

HAYVON HUYAYRALARIDA REKOMBINANTSIIYA MEKANIZMI, TURLARI VA BIOLOGIK AHAMIYATI

AnDU Genetika va Biotexnologiya Kafedrası O'qituvchisi

Tuxtaboyeva Feruzaxon

(feruzatoxtaboyeva1971@gmail.com)

KuAf Mikrobiologiya, farmakologiya, normal va patologiq fiziologiya
kafedrası, o'qituvchisi **Mo'minov Azamat Azamjon o'g'li**

(mazamat292@gmail.com)

AnDU Tabbiy fanlar fakulteti talabasi

Mahmudjonova Zilola Mamurjon qizi

Annotatsiya. Ushbu maqola rekombinatsiya jarayoni, uning turlari va bosqichlari, ahamiyati keng yoritilgan. Rekanbinatsiya jarayonini malukulyar darajada bir nechta iborat bo'lib, u hujayra hayoti uchun muhim axamyatga ega ekanligi bayon etilgan.

Kalit so'zlar: gomologik rekombinatsiya, ekzogen nukleaza, krossingover, spetsifik fermentlar, gomologik bo'lmagan rekombinatsiya

МЕХАНИЗМ, ВИДЫ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РЕКОМБИНАЦИИ В ЖИВОТНЫХ КЛЕТКАХ

Аннотация. В данной статье рассматривается процесс рекомбинации, его виды и стадии, а также его значение. Процесс рекомбинации состоит из нескольких механизмов на молекулярном уровне и утверждается, что он важен для жизни клетки.

Ключевые слова: гомологичная рекомбинация, экзогенная нуклеаза, кроссовер, специфические ферменты, негомологичная рекомбинация

THE MECHANISM, TYPES AND BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF RECOMBINATION IN ANIMAL CELLS

Abstract. This article covers the process of recombination, its types and stages, and its importance. The recombination process consists of several mechanisms at the molecular level, and it is stated that it is important for the life of the cell.

Key words: homologous recombination, exogenous nuclease, crossover, specific enzymes, non-homologous recombination

Рекombinatsiya — bu genetik materialning (odatda DNK) qayta tartiblanish jarayonidir. U yangi DNK kombinatsiyalarini hosil qilish orqali genetik xilma xillikni ta'minlaydi. Rekombinatsiya jarayoni molekulyar darajada bir nechta mexanizmlardan iborat bo'lib, u hujayra hayoti uchun muhim ahamiyatga ega [1].

Рекombinatsiya jarayoni odatda ikki xil shaklda amalga oshiriladi: gomologik rekombinatsiya va gomologik bo'lmagan rekombinatsiya.

Gomologik rekombinatsiya: Gomologik rekombinatsiya jarayonida ikki o'xshash yoki bir xil DNK zanjiri o'zaro almashinadi. Bu jarayon, masalan, hujayra bo'linishida (meyoz) xromosomalarning krossingoversida sodir bo'ladi. Gomologik rekombinatsiyaning asosiy bosqichlari [2].

1. Ikki zanjirli uzilish (Double-strand break): Gomologik rekombinatsiya odatda DNKning ikkala zanjirida ham uzilish bilan boshlanadi. Bu uzilishlar tabiiy ravishda (radiatsiya, kimyoviy moddalar ta'siri ostida) yoki hujayraning o'z mexanizmlari orqali hosil bo'lishi mumkin [3].

2. Ekzogen nukleaza ta'siri: DNKning uzilgan joyida nukleaza fermentlari zanjirlarni qisqartiradi va 3' uchida bir qism DNK qoldiradi. Bu jarayon "resektsiya" deb ataladi [4].

3. DNK sintezlash: O'zaro almashgan zanjirlar bir-biriga komplementar bo'lib, DNK polimerazalari yordamida yangi DNK sintezlanadi [4].

Gomologik bo'lmagan rekombinatsiya. Gomologik bo'lmagan rekombinatsiya jarayonida DNK segmentlari gomologik bo'lmagan joylarda birlashadi. Bu jarayon ko'proq DNK uzilishlarini tuzatishda ishlatiladi. Gomologik bo'lmagan rekombinatsiyaning asosiy bosqichlari [2].

1. DNKning ikki zanjirli uzilishi: Gomologik bo'lmagan rekombinatsiya ham DNKning ikki zanjirli uzilishi bilan boshlanadi.

2. Kuchlanishlarni qayta tiklash: DNKning uzilgan qismlari ligaza va boshqa fermentlar yordamida bevosita birlashadi, bu jarayon odatda genomda kichik deletsiya yoki insertsiyalarni hosil qiladi [5].

Molekulyar mexanizmning biologik ahamiyati

Genetik xilma-xillikni oshirish: Rekombinatsiya natijasida turli kombinatsiyalardagi genlar hosil bo'ladi, bu esa populyatsiyadagi genetik xilma xillikni ta'minlaydi. [6,8].

DNK shikastlanishini tuzatish: Gomologik rekombinatsiya hujayralarda DNK uzilishlarini samarali tuzatishga yordam beradi. [7,8].

Meyozda krossingover: Bu jarayon xromosomalar o'rtasidagi genetik materialning almashtirilishini ta'minlaydi, bu esa nasldan-naslga o'tadigan genetik o'zgarishlarni keltirib chiqaradi. Rekombinatsiyaning molekulyar mexanizmi

hujayralarda genetik materialning aniq nusxa ko'chirilishini va o'z-o'zini tiklashini ta'minlaydi, bu esa genetik barqarorlikni saqlash uchun muhimdir [3,4,6,7.8].

Materiallar va usullar

Tadqiqot ob'ekti. Tadqiqotda oddiy sutemizuvchilar hujayra liniyasidan foydalanildi, CHO hujayralari (Xitoy hamster tuxumdon hujayralari). Ushbu hujayralar rekombinant molekula ishlab chiqarish uchun ishlatiladi.

Asosiy materiallar: CHO hujayralari (kattalashuvchi hujayra liniyasi), rekombinant plazmida (maqsadli genni saqlovchi), suyuq ozuqa muhiti: RPMI-1640 yoki DMEM, zardob: 10% fetal buzoq zardobi (FBS).

Reagentlar: Trypsin-EDTA (hujayralarni bo'lish uchun), Transfektsiya reagentlari: oddiy Lipofektamin 2000.

Metodik yondashuv

Hujayralarni tayyorlash

1. CHO hujayralari steril sharoitda ozuqa muhiti bilan birga CO₂ inkubatorida saqlangan.
2. Hujayralar 80% zichlikka yetgandan so'ng, trypsin yordamida ajratilib, yangi plastinkaga ko'chirildi.

Genetik materialni kiritish (transfektsiya)

1. Rekombinant DNK (2 µg) Lipofektamin 2000 reagentiga aralashtirilib, 5 daqiqa davomida xona haroratida saqlangan.
2. Tayyorlangan aralashma hujayralarga qo'shib, 4-6 soat davomida inkubatorida saqlangan.
3. Ozuqa muhiti almashtirilib, hujayralar yana 24-48 soat davomida inkubatorida ushlab turildi.

Rekombinant molekula sintezini kuzatish

1. Kuzatish uchun floresent mikroskop ishlatildi (agar GFP marker ishlatilgan bo'lsa).
2. Agar floresent marker ishlatilmagan bo'lsa, hosil bo'lgan oqsilni ozuqa suyuqligidan yig'ib, oddiy ELISA to'plamlari yordamida tekshirildi.

Natijalar

Hujayra liniyasining holati . CHO hujayralari muvaffaqiyatli o'stirilib, 24 soat ichida 80% zichlikka yetdi. Hujayralarning morfologiyasi optik mikroskop yordamida kuzatildi va hujayralar sog'lom bo'lishi tasdiqlandi.

Transfektsiyaning samaradorligi . Rekombinant DNK Lipofektamin 2000 yordamida muvaffaqiyatli kiritildi.

Floresent kuzatuv: GFP genini o'z ichiga olgan plazmidni ishlatgan holda, 48 soatdan keyin floresent mikroskop yordamida hujayralarning 60-70% i yashil nur

taratgani kuzatildi. Nazorat guruhida (transfektsiyasiz hujayralar): Hech qanday florentsent signal kuzatilmagan.

Рекombinant molekula sintezi

1. Transfektsiyadan keyingi ozuqa muhitidan yig'ilgan suyuqlikda sintez qilingan oqsillarni ELISA yordamida aniqlash:

Рекombinant oqsil konsentratsiyasi 20-30 $\mu\text{g/ml}$ ni tashkil etdi.

Nazorat guruhida (rekombinant DNK kiritilmagan hujayralar): oqsil sintezi aniqlanmadi.

2. Oddiy SDS-PAGE usuli yordamida oqsillarni ajratish natijasida maqsadli rekombinant oqsil (taxminiy 40 kDa molekulyar og'irlikka ega) aniqlandi.

Statistika

Transfektsiya samaradorligi va oqsil sintezining natijalari ikki marta takrorlandi. O'rtacha ko'rsatkich $\pm$ standart xatolik (SD) quyidagicha:

Transfektsiya samaradorligi: 65% $\pm$ 5%.

Oqsil konsentratsiyasi: 25 $\mu\text{g/ml}$ $\pm$ 3 $\mu\text{g/ml}$.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. Molecular Biology of the Cell. 6-nashr. Garland Science, 2014. (392-410)
2. Brown, T. A. Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction. 8-nashr. Wiley-Blackwell, 2020. (208-224)
3. Sambrook, J., & Russell, D. W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3-nashr. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. (15.1-15.45)
4. Freshney, R. I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 7-nashr. Wiley-Blackwell, 2016. (95-110)
5. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A., & Scott, M. P. Molecular Cell Biology. 8-nashr. W. H. Freeman, 2016. (378-400)
6. Griffiths, A. J. F., Wessler, S. R., Carroll, S. B., & Doebley, J. Introduction to Genetic Analysis. 12-nashr. W. H. Freeman, 2020. (305-325)
7. Nature Protocols Recombinant DNA Technology in Mammalian Cells. Nature Publishing Group, 2021. (5-30)
8. Wurm, F. M. "Production of Recombinant Protein Therapeutics in Cultivated Mammalian Cells." Nature Biotechnology, 2004. (1393-1398)