

HAYVONLAR HUYAYRALARIDA REKOMBINANT GFP OQSILINING SINTEZI VA EKSPRESSIYASI

AnDU Genetika va Biotexnologiya Kafedrası O'qituvchi

Muxamadjonov Sardorbek Baxtiyorjon o'g'li

(s.baxtiyorovich97@gmail.com)

AnDU Genetika va Biotexnologiya Kafedrası O'qituvchi

Abduvaxopova Mahliyohon Azizillo qizi

(abduvaxopovamahliyo@gmail.com)

Andijon Davlat Universiteti Talabasi

Xakimova Sevara Umarali qizi

Annotatsiya. Ushbu maqolada hayvon gen muhandisligi tushunchalari, kelib chiqishi, dolzarbligi va ahamiyati, hayvon gen muhandisligining metod va texnologiyalari, asosiy yo'nalishlari va qo'llanilish sohalari yoritib berilgan.

Kalit so'zlar: transgen hayvon, klonlashtirish, mikroineksiya, Dolly, CRISPR-Cas9, yadro transferi

СИНТЕЗ И ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО Б ЕЛКА GFP В КЛЕТКАХ ЖИВОТНЫХ

Аннотация. В статье описаны понятия, происхождение, актуальность и значение генной инженерии животных, методы и технологии генной инженерии животных, основные направления и области применения.

Ключевые слова: трансгенное животное, клонирование, микроинъекция, Долли, CRISPR-Cas9, ядерный перенос.

SYNTHESIS AND EXPRESSION OF RECOMBINANT GFP PROTEIN IN ANIMAL CELLS

Abstract. This article describes the concepts, origin, relevance and importance of animal genetic engineering, methods and technologies of animal genetic engineering, main directions and fields of application.

Key words: transgenic animal, cloning, microinjection, Dolly, CRISPR-Cas9, nuclear transfer.

Hayvon gen muhandisligi genetik texnologiyalar yordamida hayvonlarning irsiy xususiyatlarini o'zgartirish va yaxshilashga yo'naltirilgan ilmiy yo'nalishdir. Bu soha molekulyar biologiya, genetik muhandislik va biotexnologiya bilan uzviy bog'liqdir. Gen muhandisligi, avvalo, hayvonlarning genetik kodiga tashqi genlarni kiritish orqali

yangi xususiyatlarni shakllantirishni ko'zda tutadi. Hayvonlarning genetik manipulyatsiyasi orqali inson ehtiyojlariga moslashtirilgan yangi hayvon turlarini yaratish imkoni tug'ildi. Hayvon gen muhandisligi zamonaviy jamiyat uchun katta iqtisodiy va ijtimoiy ahamiyatga ega bo'lib, sog'liqni saqlash, oziq-ovqat xavfsizligi va ekologik muammolarni hal qilishda muhim rol o'ynaydi. Shu sababli, sohaning rivojlanishi nafaqat ilmiy, balki iqtisodiy va ijtimoiy rivojlanishga ham xizmat qiladi [1].

Hayvon gen muhandisligining tarixiy rivojlanishi. Hayvon gen muhandisligining ilk bosqichlari XX asrning o'rtalarida boshlangan. Dastlab genetik manipulyatsiya usullari bakteriyalar va zamburug'larda sinovdan o'tkazilgan bo'lsa-da, keyinchalik bu texnologiyalar yuqori tashkilotli organizmlarga ham tatbiq etila boshlandi. 1980-yillarda transgen sichqonlar ustida muvaffaqiyatli tadqiqotlar o'tkazildi va bu usul hayvon gen muhandisligining yangi bosqichiga yo'l ochdi. Eng muhim yutuqlardan biri 1996-yilda klonlangan Dolly qo'ying yaratilishi bo'ldi. Bu yutuq gen muhandisligida somatik hujayra yadro transferi texnologiyasining samaradorligini isbotladi. 2000-yillarda CRISPR-Cas9 tizimi kashf qilinishi bilan gen tahrirlash aniq va tezkor bo'lib qoldi. Bugungi kunda gen muhandisligi hayvonlarning genetik kasalliklarini o'rganish va davolashda ham muhim o'rin tutadi. Shu bilan birga, u ko'plab yangi biotexnologik mahsulotlarni ishlab chiqishga imkon yaratmoqda [2].

Hayvon gen muhandisligining metodlari va texnologiyalari. Hayvon gen muhandisligi turli metod va texnologiyalarni o'z ichiga oladi, ular orasida gen kiritish, gen tahrirlash va klonlashtirish usullari yetakchi o'rinni egallaydi. Mikroin'yeksiya – bu usulda DNK molekulasi hayvon hujayrasiga bevosita mikropipetka yordamida kiritiladi. Elektroporatsiya texnologiyasi esa hujayra membranasini vaqtincha o'tkazuvchan qilish orqali DNK molekulasining hujayra ichiga kirishini ta'minlaydi. [2].

Gen muhandisligining asosiy yo'nalishlari. Hayvon gen muhandisligi bir nechta asosiy yo'nalishlarni o'z ichiga oladi. Birinchi navbatda, genetik kasalliklarni davolash yo'nalishi muhim ahamiyatga ega. Hayvonlarda irsiy kasalliklarning genetik asoslarini o'rganish va ularni davolash texnologiyalari rivojlanmoqda. Ikkinchi yo'nalish – biomeditsina va farmatsevtika sohasidagi yutuqlar. Gen muhandisligi yordamida hayvonlar organizmidan bioreaktor sifatida foydalanish orqali inson uchun muhim bo'lgan oqsillar va vaksinalarni ishlab chiqarish yo'lga qo'yilmoqda. Uchinchisi, hayvonlarning genetik yaxshilanishi – bu yo'nalishda chorva mollari va boshqa qishloq xo'jaligi hayvonlarining mahsuldorligi va chidamliligini oshirish ustida ishlar olib borilmoqda [3].

Hayvon gen muhandisligining amaliy tatbiqlari. Hayvon gen muhandisligi ko'plab sohalarda muvaffaqiyatli qo'llanilmoqda. Sog'liqni saqlash sohasida genetik

jihtadan o'zgartirilgan hayvonlar inson kasalliklarini tadqiq qilishda model sifatida keng qo'llaniladi. Misol uchun, genetik jihtadan modifikatsiya qilingan sichqonlar saraton, Oziq-ovqat xavfsizligi sohasida esa transgen hayvonlar orqali ekologik toza va sifatli oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish yo'lga qo'yilmoqda. Ushbu tatbiqlar hayvon gen muhandisligi sohasining global miqyosda iqtisodiy, ekologik va ijtimoiy rivojlanishga ta'sir ko'rsatishidan dalolat beradi [4].

Genetik o'zgartirishlarning hayvonlarga ta'siri va etik muammolar Hayvon gen muhandisligi texnologiyalarining rivojlanishi bilan bir qatorda, ularning ta'siri va etik masalalari ham dolzarb mavzulardan biriga aylandi. Genetik manipulyatsiya natijasida hayvonlar organizmida kutilmagan o'zgarishlar yuzaga kelishi mumkin. Masalan, genetik jihtadan o'zgartirilgan hayvonlar organizmida immun tizimining zaiflashishi yoki yangi kasalliklarning paydo bo'lishi kuzatilishi mumkin. Etik masalalar esa, asosan, hayvonlarning huquqlari, ularning farovonligi va genetik manipulyatsiya yashash jarayonlarida og'riq yoki azobdan himoya qilish bilan bog'liq.[5].

Hayvon gen muhandisligining kelajakdagi rivojlanish istiqbollari. Hayvon gen muhandisligi sohasida kelajakda yangi yutuqlarga erishish uchun keng imkoniyatlar mavjud [6].

Hayvon gen muhandisligi sohasidagi xalqaro me'yorlar va qonunchilik. Hayvon gen muhandisligi faoliyati xalqaro me'yorlar va milliy qonunchilik bilan tartibga solinadi. [7].

Qishloq xo'jaligida mahsuldorlikni oshirish orqali oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlashda ijobiy o'zgarishlar kutilmoqda. Ijtimoiy nuqtai nazardan, gen muhandisligi yangi ish o'rinlari yaratib, iqtisodiy o'sishga hissa qo'shmoqda. Shu bilan birga, jamiyatda ushbu texnologiyalar bo'yicha turli munozaralar davom etmoqda, chunki genetik manipulyatsiyaning uzoq muddatli ta'siri hali to'liq o'rganilmagan. Shu sababli, jamiyatning gen muhandisligi sohasidagi bilimlarini oshirish va ularning xavfsizligi haqida ochiq muloqotlar tashkil qilish muhimdir [8].

Material va metodika

Tadqiqot obyekti

- Hujayra turi: CHO (Chinese Hamster Ovary) hujayralari.
- Gen: Yashil florensant oqsil (GFP) genini o'z ichiga olgan plazmid DNK.

Hujayra madaniyatini o'stirish uchun materiallar:

- Dulbecco modifikatsiyalangan Eagle's medium (DMEM).
- Fetal buzoq zardobi (FBS).
- Penitsillin-streptomitsin (antibiotiklar).
- Lipofektamin 2000 (transfektsiya uchun).

Tahlillar uchun uskunalar:

- Florensant mikroskop.

- ELISA to'plami (oqsil miqdorini o'lchash uchun).
- SDS-PAGE (oqsil tahlili uchun).

Tadqiqot usuli

Hujayralarni o'stirish

CHO hujayralari DMEM muhitida 37°C va 5% CO₂ inkubatorida o'stirildi. Fetal buzoq zardobi (FBS) qo'shildi va antibiotiklar yordamida kontaminatsiya oldi. Hujayralar 24 soat davomida inkubatsiya qilindi.

Gen kiritish (Transfektsiya)

Lipofektamin 2000 yordamida GFP genini o'z ichiga olgan plazmidni hujayralarga kiritish.

24 soat davomida hujayralar inkubatsiya qilindi. Gen kiritilgandan keyin hujayralar 48 soat davomida inkubatsiya qilindi.

Tahlil usullari

1. Florescent mikroskopiya. GFP genining ekspressiyasini tasdiqlash uchun florescent mikroskopdan foydalanildi. Yashil nur taratadigan hujayralar tasvirlandi.

2. Oqsil miqdorini aniqlash (ELISA). Hujayralarning supernatanti yig'ildi va ELISA yordamida GFP oqsili miqdori o'lchandi.

3. SDS-PAGE. GFP oqsili SDS-PAGE yordamida ajratildi va uni molekulyar og'irligi bo'yicha tahlil qilish.

Natijalar

Tadqiqot jarayonida quyidagi asosiy natijalar olish mumkin bo'ldi:

GFP genining kiritilishi

Florescent mikroskopiya yordamida CHO hujayralarida GFP genining muvaffaqiyatli ekspressiyasi tasdiqlandi. Hujayralar yashil rangda porladi, bu esa GFP oqsilining muvaffaqiyatli ishlab chiqarilishini ko'rsatdi. Bunday ranglanish 48 soatlik inkubatsiyadan so'ng kuzatildi.

Oqsil miqdori (ELISA)

ELISA testidan olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, GFP oqsili miqdori yuqori darajada bo'lib, bu genetik modifikatsiyaning muvaffaqiyatini tasdiqlaydi. Hujayralarning supernatantida GFP oqsili miqdori ortdi va bu yuqori darajadagi ekspressiyani bildiradi.

Oqsil tahlili (SDS-PAGE)

SDS-PAGE tahlili davomida GFP oqsili 27 kDa bo'yicha ajratildi, bu uning molekulyar og'irligiga mos keladi. Olingan oqsil markazidagi yoritilgan banda GFP ning muvaffaqiyatli sintezini ko'rsatadi.

XULOSA:

Tadqiqot davomida gfp genining cho hujayralariga kiritilishi va uning muvaffaqiyatli ekspressiyasi ko'rsatilgan. Bunday metodika yordamida rekombinant

oqsillarni ishlab chiqarish jarayoni soddalashtirilgan va samarali bo'ldi. Bu usul hayvonlar gen muhandisligida qo'llanilishi mumkin bo'lgan oddiy va samarali bir metod sifatida foydalanish uchun yaroqli ekanligi aniqlangan.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2017). Biology (11th ed.). Pearson.
2. Brown, T. A. (2018). Genomes (4th ed.). Garland Science.
3. BMT Biologik Xilma-xillik Konvensiyasi va Kartaxena Protokoli hujjatlari.
4. Lee, S. H., & Park, J. W. (2020). "Genetic Engineering in Animal Biotechnology". Journal of Biotechnology.
5. CRISPR-Cas9 texnologiyasi bo'yicha xalqaro ilmiy maqolalar to'plami.
6. Evropa Ittifoqi va AQSh qonunchiligi bo'yicha gen muhandisligi reglamentlari.
7. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). Molecular Biology of the Cell (6th ed.). Garland Science.
8. Lander, E. S. (2021). "The Future of Genetic Engineering". Nature Biotechnology.