-ventilyator; 8-kepakni avtomatik me'yorlovchi uskuna; 9-donador komponentlar sterilizatori; 10-suv sterilizatori; 11-issiqlik almashtiruvchi; 12-steril suv o'lchagich; 13-me'yorlovchi (dorator); 14-xlorid kislotasi to'planuvchi idish; 15-suyultirilgan xlorid kislotasi o'lchov uskunas; 16-ekish suspenziyasi uchun idish; 17-stof; 18-kyuvetalarga joylash; 19-kyuvetalarni ketma-ket joylashtirish uchun javonlar; 20-o'stirish kamerasi; 21-sovutgich; 22-dastlabki tozalash uchun filtr; 23-mikrobiologik iflonishlarni tozalash uchun filtr; 24-tayyor kulturalar uchun javonlar; 25-javonlarni yuvish joyi; 26-javonlarni sterilash; 27-kyuvetalardan quyib olish; 28-ifloslangan kyuveta; 29-kyuvetalarni yuvish; 30-toza kyuveta; 31-kyuvetalarni sterilash kamerasi; 32-steril kyuvetalar; 33-maydalagich uskuna.

**Mavzu: GEN INJENERLIGI MOHIYATI VA TARIXI.
KLONLASH UCHUN DNK MANBALARI**

Gen injenerligi mohiyati va
tarixi

Klonlash uchun DNK
manbalari

Biotexnologiya obyektlariga
quyiladigan talablar

SOF HOLDAGI FERMENTLARNI OLIISH USULLARI

Fermentlar va boshqa oqsil moddalari har xil erimaydigan birikmalarga adsorbsiyalanish (so'rilish) qobiliyatiga ega. Bu xususiyat oqsil aralashmalarini ajratishda va ayniqsa fermentlarni laboratoriya sharoitida tozalashda hamda gomogen bo'lgan ferment preparatlarini olishda ishlatiladi. Adsorbsiya usuli, shu bilan birga kolonkali xromatografiya usullari fermentlarni yuqori darajada toza va ko'p miqdorda olish imkonini beradi.

XROMOTOGRAFIYA

**Ionalmashuv
xromatografiya usuli**

**Affinli (biospetsifik)
xromatografiya usuli**

**Gel xromatografiya
usuli**

GEN INJENERLIGI MOHIYATI VA TARIXI

Yangi biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari

Kashf etilgan vaqti	Bajarilgan ishlar
1973 yil	Birinci gen klonlangan
1974 yil	Birinci bakteriya genlarini klonlash ekspressiyasi amalga oshirildi.
1975 yil	Birinci gibridoma yaratilgan
1976 yil	Rekombinant DNK texnologiyasidan ishlab chiqarishda foydalanish boshlangan.
1980 yil	Gen muxandisli usullari yordamida olingan mikroorganizm shtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan.
1981 yil	Monoklonal antitella to'plamlaridan foydalanish mumkinligi to'g'risidagi qaror qabul qilingan. Birinchi marta genlarni avtomatik sintezatori sotuvga chiqarildi.
1982 yil	Tibbiyotda rekombinant DNK - insulini va hayvonlar uchun birinchi rekombinant DNK dan foydalanishga ruxsat berildi.
1983 yil	Birinci marotaba gen ekspressiyasidan bir o'simlikdan boshqa turida foydalanish mumkinligi isbotlandi.

GEN INJENERLIGI MOHIYATI VA TARIXI

- **Gen muhandisligi** – biotexnologiyaning tez rivojlanib borayotgan yo'nalishlaridan biri bo'lib, molekular biologiya, genetika, biokimyo fanlarining uzviyligida vujudga kelgan va turli xil organizmlarda genetik manipulyatsiyalar olib borish imkonini beradi.
- Birinchi marotaba F.Misher 1869 yilda nuklein kislotalar haqida xabar qilgan bo'lsa, 1944 yilga kelib O.T.Everi va uning hamkasblari aynan DNK irsiy axborotlarni saqlashda xizmat qilishini isbotlashdi. Ular tozalangan dezoksiribozali kislota yordamida kasallik chaqirmaydigan pnevmokok shtammini kasallik chaqiradigan shtamiga transformatsiyasini o'rgandilar. 1953 yilda D.Uotson va F.Kriklar DNK strukturasi modelini yaratishgan bo'lsa, 1966 yilda M.Nirenberg, S.Ochao, X.Mattei va N.Koranalar genetik kod tripletlarini aniqlashdi va nuklein kislotalar metabolizmida ishtirok etadigan fermentlarni (*ligaza* va *restriktazalar*) ajratib olishdi.

KLONLASH UCHUN DNK MANBALARI

Gen muhandisligi o'zida *in vitro* fundamental aktiv genetik strukturalarni (rekombinant DNK) yoki bo'lmasa sun'iy yaratilgan genetik dasturlarni namoyon qiladi. E.S.Piruzyan fikricha gen muhandisligi – bu ekperimental tajribalar sistemasi bo'lib, laboratoriya sharoitida (probirkalarda) sun'iy genetik strukturalar, rekombinant yoki gibrid DNK molekulasini yaratish imkonini beradi. Gen muhandisligining asosiy tadqiqot obyekti DNK molekulasini bo'lib, unda tirik hujayraning tuzilishi va funksiyalari haqidagi irsiy axborotlar kodlangan bo'ladi.



BIOTEXNOLOGIYA OBYEKTLARIGA QUYILADIGAN TALABLAR



BIOTEXNOLOGIYA OBYEKTLARIGA QUYILADIGAN TALABLAR

Sanoatda nisbatan kam, ya'ni 100 tur mikroorganizmlardan foydalanilib, ularga bir necha ming shtammlar kiradi. L.I.Vorobyeva (1987y) fikricha sanoat shtammlari quyidagi talabarga javob berishi kerak.

- - arzon va ko'p miqdorda bo'lgan substratlarda o'sishi;
- - biomassa o'sish tezligi yuqori bo'lishi va oxirgi mahsulot paydo qilishi yuqori bo'lib, oziq substratni oz istimol qilishi;
- - chet mahsulotlar hosil bo'lishi minimal bo'lib, yo'llanma biosintetik faollik nomoyon etishi;
- - genetik bir jinsli bo'lishi, mahsuldorligi turg'un va oziq substratiga talabi, o'stirishga talabi turg'un bo'lishi;
- - fag va boshqa yot mikrofloragi chidamli bo'lishi;
- - odam va tashqi muhit uchun zararsiz bo'lishi;
- - produtsentlar termofil bo'lishi kerak, chunki bunda substratning yot mikroflora bilan ifloslanishi sodir bo'lmaydi;
- - biosintezning oxirgi mahsuloti iqtisodiy va xalq xo'jaligi uchun muhim bo'lishi va substratdan oson ajralishi zarur;
- - tez o'sish qobiliyatiga ega bo'lishi;
- - o'z hayot faoliyatida arzon substratlardan foydalanishi;
- - yot mikroflora bilan zararlanishga chidamli bo'lishi zarur;

Mavzu: MUTAGENEZ VA MUTANTLARNI AJRATISH USULLARI. EUKARIOT MIKROORGANIZMLAR GIBRIDIZATSIYASI

Mutagenez va mutantlarni
ajratish usullari

Eukariot mikroorganizmlar
gibridizatsiyasi

MUTAGENEZ VA MUTANTLARNI AJRATISH USULLARI



EUKARIOT MIKROORGANIZMLAR GIBRIDIZATSIYASI



Mavzu: GEN INJENERLIGI FERMENTLARI.

Restriktazalar

Gen injenerligining boshqa fermentlari

GEN INJENERLIGI FERMENTLARI

Gen muhandisligida qo'llaniladigan qariyb barcha fermentlar bakteriyalar hujayrasidan ajratib olinadi va prokariot hamda eukariotlar hujayrasidagi DNK lar ustida "qirqish" yoki "tikish" kabi ishlar bajariladi.

Rekombinant DNK konstruksiyasini yaratishda qo'llaniladigan fermentlar bir necha guruhga ajratiladi:

- DNK ni fragmentlarga bo'luvchi fermentlar (restriktazalar);
- DNK ni ona DNK dan (DNK – polimerazalar) yoki RNK dan (Teskari transkriptazalar, revertazalar) sintezlovchi fermentlar;
- DNK fragmentlarini biriktiruvchi (ligazalar) fermentlar;
- DNK fragmenti oxirlarini o'zgartiruvchi fermentlar.

RESTRIKTAZALAR

Restriktazalar (restriksion endonukleazalar) – yordamida DNK molekulasi fragmetlarga ajratiladi. Bu fermentlar yuqori speksifiglikka ega bo'lib, DNK molekulasidagi azotli asoslar izchilligini (**restriksion saytlar**) tanib kesadi. Gen muhandisligida restriktazalarni donor DNK dan kerakli uchastkalarni qirqib olishda ishlatiladi.

Restriktazalar asosan bakteriyalardan lekin, ayrimlari achitqi va bir hujayrali suvo'tlardan ham ajratib olinadi. Restriktazalarning nomenklakutasi 1973 yilda S.Simit va D.Natanslar tomonidan taklif etilgan.

E.coli ning alohida shtammi DNK si boshqa shtammi hujayrasi (masalan, B shtammi DNKsi C shtammi hujayrasi) ga kiritilganda, odatda, genetik faollik ko'rsata olmaydi, chunki u maxsus fermentlar-restriktazalar bilan tezda bo'laklarga bo'lib yuboriladi. Bu hodisa 1953-yilda aniqlangan edi. Hozirgi kunda turli xil mikroorganizmlardan mingdan ortiq har xil restriktazalar ajratib olingan bo'lib, gen muhandisligida 200 dan ortiq turi keng qo'llanilmoqda. Shunday qilib, bir turdagi restriktaza ta'sirida bitta va aynan o'sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi fragmentlar yig'indisini hosil qiladi. Restriktazala nomlanishida ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olish mumkin. Masalan, *Escherichia coli*-*EcoRI*, *EcoRV*, *Haemophilus influenzae* -*Hinf I*, *Streptomyces albus* - *Sal I*, *Thermus aquaticus* - *Taq I*.

RESTRIKTAZALAR

1-jadval

Gen muhandisligida qo'llaniladigan ba'zi bir restriktazalar tavsifi

Restriktazalar	Restriktaza olingan mikroorganizmlar	Restriktazalarning "aniqlaydigan" va kesadigan oxirgi uchlari
Eco RI	<i>Escherichia coli</i> RI	-G-A-A-T-T-C- -C-T-T-A-A-G-
Hind III	<i>Haemophilus influenza</i>	-A-A-G-C-T-T- -T-T-C-G-A-A-
Sal I	<i>Streptomyces albus</i>	-G-T-C-G-A-C- -C-A-G-C-T-G-
Bam I	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	-G-G-A-T-C-C- -C-C-T-A-G-G-
Hpa II	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-C-C-G-G- -G-G-C-C-
Alu I	<i>Arthrobacter luteus</i>	-A-G-C-T- -T-C-G-T-
Haem III	<i>Haemophilus aegyptius</i>	-G-G-C-C- -C-C-G-G-
Sma	<i>Serratia marcescens</i> SD	-C-C-C-G-G-G- -G-G-G-C-C-C-



GEN INJENERLIGINING BOSHQA FERMENTLARI

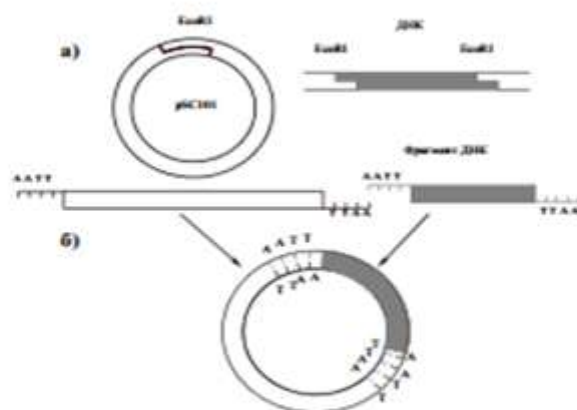
DNK – polimeraza va teskari transkriptazalar. DNK – polimerazalar DNK ni ona DNK dan sintezlovchi fermentlar bo'lib, birinchi marotaba *E.coli* hujayrasidan 1958 yilda A.Kornberg va uning hamkasblari tomonidan DNK – polimeraza I ajratib olingan. Bu ferment molekulyar og'irligi 110 mingga teng bitta polipeptid zanjindan tuzilgan, u polimerizatsiyalanish reaksiyalarini katalizlaydi. Gen muhandisligida keng qo'llaniladigan fermentlardan biri *E.coli* ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimerazasi I hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukleotidlarni birlashtirish yo'li bilan DNK zanjirini 5' -3' yo'nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjimi hosil qilishda qo'llaniladi (bir zanjirli matritsa —DNK sig'a qo'shilganda prайmer ishtirokida ikki hissa ortishi kuzatiladi). Bu xususiyat DNK-bibliotekalarini tuzishda, DNK zanjiridagi «bo'shliq» larni to'ldirishda va DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo'lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo'llaniladi. Tabiiy holdagi DNK – polimerazalar DNK reparatsiyasida (DNK ning shikastlangan qismlarini qayta tiklash) ham muhim rol o'ynaydi. Bundan tashqari maxsus termostabil DNK polimerazalar Tth va Taq - polimerazalar issiq suv chiqadigan buloqlar (geyzerlar) da yashovchi bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, *polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR)* usuli yordamida DNKning istalgan bo'lagi ustida ko'plab ishlarni amalga oshirish imkonini berdi. PZR usuli asosida Taq - polimeraza yotadi, u gen muhandisligining eski usullarini nafaqat soddalashtirish, balki alohida genlarni va yaxlit genomni ham molekular nishonlashni amalga oshirishga sharoit yaratadi.

Mavzu: VEKTOR MOLEKULALAR.

Vektor tushunchasining mazmuni va uning xillari

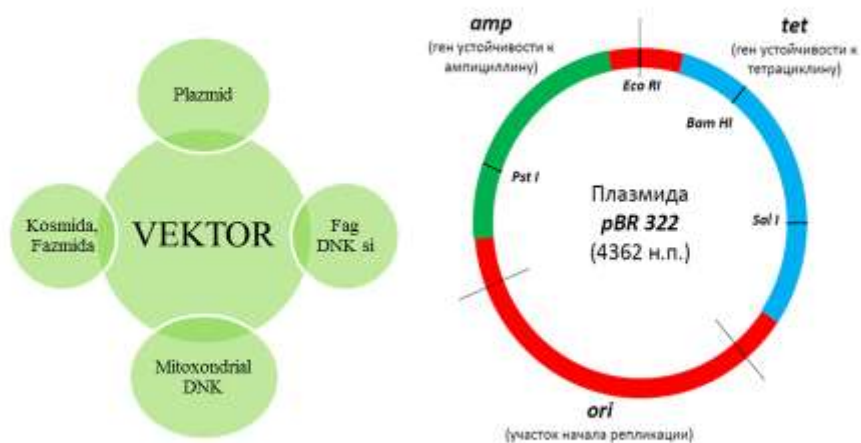
Vektor molekular yordamida genlar bankini yaratish

VEKTOR TUSHUNCHASINING MAZMUNI VA UNING XILLARI



Введение фрагмента рекомбинантной молекулы ДНК в плазмидный вектор pSC101 с помощью рестриктазы *EcoRI*, образующей «липкие» концы: а) — разрезание молекулы ДНК рестриктазой и образование фрагментов с «липкими» концами; б) — гибридизация и сшивание ферментом лигазой фрагментов ДНК.

VEKTOR TUSHUNCHASINING MAZMUNI VA UNING XILLARI

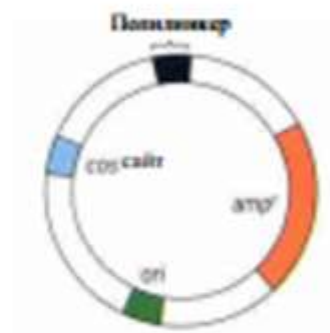


VEKTOR TUSHUNCHASINING MAZMUNI VA UNING XILLARI



Схема использования плазмиды pUC18 в ходе клонирования фрагмента чужеродной ДНК

VEKTOR TUSHUNCHASINING MAZMUNI VA UNING XILLARI



Структура типичного космидного вектора, объединяющего свойства фага λ и плазмиды.

Mayzu: BAKTERIYALARDA KONYUGASIYA VA PLAZMIDALAR, FAGLAR VA TRANSDUKSIYA, TRANSDUKSIYALARDAN FOYDALANISH, IS - ELEMENTLAR, TRANSFORMASIYA.

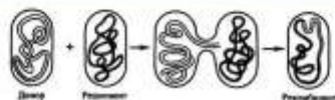
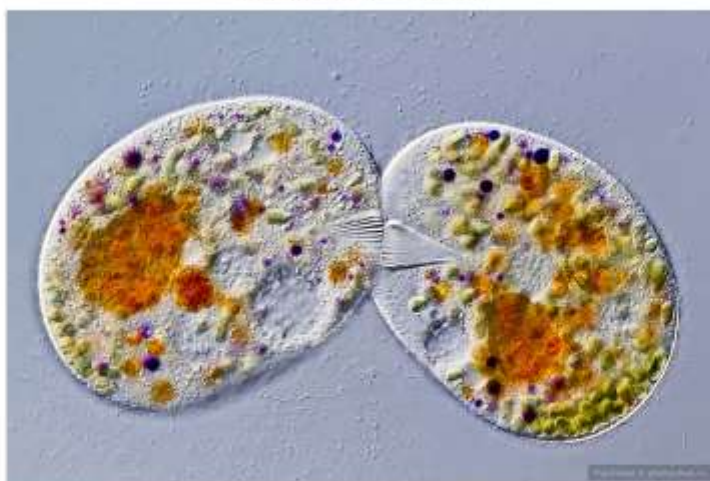
Plazmidlar va ularning xillari

Faglar va transduksiya

Transpozonlar va IS elementlar

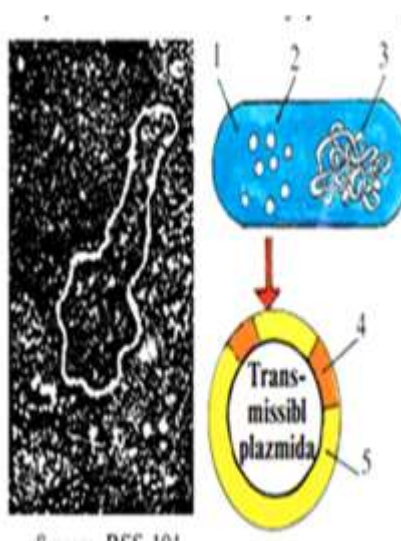
Transformatsiya

KONYUGATSIYA



PLAZMIDLAR VA ULARNING XILLARI

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

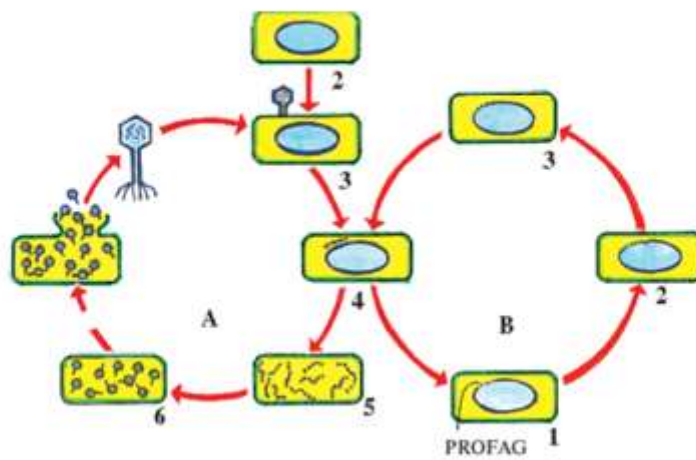


PLAZMIDLAR VA ULARNING XILLARI

Plazmidalar o'z xususiyatiga ko'ra ikkiga bo'linadi.

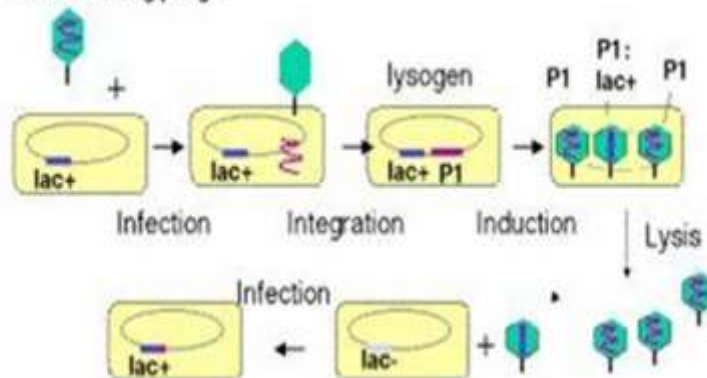
- **Birinchisi** transpozon yoki bakteriofag irsiy molekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasining maxsus DNK izchilligini kesib, rekombinatsiya bo'la oladigan plazmidlar. Bunday rekombinatsiyalanuvchi plazmidlar **transmissibl, ya'ni nasldan-naslga o'tuvchi plazmidlar** deb ataladi. Transmissibl plazmid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

TRANSDUKSIYA



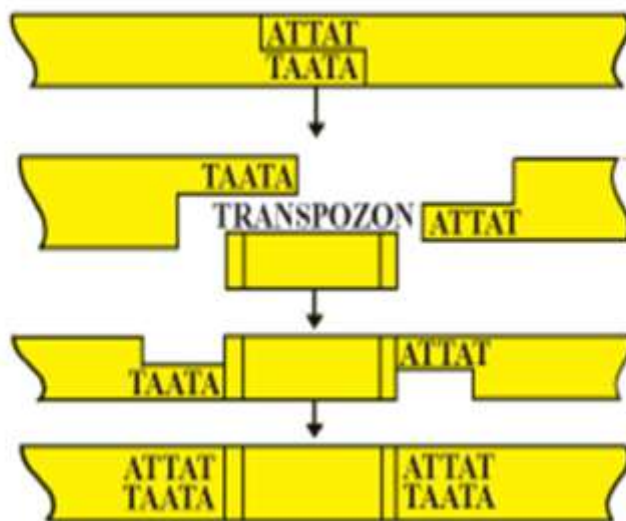
TRANSDUKSIYA

P1 transducing phage

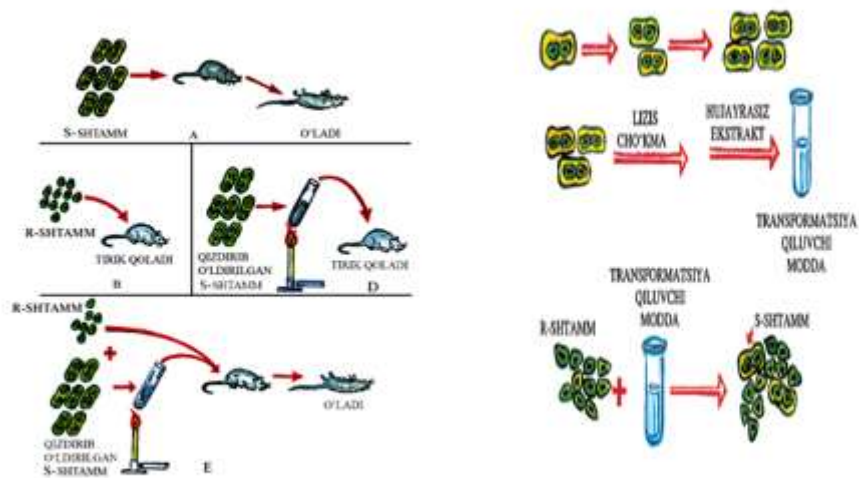


Transduction: *lac+* gene from P1 *lac+* phage is inserted into *lac-* bacterium by recombination. The resulting bacteria are *lac+*.

TRANSPOZONLAR



TRANSFORMATSIYA



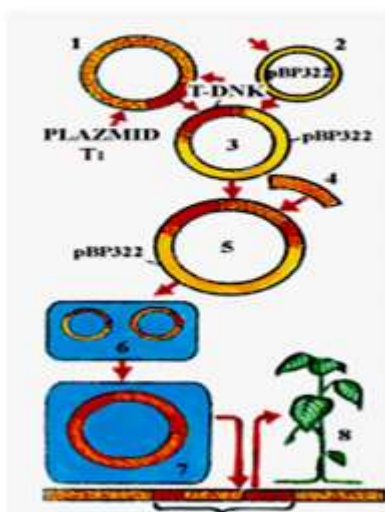
Mavzu: O'SIMLIKLAR GEN MUHANDISLIGI

Gen injenerligi asosida transgenli o'simliklar olish

Kasallik va zararkunandalarga bardoshli ekin navlarini olish

Fotosintez va gen injenerligi

Gen injenerligi asosida transgenli o'simliklar olish



Agrobakteriyadan olingan Ti-plazmid (1) unikal restriksion saytli plazmid (2) bilan biriktirilib vektor konstruksiya (3) yaratadi. Vektor konstruksiyaning T-DNK qismiga begona gen (4) rekombinatsiyalanadi va shish hosil qila olmaydigan Ti plazmid asosida vektor (5) olinadi. Bu vektor TDNK qismi deb tashlangan Ti-plazmidli maxsus agrobakteriyaga shtammiga kiritiladi (6). Yaratilgan rekombinat agrobakteriya o'simlik protoplast bilan birga sun'iy sharoitda o'stirilganda (7) vektor (8) o'simlik genomiga rekombinatsiya bo'ladi.

***Yuksak o`simliklar irsiyatini gen injeneriyasi usuli bilan
o`zgartirish***

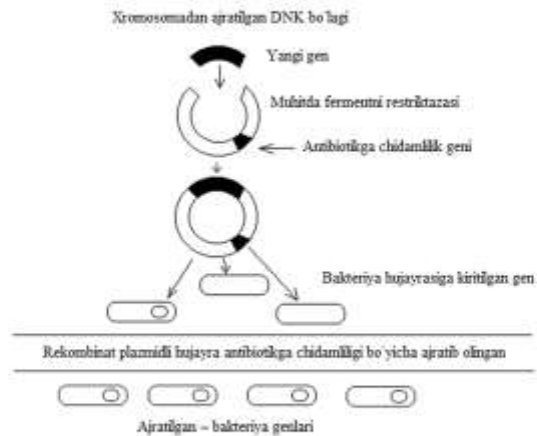
Gen manbasini tanlash va tayyorlash.

- Ahamiyatga ega bo`lgan gen funksiyasiga ko`ra qidirib topiladi, ajratib olinadi (klonlanadi) va tuzilishi o`rganiladi.
- Ajratib olingan gen xromosoma DNK bilan rekombinatsiyalanuvchi biror fak genomi, transpozon yoki plazmit bilan biriktirilib vektor konstruksiya yaratiladi.
- Genlar ekspressiyasi (ishlashi) aniqlanadi.

Vektor konstruksiya yaratish.

- Biror ahamiyatga ega DNK bo`lagi kiritilgan plazmid, virus yoki ko`chib yuruvchi genetik elementlarning DNK molekulasi vektor konstruksiya deyiladi. Vektor konstruksiya genni hujayraga kiritishda (transformsitsiya) jarayonlarida qo`laniladi. Vektor konstruksiya yordamida transgen hujayralar olinadi.

Geterologik (yot) DNK bo'lagini plazmid tarkibida klonlash



Vektorni hujayraga kiritish

- Vektor – rekombinat DNKga kirishiga va replikatsiyasini ta'minlashga yordam beradigan molekula vektor deyiladi.
- So'nggi yillarda vektor molekula tarkibiga kiritilgan yot genlarni o'ta kuchlik elektr maydoni ta'sirida yoki maxsus gen otuvchi zambarak vositasida o'simlik yoki hayvon hujayrasiga kiritish usullari ishlab chiqilgan. Lekin bu usullar texnik jihatdan murakkab va qimmat bo'lganligi sababli maxsus fanlardagina ishlatiladi.

Zararkunanda hashoratlarga bardoshli transgen o`simliklar yaratish

- Qishloq xo`jalik ekinlarining xavfli zararkunandalari qatoriga Osiyo chigirtkasi, to`qay chigirtkasi, turkman chigirtkasi, yarim qattiq qanotlilardan xasva, beda qandalasini, teng qanotlilardan har xil shiralarni, qattiq qanotlilardan kolorado qo`ng`izi va bargxo`r qo`ng`izlarni, bir qancha tunlam kapalaklarni (g`o`za tunlami, olma mevaxo`ri, karadrino) ko`rsatish mumkin. Oziq-ovqat omborlarida saqlanadigan g`alla va un mahsulotlarida turli qo`ng`izlar va tunlam kapalaklari ko`payib zarar etkazadi.
- Zararkunandalarga qarshi biologik kurash usuli tirik organizmlar yoki ular ishlab chiqargan mahsulotlardan foydalanishga asoslangan. Bu maqsadda zararkunandalarning kushandasi hisoblangan yirtqich va parazit hayvonlardan kasallik tug`diruvchi bakteriyalar, zamburug`lar va viruslardan foydalaniladi. Keyingi yillarda biologik kurashda sun`iy sintezlangan garmonlardan ham foydalanilmoqda.
- Bu garmonlarning oz miqdori ham zararkunandalarning o`sishi va rivojlanishiga salbiy ta`sir ko`rsatib, ularni nobud qiladi.
- Zararkunanda tunlamlarga qarshi kurashda sun`iy sintez qilingan hidli moddalar-feromonlar ayniqsa yaxshi samara bermoqda. Feromon urg`ochi hasharot hid bezi moddasi bo`lib, erkak hasharotni uzoqdan jalb qilish xususiyatiga ega (yunoncha feroH-uzoqdan, monC-jalb qilish). Bu usul erkak hasharotni qirib tashlab, urg`ochi hasharotlarni pushtsiz qoldirishdan iborat. Hozir feromonli tuzoqlar g`o`za tunlami, karadrina, olma qurti, tengsiz ipak qurtiga qarshi foydalanilmoqda. Har qaysi feromonlar faqat bir tur hasharotni jalb qiladi, boshqasi uchun zararsiz hisoblanadi.

Yetuk o`simlik olish.

- Transformatsiya qilingan o`simlik hujayrasi bo`linishi natijasida ma`lum bir programma bo`yicha rivojlanadigan hujayralar to`plami hosil bo`ladi. Bunday to`plam **“KALLUS”** to`qima deb ataladi. Kallus to`qima hujayralaridan ayrimlari o`simlik fetogarmonlari va boshqa stemoregulyatormoddalar ta`siridama`lum programma bo`yicha bo`lina boshlaydi.natijada, bunday hujayralardan normal voyaga yetgan transgen o`simlik olinadi. Transgen hujayradan su`niy sharoitda yetuk o`simlik olinadi.

Mavzu: HAYVONLAR GEN MUHANDISLIGI

Chorvachilikda qishloq xo'jaligi biotexnologiyasidan foydalanish

Hayvonlarda gen injenerligining asosiy usullari

Transgenli hayvonlar olish va ko'paytirish

Veterinariyada gen injenerligidan diagnoz quyishda foydalanish

Gerbitsidlarga chidamli navlarni yaratilishi

- O'simliklar biotexnologiyasining asosiy yo'nalishlaridan biri gerbitsidlar ta'siriga chidamli ma'daniy o'simliklar olishdir. Gerbitsidlar keng ta'sir spektriga ega bo'lib, begona o'tlarni yo'qatadi. Shu bilan birgalikda ekinlarga ham salbiy ta'sir ko'rsatadi.
- Gerbitsidlarga chidamli o'simliklar olish ikki yo'nalishda olib boriladi: birinchidan, gerbitsidlarga chidamli o'simlik shakllarining to'g'ridan-to'g'ri seleksiyasi (asosan gerbitsitga chidamli o'simliklarni yovvoyi turlari bilan chatishtirish orqali), ikkinchidan, ekspressiyasi gerbitsitga bardoshlilik olib keluvchi genlarni ko'chirib o'tkazish yo'li bilan transgen o'simliklar olish.

Laboratoriya sharoitida makkajo'xori o'simligini
zararkunada hasharotlarga qarshi transgen navlarini
yetishtirilgani



a)



b)



v)

Mavzu: HAYVONLAR GEN MUHANDISLIGI

Chorvachilikda qishloq xo'jaligi
biotexnologiyasidan foydalanish

Hayvonlarda gen injenerligining
asosiy usullari

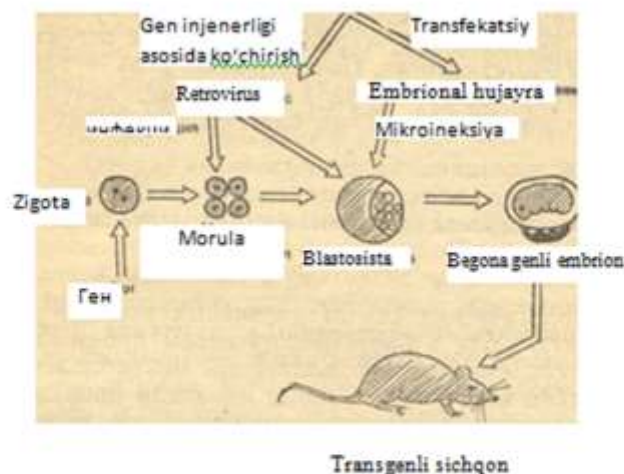
Transgenli hayvonlar olish va
ko'paytirish

Veterinariyada gen injenerligidan
diagnoz quyishda foydalanish

Hayvonlarda gen injenerligini qo'llash inson uchun kerakli (foydali) genlarni genomga joylashning bajarilishiga bog'liq. Mana shunday klonlashtirilgan genni hujayra yadrosiga joylab qo'yishning ikki usuli: pronukleusga genni purkash va virus transeksiyasi usullari mavjud.

Birinchi usul bilan kerakli gen oldin DNK molekulasi ga ulanib so'ngra pronukleusga joylab qo'yiladi. Shunday yo'l bilan Vigler va boshqalar herpes virusdan (NSV-1) olingan va DNK molekulasi ga ulangan timidinkinaza fermentini nazorat qiladigan genni sichqon hujayrasiga kiritishdi. Sichqon hujayrasida ushbu ferment bo'lmagan natijada bir necha bo'g'in davomida sichqon hujayralarida timidinkinaza fermenti bo'lgan.

Ikkinchi usul, ya'ni virus infeksiyasi (transeksiyasi) hayvonlar hujayrasiga tabiiy genetik informatsiya kiritish hisoblanadi. Bundan tashqari viruslar hujayra transformatsiyasida kerakli (foydali) genlarni kiritish uchun ham xizmat qiladi.



1-rasm. Genlarni hayvonlarning genetik apparatiga ko'chirish usullari

Genni kiritish usullari

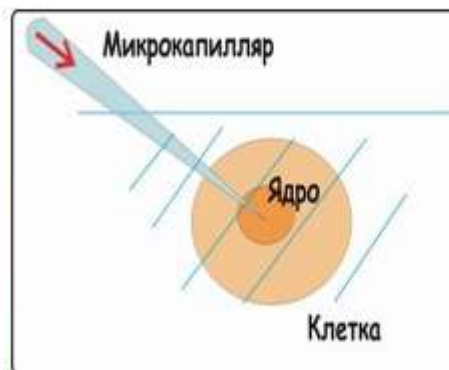
Birinchi usulda DNK saqlaydigan viruslar genlarni ko'chirib o'tkazishda vektor sifatida foydalaniladi. Lekin ko'pchilik hozirgacha o'rnatilgan viruslar kiritilgan hujayrani yemirilishi va yo'q qilinishi (litik vektor) mumkin.

Ikkinchi usul genlarni tartib bilan joylashtirishda keng qo'llaniladi va bunda DNK fosfor kalsiy bilan qo'shib hujayraga kiritiladi. Bu usulning va boshqa kimik usullarning ijobiy tomoni shundaki ular nisbatan oddiy va alohida asbob-uskuna talab qilmaydi, hamda infeksiya chaqirmaydi.

Fizikaviy usul ikki asosiy klassda-mikroin'eksiya va elektroporatsiya yo'li bilan olib boriladi. Elektroporatsiya nisbatan yangi usul bo'lib, DNK molekulasini elektr toki yordamida hujayra membranasidan olib o'tishga yordam beradi. Lekin bu usul yo'li bilan genlarning genomga o'tkazilishi xususiyati noma'lum.

Genni kiritish usullari

Mikroin'yeksiya usuli-samarali hisoblanib, keng qo'llanildi. Gordonning aniqlashicha plazmidli DNK nasilga beriladi. Bunday hayvonlar, ya'ni o'zining genomida ekzogen geni bor organizmlar transgen hayvonlar deyiladi. nishi (litik vektor) mumkin.



6. LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

1-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Chiqindisiz texnologiya yaratish. (8 soat).

Aerob va anaerob mikroorganizmlar oqova suvlarda uchraydigan organik materiallardan tozalash xususiyatiga ega. Achitqi, neftni qayta ishlash zavodi, sut va pishloq ishlab chiqaruvchi korxonalar, kartofel va kraxmalni qayta ishlovchi zavodlardan chiqadigan chiqindilarni anaerob jarayon yordamida tozalash bo'yicha katta muvaffaqiyatlarga erishilgan. Bu jarayonda faol biologik komponentlar qayta ishlatiladi, qoldiq mahsulotlar kamayadi, sezilarli darajada noxush hidlar tarqalishi kamaytiriladi. Eng muhimi metan hosil bo'ladi.

Bulardan tashqari kimyoviy zararlanish (biotsidlarning destruksiyanishi kabi)ning nazorat qilish uchun mikroob shtammlaridan foydalaniladi.

Pseudomonas turiga mansub bakteriyalarda oksireduktaza yoki gidroqsilazalar bo'lib, ular yuqori toksik uglevodorodlar va aromatik birikmalarni parchalash xususiyatiga egadir. *Pseudomonas* ning ayrim shtammlari tarkibida ushbu fermentlarni kodlovchi genlar plazmida tarkibida uchraydi. Bunday plazmidalarning 4 xili mavjud: OST (oktan va va dekanni parchalanishi), XYL (ksilol va toluolni parchalanishi), SAM (kamforani parchalanishi) va NAH (naftalinni parchalanishi). SAM va NAH plazmidalari bakterial hujayralarni chatishtirib o'zining o'tkazuvchanligini ta'minlaydi, qolgan plazmidalar esa bakteriyaga boshqa plazmidalar kiritilgandagina o'tkazilishi mumkin.

Keyinchalik bu shtammlarning gibrid plazmidalari olingan bo'lib, ular tozalanmagan neftda boshqa shtamlarga nisbatan uglevodorodlarni metabolitlash xususiyatiga egadir. Ular yordamida harorat va boshqa omillarni nazorat qilgan holda oqar suvlarni tozalash mumkin.

Ayrim mikroblar molekullarni shunday o'zgartirish xossasiga egaki, ularning o'zi boshqa mikroblar ta'sirida parchalanadi. Bunday «kometabolizm»ni Dafton va Xsi (Kaliforniya universiteti) kuchli toksik paration insektiitsidini *Pseudomonas*ning 2 ta shtammi ta'sirida parchalanishini ko'rsatib berishgan.

Toksik molekulaning kimyoviy o'zgarishining natijasi to'liq parchalanish emas, balki detoksifikatsiyadir: fosforillanish, metillanish, atsetillanish va b.lardir. Detoksifikatsiyani katalizlovchi fermentlar plazmida tarkibidagi genlar bilan kodlanadi. Olimlar kuchli va ko'p ishlatiladigan gerbitsid – 2,4,5-T (2,4,5-trixlorfenoksisirka kislotasi)ni metabolitlovchi mikroob kulturasini olishga erishganlar. Ular tozalash stansiyalaridan bir nechta mikroorganizmlarni ajratib olib ularni organik birikmalarni plazmidasi tarkibida parchalovchi fermentlarni kodlaydigan geni bo'lgan boshqa bakterial shtammlar bilan aralashtirganlar. So'ng aralashma faqatgina 2,4,4-Tda xemostatda o'stirilgan. 10 oydan so'ng bakteriyalarning o'sish sur'ati 2,4,5-Tning bakteriyalarning o'sishi uchun ishlatilishi hisobiga tezlashgan.

Gen injenerligi metodlari asosida bunday natijalarga erishish ko'zda tutilmoqda. Bu ko'plab birikmalarni (kimyoviy sanoatda ajraladigan va bioparchalanmaydigan) buzish xususiyati va assimilyatsiya qiluvchi mikroob shtammlarini konstruksiyalash muammosini yechishga xizmat qiladi.

Qishloq xo'jaligi, o'rmon va oziq-ovqat sanoati chiqindilaridan turli maqsadlarda, xususan, biomassani oshirish, hamda undan energiya olish va shu yo'l bilan atrof-muhit ifloslanishini kamaytirishda ishlatiladi. Ularni mikroorganizmlar yordamida bijg'iydigan birikmalargacha parchalash yoki ularni oqsillarga aylantirish mumkin. Oqava suvlarda suv o'tlarini kulturasini ko'paytirib, nafaqat suvlarni tozalash, balki oqsil va mikroelementlarga boy biomassa olish mumkin.

Ko'plab chiqindi va yo'ldosh mahsulotlarni qayta ishlash mumkin. Ma'lumotlarga ko'ra turli boshqoli o'simliklardan taxminan 1700 mln. t. somon chiqadi va bularning ko'p qismi ishlatilmaydi. Yoki ananasni konservatsiyalashda uning 20% igina ishlatiladi, asosiy qismi esa chiqindiga chiqadi. Uning mevasi, po'sti va boshqa chiqindilari sharbat olish uchun eziladi, quritilgan qoldiqlari esa mollarga yem sifatida beriladi. Spirtli bijg'itish bilan ushbu zavodlardan oqiziladigan chiqindilarni kamaytirish mumkin.

Bijg'ish davomida turli organik moddalarni almashinishi bilan bog'liq bo'lgan biotexnologik jarayonlar atrof-muhitni ham kimyoviy ham biologik jihatdan ifloslantiradi. 1970 yillarning

boshlarida o'tkazilgan tadqiqotlarga ko'ra farmatsevtikada ishlatiladigan fermentatsiya – bu ifloslanishning asosiy manbaidir. Masalan, bu antibiotiklar olinadigan ishlab chiqarishga xosdir. Fermentatsiyaning chiqindilari ma'lum bir metabolitik mahsulotlarning mikroblari hujayralari va ozuqa muhitining ishlatilmagan komponentlari hisoblanadi.

Tarkibida uglevod bo'lgan chiqindi va yo'ldosh mahsulotlarni an'anaviy mikroblar biyog'ish yoki biotexnologik jarayonlar yo'li bilan qayta ishlash mumkin. Masalan, saxarozani kristallash uchun boshlang'ich sirop hisoblangan va texnologik sikldan chiqarib tashlanadigan melassa – shakar olishdagi yo'ldosh mahsulot hisoblanadi. Uning tarkibida shakardan tashqari sulfitlar, karbonatlar va kalsiy, magniy tuzlari mavjud. Melassani biyog'ish davomida qolgan shakarning hammasi ham ishlatilmaydi.

Kraxmal donlarning, kartofel va maniokning quruq massasini 50%ini tashkil etadi. Bu mahsulot jo'kori va maniokdan olinadi. U kislotali yoki fermentativ gidrolizga oson uchraydi va undan dekstrin va glukoza olinadi. Ushbu geksozalardan spirt va fruktozali sirop olishda foydalaniladi.

Sellyuloza va gemitsellyulozani mikroblar degradatsiya va konversiyaga uchratib etil spirti yoki kimyoviy sanoat uchun xomashyo olish mumkin. *Clostridium thermosellum* tarkibidagi sellulaza va gemitsellyulaza genlarini *lostridium* ning boshqa turlariga o'tkazib selluloza va gemitsellyulozani etil spirti, atseton, sirka va sut kislotasiga aylantirish mumkin.

Biokonversiya – metabolitlarni mikroblar hujayralari yordamida o'ziga yaqin bo'lgan birikmalarga aylanishidir. Shu bilan birga mikroorganizmlar kimyoviy sintezning muhim va murakkab jarayonlarning ma'lum bir bosqichiga ta'sir qiladi.

Biokonversiyaning qadimgi turi – sirka olish jarayonida etil spirtini sirka kislotaga aylanishidir.

Biokonversiya bir tipdagi reaksiya va ma'lum bir struktura (stereospetsifiklik) bilan bog'liqligi sababli o'ziga xosdir. Biokonversiyada izopropanol atsetonga, glitserin digidroatsetonga, L-tirozin L-dioksifenilalaninga, glyukoza glyukon kislotaga va oxirida 2-ketoglyukon yoki 5-ketoglyukon kislotaga va sorbit L-sorbozaga aylanadi. Sorbitning sorbozaga biokonversiyasi kimyoviy sanoatdagi yagona biologik reaksiyadir.

Biokonversiyaga asoslangan metodlar yordamida steroid gormonlar sintez qilingan. 1930 yilning boshlarida Kendall va Rayxshayn buyrak osti bezidan revmatoid artritni davolashda ishlatiladigan kortizon ajratib olishgan. Kortizon sintezining birinchi oraliq mahsuloti progesterondir. Biokonversiya 37°C haroratda suvli muhitda va atmosfera bosimida olib boriladi. Hozirgi kunga kelib steroid yadrosining uglerod atomini ma'lum bir mikroorganizmlar yordamida gidroqsillash va kerakli steroidni olish mumkin.

Mikroorganizmlar steroidlarni olish uchun xomashyoni (masalan, sterinlar) ishlab chiqarishda ham ishlatiladi.

Ba'zi hollarda biokonversiyani amalga oshirish uchun aralash kulturalar yoki mikroblar shtammlarini ketma-ket qo'shish kerak bo'ladi. Bularning har biri biokonversiyaning o'ziga xos bosqichini amalga oshiradi. Imobilizatsiya hujayralardan foydalanish fermentlarga nisbatan biokonversiya samaradorligini oshiradi va uning sarf-harajatini kamaytiradi.

Mikroorganizmlarning sanoatda ishlatiladigan shtammlarini qo'llash uchun 2 usuldan foydalaniladi: shtammlarni skriningi va ajratib olishda yuzaga keladigan qiyinchiliklarni bartaraf etish uchun DNKning maxsus uchastkalarida mutatsiyalarni induksiyalash; gen injeneriyasi va tabiiy jinsiy jarayonni kengaytirish uchun protoplastlarni qo'shilishi; tabiiy genlarni o'tkazish va yangi genlarni rekonstruksiya qilish uchun rekombinant DNKni qo'llash.

Mikroblar hujayralarida ma'lum bir gen nusxasi sonini ko'paytirish genlarni amplifikatsiyalash orqali amalga oshiriladi va natijada ushbu genom kodlaydigan mahsulot ishlab chiqarish keskin ortadi. Bunday texnik yondashuv hujayrada plazmidalar sonini ko'paytirish bilan bog'liqdir. Odatda bitta hujayraga 1-30 ta nusxa to'g'ri keladi va 2-250 gen mavjud. Shu bilan birga hujayrada plazmidada genlari 3000 nusxagacha oshirilgan. Genlarni amplifikatsiyalash *E.coli*ning uchun keng ishlatilgan. Hozirga kelib istalgan xromosoma geni yoki genlar guruhini plazmidaga o'tkazish, so'ngra plazmidani amplifikatsiyalash uchun ichak tayoqchasiga o'tkazishga erishilgan. Undan

tashqari bir hujayradan boshqasiga polietilenglikol ishtirokida transformatsiyalash yo'li bilan *Basillus* plazmidasi o'tkazilgan. *Pseudomonas* plazmidalarini esa boshqa grammanfiy bakteriyalarga o'tkazilgan. Shu yo'l bilan antibiotiklar ko'p

2-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Amilolitik ferment faolligini aniqlash (4 soat)

Hujayralarda biokimyoviy reaksiyalarni katalitik fermentlarni tezligini oshirish yo'li bilan aktivlashtirish asosan 2 xil usulda olib boriladi:

1. Fermentlar molekulasiga sekund va minutlar mobaynida individual ta'sir etishi.

2. Jarayonlarni sintezi va parchalanishini tezligini idora etadigan bir qancha muxitlarning minutlari va soatlar mobaynida ta'sir etishi.

Xar ikkala mexanizmning muxim prinsipi qaytma aloqa prinsipini boshqarishdan iborat.

Xar bir metabolitik jarayonni boshkarishni oddiy usuli muxitga kofaktorlarni ta'sir ettirishga asoslangan. Agar muhit konsentratsiyasi kamaytirilsa muhit reaksiyasi tezlashadi, aks holda metabolitik yo'l tezlashadi.

Genetik monipulyatsiyadagi seleksiya ishlari konsentratsiyani oshirishga asoslangan. Metabolizm jarayonlarini boshkarishning eng qulay usuli fermentlar aktivligini kayta boglanish prinsipini boshkarishga asoslangan. Biroq, biosintez jarayonida konsentratsiyasini va aktivligini pasaytiradi va oxirgi maxsulotni sintez bulishini tuxtatadi. Shunday kilib, biosintez jarayonining tezligi oxirgi maxsulotning talab kilinishiga bog'liq.

Agarda triptofanni biosintez jarayonida muxitga kushilsa jarayon tuxtaydi.

Fermentlarning aktiv va passiv formasi, oqsillar bilan kimyoviy gruppalarning kovalent bog'lanishiga ham bog'liq.

Ish tartibi: Spektrofotometrning kyuvetasi 0,4 ml substrat aralashmasi (D-glyukoza, $MgCl_2$ va ATF) 0,1 ml NADF eritmasi, 0,01-0,04 ml glyukoza-6-fosfat dehidrogenaza bo'lgan eritma, tris-HCl buferining 50 mM li eritmasidan qo'shib, umumiy hajmi 3 ml ga yetkaziladi va yaxshilab aralashtirilgandan keyin unga 0,01-0,02 ml amilolitik eritmasini qo'shish orqali reaksiya boshlab yuboriladi. Reaksiyaning boshlanishi sekundlarda qayd qilinadi va 340 nm da, har sekund oralig'ida optic zichlikning oshib borishi kuzatiladi. Ajratib olingan ferment preparatini solishtirma faolligi sarhisob qilinadi.

Oqsil miqdorini spektrofotometrik yo'l bilan 280 nm da konsentratsiyasi 1,0 mg/ml bo'lganda ko'rsatkichi 0,9 ga tengligiga qarab aniqlanadi.

3-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Fermentlarni kovalent immobillash. (4 soat)

Immobilizasiya usullari fermentlarni tabiiy yoki sun'iy tutuvchilar yuzasiga biriktirish, polimer gelga fermentni membranali kapsulalari, to'liq tolalarini kiritish, ferment molekulalarini ko'ndalang tikish kabilar kiradi. Immobilizatsiyalashgan

ferment ishtirokidagi jarayenlar iqtisodiy samaradordir. Fruktoza va glyukozani qo'llash bilan glyukoizomerazani olish juda arzon bo'ladi chunki bu yerda immobilizasiyalashgan ferment preparatlari texnologiyasiga o'tilgan. (A.A.Klesov, 1982 y) Fermentlar jarayenida gomogen katalizatorlar geterogen katalizatorlarga o'tadi. Ferment va reagentlar ajratiladi. Bu esa a) kerak bo'lganda reaksiyani to'xtatish; b) reaksiya tugagandan so'ng fermentni regenerlash va biotexnologik jarayon uchun qo'llash; v) reaksiya mahsulotini ferment aralashmasisiz olish bu esa oziq-ovqat va farmasevtikada muhim o'rin tutadi. Jarayonining bir fermentativ preparatni qo'llash bilan to'xto'vsiz ravishda davom ettirish mumkin. To'xto'vsiz rejimli yana bir asosiy xususiyati harakatchan va harakatsiz fazalarni ta'mirlashuvidir.

Immobilizatsiyalashning kovalent usulida, tuzuvchi armatura rolini ijro etadigan ishga misol qilib sut emizuvchilar hujayrasini bioreaktorda gormon va boshqa qimmatli moddalar olish uning kultivasiya qilinishi olish mumkin. Ma'lumki, hujayra o'sishi ulardagi qattiq substratdagi finosasiyasi bilan stimullanadi. Fiksasiya DEAE-sefidek zararlari cho'kmasi bilan ta'minlanadi (W.S. Hu et al., 1985).

"Hujayra-tutuvchi" kontakti qutbli va ionli o'zaro ta'siri, dispersion ta'sir ostida adsorbsiyada kuchli bo'ladi.

Oldin amaliyotda keng qo'llangan etanol olish uchun achitqilar bakteriya hujayralarini immobilizasiyasi, mikronormali ionalmashinuvchi smoladagi ion kuchlari hisobiga amalga oshadi. (A. I Daugulis et al., 1985).

Aminosilazani sanoatda L- va D aminokislota aralashmasini ajratishda adsorbsiyalanadi.

Keramika va boshqa tutuvchilarda adsorbsiyalangan achitqi hujayralari, erkin achitqi hujayralaridan ko'p nafas olish aktivligiga ega. (V. Vojtiseh, V. Yirhu, 1984).

Zamonaviy ishlab chiqishida yirik normali sintetik materiallar ishlaydi, ular hujayra massasini ishlab oladi. Ko'p tarqalgan gubkali material polidretan bo'lib katta yacheykali "ko'pik" hosil qiladi. Kichik qilib qiymalangan zarralarni bioreoktorga hujayra bilan joylashtiriladi. Hujayralar tutuvchi yacheykalariga tuzib, tezda o'sadi. Bu tizim oqovosuvni tozalashda ishlatiladi. (R.P. Triolo, 1983).

Ximiyoviy tikishsiz immobilizasiyada biokatalitik tizim xususiyatiga tutuvchining kuchsiz ta'siri kuzatiladi. Fermentlar tabiiy aktivligini saqlab qoladi hujayralar esa hayotnchanligini. Shu vaqtning o'zida tutuvchi bilan fermentning kuchsiz bog'i ularni desorbsiyega olib keladi bu usulni qulayligini pasaytiradi.

Nisbatan mustahkam bo'lib ionli ta'sirlashuvchi hisoblanadi. Ionli adsorbsiya uchun turli tutuvchi ishlatiladi. Agar biokatalizatorini regenerasiya qilish kerak bo'lsa unda eritma almashtiriladi va ferment desorbsiyalanadi.

Ammo biokatalizator va tutuvchi orasidagi o'zaro ta'sir, eritmani katta ion kuchida mustahkamlik qoladi. Bu sharoitlarda dispersion o'zaro aloqa prinsipida adsorbsiya qulayroq. Asparagin kislotasini olish uchun ishlatiladigan asportiza fermentni xlobchatobumajnyy tolada idsarbsiyalanadi. (H. Uamosahi. et. al., 1986).

Biokatalizatorni tutuvchi bilan mustahkam ximiyaviy tikilishiga keladigan bo'lsak, bu usul nazariy tadqiqotlar bilan bog'liq uzun tarixga ega. U ko'p sonli

modifinansiyalarni imkonini beradi. Dyarli barcha oqsillarni funksional guruhlarini biokatalizator va tutuvchini topishi uchun qo'llanilishi mumkin. Qisman keng biokatalizator amino guruhi va tutuvchi korbansi guruhi orasida peptid ba'zilar hosil bo'lishiga olib keladigan reaksiyalar qo'llaniladi. Reaksiya uchun suvni tortib oluvchi agent kerak. Ularga sulfixrolid, gidrozin va boshqalar kiradi. Ular biokatalizator va tutuvchi orasidagi turli bog'lar holsil qiladi.

Misol uchun bironsiyan va $\text{Cl-C-O-CH}_2\text{-CH}_3$ gidrooksin va aminoguruhni tikadi. Tutuvchi va biokatalizator orasida tikuvchi agentlarsiz reaksiyalar o'tkaziladi. Bu xildagi reaksiyalardan biri tutuvchining ximiyaviy strukturasi O=C-O-C=O guruh borligiga bog'liq. Bu xildagi reaksiyalarni amalga oshirish uchun sikinlashgan materiallarga malein anhidrid tutuvchi qo'shimcha strukturalar qo'shiladi. Shu usul bilan buqani savorodka albumini glyunooksidaza ishqorli fazfataza *Bacillus sterothromophilus* hujayrasi omadli immobilizasiyalanadi.

Polimerga u yoki bu yonaki shoxlarni biriktirib uni reaksiya xususiyatini va imkoniyatlarni boshqarish mumkin. mikrosomalarni politenda immobilizasiya qilish qiziqish uyg'otadi. Bu sharoitda mikrosomal yuqori stabil monooksiginizoli aktivligini saqlab qoladi. Fermentativ aktivligini qo'shimcha stabilizasiyasiga glisirin qo'shib eritish mumkin.

Biokatalizatorning tutuvchiga ximiyaviy biriktirish yo'li bilan immobilizasiya yuqori effektivligi bilan ajralib turadi. Immobilizasiyani ferment aktivligiga ta'siri turlicha va ferment strukturasi o'zgarishi uchun uni korformasiyasi substrat kirishi uchun difuzion chiksanish bilan belgilanadi. Diffuzion qiyinchiliklarni kamaytirish maqsadida biokatalizatorni ayrim hollarda tutuvchi molekulasini tarkibidan chiqariladi. Uni spayser orqali tutuvchiga tikiladi. Misol uchun sefarozeni galatoziltransdjaza immobilizasiyasidan tutuvchi va ferment orasida - $\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{CO}$ -ketma-ketligi qo'shadi (D. G. Demers, S.S. Wong, 1989).

Spayserni aptimal uzunligini ta'minlash muammo sanaladi. Ximiyaviy tikishni salbiy ta'siri paysaytirish maqsadida ferment aktiv markazida tikish joyi olib tashlanadi. Agar ferment diligoprodedli tabiatli bo'lsa ferment molekulasini oqsil qismi emas, balki uglevodli qismida kovalent tikish o'tkaziladi. Qandlar spirt guruhlarini premondatni aldegid guruhigacha oksidlaydi. Bu esa tutuvchini aminoguruhi bilan reaksiyaga kirishadiyu (J. Kas et al., 1984).

Tikuvchi agentsiz qo'llaniladigan asosiy hol sifatida hujayralarni polimer serkanigidrooksidi titan, olova va temir tutuvchilarda immobilizasiyalanadi. (V. Vojtiseh, V. Yirhu, 1984). Gidrooksid guruhlar hujayra devorini u yoki bu metal funksional guruhlarini kordinasion sferasidan chiqariladi. Tutuvchi va biokatalizator orasida kordinasion yoki kovalent bog' o'rnatiladi.

Fermentlar va fermentlar sistemasi amaliy faoliyatning har xil soxalarida keng qo'llaniladi. Bu oziq - ovqat, farmaseptika, to'qimachilik, teri oshlash va boshqa sanoat soxalarida, tibbiyotda, qishloq xujaligida, organik sintez, kimyoviy taxlil va. xzo. Shunga qaramasdan amaliy enzimologiya uzoq vaqt rivojlanmadi, chunki fermentlarning narxi jaxon bozorida juda qimmat edi. Mikrobiologiyaning rivojlanishi natijasida fermentlarni kerakli miqdori ishlab chiqarish mumkin bo'ldi.

Fermentlarning qo'llanilishini yana 2ta sabab qiyinlashtiradi. Birinchidan - fermentlarni saqlash qiyin va har xil ta'sirlar, ayniqsa issiqlikka chidomsiz. Ikkinchidan, fermentlardan ko'p marotaba foydalanish, ularni reagentdan va reaksiya mahsulotlaridan ajratishning murakkabligi natijasidir. Lekin hozirgi shunda bu muammolar hal qilingan.

Immobilizatsiyalanagan fermentlarning yaratilishi natijasida amaliy enzimologiya oldida yangi prinsipial istiqbollar ochildi. Dj. Nel'son va E. Griffin 1916 yildayoq kumirda adsorbsiyalangan (ya'ni immobilizatsiyalangan) invertaza katalitik faolligini saqlashini aniqladilar. 1936 yilda Dj. Pfanmyo'ller va G.Shleyx yogoilik kipigida adsorbsiyalangan proteolitik fermentlar (terini oshlashda ishlatiladi) ga patent oldilar. Fermentlar bilan tashuvchilarining mustaxkam kon'yugatlari 1953 yilda N.Grubxof va D. Shleyt tomonidan olindi.

Fermentlarni tashuvchilarga biriktirish natijasida geterogen katalizatorlar yaratilib ularga 1971 yilda immobilizatsiyalangan fermentlar deb kam berildi. Uning ma'nosi ancha aniq bo'lib, bu ferment preparatlarining erimaydigan tashuvchilarga biriktirishdir. Lekin immobilizatsiya tushunchasini ancha kengtushunish kerak: bu oqsil molekulasining (yoki uning frangmentini) muhitda harakatini har qanday cheklanishi deb tushunish kerak. erimaydigan tashuvchiga biriktirishdan tashkari buni oqsil ma'lumalarining molekulalar ichidagi yoki molekulalar o'rtasidagi boglar quyi molekulyar bifunksional reagentlar yoki fermentni eruvchi polimerga biriktirib erishish mumkin.

Immobilizatsiyalangan fermentlar bir kator afzalliklarga ega. Birinchidan, geterogen katalizator reaksiya muhitidan oson ajraladi bu esa :a) reaksiyani kerakli vaqtda to'xtatish imkonini beradi ; b) katalizatoridan qayta foydalanish; v) ferment aralashmagan maksulot olish mumkin. Oxirgisi ayniqsa oziq-ovqat va fermesevtika ishlab chiqarishda juda muhimdir. Ikkinchidan: geterogen katalizatorlarning qo'llanilishi fermentativ jarayonni uzluksiz olib borish imkonini beradi. Masalan: oqib o'tuvchi kolonkalarda reaksiya tezligini boshqarish , shu bilan birga mahsulot hosil bo'lishini okim tezligini o'zgartirib erishish mumkin.

Uchinchidan: fermentning immobilizatsiya va modifikatsiyasi katalizator xususiyatini maqsadga muvofik o'zgarishiga olib keladi katalitik aktivligining pHga, ion tarkibiga va muhitining boshqa parametrlariga bog'liqligi, uning har xil denaturatsiyalovchi ta'sirlarga nisbatan barkaroligini ta'minlaydi.

Turtinchidan: fermentlarning immobilizatsiyasi ularning katalitik aktivligini tashuvchi xususiyatlariga har xil fizik omillar ta'sir ettirib (nur, tovush) boshqarish mumkin. Bu asosda mexano va tovushga sezgir datchiqlar, past tovushlarni kuchaytirgichlar va yaratish imkonini beradi.

4-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Fermentlarni immobillash uslublari. (4 soat)

Fermentlar va fermentlar sistemasi amaliy faoliyatning har xil soxalarida keng qo'llaniladi. Bu oziq - ovqat, farmaseptika, to'qimachilik, teri oshlash va boshqa sanoat soxalarida, tibbiyotda, qishloq xujaligida, organik sintez, kimyoviy taxlil va. xzo. Shunga qaramasdan amaliy enzimologiya uzoq vaqt rivojlanmadi, chunki

fermentlarning narxi jaxon bozorida juda qimmat edi. Mikrobiologiyaning rivojlanishi natijasida fermentlarni kerakli miqdori ishlab chiqarish mumkin bo'ldi. Fermentlarning qo'llanilishini yana 2ta sabab qiyinlashtiradi. Birinchidan - fermentlarni saqlash qiyin va har xil ta'sirlar, ayniqsa issiqlikka chidomsiz. Ikkinchidan, fermentlardan ko'p marotaba foydalanish, ularni reagentdan va reaksiya mahsulotlaridan ajratishning murakkabligi natijasidadir. Lekin hozirgi shunda bu muammolar xal qilingan.

Immobilizatsiyalanagan fermentlarning yaratilishi natijasida amaliy enzimologiya oldida yangi prinsipial istiqbollar ochildi. Dj. Nel'son va E. Griffin 1916 yildayoq kumirda adsorbsiyalangan (ya'ni immobilizatsiyalangan) invertaza katalitik faolligini saqlashini aniqladilar. 1936 yilda Dj. Pfanmyo'ller va G.Shleyx yogoilik kipigida adsorbsiyalangan proteolitik fermentlar (terini oshlashda ishlatiladi) ga patent oldilar. Fermentlar bilan tashuvchilarining mustaxkam kon'yugatlar 1953 yilda N.Grubxof va D. Shleyt tomonidan olindi.

Fermentlarni tashuvchilarga biriktirish natijasida geterogen katalizatorlar yaratilib ularga 1971 yilda immobilizatsiyalangan fermentlar deb kam berildi. Uning ma'nosi ancha aniq bo'lib, bu ferment preparatlarining erimaydigan tashuvchilarga biriktirishdir. Lekin immobilizatsiya tushunchasini ancha kengtushunish kerak: bu oqsil molekulasining (yoki uning frangmentini) muhitda harakatini har qanday cheklanishi deb tushunish kerak. erimaydigan tashuvchiga biriktirishdan tashkari buni oqsil ma'lumalarining molekulalar ichidagi yoki molekulalar o'rtasidagi boglar quyi molekulyar bifunksional reagentlar yoki fermentni eruvchi polimerga biriktirib erishish mumkin.

Immobilizatsiyalangan fermentlar bir kator afzalliklarga ega. Birinchidan, geterogen katalizator reaksiya muhitidan oson ajraladi bu esa :a) reaksiyani kerakli vaqtda to'xtatish imkonini beradi ; b) katalizatoridan qayta foydalanish; v) ferment aralashmagan maksulot olish mumkin. Oxirgisi ayniqsa oziq-ovqat va fermesevtika ishlab chiqarishda juda muhimdir. Ikkinchidan: geterogen katalizatorlarning qo'llanilishi fermentativ jarayonni uzluksiz olib borish imkonini beradi. Masalan: oqib o'tuvchi kolonkalarda reaksiya tezligini boshqarish , shu bilan birga mahsulot hosil bo'lishini okim tezligini o'zgartirib erishish mumkin.

Uchinchidan: fermentning immobilizatsiya va modifikatsiyasi katalizator xususiyatini maqsadga muvofik o'zgarishiga olib keladi katalitik aktivligining pHga, ion tarkibiga va muhitining boshqa parametrlariga boglikligi, uning har xil denaturatsiyalovchi ta'sirlarga nisbatan barkaroligini ta'minlaydi.

Turtinchidan: fermentlarning immobilizatsiyasi ularning katalitik aktivligini tashuvchi xususiyatlariga har xil fizik omillar ta'sir ettirib (nur. tovush) boshqarish mumkin. Bu asosda mexano va tovushga sezgir datchiqlar, past tovushlarni kuchaytirgichlar va yaratish imkonini beradi.

Immobilizatsiya usullari fermentlarni tabiiy yoki sun'iy tutuvchilar yuzasiga biriktirish, polimer gelga fermentni membranali kapsulalari, to'liq tolalarini kiritish, ferment molekulalarini ko'ndalang tikish kabilar kiradi. Immobilizatsiyalashgan ferment ishtirokidagi jarayenlar iqtisodiy samaradordir. Fruktoza va glyukozani qo'llash bilan glyukoizomerazani olish juda arzon bo'ladi chunki bu yerda immobilizatsiyalashgan ferment preparatlari texnologiyasiga o'tilgan. (A.A.Klesov,

1982 y) Fermentlar jarayenida gomogen katalizatorlar geterogen katalizatorlarga o'tadi. Ferment va reagentlar ajratiladi. Bu esa a) kerak bo'lganda reaksiyani to'xtatish; b) reaksiya tugagandan so'ng fermentni regenerlash va biotexnologik jarayon uchun qo'llash; v) reaksiya mahsulotini ferment aralashmasisiz olish bu esa oziq-ovqat va farmasevtikada muhim o'rin tutadi. Jarayonining bir fermentativ preparatni qo'llash bilan to'xto'vsiz ravishda davom ettirish mumkin. To'xto'vsiz rejimli yana bir asosiy xususiyati harakatchan va harakatsiz fazalarni ta'mirlashuvidir. **Immobilizatsiyalashning kovalent usulida**, tuzuvchi armatura rolini ijro etadigan ishga misol qilib sut emizuvchilar hujayrasini bioreaktorda gormon va boshqa qimmatli moddalar olish uning kultivasiya qilinishi olish mumkin. Ma'lumki, hujayra o'sishi ulardagi qattiq substratdagi finosasiyasi bilan stimullanadi. Fiksasiya DEAE-sefidek zararlari cho'kmasi bilan ta'minlanadi (W.S. Hu et al., 1985).

“Hujayra-tutuvchi” kontakti qutbli va ionli o'zaro ta'siri, dispersion ta'sir ostida adsorbsiyada kuchli bo'ladi.

Oldin amaliyotda keng qo'llangan etanol olish uchun achitqilar bakteriya hujayralarini immobilizasiyasi, mikronormali ionalmashinuvchi smoladagi ion kuchlari hisobiga amalga oshadi. (A. I Daugulis et al., 1985).

Aminosilazani sanoatda L- va D aminokislota aralashmasini ajratishda adsorbsiyalanadi.

Keramika va boshqa tutuvchilarda adsorbsiyalangan achitqi hujayralari, erkin achitqi hujayralaridan ko'p nafas olish aktivligiga ega. (V. Vojtiseh, V. Yirhu, 1984).

Zamonaviy ishlab chiqishida yirik normal sintetik materiallar ishlaydi, ular hujayra massasini ishlab oladi. Ko'p tarqalgan gubkali material polidretan bo'lib katta yacheykali “ko'pik” hosil qiladi. Kichik qilib qiymalangan zarralarni bioreoktorga hujayra bilan joylashtiriladi. Hujayralar tutuvchi yacheykalariga tuzib, tezda o'sadi. Bu tizim oqovosuvni tozalashda ishlatiladi. (R.P. Triolo, 1983).

Ximiyoviy tikishsiz immobilizasiyada biokatolitik tizim xususiyatiga tutuvchining kuchsiz ta'siri kuzatiladi. Fermentlar tabiiy aktivligini saqlab qoladi hujayralar esa hayotnchanligini. Shu vaqtning o'zida tutuvchi bilan fermentning kuchsiz bog'i ularni desorosiye olib keladi bu usulni qulayligini pasaytiradi.

Nisbatan mustahkam bo'lib ionli ta'sirlashuvchi hisoblanadi. Ionli adsorbsiya uchun turli tutuvchi ishlatiladi. Agar biokatalizatorini regenerasiya qilish kerak bo'lsa unda eritma almashtiriladi va ferment desorbsiyalanadi.

Ammo biokatalizator va tutuvchi orasidagi o'zaro ta'sir, eritmani katta ion kuchida mustahkamlik qoladi. Bu sharoitlarda dispersion o'zaro aloqa prinsipida adsorbsiya qulayroq. Asparagin kislotasini olish uchun ishlatiladigan asportiza fermentni xlobchatobumajnyy tolada idsarbsiyalanadi. (H. Uamosahi. et. al., 1986).

Biokatalizatorni tutuvchi bilan mustahkam ximiyaviy tikilishiga keladigan bo'lsak, bu usul nazariy tadqiqotlar bilan bog'liq uzun tarixga ega. U ko'p sonli modifinansiyalarni imkonini beradi. Dyarli barcha oqsillarni funksional guruhlari biokatalizator va tutuvchini topishi uchun qo'llanilishi mumkin. Qisman keng biokatalizator amino guruhi va tutuvchi korbansi guruhi orasida pepdid ba'zilar hosil bo'lishiga olib keladigan reaksiyalar qo'llaniladi. Reaksiya uchun suvni tortib

oluvchi agent kerak. Ularga sulfixrolid, gidrozin va boshqalar kiradi. Ular biokatalizator va tutuvchi orasidagi turli bog'lar holsil qiladi.

Misol uchun bironsian va $\text{Cl-C-O-CH}_2\text{-CH}_3$ gidrooksin va aminoguruhni tikadi. Tutuvchi va biokatalizator orasida tikuvchi agentlarsiz reaksiyalar o'tkaziladi. Bu xildagi reaksiyalardan biri tutuvchining ximiyaviy strukturasida O=C-O-C=O guruh borligiga bog'liq. Bu xildagi reaksiyalarni amalga oshirish uchun sokinlashgan materiallarga malein angidrid tutuvchi qo'shimcha strukturalar qo'shiladi. Shu usul bilan buqani sayvorodka albumini glyunooksidaza ishqorli fazfataza *Bacillus sterothermophilus* hujayrasi omadli immobilizasiyalanadi.

Polimerga u yoki bu yonaki shoxlarni biriktirib uni reaksion xususiyatini va imkoniyatlarni boshqarish mumkin. mikrosomalarni politenda immobilizasiya qilish qiziqish uyg'otadi. Bu sharoitda mikrosomalar yuqori stabil monooksiginizoli aktivligini saqlab qoladi. Fermentativ aktivligni qo'shimcha stabilizasiyasiga glisirin qo'shib eritish mumkin.

Biokatalizatorning tutuvchiga ximiyaviy biriktish yo'li bilan immobilizasiyasi yuqori effektivligi bilan ajralib turadi. Immobilizasiyani ferment aktivligiga ta'siri turlicha va ferment strukturasini o'zgarishi uchun uni korformasiyasi substrat kirishi uchun difuzion chiksanish bilan belgilanadi. Diffuzion qiyinchiliklarni kamaytirish maqsadida biokatalizatorni ayrim hollarda tutuvchi molekulasi tarkibidan chiqariladi. Uni spayser orqali tutuvchiga tikiladi. Misol uchun sefarozone galatoziltransdjraza immobilazisiyasidan tutuvchi va ferment orasida - $\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{CO}$ -ketma-ketligi qo'shadi (D. G. Demerrs, S.S. Wong, 1989).

Spayserni aptimal uzunligini ta'minlash muammo sanaladi. Ximiyaviy tikishni salbiy ta'siri paysaytirish maqsadida ferment aktiv markazida tikish joyi olib tashlanadi. Agar ferment diligoprodedli tabiatli bo'lsa ferment molekulasini oqsil qismi emas, balki uglevodli qismida kovalent tikish o'tkaziladi. Qandlar spirt guruhlari premondatni aldegid guruhigacha oksidlaydi. Bu esa tutuvchini aminoguruhi bilan reaksiyaga kirishadiyu (J. Kas et al., 1984).

Tikuvchi agentsiz qo'llaniladigan asosiy hol sifatida hujayralarni polimer serkanigidrooksidi titan, olova va temir tutuvchilarda immibilizasiyalanadi. (V. Vojtiseh, V. Yirhu, 1984). Gidroogkid guruhlari hujayra devorini u yoki bu metal funksional guruhlari kordinasion sferasidan chiqariladi. Tutuvchi va biokatalizator orasida kordinasion yoki kovalent bog' o'rnatiladi.

5-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Immobillangan fermentlarni qo'llanilishi (4 soat).

Fermentlar va fermentlar sistemasi amaliy faoliyatning har xil soxalarida keng qo'llaniladi. Bu oziq - ovqat, farmaseptika, to'qimachilik, teri oshlash va boshqa sanoat soxalarida, tibbiyotda,

qishloq xujaligida, organik sintez, kimyoviy taxlil va. xzo. Shunga qaramasdan amaliy enzimologiya uzoq vaqt rivojlanmadi, chunki fermentlarning narxi jaxon bozorida juda qimmat edi. Mikrobiologiyaning rivojlanishi natijasida fermentlarni kerakli miqdori ishlab chiqarish mumkin bo'ldi. Fermentlarning qo'llanilishini yana 2ta sabab qiyinlashtiradi. Birinchidan - fermentlarni saqlash qiyin va har xil ta'sirlar, ayniqsa issiqlikka chidomsiz. Ikkinchidan, fermentlardan ko'p marotaba foydalanish, ularni reagentdan va reaksiya mahsulotlaridan ajratishning murakkabligi natijasidir. Lekin hozirgi shunda bu muammolar xal qilingan.

Immobilizatsiyalangan fermentlarning yaratilishi natijasida amaliy enzimologiya oldida yangi prinsipial istiqbollar ochildi. Dj. Nel'son va E. Griffin 1916 yildayoq kumirda adsorbsiyalangan (ya'ni immobilizatsiyalangan) invertaza katalitik faolligini saqlashini aniqladilar. 1936 yilda Dj. Pfanmyo'ller va G.Shleyx yogoilik kipigida adsorbsiyalangan proteolitik fermentlar (terini oshlashda ishlatiladi) ga patent oldilar. Fermentlar bilan tashuvchilarining mustaxkam kon'yugatlari 1953 yilda N.Grubxof va D. Shleyt tomonidan olindi.

Fermentlarni tashuvchilarga biriktirish natijasida geterogen katalizatorlar yaratilib ularga 1971 yilda immobilizatsiyalangan fermentlar deb kam berildi. Uning ma'nosi ancha aniq bo'lib, bu ferment preparatlarining erimaydigan tashuvchilarga biriktirishdir. Lekin immobilizatsiya tushunchasini ancha kengtushunish kerak: bu oqsill molekulasi (yoki uning frangmentini) muhitda harakatini har qanday cheklanishi deb tushunish kerak. erimaydigan tashuvchiga biriktirishdan tashkari buni oqsil ma'lumalarining molekular ichidagi yoki molekular o'rtasidagi boglar quyi molekulyar bifunksional reagentlar yoki fermentni eruvchi polimerga biriktirib erishish mumkin.

Immobilizatsiyalangan fermentlar bir kator afzalliklarga ega.

Birinchidan, geterogen katalizator reaksiya muhitidan oson ajraladi bu esa :a) reaksiyani kerakli vaqtda to'xtatish imkonini beradi ; b) katalizatoridan qayta foydalanish; v) ferment aralashmagan maksulot olish mumkin. Oxirgisi ayniqsa oziq-ovqat va fermesevtika ishlab chiqarishda juda muhimdir.

Ikkinchidan: geterogen katalizatorlarning qo'llanilishi fermentativ jarayonni uzluksiz olib borish imkonini beradi. Masalan: oqib o'tuvchi kolonkalarda reaksiya tezligini boshqarish , shu bilan birga mahsulot hosil bo'lishini okim tezligini o'zgartirib erishish mumkin.

Uchinchidan: fermentning immobilizatsiya va modifikatsiyasi katalizator xususiyatini maqsadga muvofik o'zgarishiga olib keladi katalitik aktivligining pHga, ion tarkibiga va muhitining boshqa parametrlariga boglikligi, uning har xil denaturatsiyalovchi ta'sirlarga nisbatan barkaroligini ta'minlaydi.

Turtinchidan: fermentlarning immobilizatsiyasi ularning katalitik aktivligini tashuvchi xususiyatlariga har xil fizik omillar ta'sir ettirib (nur. tovush) boshqarish mumkin. Bu asosda mexano va tovushga sezgir datchiqlar, past tovushlarni kuchaytirgichlar va yaratish imkonini beradi.

6-laboratoriya mashg'uloti

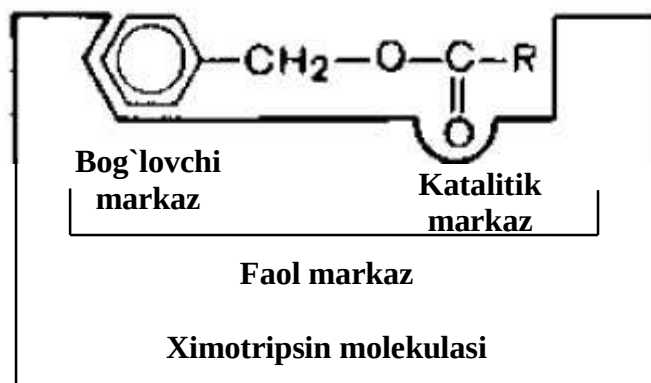
Mavzu: Fermentlarning fizik-kimyoviy xususiyatlarini o'rganish (4 soat).

Fermentativ reaksiyalarda ishtirok etadigan substrat molekularini ferment molekulari kattaligi bilan qiyoslansa substrat molekulari uncha yirik bo'lmasligi aniq bo'lib qoladi. SHu bois fermentning substrat bilan ta'sirlanishi tufayli hosil bo'ladigan ferment-substrat kompleksida fermentning ma'lum bir chegaralangan aminokislotalardan iborat bo'lgan peptid zanjirigina ishtirok etadi.

Shu sababli fermentning "faollik markazi" degan tushuncha paydo bo'ldi. Bu atama bilan ferment molekulasida aminokislotalar kombinatsiyasining kataliz jarayonida substrat molekulasiga bilan bevosita mo'jizaviy ta'sirlanishini ta'minlanishi tushiniladi. Murakkab fermentlarda faol markaz tarkibiga prostetik guruhlar ham kiradi.

Faol markazda substrat bilan bevosita ta'sirlanuvchi katalitik markaz va substratga moslikni maxsus ta'minlovchi va uni ferment bilan kompleksini shakllantiruvchi bog'lovchi markaz yoki

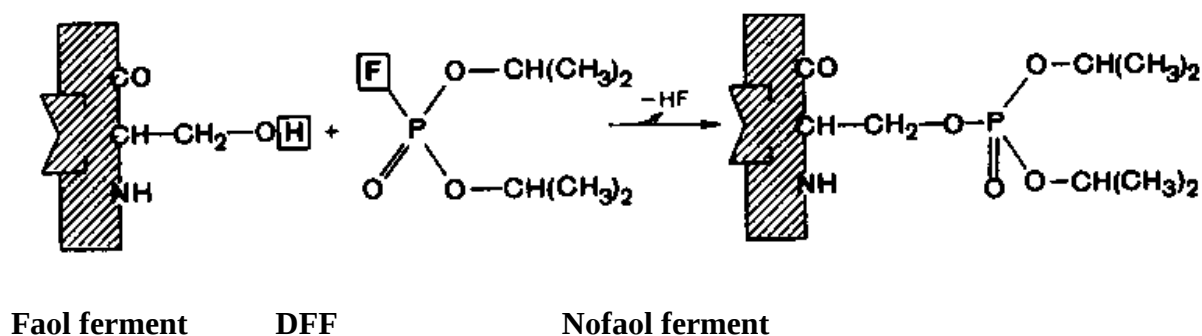
to'qnashuvchi ("langar") maydon farqlanadi.



Ximotripsinning markazida gistidinning ikkita va serinning bitta qoldiqi borligi aniqlangan. Ingibitor tahlili asosida har xil guruhlariga kiruvchi fermentlarning faol markazlarida umumiylik borligini aniqlash borasidagi tadqiqotlar olib borilgan.

Xususan dizopropil-ftor-fosfat (DFF) dan foydalanganda asetilxolinni xolin va sirka kislotagacha gidrolizlanishini katalizlovchi fermenti to'liq o'z faolligini yo'qotishi ma'lum bo'ldi.

Bu modda tuzilishi jihatdan xolinga yaqin bo'lib faol markazda joylashgan serinning ON guruxi bilan ta'sirlanadi, natijada fermentning faolligi yo'qoladi. Boshqa qator fermentlarning faol markazida ham serin bo'lgani sababli DFF tomonidan shu aminokislotani fosforlashi tufayli faolsizlanishi yuz beradi.



Qator fermentlarning "katalitik faol" serin aminokislotasini yaqinidagi aminokislotalarni aniqlashga oid ishlanishlar olib borilgan. quyida Maler va Krdes bo'yicha esteraza va proteinazalarning serin atrofida joylashgan aminokislotalar ketma-ketligi keltirilgan (Jadval 2).

1-jadval

Ba'zi fermentlarning serin aminokislotasi atrofida joylashgan aminokislotalar ketma-ketligi

T/R	Ferment.	Serin atrofida joylashgan aminokislotalar ketma-ketligi.
1	Ximotripsin	→Gly-Asp-Ser-Gly-Gly
2	Tripsin	→Gly-Asp-Ser-Gly-Gly
3	Trombin	→Gly-Asp-Ser-Gly-Pro-Val
4	Elastaza	→Asp-Ser-Gly
5	Butirolinesteraza	→Asp-Ser-Gly
6	Asetil xolin esteraza	→Gly-Glu-Ser-Ala
7	Ishqoriy fosfataza	→Gly-Glu-Ser-Ala-Gly-Gly

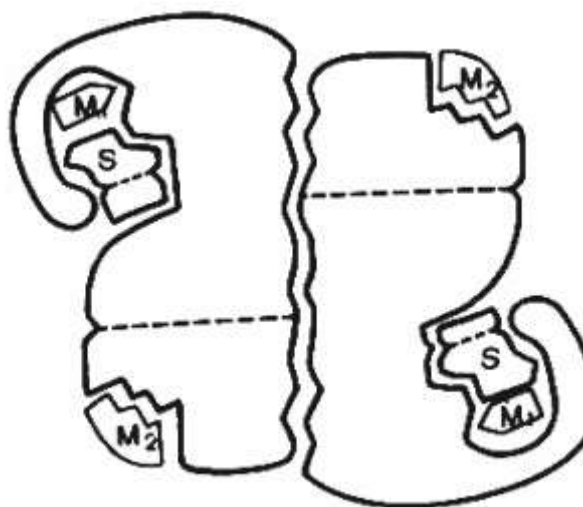
Denaturasiyani keltirib chiqaradigan har handay ta'sir, ya'ni fermentning uchlamchi tuzilmasini buzilishi, faollik markaz tuzilmasini buzilishiga va buning natijasida faollikning yo'qolishiga sababchi bo'ladi.

Faol markazdan tashqari ferment molekulasida allosterik markaz ham bo'lishi mumkin.

Allosterik markaz fermentning molekulasida substratdan farqlanadigan odatda past molekulali (effektor yoki modifikator deb nomlangan) modda (ligand) birikadigan bo'lagi hisoblanadi. Fermentning allosterik markaziga effektorning birikishi uning uchlamchi, ko'pincha to'rtlamchi tuzilmasini o'zgarishiga sababchi bo'ladi. Bunday holat yo fermentativ faollikni susaytiradi yoki aksincha kuchaytiradi.

Faolligi faol markazning va shu bilan birgalikda allosterik markazning holatiga bog'liq bo'lgan fermentlarni allosterik fermentlar deb yuritiladi. Ularning farqli xususiyatlari oligomer ferment molekulasida makonda bir-biridan ajralib turadigan bir necha xil faol markazlar va bir necha xil allosterik boshqaruvchi markazlarning bo'lishidadir.

Sxematik jihatdan allosterik ferment quyidagi rasmda ko'rsatilgan:



Rasmdan ko'rinib turibdiki, har bir simmetrik tuzilmaga ega bo'lgan ikkita protomer bittadan substrat (S)ni o'ziga biriktiruvchi faol markaz (M) ga va bittadan effektorni o'ziga biriktiruvchi allosterik markaz (M2) ga ega, ya'ni ferment molekulasida ikkita markaz mavjud.

Fermentlarning maxsusligi

Fermentlarning maxsusligi o'ziga xos xususiyat bo'lib, bu narsa ferment ta'sir etadigan substratning kimyoviy tuzilishi bilan bog'liq bo'ladi. Har bir ferment ma'lum bir substratgagina ta'sir eta oladi.

Amilaza va ureazalarning maxsusligiga xos reaksiyalar

Ma'lumki, kraxmal yod bilan ko'k rang hosil qiladi. Uning amilaza ta'sirida parchalanishi dastlab dekstrinlar (amilo-, eritro-, axro-, maltodekstrinlar) ni, keyin maltoza va undan keyin glyukozani hosil bo'lishiga olib keladi. Kraxmalning parchalanishi natijasida parchalanishning axrodekstrin bosqichidan o'tgandan keyin uning fragmentlari yod bilan hech qanday rang hosil qilmaydi. Yodli reaktiv kristall yodni kaliy yod eritmasida eritib tayyorlangan eritma hisoblanadi. Uni tayyorlash uchun 100 ml distillangan suvda 20 g kaliy yod eritiladi va uni ustiga 10 g yod kristali solinib aralashtiriladi. Kraxmalni aniqlash uchun aralashma 5 marta suyultiriladi.

Soya o`simligi dukkagida esa ureaza fermenti bo`lib, u siydikchilni gidrolizlanishini katalizlaydi va reaksiya natijasida ammoniy karbonat hosil bo`ladi:



Bu ikkala ferment uchun ham pH-optimum ko`rsatkichlari juda yaqin, ya`ni so`lak amilazasi uchun pH – 6,8 bo`lsa, soya ureazasi uchun pH – 7,0 hisoblanadi. Shu bois, fermentlarning maxsusligini shu ikki ferment yordamida namoyish qilish o`rinli bo`ladi.

Amilazaning maxsusligini o`rganish uchun so`lak suyuqligidan foydalanilsa, ureza uchun soya o`simligi urug`idan ajratib olingan ekstraktdan foydalaniladi.

**So`lak suyuqligini ajratib olish.** So`lak suyuqligini ajratib olish uchun og`iz bo`shlig`iga distillangan suv olib chayqatiladi. So`ng yana og`izga distillangan suv olinib, 1 minut davomida ushlab turiladi, bu so`lakli suyuqlik alohida konussimon kolbaga o`tkaziladi va voronkaga filtr joylashtirilib boshqa idishga filtrlanadi hamda distillangan suv yordamida 10 marta suyultiriladi.

**Soya urug`idan ureaza fermenti ekstraktini ajratib olish.** Quruq soya urug`ini yaxshilab yanchib maydalanadi va ko`p karra petroley efiri bilan ishlov berilib, yog`idan xolis qilinadi. Soyaning yog`sizlantirilgan uni havo haroratida filtr qog`ozi ustida quritiladi va unga 5 °C da besh hajm birligida distillangan suv qo`shiladi. Aralashma sentrifugalanadi va hosil bo`lgan sentrifugatning tarkibi aynan ureaza fermentli ekstrakt hisoblanadi.

Ish tartibi: Ikkita probirkaga (1 va 2) 5 ml dan 0,1 % li kraxmal eritmasi (kraxmal eritmasi oldindan I va KI eritmasi solganda havorang rangga bo`yalishi bu oldindan sinab ko`rilgan bo`lishi lozim) solinadi. So`ng boshqa ikkita probirkaga (3 va 4) oldindan bir necha tomchi fenolftalein qo`shib qo`yilgan siydikchilning 1 % li eritmasidan 5 ml dan solinadi. Bundan keyin 1- va 3-probirkalarga 1 ml dan filtrlangan va suyultirilgan so`lak eritmasi hamda 2- va 4- probirkalarga esa 1 ml dan yuqorida keltirilgan tartibda tayyorlangan ureaza fermenti ekstrakti solinadi. Aralashmalar yaxshilab aralashtiriladi va 20 minutga 38-40 °C li termostat yoki suv hammomiga qo`yiladi. Qizdirish nihoyasiga yetgandan so`ng 1- va 2-probirkalarga yod eritmasidan bir tomchi tomiziladi. Bunda 1-probirkadagi aralashmaning ko`k ranggi yo`qoladi, chunki kraxmalga so`lak amilazasi ta`sir etishi tufayli u parchalangan bo`ladi, 2-probirkaga esa ureaza fermenti ekstrakti solinganligi sababli reaksiya sodir bo`lmaydi va ko`k rang saqlanadi. 3-probirkada amilaza fermenti siydikchilga ta`sir eta olmaydi, reaksiya muhitida o`zgarish bo`lmaydi, 4-probirkada ureaza ta`siridagi reaksiya tufayli fenolftalein gulobi rangga bo`yaladi, chunki siydikchil gidrolizlanadi.

7-laboratoriya mashg`uloti

Mavzu: Fermentlar faolligiga harorat, pH ta`sirini o`rganish (4 soat).

Fermentlar termolabil va muhitning vodorod ioni ko'rsatkichiga sezgir, ya'ni harorat va muhitning pH ko'rsatkichlarini qisman o'zgarishi ham fermentativ jarayonga kuchli ta'sir ko'rsatadi.

Fermentativ reaksiyalarning termolabiligini aniqlash

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularni har biriga 5 ml dan 0,1 % li kraxmal eritmasi solinadi. Bundan keyin ularning birinchisi va ikkinchisiga 1 ml dan distillangan suv, uchinchisiga 1 ml 0,1 n xlorid kislota eritmasi solinadi. So'ng birinchi va uchinchi probirkalarga 1 ml dan suyultirilgan so'lak eritmasi, ikkinchi probirkaga shuncha miqdorda qaynatib sovutilgan so'lak eritmasi solinadi.

Uchchala probirka ham 20-25 minutga 37 °C li termostatga joylashtiriladi. Probirkalar termostatdan chiqarilib, muz solingan idishga o'tkazilib sovutiladi va ularning har biriga 1-2 tomchi yodning kaliy yoddagi eritmasidan tomiziladi. Bunda birinchi probirkadagi kraxmalning parchalanishi yuz berishi tufayli yod eritmasi bilan ko'k rang hosil bo'lmaydi. Ikkinchi probirkada so'lak tarkibidagi amilaza faolsizlanganligi tufayli reaksiya yuz bermaganligi, ya'ni rang o'zgarmaganligi, uchinchi probirkada muhit nordon bo'lganligi sababli reaksiya sekinlashganligi kuzatiladi. Demak, ikkinchi va uchinchi probirkalar yod va kaliy yodli aralshma ta'sirida ko'k rangga bo'yaladi.

Fermentativ reaksiya tezligiga haroratning ta'sirini aniqlash

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularning har biriga kraxmalning 0,25 % li eritmasidan 5 ml dan solinadi. Bundan keyin birinchi probirkani muz solingan idishga, ikkinchi va uchinchi probirkalarni 38 °C li termostatga joylashtiriladi. So'ng birinchi va ikkinchi probirkalarga 0,5 ml dan suyultirilgan so'lak, uchinchi probirkaga xuddi shu miqdorda qaynatib sovutilgan so'lak qo'shiladi. Vaqti-vaqti bilan ikkinchi probirkadagi aralashmadan bir tomchi olib, ustiga 1 ml yodning kaliy yodli eritmasi qo'shib, aralashtiriladi. Shu yo'sinda kraxmalning parchalanish dinamikasi kuzatiladi. Eng oxirida, ikkinchi probirkadan olingan tomchini solinganda solingan yodni kaliy yodli eritma bilan rang hosil qilmaydigan payt keladi. Bu narsa kraxmalning so'lak tarkibidagi amilaza ishtirokida to'liq parchalanganligini ko'rsatadi.

Keyin hamma probirkalardagi aralashmalarga 3-4 ml dan 1 n H₂SO₄ qo'shiladi va sovutiladi. Uchchala probirkalarga ham yodning kaliy yodli eritmasidan 2-3 tomchi tomiziladi. Bunda ikkinchi probirkada kraxmalning parchalanishi nihoyasiga yetadi va rang hosil bo'lmaydi, birinchi probirkada kraxmalning parchalanishi qisman yuz berib qizg'ish rang hosil bo'ladi, uchinchi probirkada kraxmal umuman parchalanmaydi va ko'k rang hosil bo'ladi.

8-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Fermentlar faolligiga ferment konsentratsiyasining ta'sirini o'rganish
(4 soat)

Fermentativ reaksiyalar tezligining ferment konsentratsiyasiga bog'liqligini aniqlash

Ish tartibi: To`rtta probirka olib, ularning har biriga 3 ml dan pH ko`rsatkichi 6,8 bo`lgan fosfat-sitrat bufer eritmasi hamda 4 ml dan 0,25 % li kraxmal eritmasi qo`shib aralashtiriladi. So`ng birinchi probirkaga 20 marta, ikkinchi probirkaga 40 marta, uchinchi probirkaga 80 marta va to`rtinchi probirkaga 160 marta suyultirilgan so`lak eritmalaridan 1 ml dan qo`shiladi va bu aralashmalar 38-40 °C li termostatga o`tkaziladi. Bundan keyin vaqti-vaqti bilan namunalardan bir necha tomchi olib, juda kuchli ravishda suyultirilgan yodning kaliy yodli eritmasi bilan aralashtiriladi. Namunalar dastavval ko`k, so`ng qizg`ish-binafsha rangga bo`yaladi. To`rttala probirka uchun ham yod bilan ko`k rangga bo`yalishining yo`qolishi 0,5 minut aniqlikda qayd qilinadi. Bu fursat oralig`i amilolitik parchalanishning nihoyasi hisoblanadi. Tajriba natijalari egri chiziq orqali ifodalanib, bunda absitssa o`qiga amilazaning nisbiy konsentratsiyasi, ordinata o`qiga esa unga tegishli bo`lgan vaqt birligi joylashtiriladi. Amilolitik reaksiya tufayli kraxmalning parchalanishi uchun sarflangan vaqt reaksiya tezligiga teskari proporsional bo`ladi.

So`lak amilazasi faolligiga faollovchilar va ingibirlovchilarning ta`sirini o`rganish

So`lak amilazasiga past konsentratsiyali NaCl tuzi faollovchi omil sifatida ta`sir ko`rsatadi. Xususan, dializ qilingan so`lak amilazasini kraxmalga nisbatan faolligi yo`qoladi. Xuddi shuningdek, ba`zi metal tuzlari fermentlarga faollovchi ta`sir ko`rsatishi va boshqalari ingibirlovchi ta`sir ko`rsatishi mumkin.

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularga 5 tomchidan 0,5 % li kraxmal eritmasidan tomiziladi, birinchi probirkaga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li NaCl eritmasi, uchinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li CuSO₄ eritmasi tomiziladi, hammasiga 5 marta suyultirilgan so`lakdan 10 tomchidan qo`shib, yaxshilab aralashtirilib, xona haroratida qoldiriladi. 5 minutdan keyin uchchala probirkaga ham 10 tomchidan distillangan suv, 1-2 tomchidan 0,1 % li yod eritmasidan solib aralashtiriladi, ularning ustiga tajribadagi uchchala probirkadagi aralashmaning har biridan 2-3 tomchidan alohida probirkalarga tomiziladi. Yod bilan qilinadigan reaksiya 10-15 minutda yana takrorlanadi. Birinchi probirkadagi suyuqlik binafsha yoki qizil rangga, ikkinchisi qizil yoki sariq, uchinchisi esa ko`k rangga kiradi. Demak, ikkinchi probirkada kraxmal yaxshiroq gidrolizlangan, uchinchisida umuman gidroliz ketmagan. Ish natijasi jadvalda (4-Jadval) qayd qilinadi.

4-Jadval

Amilaza faolligiga faollovchi va ingibirlovchilarning ta`siri

№	Ferment	Substrat	Fermentning ta`sir etish vaqti, min	Reksion aralashmaning yod bilan bergan ranggi		
1	So`lak amilazasi	Kraxmal	5			
2	So`lak amilazasi	Kraxmal	10			
3	So`lak amilazasi	Kraxmal	15			
Xulosa:						

9-laboratoriya mashg`uloti.

Mavzu: Chiqindilar asosida sorbent sintezlash. Chiqindisiz texnologiyalar yaratishning biologik usullarini o`rganish (8 soat).

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

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

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

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

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

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

"Tashuvchi" satxida adsorbsiya bo`lgan ferment molekulari har xil kuchlar hisobiga, xususan nospesifik Van-der-Vaals, elektrostatik, o`zaro ta'sirlar, vodorod bog`lari va gidrofob bog`lar hisobiga amalga oshiriladi. Sanab o`tilgan bog`larni nisbiy ishtiroki ferment molekulasidagi faollik guruhlar yoki "tashuvchi"ning kimyoviy tabiatiga bog`liq bo`ladi. Ko`pchilik hollarda asosiy vazifani elektrostatik o`zaro ta'sirlar va vodorod bog`lari tashkil etadi.

Ba`zi vaqtlarda o`zaro ta'sir kuchi oqibatida "tashuvchi"ning tuzilishi buzilishigacha borish mumkin. Masalan, ba`zi o`simlik hujayralarini sitodeks granulariga adsorbsiya qilinganda hujayra devori deformatsiyaga uchragani kuzatilgan.

Fermentlar adsorbsiyasiga ta'sir etuvchi omillar

Adsorbsiya o`tish jarayoni va ferment bilan "tashuvchi" orasidagi bog`ni mustaxkamligi, ko`pchilik hollarda immobilizasiya qilish sharoitiga bog`liq bo`ladi.

Ferment adsorbsiyasiga ta'sir etuvchi omillarga quyidagilar kiradi: tashuvchini g`ovakligi va sirtini faolligidir.

Tashuvchini sorbsiya qilish hajmi uning sirtini faolligiga to`g`ri proporsional oqsil yoki fermentga kelganda bu qonuniyat faqatgina tashuvchini g`ovakligi oqsil molekulasidan anchagina katta bo`lgandagina o`z kuchini saklaydi. Tashuvchini g`ovakligi juda kichik bo`lganda,

fermentlar g'ovaklarga sig' masalar, fermentlar uchun tashuvchilar satxining ma'lum bir qismigina foydali bo'ladi xolos.

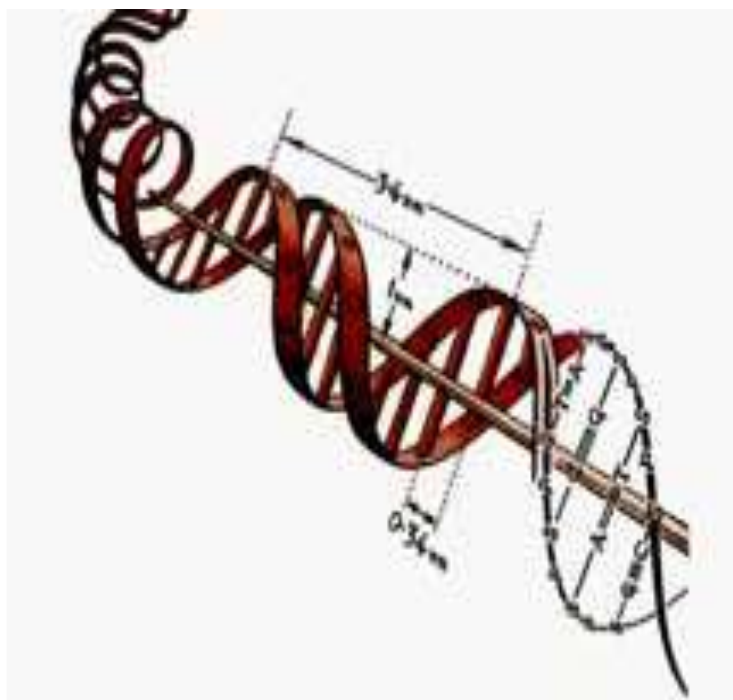
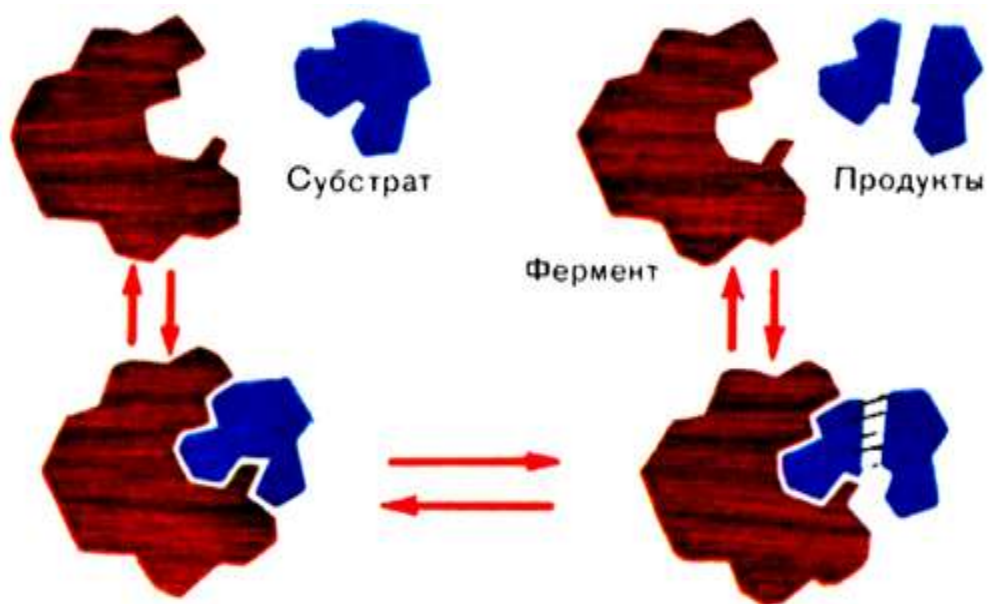
Bunday paytlarda tashuvchining sorbsiya qilish imkoniyatlari juda kam bo'ladi, boshqacha qilib aytganda, g'ovaklar qancha kichik bo'lsa, tashuvchining adsorbsiya qilish imkoniyatlari shuncha kam bo'ladi. ~ovaklarni mo'tadil hajmini hisoblashni birinchilardan bo'lib buni 1976 yilda R.Messing taklif etgan.

U shisha va sopol materiallardan tashuvchi sifatida foydalana turib, ularni g'ovaklarini kattaligini (hajmini) o'lchab chiqdi va g'ovaklarni kattaligi ferment bo'yidan taxminan 2 marotaba katta bo'lgan hollarda tashuvchini adsorbsion imkoniyatlari maksimum bo'lishini tajribalardan isbotlab berdi.

Bunday holda substratni molekulyar o'lchami fermentdan ancha kichik bo'lmog'i va sorbsiya qilingan ferment g'ovaklariga bimalol kirib turishlari lozim, albatta.

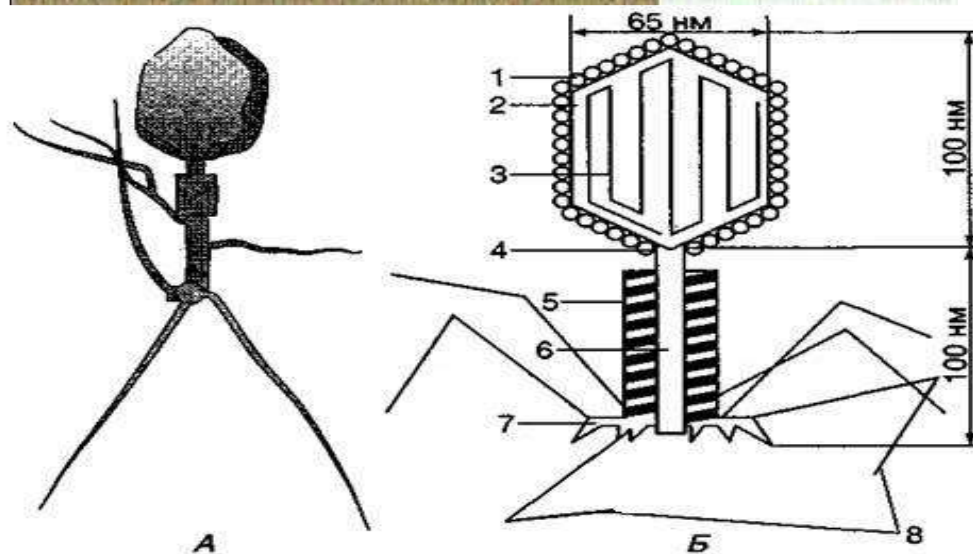
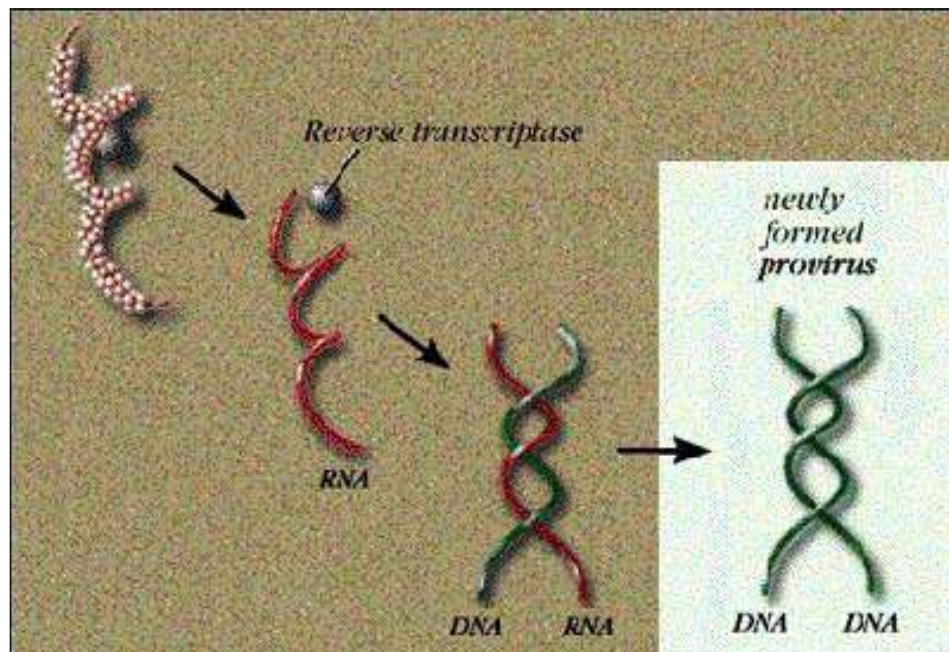
Substrat molekulasi hajmi fermentnikidan katta bo'lgan hollarda tashuvchining g'ovakligi substrat molekulasini bilan belgilanadi. Ba'zi bir hollarda substratni o'zi tashuvchi vazifasini bajarishi ham mumkin. Masalan, sellyulaza fermentini immobilizasiya qilish uchun uning substrati bo'lgan sellyulozadan keng foydalaniladi.

7. QO'SHIMCHA MATERIALLAR



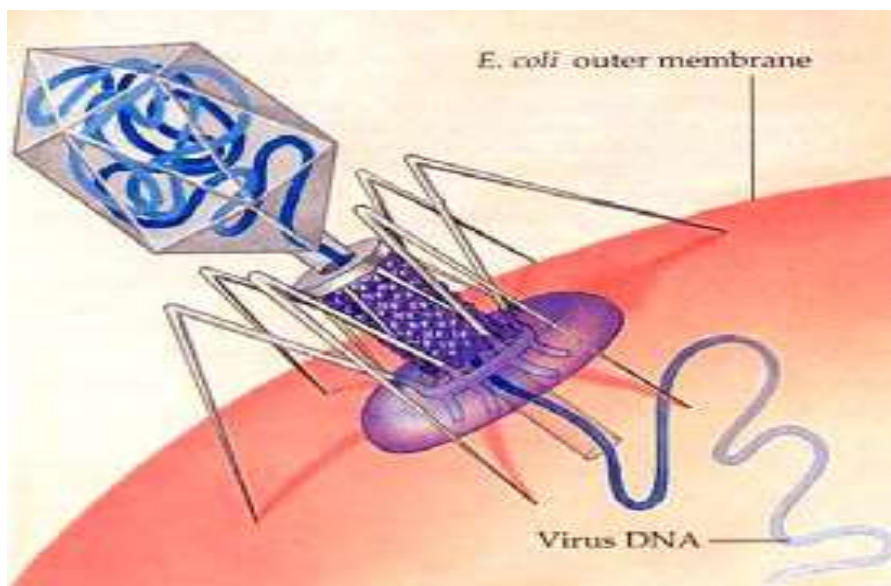
DNK va RNK molekulalarining qiyosiy xarakteristikasi jadvalini to'ldiring.

Xususiyatlari	DNK	RNK
Azotli asos		
Karbonsuvlarni (uglevodlarni) tiplari		
Polinukleotid zanjirining miqdori		
Hujayrada joylashishi		
(lokalizatsiyalanishi)		
Hujayradagi biologik roli		

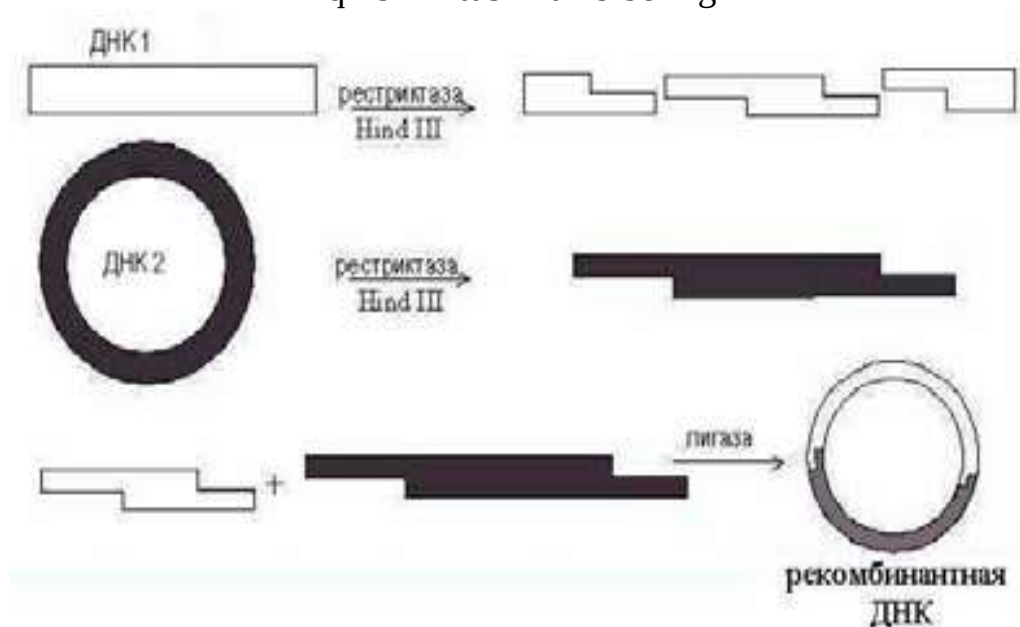


Bakteriofaglarni ichak tayoqchasi bilan o‘zaro munosabatlari sxemasini ko‘rib chiqing. Ushbu bosqichda sodir bo‘ladigan o‘zaro munosabat jarayonlarini tushintirib bering. Bakteriofagni qaysi qismi, ushbu munosabatlarni oxirida ichak tayoqchasining sitoplazmasida bo‘ladi?

Bakteriofagni boshqa qismi bilan nima bo‘ladi? Nimalar asosida bakteriofaglar “birmartalik tirik shipritslarga” o‘xshatilgan? Xo‘jayin – hujayrani viruslar va bakteriofaglar bilan zararlanish usulini taqqoslang. Bu usullarni samaradorligi haqida o‘zingizni fikrlaringiz bilan o‘rtoqlashin



Quyida keltirilgan sxemani daftaringizga chizib oling. Sxemada keltirilgan gen injeneriyasini bosqichini nomini yozing. Ko'rsatilgan strukturalardan qaysi biri, kelgusida vektor sifatida ishlatiladi? Nima uchun bu struktura vektor bo'lib xizmat qilishini tushintirib bering

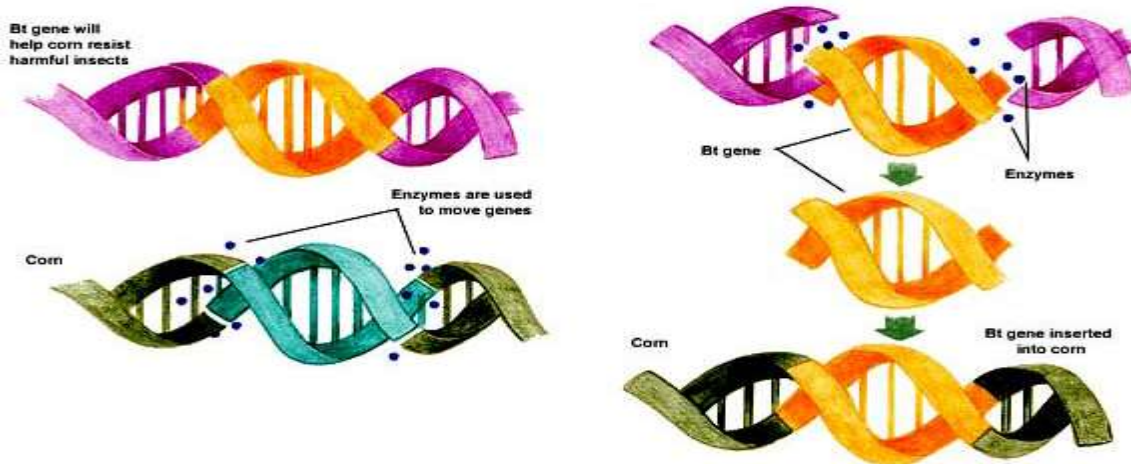


Quyida keltirilgan sxemani oxiriga yetkazing. U qanday metodni ko'rsatadi? Bu metodni qaysi bosqichi bir necha yo'l bilan bilan amalga oshirilishi mumkin? Sizning fikringizcha bu metodni qaysi bosqichi, eksperimentator uchun qiyinroq tug'iladi? Agar Siz o'simlik seleksiyasi ustida tadqiqotlar olib borgan bo'lsangiz, muhokama qilayotgan metodni nima maqsadda ishlatgan bo'lar edingiz? Ular orasida yaqinlarini (eng reallarini) va uzoqlashgan (kam real) maqsadlarni ko'rsating. Javobingizni argumentlar bilan tushintiring.

Genni ajratish → vektor tanlash →

Rasmda, odamni irsiy kasalligini davolash usuliga asoslangan biotexnologiyani sxemasi keltirilgan (gen injenerlik manipulyasiyasi). Limon va havoranglar bilan belgilangan DNK fragmentlari, genlar hisoblanadilar. Mana shu gen-injener

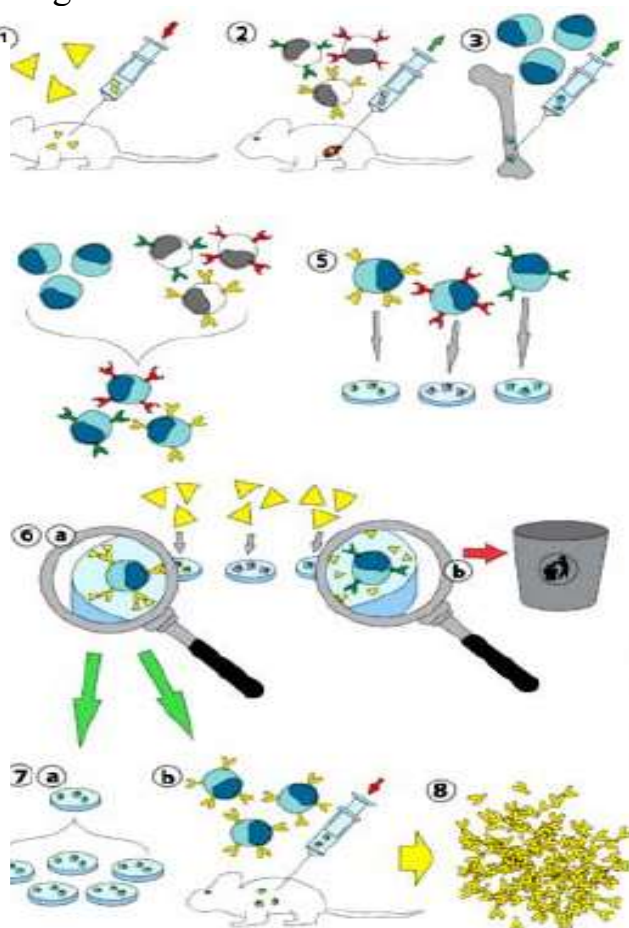
manipulyasiyada asoslangan irsiy kasalliklarni davolash usuli, qanday ataladi? Bu gen-injenerligi manipulyasiyasida qanday fermentlar ishlatiladi? Nima uchun havo rangda keltirilgan gen, DNK dan kesib olingandan keyin, keyingi jarayonlarda ishtirok etmaydi? Nima uchun yangi gen (limon rangda keltirilgan), chiqarib tashlangan gen o'rniga DNK molekulasiga kirib oladi? Rasmda sxema qilib keltirilgan gen-injener manipulyasiyasi istiqbolda qanday ishlatilishi mumkin?



Rasmda sun'iy antitanani sxemasi keltirilgan.

Antitanani olinishi quyidagi jarayonlarni o'z ichiga oladi: hayvonlarni immunizatsiyasi; hayvonlarni talog'idan B – limfotsitlar ajratish; miyeloma hujayralarini ajratib olish;

B – limfotsitlarni va miyeloma hujayralarini qo'shish; gibridomalarni hujayra liniyalarini o'stirish; antitana chiqaruvchi hujayra liniyalarini seleksiyasi; gibridomalarni ko'paytirish (in vivo, in vitro); antitana olish. Mana shu jarayonlarni nomlarini ishlatib, rasmdagi (1-8 va a,b) belgilarni nima ekanligini tushuntirib bering. Rasmda raqamlar bilan ko'rsatilgan jarayonlarni mohiyatini tushuntirib bering. Jarayonlardan qaysi biri:



ash va kupaytirish; 3) antitanalar olish; 4) eladi? Sun'iy antitanalar olishni ko'rsatilgan

bosqichlaridan qaysi birida gen injeneriya metodi ishlatiladi? Nima uchun B – limfotsitlar shu organni sog‘lom hujayralari bilan emas, rak hujayralari bilan qo‘shiladi? Qon tomirlarida komplementarlikni aniqlovchi uchastkasi bo‘lmagan sun‘iy antitanalarning faoliyatini bashorat qiling.

Testlar

1. Bir hujayraning genetik jihatdan bir xil bo‘lgan avlodi nima deb ataladi?

- A.Klon**
- B.Mutantlar
- S.Revertontlar
- D.Supressorlar

2. Xromasom mutasiyalarni ko‘rsating?

- A. Barcha javob to‘g‘ri**
- B. Xromasomalar soning o‘zgarishi
- S. Genlarning joylashish tartibi va soning o‘zgarishi
- D. Ayrim genlarning o‘zgarishi

3. Xromasoma bo‘laklarining tushib qolishi nima deb ataladi

- A. Deletsiyalar**
- B. Duplikasiyalar
- S. Transpodisiyalar
- D. Inversiyalar

4. Xromasomalar o‘rtasida xromasom bo‘laklarining o‘zaro joyi almashishi nima de-yiladi?

- A.Translokasiyalar**
- B.Inversiyalar
- S.Tranpozisiyalar
- D.Amplifikasiyalar

5. Nima missens-mutasiyaga olib keladi?

- A.Transpozisiya va tranvereziyalar**
- B.Duplikasiyalar
- S.Duplikasiya va transpazisiya
- D.Transversiyalar

6. Boshlang‘ich genetopga teskari mutasiya natijasida yuzaga keladigan mutantlar nima deb ataladi?

- A.Revertantlar**
- B.Supressorlar
- S.Leki-mutant
- D.Klonlar

7. Iz qoldirish (otpechatok) metodi biotexnologiyaga kim tomonidan kiritilgan?

A.D.Lederberg va E.Lederberg

B.N.N.Dubinin

S.V.V.Suxodeles

D.D.J.Uotson

8. Ichak tayoqchasi xromasomasi qanday namoyon bo'ladi?

A.DNK molekulasining halqasimon shakli

B.Chiziqsimon DNK molekulasi shaklida

S.RNK molekulasining halqasimon shaklida

9. “__ bu reklikonlar, doimiy ravishda xromasomadan tashqarida irsiylanadi” ushbu iborada nima nazarda tutilgan?

A.Plazmida

B.Vektorlar

S.Kosmida

D.Bakteriya

10. Bitta xromasomaga nechta yirik plazmida to'g'rikeladi?

A.1-4

B.10-200

S.6-12

D.100-150

11. Hujayralarning o'zaro muloqoti, natijasida, donor hujayradan resipiyant hujayra genetik informasiyaning berilishi ya'ni genetik almashinuv jarayoni nima deb ataladi?

A.Konyugasiya

B.Tanskripsiya

S.Translyasiya

D.Replikasiya

12. Bakteriya viruslari nima deb ataladi?

A.Bakteriofaglar

B.Boshqa sinf bakteriyalari

S.Ko'k-yashil suv o'tlari

D.Plazmidlar

13. Fag zarrachalari nimalardan iborat?

A.DNK, RNK va oqsildan

B.Faqat DNK

S.Faqat RNK

D.Faqat oqsildan

14. Faglar hayot sikli qachondan boshlanadi?

- A.Fag zarrachasining hujayraga tegishi bilan**
- B.Bakterial hujayra lizisidan so'ng
- S.Fag xromasomasining ko'p karrali replikasiyasi vaqtida
- D.Fag qobig'ining hosil bo'lishi vaqtidan

15. Faglar tomonidan amalga oshiriladigan donor hujayradan, resipiyent hujayraga genetik informasiyaning berilishi quyidagi jarayonlarning qaysi biriga to'g'ri keladi?

- A.Transduksiya**
- B.Translyasiya
- S.Terminasiya
- D.Transpodisiya

16. Transduksiyaning kim birinchi bo'lib tariflab berdi?

- A.Sender va lederberg**
- B.Vatanabe
- S.Sikitya
- D.Suxodolis

17. Transduksiyalovchi zarrachalarning hosil bo'lishining asosiy bosqichi bo'lib nima hisoblanadi?

- A.DNK ning bakteriofaga shaylanishi**
- B.Oqsil biosintez jarayoni
- S.Transkripsiya jarayoni
- D.Translyasiya jarayoni

18. Donor hujayradan ajratilgan DNK ning resipiyent hujayraga tushishi natijasida sodir bo'ladigan genetik axborot almashinuvi jarayoni nima deyiladi?

- A.Transformasiya**
- B.Transpozisiya
- S.Translyasiya
- D.Terminasiya

19. Ajratib olingan fag DNK sining bakteriya hujayrasiga o'tishiva u yerda yetilgan fag zarralarining hosil bo'lishiga sharoit yaratib beruvchi jarayoni nima deyiladi?

- A.Transfeksiya**
- B.Transformasiya
- S.Transpozisiya
- D.Translyasiya

20. DNK molekulalarining qanday formalari mavjud?

- A.Katyananlar
- B.Konkatamerlar
- S.Monomerlar
- D.Yuqoridagilarning barchasi**

21. Gen injenerligida namunaviy tadqiqot necha bosqichdan iborat?

- A.4**
- B.5
- S.3
- D.2

22. Gen injenerligida DNK molekulalarining muhim manbai nima hisoblanadi?

- A.Turli xil organizmlarning genetik materiallari bo'laklari**
- B.Genlarning kimyoviy sintezi
- S.Genlarning ximiko-orermentativ sintezi
- D.Muhim manbalar yo'q

23. Hozigi vaqtda restriktazalarning necha xili farqlanadi?

- A.3**
- B.8
- S.5
- D.10

24. DNK dagi bir xil ketma-ketlikni aniqlovchi fermentlar nima deb ataladi?

- A.Izoshizomerlar**
- B.Megazalar
- S.Polimerazalar
- D.Gidrolazalar

25. Ushbu ta'rif qaysi javobga to'g'ri keladi?

“__o'z tarkibida bir yoki bir necha restriktazalar tanishi mumkin bo'lgan qisqa sintetik qo'shspiralli oliganukleotidlar”.

- A.Izoshizomerlar
- B.Linkerlar**
- S.Gilrolazalar
- D.Ligazalar

26. Rekombinant DNK ni xo'jayin hujayrasiga kirishini va uni replikasiyasini ta'minlovchi qismi nima deb ataladi?

- A.Vektor**
- B.Plazmida
- S.Kosmida
- D.Fazmida

27. Ichak tayoqchasi bakteriyasining necha xil vektorlari mavjud?

A.4

B.2

S.3

D.1

28. Plazmidalar hujayraga qanday yo'l bilan kiritiladi?

A.Transformasiya

B.Transduksiya

S.Ineksiya

D.Mexaniq yo'l bilan

29. Transformasiyada DNK ning nechta molekulasi ishtirok etadi?

A.10000-1000tadan 1ta

B.100tadan 2ta

S.50tadan 5ta

D.100-1000tadan 3ta

30. Ichak tayoqchasi bakteriyasida joylashgan virus nima deb ataladi?

A.Bakteriofag lyambda

B.Bakteriofal alfa

S.Bakteriofag gamleya

D.Bakteriofag betta

31. Kosmidalarni birinchi bo'lib ta'riflagan olim?

A.Kolliz va Kon

B.Lederberg

S.Konda i Makkey

D.Simon

32. Klonotek genomlar yaratishga va eukariot DNK ning katta bo'laklarini klonlashga moslashgan yirik xajmli vektorlar nima deb ataladi?

A.Kosmidlar

B.Fazmidlar

S.Plazmidlar

D.Bakterifaglar

33. Fazmidlar nima?

A.Fag va plazmidlar o'rtasidagi gibridlar

B.Lyamda fagining yopishqoq uchli DNK li, plaznium

S.DNK ning katta bo'laklarini klonlashga moslashgan vektorlar

D.Xromasomadan tashqaridagi genetik elementlar

34. Tarkibida plazmidalar va replikasiyasi va seleksiyasi uchun zarur bo'lgan va fagning litik yetilishiga zarur genlarni saqlovchi ishlab chiqarilgan lyambda bakteriofaglari nima deb ataladi?

A.Fazmidlar

B.Kosmidalar

S.Plazmidlar

D.M13 fagi

35. Ko'p miqdorda oqsil olish uchun nima qili lozim?

A.MRNK turg'unligini ta'minlash va oqsil kroteolizini to'xtatish

B.MRNK turg'unligini kamaytirish

S.MRNK turg'unligini oshirish

D.Oqsil proteolizini oshirish

36. Sayt-spesiorik mutagenез texnikasi qanday imkoniyatlar beradi?

A.Mutasiyalarni genning aniqlangan uchastkasiga olib kiradi

B.Mutasiyalarni genning biron bir uchastkasiga olib kiradi

S.Mutasiyalardan ximoyalaydi

D.Genga mutasiyalarning kirishiga yo'l qo'ymaydi

37. "Hayot sikli davomida differensiyarovkaning bir necha bosqichi ma'lum bo'lgan tuproq grammanfii bakteriyalar" quyidagi ta'rif qaysi javobga to'g'ri keladi?

A.Aksinomisetlar

B.Basillar

S.Ildiz bakteriyalar

D.Achitqilar

38. Ominokislotalarning ishlab chiqarilishida keng foydalaniladigan, katogen bo'lmagan prammanfiy mikroorganizmlar gruppasini ko'rsating

A.Ildizbakteriyalar

B.Aksinomisetlar

S.Achitqilar

D.Basillalar

39. Xo'jalik faoliyatida odam tomonidan foydalaniluvchi mikroorganizmlar (navvoychilikda, vino va pivo tayyorlashda)

A.Achitqilar

B.Basillalar

S.Aksinomisetlar

D.Ildiz bakteriyalar

40. Bakteriya hujayrasida begona oqsillar ekspressiyasini optimizasiyalash muammosini ko'rsating.

A. Yuqoridagilarning hammasi to'g'ri

B. Proteolizga qarshi kurash

S. MRNK ning stabilizatsiyasi

D. Ba'zi oqsil hujayralari uchun zaharlanishni oldini olish

41. Biokatalitik tizimlar immobilizatsiyasining asosiy metodlarini ko'rsating

1. Adsorbsiya yoki ximiyaviy bog'lanish

2. Polimer tuzilishga qo'shilish

3. Imkapsulatsiya

4. Polifunksional agentlar yordamida ko'ndalang tikish

5. Izoelektrik fokuslash

A. 1,2,4,5

B. 1,2,3,5,

S. 1,2,3,4,

D. Barcha javoblar to'g'ri

42. Immobilizatsiya nima?

A. Fermentlar faolligini saqlash uchun uning harakati va tuzilishini chegaralash

B. Fermentlar faolligini o'zgarishi

S. Fermentlar sintezi

D. Fermentlarning katalitik aktivligi va tuzilishining o'zgarishi

43. Immobilizatsiyaning adsorbsion usuli nimaga asoslanadi?

A. Tabiiy va sun'iy tashuvchilar yuzasiga fermentlarni biriktirish

B. Fermentlarni polimer gellarga bog'lash

S. Fermentlarni membrana kosullariga bog'lash

D. Fermentlarni ko'ndalang tikish

44. Fermentlar immobilizatsiyasida nima ro'y beradi?

A. Gomogen holatdan geterogen holatga o'tadi

B. Fermentlar geterogen holatdan gomogen holatga o'tadi

S. Fermentlar strukturasi o'zgaradi

D. Hamma javoblar to'g'ri

45. Fermentlar va reagentlar bo'linishiga nima imkon beradi?

A. Barcha javoblar to'g'ri

B. Reaksiyani kerakli vaqtda to'xtatish

S. Reaksiyadan so'ng fermentlarni qayta tiklash

D. Ferment qo'shilmagan mahsulot olish

46. Hujayra va organlar uchun immobilizatsiyaning qaysi usulidan foydalanish maqsadga muvofiq?

A. Polimer qo'shilishga birlashtirish

- B.Ko'ndalang tikish yo'li bilan
- S.Adsorbsiya usuli yoki kiyoviy sintez
- D.Inkosulasiya usuli

47. Inkosulasiya usuli nimaga asoslanadi?

- A.Yarim o'tkazgich qobiq bilan qoplanganligiga
- B.Biokatolizatorlarning o'tkazmas qobiq bilan qoplanganligiga
- S.Hujayralarning oqsil kopsulasiga qo'shilganligiga
- D.Hujayra qobig'ining buzilishiga

48. Hujayralar gel bilan qo'shilganda ularda qanday o'zgarish sodir bo'ladi?

- A.Normal o'sadi va ko'payadi
- B.O'sishi susayadi yoki to'xtaydi
- S.Yomon ko'payadi
- D.Maxsulot ajratmay uni ichida to'playdi

49. Biokatalizatorni polimer tuzilishga kiritgach nima hosil bo'ladi?

- A.Granulalar, hujayralar, tolalar
- B.Granulalar, gel massasi
- S.Tolalar va tayoqchasimon hosilalar
- D.Tasmalar

50. Fermentlar funksiyalari.

- A.Katolitik
- B.Yangi brikmlar sintezi
- S.Ximiyaviy reaksiyani uzadi
- D.Sintetik reaksiyalarga halaqit beradi

51. 17 asrda birinchi marta "hujayra" so'zidan kim foydalangan?

- A.Robert Guk
- B.G. Shvann
- S.A. Levinguk
- D.R. Vixrov

52. Pro-va eukariot hujayralarga xos bo'lmagan, noto'g'ri javobni ko'rsating.

- A.Ribosomalar prokariotlarda bor, eukariotlarda yo'q
- B.Libosomalar prokariotlarda bor, eukariotlarda yo'q
- S.Prokariotlarda hujayra devori bor, eukariotlarda esa yo'q
- D.Pro-va eukariotlarda ham plazmatik membrana bor

53. Fermentativ regulyasiya bu -

A.Ferment molekulalariga metabolit mahsulotlari ta'sir qila boshlaganda fermentlarning miqdoriga bog'liq bo'lmagan holda ular aktivligining o'zgarishi

B.Ferment miqdorining kamayishi bilan uning faolligining o'zgarishi

S.Ferment faolligining o'zgarmasligi

D.Bioximiya reaksiya tezligining katalizator fermentlar ta'siri natijasida sekin o'zgarishi

54. Konstitutiv fermentlarga misollar ko'rsating.

A.Glyukozani piruvatga aylantiruvchi glikoliz fermentlari

B.Piruvatni glyukozaga aylantiruvchi fermentlar

S.Piruvatni glyukozaga va glyukozani piruvatga aylantiruvchi fermentlar

D.Hamma javoblar noto'g'ri

55. Fermentlar induksiyasi bu -

A.Ximiyaviy brikma - induktorning paydo bo'lishiga javob sifatida ferment sintezining nisbiy o'zgarishi

B.Fermentlar sintezi tezligining oshishi

S.Fermentlar sintezi tezligining kamayishi

D.Ferment faolligining regulatsiyasi

56. Fermentlar sintezining sustlashuvi yoki to'xtab qolishi nima deb ataladi?

A.Fermentlarning koordinirlangan repressiyasi

B.Fermentlarning koordinirlaydigan induksiyasi

S.Fermentativ regulatsiya

D.Hamma javob noto'g'ri

57. Repressiya yordamida nimalar sintezi boshqariladi?

A.Hamma javob noto'g'ri

B.Aminokislotalar

S.Vitaminlar va boshqa birlamchi metabolitlar

D.Purin va pirimidinlar

58. Metabolizm tezligi qanday aniqlanadi?

A.Energiya taqchilligi bilan

B.Muhitdagi u yoki bu substratlar konsentratsiyasi bilan

S.Hujayraning energiyaga bo'lgan ehtiyoji bilan

D.Barcha javoblar to'g'ri

59. ATF sintezining yagona yo'lini ko'rsating.

A.Substrat fosforlanish

B.Fosforlanish yoki elektronlar tashilishi

S.Uchkarbon kislota sikli oraliq mahsulotlarining oksidlanishi

D.Barcha javoblar to'g'ri

60. Hujayra ichki proteoliz stimulyatsiyasi qachon kuzatiladi?

A.Barcha javoblar to'g'ri

- B.Aminokislotalar taqchilligida
- S.Azot manbasi taqchilligida
- D.Energiya va uglevod taqchilligida

61. Agar hujayrani yuqorimolekulyar birikmalar, masalan: kraxmal ammonit va mineral tuzlar bo'lgan muhitga joylashtirsak u:

A.Barcha javoblar to'g'ri

B.Avval kraxmalni glyukozagacha gidrolizlaydi

S.Glyukozani hujayra ichiga yetkazib beradi

D.Glyukozani ikki va uch-uglevodlibirikmalarga ajratadi va bu kichik molekulalarni uch karbon kislota sikliga kiritadi

62. Yangi o'simlik navlari yaratish uchun yo'nalishlar mavjud?

A.Barcha javoblar to'g'ri

B.Gibridizasiya asosidagi seleksiya

S.Tabiiy va sun'iy reaksiyalar

D.Gen muhandisligi

63. Tuganak bakteriyalar qaysi avlodga mansub?

A. Rhizobium

B.Agrobacterium

S.Azotobacter

D.Klebsiella

64. Qaysi birikmalar o'simlik xo'jayin va tuganak azotafiksatorlar o'rtasida simbioz munosabatini o'rnatuvchi genlarga ega?

A.Sym

B.Pak

S.Cfx

D.Osm

65. Nam yetishmovchiligi, issiqqa, sovuqqa va yer sho'rlikiga qarshi o'simlik chidamliligini genlar qanday birikmalarga oid?

A.Osm

B.Sym

S.Pak

D.Cfx

66. O'simliklarda SO₂ ning funksiyasini muvofiqlashtiruvchi genlar qanday birikmalarga oid?

A.Cfx

B.Sym

S.Pak

D.Osm

67. Qaysi fototrof mikroorganizmlar oqsil manbai bo'la oladi?
A.Barcha javoblar to'g'ri
B.Spirulina
S.Chlorella
D.Schnedesmus
68. CO₂ va N₂O yonishida olinadigan ekologik yoqilg'i.
A.Etanol
B.Gazoxol
S.Gidrogenaza
D.Biogaz
69. Benzinning 10-20% ni nima tashkil qiladi?
A.Gazoxol
B.Etanol
S.Gidrogenaza
D.Biogaz
70. Tarkibida Fe S - sitrlar bo'lgan ferment.
A.Gidrogenaza
B.Etanol
S.Gazoxol
D.Biogaz
71. Yomon sifatli o'smalar va ma'lum mikroorganizm guruhlariga nisbatan fiziologik faollikka ega bo'lgan hayotiy faoliyat mahsuloti.
A.Antibiotiklar
B.Garmonlar
S.Interferanlar
D.Interleykinlar
72. Yuqumli viruslarning ta'siriga javoan inson va hayvon hujayralari nima ajratadi?
A.Interleykinlar
B.Antibiotiklar
S.Garmonlar
D.Interferonlar
73. Immun javobini tashkil qilishda qatnashadigan kalta polipeptidlar?
A.Interleykinlar
B.Interfironlar
S.Antibiotklar
D.Garmonlar
74. Rekombinat vaksinalar qanday olinadi?
A.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi

- B.Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
- S.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
- D.To'g'ri javob yo'q

75. Vaksina antigenlar qanday olinadi?

- A. Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
- B.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi
- S.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
- D.To'g'ri javob yo'q

76. Manoklonal antitelalar nima?

- A.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
- B.Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
- S.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi
- D.To'g'ri javob yo'q

77. Oziq biomassasida oqsil, nuklin kislotalar va lipidlar qancha miqdorda bo'lishi kerak?

- A.80%, 2%, 1%
- B.90%, 1%, 0,5%
- S.60%, 10%, 5%
- D.10%, 55, 3%

78. Bakteriyalardan qaysi biri S yordamida oksidlab Fe, Cu, Zn va boshqa metallarni ishqorlaydi?

- A.Thiobacillus ferrooxydans
- B.Chrombacterium violaceum
- S.Zoolgoca ramigera
- D.Xantomonas campestris

79. Qaysi bir bakteriya oltinni eritadi?

- A.Chrombacterium violaceum
- B.Zoolgoca ramigera
- S.Xantomonas campestris
- D.Thiobacillus ferrooxydans

80. Qaysi bir bakteriya oqava suvlardan H, Cu, Cd ni ajratib oladi?

- A.Zoolgoca ramigera
- B.Xantomonas campestris
- S.Thiobacillus ferrooxydans
- D.Chrombacterium violaceum

81. Qaysi bakteriyaning hujayradan tashqari polisoharidi neftni ajratib olishda foydalaniladi?

- A.Xantomonas campestris

- B. Thiobacillus ferrooxydans
- S. Chromobacterium violaceum
- D. Zoolgoca ramigera

82. O'stirish uchun eng zarur moddalarni ko'rsating.

- A. NH_3 , H_2S , CO_2 , N_2 , O_2
- B. H_2SO_2 , KCl , H_2CO_3 , MgSO_4
- S. NaCl
- D. Barcha javob to'g'ri

83. Iqtisodiy nuqtai nazardan, foydalanish maqsadga muvofiq bo'lgan xom ashyoni ko'rsating.

- A. To'g'ri javob yo'q
- B. Qimmatli xom ashyo
- S. Arzon xom ashyo
- D. Toza xolatda olingan birikmalar aralashmasi

84. Avtotrof organizmlar, hujayraning organik birikmalarini quyidagilarning qaysi biridan sintez qiladi?

- A. CO_2 va H_2O
- B. NH_2 va H_2O
- S. H_2S va CO_2

85. Arzon va mo'l xom ashyoni ko'rsating.

- A. Ksiloza
- B. Laktoza
- S. Melassa

86. Uglerod va energiyaning keng tarqalgan manbalari bo'lib hisoblanuvchi komponentlar.

- A. Neft
- B. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- S. Mochevina
- D. NH_3

87. Ligninni aniqlashning keng tarqalgan metodida qaysi modda bilan ishlov beriladi?

- A. SO_2
- B. CO_2
- S. NH_3

88. Gemisellyo'lozalarning asosiy komponenti

- A. Saharoza
- B. Laktoza
- S. Ksillon

D.Kraxmal

89. Qaysi fermentlar guruxi atomlar gruppasini bir birikmadan ikkinchi birikmaga tashishni amalga oshiradi?

- A.Transferaza**
- B.Izomerazalar
- S.Gidromazalar
- D.Oksidoredruktazalar

90. Ligaza, amilaza, peptidaza fermentlari qaysi fermentlar sinfiga mansub?

- A.Gidronazalar**
- B.Liazalar
- S.Ligazalar
- D.Troneferazalar

91. Sanoatning qaysi sohalarida amilazalardan foydalaniladi?

- A.Tekstil, non pishirish, pivo ishlab chiqarish**
- B.Oziq-ovqat, teri, go'sht sanoatida
- S.Farmaseftikada, fotografiyada
- D.Oziq-ovqat, tekstil, rezina

92. Bakterial proteazalardan foydalanish

- A.Kir yuvish vositalari,oqsil gidrolizatlarini olish (ozuqa ishlab chiqarishda) terini yumshatishda**
- B.Glyukozani ajratishda, sharbatlarni yorqinlashtirishda
- S.Ko'pik miqdorini muvozanatlashtirishda tish pastasiga qo'shiladi
- D.Bolalar ozuqasini ishdab chiqarishda

93. Fermentlarni chiziq bo'ylab joylashishi qanday imkoniyatlarni beradi?

- A.O'zini boshqarish imkonini beradi**
- B.Turli xil tugallangan maxsulotlarga olib keladi
- S.Ingibirlashning teskari aloqa bo'yicha o'zini boshqarish
- D.Hamma javoblar to'g'ri

94. Kofaktorlar funksiyasi.

- A.Fermentlar faolligini to'xtatadi
- B.Fermentlar sintezi uchun zarur
- S.Katolitik aktiv ishlarni amalga oshirish uchun zarur
- D.Hamma javob noto'g'ri**

95. Temperatura oshirilganda fermentativ revksiya tezligi qanday o'zgaradi?

- A.Ma'lum chegaragacha to'g'ri proporsional o'zgaradi**
B.O'zgarmaydi
S.To'g'ri proporsional
D.Teskari proporsional
- 96. Adsorbsiya yo'li bilan immobilizasiya metodi yordamida bioobyektlarni fiksasiya qilishi mumkin bo'lgan organik toshuvchilarni ko'rsaning?**
A.Meytran, polietilen, polisteran
B.Nuklein kislotalar, fermentlar
S.Oqsillar, yog'lar, benzol
D.Karbonatlar, glisirin, ko'mir
- 97. Etonol olish uchun, achitqi va bakteriyalar hujayralari immobilizasiyasi uchun organik toshuvchini ko'rsating?**
A.Ionlari almashadigan smolalar
B.Selyo`loza
S.Polinuriton
D.Xitin
- 98. Oqova suvlarni tozalashda qaysi toshuvchilardan foydalaniladi?**
A.Poliuretan
B.Ko'mir
S.Karbonatlar
D.Barcha javoblar to'g'ri
- 99. Asparginaza fermenti qaysi tashuvchiga adsorbsiya qilinadi?**
A.Paxta matoga
B.Polisterolga
S.Polietilenga
D.Selyo`lozaga
- 100. Yaponlarning an'anaviy taomi - liso poya dukkaklarini qaysi vlod zamburug'lari bilan zararlantirib tayyorlanadi?**
A.Psaliota campestris
B.Aspergillus
S.Coprinus
D.Sfercoraeius

1-Oraliq savollari

Variant № 1

1. Biotexnologiya fani ta'rifi va vazifalari.

T.I. texnologiya, biotexnika qayta ishlar, pivo, vino, non, etalon, aseton, penisilin, vaksina.

2. Fermentlarni immobilizasiyalashda foydalanilgan tashuvchilar va ularga quyiladigan talablar.

T.I. mustaxkamlik, nisbiy, yuza kattaligi, ishkalanish, qulay shakl.

Variant № 2

1. Bioreaktorlarning tuzilishi va ishlash prinsiplari.

T.I. issiqlik almashinish, aralashtirish, massa almashish, aerasiya, ko`pik sundirish.

2. Tabiatdan kerakli mikroorganizmlar qanday ajratib olinadi?

T.I. yashash joyi, tuproq, sellobioza, metan, elektiv muhit, parafin, tuplovchi, kultura, toza kultura.

Variant № 3

1. Fermentlar sintezining boshlanishi va bostirilish mexanizmlari.

T.I. konstitutiv fermentlar, adabtativ yoki indusibel, induktor, substrat, substrat analogi, struktura gen, Jakob va mono, alosterik markaz, RNK polimeraza, transkripsiya, terminasiya.

2. Biotexnologiya fani bo`limlari va ularning vazifalari.

T.I. mikrobiologiya, ko`p tonnali biomassa, aminokislota, dorivor modda, gen injeneriyasi, hujayra injeneriyasi, injenerlik enzimologiyasi, sun'iy sharoit, fermentlar faolligi.

Variant № 4

1. Bioreaktorda issiqlik almashinish effektivligini qanday oshirish mumkin.

T.I. issiqlik almashinish yuzasi, temperaturalar farqi, issiqlik berish koefitsienti, issiq sovuq suv, freon.

2. Mikroorganizmlar genetik konstruksiyalar yaratishning invivo usuli mutagenез va mutantlarni ajratish.

T.I. klon, mutant, tanlash, gen va xromosoma mutasiyalari, spontan, va indursilin gen, Lederberg, nusxa, prototrof, auksotrof, selektiv muhit, minimal muhit.

Variant № 5

1. Biotexnologiya fanining rivojlanish tarixi.

T.I. pastergacha, pasterdan keyin, pivo, vino, non, sirka kislota, aerob tozalash, aseton, butanol, etanol, antibiotiklar, vaksinalar, biosintezni boshqarish, immobilizasiya, langan ferment, anaerob tozalash, yangi biotexnologiya, monoklonal antitelolar.

2. Biorektorlarning ko`pik sundirish va sterilizasiya sistemasi.

T.I. ximiyaviy, mexanik, akustik, moy, menereal yoglar, sun'iy ko`pik, sundirgichlar, lopast, disk, baraban, termik.

Variant № 6

1. Eukariot mikroorganizmlarning gibridizasiyasi.

T.I. marker, auksotrof, prototrof, geterokarion, gibrid.

2. Biotexnologiyaning xalq xo`jaligi uchun muhim bo`lgan vazifalari.

T.I. dorivor moddalar, virusli preparatlar, bakterial, ugitlar, non, oziqaga boy oqsil, vitamin, oziq-ovqat, qishloq xo`jalik.

Variant № 7

1. Biorektorlarning aralashtirish va aerasiya sistemasi.

T.I. mexanik, pnevmatik, sirkulyasion, barboter, tebratgich, siffuzor, biogaz.

2. Fotosintezlovchi va teomofil mikroorganizmlar produsentsifatida qanday afzallikka ega.

T.I. arzon energiya, issiqlikka chidamli, sterilizasiya, aminokislota, ferment.

Variant № 8

1. Mikroorganizmlarni toza oziq muhitida o`stirish usullari va ularning xususiyatlari.

T.I. davriy, uzluksiz, inokulyant, fermentasiya, o`sish fazalari, suspenziya zichligi, xemostat, turbidostat, oziq okim tezligi.

2. Bakteriyalardan konyutgasiya va undagi yangi shtamlar yaratishda foydalanish.

T.I. donor, resiplent, konyugativ bo`lmagan, mobilizasiya, avtonom, xromosomadagi genlarning biriktirish, har-xil plazmidalarni bitta hujayraga joylashtirish.

Variant № 9

1. Mikrobiologik sanoatda qo`llaniladigan produsentlar qanday talablarga javob berishi kerak.

T.I. arzon, ko`p, tez o`sish, genetik bir jinsli, chidamli, zararsiz, termofil yot mikroflora, iqtisodiy muhit, substratdan oson ajralish.

2. Biorektordan maxsulotni ajratib olish usullari.

T.I. separasiya, flatasiya, filtrasiya, flotator, diskali, press-filtr, baraban-vakum, sentrifuga, cho`ktirish.

Variant № 10

1. Mikroorganizmlar seleksiyasida qo'llaniladigan usullarning mohiyatini tushuntirib bering.

T.I. spontan, mutasiyalar, indusirlangan mutasiyalar, pogonali bosqichli tanlash, analogolarga chidamli.

2. Maxsulot konsentratsiyasini oshirish va quritish usullari.

T.I. antibiotiklar, garmonlar, insulin aminokislota, fizikoximiyaviy, bug'doy, pupagi, zamburug miselmiyasi, gliserin, ionlar.

Variant № 11

1. Biotexnologik ishlab chiqarishning asosiy prinsiplari nimaga qaratilgan bo'ladi.

T.I. jadallashtirish, effektiv texnologiya yaratish, optimallashtirish, ilmiy asoslangan, ish xolati, arzon energiya, sermaxsul shtamm.

2. Fermentlarni fizikaviy immobilizatsiyasi usullari.

T.I. kovalent bog', adsorbsiya, yarim o'tkazuvchi tusik, anorganik organik statistik, aralashtirish, qaynovchi qavat.

Variant № 12

1. Biotexnologik mahsulotlarni modifikatsiyalash va barqarorlash.

T.I. antibiotiklar, garmonlar, insulin, aminokislota, fizikoximiyaviy, bug'doy pupagi, zamburug miseliasiyasi, glesirin, ionlar.

2. Biologik obyektlarni o'stirish uchun qanday substraktlardan foydalaniladi.

T.I. suvda eriydi, kaloid, agregat, qattiq faza, meva, shira, tuganak, milasa, uglevodorod gaz.

Variant № 13

1. Immobilizatsiyalangan fermentlar deganda nimani tushunasiz va ularning afzalligi nimada.

T.I. oziq-ovqat, farmasevtika, tukimachilik, saqlash, reaksiya, chidamli, qayta foydalanish.

2. Bioreaktorlarni aralashtirish va aeratsiya sistemasi.

T.I. mexanik, pnevmatik, sirkulyasion, barboter, tebratgich, diffuzor, biogaz.

Variant № 14

1. Mikroorganizmlarda genetik konstruksiyalar yaratishning invivo usuli.

T.I. klon, mutant, tanlash, gen va xromosoma mutasiyalari.

2. Biotexnologiya fani tarixi va vazifalari.

T.I. texnologiya, biotexnika qayta ishlash, pivo, vino, non, penisilin, vaksina, aseton.

Variant № 15

1. Biorektorda issiqlik almashinish effektivligini qanday oshirish mumkin.

T.I. issiqlik almashinish, temperaturalar farqi, issiq sovuq suv, freon, issiqlik berish koeffitsiyenti.

2. Biotexnologik ishlab chiqarishning asosiy prinsiplari nimaga qaratilgan bo`ladi.

T.I. jadallashtirish, effektiv texnologiya, yaratish, aptimallashtirish, ilmiy asoslangan, ish xolati, arzon energiya, sermaxsum shtamm.

Variant № 16

1. Biorektorlangan ko`pik sundirish va sterilizasiya sistemasi.

T.I. ximiyaviy, mexanik, akustik, moy, mineral yog`lar, lopast, disk, baraban, termik.

2. Biotexnologiyaning xalq xo`jaligi uchun muhim bo`lgan vazifalari.

T.I. dorivor moddalar, virusli preparatlar olish, nav, bakterial, oziqa boy oqsil.

Variant № 17

1. Mikroorganizmlar seleksiyasida qo`llaniladigan usullarning mohiyatini tushuntirib bering.

T.I. spontan mutasiyalar, indusirlangan mutasiyalar, pog`onali bosqichli tanlash, anatoglarga chidamli.

2. Immobilizatsiyada qo`llaniladigan “tashuvchi”larga qo`yiladigan talablar.

T.I. mustahkam, kimyoviy turg`un, reaksiyaga tez kirishuvchan.

Variant № 18

1. Tabiatdan kerakli mikroorganizmlar qanday ajratib olinadi.

T.I. yashash joyi, tuproq, selyo`loza, metan, elektiv muhit, parafin, kultura, toza.

2. Fermentlarni fizikaviy usulda immobilizatsiyalash usullari.

T.I. gel teshiklariga bog`lash, sorbentga adsorbsiyalash, ikki fazali muhitga o`tkazish.

Variant № 19

1. Biotexnologiya fanining rivojlanish tarixi.

T.I. pastergacha, pasterdan keyin, pivo, vino, non, sirka kislota, aerob tozalash, aseton, butanon.

2. Immobilizatsiyalangan fermentlar deganda nimani tushunasiz.

T.I. oziq-ovqat, farmasevtika, tukimachilik, saqlash, reaksiya chidamli, qayta foydalanish.

Variant № 20

1. Fotosintezlovchi va termofil mikroorganizmlar produsent sifatida qanday afzallikka ega.

T.I. arzon energiya, issiqlikka chidamli, sterilizasiya, ferment.

2. Biotexnologik maxsulotlarni modifikatsiyalash va barqarorlash.

T.I. antibiotiklar, garmonlar, insulin, aminokislota, glesirin.

Variant № 21

1. Maxsulotning konsentratsiyasini oshirish va quritish usullari.

T.I. antibiotiklar, garmonlar, insulin, aminokislota, fiziko-ximiyaviy, bug`doy kepagi.

2. Mikrobiologik sanoatda qo`llaniladigan produsentlar qanday talablarga javob berishi kerak.

T.I. arzon, ko`p, tez, o`sinh, genetik bir jinsli. chidamli, zararsiz.

Variant № 22

1. Biorektordan maxsulotni ajratib olish usullari.

T.I. separasiya, filtrasiya, flotator, diskali, press filtr, baraban-vakum, sentrifuga, cho`kdirish.

2. Har xil omillarni tashuvchida fermentlar adsorbsiyasida ta'siri.

T.I. nisbiy yuza, govaklik, pH-qiymati, ferment eritmasi, ion kuchi, ferment konsentratsiyasi, harorat.

Variant № 23

1. Bioreaktorlarning tuzilishi va ishlash prinsiplari.

T.I. issiqlik almashinish, aralashtirish, massa almashish, aerasiya, ko`pik sundirish.

2. Eukariot mikroorganizmlarning gibrizatsiyasi.
T.I. marker, auktotrof, prototrof, geterokarion, gibriz.

Variant № 24

1. Bakteriyalardan konyutgasiya va undagi yangi shtamlar yaratishda foydalanish.

T.I. donor, resiplent, konyugativ bo'lmagan, mobilizatsiya, avtonom, xromosomadagi genlarning biriktirish, har-xil plazmidalarni bitta hujayraga joylashtirish.

2. Immobilizatsiyada qo'llaniladigan "tashuvchi"larga qo'yiladigan talablar.

T.I. mustahkam, kimyoviy turg'un, reaksiyaga tez kirishuvchan.

Variant № 25

1. Bioreaktorda issiqlik almashinish effektivligini qanday oshirish mumkin.

T.I. issiqlik almashinish yuzasi, temperaturalar farqi, issiqlik berish koeffitsienti, issiq sovuq suv, freon.

2. Mikroorganizmlar seleksiyasida qo'llaniladigan usullarning mohiyatini tushuntirib bering.

T.I. spontan mutatsiyalar, indusirlangan mutatsiyalar, pog'onali bosqichli tanlash, analoglarga chidamli.

Variant № 26

1. Biotexnologiya fani ta'rifi va vazifalari.

T.I. texnologiya, biotexnika qayta ishlar, pivo, vino, non, etalon, aseton, penisilin, vaksina.

2. Fermentlarni immobilizatsiyalashda foydalanilgan tashuvchilar va ularga quyiladigan talablar.

T.I. mustahkamlik, nisbiy, yuza kattaligi, ishkalanish, qulay shakl.

Variant № 27

1. Bioreaktorlarning tuzilishi va ishlash prinsiplari.

T.I. issiqlik almashinish, aralashtirish, massa almashish, aeratsiya, ko'pik sundirish.

2. Tabiatdan kerakli mikroorganizmlar qanday ajratib olinadi.

T.I. yashash joyi, tuproq, sellobioza, metan, elektiv muhit, parafin, tuplovchi, kultura, toza kultura.

Variant № 28

1. Fermentlar sintezining boshlanishi va bostirilish mexanizmlari.

T.I. konstitutiv fermentlar, adabativ yoki indusibel, induktor, substrat, substrat analogi, struktura gen, Jakob va mono, alosterik markaz, RNK polimeraza, transkripsiya, terminasiya.

2. Biotexnologiya fani bo`limlari va ularning vazifalari.

T.I. mikrobiologiya, ko`p tonnali biomassa, aminokislota, dorivor modda, gen injeneriyasi, hujayra injeneriyasi, injenerlik enzimologiyasi, sun'iy sharoit, fermentlar faolligi.

Variant № 29

1. Bioreaktorda issiqlik almashinish effektivligini qanday oshirish mumkin.

T.I. issiqlik almashinish yuzasi, temperaturalar farqi, issiqlik berish koeffisienti, issiq sovuq suv, freon.

2. Mikroorganizmlar genetik konstruksiyalar yaratishning invivo usuli mutagenез va mutantlarni ajratish.

T.I. klon, mutant, tanlash, gen va xromosoma mutasiyalari, spontan, va indursilin gen, Lederberg, nusxa, prototrof, auksotrof, selektiv muhit, minimal muhit.

Variant № 30

1. Biotexnologiya fanining rivojlanish tarixi.

T.I. pastergacha, pasterdan keyin, pivo, vino, non, sirka kislota, aerob tozalash, aseton, butanol, etanol, antibiotiklar, vaksinalar, biosintezni boshqarish, immobilizasiya, langan ferment, anaerob tozalash, yangi biotexnologiya, monoklonal antitelolar.

2. Biorektorlarning ko`pik sundirish va sterilizasiya sistemasi.

T.I. ximiyaviy, mexanik, akustik, moy, meneral yoglar, sun'iy ko`pik, sundirgichlar, lopast, disk, baraban, termik.

2-oraliq savollari

Variant № 1

1. Gen injenerligi fermentlari.

T.I. restriktazalar, yopishqoq uch, tumtoq uch, ligazalar, EcoR1.

2. Gibridoma.

T.I. rak hujayrasi, poliklonal va monoklonal antitana.

Variant № 2

1. Vektorlar va ularning xillari.
T.I. genni hujayraga kiritish, eukariotik, prokariotik, binar.
2. “Asos” hujayralari va sun`iy organlar yaratish texnologiyasi.
T.I. “asos” hujayra, Tompson.

Variant № 3

1. Vektorlarga quyiladigan talablar.
T.I. “ori” sayt, antibiotiklarga chidamli, polilinker.
2. Embrionlarni transplantatsiyasi.
T.I. super ovulyatsiya, zigota, transplantatsiya.

Variant № 4

1. Rivertazalar va ularning vazifasi.
T.I. teskari transkripsiya, DNK manbasi.
2. O`simliklarni mikroklonal ko`paytirish.
T.I. meristema, steril sharoit, ozuqa muhit, yetuk o`simlik.

Variant № 5

1. Tabiatdan genlarni ajratish texnologiyasi.
T.I. mikroorganizmlar, restriktazalar.
2. Hayvonlarni klonlash texnologiyasi.
T.I. Gyordon va Roslin ishlari.

Variant № 6

1. Gen injenerligi tarixi va mohiyati.
T.I. DNK strukturasining ochilishi, rekombinant DNK olinishi.
2. Kallus to`qima va kallusogenez.
T.I. geni o`zgartirilgan hujayra, ozuqa muhit.

Variant № 7

1. Kallus to`qima qanday paydo bo`ladi va uning xususiyatlari.
T.I. o`sma, kallus, gormonlarga bog`liqlik, dedifferensiatsiya.
2. pBR322 ning tuzilishi. T.I. EcoR1, BamH1, Pst1, tetraksiklin, ampitsillin, “ori”

Variant № 8

1. Plazmid va uning xillari.
T.I. qo`shimcha xromosoma, avtonom, transmissibl.
2. Monoklonal antitanalar va ularning ahamiyati.
T.I. gibridoma, splenosit, immunizatsiya, gumanizatsiya, tashxis quyish.

Variant № 9

1. Transpozonlar va ularning tuzilishi.
T.I. ko`chib yuruvchi genetik elementlar, yopishqoq uch, transpozaza.

2. Protoplast olish usullari va undan foydalanish.

T.I. biosintez, energiya transformatsiyasi, plazmoliz, mexanik, enzimotik, osmotik stabilizator.

Variant № 10

1. Faglarning gen muhandisligida vektor sifatida foydalanilishi.

T.I. transduksiya, litik va lizogen reaksiya, vektor.

2. Protoplastlarni o`stirish usullari va sharoitlari.

T.I. suyuq tomchi, qavatli, agarozali kultura, fenol, temperatura, yorug`lik, protoplast zichligi.

Variant № 11

1. Gen injenerligi fermentlari.

T.I. restriktazalar, yopishqoq uch, tumtoq uch, ligazalar, EcoR1.

2. “Asos” hujayralari va sun`iy organlar yaratish texnologiyasi.

T.I. “asos” hujayra, Tompson.

Variant № 12

1. Vektorlar va ularning xillari.

T.I. genni hujayraga kiritish, eukariotik, prokariotik, binar.

2. Gibridoma.

T.I. rak hujayrasi, poliklonal va monoklonal antitana.

Variant № 13

1. Vektorlarga quyiladigan talablar.

T.I. “ori” sayt, antibiotiklarga chidamli, polilinker.

2. O`simliklarni mikroklonal ko`paytirish.

T.I. meristema, steril sharoit, ozuqa muhit, yetuk o`simlik.

Variant № 14

1. Rivertazalar va ularning vazifasi.

T.I. teskari transkripsiya, DNK manbasi.

2. Embrionlarni transplantatsiyasi.

T.I. super ovulyatsiya, zigota, transplantatsiya.

Variant № 15

1. Tabiatdan genlarni ajratish texnologiyasi.

T.I. mikroorganizmlar, restriktazalar.

2. Kallus to`qima va kallusogenez.

T.I. geni o`zgartirilgan hujayra, ozuqa muhit.

Variant № 16

1. Gen injenerligi tarixi va mohiyati.

T.I. DNK strukturasining ochilishi, rekombinant DNK olinishi.

2. Hayvonlarni klonlash texnologiyasi.

T.I. Gyordon va Roslin ishlari.

Variant № 17

1. Kallus to`qima qanday paydo bo`ladi va uning xususiyatlari.
T.I. o`sma, kallus, gormonlarga bog`liqlik, dedifferensiatsiya.
2. Monoklonal antitanalar va ularning ahamiyati.
T.I. gibridoma, splenosit, immunizatsiya, gumanizatsiya, tashxis quyish.

Variant № 18

1. Plazmid va uning xillari.
T.I. qo`shimcha xromosoma, avtonom, transmissibl.
2. pBR322 ning tuzilishi. T.I. EcoR1, BamH1, Pst1, tetraksiklin, ampitsillin, “ori”

Variant № 19

1. Transpozonlar va ularning tuzilishi.
T.I. ko`chib yuruvchi genetik elementlar, yopishqoq uch, transpozaza.
2. Transgen o`simliklar yaratish texnologiyasi.
T.I. Agrobakteriyalar, Ti-plazmid, T-DNK, vektor konstruksiya.

Variant № 20

1. Faglarining gen muhandisligida vektor sifatida foydalanilishi.
T.I. transduksiya, litik va lizogen reaksiya, vektor.
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish usuli: mikroinyeksiya.
T.I. mikrotomizgich, inyeksiya, ko`p miqdordagi vektorlar.

Variant № 21

1. Konyugatsiya.
T.I. bakteriya, konyugativ plazmid, donor va retsipiyent bakteriya.
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish usuli: liposomal.
T.I. liposoma, mitsella, yog` qavati.

Variant № 22

1. Transformatsiya.
T.I. pnevmakokk, R va S shtamm, DNK qo`shilishi, Griffit.
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish usuli: transfeksiya.
T.I. kalsiy, hujayra membranasi, pinositoz.

Variant № 23

1. Transduksiyaning litik reaksiyasi.
T.I. fag, bakteriya, asosiy xromosomaga birika olmaslik, replikatsiya.
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish usuli: elektroporatsiya.
T.I. 0,54 s, 200-300 V, vaqtinchalik poralar.

Variant № 24

1. Transduksiyaning lizogen reaksiyasi.
T.I. fag, bakteriya, asosiy xromosomaga birikish, profag.
2. Vektor konstruksiyani hujayraga kiritish usuli: mikroto`pchalar.
T.I. Salayev, mikroto`pcha, yuqori bosimli havo, oltin mikrobo`lakchlari.

Variant № 25

1. Gen injenerligi fermentlari.
T.I. restriktazalar, yopishqoq uch, tumtoq uch, ligazalar, EcoR1.
2. Gibridoma.
T.I. rak hujayrasi, poliklonal va monoklonal antitana.

Variant № 26

1. Vektorlar va ularning xillari.
T.I. genni hujayraga kiritish, eukariotik, prokariotik, binar.
2. “Asos” hujayralari va sun`iy organlar yaratish texnologiyasi.
T.I. “asos” hujayra, Tompson.

Variant № 27

1. Vektorlarga quyiladigan talablar.
T.I. “ori” sayt, antibiotiklarga chidamli, polilinker.
2. Embriionlarni transplantatsiyasi.
T.I. super ovulyatsiya, zigota, transplantatsiya.

Variant № 28

1. Rivertazalar va ularning vazifasi.
T.I. teskari transkripsiya, DNK manbasi.
2. O`simliklarni mikroklonal ko`paytirish.
T.I. meristema, steril sharoit, ozuqa muhit, yetuk o`simlik.

Variant № 29

1. Tabiatdan genlarni ajratish texnologiyasi.
T.I. mikroorganizmlar, restriktazalar.
2. Hayvonlarni klonlash texnologiyasi.
T.I. Gyordon va Roslin ishlari.

Variant № 30

1. Gen injenerligi tarixi va mohiyati.
T.I. DNK strukturasining ochilishi, rekombinant DNK olinishi.
2. Kallus to`qima va kallusogenez.
T.I. geni o`zgartirilgan hujayra, ozuqa muhit.

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Комилов Х.М., Рахимов М.М., Одилбекова Д.Ю. Биотехнология асослари. Тошкент. Extremum. 2010.
2. Мирхамидова Р., Вахабов А.Х., Давранов Қ, Турсунбоева Г.С. Микробиология ва биотехнология асослари. Тошкент. Илм-зиё. 2014.
1. Беккер, М. Е. Введение в биотехнологию / М.Е. Беккер. - М.: Пищевая промышленность, **2002.** - 248 с.
2. Беккер, М.Е. Введение в биотехнологию / М.Е. Беккер. - М.: Книга по Требованию, 2012. - 115 с.
3. Биотехнология / Под редакцией Е.С. Воронина. - М.: Гиорд, 2008. - 704 с.
4. Биотехнология морепродуктов. - М.: Мир, 2006. - 560 с.
5. Биотехнология рационального использования гидробионтов. - М.: Лань, 2013. - 416 с.
6. Биотехнология. Теория и практика / Н.В. Загоскина и др. - М.: Оникс, 2015. - 496 с.
7. Битуева, Эльвира Биотехнология йодсодержащей БАД органической природы. / Эльвира Битуева. - М.: LAP Lambert Academic Publishing, 2011. - 92 с.
8. Бобылева, С. В. Английский язык для экологов и биотехнологов / С.В. Бобылева, Д.Н. Жаткин. - М.: Флинта, Наука, 2008. - 192 с.
9. Бобылева, С.В. Английский язык для экологов и биотехнологов. Учебное пособие. Гриф УМО МО РФ / С.В. Бобылева. - М.: Флинта, 2016. - **308** с.
10. Вакула, В. Биотехнология: Что это такое? / В. Вакула. - М.: Молодая Гвардия, **2004.** - 302 с.
11. Дебабов, В. Г. Биотехнология. В 8 книгах. Книга 2. Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов. Учебное пособие / В.Г. Дебабов, В.А. Лившиц. - М.: Высшая школа, **2003.** - 208 с.
12. Дрыгин, Ю.Ф. Англо-русский словарь по биотехнологии (с толкованиями) / Ю.Ф. Дрыгин, Е.С. Дрыгина, И.П. Пьянзина. - М.: Русский язык, **2016.** - 336 с.
13. Жаткин, Д. Н. Английский язык для экологов и биотехнологов. Учебное пособие / Д.Н. Жаткин. - М.: Флинта, 2014. - **9** с.
14. Загоскина, Н.В. Биотехнология: теория и практика / Н.В. Загоскина. - М.: Оникс-ЛИТ, 2009. - **829** с.
15. Загоскина, Н.В. Биотехнология: теория и практика / Н.В. Загоскина. - М.: ИЗД-ВО "ОНИКС", **2003.** - 496 с.
16. Клунова, С. М. Биотехнология / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. - М.: Академия, 2010. - 256 с.
17. Лутова, Л. А. Биотехнология высших растений / Л.А. Лутова. - М.: Издательство СПбГУ, 2010. - 240 с.
18. Любовь, Нимацыренова und Сэсэгма Жамсаранова Биотехнология пищевых продуктов нового поколения / Любовь Нимацыренова und Сэсэгма Жамсаранова. - М.: LAP Lambert Academic Publishing, 2012. - 116 с.
19. Мезенцева, О.Я. Биотехнология рационального использования

- гидробионтов. Учебник / О.Я. Мезенцева. - М.: Лань, 2013. - **804** с.
20. Нетрусов, Александр Иванович Введение в биотехнологию. Учебник для студентов учреждений высшего образования. Гриф УМО по классическому университетскому образованию / Нетрусов Александр Иванович. - М.: Академия (Academia), 2014. - **889** с.
21. Никита, Корзун Биотехнологии очистки сточных вод городов предприятий / Корзун Никита , Эльвира Василевич und Анна Комарова. - М.: Palmarium Academic Publishing, 2014. - 252 с.
22. О.Я., Мезенова БИОТЕХНОЛОГИЯ ГИДРОБИОНТОВ / О.Я. Мезенова, Н.Т. Сергеева und Л.С. Байдалинова. - М.: LAP Lambert Academic Publishing, 2011. - 476 с.
23. Орехов, Сергей Николаевич Биотехнология. Учебник для студентов учреждений высшего образования / Орехов Сергей Николаевич. - М.: Академия (Academia), 2014. - **593** с.
24. Отсутствует Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / Отсутствует. - Москва: **Гостехиздат**, 2012. - **17** с.
25. Рассел, Джесси Биотехнология / Джесси Рассел. - М.: VSD, 2012. - **173** с.
26. Сазыкин, Ю. О. Биотехнология / Ю.О. Сазыкин, С.Н. Орехов, И.И. Чакалева. - М.: Академия, 2008. - 256 с.
27. Сассон, Алдъбер Биотехнология: свершения и надежды / Алдъбер Сассон. - М.: Мир, **2001**. - 412 с.
28. Тищенко, П. Д. Био-власть в эпоху биотехнологий / П.Д. Тищенко. - Москва: **Мир**, 2001. - 182 с.
29. Тищенко, П.Д. Био-власть в эпоху биотехнологий / П.Д. Тищенко. - М.: ИФРАН, 2001. - **102** с.
30. Цоглин, Л. Н. Биотехнология микроводорослей / Л.Н. Цоглин, Н.А. Пронина. - М.: Научный мир, 2012. - 184 с.

