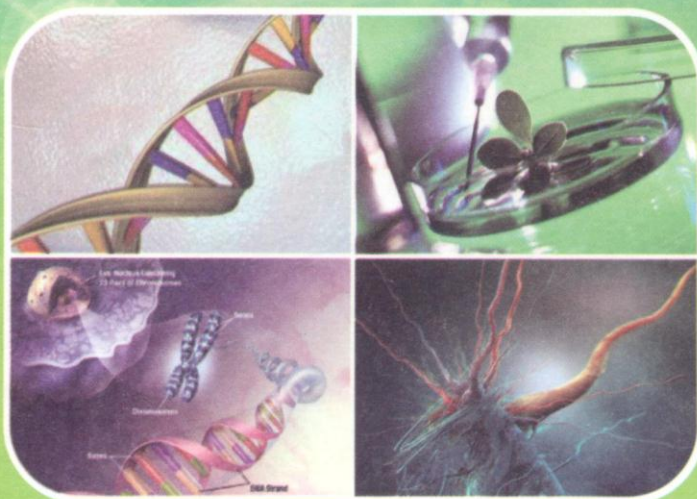


X. M. KOMILOV, M.M. RAHIMOV,
D.Yu. ODILBEKOVA

BIOTEXNOLOGIYA ASOSLARI



Кириш

Кўпчилик олимларнинг фикрича ХХИ аср биотехнология асри бўлади. Антибиотиклар пайдо бўлиши даврини биотехнологиянинг алоҳида фан сифатида шаклланиш даври деб ҳисоблаш мумкин. ХХ асрнинг 50-йилларида озуқа мухитлари яратилиб, уларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилди, 60-йилларда вакциналар, 70-йилларда қатор янги технологик жараёнлар ва уларни амалга оширадиган жихозлар ва қурилмалар лойиҳалари яратилди.. Биотехнология – бу биологик системалар иштирокида (биологик объектлар, биологик усуллар ва биотехнологик жараёнлар) техника ва технологиядаги муаммоларни ечиш жараёнидир.

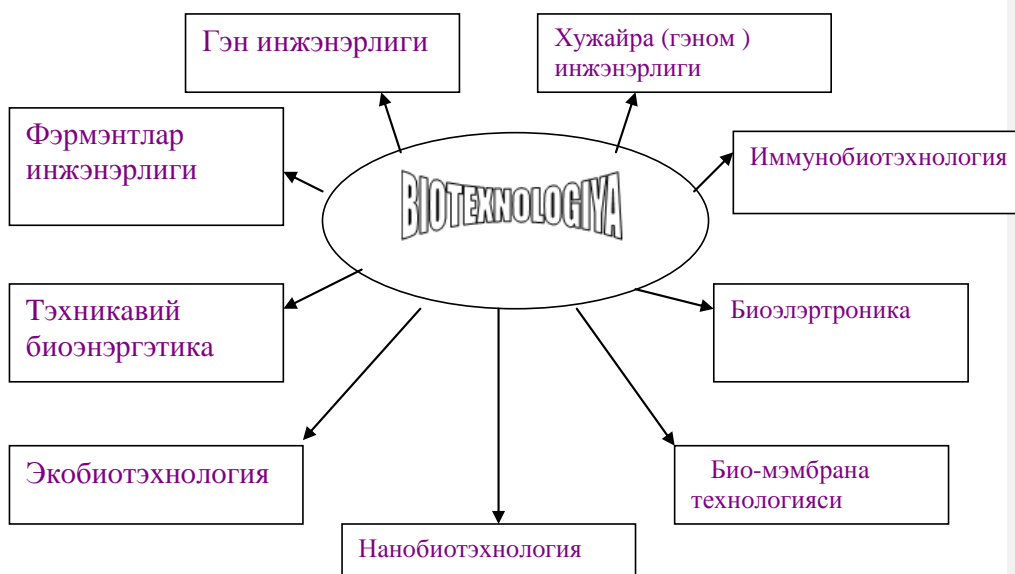
Биологик системалар табиати турлича бўлиши мумкин. Биологик системалар сифатида турли организмлар ва уларнинг таркибидаги оқсиллар, ферментлар, генлар ва хилма хил метаболитлар хизмат қилиши мумкин.

Биотехнология – бу ген инжэнэрлиги, хужайра биологияси, ферментлар ва оқсиллар инжэнэрлиги, молекуляр биология, генетика, микробиология, биокимё ва бошқа қатор фанларнинг ютуқларига асосланган фан ҳисобланади. Асосий ҳозирги замон биотехнологияни йўналишлари куйидаги схемада кўрсатилган.

Албатта бу схема ҳозирги кундаги ҳолатни ифода қилади. Келажакда яна бир қатор йўналишлар шаклланиши мумкин.

Биотехнологик усул билан ген маҳандислик маҳсулотлари (интерферонлар, интер-лейкинлар, инсулин, гепатитга қарши вакциналар ва х.к.), ферментлар, диагности-кумлар, витаминлар, антибиотиклар ва бошқалар ишлаб чиқарилмоқда.

Ҳозирги замон биотехнологиясининг асосий йўналишлари



Биотехнология соҳасидаги ишланмаларнинг энг катта қисми ривожланган мамлакатларга тўғри келади. Бутун дунёдаги 3000 га яқин биотехнологик компанияларнинг 1500 дан кўпроғи фақат АҚШ да фаолият кўрсатмоқда.

Европада мавжуд 600 дан ортиқ биотехнологик компаниялар ишлаб чиқариш кўлами муттасил ортиб бормоқда. Катта аҳамиятни Япония ҳукумати биотехнологияга бағ'ишлайди – бу соҳани энг муҳим йўналиш деб эълон қилган. Бошқа давлатларда ҳам молекуляр-биология, ген инженерия, генотерапия, дори воситалар биотехнологияси ва бошқа бир қатор йўналишлардаги лабораториялар мавжуд бўлиб, улар энг замонавий ускуналар билан жиҳозланган.

Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланиш тарихи

Биотехнология фани Ўзбекистон учун энг кенжа фанлардан бўлиб, унинг тарихи узокқа бормайди (қадимий биотехнологик жараёнлар: нон ёпиш, қатик тайёрлаш ва х.к. бундан истисно). Бу фан асосан Ўзбекистон Фанлар Академиясининг микробиология институтида, генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институтида ҳамда Республика Кимё бирлашмасига қарашли бир қатор заводларда (Янгийўл биокимё заводи, Андижон гидролиз заводи, Кўқон спирт заводи) ривожланиб келмоқда.

Биотехнология ихтисослиги бўйича биринчи ўзбек академиги А.Г.Холмуродов томонидан (1939-1996) фузариум авлодига мансуб замбурутлардан НАД-коферменти ва витаминлар комплекси (Б гуруҳига кирувчи витаминлар, витамин ПП, Қ10 ва х.к.) тайёрлаш технологиясини яратилган.

Академик А.А. Абдукаримўв шогирдлари билан ген инженерия соҳасида катта изланишлар олиб борапти. Биология фанлари доктори М.М.Рахимов ферментлар инжэнэрлиги соҳасида энг йирик мутахассис деб ҳисобланади. Катта изланишларни академик Ш.И.Салихов, биология фанлари доктори Ш.С. Азимова, биология фанлари доктори К.Д. Давроновлар амалга ошираётдилар.

Биология фанлари доктори. Ж.Ташпулатов сомон ва г'ўзапояни парчалашда "триходерма харзианум" деб аталмиш замбурут ферментларидан фойдаланиш мумкинлигини илмий асослаб берди ва технологияни амалиётга қўллаш кэрак эканлигини таклиф этди ва ўз мулоҳазаларини матбуотда чоп этди.

Биотехнология фани ўқув жараёнида бир қатор олий таълим юртларида ўқитилади. Булар ичида Ўзбекистон Миллий Университети, Кимё технология институти, Тошкент фармацевтика институти, Аграр Университети, жумладан, маълум билимлар Ўзбекистон тиббиёт академиясида ҳам ўзлаштирилади. Ўқиш жараёнлари қаторида кафедралар

ва лабораторияларда бакалавр, магистрлардан ташқари фан номзодлари ва фан докторлари тайёрланаяпти.

Бир қатор ўзбек олимлари М.Э.Мавлоний, Т.Сиатов, Ж.Мусаев, М.Муродов, Т.Г.Г`уломова, З.Р.Ахмедова, Х.Т.Хасанов, А.Х.Вахабов, Р.Шоякубов, Х.Каланов, З.Ф.Исмоилов, И.Ж.Жуманиёзов ва бошқалар мамлакатимизда биотехнология соҳасида чуқур илмий ва амалий ишлар олиб бормоқдалар.

Юқорида зикр этилган уч корхонада (Андижон гидролиз заводи, Қўқон спирт заводи, Янгийўл биокимё заводларида) спирт олиш учун зарур бўлган амилаза ферментини ишлаб чиқариш бўйича чуқур изланишлар олиб борилмоқда.

Бу каби биотехнологик ишлаб чиқариш назарияларини яратиш, уни амалиётга тадбиқ этиш ишлари юзасидан ЎзФА Микробиология институтэ, Тошкент Давлат Аграр Университети қишлоқ хўжалик биотехнологияси кафедраси ҳамда ўсимликлар биотехнологияси лабораторияси олимлари фаол илмий изланишлар олиб бормоқдалар.

Мамлакатимиз равнақи, унинг иқтисодини янада ошириш мақсадида энг аввало қуйидаги биопрепаратларни ишлаб чиқаришни йўлга қўймоқ зарур:

- Озиқ-овқат ва чорвачилик учун оксил моддалари;
- Аминокислоталар;
- Органик кислоталар (лимон кислотаси ва уни ўрнини босадиганлар);
- Антибиотиклар (биринчи навбатда 4 - 5- авлодга мансуб антибиотиклар);
- Витаминлар;
- Ўсимликларни химоя қилиш воситалари ишлаб чиқариш;
- Ташхис учун янги аналитик биотехнологияга асосланган усуллар;
- Биогенлар, ферментатив электродлар ва хоказо.

Олимларимизни, қолаверса бугунги кунда таълим олаётган талабаларнинг олдиларига қўйиладиган кўп сонли масалаларни энг долзарблари юқоридагилардан иборат.

1-БОБ. БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАН СИФАТИДА

1.1. Биотехнологиянинг фанлар орасида тутган ўрни

Биотехнология – бу биологик жараёнларни техника ва саноат ишлаб чиқаришда фойдаланиш ҳақидаги фан. Биологик жараёнларга, ҳар хил табиатли (микроб, ўсимлик ёки хайвон) биологик объектлардан фойдаланганлар киради, масалан, тиббий, озиқ-овқат ва бошқа мақсадлар

учун бир қатор махсулотларни ишлаб чиқариш – антибиотиклар вакцина, ферментлар ва озуқавий оксиллар, полисахаридлар, гормонлар, гликозидлар, аминокислоталар, алкалоидлар, биогаз, ўғитлар ва бошқалар.

Биотехнологларни Европа Федерациясининг (ЕФБ, 1984) кўрсатмасига асосланиб биотехнология микроорганизмларнинг, тўқималарнинг хужайраси ва уларнинг қисмларининг хусусиятларини саноатда амалга ошириш мақсадида биокимия, микробиология ва инженерлик илмларни биргаликда фойдаланишга асосланади. Биотехнология бевосита умумий биология, микробиология, ботаника, зоология, анатомия, физиология, биологис кимё, органик кимё, физик кимё, коллоид кимё, иммунология, биоинженерия, электроника, дори турлари технологияси, генетика ва бошқа фанлар билан боғлиқ.

XX асрнинг иккинчи ярмини - “ таъминот-техник инқилоб замони” деб бежиз атамаймиз. Илм бугунги кунда инсон ҳаётида катта аҳамиятга эга, ҳар бир масалан,и фанга ёндашган ҳолда ечиш давр ва замон талаби бўлиб қолди.

Инсон жамияти ривожланиши ва шаклланиши билан биргаликда илм шаклланди ва ривожланди. Бу бевосита биотехнологияга ҳам тегишли. Илмнинг пайдо бўлиши, тикланиши ва ривожланишини шартли тўрт даврга бўлиш мумкин:

1. эмпирик;
2. этиологис;
3. биотехник;
4. генотехник.

Эмпирик - (грек сўздан эмпирикос-тажрибали) ёки тарихгача давр, энг узун, ўзига 8000 йилни жамлайди, уларнинг 6000 йили – эрамиздан олдин ва 2000 йили бизнинг эрага тегишли. Шу вақтлардаги қадимги халқлар, ҳозирги вақтдан биотехнологик жараёнларга кирадиган нон, пиво ва бошқа озиқ-овқатларни тайёрлаш усулларини ишлатган. Овчилик инкирози озиқ-овқат тайёрлашда янги бурилиш ясади. Бу инқилоб 8000 йил олдин бошланиб дехқончилик техникасининг пайдо бўлишига олиб келди. (неолит ва бронза асри). Месопотамия, Миср, Хиндистон, Хитойда маданият шакллана бошлади. Месопотамия халқи – шумерлар шу вақтда ривожланган маданиятни яратишди. Улар ачиган ҳамирдан нон пиширарди, пиво тайёрлашга эга эдилар. Қадимда, уй шароитида бир неча минг йилдан бери сирка тайёрланган, лекин Пастер ишлари ёрдамида олам 1868 йил бижғиш жараёнига микроблар сабаблиги аниқланди, винонинг биринчи дистилляцияси ХИИ асрда амалга оширилди. ХВИ асрда г`алла ўсимликларидан ароқ олинди, шампан виноси ичимлиги ХВИИИ асрдан бери маълум, лекин тоза этанол биринчи марта ХИВ асрда испан Райлунд Люллий томонидан винони сўндирилмаган оҳак ёрдамида хайдалганда олинди.

Қадимда ўсимлик ва ҳайвонлардан олинган озиқ-овқат махсулотлари фақат озиқ учун ишлатилмаган, даволаниш мақсадида ҳам ишлатилган. Масалан, Ниневия шаҳрида эрамиздан аввалги Влл-Вллл асрда шох кутубхонаси бўлган, унда 30000 ёзилган жадвал бўлиб ундан 33тасида ўсимлик воситалари ва уларнинг рецептураси келтирилган ва шаҳарнинг ўзи шифобахш ўсимликларга бой бўлган. Узоқ вақт маълумотларнинг

кўпайиши микология соҳасида ҳам бўлди. (грек сўзидан тйкэс – замбуруг`). Замбуруг`лар хақидаги маълумотларни қадимги ёзмаларда топса бўлади, бироқ Луций Лициний Лукул (эрамиздан аввалги 105- 56 йиллар) шу даврлардаги бой, дабдабали зиёфат уюштириши билан таниқли бўлган, у замбуруг`лар ичида Аманита сэсарэан Л – Кэсарев замбуруг`ини ейишга маслахат берарди. И-ИВ асрда бизнинг эрамизгача замбуруг`лар хақида кизиқарли маълумотлар йиг`илди, маълумотларни Аристотел, Диоскорид, Плиний, Теофрастларнинг ишларида топса бўлади. Эрамизнинг кейинги асрларида микробиология-мустикал илм бўлиб, бунда Д.Персон ва Э.М.Фриз ишларининг ахамияти катта. Булар систематик микробиологиянинг боболари бўлиб ҳисобланади.

Қадимги халқлар хаётда микробиологик жараёнлардан фойдаланиб кэлинган, лекин микроблар хақида ҳеч нарса билмасди.

Этиологик – (грек сўзидан айтиа сабаб) даври биотехнологиянинг ривожланиш вақтини 3/1 қисмини ўз ичига олади (1856-1933). Бу давр Луи Пастер (1822-1895) тажрибалари билан бог`лик. Луи Пастер – илмий микробиология ва микробиологик соҳаларнинг (саноат, тиббий, кимёвий, санитар) асосчидир. Аналитик микробиология бевосита Луи Пастер молекуляр асимметрияни (стереоизомерия) очиши билан бог`лик. Пастер микробларнинг бижғиш табиатининг кислородсиз шароитда ҳам ўтишини исботлади, вакцинопрофилактика ва вакцинотерапиясини илмий асослади, стерилизация усулини таклиф қилди ва буни пастеризация деб номланди.

Л. Пастернинг шухрати унинг ўқувчилари ва ҳамкорларнинг номларини тўсиб қўймади, яни уларга Э.Дюкло, Э.Ру, Ш.Э.Шамберлан, Ж.А.Вилмен, И.И.Мечников, Р.Кох, Д.Листер, Ш.Китазато, Г.Т.Риккета, Д.И.Ивановский, А.Лаверан ва бошқалар улар қаторига киради. Л. Пастер билан бир вақтда Германияда сўнгра Францияда А.де Бери (1831-1888) – физиологик микологиянинг асосчиси фаолият кўрсатган. А. де Бери замбуруг`ларнинг ривожланишини ва тарихини аниқлаб ҳозирги вақтдаги замонавий микро ва макромицетларнинг асосида ётган замбуруг`ларнинг классификациясини яратди.

Де Бэри микофитопатологея – ўсимликларнинг замбуруг`ли касалликлари хақидаги илмнинг асосчиси, унинг бошчилигида бир қатор олимлар йэтишиб чиққан: Ф.М.Балфур, И.В.Баранецский, М.Бейеринк, О.Брефелд, М.С.Воронин, А.Кох, А.С.Фаминицин ва бошқалар. Биотехнологияда озикли биобъектларни ўстириш учун озикли мухит катта ахамиятга эга. Л.Пастер биринчи суёқ озик мухитни 1858 йил тайёрлаган, 1864 йили О.Брефелд замбуруг`ларни желатин мухитида ўстиришни тавсия этди. 1870 йил Ж.Ролен ипли замбуруг`ларни ўстириш учун суёқ мухитлар хақида маълумот берди. 1876 йили Р.Кох қуйдирги бациласини ўлган молнинг кўзидаги бир томчи сувли суёқликда ўстира олди. Ҳозирги вақтда биообъект ўстириш учун янги мураккаб мухитлар тавсия қилганимизда бу олимларнинг натижаларига асосланамиз.

Д.И. Ивановский (1864-1920) 1892 йил тамақидаги вирусни аниқлади. Кейинчалик бошқа вирусларнинг аниқланиши янги таълимот –

вирусологиянинг пайдо бўлишига олиб келди. Масалан, Ф.Лефор ва П.Фрошлар 1898 йил оқ чим-вирусини, Д.Кэррол 1901 йил сарик иситманинг вирусини, Ф.Туэрт 1915 йили Ф.Эрелл 1917 йил бактерия вирусини (бактериофаг) аниқлади. Вирусологияга катта хисса қўшган олимлар – бу Л.А.Зилбер, А.А.Смородинцев, М.П.Чумаков, А.Борел, К.Левадит, К.Ландштейнер, В.Стэнли, П.Лейдлоу, П.Руа, П.Ф.Эндерс ва бошқалар.

Этиологик даври микробларнинг индивидуаллигини ва уларнинг тоза мухитларда ўстириб олиш билан ахамиятли. Бу даврда прессланган озик замбуруг`лари ишлаб чиқарилди ва бир неча алмашилишнинг махсулотлари – ацетон, бутанол, лимон ва сут кислоталар олинди. Францияда туриб қолган сувларни микробиологик тозалаш биоқурилмасини ишлатишга киришди. Хар тарафлама морфологик – хусусиятлар ва алмашилиш махсулотларни ўрганиш учун асосан замбуруг`ларда уларнинг олдинги келтирилган ўстириш усуллари самараси кам бўлди. 1933 йил А.Клюйвер ва Л.Х.Тс.Перкин “Мог`ор (пўпанак) замбуруг`ларидаги модаларнинг алмашилиш усуллари ўрганиш” номли ишини нашр этти. Унда ўрганилган замбуруг`ларни ўстиришнинг асосий техник усуллари, натижаларини баҳолаш ҳақида маълумотлар келтирилган.

Биотехник давр учинчи даврга киради. Стерил шароитда жараёнларни ўтказишга оид катта масштаби герметик мослама биотехнологияга киритилди. Асосан саноат биотехнологиясининг ривожланиши антибиотик ишлаб чиқариш вақтига тегишли.

Биологик, технологик соҳасидаги ривожланган нарсалар биотехнологияда ҳам ўрин олди. Шуни айтиш керакки 1869 йили Ф.Мишер лейкоцитдан “нуклеин” ДНКни олди, В.Оствалд 1893 йили ферментларнинг каталитик функциясини очди, Т.Леб 1897 йили қурилган тўқиманинг ва қон хужайраларининг организмдан ташқари яшаш қобилиятини аниқлади. Г.Хаберланд 1902 йили ўсимликнинг хар хил тўқималарини оддий озик эритмаларда ўстириш мумкинлигини топди. С.Нитберг 1912 йили ачиш процессининг (жараёнларнинг) механизмининг очди, Л.Михаэлис ва М.Л.Ментен 1913 йили ферментли реакциянинг кинетикасини ишлаб чиқди. А.Каррел биринчи марта тўқиманинг хужайрасини хайвон ва инсондаги ўсишини тезлаштириш учун эмбрионнинг экстрактини ишлатди, Г.А.Надсон ва Г.С.Филипов 1925 йили замбуруг`ларга рентген нурларининг мутаген таъсирини аниқлади, 1937 йили Г.Кребс уч карбонли кислотанинг циклини очди, 1960 йили Ж.Барски ва бошқалар сичқонни ўсимта хужайрасида соматик гибридларни борлигини аниқлади. 40 йил давомида учинчи даврда керакли асбобларни ишлаб чиқаришни амалиётга киритилди ва улардан энг ахамиятлиси бу биореакторлардир.

Генотехник (грек сўзидан гэнэсис – келиб чиқиш, пайдо бўлиш, туг`илиш) даври 1972 йилдан бошланди. Шу йили П.Берг ходимлари билан АҚШда биринчи рекомбинант молекула ДНКни топди. Лекин айтиб ўтиш керакки 1969 йили Дж. Бекуист ходимлари билан ичак таёқчасидан кимёвий тоза холда лактоз генини олди.

Албатта Ф.Крик ва Дж.Уоцонларнинг (1951–1953) асосий иши ДНК тузулишини ўргангани бўлиб, уларсиз ҳозирги вақтда биотехнология соҳаси бу қадар ривожланмаган бўларди. ДНК механизми ва ДНК олиниши, специфик ферментларни ўрганиш қабилар ҳозирги вақтда ген-инжэнэрлигининг ривожланишининг асоси бўлиб ҳисобланади.

1982 йили инсон инсулини сотувга чиқди, бунда ичак таёқчаси ишлаб чиқарилиб, унга инсулин гармони ҳақида сохта генетик маълумот киритилган.

Шу усул билан ген-инжэнэрлиги воситалари олинди: интерферон, интерлейкен–2, соматормедин С ва инсоннинг соматотроп гармони. Хар бир организмдаги насл аппаратининг тузулишини билган холда нуклеин кислоталари, хромонлар ва хужайраларни бошқарса бўлади.

Генотехник даври кучли жараёнларнинг фундаментал асосига қаратилган аниқлашлар ишлаб чиқиш, суперпродуцентларни олиш, кучли генетик маълумотга эга бўлган продуцентлар олиш, экологик тоза технологиялар киритиш, автоматлаштириш ва компютерлаш, саноатда хом ашёни максимал фойдаланиб ва энергияни кам сарфлайдиган тежамкор асбоблар ишлаб чиқариш ва шу қабиларга ҳосдир.

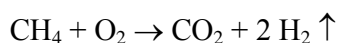
Охирги 10-15 йиллар ичида биотехнология кучли ривожланди ва тиббий биотехнология, иммунобиотехнология (лотинча сўздан иммунис – сезмайдиган), биогеотехнология (грек сўздан гэо – ер), энзимологияларга (грек сўздан эн – унда, зймэ – ачитиш, ивитиш) асос солинди.

Тиббий аҳамиятга эга биотехнологияга биообъект орқали тиббий моддалар ва воситалар олиш билан тугайдиган саноат жараёнлари қиради, уларга– антибиотиклар, витаминлар, коферменлар, ферментлар ва бошқалар.

Иммунобиотехнология қоннинг иммуноглобулинини, иммуномодуляторни ва бошқаларни ишлаб чиқаришни ўз ичига олади.

Биогеотехнология – бу олдин геологик микробиология бўлиб номланган фан. Микроорганизмлар ёрдамида фойдали ер бойликларини олиш, масалан, рангли металлар, нефт олишдан иборат. Ҳозирги вақтда биотехнологик жараёнларнинг ҳаммаси технологик жараён эмас эканлигини айтиб ўтиш керак.

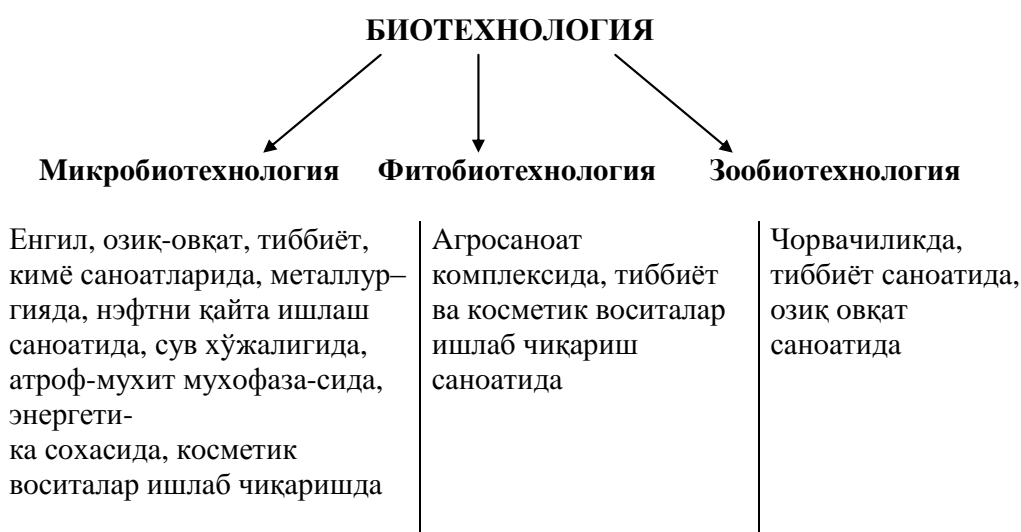
Одатда биотехнологик жараён натижасида фойдали маҳсулот (амалиётда ишлатиладиган) олинади. Масалан, метаннинг микроорганизмлар ёрдамида оксидланишида метаннинг концентрациясини хавфсизлик даражасига туширишдан иборат. Лекин бу реакцияда ҳам амалиётда ишлатиладиган маҳсулотлар чиқади.



Энзимология инжэнэрлиги– яқка холда ёки тирик хужайралар таркибида ферментларнинг каталитик функциясини фойдали маҳсулот олиш учун фойдаланадиган биотехнологиянинг соҳасларидан биридир. Бунда биообъект сифатида–фермент (ёки ферментлар комплекси) ишлатилади. Амалиётда одатда иммобилланган ферментлардан

фойдаланилади, иммобилланиш ёрдамида ферментнинг кучи барқарорланади ва узайтирилади. Баъзан энзимология инжэнэрлиги биотехнологияга ўхшатилади, чунки хамма реакциялар хужайраларда ферментлар ёрдамида катализланади.

Адабиётларда биотехнологик жараёнларнинг бошқа номларини учратиш мумкин, масалан, “Хайвон хужайрасининг биотехнологияси”, “Ферментация ва биоинжэнэрлик”, “Саноат микробиологияси”, “Қишлоқ хўжалик биотехнологияси”, “Биокимёвий инжэнэрлик” ва бошқалар. Ўсимлик ва хайвон турларининг биотехнологияси хақида кўп маълумотларни айтиш мумкин.



Шунинг учун биотехнологияни микробли, ўсимлик ёки фитобиотехнологияга, хайвонот ёки зообиотехнологияга, инсон хужайрасига оид жараёнлар кирадиган гуруҳларга бўлиш қулай бўларди.

Келтирилган схемадан кўриниб турибдики, кўп жараёнлар микроб биотехнологиясига тегишли. Кўпчилик микроорганизмлар ўсимлик ва хайвон объектларига қараганда кўпайиш тезлиги, ўзгариб турувчи яшаш муҳитига чидамли ва тез ўрганувчи кўрсаткичлари билан кўп афзалликларга эга.

Қандай асосий мақсад ва масалалар биотехнологлар олдида турибди?

- хужайрада алмашиш йўллари фаоллаш ва ёрдам бериб, бунинг ёрдамида ўстирилаётган организмда бошқа реакцияларни камайтириб, керакли маҳсулотларни йиг`иш.
- хужайрани ва унинг таркибидаги моддаларни мураккаб молекулаларни ўзгартириш учун олиш.
- рДНК – биотехнологияни ва хужайра инжэнэрлигини янги натижалар олиш учун чуқурлаштириш ва замонавийлаштириш.
- чиқиндисиз ва экологик тоза биотехнологик жараёнларни яратиш.

- биотехнологик жараёнларда ишлатиладиган жихозларни замонавийлаштириш.
- биотехнологик жараёнларнинг техник – иқтисодий кўрсаткичларини яхшилаш.

Генотехник даврга – фундаментал асосга қаратилган кучли жараёнларнинг аниқлашларини ишлаб чиқиш (антибиотиклар, аминокислоталар, ферментлар, витаминларнинг продуцентлари), суперпродуцентлар олиш, кучли генетик маълумотга эга бўлган продуцентлар олиш (масалан, табиатда олдин бўлмаган Псэндомонас олругиноса хужайрадаги инсоннинг интерферон гени). Маълумки, ядродан дастур келади. Дастурни фаоллаш учун АТФ керак бўлади, бунда битта т-РНК учун битта АТФ зарур. Сўнгра аминокислоталар АТФ га уланади ва рибосомага олиб борилади, натижада охириги махсулот, оқсил хосил бўлади. Бундай жараёнга генетиканинг асосий қонуни дэйтилади.

ДНК ↔ РНК ↔ оқсил ↔ махсулот

Генетиканинг асосий қонунига асосланиб ген инжэнэрлик фикри юзага кела бошлади. Биринчи мартаба 1982 йилда Браун р-ДНКни олган, шу йилдан хақиқий ген инжэнэрлиги пайдо бўлган дэб хисобланади.

1.2. Биотэхнологиянинг объектлари ва усуллари

Вируслар, бактериялар, замбуруг`-микромидетлар ва макроидетлар, протозой организмлари, ўсимликлари, хайвонлар ва инсон хужайралари (тўқималари), баъзи биоген ҳамда вазифасига кўра уларга ўхшаш моддалар (масалан, ферментлар, простагландинлар, лектинлар, нуклеин кислоталар ва хакозолар) биотэхнологиянинг объектлари хисобланади. Демак бу, уюшган зарралар (вируслар), хужайралар (тўқималар) ёки уларнинг метаболитлари (бирламчи, иккиламчи) биотэхнологиянинг объекти бўлиши мумкин, хатто биомолекуладан биотэхнологиянинг объекти сифатида фойдаланилганда унинг илк биосинтези аксарият холларда тегишли хужайралар билан амалга оширилади. Шу муносабат билан биотэхнологиянинг объектлари ёхуд микробларга, ёхуд ўсимлик ва хайвон организмларига таъалукли дэса бўлади. Вируслар организм хисобланмайди, аммо ирсият молекулаларнинг мазмуни, мослашувчанлиги, ўзгарувчанлиги ва бошқа айрим хусусиятларига кўра жонли табиат вакиллари сирасига киради.

Биотэхнология объектлари ғоят даражада ранг-баранг бўлиб, улар уюшган зарралардан (вируслардан) то инсонгача бўлган кўламни ўз ичига олади.

Вируслар жонли ва жонсиз табиат ўртасидаги ўринни эгаллайди, уларнинг ядроси йўқ, вахоланки ядроли ирсият материали-рибонуклеин кислотаси (РНК) ёки дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) си мавжуд.

Хужайралардан таркиб топган микроблардан фарқли равишда вирус зарраларида РНК ва ДНК ҳеч қачон биргаликда мавжуд бўлмайди. Бундан

шу нарса келиб чиқадики, “биологик технология ёки биотехнология” ва “биокимёвий технология” номлари бир маънони англатади, чунки техникада ва саноат ишлаб чиқаришида фойдаланиладиган биологик жараёнлар биокимёвий асосга эга.

Хозирги вақтда биотехнологиянинг аксарият объектлари уч авлодга (ядросиз, ядродан аввалги ва ядроли) ҳамда беш бўлимга (вируслар, бактериялар, замбуруглар, ўсимликлар ва хайвонларга) таъалукли микроблар ташкил этади. Айтилишича вақтда дастлабки икки авлод фақат микроблардан иборат бўлгани холда, учинчиси аксарият ўсимликлар ва хайвонлардан иборат.

Ўсимликлар орасида микроскопик сув ўтлари (Алгэ), хайвонлар орасида эса – микроскопик содда (Протозоа) микроб ҳисобланади. Эукариотлардан замбуруглар ва маълум ҳақиқатлар билан микроскопик замбуруглар ва микроскопик сув ўтларининг ёки замбуруглар ва цианобактерияларнинг табиий симбиотик уюшмаси ҳисобланувчи лишайниклар микроблар сирасига киради.

ХИХ асрнинг биринчи ярмида биологиянинг энг асосий умумлашмаларидан бири – ҳужайралар назарияси (М.Шлейден, Т.Шванн, Р.Вирхов) ишлаб чиқилди, уни ҳамма эътироф этди. Айтилишича шу назария ситология (юнонча китос-бўшлик) фанининг пойдевори бўлиб ҳисобланади. Биотехнологиянинг барча объектлари орасидан фақат вируслар, вириодлар ва биомолекулалар ҳужайрали тузулишга эга эмас. Аммо ҳужайралардаги вируслар ўзларини мавжудотлардек тутишади – улар кўпаяди ва уларнинг генетик материали асосан келиб чиқиши ҳар қандай бўлган ҳужайраларга ҳос умумий қонунлар бўйича фаолият юритади. Ситологик тадқиқотларнинг усуллари ва техникаси такомиллашиб боргани сари олимлар уюшган зарралар ва ҳужайралар мазмун-моҳиятига чуқур кириб боришмоқда, бунинг натижасида эса барча жонли мавжудотларнинг уч авлодга Асарётаэ – ядросиз, Просарётаэ – ядродан аввалги ва Эусарётаэ – ядролига (юнонча а – йўқ, про-гача, эу-яхши, тўлиқ, саруох-ядро сўзидан) таъалуклигини асослаш имкони бўлмоқда. Биринчисига уюшган зарралар–вируслар ва вириодлар, иккинчисига–бактериялар, учинсига бошқа ҳамма организмлар (замбуруглар, сув ўтлари, ўсимликлар, хайвонлар) киради.

Барча авлодларнинг вакиллари генетик материалга эга бўлишига қарамай, турли акариотлар нуклеин кислота турларидан бирортаси РНК ёки ДНК дан маҳрумдирлар. Улар жонли ҳужайрадан ташқари фаолият юритишга (шу жумладан репликацияга) қодир эмас, яъни уларни ядросиз деб аташ тўғри бўлади.

Бактериялар ҳужайрали тузулишга эга уларда ҳар икки турдаги нуклеин кислотаси – РНК ва ДНК мавжуд, улардан ДНК ёлғиз (халқасимон) хромосома кўринишидадир. Уларнинг аксарияти озуқа муҳитларда (организмдан ташқарида) кўпаяди, агарда бактериялар орасида шарқиз (облигат), мазкур аломат бўйича вирусларга (хламидиялар, спироплазмалар, риккетсияларга) яқинлашувчи паразитлар мавжуд бўлса ҳам, уларнинг паразитлиги ўз механизми билан фарқ қилади – уни ҳужайрали деб аташ

мумкин. Вирусларнинг паразитлиги генетик даражада ривожланади. Бу демак, бактериялар – вазифаларига кўра, шу жумладан генетик жихатдан бир-бирига бог`лиқ тузилмалардан иборат. Бактерияли хужайранинг генетик тузилмалари тўлақонли фаолият кўрсатишига қарамай, улар чегараланган ядро шаклида гуруқланмаган, шунинг учун бактериялар ядродан аввалги (прокариотик) организмлар сирасига киритилган.

Замбуруг`лар, сув ўтлари, ўсимликлар ва хайвон хужайралари хақиқий, цитоплазмадан чегараланган ядрога эга, шунинг учун уларни эукариотлар сирасига киритишади.

Вируслар. Микроблар орасида вируслар хажмининг хоятда кичиклиги – улар нанометрларда (нм) ўлчанади ва ички паразитлик билан тавсифланади. Сўнги аломати уларнинг бактериялар ёки бактериофаглар вируси, ўсимликлар вируси ва хайвонлар вируси сифатида таснифланишига асос қилиб олинган. Шунингдек замбуруг`лар вируслари ҳам мавжуд. Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, вируслар тузулишига кўра нуклеин кислотанинг у ёки бу кўринишига (РНК ёки ДНК га) эга, ўзининг алмашув моддаси бўлмаган, аммо хўжайин-организм хужайраларида репликацияга ёки унинг геноми билан интеграллашга кодир уюшган зарралардан иборат бўлиб, айна вақтда “яширин равишда хаёт кечиради”. Вирус заррасининг уюшганлиги деганда, у ёки бу вирусга хос бўлган тузилма қисмларининг, организмдан ташқарида яшайдиган – вирионларнинг ўзига хос тузулиши ёки архитектураси (юнонча арчи-бошланқич, асосий, биринчи, тэктон-мохир, уста сўзларидан олинган) назарда тутилади. Хар бир вирион соф кўринишда нуклеин кислотаси ва оқсилдан таркиб топган, улар бир-бири билан ковалент бог`лар билан бог`ланмаган чинакам кристалдан иборат бўлади. “Вирион” тушунчаси тегилмаган (юнонча интастус-тегилмаган, шикастланмаган сўздан), инфекцияга ёки касаллик кўзг`атишга (лотинча инфэстиосус-юқумли сўздан) кодир заррачага тушунилади.

Нуклеин кислоталар – вируслар ирсияти моддасидир. Нуклеин кислотаси турига кўра улар РНКси бор вирусларга ва ДНКси бор вирусларга ажралади.

РНКси бор вирусларга – ўсимликларнинг барча вируслари киритилади, ДНКси бор вирусларга – бактериофагларнинг аксарияти, инсон ва хайвоннинг қатор вируслари (аденовируслар, учуқ вируслари, чечак вакциналари ва бошқалар) киритилади.

Оқсил нуклеин кислотаси вируси (геном) атрофида қобик кўринишида таркиб топади ва капсид деб номланади. Вирион шакли унинг капсиди билан белгиланади. Капсид нуклеин кислотаси билан биргаликда нуклеокапсидни ташкил этади.

Вирусларнинг тахминий рўйхати умуртқалилар вирусларининг 17 оиласини ва умуртқасиз хайвонлар вирусларининг 7 оиласини, бактериялар вирусларининг 10 оиласини ўз ичига олади. Ўсимликлар вирусларининг 20 гурухи ва замбуруг` вирусларининг 5 гурухи тавсифланган. Вирусларнинг таснифий гурухларга бўлиниши хали тугалланмаган бўлиб, уларни янги турлари очилмоқда (бунга эбола вируслари, инсон иммун танқислиги -

ОИТВ вируси, нотипик зотилжам вируси мисол бўла олади). Юқумли контогиоз моллюск вируси, чечак вируси, учуқ вируси, бактерияларни аксарият фағларининг вируслари ДНКси бор вирусларнинг гурухига киради; ўсимликлар вируслари, инсон гриппи, кутуриш, полиомиелит ва бошқа вируслар эса РНК си бор вирусларнинг вакиллари хисобланади.

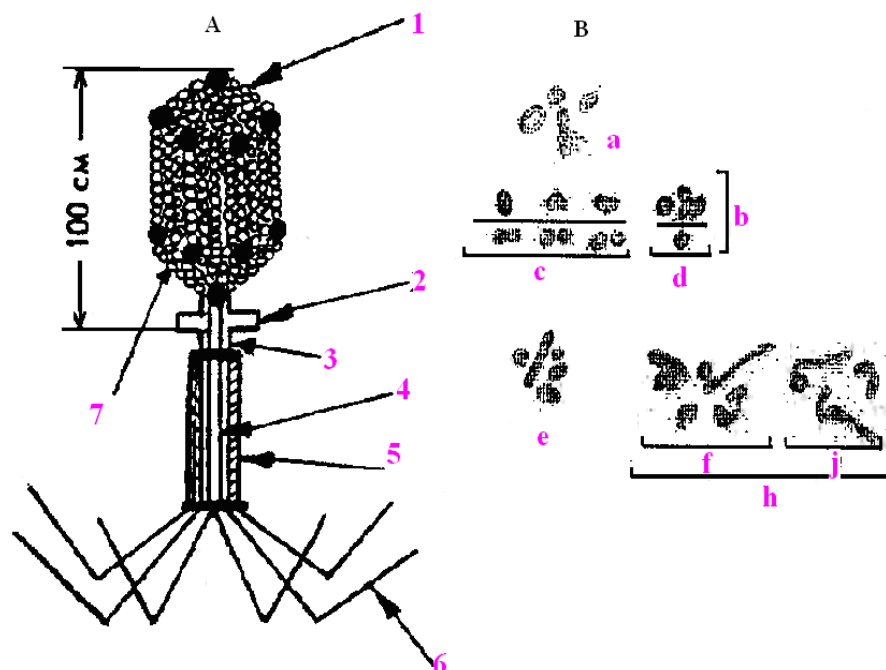
Вироидлар.1971 йилда Т.О. Динер (АҚШ) картошка тугунаклари урчуксимонлиги субвирусли касаллик кўзг`атувчисини (патогенини) биринчи мартаба тавсифлади, уни вироид деб номлади.

1984 йилга келиб вироидлар келтириб чиқарадиган дехкончилик экинларининг (шу жумладан – дон экинларининг) ўн хил касаллиги маълум бўлди. Молекуляр тузулиши бўйича вироидлар бир занжирли, ковалент ёпиқ, халқасимон, капсидлари бўлмаган РНК молекулаларидан иборат. Бундай РНКларда нуклеотидлар сони 240-400 атрофида бўлади. Вироидлар шаклига кўра чизикли ва халқасимон бўлиши мумкин, улар хар хил занжирли конформацияни (лотинча қуаси-гўёки, баъмисоли, хатто, яқин, конформатио-шакл, жойлашиш) қабул қилишга қодир бўлади. Вироиднинг хар бир тури, масалан, картошкани миттилаштирадиган вироид (ВВКК) ёки цитрус экинларининг вироиди таркибида ноёб, фақат унинг ўзига хос куйи молекулали РНКнинг алоҳида тури бор. Вироидларнинг катталиги 15 нм атрофида бўлади. Хўжайин-ўсимликларнинг сезгир хужайраларида улар оқсил-нуклеин мажмуи кўринишида ядрочага бирлашиб, ядрога тўпланади ва хўжайиннинг аввалги ёки фаоллаштирилган ферментлари ёрдамида мустақил, яхлит холда репликация қилади. Вироидлар трансляция қилмайди. Бу уларнинг ўзаро таркибий ўхшашлиги ва қатор вироидларда ташаббускор-кодонлар йўқлиги билан тасдиқланади. Айни вақтда вироидли РНКларнинг полимераз РНКлар иштирокида РНК матрицалар билан изчиллиги транскрипцияси туфайли репликацияси рўй беради.

Бактериялар. Хужайра тузулишига эга мавжудотлар бўлиб, уларда ядро материали цитоплазмадан оддий мембраналар билан ажратилмаган ҳамда у ёки бу асосий оқсиллар билан бог`ланмаган. Улардаги мунтазам тақсимланмаган рибосомали (70 С туридаги) цитоплазма харакациз, хужайралар эндо- ва экзоцитоз қобилятига эга эмас. Бактериялар кўпинча бир хужайрали бўлади, энг кичигининг диаметри 0,2—10,0 мкм атрофида. (1-расм).

Оксиген цианобактериялар, аноксиген кўнг`ир ва яшил бактериялар фототроф бактериялар хисобланади; граммусбат ва грамманфий бактериялар ҳамда бациллалар, миксобактериялар, пояли ва куртакланувчи бактериялар, вибрионлар, спираллалар, спирохедлар, актиномицетлар, коринебактериялар, микобактериялар, риккециялар, хламидиялар, микоплазмалар ва спироплазмалар – хемотроф бактериялар хисобланади.

Галобактериялар Халоарсула, Халобастэриум, Халососсус, Натробактэриум, Натрососсус оилаларини ўз ичига олади. Улар денгиз туз конларида бўлади (улар учун натрий хлориднинг энг мўътадил микдори 3,5-5М).



1-расм. T2 бактериофаги (A):

1-бошчани қоплаб турувчи капсомерлар; 2-ёқача; 3-бўйин;
4-г`овак стержен; 5-г`илоф; 6-иплар; 7-икосаэдрик бошча;

Б- мендсникутлари:

а-галобактериялар; б-метанобактериялар; с-вегетатив шакллар
д-харакациз шакллар; э-термоацидофиллар; ф-генерикутлар;
ж-икоплазмалар; х-пироплазмалар.

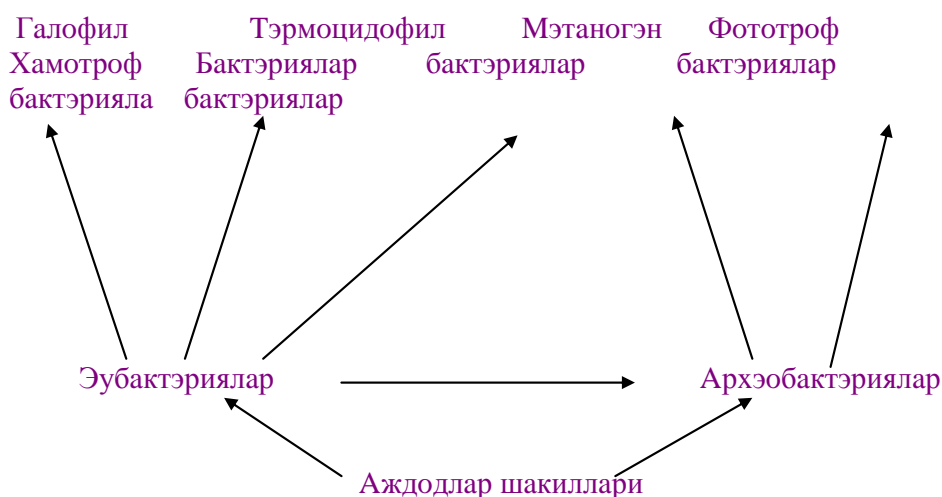
Термоацидофил бактериялар нордон иссиқ булоқларда pH 2-3 ва харорат цэлсий бўйича 70-90 даража бўлганида (Сулфолобус асидосолдариус), кўмир шахталарининг ўз-ўзини иситадиган терриконларида pH 1-2 ва харорат цэлсий бўйича 59 даража бўлганида (Тхэрмопласма асидопхилум), денгиз тубидаги ва вулкон этақларидаги қайноқ булоқларда харорат цэлсий бўйича 85-105 даража бўлганида яшайди (Тхэрмопротэус тэнах, Т.нэутропхулис) ва бошқалар.

Барча бактериялар ягона Бактэриа авлодини ташкил этади, вахоланки улардан бири археобактериялар (Арчэобактэриа) бошқаси эубактериялар (Эубастэриа-юнонча эу-яхши) деб номланувчи бактериялардан сезиларли фарқ қилади. Археобактериялар эубактерияларга қараганда прокариотларнинг нисбатан кўхна вакили хисобланади. Улар экстремал шароитга (лотинча эхтрэмус-охирги сўзидан)-анорганик тузлар концентрацияси баланд бўлганда, харорат юкори даражада, углерод оксиди ва диоксиди-углероднинг ягона манбаи бўлган мухитларда яшайди. Галобактериялар, термоацидофил бактериялар ва метан хосил қилувчи ёки

метаноген бактериялар археобактериялар қаторига киради. Прокариотларнинг (шажараси) дендрограммаси (юнонча дэндрон-дарахт, грамма –тавсиф сўзларидан олинган) қуйидаги тарзда тасвирланиши мумкин.

Оксиген цианобактериялар, аноксиген кўнгир ва яшил бактериялар фототроф бактериялар ҳисобланади; граммусбат ва грамманфий бактериялар ҳамда бациллалар, миксобактериялар, пояли ва куртакланувчи бактериялар, вибрионлар, спираллалар, спирохедлар, актиномицетлар, коринебактериялар, микобактериялар, риккециялар, хламидиялар, микоплазмалар ва спироплазмалар – хемотроф бактериялар ҳисобланади.

Прокариотларнинг дендрограммаси



Галобактериялар Халоарсула, Халобастэриум, Халососсус, Натробактэриум, Натрососсус оилаларини ўз ичига олади. Улар денгиз туз конларида бўлади (улар учун натрий хлориднинг энг мўътадил миқдори 3,5-5М). Термоацидофил бактериялар нордон иссиқ булоқларда pH 2-3 ва харорат цэлсий бўйича 70-90 даража бўлганида (Сулфолобус асидосолдариус), кўмир шахталарининг ўз-ўзини иситадиган терриконларида pH 1-2 ва қарорат цэлсий бўйича 59 даража бўлганида (Тхэрмопласма асидопхилум), денгиз тубидаги ва вулкон этакларидаги қайноқ булоқларда харорат цэлсий бўйича 85-105 даража бўлганида яшайди (Тхэрмопротэус тэнах, Т.нэутропхулис) ва бошқалар.

Коклар (*Мэтханососсус ванниэлли*), сарциллар (*Мэтханосарсина бактэри*), таёкчалар (*Мэтхнобактэриум формисисум*, *Мэтханобрэвибастэр руминантиум*), спираллалар (*Мэтханоспириллум хунгатэи*) ва бошқа

кўринишларни ўз ичига олган метаноген бактериялар анаэроб микроорганизмлар ҳисобланади. Улар шахар ва ахоли пунктларининг оқава сув тиндиргичларида, гўнгда, ховуз ва кўлларнинг тубидаги қуйқаларда, шопопояларда, лиман ва эстуарияларда (лотинча аэстуариум-сув сатҳи кўтарилганида сув босадиган сохил), кавш қайтарадиган хайвонларнинг катта қоринларида яшайди. Яшаш мухити инобатга олинadиган бўлса, улар хароратга кенг доирада мослаша олиши табиийдир. Шунга қарамай, масалан, кавш қайтарадиган хайвонларнинг катта қорин харорати бир тэкис бўлади.

Д.Х. Бергнинг (1984, 1986) аниқлашича, археобактериялар мeндосикутлар бўлимига, бошқа хамма бактериялар ёки эубактериялар, грациликутлар, фирмикутлар ватенерикутлар (лотинча мeндосус-сохта, қалбаки, грасилис-сарвқомат, нозик, фирмус-мустахкам, тэнэр-сезгир, нозик, сутис-тери) бўлимларига тегишлилиги маълум бўлди.

Грациликутлар грамманфий бактерияларни икки қатламли хужайра девори билан бирлаштиради (одатда улар хужайра деворининг сиртки қатламида фосфолипид мембранага эга бўлади). Улар хужайраларининг шакли хар хил шар шаклидан таёқча шаклгача, тўғри шаклдан эгри-бугри (қинг`ир) шаклгача бўлади; улар харакатчан ёки харакатсиз бўлади; эндоспораларни хосил қилмайди, бўлиниш йўли билан (базилари куртакланиш йўли билан) кўпаяди; аксарияти пиляларга (соч толалари ёки фимбрияларга) эга. Овқатланиш тарзига кўра фототрофлар (шу жумладан цианобактериялар) ва хемотрофлар; нафас олишига кўра – аэроблар, анаэроблар, факультатив анаэроблар; патогенлиги бўйича сапрофитлар ва паразитлар грациликутлар сирасига киради.

Кўп қатламли муреин қобикли микроорганизмлар фирмикутлар сирасига киради. Уларнинг хаммаси граммусбат, споралар хосил қилувчи ёки споралар хосил қилмайдиган; актиномицетлар ва улар билан турдош бактериялар хам шулар қаторига киради. Хужайраларининг шакли хар хил – думалоқ, таёқчасимон, шохланувчи, ипсимон, шохланмайдиган бўлади. Озиқланиш тарзига кўра – аксарияти хемогетеротрофлар, нафас олиш тарзига кўра – аэроблар, анаэроблар ва микроаэрофиллар, патогенлар ва сапрофитлар киради.

Микоплазмалар ва спироплазмалар (юнонча мйкэс-замбуруг`, пласма-ёпишқоқ, қайишқоқ, спэира-жингалак, спирал, халқа сўзларидан) тeнерикутлар гуруҳига киради. Улар хоятда майда, хужайра девори бўлмаган, Моллисутэс (лотинча молис-юмшоқ сўзидан) синфига гуруҳланган эркин яшовчи полиморф бактериялардир. Улар куртак отиш, бўлиниш шохланган тузилмаларнинг сегментацияси йўли билан кўпаяди; цитоплазматик мембрана уч қатламли; либо; либ, микоплазмаларнинг барча маълум турлари патогендир. Уларнинг узунлиги 0,15-0,25 мкмга тэнг, вахоланки полиформизм хужайралар узунлиги бўйича анчагина кенг. Микоплазмалар пенициллинга тўла барқарор, махсус аралашган мухитларда ривожланади.

Ягона юқорида кўриб чиқилган, бошқа микроорганизмлардан анчагина фарқ қиладиган археобактериялар синфи мендосикутлар гуруҳига киради.

Бактерияларнинг мини ва макси деб номланувчи хужайралари, жумладан, *Э.Соли* ҳам маълум, шу нарса аниқланганки, ичак таёқчасининг икки мутацияни (мин А, мин Б) ташувчи хужайралари ассиметрик равишда бўлинади ва ҳар иккинчи бўлинишида думалоқ, ядросиз мини – хужайра (ҳажмига кўра оталиқ хужайрасидан тахминан уч баробар кичик) ҳосил бўлади. Генлар мутациясида Рэс А ва увт А репарация асосий тизимларининг инфооллшиши ва хужайраларнинг ультрабинафша нурларга сезгирлиги жиддий равишда ошиши кузатилади. Айни вақтда *Э.Соли* хужайраларини (макси хужайра) ҳажми катталашади. Мини ва макси хужайралардан ген инжэнэрлик тажрибаларини ўтказиш вақтида кўп нусхали плазмидларни жалб этиши учун фойдаланилади. Бактериялар–энергия, углевод манбалари ва электрон донорларга кўра гуруҳларга бўлинади, шу боис уларнинг ҳар бирига хос вакилларни ажратиш мумкин. Жумладан, циано-бактериялар биринчи кичик гуруҳга, яшил несер бактериялар-иккинчи, нитрифицирланувчи бактериялар-учинчи, водород бактериялар-тўртинчи ва ниҳоят бациллар ва бошқа микроорганизмлар-бешинчи кичик гуруҳга киради. Қиёслаш учун шуни айтиб ўтиш керакки, эукариотлардан бўлган ачитки ва ипсимон замбуруғлар ҳам хемегетероорганотрофлар гуруҳига киритилади.

Дарсликларда ва илмий адабиётларда шунингдек прототроф, метатроф, паратроф, миксотроф атамаларнинг ҳаммаси ХХ аср бошларида бактериялар озикланиш тарзига кўра гуруҳларга бўлиниши муносабати билан таклиф қилинган эди. Жумладан, А.Фишер 1903 йилда овқатланиш учун тайёр органик моддаларга мухтож бўлмаган прототрофларни (В. Пфефер бўйича автотрофларни), органик моддага мухтож метатрофларни (В. Пфефер бўйича гетеротрофларни)-бу сапрофит микроорганизмларнинг аксарияти, жонли оқсил билан озикланадиган ва фақат бошқа мавжудотларнинг организмида яшайдиган паратрофларни уларнинг ҳаммаси облигат касаллик кўзг`атувчи микроблар бир-биридан фарқлашни таклиф қилди. Пробиркада (ин витро) тўйинтирувчи мухитда ва сезгир хайвон (ин виво) организмида яшаши мумкин бўлган турларини В. Пфефер томонидан миксотрофлар (лотинча михтус-аралаш сўзидан) деб номланган эди.

Келтирилган номлар (прототрофлар, метатрофлар ва миксотрофлар) ҳозир кўпроқ тарихий маънога эга. 1946 йилда микробларни озикланиш усули бўйича таснифлаш ёки трофиклар таклиф қилинди, улардан ҳозир ҳам фойдаланилади.

Микроорганизмларнинг жонли оқсил билан озикланиш ин витро ёки кўпроқ ин виво қобилиятлари тавсифига нисбатан патогенлик (юнонча патхос-касаллик, гэнэсис-вужудга келиш, келиб чиқиш сўзларидан) атамасидан, яъни касалликни келтириб чиқариш қобилиятидан фойдаланилади. Шунинг учун касаллик пайдо қилиш аломати бўйича барча бактерияларни икки катга гуруҳга – сапрофитларга (касаллик пайдо

қилмайдиган, лотинча сапротэс-чириш, чиринди) ва патоген (касаллик пайдо қилувчи)ларга бўлишади.

Уларнинг ўртасида оралиқ турлари –облигат ва факултатив (лотинча облигатус-мажбурий, шарт бўлган, фасултативус-факултатив, маълум шароитларда мавжуд бўлиши мумкин бўлган) паразитлар жойлашган. Масалан, захм спирохетлари, гонококлар облигат, кўк йирингли таёқчалар сохта протей-факултатив хисобланади. Бу демак, облигат ёки шарқиз паразитлар организмдан ташқарида ривожланмайди ёки табиий оқсилли тўйинтирувчи мухитларда қийинчилик билан ривожланади; факултатив паразитлар эса ташқи мухитда ўсади ва кўпаяди, аммо айрим шароитларда (масалан, макроорганизмнинг химоя кучлари пасайганида) улар юкумли касалликнинг сабабчиси бўлиши мумкин.

Истеъмол қиладиган энергия манбаларига кўра бир-биридан фарқ қилувчи фототроф ва хемотроф бактериялари ҳам жиддий фарқ қилади. Хар қандай холда ҳам, бактериялар турларининг ранг-баранглиги шу қадар кўп сонлики, уларнинг хатто биотехнология мақсадларида фойдаланиладиган озгина улуши ўзига алохида эътиборни талаб қилади. Биообъектлар морфо-физиологик хусусиятлари барқарорлигини ва тегишли шароитларда махсулдорлигини сақлаб қолиш учун хар бир биообъектга эҳтиёткорона (айтиш мумкин-мехр билан) муносабатда бўлиш хоятда мухим ахамиятга эга эканлигини тушуниш учун микроорганизмдан олисда турувчи эубактериялар орасидан актинопланлар гурухига мансуб Микромоноспора сп.ни, водород бактериялари гурухига мансуб Хйдрогэномонас (*Алсалигэнэс*) энтропхани, нурланувчи бактериялар мансуб Иусибастэриумни, сил касаллиги таёқчаси-*Мйсобастэтиум тубэрсулоисни*, баъзи псевдомонасларни (масалан, *Псэудомонас азругиносни*), эшерихияларни (*Эсчэриchia Соли*) ва бошқа кўпгина бактерияларни айтиб ўтишнинг ўзи йэтарли.

Замбуруг`лар. Микромицетлар, яъни микроскопик замбуруг`лар (масалан, ачитқилар, пенициллар, аспергиллар ва бошқалар) ва ўзининг ўсиш ҳамда ривожланиш жараёнида кўз билан кузатиш мумкин бўлган меваларни – тут мевасини, агарик замбуруг`ларни ва хакозоларни шакллантирувчи макромецетлар қуйи эукариотлар – Мйсота бўлимига табалукли.

Шуниси диққатга сазоворки, замбуруг`лар ўсимликларга ҳам (уч қисмдан ёки апиқал ўсиши, мустақкам хужайра девори, уларнинг аксариятида вакуоллар ва кўндаланг пардалар мавжудлиги билан) хайвонларга ҳам (озикланишнинг гетеротроф тарзи, витаминларга кўп ёки оз эҳтиёж сезиши, хитин ёки хитозан мавжудлиги, гликоген синтези билан) ўхшаб кетади. Демак, замбуруг`лар илгарироқ ўсимликлар ва хайвонлар мустақил бўлимга ажралишидан олдин пайдо бўлган. Айни вақтда мицелиал тузулиш ва бунинг оқибати сифатида озикланишнинг абсорбцион усули (осмотрофия) фақат замбуруг`ларга хос, дикариозис (бир хужайрада бир вақтда бўлинишга қодир ва диплоид ядрони имитация қилувчи ички

ядронинг алохида-алохида мавжудлиги) ва гемерокариозис (бир хужайрада турли сифатга эга ядроларнинг мавжудлиги) ходисалари уларга хосдир.

Замбуруг`ларнинг асосий таксономик (юнонча тахис-тартибга солиш, жойлаштириш, номос-қонун сўзларидан) гуруқлари нисбатан барқарор хисобланади, аммо турли муаллифлар таклиф қиладиган тасниф чизмалари г`оятда кўп сонли, баъзан бир-биридан жиддий фарқ қилади. Шу муносабат билан куйидаги чизмага амал қилиш мақсадга мувофиқ бўлиб, илмий жихатдан ўзини ойлайди. Замбуруг`лар туркуми икки бўлимни – *Мухомйсота* ва *Эумйсота*, яъни шилликурт замбуруг`ларни (юнонча мйхашиллиқ сўзидан) ва хақиқий замбуруг`ларни (юнонча эу-яхши, типик, яхши ривожланган маъносида) ўз ичига олади. Улардан биринчиси камсонли бўлиб, “ялонг`оч” плазма массаси-плазмодийдан иборат. Улар ўзига хос ривожланиш босқичини бошдан кечиришмоқда ва жинсий аттрактантларни (лотинча аттрастион-жалб қил, тортиш сўзларидан) хосил қилади.

Эумицетлар бўлими этти синфни ўз ичига олади:

- | | |
|-------------------------|-------------------|
| 1.Чйтридиомйсэтэс; | 5.Ассомйсэтэс; |
| 7.Дэутэромйсэтэс. | |
| 2.Хупхошйтридиомйсэтэс; | 4.Зйгомйсэтэс; |
| 3.Оомйсэтэс; | 6.Басидиомйсэтэс; |

Хитридиевларга (юнонча чйтридион-зооспоралардаги мой томчиси таркибини акс эттирувчи томчи сўзидан) замбуруг`ларнинг 500 дан зиёд турлари таъалукли, улар асосан плазмодиал уюшмалардан иборат, яъни уларда мицелий мутлақо бўлмайди, баъзан мавжуд бўлганида ҳам фақат уруг`ланиш холатида бўлади. Зооспоралар ва планогаментлар (кўпайиш хужайралари) фақат битта орқа даррасимон (қамчисимон) хивчинга эга, бу маълум таксономик ахамият касб этади.

Гифохитридиевлар битта олдинги даррасимон хивчини бор зооспораларга эга бўлиб, уларнинг иплари тўсиққа эга эмас, бу синфга кўп сонли бўлмаган турлар киради.

Оомицетлар ҳам 500 дан зиёд турларни ўз ичига олади. Оогамия-жинсий жараён асосида бирлашувчи сув замбуруг`лари шулар жумласидандир. Уларнинг жинси бўлмаган зооспоралари икки хил хивчинга эга, улардан бирининг олди ялтироқ (ялтироқ– патли), иккинчиси эса орқа даррасимон кўринишга эга.

Зигомицетлар 500 дан зиёд турларни ўз ичига олган бўлиб, ривожланиш циклларида харакатчан босқичларни тўлиқ йўқотган. Уларда жинсий жараён зигогамия кўринишида бўлади. Мицелий, одатда яхши ривожланган ва асосан тўсиқсиздир.

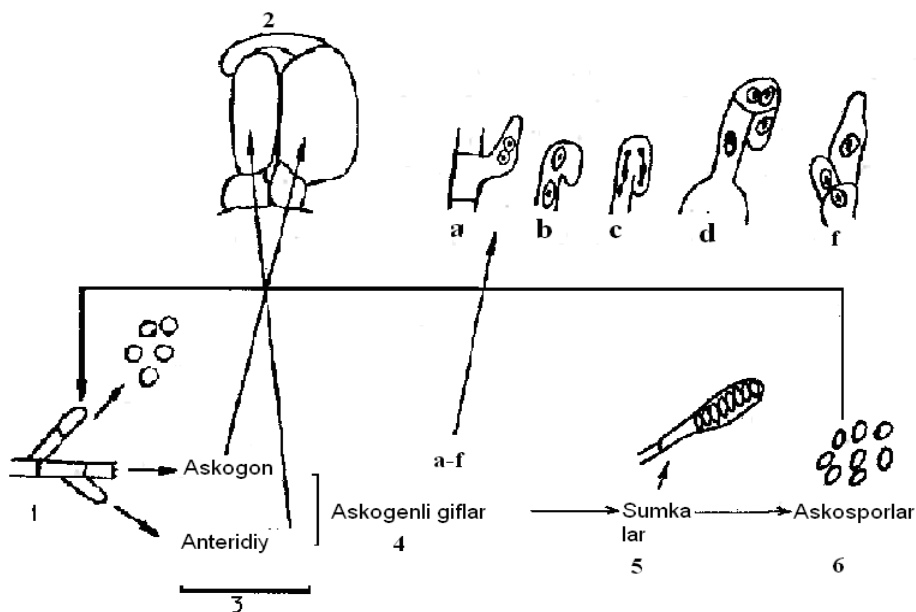
Кўпинча ватанимиздаги ва хориждаги дарсликлар ва илмий адабиётларда ҳамма замбуруг`ларни, кўпроқ сув замбуруг`ларини (шу жумладан “қуруқликка чиққан” зигомицетларни ҳам) бир Пхйсомйсэтэс (юнонча пхйсос-сув ўтлари) синфига киритилган. Барча сув замбуруг`лари мицелийдан махрум ёки у уруг`ланиш ёхуд ривожланган холатда бўлади, аммо тўсиқ (септ)ларга эга эмас, ёки улар сийрак бўлади. Бундай

замбуруг`ларни қуйи замбуруг`лар сирасига киради. Мицелияда тўсиг`и бор ипсимон замбуруг`ларни олийлар қаторига киритилади. Бу ташувчини мукамал ва мукамал бўлмаган замбуруг`лар тушунчаси билан чалкаштириб бўлмайди, шулардан биринчиси кўпайишнинг жинсий жараёнига эга, иккинчиси бу хусусиятга эга эмас. Масалан, *Мусорроухии қуйи* мукамал замбуруг` хисобланади, мисол учун *Стилбэлла аурантиса* олий мукамал бўлмаган замбуруг` хисобланади.

Демак, аксомицетларни ёки қопчиқли замбуруг`ларни, базидомицетларни ёки базидиал замбуруг`ларни ҳамда дейтеромицетларни ёки мукамал бўлмаган замбуруг`ларни (Фунги импэртэсти) олий замбуруг`лар сирасига киритилади.

Халтали замбуруг`лар ғоят даражада кенг синф бўлиб, тузулиши, шакли ва яшаш мухити хар хил бўлган 15000 дан зиёд турларни ўз ичига олади. Жинсий жараён натижасида аскоген гифларда хосил бўлувчи қопчалар уларнинг ўзига хос белгиси хисобланади, қопчаларда жинсий споралар шаклланади, улар ана шу споралар ёрдамида кўпаяди. Кўпинча саккиста спора хосил бўлади, лекин ана шу юқоридаги қоидадан истисно бўлиб туради. Уларда мицелий септирлашган (лотинча сэптум-тўсикли сўзидан), септаларда марказий ковакчалар мавжуд, улар хужайралар ўртасидаги алоқани ва хужайралар таркиби алмашинувини таъминлайди. (2-расм). Қуйида чизмадаги қопчалар серпушт таналарни хосил қилади, улар ёпиқ (клейстотэциялар ёки клейстокарпиялар, лотинча слэистос-ёпила оладиган, бирлашадиган, стэкэ-капсула, қопқоқча, сарпос-мева), ноксимон устида г`овак, ости толаси бор перитециялар (юнонча пэри-атрофида сўзидан) ликопчасимон ёки косасимон апотецияли (юнонча баргараф этиш ёки ажратиш маъносига эга аро олд қўшимчасидан) очиқ бўлиши мумкин. Қопчали замбуруг`ларга гаплоид мицелийда хосил бўлувчи конидийлар ёрдамида жинссиз урчиш ҳам хос.

Демак, аксомицетларнинг ривожланиш циклида жинсий ва жинссиз даврлар мавжуд.

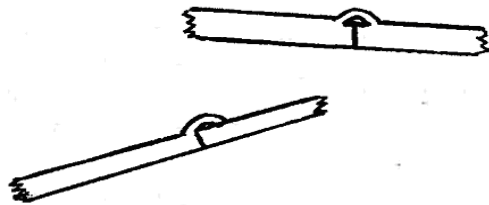


2 - расм. *Пйронэма спэсиэс* мисолида аскомицетларнинг ривожланиш цикли тасвирланган

1–мицелий; 2–гиплоидли мицелийда хосил бўлувчи конидиялар;
 3–(+) ва (-) қўшилиш турлари (эркаклар ва аёлларга тегишли);
 4–аскоген гифлар (а-ф); 5–спорали қопчалар; 6–аскоспоралар.

Базидиал замбуруг`лар. Хисобларга қараганда базидиомицетларнинг (юно-нча басис–асос сўздан) тузулиши, шакли ва ҳажмининг ҳоятда ранг баранглиги билан фарқланувчи 30000 дан зиёд турлари мавжуд.

Ривожланишнинг жинсий ва жинсиз даврлари базидиомицетлар учун ҳам хос. Улардан биринчиси базидия – урчиш органи шаклланиши билан нихоясига етади, шу органда, одатда стеригмаларда ўстирувчи тўртадан споралар (базидиоспоралар) хосил бўлади. Жинсиз давр–қиска муддатли, у спораларнинг ўсиб чиқувчи найчалари ва кейинчалик дикариод мицелийдан ташкил топади. Ана шу мицелийдан мевали тана–базидиокарп вужудга келади, сўнгра унда базидиялар хосил бўлади. Аксарият базидиомицетларга мицелияларда хосил бўлувчи ва ядроларнинг синхрон бўлиниш жараёнида иштирок этадиган тўкмалар (3-расм) ва мицелий септаларида хосил бўлувчи долипораларга хос.



3-расм. Базидиал замбуруг`лар ўрами

Дейтеромицетлар (юнонча дэйтэрос-иккинчи сўзидан) замбуруг`ларнинг терма синфи ҳисобланади, чунки ривожланишнинг жинсий жараёни бўлмаган микромицетларнинг барча вакиллари унинг таркибига киритилган. Башарти жинсий даври аниқланса, у ҳолда ана шу замбуруг`ни дарҳол тегишли синфга ўтказилади.

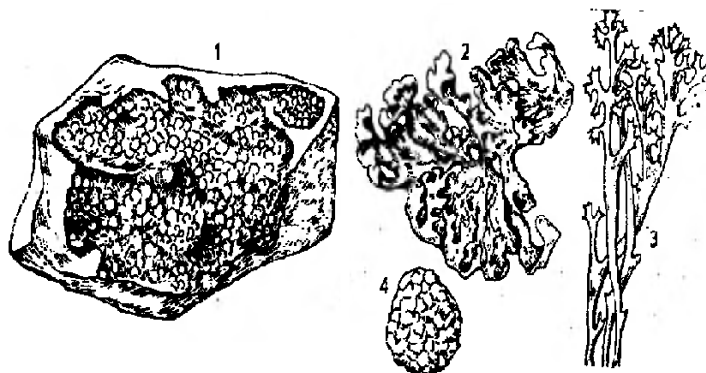
Мукамал бўлмаган замбуруг`ларнинг бир неча минг турлари мавжуд. Яхши ривожланган септирлашган мицелий ва конидиал (г`айрижинсий) спораларни ташиш уларга хос. Мукамал бўлмаган замбуруг`ларда гетерокариоз ва парасексуал давр бўлиши мумкин.

Лишайниклар. Иичэнэс сўзидан – бу замбуруг`ларнинг (микобионтларнинг) ва сув ўтларининг (бактериобионтларнинг) табиий симбионтидир. Лишайникларни организмларнинг мустақил гуруҳига ажратилади ва махсус илмий фан – лихенология фанида ўрганишади. Ҳозирги вақтда лишайникларнинг 30 мингга яқин турлари маълум. Уларда аксарият ҳолларда аксомицетлар (камдан-кам ҳолларда-базидиомицетлар) микобионт сифатида яшил ва сарг`иш-яшил сув ўтлари, цианобактериялар фикобионтлар ва бактериобонтлар сифатида намоён бўлади. Лишайникларни микобионтларига қараб номлашади. Лишайникларни шаклига кўра япроксимон (шу жумладан-кўчманчи), бутоксимон ва қатқалоқсимон (ўсма) турлага бўлинади. Улар г`айрижинсий (парчалар билан, конидиялар билан) ва микобионтлар ҳисобига жинсий йўл билан кўпаяди (4- расм).

Юқорида айтилган фикрлардан турли-туман моддаларни ишлаб чиқаришда фойдаланса бўладиган биобъектлар сон-саноксиз эканлиги, уларнинг аксарияти ҳазина изловчиларнинг бўлажак авлодлари учун қўл тегмаган ҳазина сифатида ётгани ҳақида тасаввур ҳосил қилиш мумкин.

Ўсимликлар. Ўсимликлар *плантаэ* бўлими багрянкалар (*Рходопхїта*), сув ўтлари (*Пхїсонхїта*) ва олий ўсимликлар (*Эмбрѐпхїта*) кичик бўлимларини ўз ичига олади. Шулардан иккитасида тананинг аъзолар ва тўқималарга табақаланиш бўлмайди – уларнинг ўрнини катта қатлам (каллус) босади, улар асосан сувда яшайди. Олий ўсимликлар танаси органларга ва тўқималарга бўлинган. Ҳозирги вақтда ўсимликларнинг бир неча юз минг тури мавжуд, уларнинг аксариятидан халқ хўжалигининг

турли тармоқларида фойдаланилади. Фотосинтезга қодирлик, целлюлозанинг мавжудлиги, крахмал биосинтези ўсимликларга хосдир.



4- расм. Лишайниклар

1- қатқалоқсимон ёки ўсма;

3- бутасимон;

2- япроқсимон;

4- кўчманчи.

Сув ўтлари. Пиррофит, заррин, сарг`иш-яшил, эвглен ва хароли багрянкалар сув ўтлари сирасига киради. Одатда сув ўтлари сув организмлари ҳисобланади, уларнинг 100 мингга яқин тури мавжуд. Уларнинг ҳаммаси хлорофилл, каротиноидлар, ксантофиллар, фикобилинлар ҳисобига пигментлашган. Сув ўтлари – турли полисахаридлар ва бошқа биологик фаол моддаларнинг муҳим манбаидир. Улар вегетатив равишда, жинсиз ва жинсий йўллар билан кўпаяди. Биобъект сифатида улардан кам фойдаланилади, вахоланки, денгиз қарами номи билан маълум бўлган ламинарияни турли мамлакатларнинг саноати ишлаб чиқаради. Сув ўтларидан олинadиган агар-агар ва алгинатлар яхши маълум.

Олий ўсимликлар хужайралари. Олий ўсимликлар (уларнинг тахминан 300 мингга яқин тури маълум) – бу табақалашган кўп хужайралилар, аксарият қуруқлик организмларидир. Уларнинг жинсиз ва жинсий кўпайиш усуллари ботаника дарсликларида яхшигина таърифланган. Табақаланиши ва ихтисослашиши жараёнида ўсимлик хужайралари (бир турли хужайралардан-оддий ва хужайраларнинг ҳар хил турларидан -мураккаб) тўқималарга гуруҳлашиб борган. Тўқималарнинг вазифасига кўра ташкил қилувчи ёки меристем (юнонча мэристор- бўлинadиган сўзидан), қопловчи, ўтказувчи, механик, секреция қилувчиларга тахсимланади. Барча тўқималардан фақат меристематик тўқималаргина бўлиниши мумкин, бошқа барча тўқималар уларнинг ҳисобига ташкил топади. Бу кейинчалик биотехнология жараёнига киритилиш лозим бўлган хужайраларни олиш учун муҳимдир.

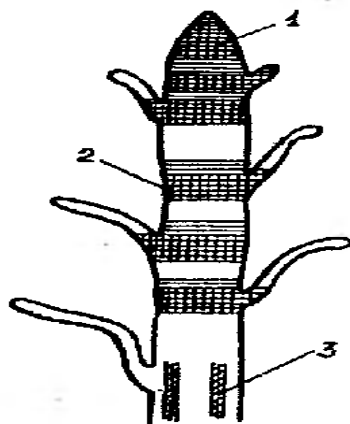
Ўсимликнинг бутун хаёти мобайнида ривожланишнинг эмбрионал босқичида сақланиб турувчи миристема хужайраларини инициация (ташаббускор) деб номланади, бошқалари аста-сэкин табақаланади ва турли доимий тўқималарнинг хужайраларига пировард хужайраларига айланади. Ўсимликлар топологиясига кўра меристемаларни устки ёки апикал (лотинча апэкс-устки сўзидан), ёнлама ёки латериал (лотинча латэралис-ён сўзидан) ва оралик ёки интеркаляр (лотинча интэркаларис-оралиқ, қоплама сўзидан) турларига бўлинади. (5- расм)

1902 йилда Г.Хабэрландт ўсимлик хужайраларини биринчи марта экиб кўпайтириб кўришга уринди. Ўтган асрнинг ўрталарида жахоннинг бир қатор мамлакатларидаги манзарали ва мевали экинларни саноат кўламида ишлаб чиқариш кўпроқ ўсимликлар тўқималари ва органларини кўпайтириш усулига асосланган унга жавоб берадиган линиялар олинди. Шу ўринда таъкидлаш керакки, Г.Хабэрландт ўсимликнинг хар қандай жонли хужайраси тотипотентлиги хақида фаразни биринчи бўлиб илгари сурди.

Тотипотентлик – бу ўсимлик соматик хужайраларининг ўз имкониятларини тўла, бутун ўсимликни хосил қилишга қадар рўёбга чиқариш хусусиятидир.

Хар қайси ўсимликларни маълум шароитда кўп миқдорда бўлинишга қобилиятли хужайралар массасини хосил қилиши, бу каллусдир. Кейинчалик куртаклар регенерацияси билан каллусларни оммавий равишда ишлаб чиқариш, ўсимликларни кенг кўламда ишлаб чиқариш учун ярайди. Умуман каллаус озуқали мухитда етишадиган ўсимлик хужайрасининг асосий тури хисобланади. Хар қандай ўсимликнинг каллус тўқимаси узок вақт рекултивация қилинишга қодир. Айни вақтда бошланг`ич ўсимликлар (шу жумладан меристематик ўсимликлар хам) қайта табақаланади ва қайта ихтисосланади, аммо бирламчи каллусни шакллантириб, бўлинишга мойил бўлади.

Каллусларни ўстиришдан ташқари суспензион экинлардаги айрим ўсимликлар хужайраларини кўпайтиришга муваффақ бўлинмоқда. Назаримизда ўсимлик хужайраларининг протопластлари хам мухим биобъект хисобланади. Уларни олиш усуллари бактериял ва замбуруг` протопластларни олиш усулларига тўла-тўқис ўхшаб кетади. Улар билан кейинги хужайралар даражасидаги инжэнэрлик тажрибаларини ўтказилиши мумкин бўлган қимматли натижалари билан жозибали кўринади.



5- расм. Ўсимлик меристемалари
1-устки, 2-ёнлама, 3-оралик.

Хайвон хужайралари. Анималиа бўлимидан энг содда организмлар-протозоа ва олий хайвонлар биобъект бўлиши мумкин. Бугунги кунда протозоа биотехнологияси хақида жуда кам нарса маълум, аммо хайвонлар биотехнологиясига келганда жорий этилган ривожланган технологик жараёнлар мавжуд, хорижда тегишли монографиялар ёзилган. Шунга қарамай хайвонлар эукариотик хужайраларининг юксак даражада табақаланиши ва ихтисосланиши шу хилдаги материаллар билан ишлаган тадқиқотчилар ва амалиёт ходимлари дуч келадиган қийинчиликларни изохлайди.

Содда (протозоа)- бу бир хужайрали микроскопик мавжудотлардир. Мазкур бўлимда қилсимонлар (Флагеллата ва Мастигофора, лотинча флагеллум-дарра, қил, мастисатус-кавш қайтариш, юнонча форо-ташиш сўзларидан), саркодали (сарсодина, юнонча сарсос-гўшт сўзидан), споровиклар (спорозоа) ва майда туклилар Силиофора ёки Силиата) синфларини бир-биридан фарқланади. Соддалари табиатда кенг тарқалган, уларнинг айримлари инсон танасида яшайди. Тузулишига кўра уларнинг хужайралари хайвон хужайраларини эслатади ва барча асосий таркибий элементларни (органонидлар ва қўшимчаларни) ўзида мужассам этади. Аксарият протозоалар сохта оёқчалар, қилчалар ва майда туклилар ёрдамида фаол ҳаракат қилади. Озиқланиш турига кўра улар овқатни ушлаш учун махсус тузилмаларга эга бўлган ёки уларни фагоцитоз воситасида ютувчи гетеротрофлар ҳисобланади.

Протозоани ин витро шароитида кўпайтириш осон эмас, аммо маълум даражадаги сайи-ҳаракатлар билан амалга оширса бўлади. Трийпанасома крузи туркумидаги “Круцин” препарати ана шу организмдан биотехнологияда муваффақиятли фойдаланишга мисол бўлади.

XX асрнинг бошларида Р.Гаррисон ва А.Каррел хайвонлар хужайраларини ин витро шароитида кўпайтириш мумкин эканлигини аниқладилар, яъни улар хайвон хужайраларининг жонли организмдан

ташқарида озукали мухитда мустақил яшаши мумкин эканлигини исботладилар.

Хайвон хужайраларининг (масалан, ўсимлик ва бактериялардан фарқли равиш-

да) барча хусусиятларини инобатга оладиган бўлсак, фавқулудда қийинчиликлар-

дан қочиш учун баъзан улардан воз кечишнинг иложи бўлмайди, чунки у ёки бу махсулотни (моддани) фақат уларнинг ёрдамида олиш мумкин. Мисол тариқасида моноклонал антитаналарни, трансген хайвонларни олиш ва хакозоларни эслатиб ўтиш мумкин.

Тозалик, хужайраларнинг кўпайиш ва вирус зарраларининг репродукцияси тезлиги, биомолекулалар ёки биотикларнинг фаоллиги ва барқарорлиги биотехнологик жараёнларни амалга оширишда биообъектларнинг муҳим ўлчамлари ҳисобланади.

Шуни назарда тутиш керакки, биотехнологиянинг танланган объекти учун қулай шароитларни яратишда ҳам ана шу шартлар мақбул бўлиши мумкин, масалан, контаминант – микроблар ёки ифлосланувчилар (лотинча сонтаминатион-юқиш, ифлосланиш сўзидан) учун ҳам. Қултура экинлардаги ёки хайвон хужайралари-

даги вируслар, бактериялар ва замбуруглар контаминациялашувчи микрофло-

раининг вакиллари бўлиб чиқади. Бу ҳолда контаминат – микроблар биотехнологи-

яда ишлаб чиқаришнинг зараркунадалари сифатида намоён бўлади.

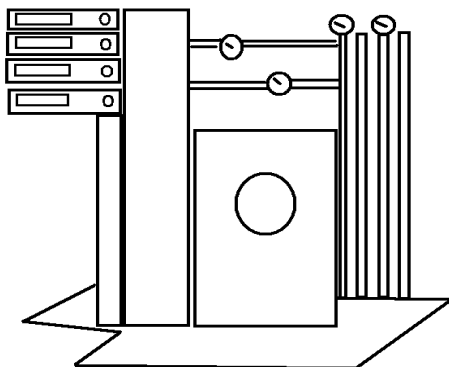
Ферментлардан биокатализатор сифатида фойдаланиш вақтида оддий сапрофитни (касаллик келтириб чиқармайдиган) микрофлора билан деструкциядан муҳофаза қилинган ёки иммобилизация қилинган ҳолатда сақлаш зарурати вужудга келади, микрофлора биотехнология жараёни мухитига ташқаридан, системанинг тўғри эмаслиги оқибатида тизимнинг у ёки бу қисмида герметиклик бузилганлиги сабабли кириб қолиши мумкин.

Хужайраларнинг кўпайиш тезлиги ва вирус зарраларини насл бериши хужайра массасининг ошиб боришига ва метоболитлар ҳосил бўлишига ёки фагларга нисбатан қўллаганда, йўқолиб бораётган хужайралар массаси кўпайишига тўғри пропорционал таъсир этади. Масалан, юқорида эслатиб ўтилган ёлғиз клонли организмга ёт жисмларни фақат хайвон хужайралари ёрдамида уларни йэтишириш давомийлигини мустақил ахамиятга эга бўлмаган тақдирдагина олиш мумкин.

Фаол ҳолатдаги биологик объектларнинг барқарорлиги - уларнинг биотехнологияда узоқ вақт фойдаланишга яроқли эканлигининг муҳим кўрсаткичларидан биридир. Шундай қилиб, биологик объектнинг доимий ҳолатидан қатъий назар амалиётда табиий генетик ахборотга эга, табиий уюшган зарралар (фаглар, вируслар) ва хужайралардан, ёхуд генетик ахборот сунъий равишда киритилган хужайралардан у микроорганизм, ўсимлик, хайвон ёки инсон бўладими барча ҳолларда хужайралардан фойдаланадилар. Мисол учун хавфли полиомиелит касаллигига қарши

вакцина яратиш мақсадида маймунлар буйраги хужайраларидан полиомиелит вирусини олиш жараёнини айтиб ўтиш мумкин. Шу ўринда биз вирусни жамлаб боришдан манфатдор бўлсак ҳам, уни қўпайтириш хайвон организми хужайраларида кечади. Харақизлантирилган ҳолатда фойдаланилган ферментлар билан бог`лик мисол кўп. Бу ҳолда ҳам алоҳида ажратиб қўйилган хужайралар ёки уларнинг тўқималар кўринишидаги, улардан керакли биокатализаторларни ажратиб қўйиш, ихтисослашган бирикмалари ферментлар манбаи ҳисобланади.

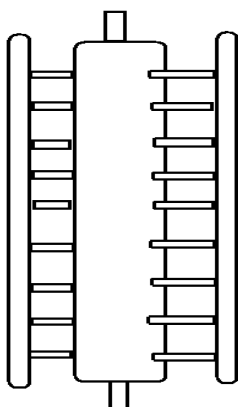
Биотехнологиянинг ўзига хос усуллари бор - биообъектларни даврий, ярим узлуксиз ёки узлуксиз тартибда кенг кўламли чуқур йэтишириш; махсус шароитларда ўсимлик ва хайвон тўқималарининг хужайраларини ўстириш усуллари махсус асбоб-ускуналарда бажарилади. Масалан, антибиотиклар, ферментлар, органик кислоталарни, баъзи витаминларни олиш жараёнида бактериялар ва замбуруг`лар ферментаторларда йэтиширилади (6– расм).



6-расм. Инсэлтэч фирмасининг бактерияларни ва замбуруг`ларни йэтишириш учун мўлжалланган биореактори (умумий кўриниши)

Худди шундай ферментаторларда оксил-интерферон олиш учун инсоннинг айрим хужайралари (бластолалар) йэтиширилади. Ўсимлик хужайраларини кўпинча тург`ун шароитларда шиша ёки полиэтилен идишларда зичлаш (мисол учун, агарли) мухитда йэтиширилади. Вахоланки, ўсимлик хужайраларининг баъзи турларини махсус ферментаторларда етиштирса ҳам бўлади. (7-расм). Хайвон хужайраларининг аксариятини ҳам шиша бройлерларда ёки товук эмбрионларида йэтиширишади.

Биотехнологияда фойдаланиладиган бошқа усуллар, масалан, микробиологи-ядаги, биокимёдаги, биоинжэнэрликдаги, органик кимё ва бошқа фанлардаги усуллар билан бирга умумий ҳисобланади.



7 - расм. Ўсимликлар учун мўлжалланган биореактор (умумий кўриниши)

Шунга қарамай, хужайралар ва ирсият инжэнэрлиги усуллари алоҳида ажратиб кўрсатиш керак. Улар синов шароитларидан хусусиятлари олдиндан маълум бўлган хужайраларни яратишга муваффақ бўлишмоқда. Жумладан, картошка ва памидор хужайраларини соматик дурагайлаш (чатишма “домато” деб номланди) инсулиннинг инсон ёки хайвон гормонлари синтези ҳақида ирсиятга доир ахборотини кейинчалик инсулиннинг полипептид занжирини йэтиширишга қодир бактериал хужайраларга (ичак таёқчасининг) кўчириш амалга оширилган. Мазкур усуллар, биринчи навбатда, ирсият-инжэнэрлик усуллари ҳозирги замон биотехнологиясининг заминини ташкил этади. Бунинг устига баъзи олимлар ирсият инжэнэрлиги ва биотехнологияни бир-бирига тенглаштиришга интиладилар.

1.3. Микробиотехнология

Илмий изланишлар бўлинмалари (фанлар сингари) шартли равишда фундаментал ва амалий қисмларга (бу атамаларнинг қамров соҳаси кенг эканлигига қарамай) бўлинади. Ундан ташқари, фундаментал ва амалий изланишлар ўз ичига тегишли академик ва соҳа муассасаларининг илмий шаклланишининг истиқболли режаларини қамраб олади.

Таъкидлаш жоизки, фундаментал (лот. фундаментум - асос) изланишлар дастлаб асосий муаммоларни ҳал этишга қаратилган бўлиб, улардан келиб чиқадиган аниқ натижалар эса амалий изланишларнинг асосини ташкил этади. Бунда илм асосий ҳал этувчи омил сифатида намоён бўлади, чунки илм –дунёни (дунё яратилишини) англаш учун мўлжалланган инсоният фаолиятининг бир соҳасидир.

Одатда фундаментал изланишлар тегишли билим соҳасида янги асослар ва қонуниятларни ўрнатилгандан ёки исботлангандан сўнг яқунланади. Вақт ўтиб бу асослар (қонуниятлар) амалиётга татбиқ этилади. Бунга

карамасдан, фундаментал ва амалий изланишлар тўхтатилмаслиги зарур, чунки маълум босқич-

да уларнинг қарама-қарши йўналишда трансформацияланишини кузатиш мумкин. Масалан, Дж.Уоцон ва Ф.Крик нуклеин кислоталар тўғрисидаги маълумот

ларни умумлаштиргандан сўнг ДНКнинг кўш спиралини табиий моделини таклиф этган ва шу билан дастлаб маълум бўлган «афсонавий» генга осос (фундамент) яратдилар. Бунинг асосида геннинг молекуляр биологияси жумладан, масалан, мутагенез бўйича кўплаб амалий ишланмалар юзага келди.

Иккинчи томондан, келиб чиқиши турлича бўлган ДНК ажратиш ва бошқа-

риш бўйича амалий ишланмалар умумий барча тирик жонзотларга хос бўлган генетик қонунларини ўрнатиш учун асос бўлди. Шунинг учун бугунги кунда ҳам буюк Л.Пастернинг сўзлари ўринлидир: «Ўўк, минг маротаба йўк, амалий фанлар деб номлаш мумкин бўлган ҳеч қандай фанлар мавжуд эмас. Фақат бир-бири билан дарахт ва унинг меваси каби бог`лик бўлган илм ва илм иловалари мавжуд».

Биологик технология – заррачалар (вируслар), хужайралар ва тўқималар, бирламчи ва иккиламчи метаболитлар, генетик материал билан ишлаш натижасида дастлаб олинган фактларнинг амалий татбиқи ҳамда илмий изланишлар симбиози сифатида шаклланган фандир.

Микробиотехнология ёки микроб биотехнологияси техника ва саноат ишлаб чиқаришда микроорганизмларнинг юқори қобилиятлари, хоссаларидан фойдаланиш мақсадида микробиология, биокимё ва инжэнэрлик фанларга малум чегарада асосланади.

Микробиотехнология мохиятига кўра саноат (техник) микробиологияга ўхшашдир. Унинг тадқиқот объекти микроблар – вируслар (виرويدлар ва фага), бактерия, замбуруг`, лишайник, протозоалар хисобланади. Биообъектлар билан бир қаторда бирламчи ўсимликдан олинган метаболитлар – ферментлар ҳам туради. Уларнинг каталитик фаоллиги инжэнэр энзимология асосида ётади. Ўсимлик ва хайвонот хужайраларига қараганда микроблар тез кўпаяди.

Микробларнинг биообъект сифатида нисбатан афзалликлари куйидагилар:

- геном тузулишининг юқори “соддалиги”;
- табиий ва суний муҳитга осон мослашуви (лабиллик);
- вақт бирлиги ичида хужайра массасининг тез ўсиши ;
- фермент реакция тезлигининг юқорилиги.

Биринчи афзаллик шундаки, микроб хужайралар ўзгариши ва ирсий материалнинг қайта курилишини таъминлайди. Масалан, бегона генетик малумотни киритиш, хужайрага плазмидани киритиш ёки элиминациялаш ва хоказо.

Иккинчи афзалликни бактерия ва замбуруг` мисолида келтириш мумкин. Яни хароратга қараб микроблар психрофил, мезофил ва термофилларга бўлинади. (Грекча психриа – совуқ, мэсос – ўртача, тэрмэ – иссиқлик, филэо – яхши кўраман). Улар учун оптимум кўрсаткич: 20 °С дан паст, 20 – 45 °С ва 45 °С дан юкори.

Фақат, кўрсатилган интерваллар бир-бирига ўтиши мумкин. Масалан, Хантхо-мас пхармисоланинг психрофил кўриниши 0 °С дан + 40 °С гачада ўсиши мум

кин, ластоба-силлус ластис мезофил 20 °С дан + 50 °С гача, термофил Вас. Соа-дуланс 20°С дан + 65°С гача. Шунинг учун кўшимча гурухчаларга ажратилди: облигат психрофиллар, факултатив психрофиллар, стенотермофиллар ва эвритер-мофиллар. Биринчи гурух 20°С дан ошади, учинчиси + 37°С дан паст харорат

да ўсмайди, тўртинчи гурух 37°С дан пастда ўсади.

Учинчи ва тўртинчи гурухдан ташқари яна битта термофил микроорга-низмлар гурухчасига киритиш мақсадга мувофиқдир. Унинг номи супертермофил бўлиб, харорат оптимуми 105°С га тенг. Ўгани сувнинг қайнаш хароратидан (100°С) юкори. Бундай микробларга Пуродистиум ва Пурососсус бактерия турлари киради. Пурососсус фуриосус сув ости гидро термал куйилишдан изоляцияланган бўлиб (Вулкано ўрта ер денгизи атрофида), хароратнинг кардинал нуқталари (минимум, оптимум, махимум) 60°С, 105°С ва 110°С га тенг (1 -график).

Замбуруг`лар орасида психрофил, мезофил ва камдан кам холларда эвритермо-филлар (юнонча эурис – кенг) учрайди. Лекин хозиргача стено- ва супертермо-

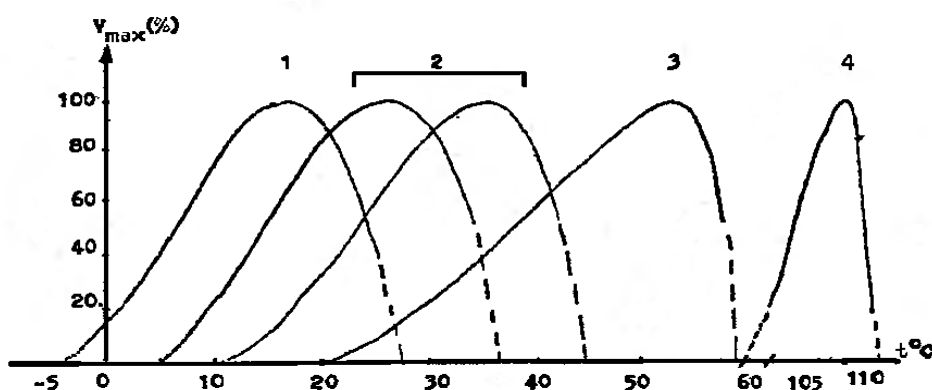
фил замбуруг`лар тавсифланмаган. Масалан, аспороген Сандида ачитқилари сирасига -10 дан + 37°С гача бўлган хароратда яшай оладиган турлар киради; диморф замбуруг`и Аурэобасидиум пуллуланс 16°С дан 30°С гача бўлган хароратда ўсади. Спрофит замбуруг`лар – биологик фаол моддаларнинг продуцентлари одатда ишлаб чиқариш шароитида 24-26°С хароратда йэтиширилади.

Микроорганизм хужайралари мухитнинг водород ионлари концентрацияси ўзгаришига лабиллик кўрсатади. Замбуруг`лар мухит кўрсаткичи пХ < 7.0 да ва бактериялар пХ > 7.0 да ўзларининг физиологик фаолликларини янада ёркинрок намоён қилиши қонуният сифатида аввалдан маълум. Бироқ бу қонуният алохида (айрим) микробларнинг пХнинг маълум бир ўзгариш ораликларида ўсиш ва кўпая олиш қобилиятига эга эканлигини тавсифлаб бера олмайди.

Масалан, сут кислота бактериялари кўпайиш жараёнида мухит кислоталиги

пХ=3 гача ёки ундан хам пастроқ даражагача ўзгартирилади. Сандида ачитқиларининг айрим вакиллари пХ 8.0-10.0 бўлган мухитларда сезиларли

лаг- ва лог- фазалар пролонга -циясидан сўнг йэтарли даражада хужайра биомассасини тўплаш хоссасига эга. Шу вақтда фақатгина мухитга адаптацияланиш (мослашиш) эмас, балки мухит кислоталилигининг ортиши юз беради.



1 - график. Микроорганизмларнинг физиологик функциясининг ўсиш тезлиги

Ачитқисимон диморф замбуруг` Аурэобасидиум пуллуланс pH 6.0-6.5 да яхши ривожланади, лекин pH 3.0-3.5 да экзогликан – аубазиданни ўзидан сезиларли даражада ажратади (ишлаб чиқаради).

Колония ҳосил қилувчи замбуруг`лар томонидан қатор иккиламчи метаболитларнинг ҳосил қилиниши мухитларнинг ишқорийланиши вақтида стационар ва ўлиш фазасининг чегарасида ўз аксини топади. Масалан, пенициллиннинг продукцияси $pH = 7.5$ да кўпроқ намоён бўлгани холда, Пэнисиллиум нотатум $pH = 4.5$ бўлганда нисбатан яхшироқ ўсади.

Ферментатив реакцияларнинг юқори тезликлари билан бог`лик бўлган, микробларнинг учинчи устуворлигини турли микроорганизмлар алоҳида турларининг кўпайиши мисолида кўриш мумкин. Қулай шароитли озуқа мухитларида *Э.Соли* ва *Бас.субтилис* хужайралари сонининг икки марта ўсиши 20 дақиқа ичида кузатилади; Сандида аблисанс нинг суяқ суслодаги кўпайиши – 30 дақиқадан сўнг;

T-фаг заррачасининг *Э.Соли* хужайрасига кирганидан 20 дақиқа ўтгач, 20 дан 200 гача янги фаг заррачалари пайдо бўлади ва х.к. Албатта, дунёда шун-

дай микроб вакиллари мавжудки, уларнинг кўпайиш вақти тезликлари кунлар билан ўлчанади. Масалан, туберкулёз микобактериялари. Ўстириш шароитлари ва ферментлар фаоллигини ҳисобга олган холда, реакциялар тезлиги кўпинча фермент-

лар фаол марказларининг, шу марказлар томон йўналган ва уларга қарама-қарши томонга йўналган субстратлар ва моддалар диффузиясининг билвосита микро атроф-мухитидаги реакциялар тезлиги ҳисобланади.

Микроблар қандайдир жуда кучли ва давомий бўлмаган таъсир натижасидан сўнг ўз мувозанатини тиклай оладиган, ўз-ўзини идора эта оладиган тирик системалар сирасига киради. Агар таъсир қилаётган куч жуда кучли ва мунтазам бўлса, у холда бу организм нобуд бўлади ёки янги мувозанатлашган холат-

га ўтади. Бу хол, масалан, мутаген факторлар таъсири ёки мутантларнинг пайдо бўлишида кузатилади. Бу холда шуни айтиб ўтиш жоизки, микроорганизмлар яшашнинг ўзгарган шароитларига ўсимлик ва хайвонларга нисбатан осон ўрганади ёки кўникади. Шуни ҳам айтиб ўтиш керакки, адаптив имкониятлар сапрофитларда паразит турларга нисбатан ёрқинроқ намоён бўлган. Бу хол паразитларга нисбатан сапрофитларда кўпроқ миқдорда ферментлар тўплами мавжудлиги билан боғлиқ, аниқроғи, ферментлар – бу бирламчи метаболитлардир, яъни охир оқибат ферментларнинг арсенали (тўплами) генотип бўйича аниқланади.

Хужайра миқёсидаги микробиотехнология амалий жихатдан фито- ва зообиотехнологияга нисбатан анча олдин ривожланган. Мисол тариқасида қатор озик-овқат (сут, нон, пишлоқ) махсулотларини тайёрлаш, вино, пиво, спирт, органик кислоталар, аминокислоталар, антибиотиклар, ферментлар, алоҳида витаминлар, қишлоқ хўжалиги моллари учун оқсил ва бошқа моддалар, ишлаб чиқарилиши ген инжэнэрлигига асосланган моддаларни келтириш мумкин.

Ушбу бобда вирус препаратлари ва протозой организмлар ишлатиладиган (қўлланиладиган) жараёнлар биотехнологияси хақида маълумотлар келтирилмаган. Вируслар облигат ёки шарциз паразитлар хисобланиб, тирик организм тўқималарида йэтиширилади, протозоа эса ишлаб чиқаришда хали ўз ўрнини топгани йўқ.

Микроскопик сув ўтлари – кэйинги бобда биообъект сифатида кўриб ўтилган. Ушбу боб биотехнологик жараёнларда биообъектларнинг, яъни икки қироллик вакиллари – бактерия ва замбуругларнинг ишлатилишига бағ`ишланган.

1.4. Микроорганизмларни култивация (ўстириш) қилиш тамойиллари

Микробларнинг озуқа мухитига киритилишида, айниқса, кўпайишнинг логарифмик ёки стационар фазалар даврида улар физиологик фаолликлари индукцияси катта ахамиятга эга. Бу холда иммобилланганган ёки эркин ферментлар томонидан катализланадиган кўплаб реакциялар бир вақтда бир бирига боғлиқ холда кетади. Реакцияда, айниқса, биринчи босқичда маълум конфигурацияга эга бўлган молекулалардан иборат юқори молекуляр бирикмалар қатнашади (углероднинг глюкоза ва крахмал каби манбалари ёки азот манбалари – аммоний сульфат, қандайдир аминокислота ва оқсилни солиштириш). Шунинг учун микроорганизмларни ўстиришнинг ўзига хослигини хисобга олиш зарур.

Микробларни ўстириб, улардан бирламчи ва иккиламчи метаболитларни олиш мақсадида култивация қилиш (йэтишириш, ўстириш) нинг асосий хусусиятлари қуйидагилар:

1. Узоқ вақт давомида асептик қоидаларга риоя этиш имконини берувчи ёз, 200, 1000 м³ ва ундан катта хажмдаги биореакторларни қўллаш зарурияти;
2. Озуқа мухитларининг специфик характеристикалари – хароратнинг кардинал нуқталари ва pH билан бог`лиқ бўлган биообъектларнинг ташқи кўринишлари даги фарқлар;
3. Биотехнологик жараёнларни масштаблаш (режалаштириш) қийинчиликлари билан бог`лиқ бўлган кимёвий, иссиқлик, диффузион ва гидродинамик критерияларнинг доимийлигини сақлашнинг мумкин эмаслиги;
4. Аэроб ва анаэроб микроорганизмларда масса алмашиниш жараёнларидаги фарқлар – аэробларни ўстириш уч фазали системада амалга оширилади (қаттиқ жисм (хужайра) – суюқлик – газ), анаэроблар эса икки фазали (қаттиқ жисм (хужайра) – суюқлик) системаларда йэтиширилади.
5. Масса алмашиниши (биринчи навбатда аэроблар учун хаво кислотаси)ни яхшилаш учун културал мухитларни аралаштириш кераклиги. Бу эса, ўз навбатида, кўпик хосил бўлишига сабаб бўлади ва натижада кўпиксизлан тириш зарурлигини айтиб туради.
6. Микроорганизмлар механик, физик ва кимёвий таъсирларга сезгирдирлар.
7. Таъсирлар махсулотларнинг микробли синтезида индукция, фаоляция, ингибиция, репрессия ва продуцентнинг кўпайишини ва охириги махсулот биосинтезига тўсқинлик қилувчи бир қанча бошқа жараёнлар ўрин эгаллайди.
8. Таъсирлар махсулотлар биосинтезининг тезлиги кимёвий синтез тезлигига караганда бирмунча сёкинроқ боради.
9. Биотехнологик жараёнларда ишлатилувчи микроорганизмларнинг алоҳида турлари касаллик келтириб чиқарувчи (дифтерия ва столбасимон таёкчалар, туберкулёз микобактериялари, холера

вибриони ва бшқ.) ҳисобланиб, улар устидаги ишлар алоҳида эътибор билан олиб борилади.

10. Микроблар оламининг айрим вакиллари фақатгина тирик тўқима хужайраларда (товуқ эмбриони, инсон ва хайвон хужайралари) ўстирилиши керак. Бундай вакиллар қаторига вируслар ва риккецийлар киради.

Исталган биотехнологик жараён шартли равишда икки босқичга бўлинади:

1. Ферментация олди босқичи. Ферментация олди босқичи ўз ичига озуқа мухитлари, биообъектлар, аэроблар учун ҳаво, биореакторни тайёрлашни олади. Озуқа мухитининг компонентлари хужайра ичига кираётган у ёки бу озуқа манбаининг трансформацияси ёки сарфланаётган энергия ҳисобидаги метаболит билан боғлиқ бўлган материал баланс ҳисоб-китоби асосида танлаб олинади. Одатда озуқа мухитларнинг сифат ва миқдорий таркиби регламент ҳужжатларда кўрсатилган бўлади.

Тайёрлов босқичида ишлатиладиган озуқа мухитлари иккинчи босқичда ишлатиладиган мухитлардан фарқ қилишлари мумкин. Масалан, лиофил қуритилган она културани экишда одатда фойдали ингредиентлар билан бойитилган суюқ озуқа мухитлари тавсия этилади. Кейинги экишлар аввал агар солинган ферментацион мухитга экиш билан, сўнгра суюқ мухитга экиш билан амалга оширилади. Биообъектларни тайёрлашда барча озуқа мухитлари стерилланган бўлиши керак. Биообъект ёки саноат штамми куйидаги шартларга жавоб бериши керак:

1. Саноатда эксплуатация ва узоқ вақт давомида сақлаш натижасида структур-морфологик белги ва физиологик фаолликнинг стабил бўлиши;
2. Лаборатория ва саноат шароитларида юқори ўсиш ва таъсирий модда биосинтези тезлиги;
3. Ноқулай ташқи мухит омиллари таъсирига йўтарли даражада тургунлик диапазони;
4. Чегараланган (белгиланган) озуқа манбаига стабил талабчанлик; ишлаб чиқариш штамми қанчалик кўп миқдорда углерод, азот ва бошқа элементлар манбаини ишлата олса, шунчалик даражада уни юқори иқтисодий самара билан култивация (ўстириш, йўтишириш) қилиш мумкин.

Ҳақиқатда эса ҳар бир штамм ўзига хос хусусиятларга эга ва у юқорида келтирилган барча талабларга жавоб бера олмайди. Шунини айтиш мумкинки, озуқа мухити қанчалик ингредиентларга бой бўлса, шунчалик микроорганизмлар унда яхши ўса олади.

Қуруқ модда ва маккажўхори таркибидаги кимёвий ингредиентлар

Ингредиент	Таркиби, %	Ингредиент	Таркиби, %
Аминокислоталар		Зол элементлари	
Аланин	2,4-5,9	Алюминий	0,007-0,02
Аргинин	1,0-2,4	Темир	0,023-0,068
Валин	0,8-1,8	Калий	0,450-1,350
Гистидин	0,2-0,4	Калций	0,225-0,675
Изолейцин	3,5-4,2	Магний	0,188-0,563
Аспарагин кислота	1,0-2,7 3,5-8,8	Марганец	0,006-0,018
Глютамин кислота		Мис	0,001-0,002
Лейцин		Натрий	0,075-0,225
Лизин		Фосфор	0,006-0,018
Метионин		Рух	0,005-0,016
Пролин		Витаминлар	$(1,5-5,5) \cdot 10^{-3}$
		Биотин	$(1,2-1,8) \cdot 10^{-2}$
		Никотин кислота	$(0,8-1,4) \cdot 10^{-2}$
		Пантотен кислота	
Серин		Органик кислоталар	
Тирозин		(учувчан, сут)	5,1-12,0
Треонин		Сахароза	0,1-11,0
Триптофан			
Фенилаланин			
Тсистин			

Кўп йиллар давомида озуқа мухитларига кўшимча модда сифатида жўхори экстракти кўшиб келинади. Чунки у углерод ва азотга бой бўлиш билан бирга микроэлементлар ва витаминларга ҳам бойдир. Унинг таркибида қуруқ моддалар миқдори 45-55% ни ташкил қилади. Мана шу қуруқ моддалар таркибининг 1.5-4.5% ини зол (коллоид) моддалар ташкил қилади (1-жадвал).

Қуруқ модда ҳиссасига мос ҳолда турли хил моддалар – аминокислоталар (аргинин - 5%, валин - 5.5%, гистидин - 4%, изолейцин - 5.5%, лейцин - 7.9%, лизин - 8.2%, метионин - 2.5%, тирозин - 5%, треонин - 4.8%, триптофан - 1.2%, фенилаланин - 4.5%, цистин - 1.5%) ва витаминлар (биотин - 0.3%, калция пантотенат - 0.01%, р-аминобензой кислота - 0.016%, никотин кислота - 0.059%, фоли кислота - 0.0001%, пиридоксин монохлор - 0.0002%, рибофлавин - 0.01%, тиаминмонохлор - 0.017%, холинхлорид - 0.27%) га бой бўлган Сасхаромйсэс сэрэвисиаэ

хужайраларидан олинган ачитқиси экстракти хам кўп ишлатилади. Ундан ташқари, ачитқи хужайралари биомассасининг 50% игача миқдорини оқсил ташкил қилади.

Экстрактлар ўрнига ачитқи автолизат ва гидролизатларини қўшиш мумкин.

Ўлчаш учун, биореакторларни транспортировка (ташиш) ва ортиш учун ишлатиладиган катта хажмли ускуналар озиқ-овқат саноатида қўлланиладиган ускуналар – турли хил тарозилар, насослар (масалан, вакуумли), транспортёрлар (лентали, шнекли), элеваторлар, контейнерлар ва бошқаларга аналог (ўхшаш) ҳисобланади. Газсимон ва суюқ маҳсулотлар одатда стерил трубопровод тизими орқали биореакторларга тушади (қўйилади). Кенг кўламли ишлаб чиқариш саноатида озуқа мухитлари ва уларнинг айрим компонентлари иситиш ёки мембраналар орқали филтрлаш орқали стерилланади. Иссиқлик билан стериллаш даврий ва тўхтовсиз бўлиши мумкин. Биотехнологияда стериллашнинг бу иккала туридан хам фойдаланилади.

Доривор моддаларни, масалан, парентал юборишда ишлатиладиган антибиотикларни олишда юқори даражада стерилланган озуқа мухитлари ва таъсирий моддалар талаб этилади. Бунда қўйидаги тенгламадан келиб чиққан ҳолда 10^{-12} катталиқдан кичик бўлмаган бактерия спораларининг омон қолиш кўрсаткичларини камайтиришга ҳаракат қилиш керак.

$$1-P_0(t) = 1-e^{-Nt};$$

Бунда, P_0 – микроорганизмлар популяцияси;
 e – натурал логарифм; t – вақт;

$$N_t = N_0 e^{-k_d t}$$

N_0 – стерилизациядан олдинги мухитдаги ҳаракатчан микроор-

ганизмлар сони;
 k_d – микроорганизмнинг ўртача яшаш умрига тесқари бўлган катталиқ;
 $1-P_0(t)$ – битта микроб танасининг яшаб қолиш эҳтимоли.

Кўриниб турибдики, биообъектни экишдан олдин хам озуқа мухити, хам биореактор стерил бўлиши керак. Биореакторни стериллаш жараёни унинг ичидаги мухитни стериллаш билан биргаликда олиб борилади.

Биообъектларни тайёрлаш регламент инструкциясида келтирилган маълумотлар-

га асосан олиб борилади. Завод ёки цех лабораторияларида културани инокулюм

(инокулят) ёки экиладиган материалга ишлов бериш учун тайёрлаб қўйиш талаб этилади. Шу мақсадларда анабиоз (лиофиллаш ёки сублимацион куритиш йўли билан стерил тупроқ, кумда куритиш) ҳолатига яқин шароитларда сақланиб қолувчи микроорганизмнинг бошлангич штамми зичлаштирилган озуқа муҳитга стерил тоза озуқа муҳитини қўшгандан сўнг тирилтирилади. Култура тозалиги (муҳитдаги она ва киз хужайралар бири-биридан деярли фарқ қилмаса ва улар орасида ҳеч қандай уруғчилик алоқалари бўлмаса, муҳит тоза ҳисобланади) га амин бўлингандан сўнг, штамми муҳитга экиш жараёни пробиркалардан колбаларга ўтиш билан асептик шароитларда олиб борилади.

Биообъектнинг кейинги тайёрлов босқичлари ишлаб чиқариш саноати фермен

тацияси учун экиладиган материал йетишириладиган ферментатор-инокуляторлар-

дан фойдаланган ҳолда сеҳларда олиб борилади. Бунда бир хужайрали културалар Лог фаза охирининг ўрталаригача олиб борилади, яъни хўжайрлар синхрон равишда бўлинаётган вақтда. Маълумки, “синхронлашиш даражаси” тушунчаси, яъни популяция хужайраларининг синхрон бўлинишдаги иштироки синхронлашиш индексида ўз аксини топади:

$$I_s = \left(\frac{N_1}{N_0} - 1 \right) \cdot \left(1 - \frac{T}{g} \right).$$

N_0 – синхрон бўлинишдан олдинги хужайраларнинг сони;

N_1 – синхрон бўлинишдан кейинги хўжайрлар сони;

T – Лог фазага тўғри келувчи вақт;

g – битта генерациянинг давомийлиги.

Суспензиянинг зичлигига боглиқ ҳолда унинг миқдори ишлаб чиқариш ферментаторининг 1-20% хажмий улушини эгаллаши мумкин. Аэроб микрооргани-

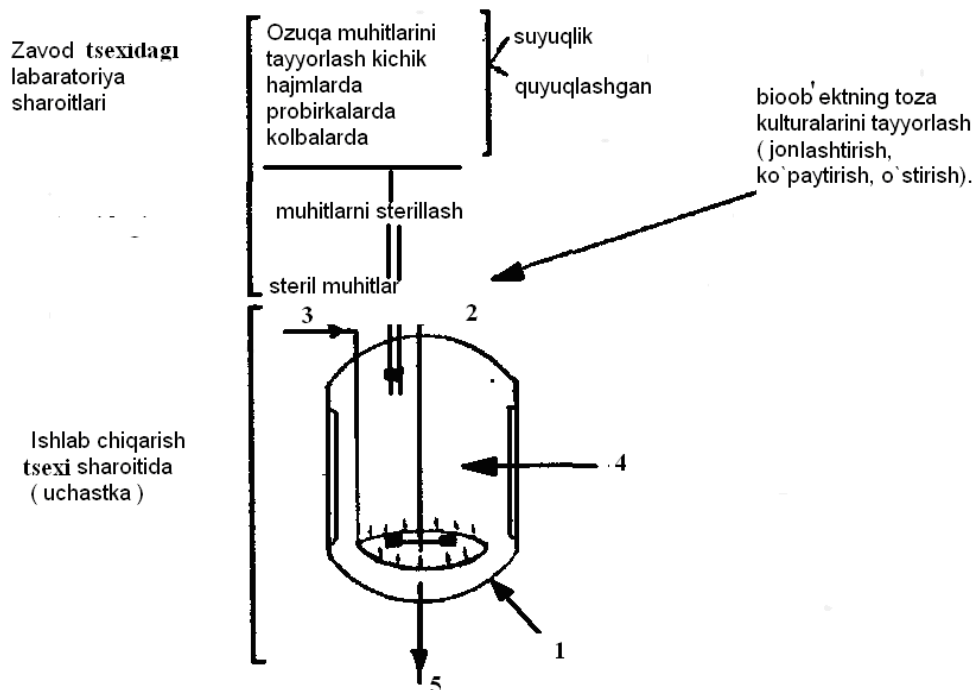
змлар учун инкубаторга тозаланган стерил ҳаво юборилади.

Умуман олганда, ферментация олди жараёни 8-расмда келтирилган. Эҳтимолий босим йўқотишлари содир бўлиб туришини ҳисобга олган ҳолда ишлаб чиқариш ферментаторларига ўхшаб инокуляторларда ҳам оз миқдорда ортиқча ҳаво босимини сақлаб туриш ўринли ҳисобланади. Бу билан биотехнологик жараённинг асептик ҳолати қўшимча тарзда таъминланади.

Инкубаторлар қуйидаги асосий талабларга жавоб беришлари шарт:

1–конструктив соддалик; 2–қулайлик; 3–эксплуатациядаги ишонччилик.

Хозирги замон сепиш аппаратлари қуйидагича катталикларга эга: 10, 5, 2, 0.63 м³, диаметри 0.9 дан 2 м гача ва аралаштиргичнинг айланиш тезлиги дақиқасига 180 дан 270 тагача.

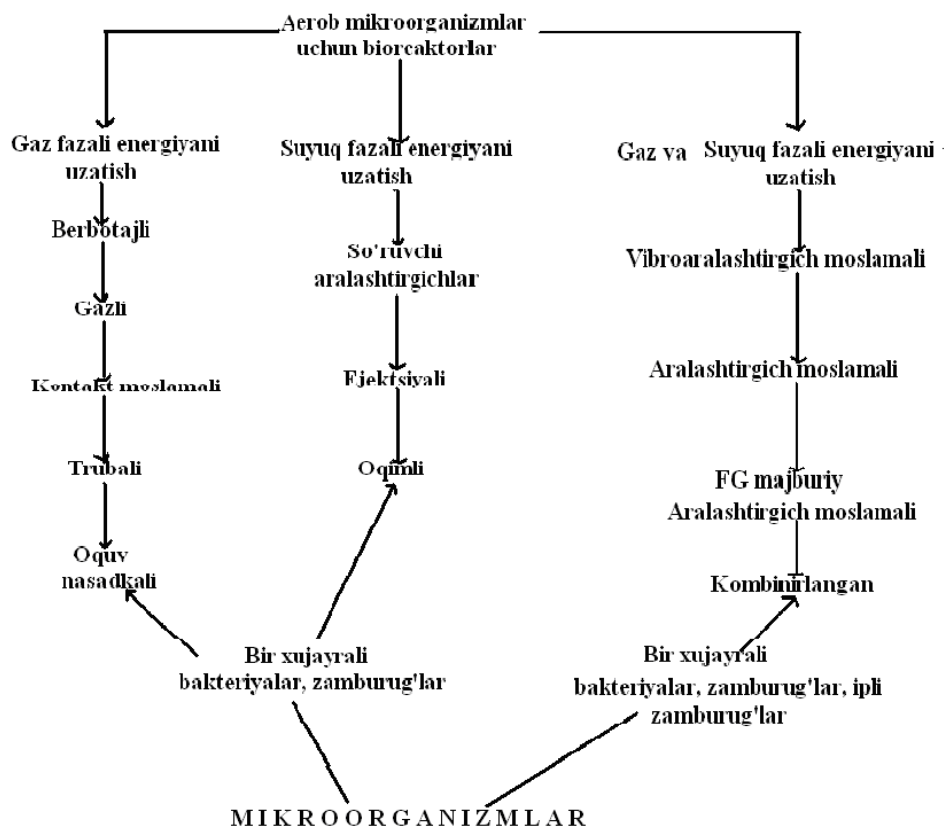


8 – расм. Экиш материални олиниши

- | | |
|---|----------------------|
| 1-инокулятор; | 4-жараённи бошқариш; |
| 2-аралаштиргич; | 5-тўкиб олиш жойи. |
| 3-аэроб-микроорганизм тозаланган стерил хавони бериш; | |

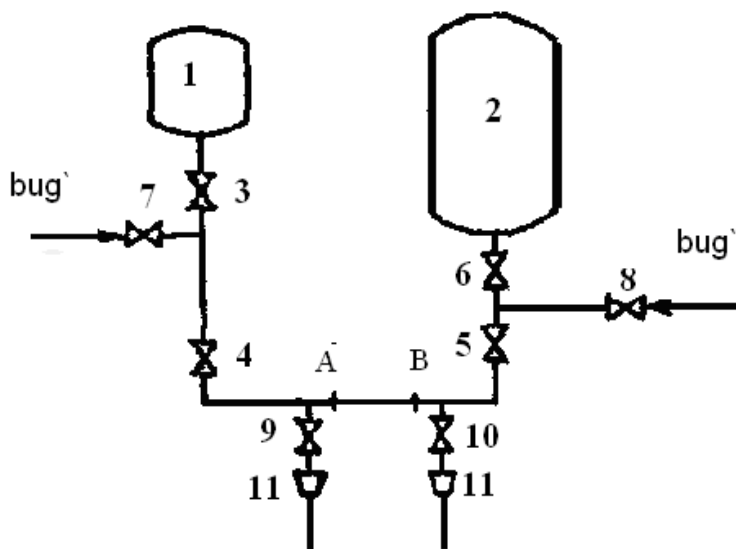
2. Ферментация. Ферментация жараёни деб номланадиган биотехнологик жараённинг иккинчи босқичи ишлаб чиқариш биореакторларида олиб борилади. Биокимёвий келиб чиқишига кўра бу жараён ферментация олди жараёнига ўхшаб кетади. Ферментация жараёнида стерил озуқа мухитлари, хаво ва ўстирилаётган микроорганизмларнинг хусусиятларига бог'лиқ холда танланадиган биореакторлар ишлатилади. 9-расмда шундай биореакторлар турлари келтирилган.

Муайян зичликка эга бўлган суспензия холидаги микроорганизм инокулятордан биореакторга ёки стерил суяқ озуқа мухити бўлган ферментаторга келиб тушади. Бунда ташқаридан хеч қандай бегона микроорганизм (микроб) продуцент билан бирга озуқа мухитига тушиши керак эмас. Шунинг учун системанинг барча қисмлари герметик бўлиши шарт.



9-расм. Аэроб микроорганизмлар учун биореакторларни танлаш

10-расмдан келиб чиққан ҳолда, жараён кетма-кетлиги қуйидагича бўлади: 4- ва 7- клапанлар очилади (3- клапан ёпиқ ҳолатда) ва АБ трубопровод қисм 20 дақиқа давомида 1.055 кг/см^2 босим остида сув буг`и билан стерилланади; конденсат (11) қопқонда йиг`илади; 7,8,9,10 клапанлар ёпилади ва 4,5,6 клапанлар очилади; ферментатор тозаланган стерил хаво босими остида совутилади; стерил озуқа мухити эса трубопроводни тўлдирди. Ферментатордаги босим 0.14 кг/см^2 га камайтирилганда, экиш аппаратидаги босим 0.7 кг/см^2 гача оширилади. Сўнгра 3- клапан очилади ва эгиладиган материал ферментаторга олиб ўтилади. Сўнгра инокулятор ва ферментатор 3- ва 6- клапанлар ёпилиши билан буг` узатиш тизимидан узилади. 7- ва 8- клапанлар очилади ва 4-, 5- клапанлар озгина очилган ҳолатда бўлганда буг` ва конденсат туширилади.



10-расм. Трубопроводлар тизимида инокулятордан саноат ферментаторига экиш учун ёпиш-бошқариш мосламаси

Ферментатор умумий ҳажмининг 70-80% инокуляция қилинган муҳит билан, 20-30% эса газлар (инерт газлар – анаэроблар учун, ҳаво – аэроблар учун) билан тўлдирилади.

Суюқлик аэрацияси ферментация жараёнининг унумини камайтирувчи кўпик ҳосил қилгани учун механик (ферментаторнинг юқори қисмида кўшимча аралаштигич ўрнатиш) ёки физик-кимёвий (газ-суюқлик фазалар чегарасидаги сирт тарангликни камайтириш учун сирт фаол модда ишлатиш) кўпик сўндиришдан фойдаланилади.

Ферментация жараёнининг давомийлиги биообъектларнинг ўзига хос физиологик фаоллигига боғлиқ ҳолда 4-5 кундан 14 кунгача ва ундан ортиқ давом этади. Антибиотиклар ва экзогликанлар биосинтезининг даврий ферментацияси 4-5 кун давомида олиб борилади.

Текшириш учун саволлар:

1. Биотехнологик усуллар нима?
2. Биотехнологиянинг қисқа таррақиёт даври қандай?
3. Фундаментал илмий пойдевор нима?
4. Биотехнология муаммоларига бағишланган конгресслар ҳақида?
5. Ўзбекистон ўз олдига қўйган масалалари қандай?
6. Биотехнология фанининг юзага келиш йил?
7. Биотехнологияга доир биринчи жаҳон конгресси қачон бўлиб ўтди?
8. Биотехнологияга доир биринчи журнал қачон нашр этилди?
9. Биотехнология ўқитув фани сифатида Ўзбекистон университетларда қачондан ўқитиладиган бўлди?

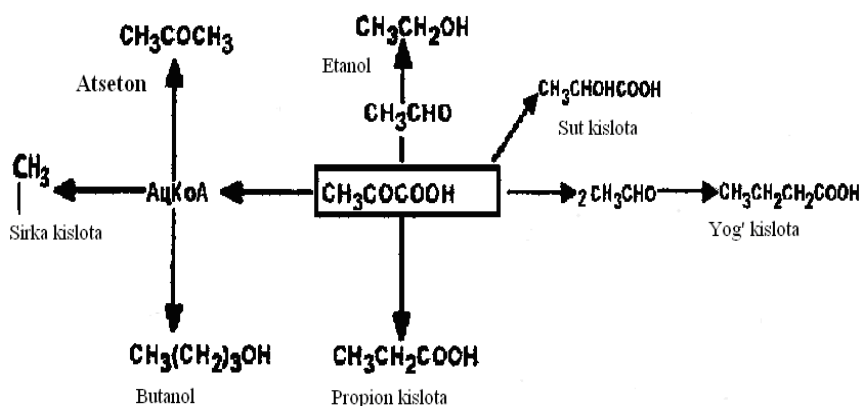
10. Биотехнологларнинг қандай илмларни биргаликда фойдаланишга асосланади?
11. Хозирги замон биотехнологиясининг асосий йўналишлари қандай?
12. Энзимология инжэнэрли биотехнологиянинг қандай соҳаси?
13. Қандай асосий мақсад ва масалалар биотехнологлар олдида турибди?
14. Биотэхнологиянинг объектлари ва усуллари қандай?
15. Хужайраларнинг кўпайиш тезлигига нималар таъсир қилади?
16. Биологик объектларнинг муҳим кўрсаткичларидан бири нимадан иборат?
17. Биотехнологиянинг фақат ўзига хос усуллари қандай?
18. Ферментаторлар нима учун кэрак?
19. Ўсимликлар учун мўлжалланган биореакторнинг умумий кўриниши қандай?
20. Биореакторни стериллаш жараёни қандай олиб борилади?
21. Биобъектларни тайёрлаш қандай олиб борилади?
22. Инкубаторлар қандай асосий талабларга жавоб беришлари шарт?
23. Хозирги замон сепиш аппаратлари қандай катталикларга эга?
24. Экиш материални олиш схемасини тушунтиринг?
25. Аэроб микроорганизмлар учун биореакторла қандай танланади?
26. Ферментатор умумий хажми нима билан тўлдирилади?
27. Ферментация жараёнининг давомийлиги нэча кунгача?

2 -БОБ. МИКРОБИОТЭХНОЛОГИК ЖАРАҲОНЛАР

2.1. Бижг`иш (ачиш) махсулотларини олинishi

Бижг`иш (ачиш) – биологик жараёнларнинг бир тури бўлиб, унда асоснинг (субстрат)нинг гетеротроф микроорганизмлар таъсирида ачишидир.

Биотехнологик антибиотиклар, аминокислоталар ва бошқа махсулотлар, бижг`иш жараёнлари анча олдин ўрганилган. Лекин баъзи бижг`иш турлари амалиётга яқинда қўлланила бошланган. Масалан, *Зймомонос spp.* иштирокида бижг`иш. Бижг`иш жараёнининг асосида универсал реакция ётади яъни глюкозани оралиқ махсулот пирозум кислота, пируватга айланиши олинган махсулотлардан биз учун керакли бўлган моддалар синтезланади.



Спиртли бижг`иш. Ушбу жараён асосида этил спиртини, озуқа учун ишлатиладиган ачиткиларни, пиво ва вино ишлаб чиқариш ётади. Спиртли бижг`ишни келтириб чиқарувчи ачиткилар-сахаролициетлар, баъзи бир митцеллалар замбуруг`лар (Аспэргиллус орийзаэ) ва бактериялар (Эрвиния айлловора, Сарсина вэнтрисула, Зймомонос мабилис). Ушбу келтирилган микроорагнизмлар ачитишда асосий модда ҳисобланади.

Этанол спиртини олиш. Этанол халқ хўжалигида муҳим аҳамиятга эга. Эритувчи сифатида кимёвий синтезларда ва медицина соҳасида кенг қўлланилади.

Махсус штаммлар

Сасчаромйэс сэрэвисиаэ этанол олишда биобъект ҳисобланади. (Африка қитъасида кўпинча *Счизосасчаромйэс помбэ* ва *С.остоспотус*). Штаммлар бижг`итишга қараб бўлимларга бўлинади. Юқори қобилятига қараб – парчасимон (хлопевиднўе) ва чангсимон (пўпевўе) ларга бўлинади. Юқоридан бижг`иш спирт, нон, пиов ачиткилари ҳисобланади. Пастдан бижг`ишга кўпчилик вино ва пиво ачиткилари киради. Иккала

ачитувчиларни хужайралари флокуляцияга учраш мумкин. Бунда бир нарса ёдда тутиш керакки бижг`иш жараёни мобайнида чангсимон ачитқилар дисперсирланган холатда бўлади. Улар автолизга кам барқарор, лэкин нисбатан суслони бижг`иш жараёнини тўлиқ олиб борилади, Пахтасимонлилар (ғоваксимон) тубга чўкади ёки юқорига сузиб чиқар, улар ороматизаторлик хоссасига эга. Этанол продуцентларини баъзилари 2-жадвалда берилган. *С.сэрэвисиаэ* фарқли равишда Аэротолэрانت бактериялар *З.мобилис* этанолга кам таъсирчан, уларда катаболит репрессияси мавжуд эмас. Глюкозани қабул қилиш тезлиги этанолнинг хосил бўлиши 2-3 маротаба юқори ($\kappa\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}=1,87\text{г/г}\cdot\text{с}$).

2-жадвал

Баъзи микроорганизмларнинг характеристикаси

Микроорган измлар	Култиватция -нинг оптимал бирликлари		Максимал этанолнинг ажралиши % ларда	Этанолнинг г максимал концентра цияси г/л	Ўзига хос хусусиятлари
	pH	T ⁰ C			
Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ	3-4	30	100	130	Пектоза иштирокисиз
Пачйсолэн тонноплус	4,2	25	40–60	20	аралаш културада ўсади, ксилоза иштирокида
Зймомонас анаэробиа	5,6	35	90–95	96	термостабил (хароратга чидамли)
Слостридиум тхэрмохйдрос улфурисум	6,9-7,5	69–70	80	–	генерация вақти 70 мин, Аэротолэрانت
Слостридиум тхэрмосасча ролитисум	–	55–60	70	Ксилозада 27	бутират хосил қилади
Тхэрмоанаэро бастэр этханолисус	5,8-8,5	69	90	–	генерация вақти 90 мин; pH оптимуми кэнг

Глюкоза катаболизми Энтнер-Дудоров механизми бўйича боради лекин бу бактериянинг кўпайиш тезлиги ва спирт ажратиш хусусияти паст. Кўпроқ

С.росэи биз учун муҳим. Бу ачитқилар земляная груша иштирокида этанол ҳосил қилиш хусусиятига эга. Унинг таркибида инулин борлиги сабаб гидролизни этанол ҳосил бўлишгача олиб боради. Земляная груша хатто шимолда (Архангелс, Ленинград) ва бошқа минералларга бой бўлмаган тупроқларда ўсади.

Этанол олишда махсулот сифатида турли давлатларда турли хил ўсимлик махсулотларининг донли махсулотлар картошка-Россияда, Украинада, Беларуссияда, сахароз ва тростникли мелассани-Америкада, гуруч-Японияда фойдаланилади. Умуман ўзида гексозан моддаларни сақлаган ҳар қандай махсулот этил спирти олишда фойдаланса бўлади. Масалан, целюлоза, сомон, торф ва бошқ. Шунинг учун целюлозада мавжуд бўлган сульфатли кукун этил спиртини олишда кенг фойдаланилади.

Пастда кўрсатилган технологик схема бўйича этанол олишда биринчи навбатда крахмални амилолитик ферментлар таъсирида глюкозага айлантирилади. Амалиётда одатда замбуруг` (А.нигэр, Аспэргиллус орийзаэ ва бошқ) қўлланилади. Баъзида ўстирилган дон ишлатилади.

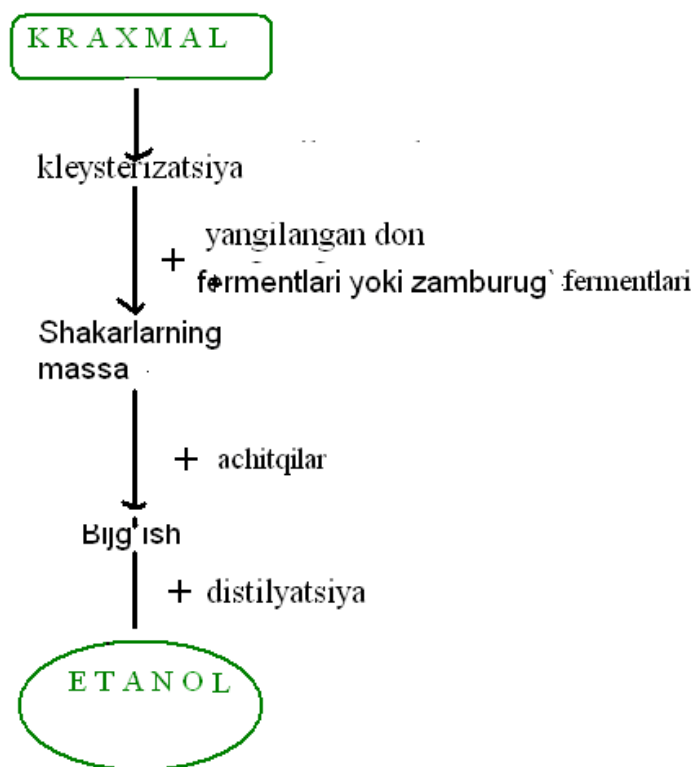
Этанол олишда турли хил махсулотлардан (картошка, макка донлари, буг`дой, дон, гуручда) олинган крахмалардан фойдаланилади. Клейстер ҳосил қилиш учун крахмал махсулоти болг`ачали ва айлантиргичли майдалагичлар ёрдамида яхшилаб майдаланилади.

Масалан, буг`дой ёрмасини 68⁰С ва 30 дақиқа давомида тўлиқ клейстерланади. Сўнг крахмал кичик молекула сахаролитик бирикмаларга гидролизланиши лозим. Гидролизловчи моддалар сифатида замбуруг`лардан олинган ферментлар қўлланилади. Крахмал аминок ва амилопектиндан иборат. Амилаза ўз навбатида биоза-малтозагача гидролизланади. Амилопектин эса ўз навбатида декстринни экин парчаловчи ачитқилар таъсирида малтозагача бижг`ийди, эритмада шакар ва декстритлардан ташқари оз миқдорда аминокислоталар, пептидлар, макро ва микро элементлар, ноорганик тузлар, (фосфор, фосфорорганик бирикмалар) сақланади. Шакар ва декстритнинг концентрациясининг кўплиги бактериялар учун осмотик босими туфайли қулай шароит яратмайди. Кейинроқ, осмотик босим камайгандан сўнг этанолнинг ҳосил бўлиши ошади.

Бижг`иш даврида ҳароратни 30-38⁰С оралиг`ида ушлаб турилади (ачитқиларни турига қараб). Бижг`иш жараёнида нафақат ачитқи тури, ҳарорат, пХ га бог`лиқ балки конструктив асосли ферментацитоз аппаратлар (совутиш системаси, иситиш, аралаштириш) ҳам бог`лиқ. Бижг`иш жараёнида ўртача 1,5-3 суткагача вақт сарфдланади. Бижг`иш жараёнида 1-1,5% дан 6,5-8,5% гача этанол олинади. Уни хайдаб ректифицирланади 96%гача. Ундан ташқари бижг`ишда “Сивушкали мойлар” (юқори қайнаш фракцияси 90-150⁰С), 5-10% алдегид ва эфирлар сақланади.

Сивушкали мойлар изопротил, изоамил (2- метил ва 3- метил бутанол) спиртлар аралашмасидан иборат. н-бутил ва изоамил спиртларининг миқдори 50% ни ташкил этади. Сивушкали мойлар таркибида шунингдек β -фенил ва п-оксифенил этил спиртлари мавжуд.

Маккажўхорининг хар хил навлари, гуруч, буг`дой ўзида ўртача 65-75% гача крахмал сақлайди. Бу крахмалдан 45 дкл гача этанол олиш мумкин. Ишлаб чиқариш қолдиқ махсулотлари сифатида барда ва (CO₂) диоксид углерод ҳисобланади. Бардан қорамол ва парранда озукаси сифатида фойдаланилади. Диоксид углероддан эса озиқ овқат ишлаб чиқариш саноатида “қурук муз” сифатида ишлатилади.



Этанолни шунингдек ўзида целлюлоза сақлайдиган дарахт пўстлог`и ва ўтли ўсимликлардан ҳам олинади. Бундай гидролизатлар таркибида одатда 2-3,5% редуцирловчи шакарлар (кўпроқ генеозалар, камроқ пектозалар) мавжуд бўлади.

Ген инженерия усулларидадан фойдаланган ҳолда, янги ачитки Счизосасчаромйсэс помбэ ксилозоизомераза ферменти биосинтезини кодлаштирувчи ген олинди. Бу фермент Д-ксилозанинг Д-ксилулэзага ўтишини катализатори фермент ҳисобланади.

Шу орқали ксилозани тўғ`ридан-тўғ`ри этанолга ўтказиш амалга оширилди. С.помбэ хужайралари ўзида ксилозоизомераза ген орқали бир вақтнинг ўзида глюкоза ва ксилозаларни гидролизлайди.

Маълумки табиатда кенг тарқалган, глюкоза ва ксилозаларни бижқитадиган бактериялардан *Тхэрмоанаэробастэр отханолисус* мавжуд. Бироқ хўжалик

максадида мувофиқлик бўлиши учун ушбу бактериялар таъсирида бижг`ишда этанолнинг концентратияси 4,5-5% дан кам бўлмаслиги керак.

Гидролизловчи спирт аралашмаларидан тозаланганидан сўнг ректификация 0,05-0,1% гача метаноллар кўпгина алдегидлар, органик кислоталар ва эфир сақлайди.

Тсэлюлозани қайта ишлашда қолдиқ махсулот хисобланган сулфит кукуни, ўзида 3% шакар сақлайди. Масалан, игна баргли ўсимликлардан 29% гача глюкоза, 4,24% гача галактоза, 43% гача манноза, 174% гача ментоза, 4% гача фруктоза ва 3% гача турли хил органик кислоталар олиш мумкин.

Дарахтларнинг ёғ`очлик қисмини сулфит кукуни билан қайнатилади. Олинган ярим махсулот даставвал цэлюлоза қолдиқларидан тозаланади, гидролиздан сўнг эса (махсус *Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ*) бактериялари ёрдамида бижг`итилади, бу жараён анча арзон хисобланган, натижада “Сулфитли спирт” олинади. Ушбу махсулот ўз таркибида 2-8% метанол ва бошқа аралашма қолдиқларни сақлайди. Сулфитли спирт техника мақсадларида қўлланилади.

3-жадвал

Сулфитли кукунини намунавий таркиби

Ингредиентлар	%
куруқ моддалар	11,5-12,2
глюкозага нисбатан редуцирловчи моддалар	2,0-2,7
глюкозага нисбатан бижг`итиладиган углеводлар	1,3-1,9
Метоксил гурухлар	0,78-0,8
Кул	1,2-2,1
Олтингугурт (ИИ) оксиди	0,4-1,4
Калций оксиди	0,6-1,0
Умумий олтингугурт	0,9-1,6
Сулфатлар	0,1

Дарахтларнинг ёғ`очлигини қўллаган холда одатда этанол ва ачитқиларнинг биргаликда олиш мақсад қилиб қўйилади. Бу процесслар

алохида ҳам олиб борилади. Спирт ва хашак ачитқининг биргаликда ишлаб чиқаришда абсолют куруқ ёғочдан чиқувчи модда кўрсаткичлари қуйидагича бўлади:

Этанол (абс.) – 175-182 л;

Метанол – 2 кг;

Сивушкали мойлар -0,3 кг;

Фуурофузол (94% ли) – 5,6 кг;

Углерод диоксиди (суяқ) – 70 кг;

Қолган намлиги 10 % ли бўлган ачитқи – 32 кг;

Лигнин (абс. куруқ) – 380 кг;

Гипс – 225 кг.

Спиртли ачишда тез-тез (дам-бадам) лавлаги шакар ёки шакар камиш олишдаги чиқиндиси – меласса ишлатилади. У ўртача 80% куруқ модда ва 20 % сувдан иборат. 30-40% дан 45-50% гача бўлган куруқ модда биоэа-сахарозадан, 0,5-2% раффиноза ва 12-18% гача инвентар шакар (глюкоза ва фруктозанинг аралашмаси) ва бошқа моддалар аминокислоталар, бетаин (органик асос), (Б-гурух витаминлар, ноорганик тузлар, пигментлардан туради ва мелассанинг пХ 7,2-8,9 диапазонда бўлади.

Мелассани бир вақтда этанол ва хашак дрожжэллар олиш учун фойдаланилади. (11- расм (а)). “Оқимли” ва “гидролизли” ачитқиларни солиштириб, хужайранинг асосий ингредиентлар бўйича қуйидаги маълумотларни келтирса бўлади.

4- жадвал

“Оқимли” (ОҚ) ва “гидролизли” (ГД) ачитқиларнинг кимёвий таркиби, гуруғ имоддада

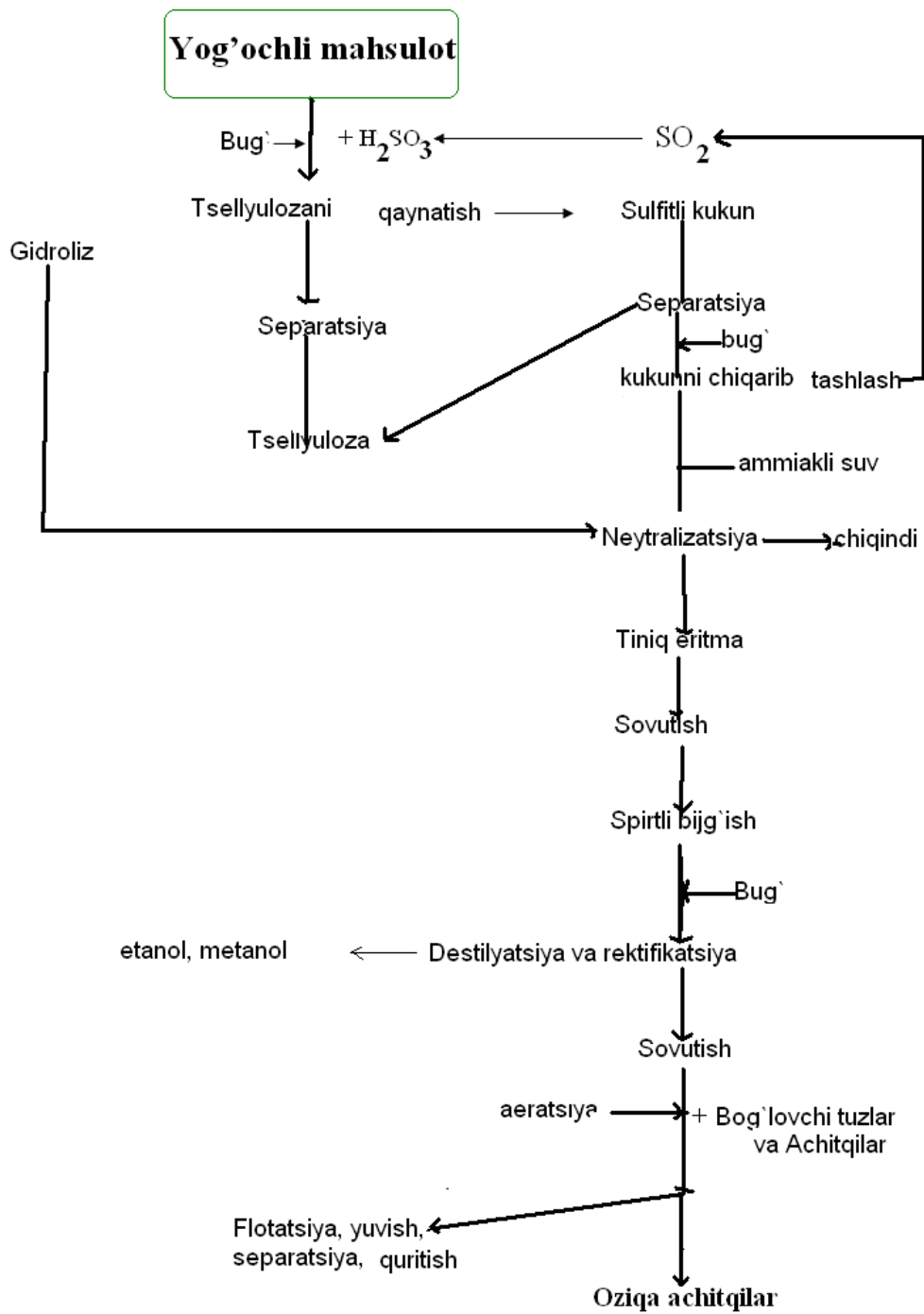
Ингредиентлар	ОА (%)	ГА(%)
Оқсиллар	46-52	43-58
Биотин	$3 \cdot 10^{-5}$ - $1,6 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-5}$ - $2,3 \cdot 10^{-4}$
Кул элементлари	12-14	5-11
Инозит	0,045-0,35	0,12-0,48
Никотин кислотаси	0,036-0,045	0,04-0,06
Пантотен кислотаси	0,009-0,011	0,006-0,01
Липидлар	0,5-2	3-4
Пиридоксин	$7 \cdot 10^{-4}$ - $1,2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$ - $2 \cdot 10^{-3}$
Рибофлавин	0,004-0,007	0,004-0,013
Углевод	10-18	11-23
Холин	0,38-0,75	0,25-0,45

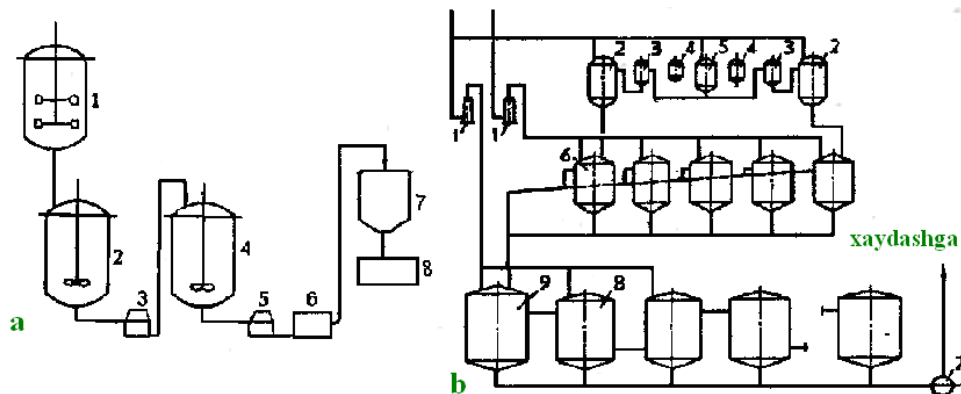
Оқимли ачитқида нисбатан кам миқдорда липидлар, баъзи витаминлар (биотин, инозит, пиридоксин, рибофлавин), углеводлар бор, лекин пантотен кислотаси, тиамин, холин ва кул элементлари бир оз кўпроқ бўлади. Оқимли ва гидролизли ачитқиларда оқсил миқдори тахминан тэнг.

Этанол ва нон пиширишдаги ачитқиларни мелассада олишнинг бир схемаси 11–(б) расмда келтирилган. Қайнашдан олдин (ачитувчиларни) нон пиширишдаги ачитқиларнинг сепаратлаштиради. Бу ишлаб чиқаришдаги бардани хашак ачитқиларини ўстиришда ишлаца бўлади.

Шакарли қиёмдан (поток) этанолни олиш учун фойдаланиладиган шакарларни (рафинозани хам) тез ва эффектив ачитиш ва юқори хароратга 35⁰С гача чидамли бўлиши керак.

Затор тайёрлаш учун оқимни сув билан 14-18% концентрацияли шакар олинганича суюлтирилади, pH 4-5 гача гугурт (X₂CO₄) кислотаси (ХСЛ ёки сутли кислота хам бўлади) қўшилади, агар зарур бўлса 0,1% аммонийли ва 0,01 % фосфорли тузлар қўшилади ва сўнг суспензиянинг хажми бўйича 2-4 % фаол ачитқи Сасчаромйёс сэрэвисиаэ (Россияда кўпинча В 30 расаси ва шунингдек Я расаси, пиво ачитқисининг соматик гибридланиши натижасидан олинадиган α - галактозидазасининг хосил қилувчи диплоид гибридлар 67 ва 73 ни ишлатади) қўшилади.





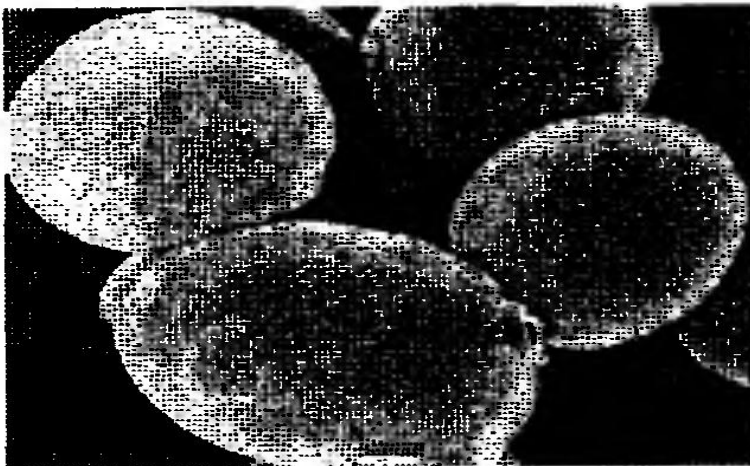
11- расм. Технологик схема

а - озиқа ачитқини олиш: 1- ферментатор; 2 ва 4 - йиг`увчи; 3 ва 5 - сепараторлар; 6 - термо иситгич; 7 - курутгич; 8 - кадоқлаш, фасовка;

б - мелассадан этанол тайёрлаш ва нон пиширувчи ачитқиларни олиш: 1-рассиропчи; 2 – 4-тоза ўстиргич (култура) аппаратлар; 3-стерилизаторлар; 6 –ачитқи генератори; 7 - насос; 8 - кезувчи аппарат; 9 - бошқа (асосий) кезувчи аппарат.

Жараён бошида ачишни 21-27⁰С хароратда, кейинги вақтда 32-33⁰С ўтказди. Ачиш жараёнининг ўтиши мелассанинг сифатига бог`лиқ, ўртача ўтиши 36-72 соатни ташкил қилади, ачитқидаги этанол 6-9% қурийди.

Заторнинг бактериал контаминацияси қоида бўйича уларнинг pH кўрсаткичини паслиги ва шакарни кўп бўлиши (бу икки фактор асосий бўлиб, улар бактериянинг ўсиш ингибирларини аниқловчилар бўлиб хисобланади) ёрдамида йўқолади.



12-расм. Меласса мухитидаги Сасхаромйёсэ сэрэвисиаэ раса В-30 ачитқиси, х7000

Ачиш жараёнини хар хил вариантда амалга оширса бўлади у тинимсиз, икки стадияли жараён, (11-расм) ачитқи генераторда (6 позиция) мухитни 3-4 м³/м³с 28-30⁰С аралашганда ва пХ 4,2-4,5 бўлганда, курук моддаларга нисбатан 2,5-6,5% гача ачитқилар ўстирилади, сўнг кезувчи аппаратга ўтилади (8,9 позициялар), бу эрда анаэроб шароитда (кислородсиз) спиртли ачиш жараёни боради. Спиртни хайдаш ёки дистилляциясини уни қўшимчаларидан ва кейинги ректификациядан ажратиб ва 96 % этанол ёки абсолют (100 %) спирт хосил бўлиш мақсадида ўтказилади.

Спиртли ачишни хар хил йўл билан кўрсатиш мумкин.

1. Даврий ферментация ўрнига тинимсиз ферментациядан фойдаланилса, бу система махсулотни этанол бўйича икки марта кўтаради, бунда иложи борича фаол ачитқиларнинг флокулловчи (шўктирадиган) расасини ишлатиш биомассасининг рециркуляциясини амалга ошириш, хужайра иммобилизацияси олиб борилади.
2. Этанолни йўқотиш ва унинг ингибирлаш таъсирини камайтириш мақсадида 4265,6-4665,5 Па гача кучайишида вакуум ферментациясини ўтказиш (контаминация) холати бўлишининг борлигини эсдан чиқармаслик керак.
3. Флеш-ферментацияни амалга ошириш,–ўстириш учун (културал) суюқликдан вақтида этанолни йўқотиш учун вакуум камерага юборилади.
4. Ачиш вақтида солиштирмали юқори концентрацияли спирт хосил қилишга микроорганизмларнинг этанол–толерантли (барқарор) штамлари селекциясидан фойдаланилади.

Бу келтирилган спиртли ачиш усуллари турли мамлакатларда амалиётда фойдаланилади. Охирги йилларда “газ-суюқлик” бўлиниш фазасининг устида ёки газнинг кўпигидан иммобилизацияланган ачитқилардан фойдаланиб, углеводга эга хом ашё ёрдамида амалга оширилди. Бу мақсадда ачитқиларнинг аниқ штамларини ишлатилади, масалан, *Сандида трописалис*, анаэроб усулида ўстирилади.

Иммобилизалаш коэффициентини қуйидаги формула бўйича хисобланади:

$$K_{im} = \frac{x_1 - x_2}{x_1}$$

X_1 – биореактордаги абсолют курук ачитқининг концентрацияси (г\л).

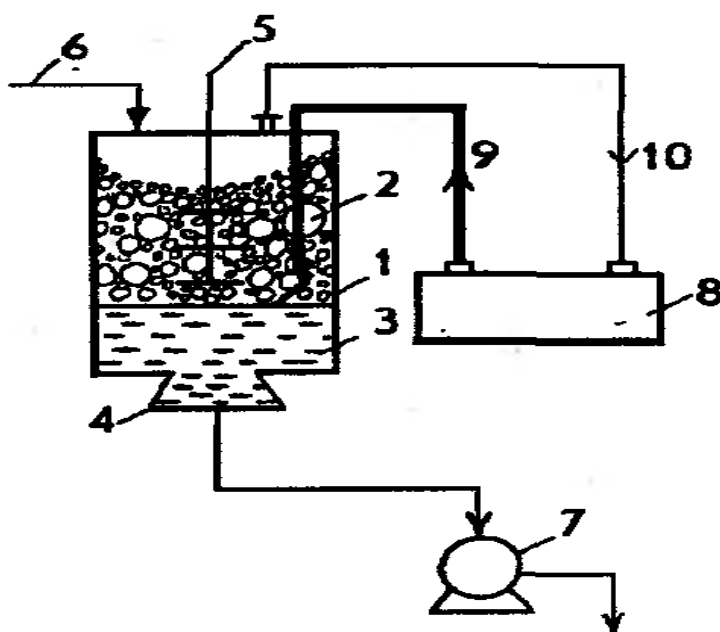
X_2 – ачитқиларнинг оттоқдаги (г\л) концентрацияси.

Хар хил ачитқи организмлар учун $K_{им}$ бир хил эмас. *Сасчаромӣсэс сэрэвисиаэ* ва *С.уварум* учун $K_{им} = 0,1$, *С.вини* учун $K_{им} = 0,22$, *Ширасасчаронӣсэс сп.* ЛГС-1 штамм $K_{им} = 0,07$, *С.трописалис* $K_{им} = 0,02$ дан 1,0 гача.

Бу жараённинг амалга оширишнинг асосий усули хужайраларнинг флотацияга қулайлигини, газ - суюқлик эмулсия усулида ферментаторнинг ишлаши, зонада ўстириш суюқлигини тенглашни амалга ошириш аралаштириш учун келиш энергиясидан айрилган.

Қулай бўлган газ - эмулсион режими кўпириб ётган субстратларнинг интенсив кўринадиган барботажда келиб чиқади. Бу мақсадда ярус турбинли аралаштиргичли ферментёрдан фойдаланилади (13- расм).

Берилган усул куйидаги авзалликларга эга: хужайра ва култивация жойида диффузион қобик бўлмайди, ташувчи бэъхато регенэрация қилинади, жараённи олиб боришда хужайраларни кўпайиши, уларнинг иммобилизацияси ва асосий биотиехнологик жараён билан спиртни олиш. Мисолдаги спирт бижг`ишда шакардан спирт хосил бўлиши 95% эканлиги кўрсатилган.



13-расм. Суюқлик-газ системасида фазаларнинг ажратувчи юзасида иммобилланган, замбуруг`ли организмлар ёрдамида углевод сақловчи хом ашёларни бижгитиш учун ферментатор
 1 – ферментатор; 2- қуёқ қатлам; 3-энергия узатилмайдиган зона; 4- ялқон юза; 5-аралаштиргич; 6-озуқа мухитини узатиш;
 7-насос; 8-компрессор; 9-газ (бериш); 10-газ (узатиш).

Хамиртурушни олишда мелос мухитини хосил қилиб, (пХ 4,4 - 4,5) юқоридан бижғиш бўлади. Биринчи ва охири соатида ферментацияда операция 1:1 га тенг, ачитқи кўпайиш даврида 1,5:2 га тенг. Хужайра бу даврда кўпайишни хамма босқичидан ўтади, қуруқ ачитқини чиқиши қуруқ массанинг 38% ташкил этади.

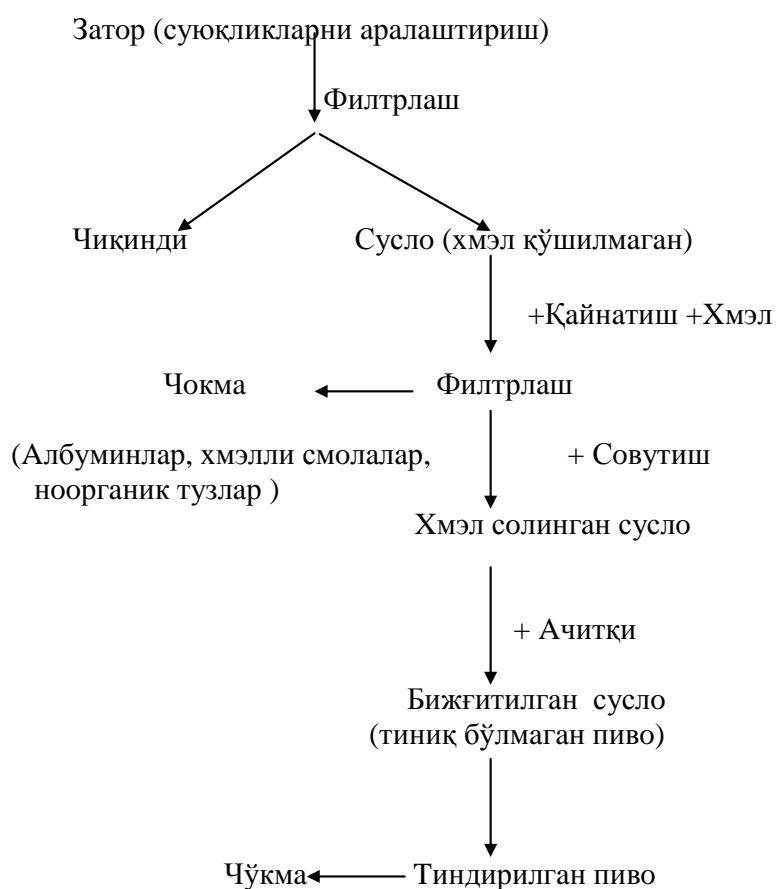
Пресланган хамиртурушни ювиб 4-5⁰С да рефрижираторда (музлатгич) сақланади. Хамиртурушга қўйиладиган талаблар қуйидагича: намлиги 75% дан кўп бўлмаслиги кэрак, ун билан тез бижг`ийдиган, шакарни тез бижг`итиши кэрак.

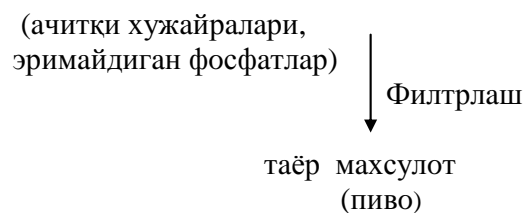
Ундан ташқари суюқ хамиртуруш (ачитқи) хам олинади, Хамиртурушни намлигини 7-10% гача йўқотилади, у шакарли сувда ўстирилган *Ластобассуллур дэллруэхй* бактериялардан олинган.

Пиво саноатининг хам асосида спиртли бижг`иш этади. У бошоқдош ўсимликлардан олинади.

Пивони навларида этанол углеводлар, азот сақловчи моддалар, ферментлар, бижг`итишдаги қолдиклар, смола, танин, эфир мойлари, тузлар ва мойлар бўлади.

Пивони ранги, хиди, таъми бижг`итувчи бактериялар турига бог`лиқ. Агар пиво хмел ўсимлигидан олинса жараён дамлаш ёки қайнаш билан олиб борилади. Биринчи усулда майдалаб, 38-50⁰С сувга қўйилади, протеазалар фаоллашганда крахмал сутини гидролизлаш учун 65-70⁰С да икки-уч дақиқа қолдирилади. Сўнгра 75-77⁰С да ферментлар денатурацияга учратилади ва затор филтрланади.

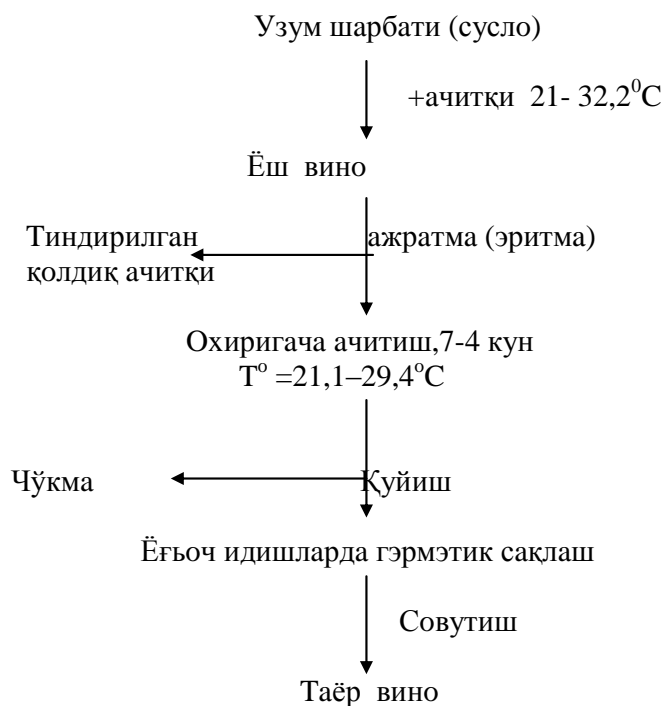




Иккинчи усулда майдаланған массани илиқ сувға солиб, хароратни 75°C гача оширилади. Бунда ферментлар ўзгариб, хужайра қобиг`и ишиб кетади. Массани $1/3$ қисми олиниб қайнатилади ва қайтариб қўйилади. Биринчи усулда олинған пиво хуштам хисобланади ва аччиқ тамлари ҳам бўлади.

Сепарациядан ўтған пивони дори сифатида ҳам ишлатилади.

Охирги йилларда Бас.субтилу генини β -глюкозани ўзгартирувчи, яни *Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ* ачитқини ўтказишни имкони топилди. Штамм крахмали тўғ`ридан - тўғ`ри спиртга ўтказади. Спиртли бижг`иш вино саноати асосида ҳам етади. Уни бузилмаған узум шарбатидан олинади. Бижг`итувчилар *Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ* турига кирувчилар хисобланади. Винода этанолдан ташқари оксил, пигментлар, тузлар, учувчан кислоталар, танин, углеводлар, глицерин бўлади.



Вино (мусаллас) нинг хар хил турлари мавжуд. Узум навига қараб – навли, нав аралашшига қараб- аралаш, шакар миқдорига қараб – ширин ва

курук, табиий ва ўткир, спирт миқдорига қараб – ошхона ва десертли, кўмир кислота миқдорига қараб – газли ва газсиз, рангига қараб – оқ ва қизил, сақланиш муддатига қараб – “ёш” ва маркали бўлади.

Турига қараб шуни айтиш мумкинки, қуруқ винода деярли шакар бўлмайди, бўлса ҳам, оз миқдорда бўлгани учун там орқали сезилмайди. Ширин винода шакар мазаси келиб туради. Табиий винода 9-11 % айрим холда – 13 % этанол бўлади. Ўткир қуруқ винога коньяк ёки вино спирти қўшилади. Ошхона виносига 14 %, десертлида 14 % данкўпроқ (ўртача 20 %) спирт ва малум миқдорда шакар бўлади.

Газли винода CO_2 анчагина кўп миқдорда бўлади, девори қалин идишларда винонинг бижг`ишигача ҳосил бўлади.

Газли турига шампан киради. Шампан виноси винонинг иккиламчи махсулоти бўлиб, бижг`имаган винога герметик идишга қуйилмасидан аввал 2,2 % шакари бўлган ликёр қўшилади. Россияда шампан виносини узлуксиз ишлаб чиқариш технологияси ишлаб чиқилган. Шампан виносига фақатгина CO_2 кўп миқдорда бўлмай, балки бир қатор муҳим метаболитлар ҳам бор. Улар ўзига хос мазани беради.

Тайёрланган йили сотувга чиқган винони “ёш”, камида 1,5 йил тургани ва ўзининг юқори сифатларини сақлагани – маркали дейилади.

Яна мева винолари ҳам малум (узумдан ташқари), улар пишган мева: олча, олма ва бошқаларни спиртли бижг`итиш усули билан олинади.

Узум мевасида турли микроорганизмлар учрайди (замбуруг`, ачитқи, бактерия). Уларни вино тайёрлашдан аввал ўсишини тўхтатиш зарур, акс холда юқори сифатли вино олиш кафолатланмайди. Микроб – контаминант ингибитори сифатида илгаритдан ва самарали тарзда CO_2 қўлланади. Масалан, калий метаби сулфит кўринишда (тахминан 0,1 дан 0,2 % гача CO_2) ишлаб чиқариш штаммини пасайтирмайди.

Узумдаги шакар концентратсияси – ферментация жараёни учун муҳим ҳисобланади (ширада 28 %дан юқори бўлса, бижг`итишни тўхтатади). Дастлабки концентратсияси 14% бўлиши ва харорат муҳим рол ўйнайди. Тайёр винода юқори кислоталик бўлмаслиги учун, шира пХ 3,6 дан паст бўлиши тавсия қилинди, кўпчилик замбуруг` ўсиши учун оптимал харорат 27-29⁰С деб танланади. Лекин психрофил турлари узум ширасини 10⁰С да ҳам бижг`итади, яни паст хароратда ва сўкин бижитад.

Ацетон ва бутанол биосинтези (Эмбден–Мейергоф–Парнас усули бўйича) муҳитининг пХ га боглиқ – кичик қийматда ацетон – Ац Ко А нинг ацетонга трансформациясида қатнашувчи ферментлар фаолланади. Мос равишда бутирил- K_0A бутанолга қайтарилишида ХАД,Х кўпроқ сарфланади. Сирка ва мой кислота муҳим компонентлар вазифасини бажаради. Вахоланки, улардан биринчиси бутиратгача конденсатланиши мумкин, ўз навбатида, бутирил- K_0A орқали бутанолга айланади (оз миқдорда этанол ҳосил бўлиши мумкин).

Шундай қилиб, бутанол ва ацетонлар ацетонбутил бижгишнинг асосий махсулоти ҳисобланади.



Маълумки, бирламчи алифатик спиртлар антимикроб хусусиятга эга. Шунинг учун озикланиш мухитида биож`увчи углеводлар концентратияси 6 % дан ошмасилиги керак. Чунки, агар бутанолнинг концентратияси ингибирловчига яқинлашса—1,5 %, Сл *асэтобутйлисум* уларни утилламайди.

Ялпи махсулот учун қўлланадиган хом ашё сифатида жўхори ва буг`дой кепаги билан аралаштирилган меласса (ёки мелок) ишлатилади. Инокулятни янги спорадан (ўстириш харорати 37⁰С) тайёрланади. Бутанол хосил бўлиши бўйича фаоллиги ўша мухитда бўлади. Асосий ферментациялар даврий, ярим узлуксиз ва узлуксиз режимда олиб борилади. Дастлабки мухитнинг пХ қиймати тахминан 6,0 га тенг, 12 соатдан кейин пХ 4,1-4,2 гача пасаяди ва бу қиймат ферментациянинг охиргача қолади.

Жараён тугагач, ацетон бутил ацэтобутил барда сепарацияланади, дистиллят эса буг`латилади тахминан ярмигача.

Турли хароратларда хайдаш йўли билан ацетон этанол ва бутанолдан ажратиб олинади. Ацетон 56,2⁰С, этанол 78,4⁰С, азеотроп сувли бутанол 93,4⁰С да, тоза бутанол – 117,7⁰С да қайнайди.

Ишлаб чиқариш чиқиндилари сифатида газсимон водорот, СО₂ (100 кг сахарозадан 30м³, 70 % ни СО₂ ташкил қилади) ва зич ацетонобутил барда хосил бўлади. Чиқаетган газларни йиг`иб аммиак ва метанол синтезида ишлатиш мумкин.

Барда – мухим махсулот бўлиб, таркибида кўп миқдорда рибофлавин, куруқ моддалар (азотли) 3-5 % гача бўлади. Илгари бардани куритилган холда молларга ем сифатида берилар эди, хозирги вақтда у ем ачитқисини йэтишириш учун ишлатилади.

2.2. Органик кислоталарни олиниши

Органик кислоталарни олишда аниқ биотехнологик жараённи кўриб чиқишдан аввал, “бижиг`иш” терминиға анаэроб шароитда фақат сут ва пропион кислоталарни мос бактериялар орқали хосил қилишни киритамиз. Чунки, лимон, глюкон, итакон ва бошқа органик кислоталарнинг микромицетлар билан биосинтези турли оксидланиш (аэробли) жараёнида кетади. Шунинг учун уларни биожғиш жараёниға киритиш шартли равишдадир.

Сут кислота (СН₃ СНОН СООН) табиий шароитда сут ва сут махсулотларининг лактобактрия билан бижиг`иши натижасида хосил бўлади. Яна ишлаб чиқиш шароитида мақсадға мувофиқ равишда олинади. Нордон сут бактериялари тўрға наслға мансуб: *Ластобасиллус*, *Сэосоностос*, *Стрэптососсус* ва *Пэдисоссус*.

Ластобасиллус насли учта гуруҳға бўлинади: *Тхэрмобастэриум*, *Стрэпто- бастэриум* ва *Бэтабастэриум*.

Биринчи гурух вакиллари 15⁰С да ўсмайди, аммо 50⁰С дан юқори хароратгача чидайди. Бетабактериялар глюкозадан ДЛ–сут кислотани хосил қилади, улардан айримлари (термобакткррия, стрептобактерия, стрептокока ва педикока) гомофермент хисобланади. Гексозани бижг`итиб сут кислотани хосил қилади. бошқалари (бетабактерия ва лейконосток) – гетерофермент бўлиб, сут ва сирка кислота, СО₂, айрим холда этанолни хосил қилади.

Нордон сут бактерияларни малтоза, глюкоза, лактоза, шакарли крахмал ва бошқаларда ишлатиш мумкин.

Умуман, лактобактериялар озуқа мухитига талабчан бўлади-уларга витаминлар (13 гурухи), аминокислоталар, пурин ва пиримидин, алифатик каторидаги органик кислоталар (сирка, лимон, олеин) керак бўлади. Глюкоза ва крахмал гидролизати учун амалиётга одатда Ластобасиллус дэлбруэчии, *Л.Булгарисус*, *Л.лэичманиш* (алохида, ёки ўзаро аралашма холда ёки *Стрэптососсус ластис* билан) қўлланилади. Малтозанинг бижг`иши учун айрим холларда *Л.сасэи* ишлатилади.

Саноатда сут кислотани ишлаб чиқариш учун одатда термофил гомофермент турлари қўлланади. У 50⁰С да бутун махсулотни фаол синтезлайди. Бундай турга юқори стабилли ва фаол кислота хосил қила олувчи *Л. дэлбруэскиш* штамм А-3 киради.

Қўлланаётган шакар миқдorigа қараб сут кислотасининг чиқиши 95-98 % ни ташкил этади. Бу усул В.Н. Шапошников раг`барлигида 1923 йилда саноатда қўлланган.

Л (+) – сут кислотасини олиш технологик схемаси қуйидаги боскичлардан иборат: ундирилган солод, 5-20 % шакар, ачитки экстракти, витаминлар, аммоний фосфат тутган мелассли мухитга *Л. дэлбруэскиш* экилади. Бижиг`иш 49-50⁰С да пХ 6,3-6,5 да кетади. Сут кислотанинг чиқишига қараб бўр (мел) билан тайёрлаб турилади. Ферментация жараёни 5-10 кунда тугайди, бунда хосил бўлган суюқликда 11-14 % калций лактат ва 0,1-0,5 % сахароза (80-90 г лактак 100 г сахарозадан хосил бўлади). Бактерия хужайралари ва бўр филтрлаб олинади (чикинди), филтрат 30 % концентрацияга буг`латилади, 25⁰С гача совутилиб кристалланади. Кристалланиш жараёни 1,5-2 суткагача давом этади. Калций лактак кристаллари 60-70⁰С да сульфат кислота билан қайта ишланади. Гипс чўкмага тушади, чўкма устидаги суюқликка 65⁰С да темир ионларини йўқотиш учун сариқ кон тузи қўшилади. Сўнг ог`ир металлларни йўқотиш учун натрий сульфат қўшилади. Бўёк моддалар фаолланган кўмир ёрдамида йўқотилади. Кейин сут кислота эритмаси вакуум-буг`латгичда (800-920 кПа қолдиқ босим остида)

50 % ёки 80 % гача буг`латилади.

Охиригача тозаланмай қолган сут кислота эритмаси техник мақсадларда фойдаланилади. Тоза кислота унинг мураккаб метил эфирларидан хайдаб, қарама-қарши оқимли насадкали минораларда оддий изопропил эфири билан экстракциялаб олинади.

L. болгарисус ёрдамида сут зардобидан сут кислота олинади. *L. брэвис* хужайраси билан бижг`иш учун жўхори, самон ва бошқа пентозли хом ашёлар ишлатилади.

80 йиллар охирига келиб *Стрэнтососус Тхэрмобхилус* хужайраси ёрдамида сут кислотасини олиш технологияси яратилди. Бу жараён учун мавхум қайновчи ёки кўзг`атувчан қатлам принципида ишловчи биореакторлар қўлланиб, бу қатлам орқали микросфералар аралаштирилади. Пастки қисмда улар субстратни сорбциялайди, юқорида сут кислотани. Натижада pH ни бошқариб туришга хожат қолмайди. Системанинг махсулдорлиги – 12 г / л·с⁻¹ сут кислотаси.

Шу нарсани унутмаслик керакки, сут кислота кўринарли коррозияловчи агент хисобланади ва у тез полимерланади. Унинг кўпчилик музлари сувда яхши эрийди. Шунинг учун сут кислотаси озик-овқат, тўқимачилик, дори-дармон ишлаб чиқаришда, эритувчилар ва пластификатор олишда, олиф ва хоказоларда кенг ишлатилади.

Гомо ва гетероферментли нордон сут бактериялари илгаритдан нон-пишириқларда қўлланилиб келмоқда. Дрожжа билан аралашмасидан ширин маза, г`оваклик, ранг ва айнимаслик хоссаларини берувчи ачитг`илар олинади.

Россияда, айниқса қишлоқ жойларида уй шароитида ёпиладиган нонлар барқарор ва узоқ муддат сақланадиган ачиткилар ёрдамида тайёрланади. Бу нарса лактобактерияларнинг чиритувчи бактерияга, сирка ва мой кислота бактерияларига, энтеробактерияга антагонистик таъсири билан тушунтирилади, фақат ачиткидаги дрожжага эмас. Махсус тоза тайёрланган ачиткилар аралаш-ассоциацияга қараганда бошқарилиши осондир.

Силослаш ва сабзавотларни (карам, бодринг), хўл мева ва меваларни кўпчителиш асосида сутли бижиг`иш ётади. Бу жараён кўпчиш объектида бўладиган табиий микроорганизмлар хисобига боради. Охирги пайтда жараённи кутилган натижаларга эришти ва шароитни бошқариш мақсадида махсус ачиткилар қўлланилмоқда.

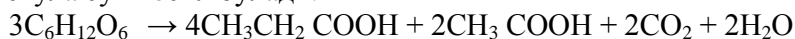
Ёғ`сизлантирилган ва бутун сутдан олиннадиган пишлоқлар сут кислота махсулидир. Сут лактобактерия ва сут кислота тасирида чирийди. Творог қисми зардобдан ажратиб олиниб махсус микроорганизмлар билан (пишлоқ турига қараб) бир нечта хафтадан саккиз ойгача (масалан, “Чеддер” пишлог`и) етилиш учун сақлаб қўйилади.

Сутни чиритиш яна ёш бузоқ ошқозон ферменти реннин ёрдамида ёки микробга мансуб реннин иштирокида олиб борилади. Сут бактериялар турли дори препаратлари ва профилактик компазицияларга қўшилади: бифидумбактерин, бификол, колибактерин, лактобактерин. Биринчиси тирик қуритилган бифидобактериядан, иккинчиси-тирик бифидобактерия (штамм 1) ва ичак таёқчалари (штамм М-17), учинчиси-тирик ичак таёқчалари (штамм-17), тўртинчиси лиофил қуритилган лактобацилл (*L. фэрмэнти* ва *L. плантарум*).

Чет элда витамин А, Д₃ ва Е қўшимчалари бўлган сут бактериядан иборат “Ферлак-5” пробиотик ишлаб чиқилади. Уни емга бир миллион

бактерия хужайраси хисобида аралаштирилади. Бу пробиотик чўчка, бузук ва кушлар учун тавсия қилинади.

Пропион кислотанинг олиниши. Пропион кислотали бижиг`иш пропион бактерияларга хос бўлиб, глюкоза углеродга мўл бўлган озуқа мухитида ўсади. Уч молекула глюкоза бижғиш натижасидан тўрт молекула пропион кислота, икки молекула сирка кислота, икки молекула CO₂ ва икки молекула сув хосил бўлади:



Амалда пропион кислота хосил бўлиш механизми мураккабдир.

Таянч интермедиат сифатида пируват, метил-малонил-КоА, пропионил-КоА, сукцинил-КоА, оксалоацетат хисобланади.

Пропион бактериялар грам мусбат, спорасиз, харақациз тайёқчалари бўлиб, “тери” (П. аснэс, П. авидум, П. гранулосум) ва “классик” (П. фрэдэнрэйчии, П. тхоэнии, П. жэнсэнии, П. асидипропиониси) *Пропионибастэриасэ* оиласига мансуб.

“Тери” бактериялар инсон терисида ва айрим хайвон ошқозонида яшайди. Улар аниқ патологик жараёнлар сабабчиси бўлиши мумкин (ўсиши учун оптимал харорат 37⁰С). “Классик” бактериялар сут ва сут махсулотларида бўлади (оптимум харорат 37⁰С). Анаэроб, аммо каталазани, пероксидаза ва супероксиддисмутаза (СОД) ни хосил қилади.

Уларнинг айримлари СО₂, молекуляр азотни бог`лайди, элементар олтингугуртни утилизациялайди ва Б групи витаминларига эхтиёжи бор (биотин, пантотенат ва тиаминга).

СО₂ билан бог`латиб супер оксид радикалини хосил қилади, у СОД ёрдамида водород пероксидга айланади. Охирги махсулот каталаза ва пероксидаза тасирида парчаланади.

Пропион кислотани олишда турлари *П. фрэдэнрэйчии* ва *П. асидипропиониси* хисобланади. Пропион кислота биосинтези оддий шароитда олиб борилади. Масалан, (% да) углерод – 1-2; аммоний сульфат – 0,3; калий гидрофосфат – 0,2; кобалтхлорид – 0,0001; биотин – 0,00001; пантотенат –0,1; тиамин – 0,01.

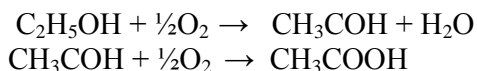
Жараённи такомиллаштириб, фиксацияли қатламда иммобилланган хужайралар иштирокида олиб бориш сезиларли ўзгаришга олиб келди. Жараён ПААГ минорал- арда олиб борилди. Натижада *П. асидипропиониси* қўлланилганда Д 0,05 с⁻¹ да 15 г/л гача ялпи махсулот олинди.

Биосинтетик усулда олинган пропион кислота нефт махсулотларидан олинадиган пропионат билан рақобатлашиши мумкин, хатто афзалликка хам эгадир. Чунки биосинтетик пропион кислота озик-овқат ва дори-дармон ишлаб чиқаришда консервант сифатида ишлатилади.

Ферментациянинг охирги махсулотларини (пропионат ва ацетат) ажратиш шарт эмас. Чунки иккаласи хам консервант сифатида ишлатилади. Суюқликдан ажратиб олинган хужайралар мос эритувчилар билан

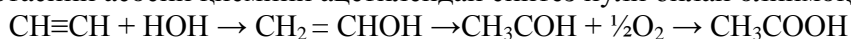
экстракцияланади. Кукун холида куритилган экстракт озиқ-овқат саноатида антиоксидант ва витаминли препарат сифатида қўлланилади.

Ацетобактериялар қуйидаги схема бўйича этанолни сирка кислотасигача оксидлайди:



Айрим штамлар порфиринлар сақлаши мумкин (тўқима биомассаси пушти ранг хосил қилади), ёки сувда эрийдиган жигарранг пигмент хосил қилади. Кўпгина ацетобактериялар озуқа мухитида витаминларсиз ривожланади. Уларни соф ҳолда сабзавотларда, меваларда, ачиган мева шарбатларида, сиркада ва айрим спиртли ичимликларда учратиш мумкин. Унинг типик кўриниши – Асэтобастэр асэти.

Сирка (4-9 % ли) кислотасини турли таомларга зиравор сифатида ишлатилади, шунингдек маёнез, горчица, тузламалар тайёрлашда, соуслар тайёрлашда ишлатилади. Шунинг учун олдин шакарли ва мевали сироплардан, вино, бута мевалари ва бошқа аналоглардан тахминан дрожиларни этанолгача бижг`итиш йўли билан олинган сирка кислотаси юқори сифатли таъми билан ажралиб туради. Лекин ҳозирги кунда сирка кислотасини асосий қисмини ацетилендан синтез йўли билан олинмоқда:



Тахтани қуруқ хайдаш йўли билан сирка кислота хосил бўлади, бу йўл билан олинган кислота “музли” деб аталади (77-80% конц.). Музли сирка кислотасини 10-20 марта суюлтириб, озиқ-овқатда ишлатиладиган сирка кислотасини олиш мумкин.

Тоза эталондан олинган сирка кислотасини сифати ўзгармайди. Мева шарбати, вино ва бошқа махсулотлардан олинган сирка кислотаси узок сақлаш давомида сифати яхшиланади.

Сирка бактериялари углеводлардан тўг`ридан-тўг`ри сирка кислотаси хосил қилмайди, чунки хом ашё спиртли бижг`иш жараёнидан ўтиши лозим. Сифатли сирка кислотасини олишнинг энг қадимги техноложияси сэкинлаштирилган ёки орлеан (французча) усули хисобланади. Бу жараёнда хом ашё сифатида енгил узум виноси олинади. Уни устига (2/5) озиқ-овқат уксуси солинади. Аралашманинг устки қисмида ацетобактериялар плёнка хосил қилади.

Этанолни оксидланиши тугагандан сўнг идишдан 10% суюқлик олиниб, ўрнига шунча миқдорда вино қўшилади. Жараёни узлуксиз давом эттириш мумкин, бунда янги вино солиб ва тайёр сирка кислотасини олиб туриш лозим.

Ҳозирги кунда озиқ-овқат сирка кислотасини 1832 йилда йўлга қўйилган “генераторли” ёки “немецкий” усулда олинмоқда. Бу усулнинг махсуслиги шундаки, сирка бактерияларини устки қисмини максимал даражада хаво билан таъминлаш ва спиртни тезда сирка кислотасигача оксидланишидир. Бу техноложияни уч секцияли ёғ`оч генераторларда олиб борилади. Юқоридаги секцияда сепувчи мослама ўрнатилган бўлиб, у 3-10

% ли этанолни сувдаги эритмасини сачратиб туради, ўртадаги секцияга йиғгич ўрнатилган, пастки секцияда тайёр сирка кислотаси йиғилади. Генератордаги секциялар бир-бири билан тешикли тўсиқлар билан ажратилган. Хаво пастки томонидан бериб турилади ва юқоридан чиқиб кетади.

Генераторлар рециркуляция типда бўлиши ҳам мумкин, бунда хавони бир хил тезликда бериб турилади, хароратни (27-29⁰С) сирка аралашмасини совитиш йўли билан регулировка қилинади.

Сиркани олаётганда спиртни ва сирка кислотасини ёниб кэтиши натижасида (тўлиқ оксидланиши) CO₂ ва НОН гача кўп миқдорда йўқотилишини олдини олиш учун хароратни ва хавони юборилиб турилишини контрол қилиб туриш лозим.

Шуни ахамиятга олиш керакки, этанолни эритиш учун ишлатиладиган сувнинг сифати жараёнда микробларнинг фаоллигини пасайишига таъсир қилиши мумкин.

Эритилган этанолдан олинган сирка одатда эскирмайди, чунки унга турли хил қўшимча моддалар қўшилмайди. Тайёр бўлган сиркани филтрлаш йўли билан тозаланади, шиша идишларга солиб стерилизация қилинади.

Сиркани чиқишини сирка кислотасининг массаси бўйича бахоланади. Одатда бу кўрсаткич оддий генераторларда 1,4 кг/м³/сут. тенг, рециркуляция генераторларда 5-12 кг/м³/суткага тенгдир.

Чорак асрдан буён сирка кислотасини кўп миқдорда олиш мақсадида ацетобактерияларни чуқур култивация қилиш усули ўрганиб келинмоқда. А. Асети ни мунтазам равишда 25-30⁰ С да 10-11% этанолли, 1% сирка кислотали ва минерал тузлар сақлаган мухитда ўстириш натижасида сирка кислотасининг чиқиши 18-23 кг/м³/сут. гача ошди.

Ферментаторлар батареясида узлуксиз равишда олиб борилган жараён ишлаб чиқаришни оширди. Ишлаб чиқариш жараёнида 4% этанол, 1.5% ли сирка кислотаси ва минерал тузлар (моногодрофасфат аммоний, дигидрофасфат калий, магний сульфат) узлуксиз биринчи ферментаторларга тушади, кейинги ферментаторларда спирт билан тўйинади. Шу тарзда этанолни концентрацияси пасайиб сирка кислотага тўйинади.

Охириги ферментаторлардан сирка кислотаси узлуксиз оқиб туради. Сирка кислотасини чиқиш унуми 30 кг/м³/сут. гача етади ва ундан ошиши ҳам мумкин.

Лимон кислотасини олиниши. Тахминан 60 йил аввал лимон кислотасини цитрус меваларидан олинган. хозирги кунларда эса асосан Аспэргиллус нигэр замбуруг`ининг айрим штаммларидан олинади. Айни вақтда лимон кислотасини КХР, АҚШ, Франция, Россия ва бошқа бир қанча давлатлар ишлаб чиқарилади.

1917 йилда ишлаб чиқариш микроб-продуцентлар устки қисмидан култивация қилиш орқали амалга оширилган; 1939-1942 йилларда герметик ферментаторларда чуқур култивация қилиш йўлга қўйилган. Буни натижасида жараённи механизациялаштириш ва автоматлаштиришга, махсулот таннархини арзонлаштиришга, технологик жараённи умумий

вақтини қисқартиришга, ишлаб чиқариш шароитини асептик ҳолатларини энгиллаштиришга эришилди.

Айни вақтда лимон кислотасини чиқиш унуми 98-99% берадиган *А. нигэр* штамми (масалан, р-3 штамм) қўлланилмоқда. Лимон кислотаси аввал продуцент тўқималарида йиг`илиб, сўнгра озука мухитига чиқади.

Юқорида кўрсатилган факторлар аконитат-гидрогеназа, азотитратдегидрогеназа ва α -кетоглутаратдегидрогеназа ферментларини ингибирлайди. Шунинг учун организмда лимон кислотасининг тўлик метаболизми кетмайди ва уни жуда кўп миқдорда коммерция қилиш мақсадида олиш мумкин.

Меласса лимон кислотасини ишлаб чиқаришда асосий хом-ашё бўлиб, унинг таркибини кўп миқдорини темир моддаси ташкил этади. Шунинг учун уни ферментация жараёнидан олдин сариқ қон тузи ($K_4[Fe(CN)_6]$) ёрдамида чўктириш лозим.

Яна шу хам исботланганки, бу туз ва лимон кислотаси тўқималарда изотитратдегидрогеназани ингибитори бўлиб чиқади.

А. нигэр ни икки та ферментация усули маълум – юза ва чуқур. Биринчи усулни кичик ва ўрта корхоналарда суюқ мухитда, суюқ фазали ферментация кўринишлари (масалан, европа ва америка) ва қаттиқ мухитда қаттиқ фаза ферментациялари (масалан, Япония) тадбиқ этилади. Р.Я.Карклинш ва А.К.Пробок (1972 й) томонидан суюқ фаза ферментациясини технологик схемаси келтирилган.

Махсус цехларда уч босқичли схема бўйича замбуруг` спораларига (конидий) ишлов бериш амалга оширилади. Биринчи босқичда *А. нигэр* агарли мухитда (сусло-агар) пробиркаларда ўстирилади, иккинчи ва учинчи босқичларда уни қаттиқ ёки суюқ озука мухитида колбаларда кўпайтирилади. Хар бир босқич $32^{\circ}C$ хароратда икки сутка давом этади. Конидий ўсиш даврида мицелий аввал рангсиз бўлиб, сўнгра қора рангга айланади, конидийни асперация усулида махсус вакуум насосда йиг`илади, термокамерада $28-30^{\circ}C$ да қуритилиб, стерил фаолланган кўмир (1:2) билан аралаштирилади, стерил флаконларга (колба) фасовка қилинади ва олти ойдан икки йилгача сақланади. 10 дм^2 кюветадаги мухитдан 4-5 г гача қурук конидий олиш мумкин.

Саноатда *А. нигэр* ни суюқ фаза ферментациясини юзали усулини “бродилнўй камера” да ишлаб чиқариш тадбиқ этилган, бунда стиллажларга махсус кюветалар ўрнатилган бўлади (8-10 та). Хар бир кюветанинг пастки қисмида штуцер бор. “Бродилнўй камера” га вентиляция ўрнатилган, у маълум бир хароратда стерил хаво келишини таъминлайди. Камерадаги харорат $34-36^{\circ}C$ да ушлаб турилади. Максимал иссиқ хаво берилиши сутка давом этади; шимувчи мухитга бэш чиқадиган шакарнинг концентрацияси 12%; бошланг`ич pH мухит 6,0-7,0, биринчи уч суткада 4,5% гача тушади ва жараён охиригача 3,0% га (8-9 суткада) тушади. 5-6 суткаларда кислота максимал даражада чиқа бошлайди ($100-103\text{ г/м}^2\text{с}^{-1}$), сўнгра бир хил даражада туради ($30-60\text{ г/м}^2\text{с}^{-1}$).

Уч турдаги ўтказилган технологик жараёнлардан энг яхшиси доливной хисобланади, бу жараёнда 6-7 суткадан сўнг ферментацияни бошидан (шакар концентратияси 3-4% га камаяди) стерил масса эритмаси солинади – бошлангич хажмдан 30-35% га тэнг. Шу йўл билан ферментация жараёни 12 суткага чўзилади. Бунинг натижасида 30-35% гача махсулот кўпаяди. Алмаштириш усулида ферментация жараёнини охирида култура суюқлигини плёнка тагидан тўкиб олинади, плёнкани стерил сув билан ювилади ва янги факат углевод мавжуд озук мухит кўйилади. Ферментация яъна 4-6 сутка давом эттирилади.

Антимикроб моддаларни олиниши

Тиббиёт амалиётида полиен антибиотиклар гуруҳига нистатин, фумагиллин (тетраенлар) амфотерицин Б (гептаен) ва яримсинтетик амфоглюкамин замбуруғли таъсирга эга (таъсирчан организмлар ва баъзи диморф замбуруғлар имкониятли); фумагиллин стафилококкни ингибирлайди, яъни сусайтиради (реакцияни сўкинлаштирувчи модда), дизентирли амёба бактериофаглар киради. Антибиотиклар – анзамицинлар (лотинча – анса - ручка). Уларнинг молекулаларига хушбуй ядровий алиоратик анза – занжир бтрлаштирилади. Анзамицин – актинолецитин ва баъзи ўсимликлардан хосил бўлади. Табиий ва ярим синтетик рифамицинларнинг машхур: рифацин (рифампицин СВ), рифампицин ва рифецин кабилари мавжуд. Анзамицинлар – бактерияларни сусайтирувчи, алоҳида вируслар ва баъзи эукариот хужайралар кенг спектрли антиботиклардир.

Рифампицин (Стрэптомицэс мэдитэрранэи - продуцентли) туберкулезда, Мйсобастэриум тубэрсулосис га қарши бактерицидли таъсир этувчи энг яхши кимёвий терапевтик восита хисобланади. У елка миялли суюқликка сингади, шунинг учун туберкулезли менингитда самаралидир.

Антибиотиклар – стероидлар – уларга натрий тузли кўринишида тайёрланган фузидиевли кислоталар киради.

У мицелиал замбуруғдан *Фусариум соссинэум* хосил бўлади. Антибиотиклар кўп турли граммусбат бактериялагар, айникса, стафилакокка қарши фаолдир.

Кўйида бошқа антибиотиклар кэлтирилган.

Гризеофулвин антибиотик – сепсимон замбуруғли *Пэнисллинуум грисэофулвам* ва бошқа дерматофит замбуруғли касалликларга қарши фаолдир. У А,В,С конденсацияланган (меъёрлашган) халқадан иборат.

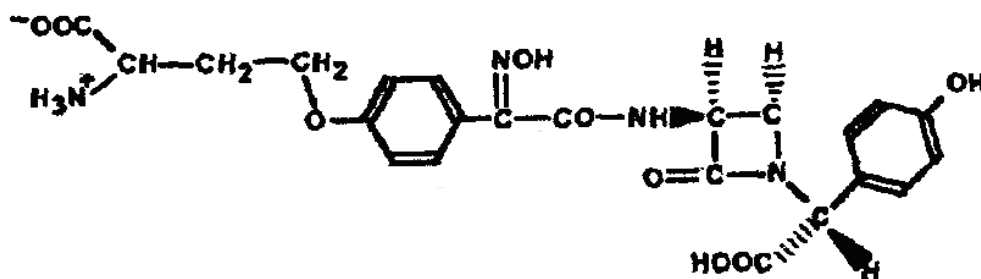
Трихотецин антибиотик – *трихотхэсиум росэум* ипсимон замбуруғли ва бошқа такомиллашмаган замбуруғлардан иборат. Бу – антифунгалли антибиотик, ветеринария ва ўсимлик устиришда жуда фойдали. Таркибида гетероцикл мавжуд.

Антибиотикларни олинишда ферментацион жараёни такомиллашмаган чунки, продуцент физиология тушунчаси ва компютер техникаси асосида таъминланиши мумкин эди. Дарслик давомида пенициллин ва канамициннинг технологик схемаси берилган, шунингдек, олдферментацион ва ферметацион боскичлар кўпинча ўхшашдир, бунда хар

бир антибиотикни ишлаб чиқаришининг технологик схемасини алоҳида кўриб чиқиш шарт эмас.

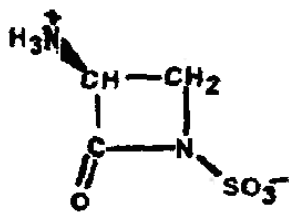
Шунингдек, антибиотик моддалар иккиламчи метоболит ҳисобланади, бунда биосинтез продуцентли идиофазага културани ўтиши билан уларни тугатилади. Бунда продуцентнинг лимитланган (чегараланган) ўсиш яхлитлиги кузатилади. Бундай лимитланган ингредиент (омил, факт) билан пенициллин биосинтезида глюкоза олдинга чиқади, худди стрептомицетлар фосфати антибиотиклар биосинтези каби. Буларнинг бари антибиотик биосинтези жараёнида жуда муҳимдир. Шунингдек пенициллин маҳсулоти учун муҳит (у инокулум йиғишда ҳам ярқлидир) – 1,5 % глюкозани, - 5% лактозани (лактоза глюкозанинг катаболит тазйикини олади), - 0,5 – 1 % аммония сульфатни ва фосфатларни, 2 – 3 % - жўхорили экстрактини, антибиотик ташкил этувчи фенокси – , ёки фенолсиркали кислота- 0,3 – 0,6 % , бур- 0,5 – 1 % , кўпик учирувчини- 0,5 – 1 % ўз ичига олади, ферментация хароратини pH 5,0 – 7,5гача ва аэрация 1 м³. хавода 1 дақиқали 1 м³. муҳитда 22 – 26 С⁰ даражада сақлайди, ферментация давомийлиги – тўрт сутка.

Нокардицинлар – Нокардия оиласига кирувчи бактериялар томонидан синтезланадиган янги β - гуруҳ антибиотикларидир. Нокардицинлардан А, Б, Д, Э, Ф, Г лар ажратиб олинган. Буларни ичида грамманфий бактерияларга қарши энг кучли таъсир этадигани (граммусбатга таъсир этмайди) нокардицин А эканлиги маълум бўлди.

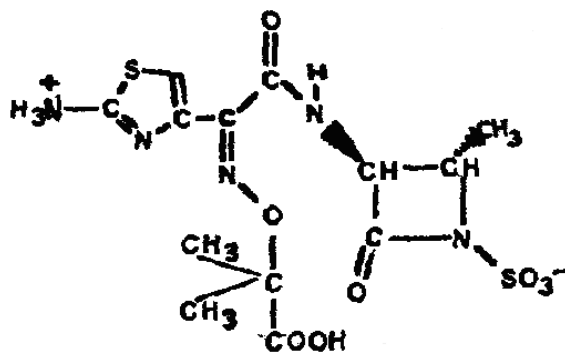


nokarditsin A (produtsent - Nocardia sp .)

Монобактамлар – бу моноциллин манобактам антибиотиклар бўлиб, Псеудомонас асидопхилла ва *Глуконобастэр спэсиэс* бактериялар штамлари томонидан синтезланади. Уларни ядроси 3 – аминомонобактам кислоталидир. (3 - АМК). Уни табиий монобактамлардан ёки 6 – АПК дан олиш мумкин.



3-AMK



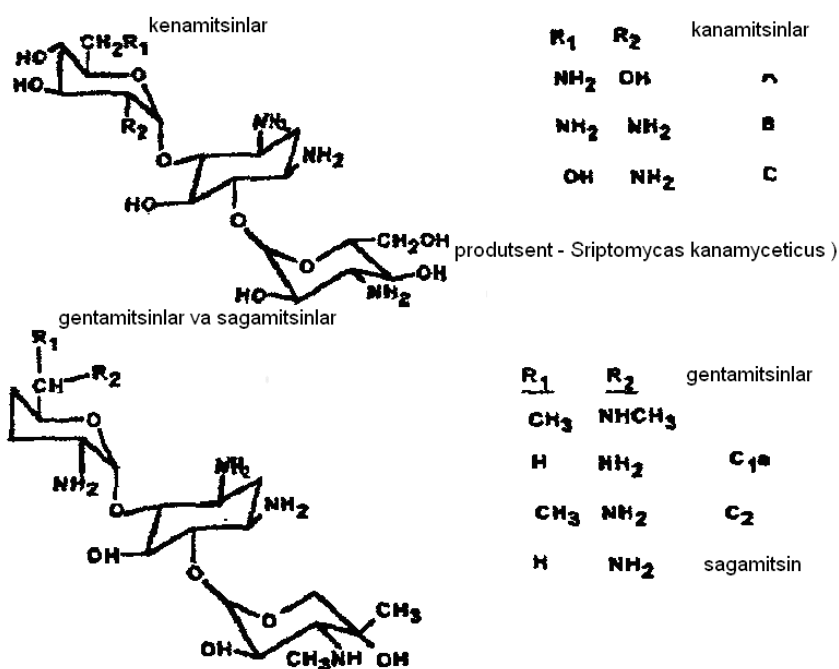
aetreonam (produtsent - Pseudomonas acidophila)

β - лактаза таъсирга тург`ун ва грамманфий бактерияларга кучли таъсирга эга модда азтреонам бўлиб чиқади. Лекин у граммусбат бўлган анаэроб, *Бастэроидэс фрагиллис* га `қарши таъсир этмайди, чунки бу бактерия азтеономни

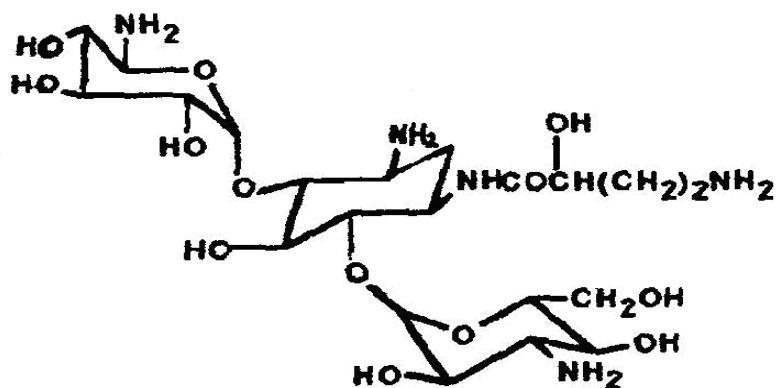
β - лактамазани синтезлайди.

Тетрациклик антибиотиклар – кенг таъсир доирага эга антибиотиклар бўлиб, уларни синтезлайдиган организмлар стрептомицетлар хисобланади. Баъзи титрацеклинлар ярим синтетик препаратлар қаторига киритилади. Гликозид – антибиотиклар. Буларни ичидан – О -, С – ва Н – гликозид бўлиб, структураларни ажратиш мумкин. Биринчисига аминогликозид антибиотиклар ва новобиоцин киради, иккинчисига клиндомицин ва линкомицин киради, учинчисига баъзи нуклеозид антибиотиклар киради.

О – гликозид антибиотиклар. Бу гуруҳ моддалар аминогликозидлар бўлиб, таркибида аминоқанд сақлайди. Буларни кўпчилиги (канамицинлар, гентамицинлар ва бошқалар) антикомицитлар томонидан ишлаб чиқарилади.



Тобрамицин Каномидин Б ни аналогидир (Зъ – дезоксиканамидин Б); нетилмицин эса сизомидинни ярим синтетик хосиласидир (Н-этилсизомидин). Хамма аминоглюкозид антибиотиклар турли патоген бактерияларга кенг доирада таъсир этади.



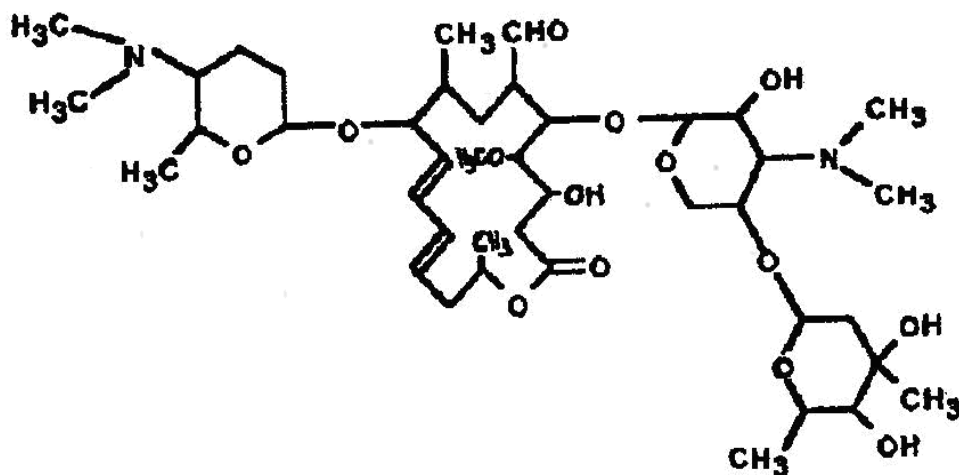
амикацин

Гентомицинларни синтезлайдиган микроорганизмлар Мисромоноспора пурпурэ дир. Сагамицинни эса *M. Сагавмиэсис* синтезлайди. Сидомицин тузулиши буйича гентомиценга ўхшайди фақат битта халус билан фарқланади.



Бу антибиотикларни Мисромоноспорэ Сагамиэнсис КУ 11 535 томонидан синтезланади.

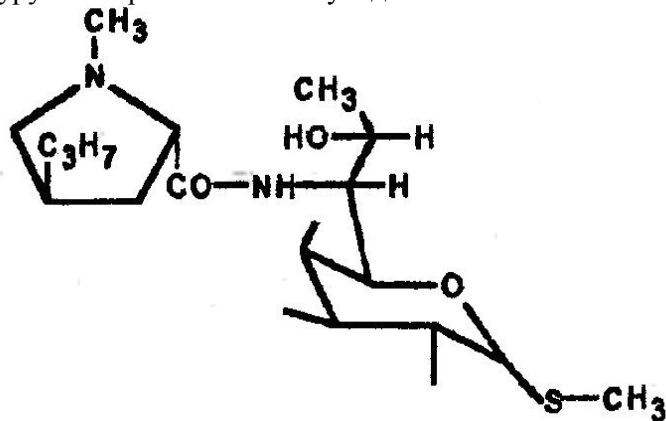
Макромид антибиотиклар. О – глюкозид бўғларга эга бўлиб, стрептомицетлар томонидан синтезланади. Бу гурух антибиотиклар кўпчилик граммусбат ва баъзи грамманфий бактерияларга таъсир этади. Амалиётда кўпроқ эритромицин, олеоидомицин, триоцетил, олеоидомицин ва спирамицин ишлатилади. Булар ўз таркибида углеводлар қолдиг`и билан боғ`ланган макроциклик лактан холда сақлайди, булардан аминоканд (агар бор бўлса) хар доим нейтрал углеводга қараганда макролактонга я`ин жойлашади.



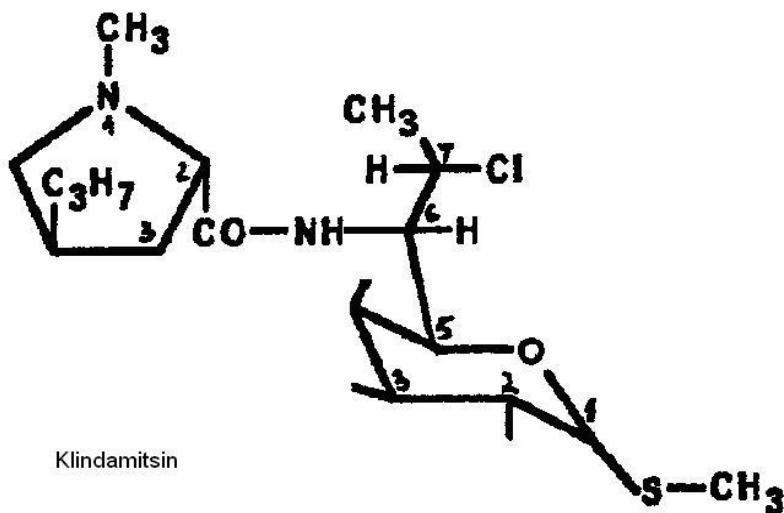
spiramitsin I (produtsent - streptomyces ambofaciens)

С – гликозид – антибиотиклар. Бу гурух антибиотиклардан яққол намоёндаси булар линкамицин ва клиндамициндир. Буларни агликом метил гурухи, бошқача қилиб айтганда, улар метил – С – гликозидлардир.

Линкомицинни хосиласи клиндамицин бўлиб, 7- углерод атомидаги гидроксил гурухи хлорга алмашган бўлади.



linkomitsin

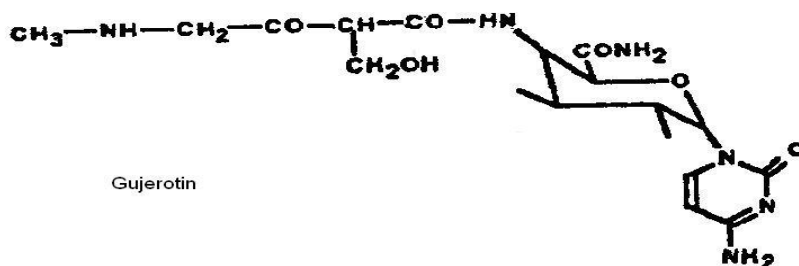


Klindamitsin

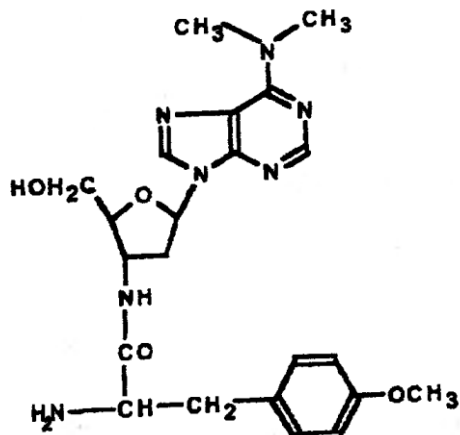
Иккала антибиотикни углевод қисми 6,8 – фазоли – 1 – тио – Д – эритро – Д – галакто – октипиранозадан иборат, 6 углерод атомида эса 1 – метил – 4 – пропил – 2 – пирромидин карбоксамид радикали бор.

Клиндамицин ичак орқали қонга яхши сўрилади. Иккала антибиотик кўпроқ граммусбат коккларга кучли таъсир этади.

Н – гликозид антибиотиклар. Гужеротин – кенг доирали антимиқроб таъсирга эга антибиотик бўлиб, Стрeптoмйcэс гоугэротии томонидан синтезланади. Кимёвий тузулиши қуйидагича: 1 – (цитозинил) – 4 – соркозил – Д – сериламино – 1,4 – дизокси - Д – галактопирон урокамид.

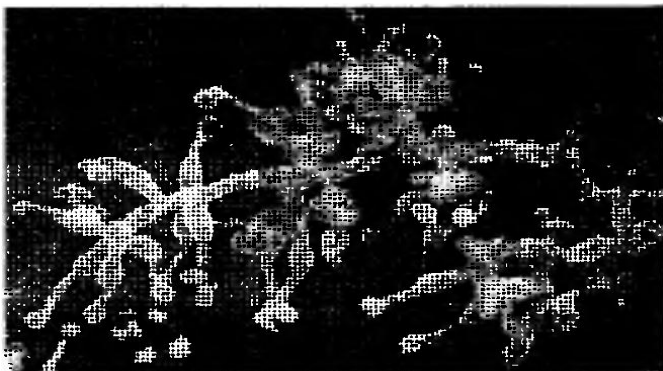


Пурамицин – рибасомалардаги оксил синтезини расшифровкасида мухим ахамиятга эга, Н – гликозид антибиотендир. У 3¹ – учли аминацил – т РНК га ўхшаб рибасомани маълум қисми билан боғ`ланиб, аминацетил т РНК га ўхшаш таъсир қилади. Бунда полипептид занжирини узайиши (синтези) узилади. Бу антибиотикни Стрэптоми́сэс Олбанигэр томонидан синтезланади. Антибиотик кўпчилик микроорганизмларни (хусусан трипаносомаларни) ингибирласа ҳам уни терапевтик таъсири унчалик катта эмас.



Депсипептид антибиотиклар. Одатда бу гуруҳ антибиотиклар бациллалар томонидан синтезланиб, граммусбат ва грамманфий патоген бактерияларга қарши кучли таъсир этади.

Тсиклопептид антибиотиклар қаторига бацитроцинлар, грамицидинлар, полипепсинлар ва бошқалар киради.



14-расм. Тсиклоспорин продуценти

Полимиксин B₁ циркулин A ва колистин халқадаги битта аминокислота билан фарқланади.

Тсиклопептид антибиотикларга шу билан бирга циклокаринлар ҳам киради, у лицелиал замбуруг`лар Сйлиндросарпум лусэдум ва Толйпосладиум инфлатум – Баувэриа нивэс томонидан синтезланади.

Актиномицит антибиотиклар. Стрептомицетлар томонидан синтезланадиган катта гурух моддаларини ўз ичига олади. Буларни баъзилари ўсмаларга қарши ва иммуносупресив таъсирга эга. Кимёвий табиатига қараб уларни хромопептидлар гурухига киритилади, таркибида феносазин хромофор гурухлар ва циклик лактон шаклида иккита пентопептидларни сақлайди.

Амалиётда актиномицинлар (дактиномицин) кенг қўлланилади. Бу антибиотик ДНК га бўлинади ва РНК синтезини ингибирлайди.

Турли йилларда хар хил давлатларда оқсил манбаи сифатида қуйидаги микроорганизмлардан фойдаланилган. Буларга Сасчарймус вэвисаэ, сандидэ утилис, Фусариум граминрарум, Мэтхйломонас сларэ, Сандидэ трописалис (аптоген штамлари), Сандидэ малтоса, хансунэла сп. ва бошқалар киради.

Бу микробларни турли мухитларда ўстирилади ёки ўстирилмайди. Бу мухитларда саноатни бошқа турли тармоқларни чиқиндилардан ёки охириги махсулотларидан фойдаланилади ва (ёғ`очни қайта ишлаш жараёни чиқиндиси, кишлок хўжалик, хашак гидролизати, нефтни қайта ишлашадан ажралиб чиққан Х – алканлар, C₁₁-C₈, спирт ишлаб чиқаришда этанол; метан)

Пиво ачитқисини озуқа моддаси сифатида айниқса биринчи ва иккинчи жахон уруши йилларида кўплаб ишлатила бошланди. 1980 йилда оқсил манбаи сифатида овқатга липопротеин – Фуариум граминэарум замбуруг`ини мицелийси қўллашга рухсат берилди. Озуқа ёки овқат махсулотларига кўшиладиган оқсилни бир хужайрали ёки кўп хужайрали микроорганизмлардан олиш технологияси нисбатан осон бўлиб, озуқа

мухитида кўп миқдорда хужайра биомассасини ўстириш, уни сепорациялаш ва тайёр махсулотдан иборат. У ёки бу организмни ўстиришда оптимал шароитлар танланади, (озуқа мухитида 10-100 грамм ачитки ҳосил бўлгунча). Денуклеинизацияни турли усуллар ёрдамида амалга оширилади. Метанол ёки ишқорлар ёрдамида экстракция қилиб, нуклеозалар билан қайта ишлаб, нарорат ёрдамида эндонуклеозаларни фаоллигини ошириб (хусусан РНК азолар), хужайрани дезинтегратидан нуклеин кислоталардан оксилларни ажратиш олиш каби усуллар қиради.

Оқсил таркибида нуклеин кислоталарни миқдори юқори бўлиши салбий оқибатларга олиб келиши мумкин. Чунки ин виво шароитида сийдик кислотасини миқдори юқори бўлиши подагра ва буйрак тош касаллигига сабаб бўлиши мумкин.

Тижорат мақсадларида турли давлатларда ишлаб чиқариладиган ҳар хил озуқа оксиллари маълум.

«Барча захар» деб аталувчи актиномицетлар антибиотикларни ўсишини ва махсулот бэришини оксили (соя уни, балик уни, бугдой ун елими оксили ва хоказо), крахмал мухитда таъминлайди. Шундай қилиб, продуцентнинг (махсулликнинг) хусусиятлари регламент (иш тартиби) ҳужжатларида доимий қайд қилиниши белгиланган. Масалан, *стрэптомисэс канамисэтикус* ни соя–крахмалли мухитда олинади ва унинг ўзида асосий ферментацияни 27 – 28 °С да 4 - 5 сутка давомида, pH 7,1 – 7,6 даражали, ушлаб туришда ўтказилади.

Стр. флоридаэ ферментациясида (виомицин махсуллик ва флоримицин) таркибида глюкоза ёки гидрол, соя ун, жўхори экстракти, итратлар, бўрни ташкил этувчи мухитни тавсия этади, хароратни 27 – 29 °С чегарада pH 7,0 – 7,3 даражада ушлаб туради.

Стр. эрутхрэус ферментация холатида озуклантирувчи мухитга пропилли спирт қўшилади, худди олдин ўтказилган эритролицин антибиотиғи каби. *Стр. ноурсэи* нистатин махсулини аммоний азоти (нонитрат), (нитратланмаган) жадал, тез амалга оширади.

Антибиотикни култура суюқликдан ажратмасдан олдин суюқликдан зич ёки қаттиқ фазани ажратиш зарур. Бундай ҳолларда филтрацияни қондасидек (рисоладагидек) қўлланилади. Қаттиқ фаза хусусияти филтрация самарадорлигига сезиларли таъсир этади. Бунда қуйидаги қонунчиликни белгилаш мумкин – натив бактериал масса мицелиалликка қараганда ёмонроқ филтрланади. Юқори актиномицетлар ипсимон тузилмаларни (структурани) шакллантиришга қодирлигини ҳисобга олган ҳолда уларнинг филтрлашдаги зардоб ажралиши бошқа бактерияларга нисбатан анча енгил ўтади.

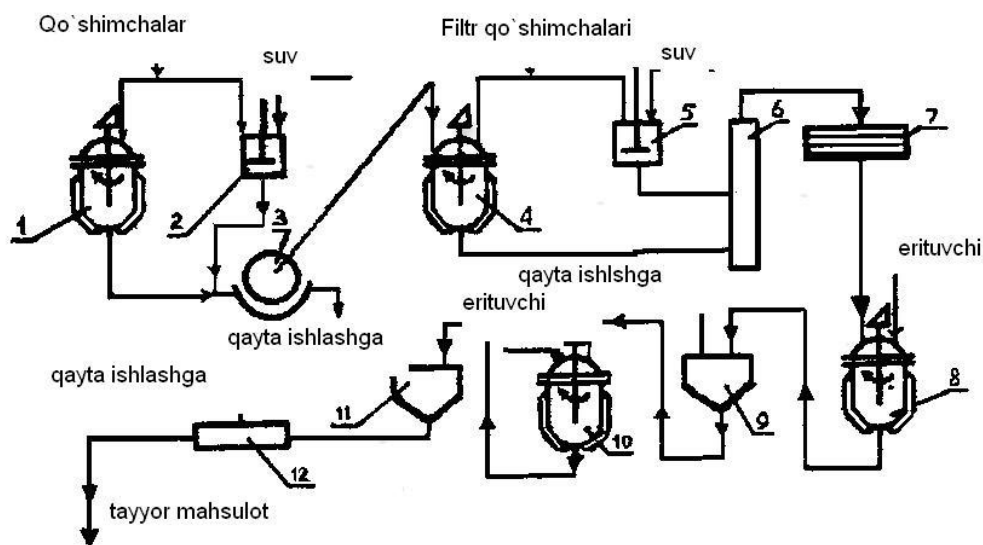
Филтрлашни (зардобни) яхшилаш ёъли: култура суюқликларини электролитлар билан қайта тозалаш, иссиқ коагуляция (чиқинди ҳосил қилиш), зардобдаги тўлдиргичлар босими, кислотали чиқинди ҳосил қилиши ва бошқалар қиради.

Антибиотикларнинг ажралиш мураккаблиғи шундаки, улар кўп компонентли суюқлик културалар ва ялпи махсулотининг

концентрациясининг камлигидадир. Шунда 8 % субстратнинг чиқишида тахминан пеницилдиндан 30 г/л гача йигилиши мумкин. Бунда мицелия ажралишидан кейин қуруқ моддалар одатда 15 – 30 % гина антибиотикка келадиган 3 – 6 % тартибни ташкил этади. Шунинг учун исталган култура мухитини шундай қайта ишлаш керакки, бунда антибиотик модда тўлик ажраладиган фазага ўтиши керак. Бундай ҳолларда (тетрациклиннинг) нордонлашига олиб келади ёки аксинча, (новобиоцин) игшкорли култура суюқлигига эришиш мумкин, (эритромицин) шавелли кислотага туз қўшилиши ёки натив эритма оксилларида чўқинди ҳосил қилиш ва чиқишдан кейин юқоридаги ҳолатларга олиб келади.

Агар антибиотикни ажратиш учун ион алмашилиш усули қўлланса, у ҳолда натив эритма рақобат – ионлардан озод бўлишга ошиқади. Булар (калций ионларини олиб ташлаш учун – оксалатли эритмалар; магний ионларини бирлаштирувчи – триполифосфат; темир ионларини комплекслаш учун – сариқ қон тузи ишлатилади).

Култура суюқликлар таркибидаги микроблар–продуцентларнинг ферментация жараёни натижасида хужайра биомассасида йигиладиган антибиотик моддалар, бошқа усуллар билан ажратилади. Биринчи жараёнда, қоидага биноан, натив ёки дезитегрирланган хужайра (система «қаттиқ жисм – суюқлик») эритмаси орқали экстакцияланади. Ялпи маҳсулотни (антибиотикни) култура суюқлигидан ажратишнинг жиҳозлар чизмаси (14 - расмда) кўрсатилган. Берилган чизмага ялпи маҳсулотнинг физик – кимёвий хоссаларига асосланиб ва жараёни жиҳозлаш имкониятидан келиб чиқиб, кэракли (мос) тузилма киритилиши кэрак.



15 – расм. Култура суюқликдан (КС) антибиотик X ни ажратишнинг тахминий жиҳозларнинг тэхнологик чизмаси

1– олдиндан КСни қайта ишланиши; 2– эритмани тайёрлаш; 3– биринчи сузгич; 4 - биринчи сузгич йигиндиси; 5 – эритмани филтрацияга тайёрлаш; 6 – кўшимча филтрация; 7 – стериллайдиган филтрация; 8 – эритмада чиқинди хосил бўлиши; 9 – олдиндан чўктириш; 10 – чўкмани ювиш; 11 – қайта чўктириш; 12 – қуритиш.

Хозирги вақтда кенг тарқалган мембранали усуллардан турли моддаларни ажратиш ва қуюлтириш амалга оширилмоқда. Хозиргача биологик фаол моддаларни ишлаб чиқариш қаторида (антибиотик пенцилинни олиб кўрайлик) ажратиш ва бутун маҳсулот («суюқлик – суюқлик» эритиб ювиш тизимида, адсорбция (юзага сингиш, ютилиш), диализ каби аънавий усуллардан воз кечилмаган.

Шуни ҳисобга олиш керакки, мэханик сувсизлантириш термик сувсизлантиришга нисбатан сэзиларли даражада анча арзон ва бу ишлаб чиқарилган маҳсулотнинг нархида ўз аксини кўрсатади.

Хроматографик усуллар кенг қўлланилади. Масалан, новобиоцин, стрептомицин ва бошқа антибиотиклар ажралишида кўриш мумкин. Бошқа ҳолларда, жараённи аппаратли жихозлашнинг технологик схемаси сезиларли мустаҳкамланади.

Аминокислотани олиниши

Аминокислоталар соғлиқни сақлаш, жониворларни (хайвон) боқиш ва енгил саноатда катта аҳамиятга эга. Аминокислоталар алмашинадиган ва алмашинмайдиган бўлади. Алмашинмайдиган аминокислоталар инс ова хайвон организмда синтезланмайди, улар озуқалар ва ем орқали организмга киради (5 – жадвал).

5– жадвал

Алмашинадиган ва алмашинмайдиган аминокислотлар

Алмашинмайдиган	Алмашинадиган
Аргинин (фақат ёш-ўсаётган хайвонлар учун)	Аланин
Валин	Аспарагин
Гистидин	Аспарагин кислотаси
Изолейцин	Глицин
Лейцин	Глутамин
Лизин	Глутамин кислотаси
Метионин	Пролин
Треонин	Серин
Триптофан	Тирозин
Фенилаланин	Тсистеин

Алмашинадиган аминокислоталар аммиакдан ва турли углерод манбаларидан (ин виво) синтезланади. Микроорганизмлар узлари учун зарур бўлган барча аминокислотларни аммиак ва нитратлар иштирокида синтезланади, углеродли «скелетларлар»ни эса— мос келувчи интермедиатлардан синтезланади. Олимлар микроорганизмларнинг алмашинадиган ва алмашинмайдиган аминокислоталарни ажратиб чиқариш хусусиятидан фойдаланишга уринмоқдалар. Инсонлар томонидан аминокислотларга бўлган талаб жуда юкори, шунинг учун уларнинг жахонда ишлаб чиқиш даражаси йилига 500 минг тоннани ташкил қилади.

Аминокислота биосинтезини юзага келтирувчи ферменти бактерияларда кенг тарқалган, улар *Эсчэрича Соли*, солмонэлла тупсиумиум, *Басиллас субтилис*да аниқланиб, чуқур ўрганилган.

Барча тирик организмларда аминокислоталар энг аввал – ферментли ва нофермент оксилларнинг бирламчи метаболит биосинтезида фарқланади.

Табиий аминокислотлар Л – шакли оптик фаол хисобланади. Кимёвий синтезда олинган аминокислотлар Л– ва Д – шаклларнинг аралашмасидан иборат бўлади. Шунинг учун микробли синтез бактерия илдизлари ёрдамида асосий ва иқтисодий қулай хисобланади. Уилига 100 минг тонна глутаминли кислота ишлаб чиқаришда Япония биринчи уринда туради, кўпинча табиий (ўзгармайдиган) аминокислотларни «Такеда» фирмаси ишлаб чиқаради. 1950 йилда С.Кино биринчи марта микробли синтезнинг изчиллигини очди ва исботлади.1963 йилда: «Микроорганизм ёрдамида якин вақтларгача аминокислотларнинг барча машхур турлари ишлаб чиқарилиши тахмин қилинмоқда» деб изохлайди, бу вақт эса 70 – йилларга тўғри келади. *Брэвибастэриум*, *Сорунэбастэриум*, *Мисрососсу*с ва бошқа турлардан – супермаксуллик ўзлаштирилган йирик тонналик махсулот нафақат глутамин, балки Л–лизин, Л–валин, Л–гистидин ва бошқалар ёрдамида микроблар олинган.

Ген инжэнэрлик усули билан генетика илмий тэкшириш институти ва саноат микроорганизмлари селекцияси институтида (Москва) Л – треонин (30 г/л 40 соат ферментацияда) юкори махсулдорликка эга *Э .Соли*. штамми олинган. Исталган штаммда турли аминокислота махсулдорлигини узок муддатга унинг фаол холатини сақлаб қолиш махсадида диққат ва эхтиёткорлик зарур.

Аминокислота олиш технологияси продуцент ферментациясини принципига ва иккиламчи метаболит ажралишига таянади, яъни пробиркада агарозали мухитда бошланғич културани кўпайтиради, сўнг колбада суюк мухитда инокулятор ва экиш аппаратларида ва асосий ферментаторларда ўтказилади.

Култура суюқлигии қайта ишлаш ва аминокислотларни ажратиб олиш схемаси антибиотикларнинг ажратиб олиш схемасига ўхшатиб олиб борилади. Ажратиб олинган ялли махсулотнинг тоза кристаллари одатда вакуум остида куригилади ва қадокланади.

Агар аминокислота емга қўшиш мақсадида ишлатилса, ем махсулотнинг биотехнологик жараёни куйидаги босқичлардан иборат бўлади:

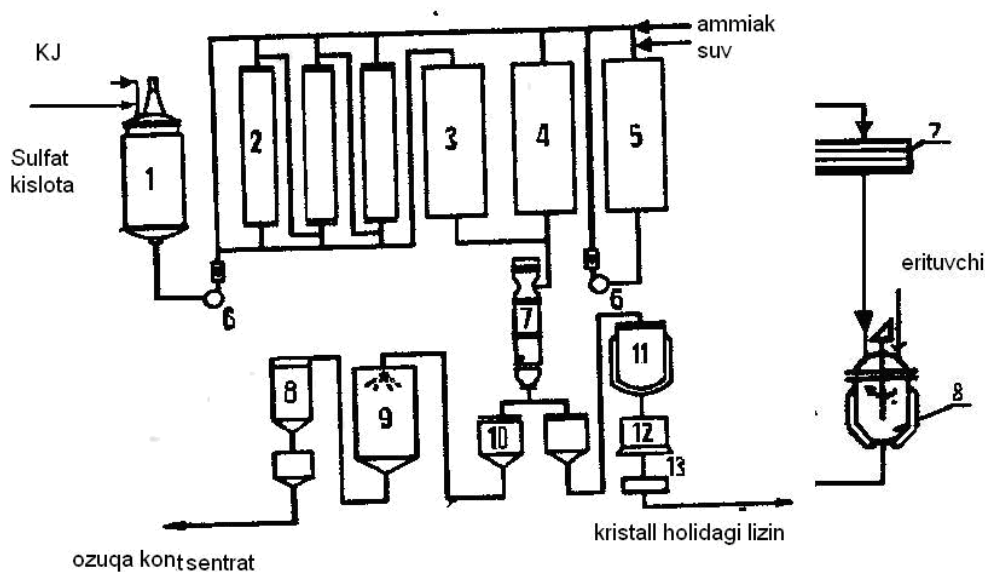
- ферментация;
- буғлатишдан аввал култура суюқлигидаги аминокислотларни стабиллаш;
- вакуум–буғлатиш;
- тўлдирувчи қўшилганда парланган эритмани стандартлаш;
- тайёр махсулотни қуритиш ва қадоқлаш, унда асосий модда 10 %дан ошмаслиги кэрак.

Масалан, саноатда куруқ ем ва суюқ ем (озуқа)га кристалли лизин билан бир қаторда қуюқлаштирувчи лизин тайёрланади. (16 - расм).

Агар концентрат куруқ модданинг 70 – 80 % ташкил қилса, унда у ингредиентлар осмотик концентрацияси қўтарилганлиги ҳисобига микробга қарши йэтарли барқарор бўлади.

Аминокислота олинишнинг икки хил усули мавжуд: бир босқичли ва икки босқичли.

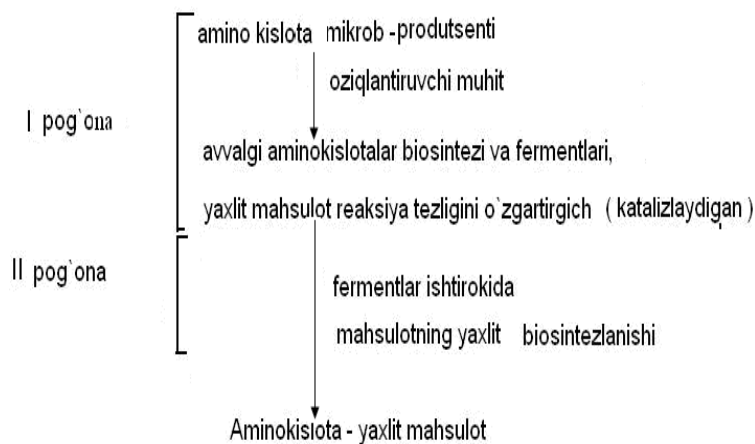
Ялпи махсулот ажратилган култура суюқлигида йиғилади, ундан 16 – расмдаги схемага мувофиқ ажратиб олинади.



16 – расм. Лизин олинишнинг технологик схемаси

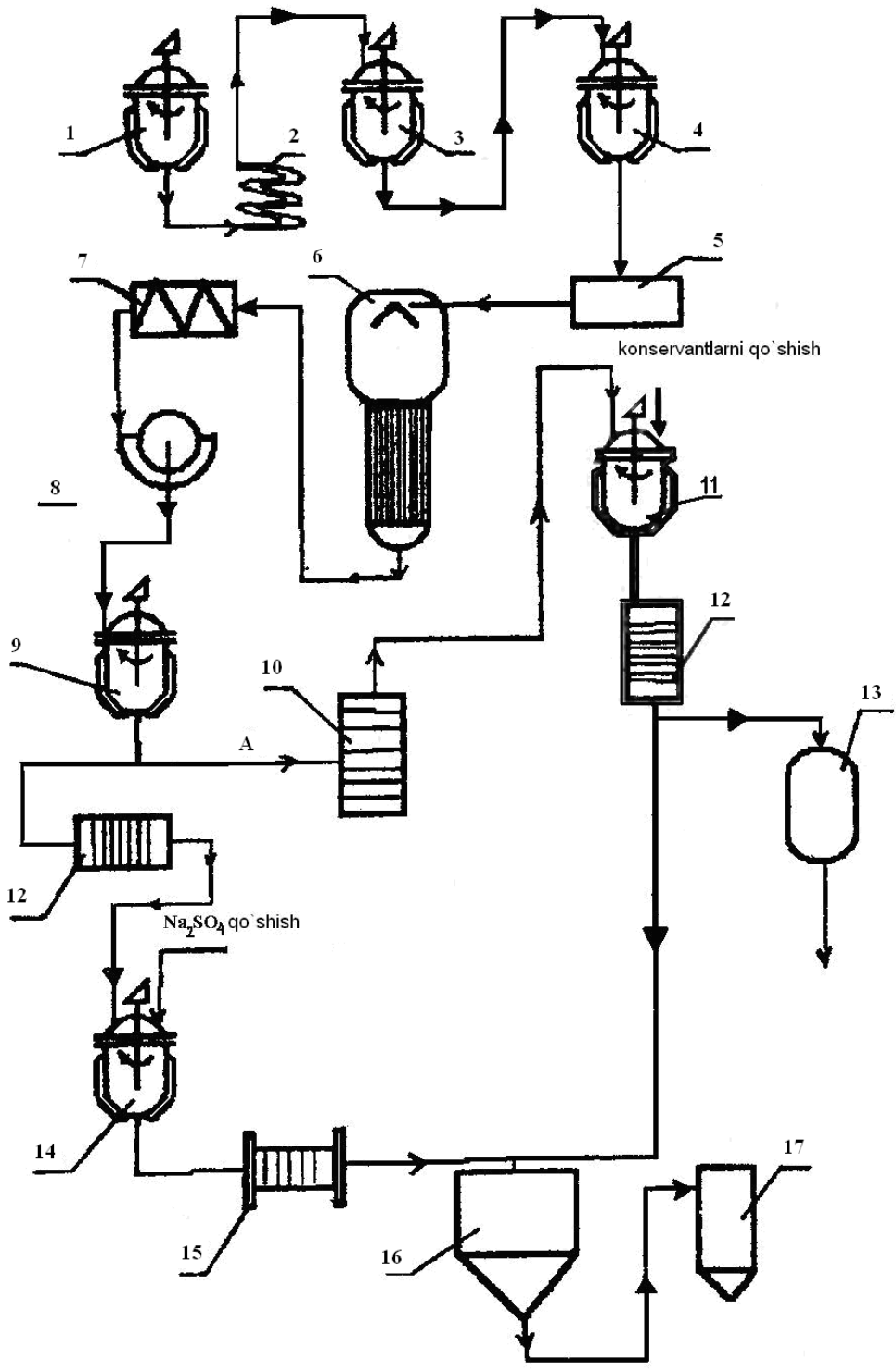
1–култура суюқлиги (МС) учун сиғим; 2–ион алмашинув колоннаси (қувурла рбирикмаси); 3–элюат тўплами; 4–филтрлаш жамланмаси (тўплами); 5– элюат учун сиғим; 6- насос; 7–вакуум парланиш аппарати (қурилмаси); 8– циклон (гирдоб); 9– озуқа концентратини (қуюқлаштириш) қуритгичи; 10 – тўплам; 11 – реактор кристаллизатор; 12 – цэнтрифуга; 13 – қуритгич.

Микроб–продуцентни икки поғонали усулда култивирланади ялпи маҳсулотга (идиофазага) мос синтез учун барча зарур ингредиентлар синтезланган ва олинган муҳитга ёналтирилади. Икки босқичли жараён схемаси қуйидаги кўринишга эга:



Аминокислота биосинтезида ферментлар ички хужайрада йигилса, унда биринчи поғонада хужайра сепарарланади, дезинтегралланади ва хужайра шираси қўлланилади. Бошқа ҳолларда ялпи маҳсулотни биосинтези учун хужайралар қўлланилади.

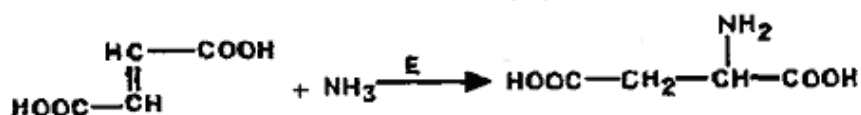
Аминокислотани олишда имобилланган ферментлар ва хужайралар ёрдамида амалга оширилади.



17 – расм. Фермент олинишининг тахминий технологик схемаси

1 – ферментатор; 2 – совутгич; 3,9 – рефрежераторлар; 4 – қайта ишлаш сиғими; 5 – центрифуга; 6 – вакуум парланиш; 7 – фермент олдиндан ишлов бэрувчи тўғри аппарати; 8 – барабанли филтр, Б – юналиш (юмшатиш заруратида); 10– ультра-филтрация аппарати; 11 – фермент эритмасини консервацияси учун сиғими; 12– мембранли филтр; 13– суюқ концентрат тўплагич; 14– ферментнинг чиқиш сиғими; 15 – филтр пресс; 16 – пуркагичли курутгич ; 17 – курук концентрат йиғгич.

Тахминан Л – аспарагин кислота, фумар ва аммиакни бир босқичда олиниш жараёнида *Э.Соли.* иммобилланган, *Псэудомонас аэругинос* ёрдамида (E) фаоллик аспартазасига эга бўлган:



фумар кислота

аспарагин кислота

Аспартаза ферменти фумар кислота билан аммиакни бириктириш реакциясини ёналтиради. Иммобилланган холатдаги фермент уз фаоллигини 2 – 2,5 хафтадан ортиқ сақлайди. Л – Аспарагин кислотасини иммобиллаш ёрдамида олиш мумкин, бунда функцияланган тизим давомийлиги оширилади.

Л – пролинни олишда Л – глутамин кислотанинг ишлатилишида биотин аналогик рол ўйнайди.

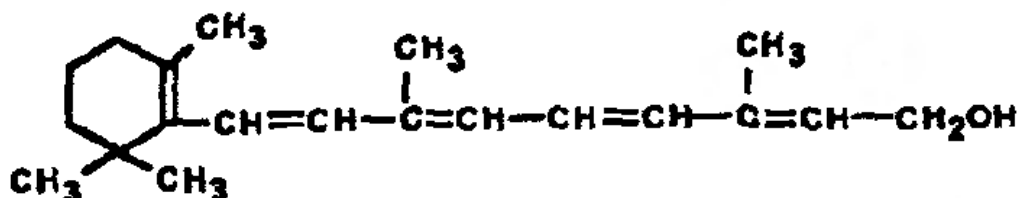
2.3. Витаминларни олиниши

Витаминлар организмга овқат ёрдамида кўпаяди ёки баъзи паталогик жараёнларда дори препарати шаклида тавсия қилинади. Липид ва ўсимлик ўстирувчи витаминлар орасида А₁ ва Д₁ витамин ишлаб чиқиш, рибофлавин, аскорбин кислотаси, цианкобаламин (В₁₂)ларни биотехнологик жараёнлари машхурдир.

Каротиноидлар–бу изопреноидли бирикмалар бўлиб, уларни *Алэуриа*, *Блакэслэа*, *Сорунэбактэриум*, *Флэхибастэр*, *Фусариум*, *Халобастэриум*, *Пхусомусэс*, *Псэудомонос*, *Рходоторула*, *Саркина*, *Спороболомусэс* турларига мансуб кўпгина пигментли микроорганизмлар синтезлайди. 500

га яқин каратиноидлар маълум. Бир молекула б – каротин гидролизидан иккита молекула витамин А₁ хосил бўлади, у инсон ичагида жойлашади.

А₁ витамини.



Каратиноидлар микроорганизмларнинг хужайра мембранасида гликозид ва мураккаб эфир кўринишида катализланади ёки эркин холда – цитоплазманинг липид гранулаларида локалланади. Каратионид «ретинал» масалан, галафил кўринишда – Халобастэриум халобиум – лизин қолдиқли оксили билан (оксинсифат оксил) бириккан, трансмембранали потенциал генерация ёрдамида АТФ синтезида қатнашади. Каратиноидларнинг асосий функцияси яхлит химояланган. Уларнинг хужайраларда биосинтезланиши ёруглик таъсирида содир бўлади.

Каротиноидларнинг продуцентлари сифатида бактерия, хамиртуруш, мицелиалли замбуруглар қўллаши мумкин. *Блакэслэа триспора* ва Чоанэпхора сонжунста зигомицентлари энг кўп қўлланилади. Бўғланган (+) ва (-) турлари бир ёьналтирилишда бир литр мухитда 3 – 4 г. каротин хосил бўлиши мумкин. Уларнинг озуклантирувчи мухити жуда мураккаб, углерод, азот, витаминлар, микроэлементлар манбаи, махсус стимуляторлар гидрол, жўхорили соя уни, ўсимлик ёғлари, керосин, б–ионон ёки изопренли димерларни ўз ичига олади. Стимуляторни яхлит холда култура мухитга кирица, трофофаза охирида, яъни продуцент продуктив фазага (идиофазага) ўтади.

Аввал штаммларни алохида йэтиширилади, сўнг 26⁰С ли асосий ферментаторга ўтказиш билан тез аэрацияланади. Ёьналтириш шартлари аввалгидек сақланиб қолади. Ферментация давомийлиги 6 – 7 кун, каротиноидлар ацетон (ёки бошқа эритма) га ўтади. Оксилли каротиноидли комплекс чиқариб олиш холатида 1 – 2 % концентратнинг 1 – 2 % ли устки фаол моддаси қўлланилади. Гомологларни тозалаш ёки ажратиш мақсадида хроматографик усулга ёки эритмага қайтиш мумкин. Витамин А₁ ни б-каротинни гидролизидан онсон олиш мумкин.

Хайвон ва қушларни боқиш учун каротин таркибли биомасса тайёрлашда А витамини билан ёки у сиз хам қўллаш хисобга олинган. Тиббиётда витамин А ни капсулаларда оғиз орқали ичиш учун тайёрланади.

Витамин Д – асосида эукариот мембрана хужайраларида топилган эргостерин бўлади. Шунинг учун нон тайёрлаш учун ёки пиво ачитқилари эргостерин олишда ишлатилади, улар антирахит таъсирларга эга провитаминлардир. Эргостерин миқдори ачитқиларнинг хужайраларида 0,2 – 11 % бўлади.

Организмда 1,25–дигидроксихолэкалциферол гормонининг этишмаслиги окибатида болаларда рахит (катталарда рахит аналогичи - остеомаляция) юзага келади.

Эргостеринни витамини D_2 га трансформацияси (калцийфэрол) ультрабинафша нурланиш таъсирида содир бўлади. Бундай холатда халқадаги (9.10 вазият) боғ узилади ва ён занжирда (22 – 23 вазият) қўш боғ хосил бўлади. Бу витамин D_2 витамин D_3 да гидриланган (холекалциферол), иккала витаминни (D_2 – D_3) физиологик фаоллиги тенг.

Эргостерин продуцентидан ташқари 1,2 – 2,2 % эргостерин таркибли аспергиллар ва пенциллар – мицелиал замбуруглари бўлиши мумкин.

Саноатда эргостеринни олинишни куйидаги босқичларга: дастлабки култура кўпайтма ва инокулум йигмаси, ферментация, хужайраларни сепарирлаш, хужайраларнинг ультрабинафша нурланиши, яхлит махсулотни куритилиши ва жойлаштирилиши кабиларга бўлинади. Дрожжни ёьналтириш (ферментацияга) конкрет штамм ва (2 % O_2 газли фазада) аэрация юзага келиши учун максимал якинликдаги хароратда ўтказилади. 3–4 суткадан кейин ўсувчи характеристик ва биосинтетик фаоллик културадан катъий назар, хужайралар сепарирланади ва вакуум – куритишга юборилади. Кейин куруқ дрожжни ультрабинафша нурлар билан нурлантирилади. УФН тўлқин узунлиги – 280 – 300 нм).

Бу назорат кўрсаткичлари тажрибали юл ускунасида регламент хужжатларида кўрсатилади.

Куруқ дрожж нурланиши хайвонот оламида ишлатилади, саноатда уларни D_2 витамини билан бойитилган гидролиз дрожж озукаси номи билан чиқарилади.

Кристалли D_2 витамини олинишида продуцент хужайралари 110 °С хлорид кислотада гидролизланади, сўнг хароратни 75–78°Сга тушириб этанол кўшилади. Аралашма-ни 10-15°С да филтрланади, филтрациядан қолган масса сув билан ювилади, куритилади, майдаланади, 78°С да киздириб икки марта уч хажмли этанол билан қайта ишланади.

Олинган липид концентрати натр ишкорий эритмаси билан ишлов берилади. Совун ланмаган фракция концентрати 0°С хароратда эргостерин кристаллашади. Уни қайта кристаллаш ёьли билан тозаласа бўлади. Кристаллар куритилади, олтингугурт эфирида эритилади, УФ нурда нурлантирилади, эфир хайдалади, витамин D_2 эритмаси концентрланади ва кристаллашади.

Одатда кислотали филтратни 50 % куруқ моддаси қолгунча буғлантирилади ва Б – витамин концентрати қилиб ишлатилади. Янада витамин D_2 ёьгли концентрати хам ишлаб чиқилади. Таркибида флавопротеин бўлиб, кофермент бўладиган витамин B_2 ёки рибофлавин хар хил микроорганизмлар хужайрасида бўлади. Шунинг учун рибофлавин продуценти бўлиб бактерия, ачиткилар ва тизмали замбуруглар бўлиши мумкин. Лекин ўзига хос штаммлар борки улар бир литр суюқ мухитда 0,5 г ва ундан кўпроқ рибофлавин пайдо қилади.

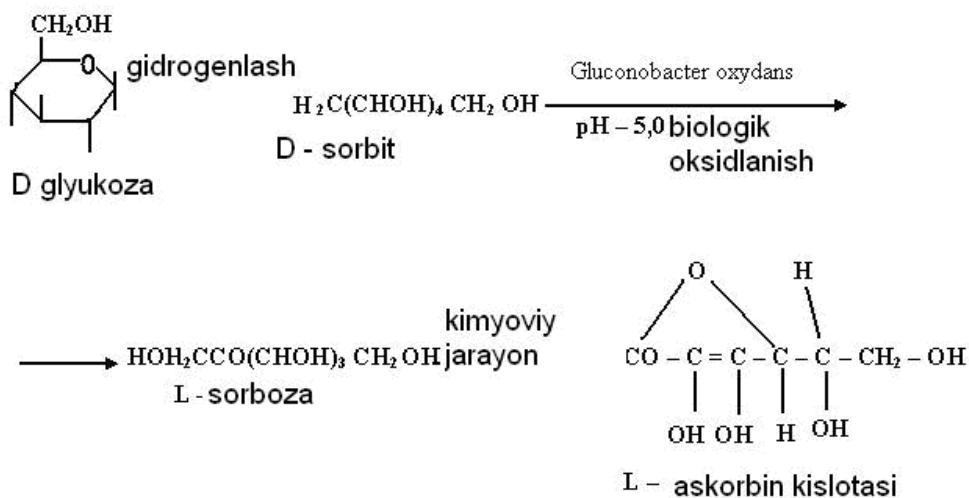
Бундай организмларга Ашбю госсупи, Эрэмотхэсиум ашбю ва *Сандида гуиллиэрмонди* киради. Фаол продуцентларнинг ўзгарувчанлигини ҳисобга олиб ва уларнинг витамин синтез қилишини билиб, ишлаб чиқаришда уларни системали ухлаб туриш учун сараланган култура керак бўлади. Агарланган мухитда биринчи икки турдаги фаол продуцентлар оч оловранг колония пайдо қилади. Ген инженерия усули орқали сен таёкчаси штамми олинди. У бир хил мухитда 6 г. рибофлавин пайдо қилади ва яна кўшиб оксил витамин концентрати ва унинг гидролизати *Эашбюдан* рибофлавинни ажралиб чиқиши, пурин азотлари ва бошқа 8 азотли манбаълар билан корреляциялашади, уларнинг таркиби керакли даражада йэтарли бўлиши керак.

Оқсил манбаи қилиб глюкоза ёки сахароза ишлатилади, ачитқи ва маккажўхори экстракти, соя уни, ёғи ишлатиб курилади. Инокулюм ва асосий ферментация олиш учун суюқ озукавий мухит бир – биридан фарк қилиши мумкин. Масалан, чўкиш материаллини олиш учун бизга таниш мухитда сахароза, пептон, маккажўхори экстракти, калий дигидрофосфат, магний сулфат, писта ёғи бўлиши керак, бу мухитда продуцентнинг етилиши икки сутка 27–30°C да (штаммга боғлиқ). Ферментацион мухитга маккажўхори ва соя уни, сахароза, маккажўхори экстракти, калий дигидрофосфат, калций карбонат, натрий хлорид ва тўйинмаган ёғ киради.

Одатда ферментация pH 5,5–7,7 да беш сутка давомида ўтказилади. Сахароза ишлатилгандан сўнг (тахминан 30 соатдан кейин) сезиларли даражада бошда мицелияда, кейин эса култура суюқликда витамин B₂ йигила бошлайди.

Хамма биомассани куришиб ва олинган куруқ продукт 8 % намлиги билан, таркибида 1,5 – 2,5 % рибофлавин, 20 % оқсил, тиамин, никотин кислота, пиридоксин, цианокоболамин микроэлементлар ва бошқа таркибларни хайвонларни боқиш учун буюрилади. Рибофлавиннинг чиқиш кўрсаткичлари юкори бўлиб кеца, витаминни индивидуал кўринишда ажратиш мумкин ва синтетик рибофлавин қаторида медицинада ишлатиш мумкин. *Сандида гуиллиэрмонди* учун озукавий мухитда темирнинг бўлишини регулировка қилиб туриш мухим, оптимал концентрацияси уртача 0,05 мкг\млгача бўлиши керак. Бунда аниқ бир ачитқи штамлари беш, етти кун ичида 0,5 г/л ва ундан кўп витамин пайдо қилиши мумкин. Рибофлавин саноатда ишлаб чиқариш учун кўпроқ продуктив турлари замбуруг штамлари – *Е.ашбю госсупи* ишлатилади.

Аскорбин кислота ёки витамин С хамма хайвон ва ўсимликда бўладиган синга касалига қарши витамин фақат инсон микробларини синтез қилмайди, аммо инсонга у жуда керак, лекин микроблар витамин С га танқислик сезмайди. Лекин бунга қарамасдан аниқ бир уксуснордон бактериялар бу кислота – Л сорбознинг биосинтезига аралашади.



Шундай қилиб, аскорбин кислота кимё – ферментатив усулда олинади. Жараённинг биологик босқичи – мембранага боғлиқ, полиолдегидрогеназа билан катализацияланади, охири кейиний усул эса ўзига олади куйидаги босқичларни олади:

- сорбозанинг диацетон билан конденсацияланиши ва диацетон – Л-сорбозани олиниши;
- диацетон – Л-сорбозанинг диацетон-2-кето-Л-гулон кислотагача оксидланиши;
- диацетон-2-кето-Л-гулон кислота энолизацияланади ва Л-аскорбин кисло– тага трансформация қилинади.

G.oxidanс ферментациясини сорбит (20%), маккажўхори ёки ачитки экст– ракти мухитда олиб борилади, яни интенсив аэрацияда (8–10г O₂/л/с) ачитки бўлган мухитда ўтказилди. Бир – икки сутка ичида Л–сорбоза 98 % гача чиқиши мумкин.

Култура орқали лог – фазага эришилгандан сўнг мухитга қўшимча сорбит қўшиш мумкин, унинг концэнтрацияси 25% гача етказиб.Шунингдэк *G.oxidanс* яримспирт (30 – 50 %) юкори концэнтрациясини хам нордонлашти- риши аниқланган. Хужайрали биомассадаги полиолдегидрогеназа орқали бу содир этилади. Бактерияларнинг ферментациясини кетма – кетлик ва ёки танаффуссиз режимда ўтказилади.

Иммобилизациялашган хужайра ёрдамида Л – сорбозанинг сорбитдан олиниши асосли равишда исботланган. Соғлиқни сақлаш ва озик – овқат саноатида аскорбин кислотаси антиоксидант қилиб ишлатилади.

Тсианокобаламин ёки Витамин Б₁₂ микробиологик синтезланади. Унинг про- дуценти прокариотлар саналади, биринчидан пропион бактериялари, улар табиий мухитда бу витаминни яратишади.

Пропионибасэрриум шэрмани М – 82 ва *Псэудомонас дэнитрифисанс* М – 2436 мутантлари цианокобаламинни суюқ мухитда 58–59 мг/л гача яратилади. Инсон организмда бу витаминнинг жуда кераклилиги хисобга

олиниб (у камконликка қарши), дунё бўйича уни ишлаб чиқариш йилига 10 т га етди, бундан 6,5 тоннаси медицина учун, 3,5 тоннаси эса чорвачиликда ишлатилади. Маълумки, кислородсиз доимий режимда цианокобаламин *П. фрэдэнрэйчии* вар. *шэрманида* култураланади. Одатда, ферментацион мухит ўзидада глюкоза, маккажўхори экстаркти, аммоний ва кобальт тузларини сақлайди, мухитни тахминан 7,0 да ушлаб туриш учун NH_4OH қўшиб турилади. Ферментация давомийлиги олти сутка бўлади, уч суткадан сўнг мухитга 5,6 – диметилбензимидазол – Витамин B_{12} нинг олдингиси қўшилади ва ферментацияни яна уч сутка давом эттирилади.

Тцианокобаламин бактэриянинг хужайрасида йиғилади, шунинг учун витаминни ажратиш жараёни қуйидагидан иборат:

- хужайралар сепарацияланади;
- пХ 4,5–5,5 ва 85–90 °С да экстракция жараёни сув билан олиб борилади, бунда стабилизатор (0,15 % натрий нитрит эритмаси) қатнашади.

Экстракция бир соат давом этади, сўнгра сувли эритма совитилади, натрий ишқор эритмаси билан нейтралланади, оксил коагулянтлари қўшилади – уч валентли темир хлорид ва алюмин сульфат қўшилади ва кейин филтрланади. Филтрат буғлатилади ва қўшимча тозаланади, ундан ион алмашинув ва хроматография усули ишлати– лади. Сўнгра сув- ацетон эритмасидан 3–4⁰С да витаминни кристаллаш жараёни ўтказилади. Фенол ёки резорцин ёрдамида кристалл цианокобаламинни олиш мумкин. Витамин B_{12} нинг ёруғликка таъсирчанлигини ҳисобга олиб биотехноло– гик жараёни қоронғу жойда (ёки қизил чирокда) олиб бориш керак.

Кобальт ва метанол тузларини қўшиб, ацетонбутил ва спиртли барларда мамлакатимизда озукa препараты КМБ₁₂ – концентратлари, витамин B_{12} ли ва бошқа ўстирувчи моддалар олинади. Метаноген бактерияларнинг аралашган култураси биообъект бўлиб хизмат қилади.

2.4. Микроб препаратлари олиниши – йернинг озукаси, ўсимлик ўсишини стимуллаш ва тартибга солиш

Асрлар давомида ўрганиб келинган азотларни ўзига қабул қилувчи микроорганизмлар ичида тўп – тўп бактерияларни ишлаб чиқаришда кўпайти- риш мақсадга мувофиқ. Чунки эркин яшовчи азоттузлантйрувчи препаратлари ерга ўтади. Хар хил сабабларга кўра кам ҳисобланади. Лекин шуниси аниқки халқнинг тез кўпайишида, дехқончилик ривожланишида йернинг ҳосилдорлигини ошириш катта муаммо ҳисобланади, мана шу муаммони хал қилишда бу ишга биотехнологларни жалб қилиш керак. Эркин яшовчи азот ўзлаштиркучилар ҳам биотехнологлар объектлари бўлиб ишлатилади. Кўриниб турибдики инсоннинг ерга бўлган таъсирини ўзгартириб бўлмайди.

Азотни хаводан ўзига ўзлаштирқувчи микроорганизмлар табиий шароитда эркин яшовчиларга бўлинади ва яна ўсимликлар , микроблар билан яшовчи симбиотикларга ажрайди.

Иммобилланган ферментлар биотехнология ёъналиши бўлиб 1971 й расмийлаштирилган. Ферментлар иммобилизацияси- « турли оксиол молекулаларининг харакати эркинлигини фазода чегараловчидир» (И.В. Березин, 1987).

Китобнинг тўртинчи бўлимида ферментлар иммобилизацияси бўйича материаллар келтирилган. Бунда биз фақат саноат ишлаб чиқариш биокатализаторларининг алохида ўрнини (масаласини) кўриб чиқамиз. Бактериал глюкозоизомеразани махкамланишининг оддий усули ферментнинг ионалмашинув ташувчи бирламчи харакати ДЭАЭ – селюлоза билан алохида – ион ўзаро таъсир боғланиш хисобига ферментни ушлаб туради. Иммобилизациялашнинг бу усули ДЛ – аминокислота синтетик рацелик ацилдан Л – аминокислота олиш учун саноат ишлаб чиқаришда фойдаланилган замбуруғли аминоксилаза (Ф) алоқаси кенг ривожланган.

(Ф)

Ацил–ДЛ–аминокислота → Л–аминокислота + ацил–Д–аминокислота

Глюкозоизомеразани алюмин оксидига иммобилизацияланади – адсорбцион ўзаротаъсир. Бунда ферментларни сезиларли миқдори иммобилизацияланиши мумкин.

Алкиламинланган шиша ёки керамикага ферментни ўзаро ковалент таъсир юз бериши мумкин. Бундай иммобилизациялаш ферментлар фаоллигини тушуриб, уларнинг ишдаги самарасини тушуриб юборади. Иммобилиза-

циялашнинг оддий усули ферментни продуцент ички қаватида сақлашга имкон беради.

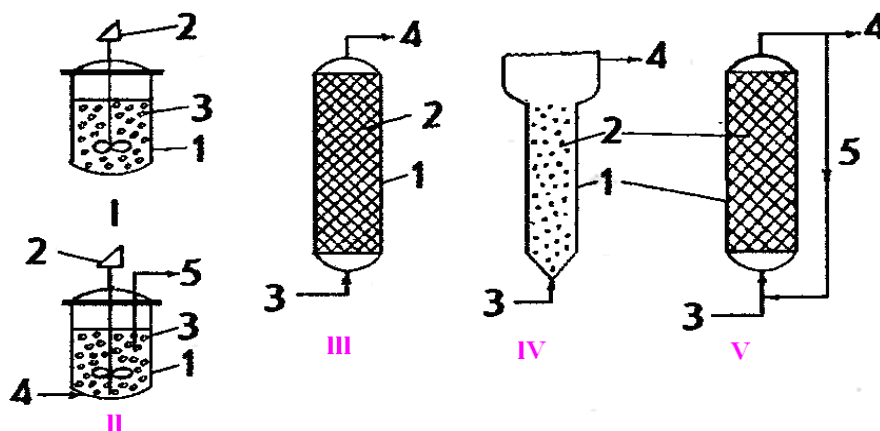
глюкозаизомеразани хосил қилувчи стрептомицетни 60–80⁰С да иситилишидан културанобуд бўлиши содир бўлади, бу билан бир катирда автолизинларни бузулишини кўриш мумкин.

Ички хужайра фермент ковалент бириккан (тикилган) ва глуатор алдегид ковалент боғланиш ёрдамида қайд этилган.

Микроб хужайралари – фермент продуценти ва ферментларни ўзи хам турли гелл ва толали тизимга, микрокапсулаларга, липосомаларга киритилган бўлиши мумкин.

Ишлаб чиқариш саноатида асосий технологик жараён, яъни ферментларни иммобилизациялаш биореакторлар иштирокида ўтказилади (18- расм).

Агар субстратнинг сувли эритмаси аппаратнинг барча қисмларига бир тэкис тарқалса, бундай реактор «поршэнли типли» бўйича функцияланади. Бунда аппаратга субстрат концентрацияси максимал киритилади, ялпи махсулот концентрати эса чиқиш қисмида бўлади.



18- расм. Инжэнэрлик энзимологиясида қўлланиладиган биореактор

И– қисмларда: 1 – биореактор; 2 – аралаштиргич;

3 – иммобилизацияланган фермент.

ИИ – қисмларда: 1 – биореактор; 2 – аралаштиргич;

3 – иммобилизацияланган фермент;

4- субстрат кириши; 5- яхлит махсулот чиқиши.

ИИИ – В қисмларда: 1 – солонна; 2 – иммобилизацияланган фермент;

3 - субстрат кириши; 4 – яхлит махсулот чиқиши;

5 - рециркуляция.

Реакторнинг ИВ- тури микробларни културалаштириш (пХ харорат назорати учун қулай) учун хеомстатни эслатади. Агар сўнги махсулот фермент ингибитори қаторига кирса, оддий холда ИИИ конструкция (қурилма) қулай, агар субстрат уингибитор алохида шароитда бўлса унда И курилмадан фойдаланган афзал. ИВ реакторда субстрат эритмаси ферментни доимий ўлчанган холатда ушлаб туриши керак ва уни яхлит махсулот эритма оқими чиқиши билан олиб кетмайди.

Үйрик масшабли ишлаб чиқаришда, протеазлар ва гликозидазлар каби гидролизлаш асосий хисобланади. Протеаз уч тоифага бўлинади – серинли, нордон ва металлопротэазлар. Биринчи термостабил оптимум пХ учун 0,8 юқори эмас. Шунинг учун серинли протэазлар ювиш воситаларида кенг фойдаланилади. Бу ферментларнинг асосий продуценти бациллар хисобланади.

Нордон (тахир) протэазлар пХ–оптимум 1,5–3,7 га эга. Улар пишлоқ тайёрлашда фойдали хисобланади. Замбуруғли ренин бузоқ ошқозонидан фермент алмашинувини яхшилайди. Алохида таъкидлаш керакки, бу тавсиларда ренин хосил қилувчи *Мусор пусиллус* тэрмофилли штамм туридан фойдаланилади. Бунда эхтиёткорона харакат қилиш зарур, чунки

илмий адабиётлар ва тиббиёт амалиётидан маълумки, бу тур замбуруғлар инсонларда (мукороз ёки мукоромикоз) касалликка олиб келиши мумкин.

Металлопротэазлар pH оптимумли нейтрал минтақада (6,5 – 7,5) озун саноатида қўлланилади. Уларнинг асосий продуценти бациллар ҳисобланади.

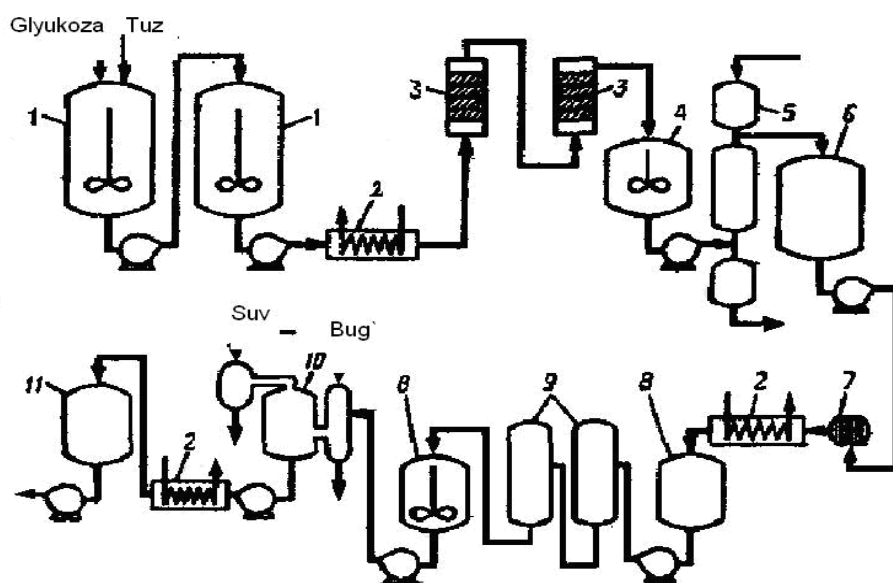
Гликозидазлардан замбуруғли ва бактериал амилазалар катта аҳамият касб этади, улар крахмални гидролизлайди.

Жаҳонда глюкозани фруктозага алмашинуви асосида глюкоза – фруктозли сироплар ишлаб чиқариш ташкил қилинган (19-расм). Фруктоза (левулеза) глюкозадан ширин (дексахон) ишлаб чиқаришдаги суюқ қолдиқлардан фруктозали сироплар олиш имкониятини ҳисобга олиб, СНГ давлат корхоналарида ҳозиргача фруктоза «трапга кетмоқда».

Меваги шарбат тайёрлашда пектиназалардан муваффақиятли фойдаланилмоқда. Бу ферментлар индивидуал биокатализаторлар комплексини: пектинлиаз, пектатлиаз ва полигалактуронидаз (пектинэстераз) ташкил қилади. Улар ёрдамида шарбатнинг қовушқоқлиги пасаяди ва тиниқлиги оширилади, бунда пектин гидролизга ушрайди, чунки жараён шарбатни концентратлаш учун муҳим.

Пектиназанинг асосий продуценти *Аспергиллуснигэр* ҳисобланади.

Саноатда ферментларнинг 6- жадвалдаги номланишни ҳам ишлаб чиқарилади.



19 – расм. Имобилизацияланган глюкозоизомеразлар ёрдамида глюкозанинг фруктозага трансформациялашнинг технологик схемаси

1–глюкоза эритмасини тайёрлаш сифими; 2- иссиқлик алмашинувлар;

3–иммобилланган глюкозоизомеразларнинг биореактори; 4–пХ
 ростлаш тизими билан глюкоза – фруктозали эритма учун
 реактор;
 5–эритилган қўмирда товланиши учун мослама; 6 ва.8–эритма
 тўпламлари; 7–филтр; 9 - ионалмашинув колонкаси; 10 – вакуум
 парланиш мосламаси; 11–глюкоза – фруктоза сироп тўплами.
 (М.Е. Бекеру, Г.К. Ляниншу, Е.П. Райкулису бўйича 1990).

6– жадвал

**Саноатда ишлаб чиқариладиган мухим микробли ферментлар ва
 уларнинг продуценти**

Фермент	Продуцент
Гидролазалар	
Гликозидазалар	
α – Амилаза	Асп.нигэр, Асп. орузаэ, Вас.амйлоликуэфасиэнс, Бас.личэниформис
β - Глюканаза	Асп.нигэр, Бас. амйлоликуэфасиэнс
Глюкоамилаза	Асп.нигэр, Рхизопус нивэус, Эндомйсопсис сп.
Глюкоизомераза	Астинопланэс миссоуриэнсис, Артхробастэр сп., Бас. Соагуланс, Стрэптомйсэс сп.
Декстраназа	Пэнисиллиниум сп.
Инвертаза	Асп. сп., Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ
Лактаза	Асп.нигэр, Клуйвэромйсэс мархианус
Пектиназлар	Асп. Авамори, Асп.нигэр, Клэбсиэлла пнэумониаэ
Протеазлар	Асп.нигэр, Асп.орйзаэ, Алкафил бациллалари,Бас.амйлоликуэфасиэнс, Бас. Личэниформис, Бас. стэаротхэрмопхилус
Липазлар	Асп. авамори, Асп. орйзаэ, Сандида сйлиндириса, Мусор миэхэи, Рхизопус сп.
Пенициллиназа (пенициллиназа, пенициллинамидаза)	Эсчэричай Соли

Оқсил ва оқсил сақловчи моддалар

Токсинлар ва анатоксинлар. Касал яратувчи микроорганизмларнинг алоҳида турлари экзотоксинларни ҳосил қилади, улар «агрессия фактор» (омил) ларга тегишли. Улар юқори полимерли, термолабил оқсиллар. Экзотоксинлар инсон организмга кириши билан алоҳида аҳамиятга эга. Масалан, токсинни нейротоксинларга асаб толалари функциясини бузувчи: гангренозли токсинлар некротоксинларга киради, ажратилган штаммлардаги – экзотоксинлар ичак ва ичак таёкчаларига зарар етказди (шикастлайди). Баъзи токсинлар диагностик касалликларда қўлланилади. Масалан, дифтерийли токсин Шик реакциясининг ички тери учун тавсия қилинади. Токсинни оддий схема бўйича экзооқсил ажралишни дифтерийли штамм ажралишида суюқ озиклантирувчи мухитни яхшилашда ишлатилади.

Шик реакцияси учун чиқарилган препарат–1 мл. ампуладаги рангсиз тиниқ суюқлик. Сақлаш муддати икк йил, 3–10 °С хароратда сақлаш керак.

Экзотоксинларни формалин билан қайта ишланса антиген хусусиятни сақлайди. Химояланган заррасиз токсинлар анотоксин ёки токсидлар деб номланади. Уларни антитоксик суюқлик олишда (глобулин) қўлланади. Соғлиқни сақлаш амалиётида антитоксинларнинг қуйидаги ботулиник, гангренозли, дифтерийли, стафиллококкли, без (столбнячнўй) турлари мавжуд.

Экзотоксинлар олиш технологияси қуйидаги босқичларни ўз ичига олади:

- белгиланган озуқа мухитда, оптимал тартибда (пХ, харорат, аэрация ёки анаэробиз, йетиштириш давомийлиги) патогенли микроб продуцентни културалаш;
- формалин билан 37–40°С хароратда зарасизлантириш;
- анатоксин сақловчи културал суюқликдан хужайрани тозалаш (қолдиқ);
- тозалаш;
- коцентирлаш;
- адсорбэнт қўшиш;
- саралаш;
- қадоқлаш;

Адсорбентлар одатда, ноорганик модда – алюминий гидроксиди, алюминий фосфат, калций фосфатлардна фойдаланилади (Россияда алюминий гидроксиддан фойдаланилади). Шу тарика иммунизация самарасини оширишга эришилади.

Тозаланган адсорбирланган анотоксинлар – бу суюқ суспензия – препарати у ок, оч қўнғир ёки сарғиш тусда бўлиб, тиниқ суюқликдир.

Ботулиник ва гангренозли анотоксинлар отларнинг иммунизациясида таснифий даволаш иммунопрепаратларини олиш мақсадида қўлланилади.

Дифтерийли анотоксин фаол иммунизация учун антидифтерийли профилактик восита сифатида тавсия қилинади. У монопрепарат қўринишида бўлиб, таркибида ассоцияланган вакцина бўлиб ва хар бирида

алюминий гидроксидга токсин адсорбирланган. Монопрепарат – адсорбирланган дифтерийли ёки АД – аноксин - 2 мл аксорбентдан кам бўлмаган 1 мл. 60 антиген (флоккулирланган) таркибли аноксин бирлиги, тозаланган, конценрирланган махсулотни ўз ичига олади. Флоккуляция – бу дифтерийли аноксин ёки анитоксин ўзаро таъсир реакциясидир. Флоккулирланган бирлик – бу антиген (токсини) нинг минимал миқдори (лотинчадан Флоссули – клочок).

АДС–аноксин–бу дифтерийли ва безгак аноксинлар, $Al(OH)_3$ адсорбирланган ва дифтерий аноксин 1 мл. 60 антиген таркибли 20 бирлик безгак аноксини 2 мг. адсорбент миқдоридаги тозаланган, конценрациясининг ассоцирланган препаратидир. Препарат нинг бошқа жихати хам машхур унда 1 : 1 мувофиқликда айна ингредиентлар 1 мл. таркиби билан танилган, биринчи вариантга адсорбент киради.

АКДС – вакцина – ассоцирланган препарат, АДС – аноксин моддасини ташкил қилувчи, кўкёталл вакцинани ўз ичига олади. Бунда 1 мл. вакцина таркибида дифтерийли безгак аноксини 30 ва 10 антиген бирликка мувофиқ келади. 2 мг. алюминий гидроксиди ва 20 млрд. кўкёталл бактериялар хужайраси формалин ёки мертиолат билан ўлдирилган. 0,001 % 0,5 мл. мертиолат юқорида келтирилган препаратлар таркибида битта бирламчи доза консервант сифатида фойдаланилади. (ишлатилади).

Қўллашдан олдин уларни чайқатиш лозим. Чиқариш шакли – 1 мл. ампулани препарат. Ампулаларни АД ва АДС – аноксинларда 3 – 10 °С уч йил муддатда сақланади. АКДС вакцинасига келсак уни сақлаш шароити икки марта қисқаради, яъни 1,5 йил ёки назоратдан кейин олти ой.

Эмлаш (прививка) ни Россия соғлиқни сақлаш вазирлиги тасдиқлаган схема бўйича амалга оширилади.

1994 йил Канадада гемофил таёкчаси сэротипи томонидан юзага кэлган б(Хиб) кўкёталлга, дифтери, безгак, полиомиелит касаллигига қарши пентавалент вакцина амалиётда тадбиқ этилган.

Безгак аноксини профилактикасини битта безгак аноксини (20 ЕС 1 мл. адсорбент билан), ёки бошқа препаратлар ассоциацияси билан, яни уни АДС–аноксин ва АКДС–вакцина хамда ТАВТе–вакцина таркибига киради. Безгак вакцинани таркиби 0.2 мг. таркибли брюшнотифозли ва А – паратифозли, 0,25 мг. В – паратифозли антиген, 10 ЕС безгак аноксини ва 1,5-2 мг. $Al(OH)_3$ тартибда безгакка қарши қўлланилади. Улар флаконларда чиқарилади – инъекция учун 8 мл. препаратни ташкил қилади (ва мертиолат консерванти) сақлаш муддати 8 – 10 °С да уч йил (назоратдан сўнг яна бир йилга узайтирилиши мумкин). Инсонлар иммунизацияси ССВ тасдиқлаган схема бўйича ўтказилади.

Безгакли аноксин безгакка қарши суоқликларда қайта иммунизация қилинади. Иммунопрепарат экстрен – тез профилактик восита сифатида қўлланилади.

Стаффилококкли анотоксин қайнатма (шўрва) културани стерилланган филтратэ ташкил қилади. Бундай суюқликда токсин миқдори 5 ЕС 1 млда. препаратда бўлиши керак. Тайёр холдаги натиф стафилококкли анотоксин – тиниқ сарғиш суюқлик бўлиб, тери остига юбориладиган препарат чиқиш шакли – 2 мл. ампулада ,1 мл. препарат суспензияда 10 Ес ташкил этади.

Энтомопатогенли бацил токсик оқсиллар

Баъзи энтомопатоген бациллар захарли хашоратлар билан кўрашишда биологик восита сифатида қўлланилади. Уларга *Bac.pопиллаиэ* ва *Bac.тхурингэинсис* дан иборат жараёнда пароспорал оқсил кристаллари хосил бўлади. Бундай оқсил синтези ген назоратида бўлади (плазмид таркибли).

Bac.попиллаиэ хашоратларда сурункали инфекцион касаллик чакиради. *Bac.тхурингэинсис* токсик пароспорал оқсилли кристалл хашоратларга пестицид каби зарарли таъсир қилади. Афсуски ташқи мухитда бу токсин узоқ сақланмайди, шунинг учун зарарли хашоратлар худуди қайта ишланади.

Bac.попиллаиэ ва унга яқин микроблар (*Bac.лэнтиморбус*, *Bac.эулоомархаэ*) кўнгизларнинг сутли касаллигига индуцирланади. Бу турдаги бацилларни сунъий озуклантирувчи мухитга ёъналтириш қийин, шунда хам анаэроб шароитда қўллашга эришилади. Дус – кукуни сифатида қўлланилади.

Bac.попиллаиэ асосидаги препарат узоқ вақтдан бэри АКШ да тайёрланади, япон кўнгизини сонини назоратга олиш учун – *Попиллаиэ жапониса* ишлатилади.

Россияда *Bac.тхурингэинсис* асосида (дендробациллин, инсекцин, токсобактерин, энтобактерин-3 ва бошқалар) препаратлаи тайёрланади. Микробнинг бу тури икки токсинга бўлинади β ва δ . Булардан β – экзотоксин хашоратларга қарши кенг таъсир спектрини эга, у аденин нуклеатид бўлиб, АТФ ва пиродифосфатни гидролизини катализлайдиган ферментни ингибирлайди.

β токсин юборилишида озукланувчи хайвонларга улар хавфлидир. Шунинг учун ишлаб чиқаришда продуцирланмаган β -экзотоксин штамм қўлланади, лекин хосил бўлувчи δ -токсин, у оқсил кристалл модда– тўғри саккиз томонлидир. Токсикни намоён қилиш учун у хашорат ичагига бориши керак, хаммадан бурун – япрокхурлар туркумидаги чешуканотлилар лопидоптэра меьда мухитига тарқалиб протеазида гидролизланади. Бундай модифицирланган оқсил ичак деворига тегиб уни ўзгартириб юборади ва умумий паралич (шол) холатини чакиради.

δ -токсин озукланувчи хайвон, инсон, кушларга зарари ёък *Bac.тхурингэинсис* хакида адабиётларда 20 дан ортиқ микроб стэриотиплари ва δ - токсиннинг ўн бэш хил варианты, шундан саноатдаги масалан, тхурингэинсис ёки бэрлинэр (И), алэсти (ИИИ), дэндролимус (ИВ), галлэриа (В) вариантлари мавжуд.

Энтомопотоген препарати олиш технолгияси қуйдаги боскичларни ўз ичига олади:

- енгил фага матка култура текшируви;
- $1,7 \cdot 10^9$ 1мл.дан ортиқ титрда колбада култура йэтишириш;
- асосий ферментаторни ёқилади (0,0012 % хажм мухитидан инокулюм биореактори киради). Беш ферментаторлар давомийлиги 35–40 соат 28–30 °С (рН 6,3 чиқиш белгиси) юқоридаги зичликка эга бўлиш учун 1 мл. мухитга ўтилади.

Тайёр махсулот чидамли, мустахам суюқлик бўлиши мумкин, у оч кул ранг, хидсиз бўлиб, тўлдирувчидан иборат– кристалли микроцеллюлоза. бошқа варианты– хўлловчи кукун, пуркагичли қуритгичда қуритилгандан сўнг тайёрланган (намлик 10 %) ва каолин билан аралашган бўлади.

Бир хужайра ва кўп хужайра микроорганизмларнинг оқсили. Микроб хужайрасининг қуруқ моддасида Оқсил миқдори 19 % дан 90 %гача бўлади (7- жадвал).

7– жадвал

Бактэрия ва замбуруг хужайралардаги оқсилнинг таркиби (% қуруқ масса)

Микроорганизм	Оқсил, %	Микроорганизм	Оқсил, %
Аспэргиллус флавус	19	Рходоторула рубра	56
Аспэргиллус нигэр	33	Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ	56
Рхизопус нигрисанс	36	Стрэптомйсэс грисэус	57
Пэнисиллиум нотатум	38	Басиллус субтилис	63
Басиллус мэгатэриум	39	Стапхйлососсус аурэус	65
Сандида арборэа	46	Эсчэрича Соли	82
Ластобасиллус сасэи	47	Ластобасиллус фэрмэнтанс	87
Сандида утилис	53	Мэтханобастэриум сп.	90

Микробли биомассани оқсил махсулот каби қўллашда ундаги турли моддалар йиғиндисини хисобга олиш зарур (шу қаторда хужайралардаги нооқсил моддаларни). унинг аминокислотаини ташкил этувчи эквимоляр миқдор билан табиий оқсиллар бўлмайди, аммо уларнинг (аминокислота) мослиги хар бир оқсил учун алохида берилган.

Амалиётда ўлдирилган хужайралардан оқсили махсулот сифатида фойдаланилади, хужайра биомассасидан протеинларни ажратиб олиш жараёнида, оз миқдорда ялпи махсулот бўлади.

Турли йилларда хар хил мамлакатларда қуйидаги микроорганизмларни оқсил манбаи сифатида қўлланилган: *сасчаромусэс сэрэвисиаэ*, *сандида утилис*, *фусариум грамминэарум*, *мэтхуломанс слара*, *сандида* (апоптоген

штамм) *трописалис*, *сандида малтоса*, *хансэлуна сп* ва бошқа турли мухитда ўстирилган ва ўстирилмоқда C₁₁C₁₈;

спирт саноатида – этанол олинади;

газ саноатида – метан олинади.

ХИХ аср охиридан пиволи дрожжэни турли тэзликда фойдаланиш бошланди, айниқса озик махсулотлари етишмаслигида масалан, биринчи ва иккинчи жахон уруши йилларида. 1980 йилда Англияда озуқа микропротеин мицелий замбуруғи *Фуссариум граминэарум* дан фойдаланишга рухсат берилган, унда турли тўлдирувчиларни таёрлаш кулай бўлган, масалан, гўшти махсулотлар.

Еми ёки озуқа оксилени олиш технологияси учун бир ва кўп хужайрали микроорганизмлар хужайра биомассасини имкони борича кўп миқдорда ўстиришга боғлиқ. Микроорганизмни култирлаш доимий ёки узлукли тартибда, стэрил ёки нострил шароитда хужайра биомассасини денуклизациясини турли усулларда ўтказиш мумкин.

Турли оксил махсулотлари мавжуд, улар турли дунё мамлакатларида тайёрланади (8 – жадвал).

Микробли оксил ўта жадал, унинг иқтисодий мақсади қуйидагиларда намоён бўлади: 1 кг. емдан 70 г мол гўшти олиш мумкин, гўштининг таркибида 14 г. оксил бўлади мумкин. Англияда 1100 г. гача олинади, хом мицелиал масса 136 г. оксилни ташкил этади.

8– жадвал

Микроб асосида олинган оксил моддалар

Номланиш ва белгиланиш	Оқсилтаркиби, %	Продуцент	Углерод манбаи
Озуқа ачитқилар	52	сасч сэрэвисиаэ	углеводлар, этанол
Даволовчи (пиволи) ачитқилар	52	сасч сэрэвисиаэ	углеводлар
Паприн (озуқа ачитқи оксили)	52	сандидамолтоса	қаттиқ парафинлар
Гаприн (озуқа бактериал оксил)	74	турли бактериялар	метан
Озуқа микопротеини	47	фусариум граминэариум	углеводлар
Торутин	52	сандида утилис	этанол
Дигитатин	53	пэнисилл дигитатум	картошка крахмали

Сўнги босқичда сепарирланган хужайра массасини изохлаб, қуришиб турли усулларда қуришиш ёки самарали сиқиш кузатилган. Охириги махсулотда барча микроорганизмлар хужайралари едилрилган бўлиши керак.

Микробли гликанларни ва гликоконъюгатларни олиниши ардагдаг

Микробли полисахаридларни ёки гликанларни ички ва ташки хужайралари ёки экзо– ва эндогликанларга бўлиш мумкин. Ички хужайравий гликанлар хужайра деворларида структуравий (эримайдиган хитин, глюканлар) ва структура–метаболик (турларнинг антигенлик хусусиятини аниқловчи нисбатан эрувчан маннанлар, гликоманнанлар) бўлиши мумкин, улар гипермахсулот бериш вақтида култура суюкликка ўтувчи ва ташки хужайралардагилар қаторига ўтади. Эндогликанлар қаторига захирадаги углэ– водлар ва турли гликоконъюгатлар (нуклеозидлар ва полимнуклеотидлар, алохида ферментлар, гликолипидлар, пептидогликанлар) киради.

Продуцентлар экзогликанига сутли – нордон ва сирка норданли бактериялар, ксантомонаси ва псевдомонаси, замбуругланиш алохида дрожжли ва ипсимон тури киради. Баъзи мамлакатларда *Азотобастэр винэландии* ёрдамида алгин кислота ишлаб чиқарилади. *Аурэобасидиум пуллуланс* ёрдамида аубазидан, декстран (прдуцентлар–*Лэусоностос мэсэтэроидэс*, *Л.дэхтранисум*), курдлан (прдуцентлар–*Алсалигэнэс фазсалис вар.михогэнэси*), маннанлар (прдуцентлар– *Хансэнупа*, *Рходоторула* оилага мансуб турли дрожжэлар), пуллулан (прдуцентлар–*Аурэобасидиум пуллуланс*) ва бошқалар ишлаб чиқарилади.

Ферментация охирида полисахарид сээиларли йиғилганда култура мухити гел холатига ўтиши мэмкин.

Агар экзополисахарид сувли эритмада боғлиқлик ўзгарса тебраниш (бирламчи тизими бузилмасдан) экзогликан сепарирлаб, мос келувчи реагент (масалан, ишқор), култура суюклигини аралаштирмасдан продуцент хужайра тозаланади, кейин полисахарид эритма суюлтирилади ва ўзининг бошланғич холатини тиклайди (курдлан).

Кейинги босқич вакуум парланиш ёки «мембранали» концентрлашдан иборат, мос келувчи «Владипор» ёки «Меллипор» турдаги филтрлардан фойдаланилади ва сўнгра кутибли эритувчи ёрдамида экзогликан чўктирилади. Экзогликан олиш технологиясининг сўнги босқичида қуритилиш, майдалаш, қадокланади. Бундай холларда полисахаридни дэполимеризациялаш (декстран) учун технологик жараённинг исталган босқичида полисахарид гидролизи содир бўлиши мумкин.

Эндогликанлар хужайра массада ёки мос экстрагенлар билан сувли ёки сувли–спиртли эритмада, ёки хужайраларни олдиндан гидролиз қилинади, ёки дезинтеграторларда дезинтеграция қилинади.

Қайси ёл билан бўлсада олинган сувли эндогликан (гликоконъюгати) тозалаш ва ажратишга экзогликанлар каби бир хил бўлади.

Гликанлар молекуляр ва хужайра даражада тирик организм химоясида умумий биологик тўлдирилади.

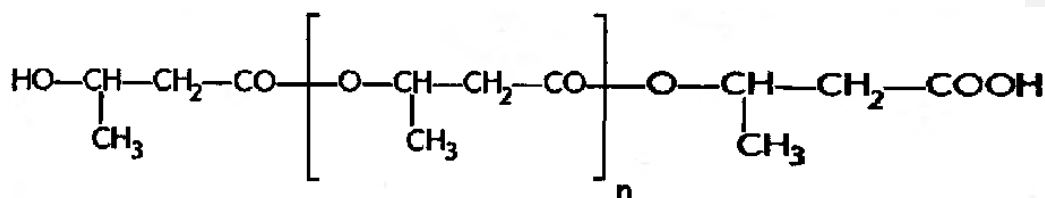
Углевод ассортиментли полимер ярим синтетик ишлаб чиқариш асосида кенг тайёрланади. Масалан, сульфатланган декстранлар, маннон ва бошқа гликанлар гипариносимон моддалар гурухига кирадаиган – гепариноидлардир.

Микробли липидлар хали саноат ишлаб чиқаришга киритилмаган, баъзи продуцентлар шу мақсадда яхши дэб хисобланади, липоидлар 40 % хисобида хужайранинг куруқ моддаларида йиғилади. Бу липидлар таркибидаа биологик тўйинган ёғли кислоталар бор. Бундай продуцентларга: Сроптососус тэррисолус, липомусэс липофэрус, Рходоторула грасилис, Спорололомусэс росэус, Тричоспорон пуллуланс ва бошқалар кириши мумкин.

Полиоксибутиратнинг олиниши

Поли Д(-)β-оксимой кислота прокариотдаги энергетик захира материалидир, у ММ 60 кДа – 250 кДа гача бўлади. Энергия ва экзоген манбанинг ёқлиги сабабли улар деполимерланади ва хужайрани таъминлашда АТФ қатнашади.

Полиоксибутират хужайраларда (баъзида 70 % гача куруқ модда) гранула шаклида, диаметри 0,1 – 0,7 нм бўлган, мембрана куршовида йиғилади. Ўзининг физик-кимёвий хусусиятига кўра у радиоэлектроникада (яхши пьезоэлектрик хусусиятга эга), тиббиётда (хирургик-жаррохлик материал), фармацевтияда (баъзи дори шакллари яратишда ёрдамчи восита), органик синтезда (термопластик характерида кўра полизопропиленга ўхшаш) қўллахилади.



полиоксибутират (n қ 300 - 1300)

Полиоксибутиратнинг сезиларли миқдори Алсалигэнэс, чроматиум, Хупхомисробиум, *Митхулобастэриум*, *Носардиа*, *Пслудоманос*, *Рхизобиум*, *Спириллум*, *Стрэптомусэс*, *Вибро* каби бактериялар йигади.

Бироқ уч йилгина биополимер биосинтез саноатида: *Алсалигэнэс*, *Азотобастэр* ва *Мэтьюлобастэриум* ахамиятли бўлди. Улар арзон субстратга (ацетат, водород, миласса, метанол, сахароза, этанол) тегишли полионсубстрат тўплайди. Хужайраларда полимер йигилиши назорати ИК – спектрофотометрик ёрдамида осон ўтказилади.

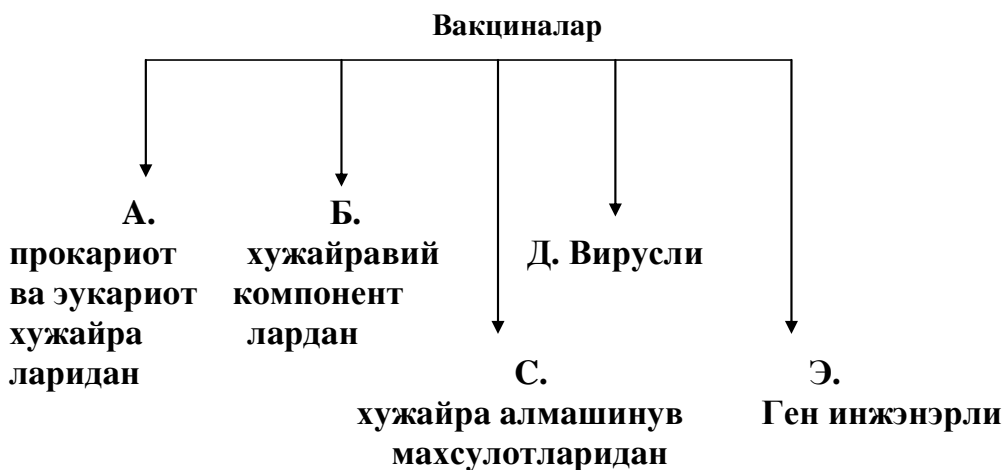
Исталган озук манбаидан ёки ксилород буйича продуцентни ўсишини лимитланиши (углерот, азот, олтингугурт, фосфор), Ац КоА орқали синтезланадиган, полиоксибутиратни тўпланиши содир бўлади. Ферментация жараёни бир ёки икки босқичли бўлиши мумкин, бунда аввал озук манбаи ва нафас олиниши мъёрига кэлтирилганда биомасса кўпайтирилади, сўнгра уни ўсиш ва ривожланиш лимитланган шароитига ўтказилади.

Сепарирланган хужайралар полимерни ажратишда экстрагирланади, масалан, курилмадан келиб чиккан холда ялпи махсулот олиш учун 1,2 – дихлорэтан билан, ёки кейин ишлов бэриш билан дезинтегрирланади.

Иммунобиологик микробли препаратларни олиниши

Иммунобиологик микробли препаратларига вакцина, диагностикаумлар, аллер- генлар киради.

Вакциналар – инфекцияли касалликлар профилактикасида етакчи уринда туради. Миллионлаб болалар ва катталарни хар йили бутун жахонда вирус ва бактерия вакциналари билан «эмланади».



А. 1. тирик; 2. ўлдирилган;

Б. 1. полисахаридли; 2. рибосомалли;

С. 1. анатоксинлар (токсоидлар);

Д. Вирионлардан: 1. тирик; 2. инфаолланган;

Вирионлар компонентларидан: 1. суббирликли.

Вакцина штаммларини яратиш ёки танлаш катта жавобгарлик талаб этиладиган жуда мухим ва қийин ишдир. Хозирги вақтда Жахон Соғ`ликни сақлаш ташкилотини ташаббуси билан ва шунга рахнамо

бошқа соғлиқни сақлаш ташкилотлари назоратида стандарт вакцина препаратлари ёрдамида турли эпидемик юқумли касалликларни профилактикасини ташкиллаштириш бўйича сайи ҳаракатлар қилинмоқда. Вакциналардан юқори иммуногенлик ва инсонлар ва ҳайвонлар учун зарарли бўлмаслиги талаб этилади.

Вакциналар специфик инфекцион касалликларни олдини олиш монопрепаратлар кўринишида ёки бир неча инфекцияларга қарши иммунитетни ҳосил қилиш мақсадида ассоцияланган формада бўлиши мумкин.

Патогенли микроб хужайрасидан олинган вакциналар

Тирик вакциналар. Организмда яшовчи, касаллик чақириш хусусиятини йўқотган микроорганизмларнинг вакцина штаммларидан иборат хужайралар тўпламидир. Бундай штаммлар аттенуирланган (лот. аттенуатус–кучсизланган, нозик, кичиклашган) деб аталиб, табиий (спонтан мутациялар) ёки сунъий лаборатория шароитларида (яратилган мутантлар) бўлиши мумкин.

Тирик вакциналарни олиш технологияси қуйидаги босқичлардан иборат:

1. Вакцина штаммларини кўпайтириш. Мўътадил шароитларда пробиркаларда, фэр–ментаторларда озуқа мухитларда бир неча марта ўстириб олиш. Бу босқични давомийлиги микроорганизмни ўсиш тезлигига боғлиқ (солиштириш учун салмонелла ва силминобактериясини кўрсатиш мумкин).
2. Култура мухитидан хужайраларни ажратиш (сепарация), масалан, центрифугалаш усулида.
3. Мос эритувчида хужайраларни ресуспензиялаш (сахароза ва желатин аралашмаси– БТсЖ га вакцинаси учун, – сув тулярэмия вакцинаси учун ва хоказо).
4. Суспензияни ампула ёки флаконга қуйиш.
5. Леофил қуритиш, ампулаларни қовшарлаш ёки флоконларни оғзини беркитиш.

Тирик вакциналар таркибида вакцина штаммларини ривожланиш ва ўсиш ингибиторларини ёки консервантларни сақламаслиги зарур. Агар тирик вакциналар тирик кўринишда ишлаб чиқарилса, у ҳолда суспензион мухит сифатида стабил–заторлар ёки буферланган натрий хлоридни изотоник эритмасидан фойдаланиш мумкин. Тирик вакциналарни бир марта организмга киритилади.

Патогенларни ўлдирилган хужайраларидан олинган вакциналар

Патогенларни ўлдирилган хужайраларидан олинган вакциналар яққол имму–ногенлик аммо патогенлик йўқотилган касаллик тугдирувчи бактерия ёки замбуруглар тўплamidан иборат. Бундай вакциналарни ишлаб чиқариш технологияси қуйидагича: мос кэлувчи озуқа мухитида стандарт ишлаб чиқариш штамини ўстириш; қуйида кэлтирулган

усуллар ёрдамида хужайраларни зарарсизлантириш (кўпинча центрифугалаб); керакли концентрация – гача натрий хлоридни изотаник эритмасида хужайраларни рэсуспэнзиялаш; патогенни тирик хужайраларини бор-ёқлигини текшириш; иммуногенликни ва бошқа кўрсаткичларни текшириш.

Хужайраларни зарарсизлантириш куйидаги усулларда амалга оширилади: киздириш; формалин, оцетон ва этанол билан қайта ишлаш. Фаоллиги пасайтирилган микробларни суюлтириб ампула ёки флоконларга куйилади ва 2-10⁰С хароратда сақланади. Олик вакциналарни асосий кўллаш усули тери ости инкциясидир.

Ўлдирилган вакциналарга бруцеллез (даволовчи), қорин тифи, гонория, Фленспер – Зонне дизентэрияси, кўкётал, лептоспироза, паратиф, вабо киради.

Замбуруг`ли касалликларга қарши кенг қамровли ишлаб чиқариш хозирча ёқ, лекин баъзи холларда лаборатория шароитларида беморлар учун ауто вакциналар ишлаб чиқарилади.

Қорин тифига қарши ацетон билан зарарсизлантирилган вакцинани куруқ холда ишлаб чиқарилади.

Патоген микробларнинг хужайра компонентларидан олинган вакциналар

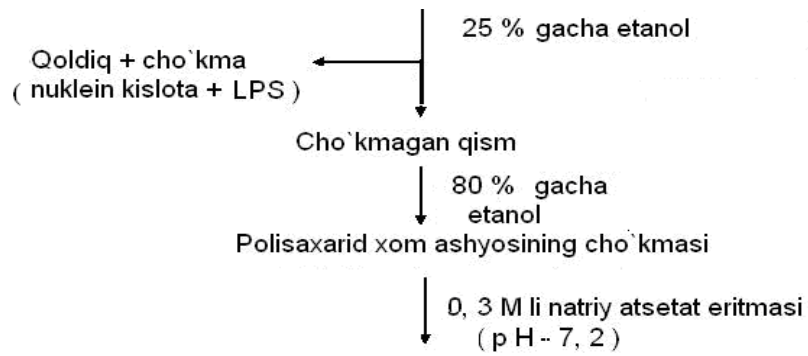
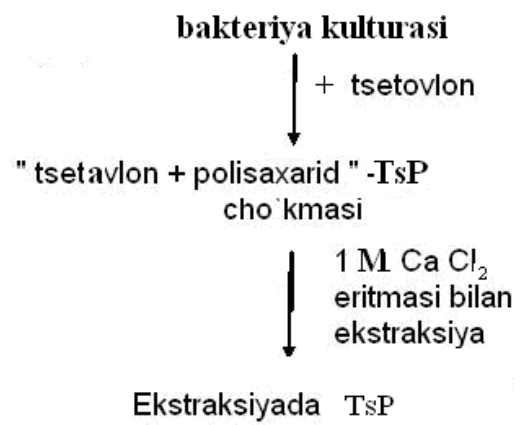
Полисахорид вакциналар. Инфекцион касалликларни кўзг`атувчиларини антиген спэцификлигини (ўзига хослигини) полисахоридлар ёки глинонлар таминлайди, шунинг учун антигенантивларини алохида холда ажратиб олинади. Бундай вакциналарга менингококкли ва пнэвмококкли вакциналар киради. Вакцина штаммларини суюқ озуқа мухитларда ўстирилади, хужайралар сепарацилланади, сув билан ювиб ва капула моддаси полисахоридни сувли эритмага ўтказган холда бирор бир усул билан экстранция қилинади.

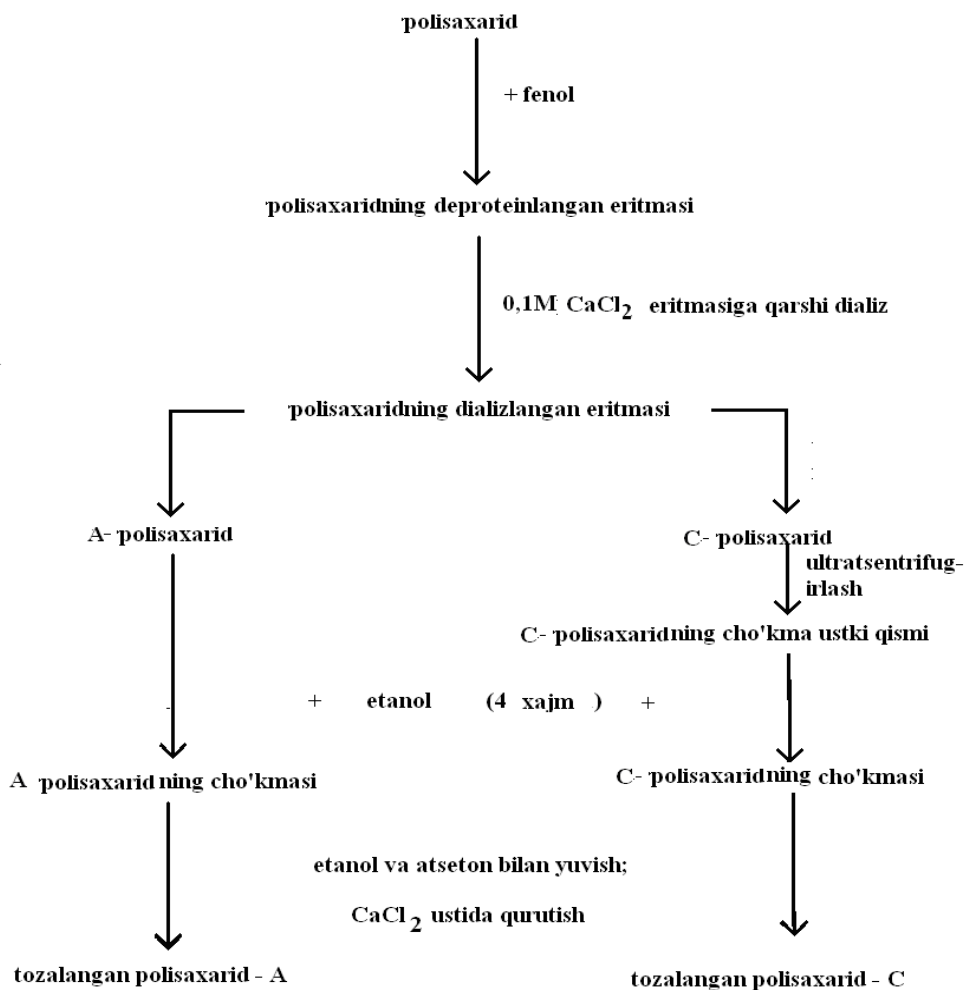
Менингококкли полисахоридларни сувли эритмалардан катионли ПАВ – гекца децилтриметиламмоний бромидда, пневмакоккли полисахоридлар эса-этанол билан чўктирилади.

Бу полисахорид вакциналар одатда коливалент бўлади. Улардан биринчиси одатда тўрт тур гликанли, иккинчиси йигирма уч тур гликанларни ўз ичига олади.

Россияда 1982 йилда (Г.Н. Габричевский номли ИТИни корхонасида) менингококкли полисахорид вакцинасини ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Хужаура сепарирланади ва куйидаги схэма бўйича ишлов бэрилади.

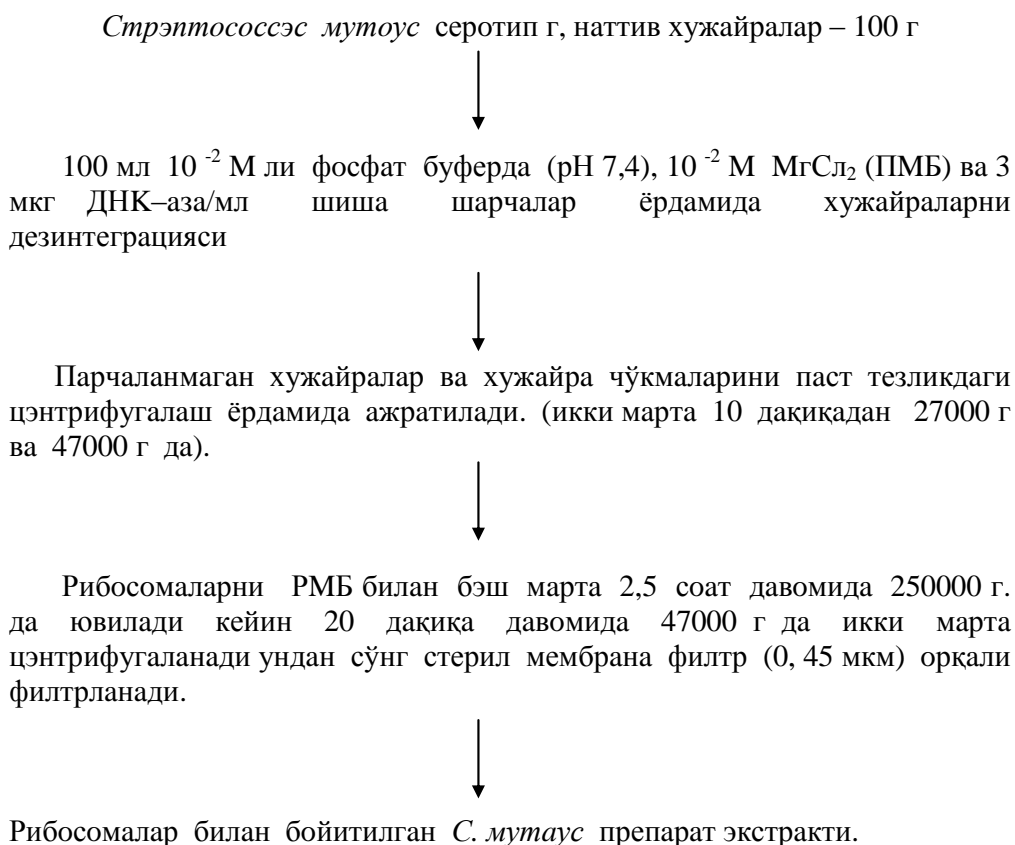




Рибосомал вакциналар. Прокориотлар рибосомоси таркибида тахминан 60% РНК ва 40% оксил сақлайди, эукориотларда эса бу кўрсаткич мос равишда 55 % ва 45 % атрофида бўлади. Бактерияни кўпайишини стационар фазосида хужайра таркибида 10^4 та рибосома бўлади; лог – фаза даврида бу кўрсаткич ортиб боради. Биринчи марта Мйсобаэтэиум тубэрсуласусни авирулент штаммдан рибосомал прэпарати, А.С.Юманс ва Г.П. Юманс (1965) томонидан олинган. Рибосомоларни тоза холда вакцина сифатида қўлланилмайди, лекин улар билан полисахоридли ва бошқа антиген прэпаратларини бойитилган формаларини амалиётда кенг ишлатилади. Булардан энг машхури “Рибомунил Д – 53”, прэпарат Францияда ишлаб

чиқарилади. Унинг таркибида *Клебсэлла пнэумонивэ*, *Стрэптососсэс пнэумонивэ*, *С. Пёгэнэс* ва *Хоэмопхилус инфлуэнтэ* хужайраларидан олинган рибосомалар ва *К. Пнэумонивэ*ни протеогликонни аралашмасидан иборат. Рибомунилни интраназал қўлланилади. Юқори нафас йўлларини профилактикасида ҳамда ринитларни, риносинуситларни ва ринофарингитларни даволашда қўлланилади.

Экстракт кўринишидаги *Стрэптососсэс мутаус* (*С. мутаус*)дан олинган препарат ҳам малум. Уни қуйидаги схема бўйича тайёрланади:



Вирусли вакциналар

Вирусли вакциналар ҳам тирик ва инфаолланган грухга бўлинади. Иккала тур вакцинани тайёрлаш учун вирус материалини (вирионларни) товук эмбрионидан маймунларни буйрагини ўстирилган тўқималардан, инсонни диплоид хужайраларидан фойдаланган холда йиғиш керак.

Масалан, грипп (овирулент) вакцина вирусини эмбриони аллантон суюқли-

гида тўпланади, бу суюқликни ажратиб олиб цэнтрифугаланади. Агар тирик вакцина олиш керак бўлса, вирусни суспензияланади ва керакли концентрациягача суюлтириб, кейин лиофил қуритгичда қуритилади.

Сариқ иситма касаллигига қарши вакцина олиш учун хам товук эмбри-

онини зарарлантирилади, кейин эмбрионни нерв тўқимасида патоген (аттенуирла-

нган 17 Д штамми) йиқилади. Кейинги босқичлар: эмбрионни гомогенизац-

ия қилиш, уни цэнтрифугалаш, чўкмани ташлаб юборилади ёки бошқа мақсадларда сарфланади, цэнтрифугат эса (таркибида вирус бўлади) лиофил қуритилади.

Вирус кўпайтириладиган тўқимани озуқа мухитида ўстирса бўлади, шу-

нинг учун суюқ озуқа мухитини филтрлаб вирусларни ажратиб олиш мумкин. Вирусни вакцина штаммлари одатда аттекуирланганлигини хисобга олган холда, уларни инфаоляция босқичи ўз – ўзидан тушиб қолади. Лекин, бу қоидадан четланиш хам бўлиши мумкин: масалан, қутириш ва полемилетга қарши вакцина тайёрлашда биринчисини β – пропиолактон, иккинчиси β – пропиолактон ёки формалин билан инфаолланади.

Тозаланган вирус материални ёки тайёр вирусли вакциналарни - 70 °С да сақланади.

Вирус вакциналари хар – хил вирус турларини ўзида сақламайди лекин, инфаолланган ва тирик полимелит вакциналари, ёки ўлдирилган грипп вакцинаси деярли хар доим вирусларни хар – хил серотипларини сақлайди.

Кучсизлантирилган тирик вирусли вакциналар суспензия кўринишида ўзини потенциал фаолиятини тез йўқотади, шунинг учун уларни музлатилган холда ёки стабилизаторлар – сахароза, магний хлорид кўшилган холда сақланади.

Тирик вирусли вакциналарга киради, улар болалар ва катталар учун интраназол грипп вакцинаси (профилактик), болалар ва катталар учун перорал грипп вакцинаси (даволаш профилактика), сариқ иситмага қарши, қизамиққа қарши, полимелитга қарши (перорал), тепкига қарши кўлланилади.

Инфаолланган вирусли вакциналарга антиробик куруқ МИВП ва Ферми типидаги, кана энцефалитига қарши киради.

Ген – инжэнэрлиги вакциналари

Ген – инжэнэрлиги вакциналари биотехнологияси асосида хромосома ДНК сини бўлагини, ёки бактериядан вавирусдан олинган плазмидни бошқа тур бактерия ёки замбуруг` хужайрасига киритиш ётади. Шу йўл билан гепатит Б вирусини антигенни (НВсАг) ачитқи хужайралари ёрдамида

кўпайтиришга эришилган. Бу антигенни замбуругдан ажратиб олиб, вакциналар тайёрлашда ишлатилади.

Диагностикумлар

Инфекцион касалликларда диагностик усуллар серодиагностикага, аллергодиагностикага ва фагодиагностикага олиб келиши мумкин (фойдаланилган биопрепаратларнигина хисобга олганда). Керакли антиген моддани қўллаган холда серодиагностика қонни зардобда амалга оширилади, қўлланилган антиген моддани диагностика деб аталади. Аллергодиагностикани аллергенлар ёрдамида инсонларда “аллергик проба” қилиб ўтказилади. Фагларни литик таъсирга кўра сифатланади, махсус бактерияларни сезгир хужайраларига таъсирдан фойдаланилади. Аллергенларни ва бактериофагларни кейинги қисмларда кўриб чиқамиз.

Диагностикумлар специфик антитанага нисбатан яққол сезгирликка эга, ўлдирилган хужайралардан ҳамда, алоҳида яхши ўрганилган антиген компонентлардан иборат бўлади. Масалан, энтеробактерияларда Х-, О- ва Ви- антигенлар маълум, улардан биринчиси термолобил, иккинчиси ва учинчиси термостабил бўлади. Уларни хужайрадан ажратиб олинади. Занжирга ўхшаган Х – антигенлар 0,2 % формалин билан изоляция қилинади ва бир суткага 37 °С га қолдирилади, кейин С-, О- ва Ви- антигенларни юқори хароратда сув ёки бошқа эритувчилар билан экстракция қилинади. Бундай антигенларни шундайлигича ёки олдиндан формалин ёки таннин билан ишлов берилган эритроцитга адсорбция қилинган холда ишлатилади.

Бактериал ва эритроцитли диагностикумларни мос равишда аглютинация ва гемоаглютинация реакцияларида қўлланилади.

Аллергенлар

Аллергенларни келиб чиқиши бўйича микроб, ўсимлик ва хайвон аллергенларига бўлинади. Уларни патологик жараёнларнинг диагностикасида ишлатилади, бу жараён ривожланишида керакли антиген – аллерген ёрдамида микроорганизмни сенсibiliзацияси муҳим рол ўйнайди.

Микроб аллергенларини турли усуллар ёрдамида тайёрланади. Табиий аллергенлар – бу ўлдирилган бактериялар ва уларни метоболизм махсулотларини аралашмасидан иборат. Тозаланган аллергенлар – бу бактерияларни 5 – 6 суткалик қайнатмаларини филтратини чўктирилган ва лиофил қуритилган термостабил фракциясидир, таркибида 80 % дан ортик оксил, 7 % углеводлар ва 10 % гача нуклеин кислоталар бор.

Бактериал аллергенлага: антраксин, бруцеллин, дизентерин, дифтероида, листерийли, малеинли, котарал нейссерия, лепромин, орнитозли, нотоксигенли дифтерия таёқчаси, ичак таёқчасини, ёлгон дифтерия таёқчасини, кўк йиринг таёқчасини, пестин, стафилококкли, стрептококкли, токсоплазмин, энтерококкли, алтуберкулин Кохники,

тозаланган туберкулин (ППД–Л), куруқ тозаланган туберкулин (ППД), тулярин ва бошкалар киради.

Замбуруг` аллргенларни етук хужайралардан ёки камдан – кам холда озук мухитидан ажратиб олинади. Улар кимёвий жихатдан оқсил – углевод комплексидир. Ампулаларда 1 мл дан чиқарилади.

Замбуруг` аллергенлардан бластомицен, гистоплазмин, кактидин, кокцидиодин, хамда баъзи мого`р замбуруг`лар (аспергинлар, пенициллар) дан ва дерматофитлардан олинган аллергенлар хам маълум.

Бактериофаглар

Бактериофаглар даволаш профилактика мақсадларида бактерияларни фаготиплашда фойдаланилади.

Бактерияларни идентификациясида шаклли ва типли фаглардан фойдаланилади: корин тифли Ви - типли, дизентерия индикаторли, паротифоз Б– типли, салмонелла индикаторли, стафилакоккли типли.

Фаглар инфекцион касалликларни олидини олиш ва даволаш мақсадида, моно – ва поливалент кўринишида ишлаб чиқарилади. Иккала тур фагларни бир – бирини ўрнида ишлатиб бўлмайди. Собик совет давлатларида суюк моновалент стафилофаглар, стрептококкли фаг, коли – фаг, поливалент дизентерия (суюқ, куруқ ва суппозиторияда) фаги, поливалент салмонелла фаги (суюқ ва куруқ) ишлатилади.

Фагларни ишлаб чиқариш маълум тур ёки штамм бактерияларни мос фаг билан зарарлантириб олишга асосланган. Фагларни вегетацияси бактерияни лизини билан яқунланади. Қисман лизисланган хужайрани филтраб ажратилади. Филтратда фаг филтрада хужайра қолдиг`и қолади. Филтратдаги фаглар эталондаги штаммлар ёрдамида стандартланади.

Фаглар билан даволаш, профилактика учун суюқ препаратларга консервант сифатида қўшиш мумкин.

Тэкшириш учун саволлар:

1. Спиртли бижг`иш нима?
2. Махсус штаммларга нима киради?
3. Этанол олишда махсулот сифатида нималардан фойдаланилади?
4. Микроорганизмларга характеристика бэриш мумкинми?
5. Бижг`иш даврида харорат қандай бўлиши кэрак?
6. Спиртли ачишни қандай йўл билан кўрсатиш мумкин?
7. Биотехнологик жараёнлар нечта компонентлардан иборат ?
8. Биринчи компонент неча қисимдан иборат?
9. Нима учун биотехнологияда микробиологик жараёнлар ишлатилади?
10. Жараёнларда катализатор нима учун ишлатилади?
11. Биотехнологиянинг иккинчи компоненти нима билан боғлиқ?
12. Биотехнологиянинг учинчи компоненти нимани номоён қилади?
13. Кўп босқичли биотехнологик жараёнлар нимани аниқлайди?
14. Гэн инжэнэрлиги вакциналари нима?

3-БОБ. ГЭН ИНЖЭНЭРЛИГИ. ҰСИМЛИК ГЭН ИНЖЭНЭРЛИГИ

3.1. Ген инжэнэрлиги асослари

Генетика-ирсият хақидаги таълимот бўлиб, ривожланиш йўлида мураккаб йўлни босиб ўтди, унда аниқланган маълумотлар ва исботланган гипотезалар мавжуд эди. Афсуски, хаттоки тасдиқлаш учун шундай социал-сиёсий таълимотдан фойдаланилди-ки, улар илмий хақиқатга, этика ва соғ`лом фикрлашга зиддир масалан, бир ирқни бошқа инсонлардан устунлигини; генларни батамом рад этиш, гўёки хаёлан топилган, «миф» яъни ёлғ`он ва барча организмларнинг бошланг`ич хужайраларида мавжуд бўлмаган структуралигини, ирсиятни ташқи мухитнинг шароитига боғ`лиқлиги устун эканлиги ва б.ни исботлашга ҳаракат қилиш.

Генетиканинг бундай ачинарли тарихини унутилишига илмдаги буюк ходиса сабаб бўлди. Дж. Уоцон ва Ф. Криклар 1953 йилда ДНК нинг қўш спиралининг (занжирини) тузулишини таклиф этишди. Шундан бери 40 йилдан ортиқ вақт ўтди, генетика илмини, шу жумладан замонавий биотехнологияни барча соҳасини қамраб олиш қийин.

Аммо охириги 20 йил ичида барча ютуқлар ичида 1868 йилда М.Фишер нуклеин кислотани очганини, 1928 йилда Ф. Гриффит бактериялардаги трансформация ходисасини баён этганини, 1944 йилда О.Т.Эйвери, К.М.Мак-Леод ва М.Мак-Картлар трансформация қилган агент ДНК эканлигини, 1947 йилда Ж. Ледерберг *E.Сол*и даги конюгация жараёнини очганини, кейинчалик эса бактериялар хужайраларини чатиштиришини генетик асосланиши исботланганлигини унутмаслик керак.

ДНК ни маъносини очиб бериш вақтигача Э.Чаргафф (1950) ўзининг қоидаларини ифодалаб берган эди:

1. ДНК нинг олтинчи ҳолатидаги аминогурухли асослар сони ўша ҳолатдаги кетогурухли асослар сонига тенг, яъни А (аденин) + С (цитозин) = Г (гуанин) + Т (тимин); -бу ДНК га ва қўпгина РНК турларига таълуқли ягона қоидадир, РНКларда Т ўрнига У (урацил) алмашган бўлади.
2. Адениннинг моляр хиссаси тиминнинг моляр хиссасига тенг ($A = T$ ёки $A/T = 1$);
3. Гуаниннинг моляр хиссаси цитозиннинг моляр хиссасига тенг ($G = C$ ёки $G/C = 1$);
4. Пиримидин асосларнинг йиг`индиси пурин асослар йиг`индисига яқин, яъни $C + T = A + G$ (Пир/пур = 1);
5. Бактерияларда А/Т ва Г/С лар нисбати бирга тенг, А/Г нисбатлари эса 0,4-2,7 интервалда ўзгаради. Ўсимликлар учун А/Г ўзгариш интервали (1,1-1,7) ва хайвонлар учун (1,3-2,2) интервали бактериянинг ДНК сидаги интервалдан кичик. Нуклеотидлар нисбатига қараб ДНК нинг АТ-тини $A+T > G+C$ ёки ДНК нинг ГС-тини, $G+C > A+T$ аниқланган.

Генетика миқёсидаги кейинги ютуқлари жадал ривожлана борди: 1956 йилда А.Корнберг ДНК- полимеразани ажратиб олди, 1961 йилда М.Ниренберг таклифлар киритди ва ўзи генетик кодни қўйишда иштирок этди, 1964 йилда Х.Г.Корана томонидан биринчи полирибонуклеотидлар синтези амалга оширилди, 1965 йилда В. Арбер фермент–рестриктазаларни очди, уларни рестрикция эндоуклеазалар ҳам деб аталади, 1969 йилда Дж. Бекуит ўз ҳамкасблари билан бирга ичак таёқчасидан лактозали оперонни ажратиб олди, 1970 йилда Г. Темин ва Д. Балтиморлар ревертазани очдилар, ёки уни қайта транскриптаза дейилади, 1972 йилда П. Берг ўз ҳамкасблари билан биринчи ген-инжэнэрлик тажрибасини ўтказди, улар Р плазида ДНК сини (доривор моддаларга барқарор плазида) дрозифилла пашшаси ДНК си билан бирлаштиришди ва бу хосил бўлган рекомбинант ДНК ни ичак таёқчасида қўпайтиришди. 1975-1978 йилларда олимлар хромосома ДНК си ва плазида ДНК сидан хохлаган гени ажратиб олиш усулига ва тузулишини ўрганиш усулларига эга бўлишди (У. Гилберт, Р. Дейвес, Ф. Курильский, П. Ледер, А. Максам, Т. Манниатис, Б. Мах, Ф. Ружон, Ф. Сэнгер, С. Тонегава).

Хар йили турли организмлар генини ўқиш икки хисса ошмоқда улар маълумотлар банкида йиғилади. Бу банклар $2,5 \cdot 10^8$ нж текст қатори йиғилган, улардан фақат компьютер ёрдамида фойдаланиш мумкин.

1976 йилда Сан-Франциско шаҳрида (АҚШ) «Генетик» фирмаси ташкил қилинди, 1977 йили фирмада 8 литр хажмдаги ферментерда инсон самототропин гормони - *Е.Соли* нинг хужайрасидаги соматостатинда синтези бажарилди; 1978 йилда «Генетик» фирмада Е.Соли ни ўстиришда инсулин гормони синтез қилинди. 80 йиллар бошида Е.Соли ёрдамида эндорфинлар (миянинг эндогенли пептидлари, у морфинга ўхшаш таъсирга эга) олинган. 1980 йилда «Биоген» (АҚШ) компанияси биринчи маротаба биосинтез ёрдамида (продуцент-ичак таёқчаси) интерферон олди.

Шундай қилиб, фақат генетикада эмас, балки биологияда ҳам ДНК тузулишини ўқиб бериш (очиш) бу давр воқеасидир. Умумий генетика ва умумий биология ядровий аппаратнинг тузулиши ва таркиби бўйича, ердаги хаёт эволюцияси тушунчасига чуқурроқ ёндашиш, организмларнинг ўзгарувчанлиги ва наслий белгилар ва бошқа йўналишлар фундаментал натижалар билан бойиди. Генетика ва биологиянинг баъзи бўлимининг (масалан, микроорганизмлар, ўсимликлар, хайвонлар) метаболизм жараёнида генетик материал билан бошқариш, унинг назорат функциясининг қўлаи ва механизмини аниқлаш деярли чегараланмаган имкониятга эга бўлди. Биологик технология илмий фан сифатида 1972 йилдан бошлаб янги генотехник даражага ўтди, бунда ген инжэнэрлик усуллари лаборатория шароитидан ишлаб чиқариш шароитига ўтказилди-яни рекомбинант ДНК-биотехнологияси ривожланди– ёки қисқача қилиб рДНК-биотехнологияси дейилади.

Аслида рДНК-биотехнологияси тирик табиатни турли вакилларининг наслий белгиларини табиий имкониятларига асосланади, хаттоки генетик информацияни қабул қилиш мумкин бўлган бегона реципиентни киргазиб

юборишга тўғри келади. Генетик материалнинг бундай рецепцияси реципиентни табиий имконияти туфайли аниқланади.

3.2. Плазмидалар ва рекомбинант молекулалар

Маълумотларга асосланиб, нуклеин асосларининг комплементарлиги асосида ДНК икки спиралсимон занжирдан иборат деб айтиш мумкин, бактерия хужайраларида бундай занжир халқасимон, учи берк бўлади. Битта хромосомадан иборат, демак барча организмларнинг хужайрасида специфик фермент ёрдамида ДНК ни синтез ва гидролиз механизмлари содир бўлади, ва шунингдек кўпайиш жараёнлари микроорганизмлар ёки микроорганизмларнинг бошланғич хужайраларини ДНК сини функциясига тўғридан тўғри боғлиқ, хужайранинг ядроси ва ядровий аппарати хақидаги тасаввурни кенгайтириш мақсадга мувофиқдир, бунда биринчиси иккинчининг таркибий қисми ҳисобланади (ядро ва ядровий аппарат хақида). Демак, программалаштирилган функцияни таъминлайдиган ядровий аппаратга барча структуралар тегишли бўлади-прокариотда: нуклеоид, рапидосомалар (баъзи турларида), тўсикли мезосомалар, рибосомалар; эукариотда: ядро, ядроча, нуклеолема, паросомалар, цэнтриола, митотик аппарат, рибосомалар.

Ирсиятнинг биокимёвий ифодаси Дж. Бидя ва Э.Тейтаманинг «бир ген-битта оқсил молекула» нозик принципи асосида специфик оқсилни матрицали синтези ҳисобланади.

Матрицали биосинтез репликация, транскрипция типига бўлинади. Транскрипция даражасида (прокариотда) генлар экспрессияси назорат қилинади, эукариотда эса трансляция даражаси назорат қилинади.

Матрицали биосинтезда матрица бўлиб, ДНК нинг битта толаси хизмат қилади, «слепок» у билан матрица РНК (информацион) ёки м РНК, рибосомада транспорт РНК (т-РНК) ва тегишли ферментлар-полимер аъзолар иштирокида оқсил молекуласини синтезини таъминлайди.

м РНК қисмини ДНК занжиридаги комплементар қисмига транскрипция дейилади.

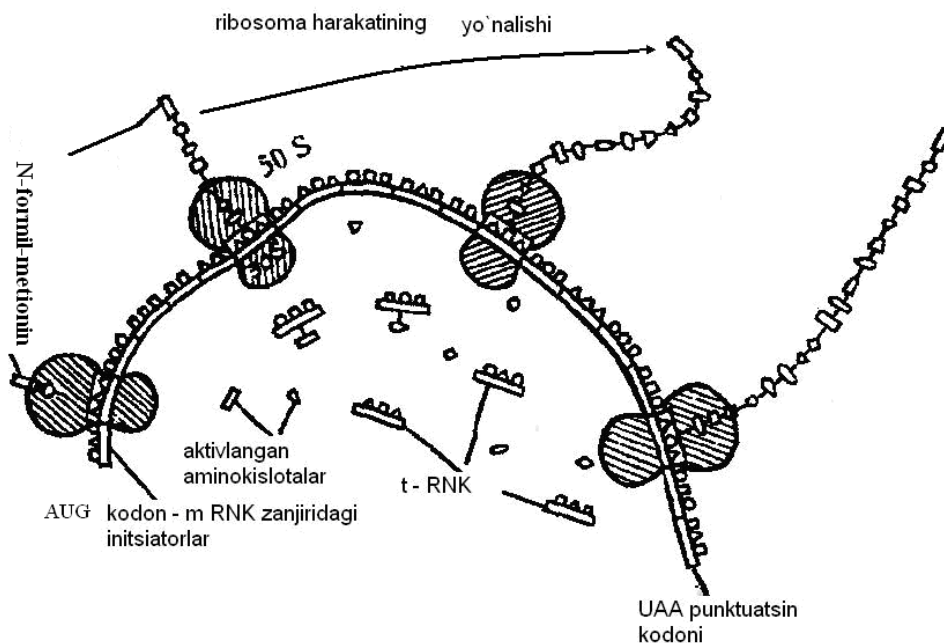
20-расмда кўрсатилган оқсил молекуласининг синтез схемаси ҳақиқатдан анча мураккаб.

Биламизки, хромосомада кетма-кет жойлашган генлар ичида шундай генлар мавжудки, улар регуляторлар, операторлар, структуравий, терминаторлар ва ҳар бир хромосома бир молекула ДНК бўлади.

Хужайрадаги хромосомалар ёпиқ ҳолатда бўлмагани учун уларда 3¹- ва 5¹- эркин учлар мавжуд, бу учлар битта халқасимон ёпиқ хромосоманинг прокариотик хужайрасида ёки уюшган вирус бўлакларида бўлмайди (9-жадвал).

Кўш спиралнинг мутаносиблиги бўйича ДНК қуйидаги формалари билан фарқланади: Б,А,С,З ва СБС. Б формада бир қадам спиралга (3,4 нм) 10 нж (нуклеотидлар жуфтлиги) мос келади, улар спирал ўқиға перпендикуляр жойлашган; А форма Б формани намлиги 75 % кам

бўлгандаги трансформатори; спирал қадами 2,8 нм гача камаяди, спирал ўқга нисбатан 20° бурчакка жойлашган бир ўрамга 11 нж тўғ'ри келади, занжир узунлиги эса тахминан 25 % га қисқаради.



20-расм. Н-формилметионил-полипептид синтезини схемаси

С форма бир қадам спиралга эга, у 3,3 нм га тенг ва бир ўрамага 9 нж мос келади. З форма (зигзаг) га углевод-фосфатли ДНК асосининг қисмида гуанин (Г) ва цитазин (Тс) алмашиниш кетма-кетлиги тўғ'ри келади. Бу чап спирал, унинг бир ўрама 12 нж тенг (олдинги айтиб ўтилган формалар ўнг спиралга киради). ЗБЗ формада қўш спирал ўрама мавжуд эмас, бу ДНК биосинтези учун зарур.

Юқорида айтиб ўтилган хромосома ДНК ларининг генлари специфик (ўзига хос) функцияга эга (геннинг ўртача ўлчами 1500 нж деб аниқланди). Ген-регулятор репрессор оқили синтезини аниқлайди, бу ген оператор билан ДНК га ёки РНК билан бог'ланиш хоссасига эга, бу билан транскрипция ёки трансляцияни олдини олади.

Оператор гени-ДНК қисми, оқил-репрессор билан бог'ланиб ёпишган промоторда транскрипцияни бошланишини олдини олади, генни транскрипциясини иннициация қилувчи РНК-полимераза ферментини бог'лашга жавобгар.

Эукариотик хужайранинг промотор генида ўзига хос локус (бўлак) мавжуд, у яқин атрофдаги геннинг промоторига РНК-полимеразаларни ўтириш сони ўн-юз минг мартаба ошади. Бу локусга **энхансер** деб

юритилади, ёки кучайтирувчидир (инг. энханээр-кучайтирувчи). Энхансерлар тўқимага хос, улар хужайранинг регуляторли элементларини турли катта гуруҳини ташкил қилади. Бошқача қилиб айтганда, бу позитив (ижобий) текширув элементларидир. Негатив текширув элементларига **сайленсерлар** киради (инг. силэнсэр-ўчирувчи). Энхансерлар – серлар ва сайленсерлар транскрипцияни чиритади, генларга таъсир этиб фақат цис-харакатга эга ДНК нинг молекуласида локаллашади. (ёйилмасдан бир жойда тўпланади), у ерда айтиб ўтилган элементлар жойлашган.

9- жадвал

Баъзи хромосомалардаги ДНК молекуласининг характеристикаси

Организм/вирион	Хромосомалар			Хромосомага ДНК даги жуфт асосларнинг ўртача сони, 10^3 кб.
	Сон (гаплоид)	Форма	Узунлиги, см.	
Инсон	23	очик	4,1	125000
Сасчаромйсэс сэрэвисиаэ	17	очик	0,33	1000
Эсчэхичиа Соли	1	ёпик	0,14	4000
Бактериофаг Х 174	1	ёпик	0,00018	5,4

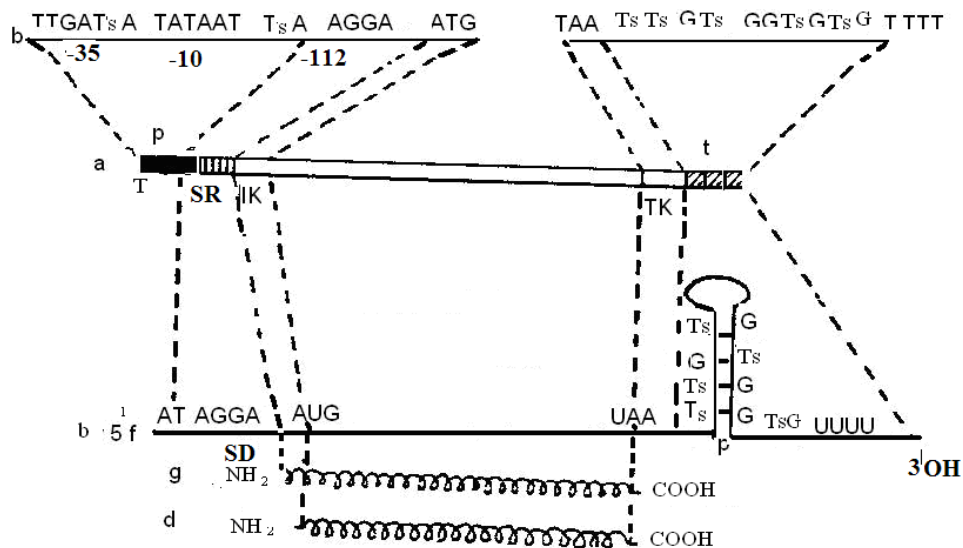
Илова: кб-килоасос (англ. килобасэс)

Структуравий генлар оқсил молекулалар синтезига жавобгардир (21 расм). Терминатор- генитранскрипцияни блокада қилиб оқсил синтезини тўхтатади. Бу генга терминатор ёпишади (стоп-сигнал), ДНК даги нуклеотидларнинг маълум кетма-кетлигида бўлади. Е.Соли га унинг эффекти бор, фақат РНК-полимераза билан боғланган ҳолда, ММ 50 қДа бўлганда ва оқсил табиатли р-фактор бўлса Е. Соли нинг терминациясида к-бўлакча номли бошқа оқсил ҳам иштирок этади.

Оперон-ДНК нинг муайян оқсиллар структура генларини ва регулятор қисмларини ўзига жойлаган бўлагига айтилади, ген оператор, ген-регулятор, шунингдек текширувчи элементлар назорати остида бўлади, бу ходисалар регулятор генини махсулотидан билинади. 21-расмда прокариот хужайра генининг тузулиш схемаси тасвирланган. Унинг таркибига кодланиш кетма-кетлигидан жойлашган қисмлар киради. (бошловчи 5^1 - қисм) ва ундан кейин (охирги 3^1 -қисм); мРНК синтези 5^1 -учидан 3^1 -учи томон йўналишда содир

бўлади. Гендаги нуклеотидлар ҳисоби биринчи транскриптанувчи нуклеотиддан бошланади, уни +1 (ёки 1) деб белгиланади. Қарама -қарши томон ҳисоби(-1)дан бошланади. Расмда Хогнесса ва Прибноуларнинг консерватив кетма-кетлигини мос равишда Хг ва Пб кўрсатади. Улардан биринчиси гексамерни кўрсатади 5¹ТТГАТсАз¹, -35 координата атрофида локаллашгандир. РНК-полимераза ёрдамида промоторни билиш учун Хогнесса кетма-кетлиги керак.

Пб-кетма-кетлик ҳам гексамердир кўрсатади 5¹ ТАТААТ 3¹, -10 координата атрофида локаллашади. Бу кетма-кетлик РНК-полимераза билан мустақкам боғланиш учун керак. Унга «ТАТА-бох», ёки «ТАТА-блок» номи берилган мРНК даги 3Б кетма-кетликни ядроси бўлиб тетрамер хизмат қилади (Шайна-Далгарно) 5¹ АГГА 3¹, бу рибосомаларни боғлаш сайти (жойи). Ҳаммаси бўлиб СД кетма-кетликда 5-9 нуклеотидлар мавжуд.



21-расм. Прокариотик хужайра генининг схематик кўриниши ва экспрессияси

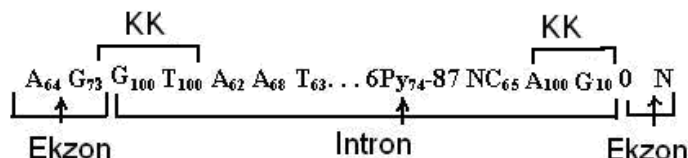
- SR- боғланиш сайти;
- ИК- кодон инициацияси;
- п – промотор;
- ТК- тэрминсия трансляция кодони;
- а – схэмастик кўриниш;
- б – экспрессия кўриниш;
- т - транскрипция тэрминатори;
- СД- Шайна-Далгарно кетма-кетлиги;

Баъзи прокариот ДНК сида (археобактерин) эукаритларнинг ядро ва митохондрияларда кодловчи қисмлари катта кодланмайдиган ДНК кетма-кетлигига ажралади. (500 нуклеотид жуфтлигига).

У.Гилберт (1978) таклифига биноан кодловчи қисмларга **экзонлар**, ёки доменлар дейилади, кодламайдиган қисмларга – **интронлар** дейилади.

Масалан, иммуноглобулинлар (лд) генларининг оғир Х-занжирида камида тўртта интронлар ва бешта экзонлар мавжуд, тухум оқсили генида (овалбуминда) эттита интронлар ва саккизта экзонлар бор; инсонни гаплоид геноми ДНК сида 3,5 биллионлар нуклеотид жуфтлигининг 10 % дан ками кодловчи хисобланади.

Эукариот генларининг ажралиши-оддий холат, лекин шундай генлар борки, бундай ажралиш уларда кузатилмайди (интерферон, гистонлар генида).

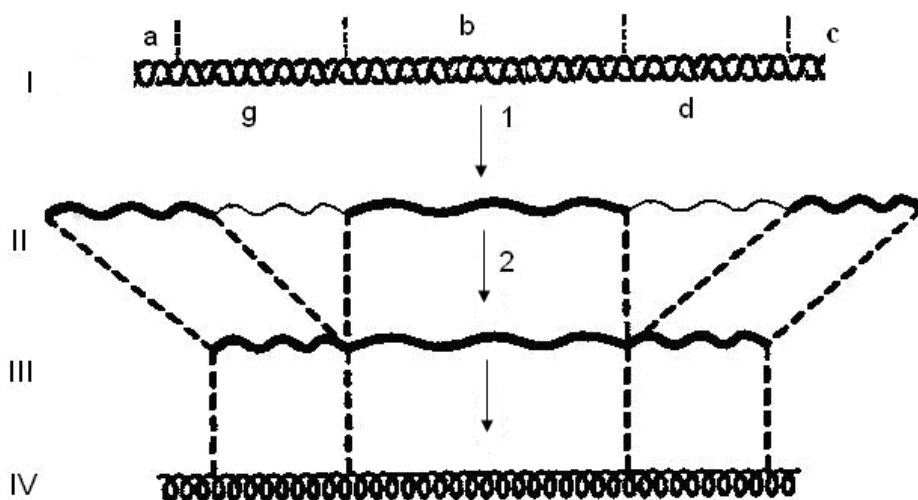


Интронларнинг икки учлари ўртасида кам сезиларли гомология учрамайди, экзонлар бўлган чегарада эса турли генларда нуклеотидларнинг кононик (ўртача) кетма-кетлиги мавжуд (нисбатан калта бўлади)-кўпинча ГТ-чапта ва АГ-ўнгда;

КК-каноник кетма-кетликни билдиради; Сонлар-экзон-интрон чегарасидаги асоснинг аниқланиш проценти.

Экзонлар интронлардан анча кам (100 нж). Интрон ДНК нинг транскрипция қилинувчи қисмини (лекин кодламайдиган) ташкил қилади, транскрипт таркибидан ажратиш учун сплайсинг қилинади (инг. спэкинг-ўсиш, тикиш). Сплайсинг жараёни ядрога юз беради ва у экзонларни бирлашиб тайёр мРНК хосил бўлиши билан тугайди. (22-расм). ДНК қисмидаги интроннинг ўнг учи ва экзоннинг чап учлари оралиги сплайсингнинг акцепторлик нуктаси дейилади. Митохондрия ДНК сидаги интронлар алохида оқсиллар синтезини кодлайди, уларнинг ўзи кейинги интронларни кесиб (ажратиб) олишда иштирок этади. Экзонлар ва интронлар орқали бир вақтнинг ўзида баъзи оқсил молекулалари (ферментлар) кодланади, масалан, матураза (инг. Матурэ-йетилиш). Балки, хар бир интрон учун ўзининг матуразаси мавжуддир. Митохондриял ДНК интронлари бактериал транспозонларига ўхшаш ва балки матуразалар транспозазлардан хосил бўлади.

Оқсиллар борки, улар ядровий экзон ва интронлар билан кодланади (м-оқсиллар), бу оқсиллар мРНК ни ядро мембранасида хосил бўлишига ва ўтказишда иштирок этади (П.П.Слонимский, 1980).

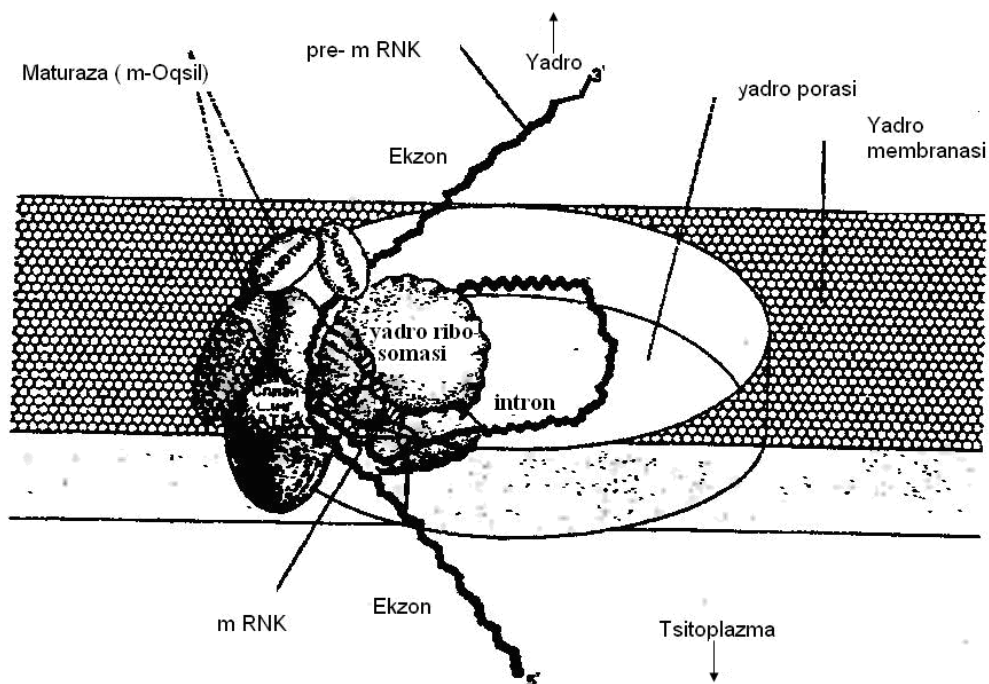


22-расм. РНК сплайсинги (процессинги- жараёни)

1- транскрипция; г,д- интронлар; ИИ-РНК;
 2- трансляция; а,б,с- экзонлар; ИИИ-м-РНК;
 И-ДНК; ИВ-оқсил .

Бунда интронлар кодлаган оқсилнинг бир қисми гидрофобли аминокислоталарни ўз таркибига олади, кейинчалик липидларга бой ядро мембранасига локаллашади ва мРНК ни тортади. Экзонлар кодлайдиган м-оқсилнинг бир қисми экзонда трансляцияланувчи янги полипептид знажирини тортади.

Сплайсин жараёнида м-РНК (интронсиз) ядро мэмбранэ порасидан ташқарига чиқади (23-расм).



23-расм. Үэтилган м-РНКни П.Слонимский (1985) бўйича ядро мембранасининг пораларидан чиқазиш

Интронлар сплайсингининг ферментли комплекси ядровий мембрана атрофида жойлашган. Сплайсингни ўтиш даражасига қараб йетилган мРНК (интронларсиз) ядровий мембрана поралардан (туйник) чиқазиб юборилади.

Эукариот хужайраларнинг дифференцировкасида икки хил сплайсин борлиги аниқланди, улар интрон орқали ва экзон орқали бўлиши мумкин. Тситохром б интро-ну у матуразани кодловчи экзонлиги исботланган. Демак, шундай генлар борки, улар иккита оксилни кодлаш хусусиятига эга. Масалан, тўқима билан бирга келувчи генлардан бири иккита оксилни кодлайди, каламушнинг узун генларидан бири қалқонсимон безда ва нейропептидда-гипофизда парат-гармони синтеслайди. Шунинг учун “бир ген-битта оксил малекулеси” тушунчани мутлоқ тўғ`ри деб бўлмайди. Биокимёвий технологияда мРНК сплайсинг аппаратидан ажралган кўпгина прокариот хужайраларида эукариотик генларни экспрессияси (хоссани номоён қилиш) вақтида интронларни маълум даражада олиб келади.

Нуклеотидли фрагментлардан баъзилари нафақат интронлар таркибига киради ёки фланкирловчи(анг. Фланк-ён, тараф) мРНК кетма-кетлиги таркибига киради, балки оксиллар билан аниқланадиган транскрипция промоторлари, ДНК репликациясини бошланиш нуқтаси, хромосомаларни буриш сайтлари ва бошқа сигналли кетма-кетликни функциясини ҳам бажаради.

Бу ҳамма сигналли кетма-кетликлар геномда қайтарилувчи идентик ёки ўхшаш тендемли нусха кўринишида, унча катта бўлмаган узунликка эга. Градиентдаги ДНК бўлинганди сезий хлориднинг зичлиги сигнали кетма-

кетлик (5 %) асосий ДНК оғирлигидан сателлитли ДНК (цэнтрифугаланганда қўшимча чўққилар) ажратиб олиш мумкин. Бу ДНК лар асосий ДНК фракциясидан оғирроқ ёки енгилроқ бўлиши мумкин ва метилланган бўлиши мумкин.

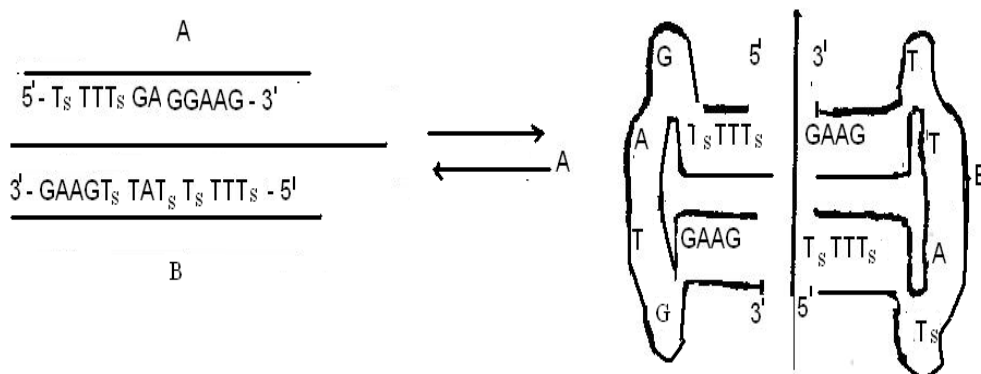
Аниқланишича, сателлитли ДНК даги юқори қайтарилувчи кетма-кетлик одатда транскрибция бўлмайди. Шунини айтиб ўтиш керакки, сателлитли ДНК цэнтромер хромосома қисмида жойлашади. Тахмин қилинишча, сателлитли ДНК уч марта қайтарилган 9 нж дан иборат кетма-кетлик мозайкасидан келиб чиққан:

A TGA
GAAA A
T ACT

80 йиллар бошларида инсон геномида структуравий полиморфизм хоссасига эга ДНК кетма-кетлиги аниқланган – бу ўз навбатида гипервариабелли қисм (ГВК) дэб аталади, улар одатда калта бўлади, ГТс-бой этилган ва тандем қайтарилувчи бирик.

1985 йилда ота ва она томонидан инсон эволюциясига бахо бериш мақсадида «генетик ДНК ни дактилоскопияси» (юнон.дастилос-бармоқ, ссопэин-қармоқ) усули таклиф этилган (А.Дж.Джеффрис, У.Уилсон, С.Л.Тейн). ДНК кетма-кетлигида илгари бўлиб ўтган мутация ёки Ф.Крик бўйича «музлатилган ходисалар» акс этади. Бу минисателлитли ДНК локусидаги кетма-кетликлар вариантларини картировка қилишда ёрдам беради. Аёллар чизиги бўйича метоходриал ДНК бўйича эвалюцияни картировка қилиш қулай, чунки сперматозоидларда деярли метоходрия бўлмайди, лекин улар билан тухумдан хужайралари «бошланади». Шунинг учун оталик ва оналик ДНК лар йиг`индиси хужайра ядросининг ДНК сини ташкил қилади, бунда митоходрия ДНК си тухум хужайралари орқали юборилади. Бундан нима учун охириги юз йилликнинг 70-йилларида янги илмий молекуляр антропология фани юзага келгани тушунарли.

Турли организмларнинг ДНК сида полиндромлар (юнонча. палинслромэ-айланиш) хам мавжуд. Бунда кетма-кетлик тескари тартибда қайтарилади.



Суперспиралли ҳолатдаги узун палиндромлар (10 ва ундан кўп жуфт асослар) крест шаклдаги структурани ҳосил қилади, маълум ДНК қисмини аниқлаш учун генларни бошқарувчилик таъсирига эга бўлган сигнал (белги) бўлиб хизмат қилади.

Прокариотик ва эукариотик ҳужайранинг хромосома ДНК лари шунингдек текширувчи ёки «сақровчи» сурилувчи генлар-транспозонлар (Тн) бор, улар биринчи марта 1940 йил Б.Мак-Клинтон томонидан маккажўхорида топилган.

Улар ўзи таъсир этувчи бошқа генлардан анча узоқда жойлашган бўлади. «Транспозон портлаш» деб номланган мутация генетик элементларни барчасини маълум даражада белгиланган йўналишга силжитиш мумкин. Транспозонлар бирор нусхалардан геномни янги жойига (ядро ДНК) репликациялаш ва киргазиш (инверсия) хусусиятига эга. ДНК да транспозонни тартибда жойлашиш реакциясини катализловчи транспозаза ферментни бактерия транспозонлари кодлайди. Охириги йилларда, юқорида кўриб чиқилгандек, уларни интронлар билан ўхшатилади.

Ҳўжайин ДНК даги нуклеотидлар кетма-кетликлари солиштирилганда, олдинги ва кейинги жойлашган транспозон маълум бўлдики, жойлашгандан сўнг бу ДНК нинг нуклеотидлари икки хиссага ортади. ДНК нинг бу нусхаси транспозонни ўраб олади, ҳар бир транспозон учун маълум миқдорда нусхаланган нуклеотидлар мос. Транспозонлар жойлаштирилишидан аввал ҳўжайин ДНК ферментатив ажралиб ёпишқоқ учларни ҳосил қилади, у ерга транспозонлар қовушади, қолган тешиқлар нуклеотидлар изчилигида тўлади, натижада унча катта бўлмаган нусха ҳосил бўлади деб ҳисоблаш қабул қилинган.

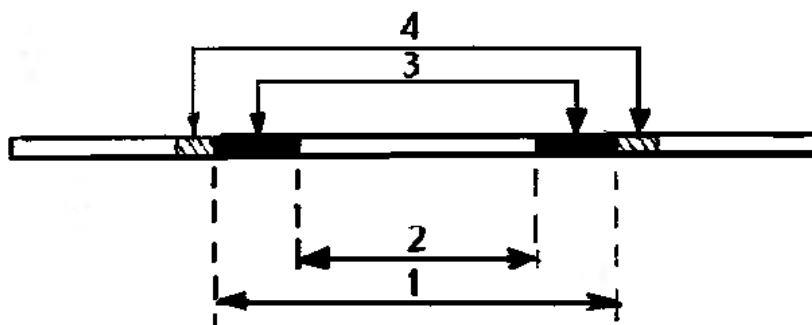
Айтиб ўтиш керакки, транспозонлар кўп ва ҳар хил (фақат дразифилла пашшасининг транспозонни санаб чиқилса бутун китоб бўлади). Демак, улар аниқ синфланиши керак, балки синфланишини яқин келажакда яратиш мумкин.

Ҳозирги вақтда транспозиция механизми ҳаракатчан элементларни икки хисса кўпайтиришдан иборат ва кейинчалик транспозон нусхаларидан бири

геннинг янги жойига жойлашади, иккинчи нусхаси аввалги холида қолади деб қабул қилинган.

Шунинг учун «транспозиция» термини аниқ эмас, чунки транспозон ўзининг аввалги жойини ёки сайтини тарк этмайди. Аниқроқки транспозиция жараёнида транспозонлар нусхаси ортади деб қараш мумкин. Гени структурасини сақлаб қолиш мақсадида транспозициялар жуда кам содир бўлади. Шундай қилиб, уларнинг учрашиш миқдори ички сабаб натижасида вужудга келган мутацияга тенглаштириш мумкин, яъни бир авлодга 10^{-5} - 10^{-7} учрайди.

Этиборни тортадиган шундай далил борки, майда дрозифилла пашшасини Гн нусхаси ўзини транспозонга ўхшатиб ёки ретровирусга намоён қилади. Бундай вирусларда ДНК интеграцияси транспозицияга ўхшаш усулда олиб борилади. Шунинг учун қуйидаги гипотеза асосиз эмас, яъни вируслар бу транспозонлар, улар қўшимча функцияни бажара олади ёки аксинча- транспозонлар –бу насли айниган вируслар. Муаммо очик қолмоқда бунга қарамай энг калта транспозонлар аниқланган, улар оксилни кодлайди, ҳамда фақат транспозицияда учрайди.



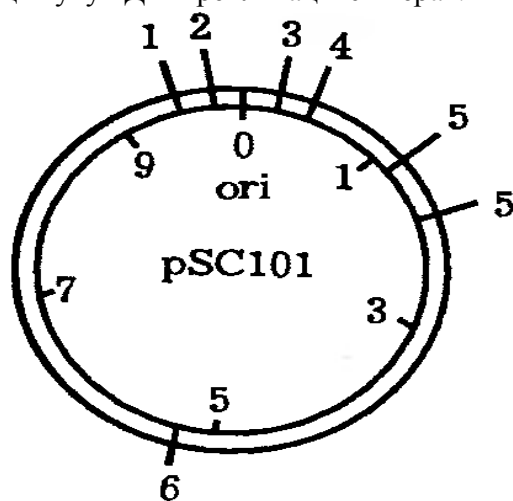
24-расм. Нишон –ДНК га транспозонни жойлашиши
1-транспозон; 3- учлардаги такрорланиш;
2-марказий қисм; 4-нишон-ДНК ни нусхаси.

Демак, бундай транспозонлар ДНК сини «эгоистик» қаторига киритиш мумкин, улар фақат ўзи учун ишлайди. Яъни ўзини кўпайтиш функциясини бажаради. 24-расмда нишон-ДНК сига транспозонларни жойлашиш (рэпликациядан сўнг) схемаси келтирилган.

Репликация ёки ДНК ва РНК га хос бўлган ўз-ўзини икки қисса кўпайтирилиши, яъни бундай жараёнда информацияни ДНК дан ДНК га ўтказилиши вужудга келади масалан, қатор вирусларда информацияни ўтиши РНК дан РНК га бўлади.

Репликация ярим консерватив усулда олиб борилади, икки спиралли ДНК деспиралланади ва хар бир тола ДНК ёки РНК полимераза иштирокида ўзига комплементар бўлган толани синтезини индуцирлайди.

Бактерия ва фагларнинг геномлари бир бутундек репликацияланади, яъни худди уюшган репликация бирлигидек уларга репликациялар дейилади. Хар бир репликация инициация нуқтасига эга Ори (инглизчадан. Оригин-бошланиш). Мисол тариқасида *Э.Солни* Ори С нуқтасини эслатиш мумкин. (25-расм). Баъзи репликациялар 240-600 нж эга, баъзи репликацияларда эса иккита Ори мавжуд, моки сифатли векторларда улар прокариот ва эукариот хужайраларида репликация хусусиятига эга. Репликациясини инициацияси махсус оқсиллар ёрдамида амалга оширилади. Функцияни бажарувчи хужайрани тенгланиши учун (репарация учун) хромосома қисмлари ўртасида генларни алмашиниши рекомбинация ва генларни силжиши транспозиция учун ДНК репликацияси керак.



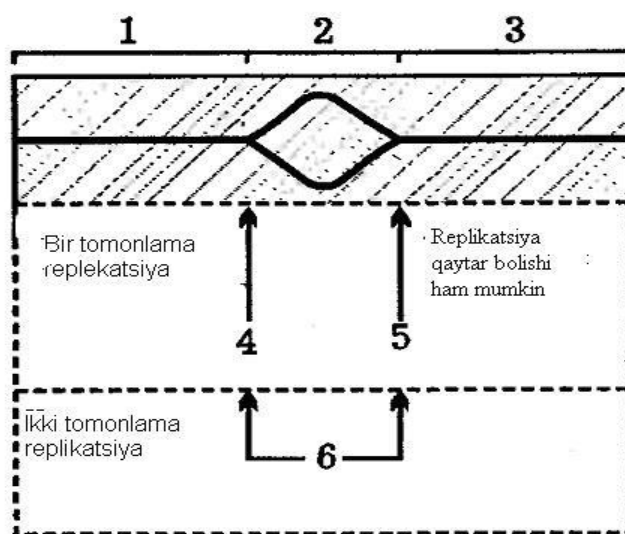
25-расм. pSC101 *Э.Солни* плазмидасида Ори-сайтлар (ташқи қаватдаги рақамлар турли рестриктаза ферментларини таъсир нуқталарини белгилайди)

Прокариотик ва эукариотик хужайрани бир марта бўлиниш даврида ундаги хромосомалар сонидан қатъий назар унинг барча геноми ҳам бир марта репликацияланади, ва фақат репликация тугагандан сўнг, кейинги бўлиниш юзага келиши мумкин. Икки хисса ошган геном тенг икки қисмга бўлинади. Сегрегация бирлиги бўлиб, хромосома хисобланади, репликация бирлиги қилиб эса- репликация олинган. Репликацияда Ори нуқтасидан ташқари яна тэр репликацияни тўхтаниш нуқтаси бор. (лотинчадан-тэрминалис-чегаравий охири).

Бактериал хромосомадаги сегрегация ва репликация қисми мос келади, чунки бактериал хромосома фақат битта репликациядан иборат. Шу вақтда хар бир плазида агар у бактериал хужайрада бўлса, автоном халқасимон генетик тузулишли бўлади ва мустақил репликация бўла олади. Плазмидаларни бактериал хужайраларга бўлсак, бир хил нусхада бўлади,

унга бир нусхали дейилади. Бошқа плазмилар эса биттадан кўп нусхадан иборат, унга кўп нусхали дейилади.

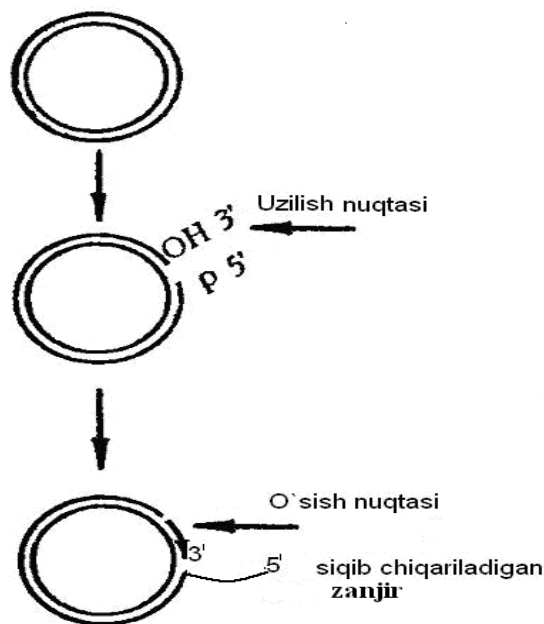
Эукариотик хужайраларда кўп сонли рэпликонлар бор ва уларнинг сегрегация бирлиги таркибида рэпликация бирлиги кўп. Рэпликация аппаратининг хамма компонентларига реписома дейилади. ДНК рэпликацияси рэпликацион вилкада бошланади, у бир ёқлама (бир тарафга йўналтирилган репликация) ёки икки ёқлама бўлиши мумкин. Агар икки йўналишли бўлса, иккита репликацион вилка бўлади. (26-расм) ДНК репликацион қисми «кўз» шаклига киради.



26-расм. ДНКнинг иккита репликацион вилкаси

- 1 – ва 3 – репликацияланмаган ДНК; 2 – репликацияланган кўзча;
 4 – бошлангич стационар нуқта; 5 – ҳаракатланувчи репликацион вилка;
 6 – иккита репликацияланган вилка.

ДНК нинг халқали тузулишида спиралнинг битта кесилган занжирини ўсиш нуқтаси иккинчи халқасимон матрицали занжир атрофига «силжийди», «сирпанади». Натижада юмалаётган халқа кўриниши пайдо бўлади (27-расм).

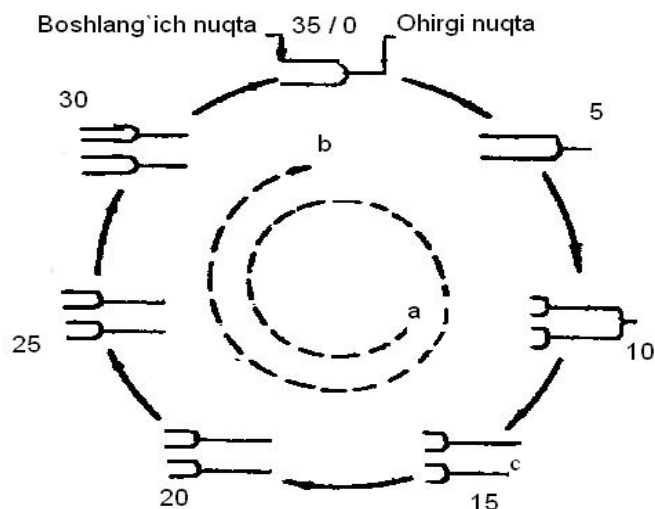


27-расм. Матрица занжиридаги ” юмалаётган ” халқа

Бактериянинг ўсиши ва ДНК нинг рэпликацияси ўзаро мустахкам зич боғланган бўлади.

Хужайранинг бўлиниш цикли *Э.Сол* мисолида иккита вақтинчалик интерваллар орқали ифодалаш мумкин, улар лотинча С ва Д харфлари билан белгиланади.

Улардан биринчиси бутун бактериал хромосоманинг репликациясига керакли вақтни англатади.(масалан, 15 мин.). Бу қайд қилинган вақтдир. Қайд қилинган вақт - бир дақиқа ичида эллик мингга яқин ташкил қилувчи қисмларнинг алохида репликацион вилка билан бирлашиши ҳаракат тезлигига тўғри келади. Д эса ДНК репликациясини тугалланиши ва хужайра бўлиниши оралиғидаги вақт (тахминан 20 дақ.) га тўғри келади, бунга йиқилиш даври деб аташ мумкин (28-расм). Шундай қилиб *Э.Сол* хужайрасининг қисқа бўлиниш даври ўртача 35 дақиқаларга тўғри келади.



28- расм. Э.Соли нинг бўлиниш даври- репликация жараёнида кўплаб вилкалар ёрдамида хромосоманинг хосил бўлиши
 а- инициация; б- бўлиниш; с- терминация;
 Рақамлар хужайравий цикл дақиқаларини англатади.

Хужайра бўлинишининг узок даври инициациянинг бошланишигача бўлган вақт кўп бўлганда кузатилади. Эукариот диплоид хужайралари учун ядронинг митотик бўлиниши натижасида янги (қизлик) хужайралар хосил бўлиши характерлидир.

Бу митотик цикл тўрт босқичга бўлинади: G_1 , С, G_2 ва М.

$G_1 \rightarrow$ ДНК синтезигача хужайра ўсиш вақтини билдиради.(инглизча *gap-*

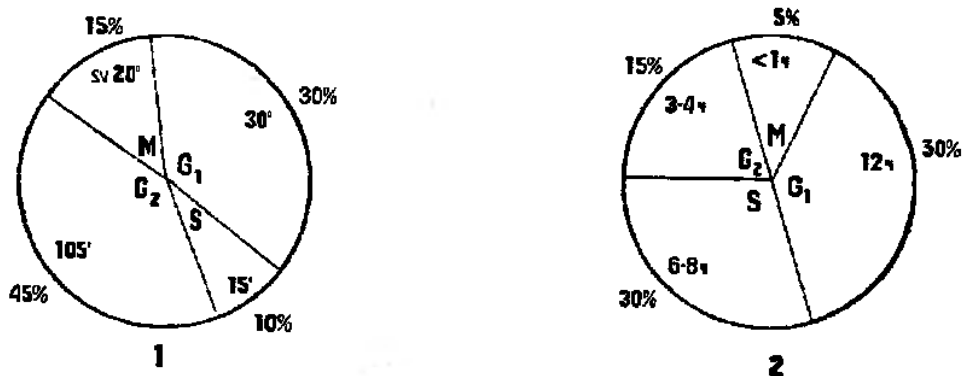
бўшлик, оралик);

С \rightarrow ДНК синтези содир бўладиган фаза (инглизча-сйнтхэсис);

$G_2 \rightarrow$ ДНК синтездан кейинги, иккинчи давридаги ўсиш фазаси;

М \rightarrow митоз фазаси (мйтосис).

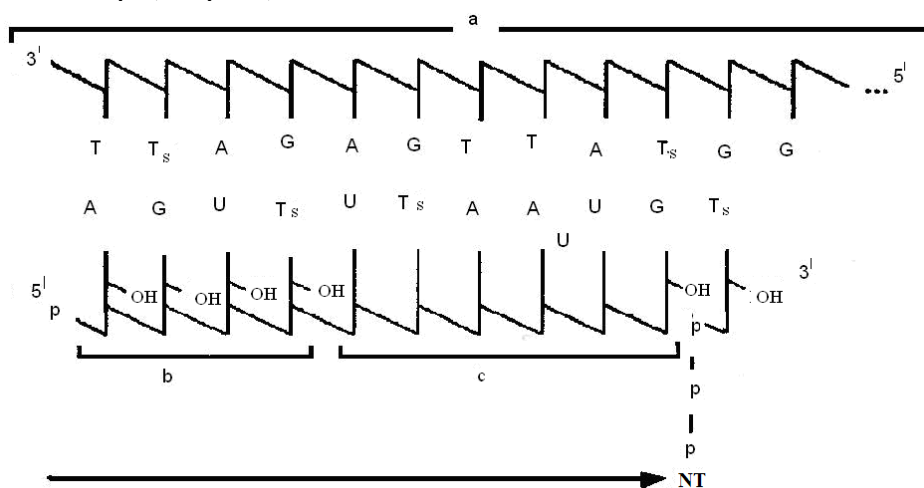
29-расмда *Счизосасчаромйсэс помбэ* хужайраси ва сут эмизувчилар хужайраси мисолида эукариот хужайраларининг бўлиниш циклининг схемаси келтирилган. Эукариот хужайраси бўлинишининг тўлиқ циклига ўртача қуйдаги вақт қисмлари тўғ`ри келади.



29- расм. Эукариот хужайраларининг хужайравий бўлиниш цикли схемаси
 1- Счизосасчаромйсэ помбэ; 2- сутэмизувчилар хужайраси;
 Г₁ босқичга 30-40% ; С босқичга 30-50%; Г₂ босқичга
 10-20%; М босқичига 5-10%.

Эукариот хужайрасида репликацион вилканинг харакатланиши вақтида бир дақиқа ичида 1000 дан 3000 гача нж – сутэмизувчиларда ва 1000 гача нж/дақ – ўсимликларда бирикади. Эукариот ва прокариотлардаги икки ипли ДНК репликацияси вақтида комплементар занжирлар синтези ферментлар ёрдамида катализланади. Бу ферментлар ДНК полимераза деб аталади. Улардан уч босқичи маълум прокариотларда → пол I, пол II, пол III; эукариотларда → α, β ва γ.

Буралган ДНКда 5¹ - 3¹ йўналишда бог`ловчи занжирнинг узлуксиз синтези содир бўлади, яъни, 5¹ - 3¹ йўналишда ДНК фрагментлари серияси синтезланади, улар кейинчалик бирлашиб ортда қолувчи занжирни ташкил қиладилар. (30- расм).



30 - расм. кРНК – инициаторга бириккан Оказаки фрагментлари
 а – матрицали ДНК; б – комплементар ДНК; с– РНК – праймер;
 ХТ – кировчи нуклеозидтрифосфат.

Оказки фрагментлари тахминан 1000 – 2000 та нуклеин асосларидан ва РНК – полимераз ферментларининг каталитик таъсири остида ҳосил бўладиган синтез фрагментларидан ташкил топган бўлиб, улар ҳар бири тахминан узунлиги 10 асосга тўғри келадиган РНК затравкалар билан инициацияланадилар. РНК – затравка ДНК занжири синтезини катализловчи ДНК полимераз ИИИ таъсири остида узайтирилади. Экзонуклеаз ферментлари таъсири остида эса РНК йўқолади. ДНК полимеразалар характеристикаси 10- жадвалда келтирилган.

Праймосома маълум бир участкада синтезланади, праймосома силжиши ДНК синтезига қарамақарши бўлади. Масалан, ССБ номли праймосома оксили битта занжирли ДНК билан боғланиб, уни тургунлаштиради; Дна Б оксили праймердан олдинги РНК ни ҳосил қилади ва праймосоманинг ҳаракатланишида иштирок этади. Дна С оксили Дна Б билан биргаликда ҳаракат қилади; Лиг оксили Оказки фрагментлари орасидаги узулишни тиклайди; н – АТФ – аза н ва н¹¹ оксиллари РНКни ҳосил қилади, ва х.к.

Тахмин қилинишча, праймосома шундай бир йерда тўпланадики кейинчалик у бир занжирли ДНК бўйлаб сайтлар томон ҳаракатланади ва у ерда, затравка синтези инициацияланади. Праймосомани йўналиши ортда қолувчи занжирдаги ДНК синтези йўналишига қарама – қарши, лекин репликацион вилка йўналишига синхрон бўлади.

10- жадвал

Прокариот ва эукариот ДНК полимеразалар характеристикаси

DNK - polimeraza	O'lcham, kDa	Tarkib	Ferment faolligi
E.coli hujayralaridan	109	bitta zanjir	a) yo'nalishdagi elongatsiya 3' – OH - zatravkalardan 5' → 3' ga
I			b) 3' – 5' – ekzonukleaza c) 5' → 3' - ekzonukleaza
II	120	-	I uchun qaralsin b) 3' – 5' – ekzonukleaza
III	250	geteromultimer	a - c) I uchun qaralsin
Sutemizuvchilar hujayralaridan	110 - 120	bir nechta subbirlilik	yadroviy DNK ning replikatsion sintez (yadroviy DNK - replikaza) - 80%
α			
β	45	bir subbirlilik	shikastlangan DNK segmentlarining reparatsiyasi
γ	60	noora'lum	mitoxondrial DNK ning sintezi - 2 - 15%

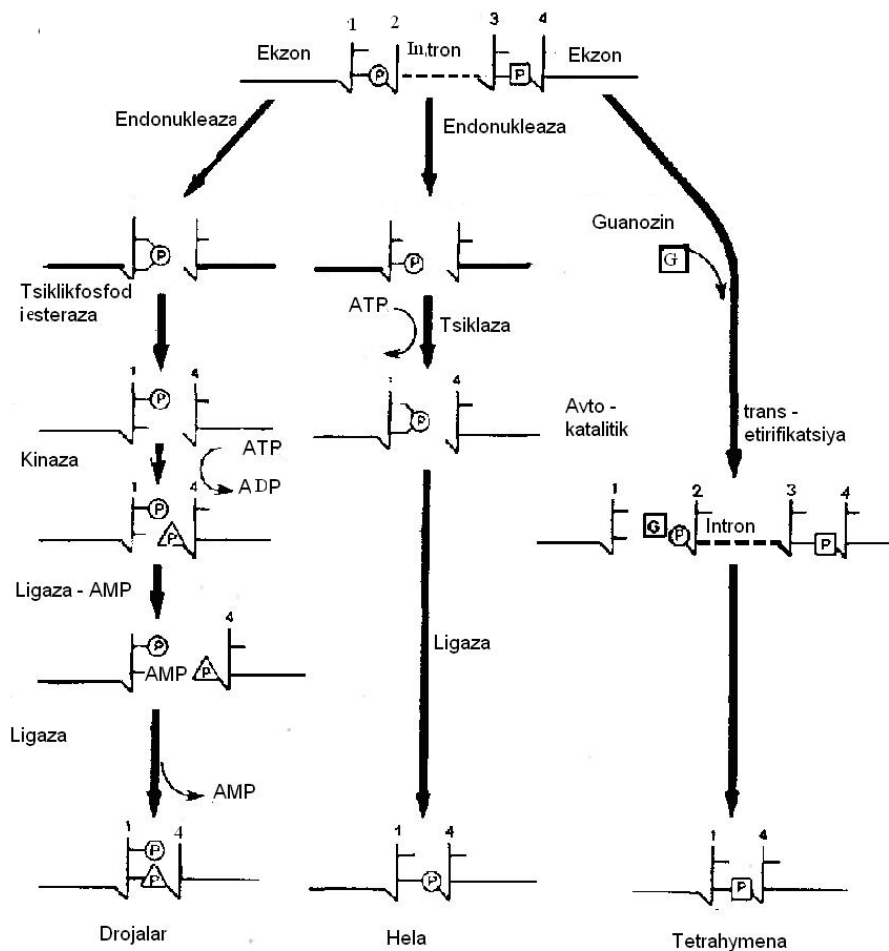
Хисоб – китоблар бўйича прокариотлардаги ДНК репликацияси секундига 400 000 тезлик билан содир бўлиши керак, бу эса репликациянинг хақиқий тезлигидан анча юқори. Шунинг учун хар бир организм ДНК малекуласи таркибига кирадиган қайд қилувчилар бўлиши мумкинлиги тахмин қилинди. Шундай қайд қилувчилар аниқланди хам. Улар қаторига топоизомераза ферментлари киради. Улардан баъзилари ДНК молекулаларининг бирикиб, илакишган доиралар – катенанлар хосил бўлиш реакциясини катализлайди, топоизомереза ИИ ёки бошқача қилиб айтганда гираза ДНК суперспирализациясини катализлайди, топоизомераза И суперспираллашган ДНК занжирларидан бирини узиш хусусиятига эга, буни натижасида занжир буралиб ундаги ўрамлар сони камаяди, кейинчалик худди шу фермент ДНК ипидаги узулишни бартараф этади. Репликацияланган ДНК молекулаларини қизлик хужайраларга (хеч бўлмаганда прокариотларда) тақсимлаш ишини бажарувчи бўлиб, ДНК махкамланган хужайравий мембрана хисобланади. Шундай қилиб бошидан охиригача ферментлар билан катализланадиган ДНК репликацияси жараёнини уч босқичга бўлиш мумкин: инициация, элонгация (занжирни ўсиши) ва терминация. Инициация жараёнида ДНК ипларининг ажралиши содир бўлади, буни натижасида репликацион вилкалар, праймосомалар ва РНК затравканинг синтези хосил бўлади. Занжирнинг ўсиш босқичи ёки элонгация ДНК – полимеразалар ёрдамида ДНК синтезида амалга ошади. Терминация ёки ДНК синтези якуни матрицавий занжирдаги махсус кодон (терминатор) дан келувчи “стоп – сигнал” ёрдамида реакциянинг тўхтатилиши натижасида содир бўлади. Транскрипция ва ДНК трансляцияси жараёнларида хам худди шу уч босқич кузатилади.

Транскрипция – ДНК да кодлаб қўйилган ахборотни кўчириб олиниб уни оксил синтез бўладиган жойга олиб ўтказилиши жараёнидир. Транскрипция пайтидаги инициация босқичи ДНК – матрицани РНК – полимераз билан ўзаро алоқасини ташкил қилади; элонгация – ДНК матрицадаги мРНКнинг ферментатив синтезидир; терминация – терминатор генидан келувчи “стоп - сигнал” натижасида мРНК синтезининг тўхтатилиши.

Трансляция – мРНКда кодлаб қўйилган ахборотни полипептид занжирига олиб ўтишни англатади. Трансляция жараёнини ташкил қилувчи марказлари бўлиб рибосомалар хисобланади. Трансляциядаги инициация босқичида аминокислоталар аминоацил – тРНК – синтетазалар (АРСаз) ёрдамида ва АТФ энергияси иштирокида фаоллаштирилади, буни натижасида ўз ичига учта инициация фактори (ИФ – 1, ИФ – 2, ИФ – 3 – прокариотларда, элФ – 2, элФ – 3, элФ – 5 ва бошқалар эукариотларда), мРНК, гуанозилтрифосфат (ГТФ) ва 30 С (40 С) – рибосома суббирлигини олган инициация комплекси хосил бўлади. Юқоридаги комплекс рибосоманинг 50 С (60 С) суб қисми билан бирлашиб 70 С (80 С) функционал рибосомани хосил қилади. Трансляция жараёнидаги элонгация босқичида элонгация факторлари иштирокида рибосомани функциялаштирувчи полипептид занжирнинг синтези амалга ошади. (ЭФ –

Ту, ЭФ – Тс, ЭФ – Г – прокариотларда; ЭФ – 1 ва ЭФ – 2 – эукариотларда). Кўрсатилган факторлар рибосома структураси таркибига кирмайди, балки уларга маълум босқичлардагина бирикади. Оксил синтези вақтида рибосомалар мРНК йўналиши бўйлаб ҳаракат қилади, босқичма - босқич триплетларни ўқиб, ёл – йўлакай полипептид занжирини узайтириб боради. мРНКда қоидага мувофиқ доимий ҳисоблаш чегараси – кодон АУГ си мавжуд бўлади. Элонгация босқичида бир дона мРНК бир нечта рибосомалар билан боғланади, натижада комплексини ҳосил қилади йнга функционал полирибосома ёки полисома дэйтилади. Юқорида кўрсатилган учта босқич ичида энг тез бўлиб ўтадигани бу элонгацияция ҳисобланади. Трансляциянинг терминация жараёни мРНК даги стоп – кодон ёрдамида амалга оширилади. Юқоридаги маълумотлардан кўриниб турибдики, ДНК ва оксил ўртасида алоқачи вазифасини РНК бажаради. Вахоланки, бу марказий функция мРНК га тегишли, тРНК ва рРНК лар эса транскриптлар ҳисобланиб, молекула функцияси ва тугалланган саф тортишда фаоллигга эга бўлган тақдирда ҳам. Бундан баъзи РНК лар истисно бўлиши мумкин-матрицасидан РНК синтез қилинадиган вирусли геном сақлаганлари, вахоланки генетик ахборотни қуйдаги схемалар бўйича ҳосил қилиш мумкин бўлса ҳам: транскрипцияси мавжуд бўлмаган айрим вируслар учун РНК →оксил (полиомиелит вируси ва б.) бошқалари учун, шахсий вирион РНК сига эга бўлганлари учун, РНК → полимеразага боғлиқлари учун, ёки вирион транскриптазага эгалари учун, РНК → РНК → оксил (грипп, қизамиқ вируслари ва х.к) ва ниҳоят учинчилари учун – РНК → ДНК →РНК →оксил (ретровируслари, шу қаторда –ВИЧ ёки СПИД вируслари).

Бактериялардаги мРНК, рРНК ва тРНК лар бир номли РНК-полимеразанинг каталитик таъсири натижасида синтез бўлади. Эукариот хужайраларида ядросига эга бўлган РНК – полимеразалардан учта (I, II, III) ва шу билан бирга митохондрия ва хлоропластларнинг РНК – полимеразалари ҳам аниқланди. Аниқланишича РНК –полимераза бир ядрочада жойлашган про-рРНК нинг синтези учун жавобгар экан, кейинчалик ундан 28 С ва 18 С РНК лар ҳосил бўлади, РНК – полимераза III про- мРНК синтези реакциясини катализлайди. мРНКнинг 3¹ учи қоидага мувофиқ полиадэнинлаштирилган (31-расм).



31-расм. Геннинг транскрибцияга учраши tРНК сплайсинг механизми билан боғлиқ.

Эукариот хужайраларнинг компартментализацияси функцияларини махсус чегараловчи ва уларни маълум структура билан боғловчи асосий далилларидан ҳисобланади. Бу оксил синтезига тегишли. Мономер рибосомалар, полисомалардан фарқ қилиб хужайра цитоплазмасида эркин ҳолда бўлади. Полисомалар, одатдагидек ядро мембранасига яқин жойда занжир ҳосил қилиб РНК цитоплазмага кирувчи жойларда ёки мРНК воситасида хужайра ситоскелети билан ассоцияланади. Бу полисомалардан синтезланган оксилларнинг сифатида қабул қилинган. 1980 йилда Трифонов ва Зусмонлар инсон геномидаги аденинли нуклеотидлар жуфти ДНК нинг турли кетма-кетлигида 10,5 оралиқда даврий равишда учрашади ва гистон октамери билан бирлашиб нуклеосомани ҳосил қилади. Бу даврийлик ДНК молекуласининг Б спиралдаги боғланишларнинг даврийлигини яхши

коррелирлайди. Кўрсатилган даврий аденин жуфтлари ДНК спиралининг гистонли октамерларнинг комплекси бўйлаб бир йўналишда ўралишини кодлайди ва бу код “хроматинли” ёки “хроматин упаковкасининг коди” деб номланган. Блоклар структураларида тандем равишда спирал ўрамининг кетма-кетлиги амплифицирланади. (инглиз тилидан амплифисатион-эга бўлиш). Шунингдек кўрсатилишича спирал ўралишининг алтернатив вариантларида (чек томонлама) пуринопиримидинли асосларнинг тандемли блоклари аниқланади. Ташқи тандемли кетма-кетликнинг блоклари ДНК ни локус-махсус упаковкасини ва инсон хужайраси ядросидаги хроматин структурасини кодлайди.

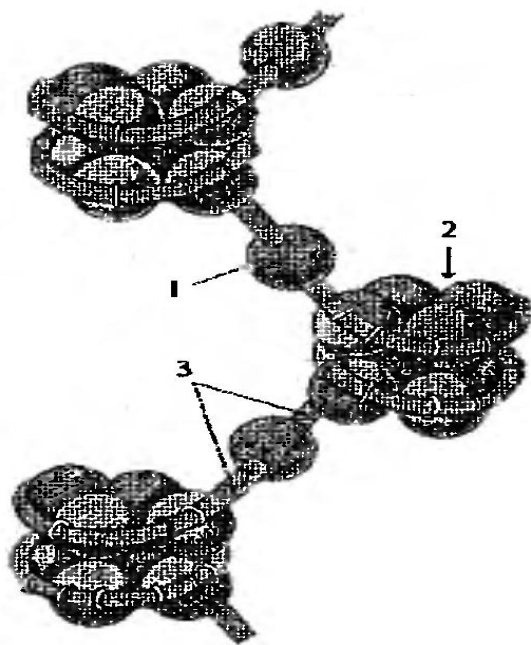
РНК – полимераза ИИИ 5С РНК синтезини, ҳамма т РНК ларни, кичик РНК қаторларини, шунингдек мРНК қисмларини катализлайди. Прокариот ва эукариотларнинг турли хил вакилларида оксил синтезининг тезлиги кенг миқёсида бўлади. Бу кўплаб ички ва ташқи факторларга боғ`лиқ. Шунга қарамасдан 37⁰С хароратдаги бактериялар бир секунд мобайнида 10 дан 20 гача аминокислотадан ташкил топган полипептид занжирига ўхшаши мумкин. Масалан, хисобланганки 300 та аминокислотадан иборат бўлган оксилга малекуласи бактериал хужайра ёрдамида 20 секунд ичида синтезланади.

Эукариот хужайраларида оксил синтезининг тезлиги сезиларли даражада паст (ўртача, бир секунд ичида ўсувчи полипептид занжирига 1-2 та аминокислота бирикади). Шунини инобатда тутиш керакки, таркибида экзонлар ва интронлар сақлаган узлукли гендан оксилнинг синтез бўлиши учун `қўшимча вақт талаб этилади.

Бошида пре- мРНК даги ген бутунлигича (хамма экзон ва интронлар билан бирга) транскрибланган бўлади, кейинчалик сплайсинг натижасида интронлардан холи бўлиб, мРНК га айланади. Бу эрда экзонлар бирин-кетин учма – учи бирлашган бўлади. Фақат шундан кейингина хосил бўлган мРНК оксил синтези жараёнига жалб этилади. Шунини эсда тутиш керакки инсондаги ДНК ларнинг 80-90% кодламайди.

Интронлар чегарасини аниқлай олувчи ферментлар иштирокида пре-мРНК дан интронларнинг қирқилиши содир бўлади. Агар бу узулиш ноаниқ бўлиб чиқса, у холда, бирлашган экзонларни бошқа оксил кодлайди-натижада аниқлаш чегарасининг силжиши содир бўлади. Полипептид биосинтези механизмида хосил бўлган хатони типографик хато билан солиштирса бўлади. Масалан, “бир ховуч қуриган сомон” жумласида ўқилиш чегараси сурилганда маъносиз сўзлар тўплами келиб чиқади –“ бирхо вуч қуриган сомон”. Сплайсинг механизмлари генлар турларига ва интронлар синфларига боғ`лиқ равишда турли хил бўлиши мумкин. (31-расм). Сплайсинг механизмини аниқланиши билан 1982 йил охирларидаги буюк кашфиётни боғ`лаш мумкин, йъани Т. Чех ўз ходимлари билан биргаликда *Протозоа* турларида р РНК генидаги интроннинг авторестрикциясини аниқлаган эди. Бунда ҳеч қандай ферментлар ва ташқи энергия сарф этилиши талаб қилинмаган.

Бу билан эса нуклеин кислоталарнинг автокаталитик хоссаси исботланади ва Т. Чех томонидан таклиф этилган “рибозим” атамаси мантикқа тўғри келмай қолади. Эукариот хужайраларининг компартментализацияси функцияларини ажратиш ва уларни маълум структураларга боғлаб қўйилишини исботидир. У оксил синтезига тегишли. Мономер рибосомалар полисомалардан фарқли ўлароқ хужайра цитоплазмасида эркин холда жойлашган бўлади. Полисомалар қоидага биноан ёки мРНК ни цитоплазмага кириш жойида ядровий мембранага яқинроқ йерларда занжир кўринишида ёки хужайравий ситосклетни мРНК билан ўзаро воситачилиги кўринишида жойлашган бўлади. Бу полисомалардаги оксилларни сифатли синтезини асосий шартидир.



32-расм. Нуклеосома мисолида хроматинни ўрнатилиши:

1- гистон H1; 2- хар бири иккита малекуладан иборат H2A, H2B, H3 ва H4 саккиз малекулага эга гистонлар структураси атрофида ўралган икки ипли ДНК; 3- ДНК нинг спейсер майдони.

1980 йилда Трифонов ва Зусманлар инсон геномидаги гистонли октамер билан ўзаро мулоқоти натижасида нуклеосомани хосил қилувчи аденинли нуклеотидлар жуфтликларининг такрорий учрашиш вақти хар қайси ДНК кетма- кетлиги кўламида 10,5 эканлигини аниқладилар. Бу кетма- кетлик ДНК малекуласининг, Б- спиралида— ги гажаклар катма- кетлиги билан яхши корреляцияланади. Юқорида келтирилган аденинли жуфтликлар кетма- кетлиги гистонли октамерлар

комплекси атрофида ДНК спиралини бир хил йўналишда буралишини кодлаб беради ва бу кодни “хроматинли” ёки “хроматин ўрнатиш коди” деб аталади (32-расм).

Шундай тахминлар ҳам борки, оксиллар структурасидаги спираллар амплифицирланиш (инглизча амплифисатион-сероблик) шаклида буралиши тандем равишда такрорланиб турар экан. Бундан ташқари, спираллар буралишининг алтернатив вариантларида ҳам пурино – пиримидин асосларининг тандем блоклари аниқланганлиги исботланган. Чамаси тандем кетма-кетликлар блоки локус-специфик(хослик) ДНКни ва инсон хужайраси ядросидаги хроматин структурасини кодласа керак.

Локус-специфик “хроматинни тахлаш коди” нафақат хужайра ядросидаги хромосомалар структур тўпламида иштироқ этади, балки “генни экспрессиялаш коди”, “репликациялаш коди” ва “рекомбинация коди” сифатида ҳам қатнашиши мумкин.

Эукариот, прокариот ва эукариот турлари геномларининг функциялари ва структуралари ҳақидаги тушунчаларини жамлар эканмиз, куйдагиларни алоҳида таъкидлаш талаб этилади:

1) Акариот ва прокариот геномлари, шуниндек, эукариотнинг митохондрий ва пластидаси унча кўп бўлмаган структур такрорланишлардан иборат ихчам генлар тўпламини ифодалар экан. Бу эса унинг режалилигидан далолатдир. У доира шаклида узлуксиз бўлиб, генлар орасидаги интерваллар минимал бўлади. Масалан, ўлчанган λ фаг ҳақидаги барча генетик ахборотлар узунлиги 50 кб, у доира шаклидаги ДНК молекуласига жойлаштирилади, унда одатда 40 та генлар тизимидан ташкил топган бўлади; 95-97 кб. плазмидали ДНК 100 та гендан иборат бўлади; 400 кб. ли *Э.Сол* нинг алоҳида ДНК си 3000 тагача ген сақлайди. (тахминан 1500 нж бир генни ташкил қилади).

2) Эукариот хужайралардаги генетик аппарат чизиқли хромосомалар кўринишида тузилган бўлиб, унда ДНК оқсил-гистонлар билан мустаҳкам боғланган бўлади ва шу орқали улар ДНК ларни структур бирликлар – нуклеосомалар кўринишида тартибли упаковканишини таъминлайдилар. Сасчаромйсэ сэрэвисил гаплоид хужайрасида ўн эттита хромосома мавжуд бўлади, улардан хар бири 1000 кб га эга бўлади. Бундан келиб чикадики, бу турдаги хужайраларда генлар сони 11 000 га йетиши мумкин, хар бири 125000 кб га эга бўлган жами йигирма учта хромосомаси бўлган инсоннинг гаплоид хужайрасида эса икки миллионтагача йетиши мумкин.

Дэмак, айтиш мумкинки маккажўхори гаплоид хужайрасида ўнта хромосома, куён хужайрасида йигирма иккита хромосома ва сичқон хужайрасида йигирмата хромосома бўлади. Бироқ, эукариот организмлари хромосомаларида генлар сони – кодламайдиган майдон ва бир-бирига ўхшаш бўлиб 10-100 минг мартта такрорланадиган ДНК фрагментлари сақлаган жойларидагина нисбатан камроқ бўлади. Бу эса нима учун инсон ДНК сининг атиги 10-20% и кодловчи бўлиб чиқишини тушунтиради. Бироқ шунда ҳам йигирма учта та хромосомага эга гаплоид хужайрасида генлар сони 200 000 тага йетиши эхтимоли бор.

3) Эукариот генлари хромосомали ДНК да камдан-кам ёнма-ён жойлашадилар, балки улар кам сонли қариндошлик кетма-кетлигидан иборат мултиген оилаларини ҳосил қиладилар. Масалан, сутэмизувчилар геномидаги рРНК ни кодлайдиган генлар ўзларининг юзлаб нусхалари билан гурухлашган зоналар холида аниқланганлар. Бу эса юксак организмларда генетик программани етишмовчилигидан далолатдир.

4) Микроб, ўсимлик ва хайвон дунёси вакиллари генетик материали таркибида бир хил қурилиш блокларини сақлайди, яъни уларнинг “ кодлаш лухати” асосан бир типли ёки универсалдир ва у 1967 йилда Ф. Крик томонидан ифодалаб берилган марказий пастулотлар асосида иш кўради: генетик ахборот қуйдаги схема бўйича олиб ўтилади: ДНК → РНК → оқсил, лекин ҳеч қачон оқсилдан РНК олинган эмас.

5) Хар бир ген ўзини ҳосил бўлиши йўли билан ёки мРНК биосинтези – кейинчалик ахборотни деярли ген махсулоти ҳисобланган ўзига ҳос полипептид занжирига ўтказилиши билан намоён қилиш мумкин. Ген ва унинг махсулоти қолинеар, йъани гендаги кодонлар (триплетлар) кетма-кетлиги оқсилдаги аминокислаталар кетма- кетлигига аниқ мос келади.

6) Ген оқсил молекуласи тузулиши ва синтези жараёнини бошқаради.11- жадвалда турли тоифадаги организмлар хужайраларининг генетик аппаратлари тузулиши ва функцияси ҳақидаги асосий умумлаштирилган маълумотлар берилган.

Генларни тузулиши ва функциясини , шунингдек уларни ажралиши ва турли хил хужайралар ёки нуклеин кислоталар молекулаларига олиб ўтилиши усуллари билан холда, ген инженерлик ишларига катта ишонч билан ёндашиш мумкин.

3.3. Ген инжэнэригининг умумий тавсифи

Ген инжэнэриги – рекомбинант ДНКнинг олиш усуллари ҳисобланилиб, турли келиб чиқиш кетма кетликни бирлаштиради.

Баъзи бир олимлар маълум наслий хоссаларга эга бўлган организмларни тузишда генетик инженерияни “ билимларни ишлата олиш санъати, физ-кимёвий биология усул ва техникалари ва молекуляр генетика” сифатида муҳим деб таъкидлайдилар. (В. Н. Робчин 1986).

Муаллиф санъат сўзи остида, ген инженерияси масалаларини ташкил қилиш, рекомбнант ДНК олиш ва кейинчалик уни реципиент хужайрага қўшилиши ёки яхлит хромосомаларни донор хужайралардан реципиент хужайраларга олиб ўтилишини таъкидламоқчи.

Баъзан “ ген инженерияси ” ва “ биотехнология” тушунчаларини бир хил деб тушунилади, аслида эса ген инженерияси биотехнология фанининг усуллари билан бири ҳисобланади. Ген инженерияси усуллари асосини ферментлар – рестриктазаларни – ДНК ларни алоҳида нуклеотид кетма- кетликларига

11-жадвал

Прокариот ва эукариотларда генетик аппаратнинг асосий характеристикалари

Xarakteristikasi		prokariotlar	Eukariotlar					
Genlarning	Tuzilishi bo'yicha	uziüksiz	Uzluqli(intronlar saqlanadi)					
	Turgunligi bo'yicha	Turg'un	O'zgarishlar mavjud bo'lishi mumkin					
	Ekspressiya koordinatasi bo'yicha	Operonlar(regulonlar) boshqaruvchi oqsillar boshlanish saytlari va operatorlar orqali boshqariladi	Operonlari yo'q, induksirlangan genlar boshqaruvchi elementlar mavjud					
Jarayonlarning	I transkripsiya	RNK-polimeraza soni bo'yicha	bitta	Uchta				
		Enzansetlar bor yoki yo'qligi bo'yicha	yo'q	Bor				
		Promotorlar tuzilishi bo'yicha	Tuzilish rejasi yagona; 2 ta konservativ ketma-ketlik bor: TATAAT(-10) va TTGATsA (-35)	Oqsillarni kodlaydigan genlar promotorlari bitta konservativ ketma-ketlikka egalar TATA (A/T) A (A/T) (-30) va T Tsrn bo'y qism (40...-100)				
		mRNK bo'yicha	Gen yoki operonga kollinear	Boshlang'ich transkriptgengakollinia 1. "etilgan" mRNK splyasinqjarayonida tashkil topgan				
	I translyatsiya	Ribosomalar sizmintatsiyasi konstantasi bo'yicha	70 S (50 S va 30 S)	80 S (60 S va 40 S)				
		Ribosomalar bog'lanish sayti bo'yicha	AGGA yadro bilan ketma-ketligi	konservativ ketma-ketlik anochlanmagan				
		Kodonlar bo'yicha	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Initsiatsiya</td> <td>AUG kamdan kam</td> <td>GUG</td> </tr> <tr> <td>Terminatsiya</td> <td>UAA,UAG,UGA</td> <td>AUG</td> </tr> </table>	Initsiatsiya	AUG kamdan kam	GUG	Terminatsiya	UAA,UAG,UGA
Initsiatsiya	AUG kamdan kam	GUG						
Terminatsiya	UAA,UAG,UGA	AUG						
		UAA,UAG,UGA	UAA,UAG,UGA					

ajratiб юбора олиш хоссалари ташкил қилади. Улар эса таркибини ўзига тегишли ДНК ва қўшимча унга тегишли бўлмаган ДНК фрагментларидан тузилган бактериал плазмидалар ва фаглар геномларининг гибридли ёки химерли формаларини олишда тузувчи сифатида ишлатилиши мумкин. Шунинг учун генетик инженерия усуллари ёрдамида генларни клонлаштиришга эришилди. Бунинг учун қандайдир биообъект ДНК си таркибидан керакли парчани ажратиб олиб, ундан керакли миқдорда олинади ва ДНК топшириг`и бўлган майдонга эга бўлган, генетик бир хил бўлган хужайралар колонияси йетиширилади. Бошқача қилиб айтганда ДНК ни клонлаштириш бу уни генетик бир хил копияларини олиш демақдир.

Генэтик инженериясини ген инженерияси, геном инженерияси ва хромосома инженерияси қисмларига бўлиш мумкин. Ген инженериясининг ахамияти шундан иборатки у кўп тарқалган вируслар ва хужайралар

генетик характеристикасини ўзгартириш учун керак бўладиган ин виво ёки ин витро усулида амалга ошириладиган табиий геномни тузади.

Геном инженерияси эса акариот, прокариот ёки эукариот геномларини токи янги турлар хосил бўлгунга қадар чуқур қайта тузулишини таъминлайди. Геном инженериясида катта миқдорда қўшимча генетик ахборотнинг киритилишига эришилади ва натижада бошланғичга нисбатан кўплаб хоссалари билан ажралиб турадиган гибрид организмни хосил қилади. Гибридлар фақатгина қуйдаги ҳоллардагина яшаб қолиш хусусиятига эга бўладилар: қачонки улар учун зарур бўлган барча генларга эга бўлса, қачонки бирлаштирилган генлар аро бошқарувчи алоқалар қайта келишилган ва мослаштирилган бўлса, ва ниҳоят, матрица синтези маҳсулотлари (оқсил) аро структур ўхшашлик бўлган тақдирда.

Геном инженериясида жинсий (гаметалар чатишиши) ёки соматик (жинсиз хужайралар чатишиши) гибридлар олиниш эҳтимоли бор. Жинсий гибридларни табиий ёки сунъий (экспериментал) шароитларда олинади. Соматик гибридлар прокариот ва эукариотларда фақатгина сунъий шароитлардагина хосил бўлиш хоссасига эга, яъни, хужайравий формаларида (хужайра инженерияси) бўлади.

А типига кирувчи грипп вируси геномлари рекомбинациясини табиий геном инженериясига мисол қилиб келтириш мумкин. Рибонуклеопротеинларнинг антиген характеристикаси асосида грипп вирусларининг А, Б ва С турларга ажратилади. Антиген хоссаларининг ўзгариши А турдаги вирусда узлуксиз равишда, Б турда камроқ содир бўлади. С турдаги вируслар эса антиген тургун хисобланади. Шунингдек, чўчка, от, ўрдак ва жўжалардан ажратиб олинувчи А грипп вируси штаммлари ҳам маълум. Хайвонлардан олинган айрим вирус ажратмалари инсонлар орасида айланиб юривчи антиген штаммларга ўхшашдир. Шунинг учун А типи вируслари ҳозирги кунга қадар кўпроқ ўрганилган хисобланади. Уларнинг геномларини умумий молекуляр массаси $2 \cdot 4 \cdot 10^3$ кДа бўлган саккиста турли хил бир ипли РНК сигментларидан иборат. РНК нинг вирусли сигментларини ташкил қилувчи полинуклеотидларнинг катта қисми уридинни 3^1 учиди сақлайди. Вирусли геном деганда қарам РНК-полимераза тушунилади. Рибонуклеопротеин оқсил қавати (М) билан ўралган. Худди шу оқсил қавати вируснинг ички қаватини хосил қилади. М оқсили ўз ичида ММ 26 кДа бўлган кичик протеинни сақлайди ва бу протеин миқдори вирус қисми умумий оқсилнинг 40% ини ташкил қилади. Қисмнинг тахминан 20% массаси келиб чиқиши хужайравий бўлган биоқаватга тўғри келади. Гемагглютинин эукариотларни А вируслари билан агглютинация қилинишига жавоб беради. У ММ 75 кДа бўлган гликопротеин кўринишида намоён бўлади. Нейтраминидаза вируснинг рецепторно-бузувчи фаоллиги учун жавобгардир ва бу билан унинг эритроцитдан ёки “хўжайин” хужайрадан чиқишини таъминлайди. Нейтраминидаза-ММси 60 кДа бўлган тўртта полипептид молекулалардан иборат ва гемагглютинин билан бир қаторда антиген фаолликга эга. Уларни вируснинг антиген ўзгаришларини қайд қилиш ва тушунтириш учун

ишлатилади. 90- йилларнинг бошларига келиб А вируси гемагглютинининг ўнбитта кичик тури (Н1-Н11) ва нейраминидазасининг саккиста кичик тури (Н1-Н8) аниқланди. Шунинг учун грипп вирусини белгиловчи система ўз ичига гемагглютонин ва нейраминидазалар штамм номери ва субтурлар рақамларини олади. Масалан, А грипп вируси Тайван \ 1 \ 7(ХЗН2), йани вирус 1970 йилда Тайван оролида чўққалардан ажратиб олинган ва ўз таркибига гемагглютонин 3(ХЗ) ва нейраминидаза 2(Н2) ни олади. Икки антиген ҳам (Х ва Н) бир-бирига бог`лиқ бўлмаган холда генлар томонидан тузилади ва бошқарилади.

Бактерияларнинг айрим шундай вируслари маълумки, улар ўзида фаглар ва плазмидаларнинг хосаларини бирлаштирган бўлади. Уларни фазмидлар деб аталади. Улар келиб чиқиши табиий ва экспериментал бўлиши мумкин. Табиийларига айрим кам ҳаракат, ўртанча Соли- фаглар кирса, сунъийларига 32⁰С да плазида хоссасини, 37⁰С да эса реципиент хужайраларнинг лизисини ривожлантирувчи плазида сол. 10б киради.

Э.Соли, *Салмонэлла спп* ва *Шигэлла спп.* лар генетик гомологиясининг юқори даражадалиги сабабли, улардан ўзаро хромосомали гибридлар олиш мумкин:

ДНК донорлари (хромосомалар)
(хромосомалар)

ДНК реципиентлари

Э.Соли

Э.Соли нинг турли штаммлари
Салмонэлла спп,
Шигэлла спп.

Салмонэлла тйпхимуриум
тур

Салмонэлла спп нинг турли хил
ва штаммлари

Шигэлла флэхнэри
б.

Э.Соли, Салмонэлла тйпхи. ва

Бу мақсадларда кўпроқ бактерияларнинг конъюгацияси усулига мурожат этилади. Бироқ, шуни ҳам назарда тутиш керакки, генетик гомологияси унча катта бўлмаган турлар кучсиз конъюгирланади ёки умуман конъюгирланмайди ва улар орасида генлар алмашинуви деярли кузатилмайди. Бу ерда энг илг`ор усуллардан бўлиб, ҳозирги кунда прокариот ва эукариотлар билан ишлаганда фойдаланиладиган портопластлар чатишиши усули хисобланади.

Одатда ёш хужайралардаги хужайравий степкалар қисман ёки бутунлай гидролитик ферментлар ёрдамида лизирланади. Хосил бўлган протопластлар кейинчалик полиэтиленгликолли ва унга мос келувчи

протопластларни тург`унлаштирувчи мухитда чатишишга мажбур қилинади ёки мембранани деполяризация қилиш мақсадида электр ёки ҳарорат таъсир эттирилади. Шу йўл билан турлар аро ва хатто навлар аро гетерокариотик гибридларни ҳосил қилиш мумкин. Бошқача қилиб айтганда, шу йўл билан битта хужайра ичига жинсий қарама-қаршилиқларга эга бўлган хужайралар (организмлар) ни жойлаштириш мумкин. Масалан, қуйдаги хужайралар протопластларини бирлаштириш мумкин: сабзи ва арпанинг, маккажўхори ва соянинг, картошка ва помидорнинг, айрим бактерия ва ўсимликларнинг, сичқон ва сабзининг, сичқон ва инсоннинг. Аммо лекин кўпчилик ҳолларда бундай гибридли хужайралар бутун организмга йланиб кета олмайди. Шунингдек бундай гибридларнинг тург`унлиги- гибридланувчи турларнинг эволюцион узоклигига бог`лиқ равишда қарама- қарши пропорционал бўлади, яъни, гибрид ҳолатида эволюцион узок турларнинг яшаб кета олиш эҳтимоли, эволюцион яқин бўлган турларга нисбатан кам бўлади. Яшаш хусусиятига эга бўлган гибридлар чатишган шериклар бирининг геномидан кўпроқ сақлайди. Шунинг учун соматик гибридизация деярли чегараланган турлар ва наслар орасидагина амалга ошади. Масалан, 28 та хромосомага эга бўлган аллотетраплоид соматик гибридлари гуллаб турган ўсимликга айланиш хусусиятига эга:

- а) Пэтуния пародии ($2n = 14$) тури
- б) Пэтуния хйбрида ($2n = 14$) тури
- в) Пэтуния инфлата ($2n = 14$) тури

Соматик гибридлар:

- 1) П.пародии х П.хйбрида ($4n = 28$)
- 2) П.пародии х П.инфлата ($4n = 28$).

К. Келер ва С. Милштейнлар 1975 йилда илк бор сут эмизувчилар хужайраларининг соматик гибридларини – гибридмаларни олишга мувофиқ бўлдилар. Гибридмалардан кейинчалик моноклонал организмда антителалар антиген стимуляциясига жавобан Б- лимфоцитлар дифференциацияси натижасида ҳосил бўлган плазматик хужайралардан ҳосил бўлади. Б- лимфоцитлар юқори ихтисослаштирилган хужайралардир. Улардан организмда деярли 10^7 клонлар учрайди ва ҳар бир клон фақат битта спэцификликка эга антителаларни синтезлайди. Уларни моноклонал антителалар деб аталади. Агар антиген бир нечта спэцефик гуруҳларни сақласа, унда ҳар бир детерминантга қарши антитела ҳосил бўлади.

Б- лимфоцит ўсиб, ин виво га айланиб хавфли ўсимтани ҳосил қилса, у ҳолда бу ўсимта – миелома катта миқдорда антителаларни синтезлайди. Уларнинг спэцификлиги аниқланмаган. Бироқ миелома хужайраларининг шундай вариантлари ҳам борки, уларда оғ`ир ва енгил иммуноглобулинлар занжири синтезига нисбатан генлар экспрессияси мавжуд бўлмайди.

Шуни ҳам назарда тутиш керакки, жинсий гибридизацидан фарқли ўлароқ эукариот хужайраларининг соматик гибридизацияси икки шерикнинг нафақат ядро геномларини, балки цитоплазма геномларининг ҳам битта мембрана остида бирлаштирилиши билан яқунланади. Бу эса

гибриднинг функционал фаоллигида ўз аксини топади. Турлар аро гибридарда хромосоманинг бир қисми турли спэцификли бўлиб чиқадиган элиминация хисобига сарф бўлиши мумкин. Шундай қилиб “ сичқон ва инсон” ва “ инсон ва чивин” хужайралари протопластлари гибридарда инсон ва чивин хромосомалари тўғри келган холда элиминирлашади. Хромосомаларни морфологик ажратишда бундай гибридар генларнинг картиралаштиришда қулай бўлади. Эслатиб ўтиш лозимки, сичқоннинг соматик хужайраларида 20 жуфт хромосомалар, инсон хужайраларида 23 жуфт хромосомалар ва чивиннинг диплоид хужайраларида 3 жуфт бўлади.

Шундай қилиб, амалиётда чатишиш чегараларини сезиларли даражада кенгайтириш мақсадида соматик гибридизацияни амалга оширишга интиладилар. Бу эса ядродан ташқариги генлар ва уларнинг функцияларини гибридли наслга киритиш ва хромосомалардаги генларнинг локализацияси учун муҳим.

Хромосома инжэнэрлиги – гин инжэнэрлигини бир бўлагидир. Хромосома инжэнэрлиги (ХМ)ни объекти бўлиб эукариот ва прокариот хужайраларини хромосомлари хисобланади. Хромосомалар донори бўлиб суспензион ва субстратга бог`лиқ хужайралар тўплами бўлиши мумкин. Прокариот хужайраларидан дезинтегротни ёки хужайралар лизотини цэнтрифугалашдан олинган супернататдан хромосома (ДНК) ажратиб олинади. Эукариот хужайраларидан эса меёз вақтида хужайрани бўлинишини блоклаб (гинотонин шаклини ўйлаб), кейин гемонизациялаб, сўнгра дифференцион цэнтрифугаланади.

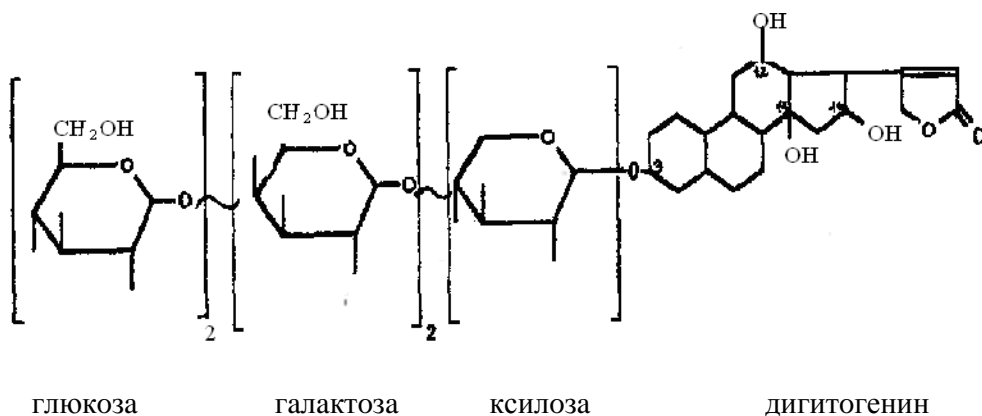
Реципиент хужайралар юзасида калций хлорид ёрдамида хромосомалар чўктирилади. Бир неча соатлардан кейин “перфоратор” – реагент (масалан, глицерин) билан ишлов бэрилади. Реципиент хужайралар кенг доирадаги генетик (ирсий) материал саклайди.

Хромосома инжэнэрлиги ёрдамида инсонга хос юқори молекуляр БФМ (биологик фаол модда) ларни олиш, ирсий касалликларни даволаш, уй хайвонларни ва турли ўсимликларни селекциялаш имкони яратилди. Хар хил тур хромосомалар ўзаро бирлашиши мумкин, натижада аллополиклоид (Юнонча аллос – бошқа) шакллар хосил бўлади. Тўлиқ бўлмаган хромосомалар гурухини хам бирлаштириш мумкин. Масалан, 42 та хромосомали буг`дойни 56 та хромосомали жавдар буг`дой билан чатиштирганда 49 та хромосомали гибрид хосил бўлади, ундаги 42 та хромосома буг`дойга ва 7 та хромосома жавдар буг`дойга тўғри кэлади.

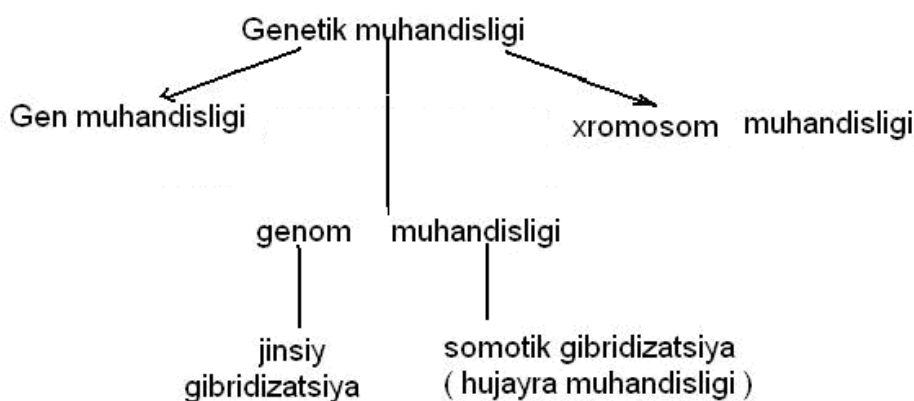
Ўсимлик ва хайвонларни сунъий чатиштирганда ота – она авлодидаги ноёб (силмотли) белгиларни наслга олишга харакат қилади. Назарий жихатдан исталган хужайрадан хромосома донори ёки реципиенти сифатида фойдаланса бўлади. Лекин амалда юқори фаолликка эга рэципиент хужайраларни олишга харакат қилинади.

Митоз босқичида хужайралардан хромосомаларни ажратиб олиш жараёни паст харорат (+4⁰ С)да олиб борилади, бунда хромосомалар диструкциясини олдини олиш мақсадида пластис полимер пипеткалардан

фойдаланилади. Хужайраларни механик парчалашдан олдин у гипотомик эритмада суспензия холига келтирилади (10^7 та хужайра \ мл), сўнгра паст хароратда ($+4^{\circ}\text{C}$) 2500 мин^{-1} да 25 дақиқа давомида цэнтрифугаланати. Донор хужайралари хромосомаларининг умумийсидан 10% хромосома ажралиб чиқади. Тозаланган хромосомаларни дархол рецепиент хужайраларга ўтказиш (трансфекция) тажрибаларида қўлланиши керак. Хромосомаларни хужайрадан метофаза даврида блоклаб хар хил усулларда олиш мумкин, шу қаторда юмшоқ таъсирга эга СФМ ёрдамида ҳам, масалан, стероид – сопонин гликозид – дигитонин бу дигитогенинни пентагликозитидир. Олигосахарид қисми гидроксил гурухлар ёрдамида агменонни C_3 атомига боғлайди, қанд қолдиг`и 1та ксилоза қолдиг`и, 2 тадан галактоза ва глюкозадан иборат.



Шундай қилиб, ген, геном ва хромосома инжэнэрлигини шундай кетма – кетликда схематик кўринишда тасвирлаш мумкин.



Генетик инжэнэрликни бундай терминологияси шартлидир, чунки рекомбинант ДНК устидаги хар хил манипуляциялар натижасини хужайралар културасида кўриш мумкин.

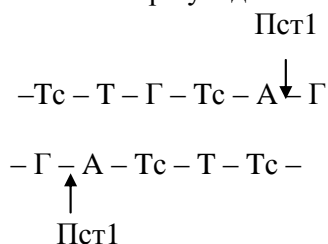
3.4. р ДНК – биотехнологияси

Келиб чиқиши турлича бўлган рекомбинант ДНК дан фойдаланилади, унинг асосини рекомбинант ДНК биотехнологияси ёки қисқача рДНК - биотехнологияси ташкил этади. Назарий жихатдан инсонни барча 50 – 200 мингта структура генларни экспериментал анализ қилишга моил, лекин инсон танасини табиатини тўла тушиниш имконини бермайди. Шундай бўлса ҳам рДНК – биотехнологияси ёрдамида турмушда, тиббиётда, хўжаликда қўлланиладиган моддаларни олишда катта истикболларни очиб бермоқда.

рДНК – биотехнологиясини қуйидаги босқичларга бўлиш мумкин: хужайрадан ДНК ни олиш, олинган ДНК ни фрагментларга (кисмларга) бўлиш ва уларни тозалаш, олинган ДНК фрагментини вектор плазмидага киритиш ва рекомбинант ДНК олиш, рДНК ни пэрмиссив хужайраларга киритиш ва генларни клонлаш, рДНК ни амплификациялаш ва экспрессиялаш.

ДНК ни олиш. ДНК ни кимёвий, ферментатив синтез қилиб ёки исталган организм вавирусдан ажратиб олиш мумкин. Агар ДНК эукариот хужайраларидан олинадиган бўлса, клонлаш, амплификациялаш ва экспрессияларга интронлар керак эмас. Шунинг учун бундай ҳолатларда сплайсинг натижасида ҳосил бўлаётган мРНК дан фойдаланилади.

34-расмдан кўриниб турибдики, дезоксицитидилни гомологлар кетма – кетлигини бирикишини терминал трансфераза катализлайди. Шундай қилиб ампинциллин ва тетрациклинга барқарор генлар сақловчи плазмида векторидан (ПБР 322) клонлашда фойдаланиш мумкин. Рестриктаза Пст I билан парчалангандан кейин (*Провидэнсиа стуртши*) бу плазмида дГ кетма – кетликдаги гомомополимэр бўлади:



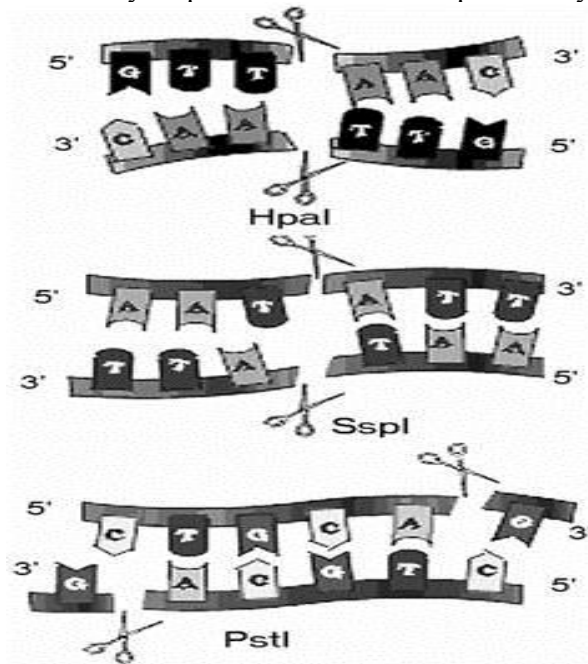
ДНК дан зарарланмаган генларни изоляциялаш учун ултратовуш ёки гидродинамик парчалашни қўллаш мумкин.

Олинган фрагментни структураси ўзига ҳослигини инобатга олган ҳолда уни *p Соли Э1* га киртилиши – дА – дТ типидеги бог` хисобиға таъминланади.

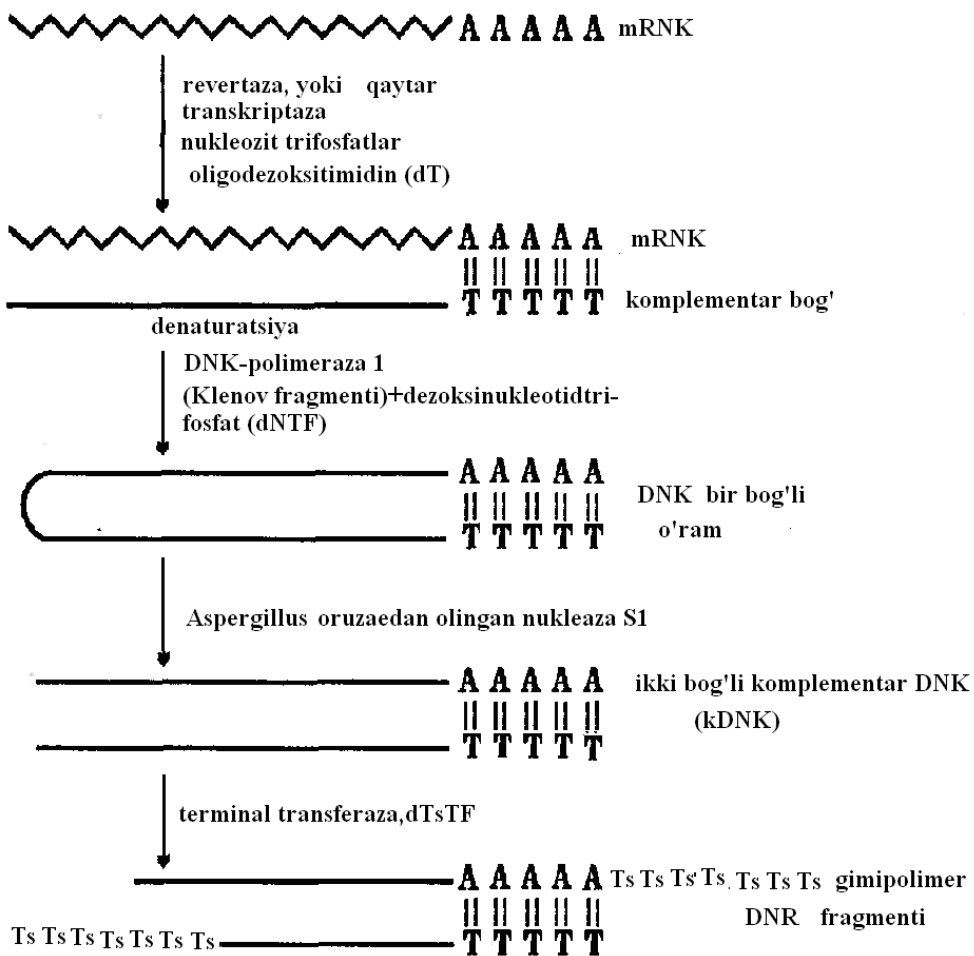
ДНК ни фрагментларга (қисмларга) бўлиш

Исталган табиий ДНК эндонуклеаза ферментлари ёрдамида “пэрчаланиши” мумкин, эндонуклеаза ферментлари ичида рестриктазалар (рестриктацион эндонуклеазалар) алохида ўрин эгаллайди. Бу ферментларни биологик роли прокариотларда хужайрага четдан кирган ДНК бўлагини гидролизлашдан иборат. Метилазалар хромосомани кўп бўўлмаган специфик сайтларидан А ёки Тс метилланиш реакциясини катализлайди, натижада метилланган ДНК рестриктазалар хужумига сезгирлиги бўлади. Метил гурухларни ташувчиси бўлиб С – аденозил Л – метионин (SAM) хисобланади.

Хозирги вақтда 500 тадан ортиқ рестриктазалар маълум бўлиб уларни кўпчилигини спецификлиги аниқланган. Кўпчилик рестриктазалар биотехнологияни охириги махсулоти сифатида ишлаб чиқарилади (Сигма (АҚШ)), Пхармасиа (Швеция), Сэрва (Германия) ва бошқа давлатларда. Бу ферментлар ДНК ни специфик қисмларини (сайтларни) ташиб ва уларни “тумтоқ” ёки “ёпишқоқ” учларини хосил қилиб парчалаш хусусиятига эга.



Formatiert: Zentriert



34 – расм. Клонлаш учун мўлжалланган мРНКдан ДНК фрагментини олиниши

Рестриктазаларни таниш кетма – кетлигини узунлигига қараб учта гуруҳга ажратилади.

1–тетрануклеотидларни танийдиган гуруҳ, масалан, *Артхробастэр лутэус*

дан олинган Алу И;

2–пэнтануклеотидларни танийдиган гуруҳ, масалан, *Э.Соли* дан олинган

Э.соРИИ;

3–гексануклеотидларни танийдиган гуруҳ, масалан, *Э.Солн* дан олинган

Э.соРИ.

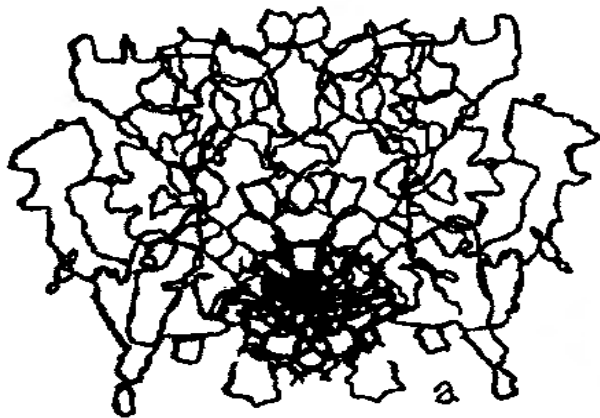
Алу И ДНК фрагментида АГ/ТсТ кетма – кетликни тўмтоқ учлар хосил қилиб парчалашни катализлайди, *Э.соРИИ* ва *Э.соРИлар* ДНК фрагментида ТсТс(А/Т) ГГ ва Г/ ААТТТс кетма – кетлигини ёпишқоқ учлар хосил қилиб парчалайди.

Хозирги вақтда рестриктазаларни РСМ– системасини ҳисобга олган ҳолда учта синфга бўлинади:

1. РСМ–рестрикция оксиллари– ДНК ни исталган жойидан турли ДНК бўлақларини хосил қилиб парчалайди;
2. метиллаш –500 га яқин тури аниқланган, рестрикция ва экиш сайтлари бир – бирига мос келади – РС ва МС, хосил бўлган бўлақлар рестриктлар деб аталади. Бу гуруҳлардаги рестриктазалар амалиётда кўпроқ қўлланилади;
3. экиш–рестриктазалар бошқа ҳамма рестриктацион эндонуклеазаларни бирлаштиради. Учинчи гуруҳ амалиётда камдан – кам ишлатилади.

Х.Смит ва Д. Нстанс таклифига кўра (1973) рестриктазаларни номенклатураси қуйидаги принцип асосида қурилади: ферментни номи харфлар ва рақамлардан ташкил топади: биринчи харф рестриктазани манъбасини авлодини билдиради, номидан кейинги иккита харф манъба ни тури номидан олинади.

Бунда рестриктазалар танийдиган нуклеотидлар кетма – кетлиги 4 – 13 гача бўлади (кўпинча 4–6 та). 35-расмда *ЭсоР И* ни ДНК билан таъсирлашуви кўрсатилган.



35-расм. *ЭсоР И* ни ДНК билан боғланиши
а – юқоридан кўриниши.

ДНК ни манбаъсига қараб ундаги парчаланадиган сайтларни сони турлича бўлади. Сайтларни парчаланиши тумтоқ учлар хосил қилган холда симметрик (масалан, АлуИ, БалИ, Дпн И ва бошқ.) бўлиши ва ёпишқоқ учлар хосил қилган холда ассиметрик (АатИИ, Асс И, ИИ, Бам ХИ ва бошқ.) бўлиши мумкин.

Рестриктазалар ДНК ни (4–нуклеотидлар–А, Г, Т,Тс; н–ДНК даги сайтларни такрорланиши) формуладан келиб чиққан холда тахминан хар 250 нуклеотидда кесади.

У ёки бу усул билан олинган ДНК бўлаклари гелларда (агарли, полиакрилоамидли-ПААГ) электрофорез усулида ажратилади, шу гел қисмларини пробиркаларда эритилиб, ДНК фенол ёрдамида экстракцияланади, сўнгра изобутанол ёрдамида концентрланади, этанолда чўктирилиб ажратиб олинган тозаланган бўлакларни тахлил қилинади. Зарурат бўлса, препаратив гел электрофорезни қўллаш мумкин. *Соэнорабидитис элэгаус* дан олинган 160 мкг ДНК дан 2 – 4 мкг ДНК бўлагини олиш мумкин.

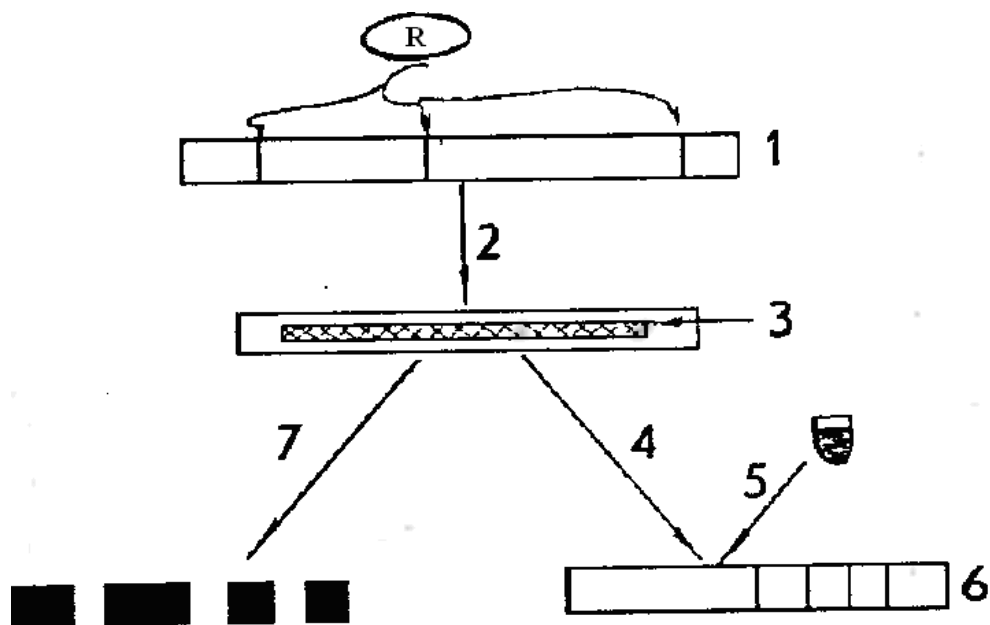
Олинган рестриктларни (айниқса ёпишқоқ учли) ДНК – лигазалар ёрдамида тикиш мумкин. Керак бўлса, ёпишқоқ учлар куйдирилади (куйдириш – бу ўзига хос комплементлар раессация бўлиб натижада икки занжирли молекулалар хосил бўлади).

Нуклеотидлар орасидаги бўшлиқда лигаза ферментлар ёрдамида хосил қилинадиган фосфодиэфир бог`лари йўқ, бу ферментлар 3¹ ва 5¹ гидроксил грухлар хисобига борадиган реакцияларни катализлайди.

ДНК бўлақларини тикиш учун линкер (лиг. Линк – боқлаш) ва адапторлардан фойдаланилади. Линкер – бу иккиламчи занжирли калта синтетик олигонуклеотид бўлиб, бир қатор рестриктазалар танийдиган сайтлар мавжэд, у ДНК учларига ёпишган бўлади.

Адаптор – бу рестриктаза танийдиган биттадан ортиқ сайт сақлайдиган линкердир ва адаптор учлари бир–бирига тўг`ри келмайдиган ДНК бўлақларини бирлаштириш хоссасига эга. ДНК рестрикцияси кейин хосил бўладиган учлари тумтоқ бўлақлар Т4 фагидан олинган ДНК – лигаза таъсирида осонликча бирикади.

Клонлаш усули индивидуал гэнларни гэнэтис матэриалдан ажратишда фойдаланилади (36-расм).



36-расм. Саузерн бўйича рестрикт аралашмаларидан ДНК фрагментларини ажратиш схэмаси

- 1–геном ДНКнинг рэстриктаза (P) ёрдамида баъзи фрагментларга парчаланиши;
- 2–агароза гэлида ДНК фрагментларининг электролизи;
- 3–диффэрэнцирланмаган ДНК доғИ;
- 4–иссиқлик натижасида бир занжирли фрагмэнтларнинг хосил бўлиши ва уларни фиксациялаш учун нитроцеллюлозали филтрга ўтказиш билан борадиган ДМК дэнатурацияси;
- 5–радиоактив зонд ёрдамида гибридизациялаш;
- 6– радиоавтография орқали гибридли кэтмакэтликни аниқлаш;
- 7–тэкширишлар учун агароза гэлдан рагменларни ажратиш.

Ген инжэнэрликда ДНК нухасини ажратиш керак. мРНК ни ва векторни нухаси нДНК бўлиб, хромосома ёки геном клонларни ўзида сақлайди. Геномни хаммасини клонлашда (шотгян – тажриба, инглизча шотгун майдалагич) қисқа нуклеотидлар кетма – кетлигини танийдиган рестриктазалар ёрдамида бўлинади. Парчалаш шундай шароитда олиб бориладики, бунда ДНК қисман рестрикцияга учрайди, хосил бўлган бўлақлар хар – хил узунликда бўлади ва бир хил кетма – кетлик билан тугайди. Генда ёпишқоқ учларни бўлиши уни клонлашда катта қулайлик яратади. Геномни бўлинган генларини клонлаш векторига терилиб

(химерлар тўплами) чегараланмаган вақт сақланиши мумкин. Бундай ДНК ни клонланган бўлакларни “геном кутубхонаси” деб аталади.

ДНК бўлагини вектор плазмидага киритилиши

Лотин тилида вектор сўзи олиб юрувчи, ташувчи, математикада – бу маълум йўналиш берилган тўғри чизикли кесимдир. “Вектор” тушунчаси молекуляр биологияда юқорида келтирилган аниқлашларни ўзига бирлаштиради ва “Клонлаш учун вектор” 1974 йилда М. Томас томонидан киритилган бўлиб, реципиент хужайрага келиб чиқиши турлича бўлган бегона ДНК ни киритиш имконини берадиган ДНК молекуласидир.

Вектор – клонлашдаги энг муҳим компонентлардан бирidir. У кўйидаги талабларга жавоб бериши керак:

- 1.Керакли миқдорда йиғиш ва ажратиш олиш енгиллиги;
- 2.Трансформант танлаб олиш учун ўзида генетик маркерларни сақлаши лозим;
- 3.Хар хил клонлаш учун керакли ДНК молекуласини ажрата олиш учун вектор ДНК сида турли рестриктазалар танийдиган бир неча сайтларни бўлиши.

Масалан, Э.Соли хужайрасида ДНК ни клонлашда иккита синф векторлардан фойдаланилади – плазмидлар ва фаглар. Бундай вектор системаларни маркер сақловчи ДНК молекуласидан яшаш ва эукариотга шу билан бирга сут эмизувчи хайвон хужайрасига киритиш мумкин бўлади.

Вектор системаларини 37 а – расмда тузулиши кўрсатилган.

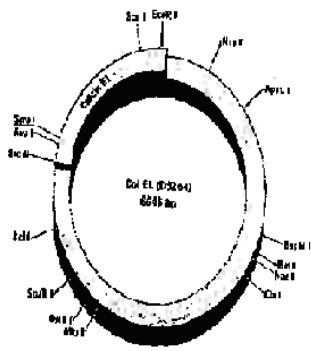
Ўсимлик вируслари ўсимлик хужайраси учун потогенлигини юқори бўлиши ва хўжайин эукариот хужайрасини хромосомасига кира олмаслиги учун вектор система сифатида кам яроқлидир. Хозирги вақтда уч хил вектор системаларни ўрганиш устида иш олиб борилмоқда. Булар икки занжирли рангли каром мазонка вируси, бир занжирли тамаки РНК – вируси, бир занжирли тилларанг ловия ДНК – вируси.

Дж. Колменс ва Б. Хон 1978 йилда космид вектор ёки сос – вектор деб аталувчи плазмида - λ фаг ДНК си вектор системасини амалиётга киритди. Бу вектор 40 – 50 минггача нж ни акценторлаши мумкин. Бунда битта геномда плазмида репликаторлари ва λ фагни сос – сайтлари биргаликда ишлайди. Космидларда фаглар ва плазмидаларга хос хусусиятлар мужассамлашган, яъни фагни бошчасида ўзини ДНК сини сақлаб ва автоном репликацияланиш хусусиятига эга. Фаг ва плазмидалар фазмидларда мужассам бўлган, бу гуруҳга космидларни ҳам киритиш мумкин.

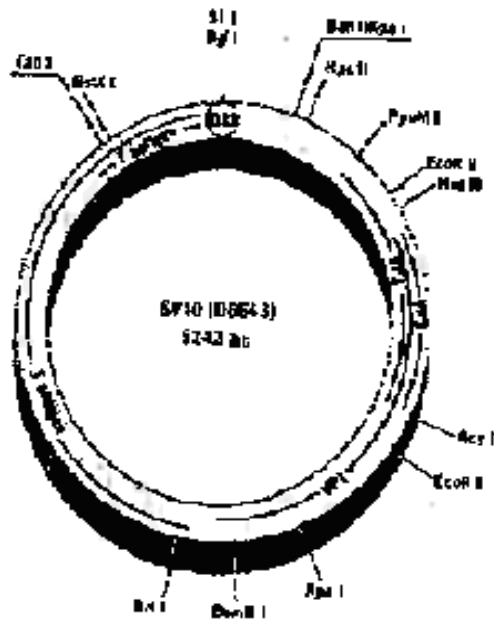
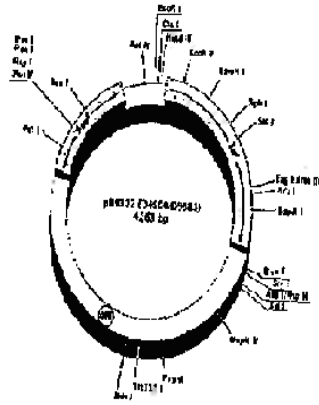
ДНК молекуласини векторга киритилиши 37 б – расмда кўрсатилган.

рДНК ни клонлаш. рДНК ни клонлаш учун пәрмиссив хужайралардан фойдаланилади (анг. Пәрмиссион –рухсат бериш). Клон бу ота – она молекуласини, ёки хужайрасини тўлиқ ўзида соқлаган молекула ёки хужайра тўпламидир.

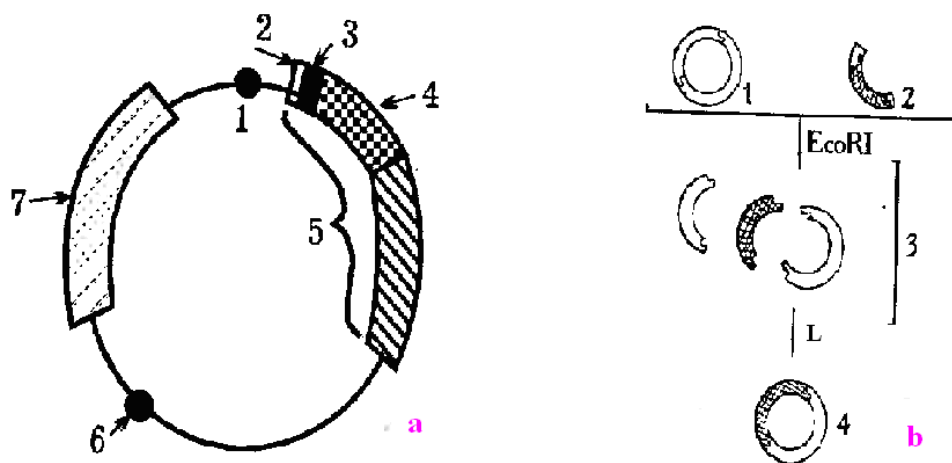
Э.Сол



ПБР322



CB40 вируси



37- расм. Плазидага гэн киритиш усули

а) Ичак таёқчаси ва маймун хужайраларининг мокига ўхшаш векторлари: 1–СВ40 нинг ори сайти; 2–СВ40 нинг промотори; 3–сигнал кэтмэ-кэтлиги; 4–кодланувчи гамма-интэрфэрон кэтмэ-кэтлиги; 5–қДНК фрагменти; 6– пБР322 нинг ори сайти; 7–ампицилинга чидамли гэн.

б) Вэктор ДНКсига бэгона гэнни киритилиш схэмаси: 1–вэстор; 2–гэн; 3–Эсол Р1 рэстриктаза таъсирида хосил бўлган рэстриктлар; Л–лигаза; 4–гибрид (химэр) ДНК.

Пэрмиссив хужайралар каторига куйидаги хоссаларга эга хужайралар киради:

1. Ўз таркибидаги ташқаридан киритилган ДНК ва РНКлар нуклеаза томонидан парчаланмайдиганлар. Бэгона ДНК ва РНК ўз нуклеазалари билан парчаланмайди.
2. векторнинг репликация механизими навоён бўлади.
3. рДНК промоторнинг ёки терминаторнинг транскрипциясини фаоллиги яққол кўринади.
4. мРНК ни тўлиқ сплайсинги амалда ўтади.
5. мРНК ни самарали трансляцияси кўринади.
6. пэптидогидролазалар фаоллиги паст бўлади ва бегона оқсилларни гидролизини тэзлашмайди, катализламайди.

Бошқача қилиб айтганда, сахарамидет агитцетлар типли эукариотлардир, шунинг учун уларда хайвонлар ва ўсимликларни генларини клонлаш осон. *С. сэвисиаэ* да 17 та хромосомаси бор бўлиб,

унда 600 тадан ортиқ генлар мавжуд. Агитцик хужайраларида керакли генни клонлашда ташувчи векторлардан тез – тез фойдаланиб турилади, бу векторлар ўзида бактерия ва агеци плазмидларини ори – сайтини сақлайди, шунинг учун бу векторлар агеци ва микроб хужайрасида ўзига репликацияланади. 37-расмда Э. Соли ва маймун хужайраларида репликацияланадиган ташувчи векторни схематик тузулиши келтирилган. Бу вектор таркибида 342 та нж дан иборат бўлиб, бу бўлаклар ўзида СВ – 40 вирусини промотори ва ори – сайтлари бор; бу бўлак (фрагмент) к ДНК бўлаги билан боғланган бу боғланиш ўзида пбр 322 бўлагини пре – ИНФ кодловчи кетма – кетлигини сақлайди. Ўзида ампициллинга резистентлик ва пбр 322 нж репликация ори(қисм) – сайтига эга.

Ачитқиларда уч хил циклик-узуксимон шаклида плазмидлар ажратиб олинган: икки ва уч микронли, митохондриял (узунлиги 24 мкм) ДНК бўлиб, биринчи иккитаси “эластик” критик қаторга киради, чунки уларни биологик ахамияти аниқланмаган. Селектив маркерлардан халос бўлганлиги учун вектор сифатида уларни ахамияти фақат замбуругларда, ҳам бактерияларда ишлайдиган хромосом генини киритгандан кейин векторлар сифатида маълум қийматга эгадир. Бу генларга аргининсукцинатлиаза, аспартат – транскарбамилаза, галактокиназа, дигидрооротатдегидрогеназа, триптофансинтаза каби ферментлар синтезига жавоб берувчи генлар киради. Ачитқи векторлари Y-гурухни ташкил қилади (анг. Yэасц – ачитқи).

Yип-векторлари- интегротив плазмидлар, унда фақат битта гэн ачитқига тэгишли қолган гэхлар бактэриаларга тэгишли.

YЭп- векторлари-эписомал плазмидлар, барқарор эмас.

YРп- векторлари – репликатив плазида бўлиб, таркибида – кетма-кетлиги деб номланган хромосома репликаторни кетма-кетликлари бор. Yрп ёрдамида олинган дрожжи трансформатлари ностабилдир.

YСп- векторлари узуксимон мини хромосомаларга ўхшаш бўлиб, дрожжи хромосомалари арс1 ва арс 2 репликаторларини сақлайди. Улар митоз ва миёзда стабил бўлиб, генлари клонлашда энг мақул хисобланади.

YЛп- векторлари чизикли мини хромосомалар бўлиб, YСп базасида қурилган. Бунинг учун узукли плазида YСп га плазмидани линеаризация йўли билан хромосома учидидаги специфик, тўг`ног`ичга ўхшаш нуклеотидларни киритилади.

Плазида ва фаглар бэгона ДНКни геномнинг инерт қисми сифатида ташиб беради, шунинг учун уларни клонлайдиган вектор ҳам дейилади. Биологик технологияда мултикопияли плазмидлар маъқулдир (1 хужайрага 10-20 та). Агарда плазида репликация таъсири остида бўлса (бактериялар кўпайиши тўхтаганда) плазмидлар сони бир хужайрага мингтагача кўпайиб кетади. Шунинг учун ҳам озуқа мухитига левомисин кўшганда плазида нусхаларини кўпайиши кузатилади.

рДНКни пермиссив хужайрага киритиш учун хар хил усуллардан фойдаланилади: трансформация, инфекция, микроинекция. рДНК оддий трансформацияда Бас. субтилис, стрэптососус пнэумониаэ, рДНКни ингибирланган системали Э.Соли хужайра деворидан ўта олади.

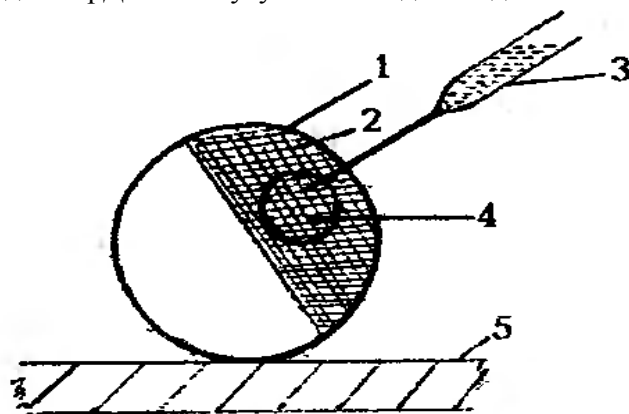
1970 йилда М.Мендел ва А.Хига бактерия ДНК фағни *Э.Соли* хужайрасига трансформациясини амалга оширади. Бу усул хозирга қадар ҳам ишлатилади. Унинг босқичлари қуйидагича:

- 1–Озуқа мухитларда бир сутка давомида оптимал хароратда кэйинчалик янги қайнатма ёрдамида 50 мартаба суюлтириш билан култураларни ўстириш ва музда совутиш;
- 2–суспензияларни цэнтрифугалаш.
3. Чўкмани совитиш.
4. Плазмидали ДНКни қўшиш.
5. 42⁰С хароратли иссиқликни 5 мин давомида таъсир эттириш.
6. Намунани 10 мартабагача суюлтириш.
7. Петри косачасида хужайраларни экиш.
8. Керакли мухитларни ажратиш ва клонни кўпайтириш.

Вектор орқали киритиш трансфекция дейилади. Алтернатив усул – эукариот вирусини ишлатиш – яъни эукариот хужайраси вирус билан касалланганда вектор сифатида эритиш қобилиятига эга (литик) вируслар СВ 40, ретровирус ва пахилломавируслардан тузилган векторлар ишлатилади.

Ўсимликларда трансформация ва инфицирлаш усуллари билан ген инженер тажрибаларини ўтказса бўлади.

Микроинъекция усули билан ДНКни хужайра ичига механик киритишда ишлатилади. Бунда сугэмизувчи ва ўсимлик хужайрасига шишали микрокапсула орқали киритилади. Бу усулни биринчи бўлиб Дж. Емерц ва Дж. Б. Гердон 1977 йилда Хепориз бақаларида кўрсатиб берган. рДНКни бақача хужайраси ичига фосфатидисерин ва холистерин (1:1) дан тайёрларган липосомалар орқали кирица бўлади. (38–расм). Масалан, ултратовуш таъсирида пБР-322 плазмидасидаги β - лактоза генини липосомага кирица бўлади. Сер озуқа мухитда рДНК ли хужайралар кўпаяди ва уларни кўп миқдори клон деб аталади. Хамма рДНКни сақловчи клонларнинг йиғиндиси “рДНК ни кутубхонаси” дейилади.

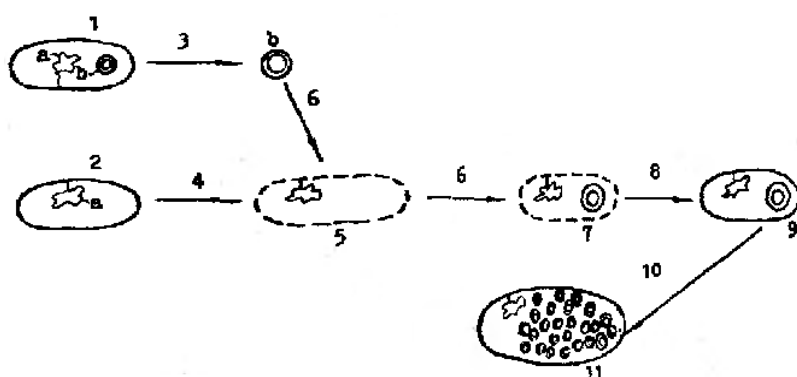


38- расм. Ооцитни ядросига микроинъекция қилиш

1– ооцит; 2– пигментланган ярим қисм; 3–микрoпипэткa; 4– ооцит ядроси; 5– Пэтри идиши учун нэйлон тўрнинг бир қисми.

3.5. Генларнинг амплификацияси ва экспрессияси

Амплификация –бу хромосомаларни қўшимча колониясидир. Кўпинча биотехнологияда узунлиги 3 мкм бўлган кичик плазмидалар ишлатилади. Бу плазмидалар конюгация пайтида ўтмайди. Улар трансмиссибилмасдир, лекин трансформация йўли билан уларни узатиши мумкин. Амплификация натижасида кўпинча бир хужайрага 10-30 нусха нотрансмиссибил плазида тоғ`ри келади. Амплификация схемаси 39- расмда келтирилган.



39 – расм. Рэципийэнт прокариот хужайрасидаги нотрансмиссибилли плазмидасининг амплификацияси

1–донор– хужайра (а–нуклеотид, б–нэтрансмиссибэлли плазида);

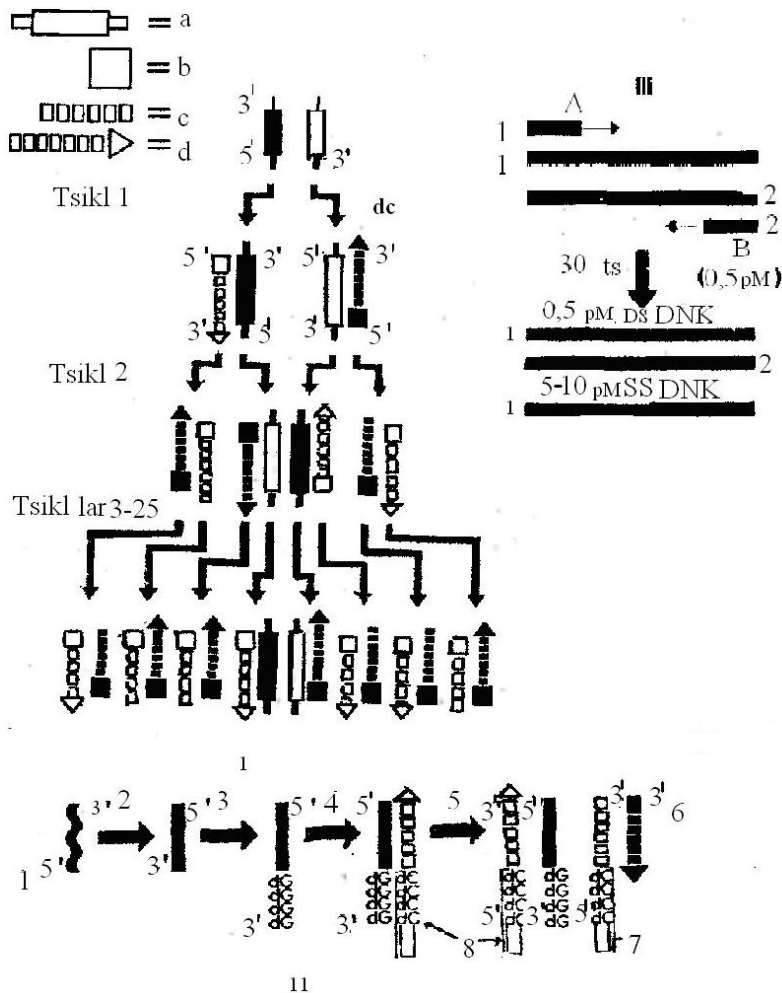
2–рэципийэнт хужайраси; 3–лизис, 4– совуқда калций хлорид эритмаси билан ишлов бэрилиши; 5– хужайра дэворлари “шишган” хужайра рэципийэнти; 6–трансформация, 8–хужайра дэворларининг рэконструкцияси; 9–хужайра-рэципийэнт, плазида сакловчи рэконструкция қилинган хужайра дэворлари; 10– плазмиданинг амплификацияси; 11–амплификация натижасида рэципийэнт хужайрада хосил бўлган плазмидалар.

Воэсии (Pwo – ДНК – полимераза), полимераза занжирли реакциянинг эффективлигини оширади. ДНК денатурациясидан сўнг хам ўз фаоллигини сақлаб қолади ва хар циклдан сўнг алмаштириш талаб қилинмайди.

Реакциянинг харорат оптимуми 70-75 °С ни ташкил қилади, бу эса ДНК нинг амплифицирланган фрагментларини қирқиш унумини оширади.

40- расмда фақатгина иккита биринчи цикл кўрсатилган. учунчи циклдан бошлаб ДНК ни ва хосил бўлган махсулотлар тақдири кўрсатилмаган. Бош занжирда хосил бўлгани учун фрагментлар арифметик прогрессия билан кўпаяди, учинчи циклни охирида пайдо бўлаётган калта фрагментлар геометрик прогрессия билан кўпаяди.

Полимераза занжирли реакциянинг камчилиги: анализ учун олинаётган нусхаларни ифлосланиши, хар бир жуфт учун алохида шароит талаб этилиши. полимераза занжирли реакция факатгина кетма-кетликларни сенвенерлиги хақидаги аниқ ахборотга тақалади.



40 – расм. Полимераза занжир реакциясининг схемаси: 1-классик кўринишда: а-ДНК нишон; б-полимераза занжирли реакциядаги проймаэр; с-янги ДНК; д-амплификация ёъналиши; д,с-дэнатурация ва синтез; лл-котирилган полимераза занжирли реакция: 1-м РНК; 2-қДНК синтези; 3-полидэзоксигуанозин учини ўстихиш; 4-котирилган полидэзоксцитидин праймэрни таёрлаш ва ДНКнинг иккинчи занжирини синтези; 5-спэцифик праймэрни кўшиш; 6-праймэр учи; 7 ва 8-котирувчи праймэр; ллл – ассимэтрик полимераза занжирли реакция: А-ортиқча проймаэр; Б-лимитланган проймаэр; ц-циклар; Дс-иккизанжирли ДНК; СС– бир занжирли ДНК;

Лекин полимэраза занжирли рэакцияни амалий ахамияти каттадир. Қайтар транскриптаза орқали ДНК ни синтезлаб, кейин уни амплификация учун матрица сифатида ишлатилади.

Агар биринчи таниш праймэр ишлатилса, у холда иккинчи праймэр суный бўлиб, гомополимэрлар “думи” га уланган бўлади. Бундай қараш лангарли полимэраза занжирли рэакция (40-расм) дейилади. Яна инвертирланган полимэраза занжирли рэакция маълум, бунда синтез қарама-қарши нўмалум зона томон боради.

1988 йил Пэркин-Элмэр Сэтус (АҚШ) фирмаси томонидан полимэраза занжирли рэакция учун автоматлаштирилган приборли техника яратилиб, у ген изланишларда жуда кўл келди. 1991 йили шу фирма томонидан полимэраза занжирли рэакция – технологияни иккинчи генерацияси яратилди (Гэн Ампл ПКТР Сйстэм 9600) ва полимэраза занжирли рэакцияни продуктивлигини “Ока” Фирмаси ўзини чет элникидан арзон бўлган юқори сезгир амплификаторини таклиф қилади.

Генларнинг функционал фаоллиги транскрипция ва трансляция харакат натижасида пайдо бўлади ва экспресс генлар деб аталади. РНК полимераза промоторга боғланиш даражаси транскрипция самарадорлиги, м-РНК нинг тургунлиги ва унинг рибосома билан алоқаси натижаси трансляция самарадорлиги дейилади.

Прокариот генлар экспрессияси промотордан чиққан махсулотларни ва ўзига ўхшаш турларга жавобгар хисобланади. Бир-биридан узоқлашган прокариот геномларига нисбатан «транскрипция-трансляция» системаси генларни кам ишлаб чиқаради ёки умуман ишлаб чиқармайди. Шунинг учун бу ерда векторлар муҳим рол ўйнайди.

Эукариот экспрессияси прокариот катакинларидан генларни ажратиб чиқармайди ёки катта қийинчилик билан ажратиб чиқаради. Эукариот генлар ядросида интронлар мавжуд, бактерияларда эса сплайинг жараёни йўқ, шунинг учун бактерия хужайраларида охириги бегона махсулотлар хосил бўлади, қоидага кўра улар фаол эмас. Бир вақтлар векторлар системасидан фойдаланилган ва полимэраза занжирли рэакция муаммоларни тез хал қилиш, боғланган р-ДНК ни ва турли реципиент катакчалар экспрессияси йўлга қўйилган.

Оқсил молекулаларини ишлаб чиқарилиш қоидага кўра генлар экспрессияси билан кузатиб борилади. Бир нечта р-ДНК аралашмада яширилган оқсилларни олишда ишлатилади. Бу хужайралар муҳим саналади, агар экспрессияси содир бўлмаса олинган махсулотни парчалашга тўғри келади ва экстрактдан керакли оқсил олинади.

Хозирги вақтда генлар экспрессияси асосида р-ДНКнинг бактерия ва ачитқи штаммларини ишлаб чиқаришни бажара олиши мумкин. Соматотропин, интерферон ва бошқа олинган штаммлар – бир нечта махсулотлар. Олинган бактериялар тошқўмирни олтингугуртдан тозалаш ва уни суюқлик ва иссиқ газ холатига келтиришни амалга оширади. Фитобиотехнологияда ўсимликларни чапиштириш натижасида юқори

калорияли ва озуқа ахамиятига эга бўлган ўсимликлар яратилади. Бироқ, зообиотехнологияда хайвонот дунёси учун ген инженерияси ишлари муҳим ахамиятга эга.

Реципиент хужайра клонлари донорли хромосомани материалдан таркиб топган, ёки трансгенлар кенг диапазонда сонига қараб ажратилган ва агар клонланган генларнинг функционал фаоллиги ва регуляцияси бутун организмда ўрганилса бу организм транс-ген организм дейилади.

XX-XXI асрларда транс-ген хайвонларнинг олиниши олиб борилмаган, бугунги кунда Эдинбургдаги (Буюк Британия) қўйларга инсоннинг бир қанча генлари киритилганлиги ҳақида ахборотлар мавжуд. Умуртқали хайвонларнинг ген хужайраларига гармон генлари озроқ ёғга аралаштирилган ҳолда киритилганда, уларни тез ўлишига сабаб бўлган. Биологик технологияда яхши натижалар олиш учун ген инженериясидаги қатор тажрибалар ўтказилган. Генлар ривожланиши билан "оқсил инженерияси" катта ахамият касб этиб бормоқда ва унга ген инженерияси катта ахамиятга ва унинг асосида ген инженериясиётади. Оқсил инженерияси "Биологик технология" илмининг усули ҳисобланади. Барча кўрсатмалар фермент структурасидаги бош звеноларни ўрганиш, аниқлаш (нима учун улар шу ҳолда фаолият кўрсатади, бошқача эмас), табиий оқсиллар кўринишини ўзгаришини ўрганиш, уларни қайта лойихалаш, генотип таъсирида фенотип ўрганиш учун йўналтирилган.

Табиий оқсиллар ўзининг табиий кўринишига эга – бу чўзинчоқ, ўзига хос эгилган ёки буралган структуралардир. Шунинг учун оқсил инженериясига бағ`ишланган илмий адабиётларда "архитектура дизайни" деган терминини учратиш мумкин. Оқсил инженерияси ҳар доим ҳам табиий ва рекомбинант ген маҳсулотларига асосланган бўлади.

Шундай қилиб, клонлаш ва ген экспрессия босқичлари кетма кетлиги қуйидаги тартибда кетади:

1. Хромосомани саралаш (автоматлаштирилган ҳолда бўлиши мумкин) ва ДНК ни олиш (фақат ДНКни ажратиб олиш, масалан, прокариотик хужайрадан);
2. ДНКни векторга киритиш (плазмидали);
3. Трансформация (трансфекция, инфекция, инъекция);
4. Хужайра клонини топиш ва йиғ`иш (клонлаш);
5. р-ДНК ни ажратиш (плазмидалар);
6. Клонланган рДНК фрагментидаги нуклеотид кетма кетликни аниқлаш (автоматлаштирилган ҳолда бўлиши мумкин);
7. Плазида функцияларини экспрессиялаш учун уни конструкциялаш ва тузуши;
8. Трансформация;
9. Клонни аниқлаш ва йиғиш;
10. Плазмидани ажратиш;
11. р-ДНКдаги нуклеотид кетма кетликни текшириш (автоматлаштирилган ҳолда бўлиши мумкин);

12. Трансформация;
13. Таъсирлашувчи оксил предметида ўсимликни (културани ўстириш);
14. Оксилни ажратиш;

р-ДНК биотехнологиясининг инсон жамиятидаги тутган ўрни

Ерда ўсувчи аҳоли мухити ва экология муаммоларда р-ДНК биотехнологиянинг тутган ўрни ва роли инсоннинг оксилга, турли дори дармонга бўлган эҳтиёжи орқали ирсий касалликларни бартараф этиш белгиланади.

Умум-илмий режада асосий бўлган изланишлар қуйидагилардан иборат:

- а) турлар ўртасида генетик маълумотни кўчириш жараёни ва хужайра функциясининг механизмини ёритиб бериш;
- б) янги мавжудотлар – химер ва янги организм, монстрларни яратиш усуллари ва йўллари;
- с) инсондан то турли мавжудотлар эволюцияси.

3.6. Организм ўзгарувчанлиги ва унинг биотехнологиядаги роли

Ҳилдан-йилга турли организмларнинг атроф-мухит билан алоқаси борган сари мураккаблашиб бормоқда-аҳоли сони ўсиб бормоқда ва йернинг ресурслари тугаб бормоқда. Аллақачон бугунги кунда биосферани ифлослантирувчи моддалар микдори ҳисобдаги қийматдан ошиб кетди. Маълумотларга кўра, табиатни ифлослантирувчилар ичида биринчи ўринни пестицидлар (лотинча пәстис-зараркунанда, саэдо-ўлдириш), иккинчиси оғир металллар эгаллар экан. 1985 йилдан 1990 йилгача бўлган даврда кимё саноати йилга 250 минг тонна кўп маҳсулот ишлаб чиқарди. Ундан 30 % атроф-мухитга тушади.

Инсонларнинг атом электр станцияларига нисбатан кескин салбий муносабатда бўлишларига қарамай, термоядро энергияни танлаш кўриб чиқилмаяпти. Термоядро энергияси ген инженерияси билан биргаликда планетамиз инсонларининг яшашини узоқ вақтгача таминлаш мумкин.

Иккинчи тарафдан, жамиятда ядро изотоми ролининг ўсиши натижасида кўнгилдагидек қутилмаган мутацияларининг (лотинча мутарэ-айланиш) пайдо бўлишига олиб келмоқда.

Буларнинг ҳаммаси организмларнинг ўзгариб кетишида ўз ифодасини топади.

Улардан айримлари биотехнологияда қўлланилади. Мавжуд бўлган тирик организмлар орасида янги белгилари билан фарқ қилувчи организмларга ўзгарувчанлик тушунчаси қўлланилади. Ўзгарувчанликнинг уч хил тури – модификация, давомли модификация, мутация мавжуд бўлиб, биотехнологияда мутацион ўзгариш катта аҳамиятга эга. ҳосил бўлган мутантлар ҳозирги кунда антибиотиклар амина кислота, фермент ва бошқа маҳсулотларни ишлаб чиқаришда кўп ишлатилади.

Давомли модификация прокариот ва эукариот хужайра формаларига хос. Бунда хужайра гепоти ўзгармай қолади. Ташқи мухитга боғ`лиг` бўлган холда барқарор метоболик циклни хосил қилувчи ўзгарган фенотин эса хужайра ичидаги мухитда автоном холатда бўлиб қолади. Кўп карралик цитоплазманинг суёблишининг холати юзага келади ва юқоридаги метоболик цикл йўқолганда она хужайранинг дастлабки метоболити куйи чегара бўлиб қолади.

Организмдаги, фенотипик генотинни хусусияти унга белгиланган шароити бўйича аниқланади.

Бундай холат бошқа мухит яратишда ҳам кузатилади: давомли модификация холатидан хужайра асли холатига қайтади (фенотин). Шундай қилиб, юзага келувчи ва ёқолиб борувчи модификацияда озикланувчи мухитда бир хил генотип хужайраларининг бир томонлама ўзгариши кузатилади.

Берилган шароитда генотин хусусиятларини организмнинг фенотин кўринишлари ифодалаб беради. Шунинг учун адаптацияни ҳам конкрет бор шароитда хужайраларнинг (ўсимлик, организм) ўзгариши деб аниқлаш мумкин.

Мутацияда генотин ёки хужайранинг (организмнинг) ирсий қонуниятлари ўзгаради. Мутация бошқарувчи (индуцирланган) ва бошқарилмайдиган бўлади. Бошқарилмайдиган мутация турли организмларда битта генерация учун $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ частотада кетади. Яни битта генерацияда йўналтирилмаган холда 100 000 ёки 10^6 хужайрадан биттаси ўзгаради. Бошқарувчи мутация частотаси ўн минг баробар ўсади.

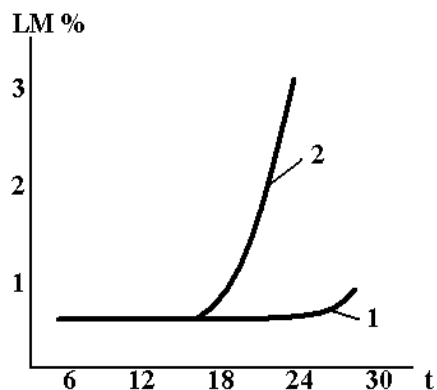
Мутацияни юзага келтирувчи омиллар физик, кимёвий ва биологик разрядга таълуқли бўлиб, улар мутагенлар деб аталади.

Тасир этишга қараб мутагенлар икки синфга бўлинади: -тўғ`ри (нуклиен кислоталарга) ва тесқари.

Ацетон ва бутанол биосинтези (ФДФ йўл билан Эмбден – Мейергоф - Парнас усули бўйича) мухитининг пХ га боғ`лиқ – киичик қийматда ацетон – Ац Ко А нинг ацетонга трансформациясида қатнашувчи ферментлар фаолланади.

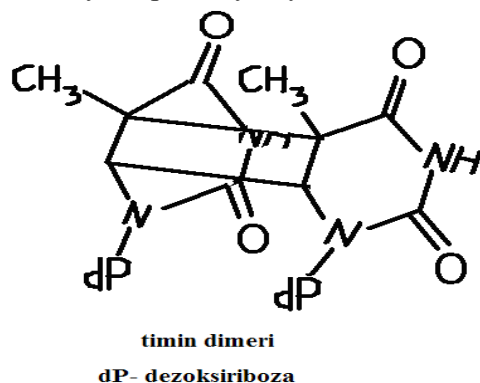
Физикавий мутаген сифатида юқори ёки паст харорат, турли кўринишдаги нурланиш (ултрабинафша, ионланиш), ултратовуш. Хужайрага харорат таъсир қилинганда ДНК таркибидаги энг тург`ун моддалари пурин хосил алари хисобланиб, натижада апурин сайтлари келиб чикади (ДНК дан пуринларни ажралиши). «хароратли шок» турли хужайраларда сезиларли даражада ўзгартириш хусусиятига эгадир – метал ва кўринадиган мутацияларнинг частотаси ўсади. Маълумки, белгиланган организм учун чегарадан юқори харорат таъсирида гомоётерм турдаги (доимий тана хароратига эга) хужайраларда пойкилоторм турдаги хужайраларга қараганда кучлироқ сезилади яъни уларда тана харорати атроф мухитга боғ`лиқ (грекча сўзидан омоиос – бир хил, ўхшаш, поикилос – турли хил, тэрнэ - иссиқлик).

Маълум харорат узоқ вақт давомида таъсир этирилганида метал мутацияларда «хароратли шок» натижасида пайдо бўладиган мутациялардан ҳам фарқланади (2-график), хароратга сезгир мутантлар турли организмларни генетикасини ўрганишда асосий қурол ҳисобланади.



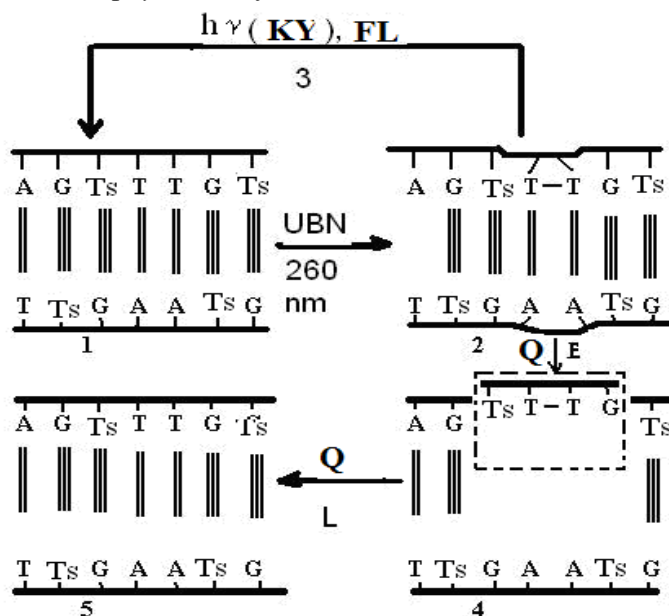
2 – график. Харорат таъсирида (t°) дрозофилларда летал мутациялар (ЛМ) частотаси
1–X-хромосома; 2–II-хромосома.

Ултарбинафша нурлар (УБН) ионли нурланишидан кўра узун тўлқин узунлигига эга бўлиб, кичик энергияга эга. Уларни мутагенли таъсирини А.А. Промптов 1931 йилда очган УБН ни тўлқин узунлиги 260 нм бўлганда ДНК томонидан ютилади, бунда ДНКни комплемент иплари орасида водород боғлари узулади ва ёнида жойлашган тимин асослари ковалентли боғланган димер ҳосил қилади, уни реакциясини тўхтатади. Ядро бўлиниш хусусиятини йўқотади ва хужайра нобуд бўлади.



Мутацияланган хужайраларда УБН асосан ички ген ўзгаришини келтириб чиқаради. Нуклеин асосларга таъсир қиладиган мутациялар кўпинча трансверсия турига таълуқли. Тиминли димерлар ҳосил бўлишида хужайралар ферментларни компенсаторли равишда протутирлайди у билан комплекс ҳосил қилади ва ДНК ни бошлангич структурасини тиклашда

қайтарилиш реакцияларини катализлайди. Фақатгина битта фермент ДНК билан комплексдан ажраламаган холда (бу ерда у нофаол) кўринадиган ёруғ`лик таъсирида фаол шаклда ажралади ва узилган ДНК ни (фотолиаза + х₁) тикланиш реакциясини қайта катализлайди. Бундан, УБН ли мутагенли таъсири олинган бўлиши ёки кўринарли ёруғ`лик таъсирида камайтирилган бўлиши мумкин. (41–расм). Кўриниб турибдики, УБН барча генларга таъсир қилади, шунинг учун бундай мутагенезни мохияти охиригача ечилган ҳисобланади. Ундан ташқари организмда УБНларга чидамлилари, масалан, *Салмонэлла тйпхимуриум* мавжуд.



41 – расм. Кўринувчи ёруғ`лик таъсирида УБН билан нурланган хужайрада ДНК репарацияси
 1–бошланг`ич ДНК; 2–тимин димерини ҳосил бўлиши; 3– кўринарли ёруғ`лик (КҮ)ва фотолиаза (ФЛ) ферменти таъсирида фоторефаолашихс; 4–тимин димеридан ажратилган ДНК – қоронг`ида борадиган (К) ферментатив реакция (Э); 5– қоронг`уликда лигаза иштирокида ДНК ресинтезланган майдони (бўлаги).

УБНларга қараганда тезлиги катта электронларни, позитронларни, протонларни, X – заррачаларни, нейтронларни, рентгэн ва нурларни ионланадиган турларига киритилади, яъни уларни бирламчи биологик таъсирида ионзация билан юқори эукариот хужайралар билан бог`лиқликда, иккиламчи самара молекулаларни иссиқлик таъсирида кўзг`алишидир.

Натижада оксидланиш ёки ДНК (РНК) молекулаларига энергия узатилиши содир бўлади. Эркин радикал жараёнлари асосларнинг

дезаминланиши ёки дезоксидланиши, асослар ва пентоза орасидаги Н-гликозид бог`ларнинг узулиши, пиримидинларнинг дистрикцияси (бузулиши), пирозанинг оксидланиши, пирофосфатнинг ажралиб чиқиши билан яқунланиши мумкин. Мана шунинг учун ҳам нурланишлар турли мутацияларни келтириб чиқариши мумкин. Масалан, традесканциядаги эгизак хроматидларнинг бир вақтда отилиб чиқиши 0.99– нейтронлар (Ли+Д) учун; 2.1– α - заррачалар учун (родон); 3.02– иссиқлик нейтронлари учун; 0.27; 0.26 ва 0.44– рентген нурлари учун мос холда тўлқин узунликлари 0.015 нм, 0.15 нм ва 0.41 нм ташкил қилди (100 та хужайра г миқдорга мос келувчи, отилиб чиқишлар сони бўйича). УБН ва ионловчи нурланишлар мослиги 12 –жадвалда келтирилган.

Ультратовуш тебранишлар (частотаси $2 \cdot 10^4$ герцдан юқори бўлган акустик тебранишлар) ни ҳисобга олган холда шунни айтиш мумкинки, уларнинг таъсирида аввал пиримидинлар, кейин эса пуринларда ўзгаришлар кузатилади.

Хар йили бутун дунёда 250 мингдан кам бўлмаган кўпчилик қисми (асосан, юқори миқёсдаги ишлаб чиқаришда) атроф-муҳитга чиқувчи (тушувчи) янги кимёвий моддалар синтез қилиб олинади. Инсонзоднинг тахминан 10% и хавфли мутаген ва токсик (захарли) бўлган кимёвий бирикмалар таъсирига дучор бўлиши ҳисоблаб чиқилган.

Кимёвий мутагенезнинг вужудга келиши ва ривожланишидаги илмий ишлар В.В. Сахаров (1933), М.Е. Лобашёв (1934), И.А. Рапопорта (1938) ва қатор хорижий олимлар: Ш. Ауэрбах (1940), Вестергаард (1959), Мандел ва Гринберг (1960) ва бошқаларнинг изланишлари билан бог`лиқ. 1966 йилда И.А. Рапорт ўта юқори мутагенлик даражасига эга бўлган ва шу билан бирга хужайра ва организм ҳаётчанлигига сезиларли таъсир қилмайдиган моддалар учун “супермутагенлар” терминини таклиф қилди.

12 - жадвал

Электромагнит спектр қисмларининг баъзи бир таснифлари

Диапазон номи	Тўлқин узунлиги, нм	Частотаси, гц	Квант энергияси, эв
Инфрақизил нурланишнинг узоқ соҳаси	$3 \cdot 10^5$	10^{12}	–
Инфрақизил диапазон (770 дан $4 \cdot 10^5$ нм)	$3 \cdot 10^4$	10^{13}	–
Инфрақизил	$3 \cdot 10^3$	10^{14}	1
Кўринувчи ёруғ`лик (390 дан 770 нм)	$3 \cdot 10^2$	10^{15}	10
Ультрабинафша диапазон (13,6 дан 390 нм)	30	10^{16}	10^2
Юмшоқ рентген нурлари	3	10^{17}	10^3
Ўртача рентген нурлари	0,3	10^{18}	10^4
Қаттиқ рентген нурлари	0,03	10^{19}	10^5

Қаттиқ рентген нурлари ва γ-нурлари	0,003 0,0003 0,00003	10 ²⁰ 10 ²¹ 10 ²³	10 ⁶ 10 ⁷ 10 ⁸
--	----------------------------	--	---

Кимёвий мутагенлар сирасига – нуклеин кислоталар (НК) синтезидаги ингибиторлар, азотли асос аналоглари, алкилловчи бирикмалар, оксидловчилар, қайтарувчилар, эркин радикаллар, акридин бўёқлари, айрим антибиотиклар киради (13- жадвал).

13-жадвалдан кўринадики, НК ўтмишдошлари синтези ингибиторлари орасида антиметаболитлар мавжуд (азогуанидин, 5-аминоурацил, 6-мэркотопурин, 5-фтор– дэзоксиуридин). Хужайралардаги мавжуд нуклеозидлар ёки ташқаридан қўшиладиган нуклеозидлар айтилган моддаларнинг мутагэн эффэктини пасайтирувчи антимутагэнлар ролини бажаради.

5-аминоурацил урицил аналоги мисолида мутагэн та`сирида мутацияланган Хужайранирэрликациялашнинг икки циклидан сўнг 50% авлодининг райдо бўлиши йўлини кўрсатиш мумкин. 5-аминоурацил кимёвий тузулишига кўра тиминга яқиндир ва шунинг учун адэнинэ билан осон комплэксланади.

13-жадвал

Баъзи бир кимёвий мутаген ва супермутагенлар

Гурух	Мутаген	Супер мутагэн	Кимёвий тузулиши бўйича
1	2	3	4
НК хосилалари ни синтезловчи ингибиторлар	Азасерин	-	Диазобирикма
	Азогуанидин	-	Пурин
	2-Амино-6-гидроксиламинопурин (АГАП)	-	Пурин
	Бензимидазол	-	Бензимидазол
	5-Бромурацил	-	Пиримидин
	2,6-Диаминопурин	-	Пурин
	Гидразиноурацил	-	Пиримидин
	Н-6-Гидроксиламинопурин (ГАП)	-	Пурин
	Кофеин	-	Пурин
	6-Меркаптопурин	-	Пурин
	Параксантин	-	Пурин
	Тетраметил карбамит кислота	+	Карбамин кислота

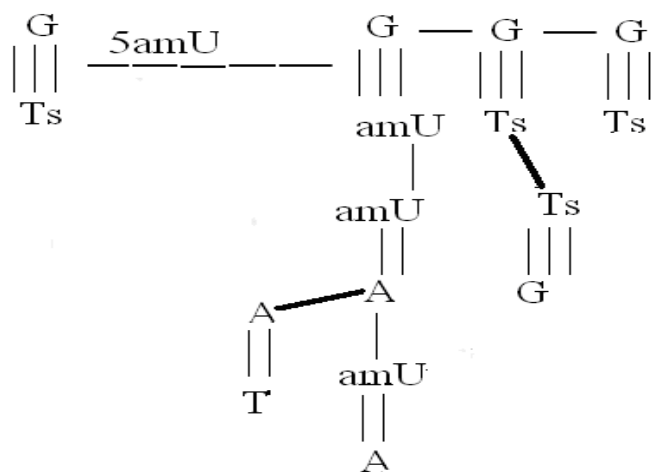
Алкилловчи бирикмалар	Уретан	-	Пиримидин
	5-Фтордезок-сиуридин	+	Карбамин кислота
	Этил-уретан	-	Пурин
	8-Этоксикофеин	-	Диазобирикма
	Азасерин	+	Фуран хосилалари
	Афлатоксин В ₁	+	Диазоалкан
	1,4-Бис-диазоцетил-бутан (ДАБ)	-	Хлорэтилсулфид
	Бутилхлорэтилсулфид	-	Эпоксид
	Глицидол	-	Диалкилсулфат
	Диметилсулфат	+	Н-алмашинган бирикма
	Диэтилнитрозамин	-	Эпоксид
	Диэпоксибутан	+	Алкан
	Диэтилоксибутан	-	Диалкилсулфат
	Диэтилсулфат	+	Хлорэтилсулфид
Иприт	+	Хлорэтилсулфид	
Н-Метил-бис/хлорэтиламин(иприт аналог)	-	Алкилалкансулфонат	
Метилметансулфонат	+	Нитрозоалмашинган бирикма	
Н-мэтил-Н-нитро-Н-нитрозогуанидин			
	Митомицин С	-	Антибитик
	Н-нитрозо-Н- мэтилуретан	+	Диазобирикма
	Н- нитрозо-Н-этил карбомит(мочэвина)	+	Н-Нитрозоалмашинган бирикма
	Нитрозометилоксиамид	+	Н-Нитрозоалмашинган бирикма
	Пропиленоксид	-	Эпоксид
	β-Пропиолактан	-	Лактон
	Фенол (карбол кислота)	-	Фенол
	Формалдегид	-	Алдегид
Эпихлоргидрин	-	Эпоксид	
Оксидловчилар	Нитрай кислота	-	Кислота
	Гидроксиламин	-	Амин
	Водород диоксид	-	Перэкис
ДНК ипларини узайтирувчилар	Акридин оранж	-	Акридинли бўёк
	Этиди бромит	-	Изохинолин
	Профлавин	-	хосилалари Акридинли бўёк

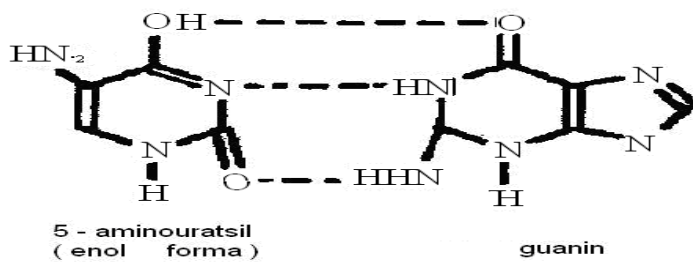
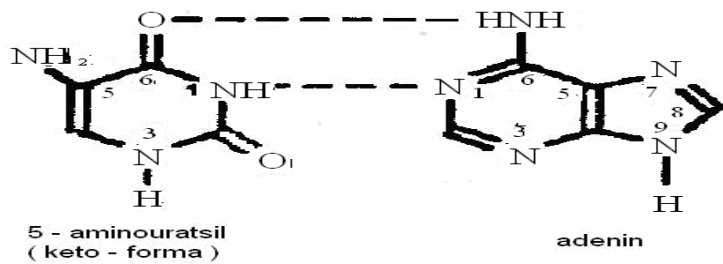
РНК синтезининг ингибиторлари	Актиномицинлар	-	Антибиотиклар
ДНКга комп лекс таъсири	Х, ОХ Стрептомицин, гигромицин В ва б.	- -	Эркин радикаллар Антибиотиклар

5-амино-урацилнинг кэто-шакли унинг йэнол шаклига қараганда анча барқарордир, бироқ йэнол шакли гуанинэ билан жуфтлашиши (қўшилиши) мумкин бўлган вақт давомида хосил бўлади ва мавжуд бўлади- бу уланиш хатоси дэйилади. У холда Г-Тс жуфт ўрнига А-г жуфт ёки А-5амино-У (А-ан У) пайдо бўлади. Шунга ўхшаш холат 5-бромурацил (5-БУ) дан фойдаланганда вужудга кэлиши мумкин ва мутантлар сонига қўшилиши бир қаррали бўлади. Бу мутагэннинг та`сир кўрсатиш нишонирибонуклеотидрэдуктоз фэрментидир.

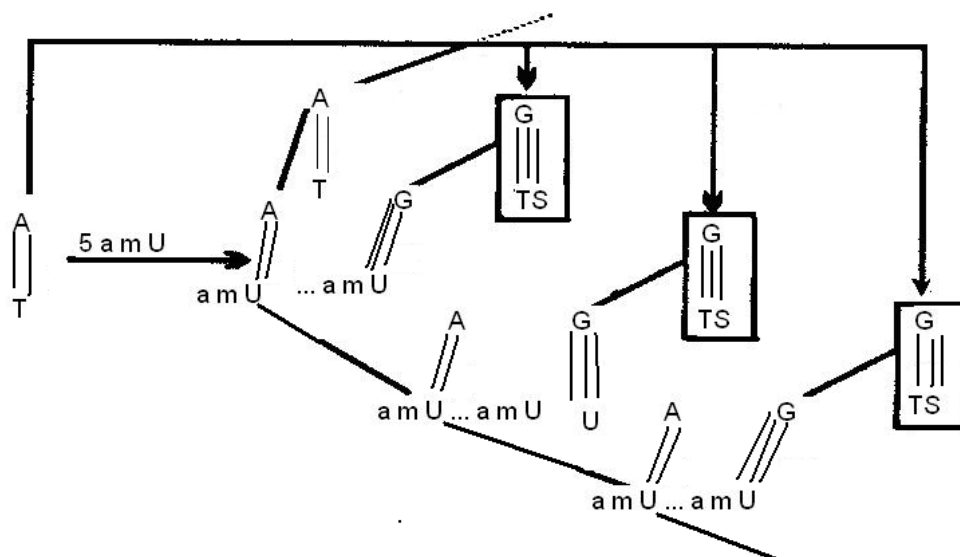
Бунга ўхшаш мутациялар унча катта бўлмаган частота билан юз бэради, чунки улар йэнол шаклидаги нуклэин асоснинг аналогли мавжуд бўлиши вақтига тўла бог`лик бўлади (бу вақт одатда, унча кўп эмас).

Жуфтларнинг комплэмэнтарлигидаги силжиш ёки рэпликация хатоси бошқа схэма бўйича хам содир бўлиши мумкин.





Бу йэрда мутация 5амино У (ёки БУ)ни ўз ичига олган ДНК рэрликациясининг охиригача сақланади ва мутацияларнинг умумий сони рэрликациялар сони ортиши билан ортади.

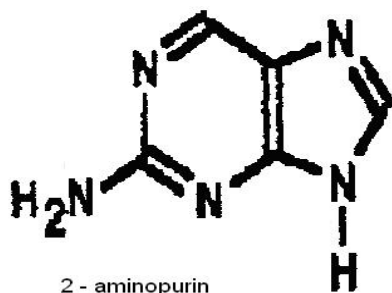


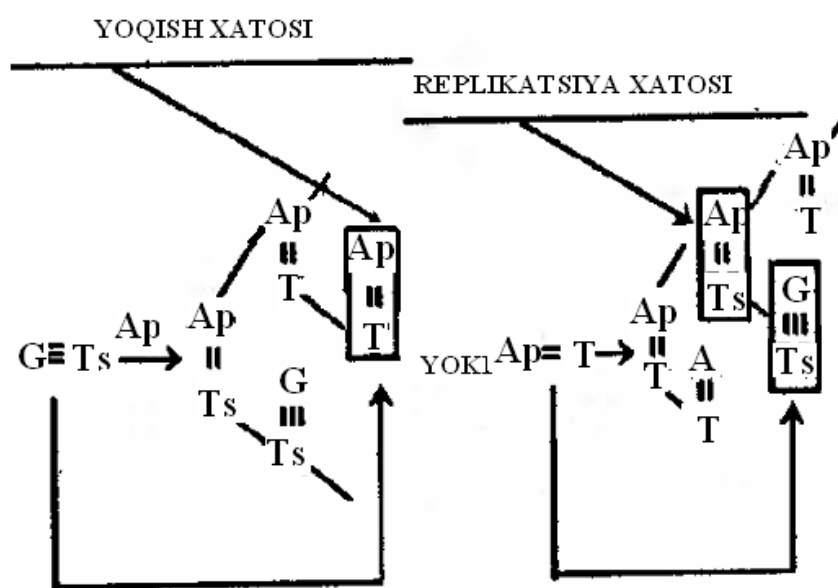
Бундай мутагэн эффэктини НК нинг бошқа аналоглари хам кўрсатади, масалан, 6 мэркапто яъни 6 аминопуриннинг мутагэн таъсири бактерияларда ва бактэриофагларда намоён болади, у цианофагларда мэбёрида бўлса хам нуклэин кислоталарнинг азотли асослари аналоглари бўладиган 2-аминопурин (Ap) уланиш хатосини индукциялайди. Иккала холда хам транзиция туридаги мутациялар юз бэрди.(к). Ар шунингдэк, жуда кам бўлса хам, трансвэрзий туридаги мутацияларни вужудга кэлтириши мумкин. Асоси азотли барча аналоглар учун оддой алмаштириш туридаги тўғри ва тэскари мутациялар хосдир., масалан, А-Т ва Тс ёки Тс-Г, Т-А га (бу йёрда тэскари мутациялар А-Тга ва А-Т эса Г-Тс га алмастирилади.

Азасэрин икки кичик гурухга тэгишли бўлади (13-жадвалга қаранг). Унинг мутагэн эффэктини диазо пуринлари биосинтэзининг бузулиши билан ва радиомимэтик хоссалар билан (грэкча мимусос — имитасияловчи) боғлашади.

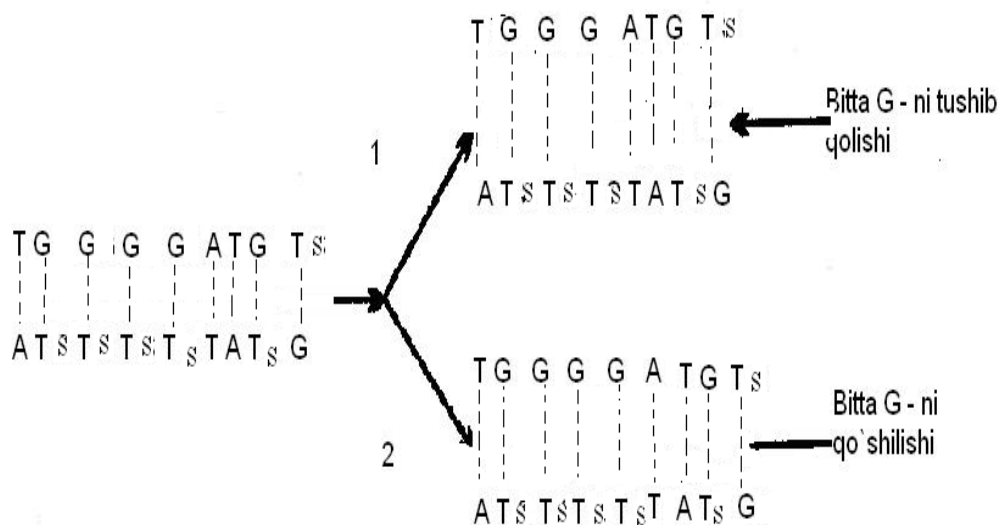
Б₁ афлатоксини ДНК ни ўқиш рамкасини силжишини вужудга кэлтиради. Буни куйидаги мисолда кўрсатиш мумкин:

Б₁ афлатоксинни ДНКни ўқишрамкасини силжишини вужудга кэлтиради. Буни куйидаги мисолда кўрсатиш мумкин.





Супэрмутагэнлар кўпинча икки ёлда вужудга кэладиган мутацияларга олиб кэлади. Кўп миқдордаги кофэин бэвосита мутагэн эффэктини вужудга кэлтириб, хромосомаларнинг узулишини юзага кэлтиради, масалан, дрозифил, инсон ва бошка эукариот хужайраларида. Оз консэнтрасияларда у рэаксияловчи фэрмэнтларни ингибирлаб, радиасияли синэргист сифатида таъсир кўрсатади.



Нуклеин кислотани алкиллаш асосида ДНК да шакар фосфатли узулиш билан декуринизация; алкилловчи агентларнинг аделинли, си-идилли ва тимидилли кислоталар билан кэйинчалик алкилланган А, Тс ва Т ларнинг комплэмэнтар асослар билан кўшилиши қобилиятини ёқотиб ўзаро таъсирлашиш; НК нинг фосфат гурухлари билан ўзаро таъсирлашиши; алкилловчи агентнинг икки функционал гурухининг НК нинг нуклеофил гурухлари билан ўзаро таъсирлашиши каби рэаксиялар бўлади. Масалан, бирор алкилловчи агент таъсирида ДНК дан гуанинни ёқотиш холида ўзгаришларнинг турлича вариантлари намоён бўлади:

Дастлабки жуфт $G \equiv Tc$ ни тиклаш, унинг тушиб қолиши, $G \equiv Tc$ ни $T=A$ га ёки $Tc \equiv T$ га алмаштириш, $G \equiv Tc$ ни $A=T$ га оддий алмаштириш.

Халок этувчи мутацияларнинг 24% гача вужудга кэлтирувчи супэрмулагэнларни асосан алкилловчи агентлар гурухига киритадилар. Бу гурух куйидаги кичик гурухларга бўлинади:

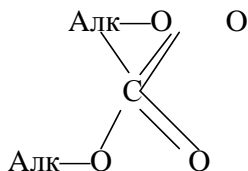
1. Мэталлорганик бирикмалар $R-Mэ$, бу йэрда R — органик радикал, масалан, мэтилланган симоб.
2. Галоид алкиллар (Алк) — $(nX_{2n+1})R$; бу йэрда R — фтор, хлор, бром, ёд; масалан, 1, 2-дихлоэтан, 1,2-дибромэтан, 1,3-дихлорпропан.
3. Этилэн хосилалари $(CX_2=CX-R)$, бу йэрда R — азот икки оксиди, олтингугурт икки оксиди ва бошқ.); масалан, акрилоилэтилэнимин;
4. Алдэгидлар $R-COX$, бу йэрда $R=X$, $(CX_2-CX-$ ва бошқ.); масалан, формалдэгид, акролэин.
5. Урэтанлар $(X_2NCOOAlk)$; масалан, этил-урэтан.

6. Диазоалканлар (Алк=Н⁺=Н⁻); масалан, диазосирка эфири, диазомэтан, 1, 4-бисдиазоацэтилбутан.

7. Нитрозоалмашган бирикмалар (ОН—N⁺—P₁—R₂) бу йэрда Р₁-Х, Алк, Р₂-

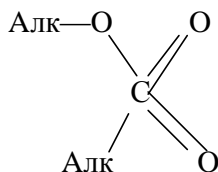
Алк, урэтан, мочэвина, гуанидин қолдиқлари); масалан, нитрозомэтилурэтан, нитрозогуанидин, нитрозоалкилмочэвина.

8. Диалкилсулфатлар

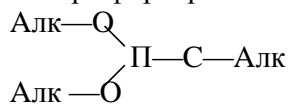
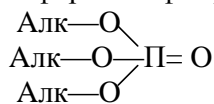


Масалан, димэтил- ва диэтилсулфатлар.

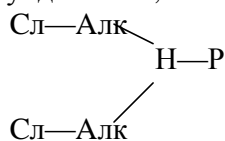
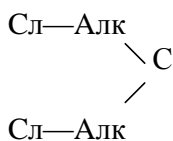
9. Алкилалкансулфонатлар (сулфон кислота эфирлари умумий формуласи билан, масалан, мэтилмэтансулфонат ва этилмэтансулфонат).



10. Фосфорли ва фосфоритли кислоталар эфирлари

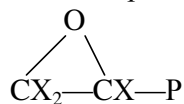


11. Умумий формулали β-хлорэтилсулфидлар (ипритлар) ва уларнинг азотли аналоглари, бунда Р=Х, Алк ва бошқ.



Р=Х, Алк

12. Эпоксидлар

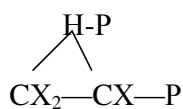


Р=Х, Алк ва бошқ., масалан, этилэноксид.

13. Лактонлар (СХ₂)_н—С=О масалан, β-пропиолэктон.

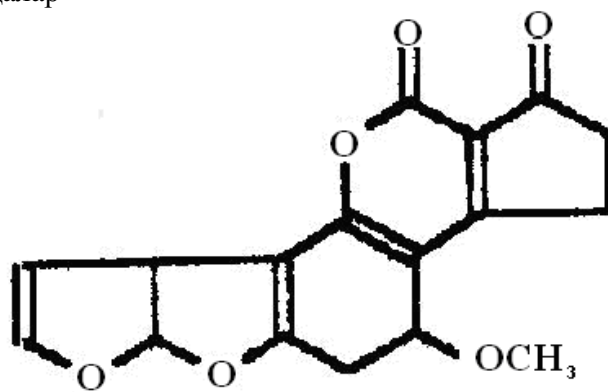


14. Этилэниминлар, бу йэрда Р—Алк, Н ва бошқ.



15. Фураннинг хосиллари, масалан, афлатоксин B₁, хлорбэнзфуран ва бошқ.

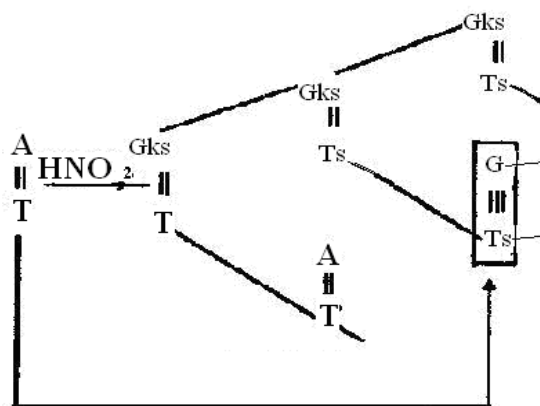
16. Бошқалар



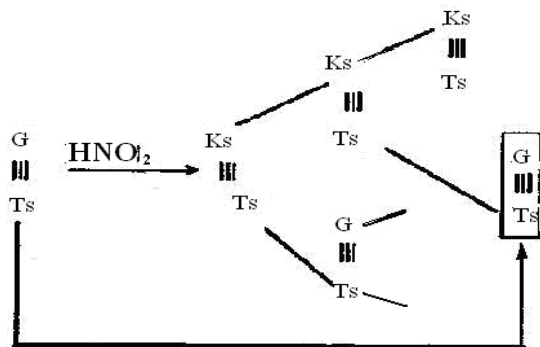
Aflataksin B₁

Фаол гурухлари сонига кўра алкилирловчи бирикмалар моно-, би-ва ролифункционал гурухларга бўлинади. Масалан, ди-мэтилсулфат, этилэнимин, этиломэтансулфонат ва бошқ. Монофункционал, β-хлорэтилсулфидлар ва уларнинг азотли аналоглари бифункционал, дихлордиэтил, мэтилдихлордиэтиламинлар, фосфорли ва фосфоритли кислоталарнинг эфирлари эса ролифункционал ҳисобланади.

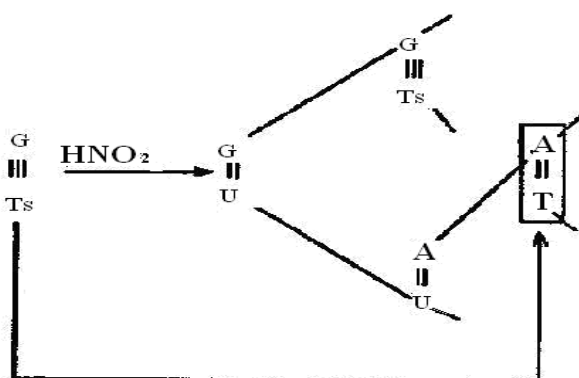
Нитробирикмалар (нитратлар, нитритлар, нитрозобирикмалар, азот оксидлари ва бошқалар) про- ва эукариотларда мутагэн фаолликларини намён этадилар. Нитрозобирикмалар амина-бирикмалар ва нитратлардан сут эмизувчилар ошқозонининг нордон мухитида ҳосил бўлиши мумкин.



AT ni GTs ga almashinishi



Almashinish sodir bo'lmaydi



G=Ts ni A=T ga almashinishi

Алкилирловчи агентлар таъсирида аддуктлар (лотинча аддустус—кэлтирилган, тортилган) вужудга кэлади: 7-алкилгуанин (жуда кўп марта), 3-мэтиладэнин, 0-6-мэтилгуанин, 0-4-алкилтимин ва бошқалар. Алкилирловчи агентларнинг оз миқдордаги дозалари алкил гурухларни “ўзига қабул қилувчи” мэтилтрансфэраза фэрмэнтини индуксиялайди. Мазкур фэрмэнт ачитки (хамиртуруш)ларда бўлмайди, аммо инсонларда мавжуд бўлади.

Нуклэинли асосларни оксидловчи дэзоминирлашда, яъни аминогурухларни гидроксил ёки кислородга алмаштиришда намоён бўлувчи азотли кислотанинг мутагэн таъсири мэханизми 50-йиллардаёқ ўрганилган эди. Бунда адэнин гипоксантинга (Гис), гуанин ксанминга (Ко), цитозин урацилга трансформасияланади. Биринчиси цитозин билан қўшилади, бу эса АқТ ни Г≡Тс га алмаштиришга олиб кэлади, ксантин питозин билан қўшилиш (гуанин сингари) қобилятини сақлаб қолади, бу эса Г≡Тс ни АқТ га алмаштириш билан кэчади.

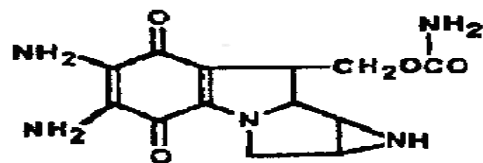
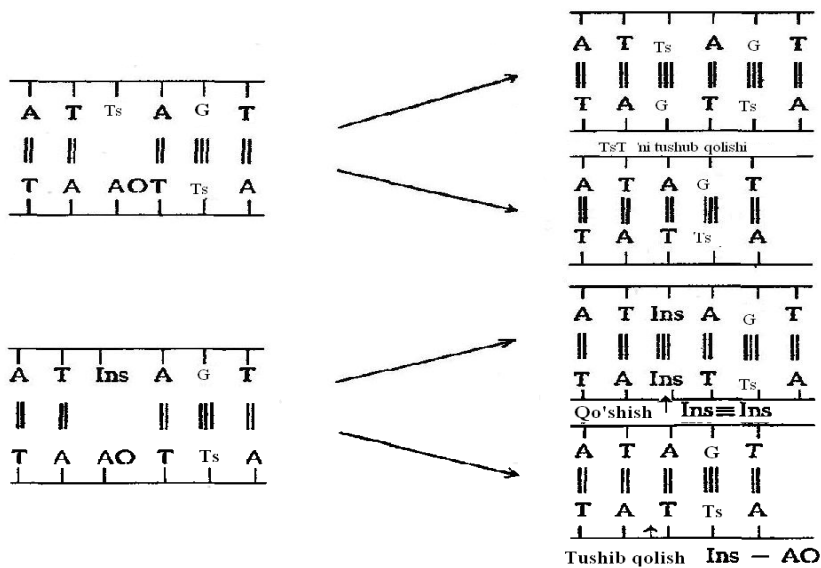
Ўзаклар қўшилишидаги хатоликлар транзиция ёки трансверсия бўйича содир бўлади. Биринчи ҳолатда, яъни транзиция жараёнида битта пурин иккинчи пурин билан, битта пиримидин иккинчи пиримидин билан алмашинади. Иккинчи ҳолатда, яъни трансверсия жараёнида эса пурин пиримидин билан ёки аксинча – пиримидин пурин билан ўрин алмашади. Н-метил-Н-нитро-Н-нитрозогуанидин таъсирида трансверсияга қараганда транзиция кўпроқ содир бўлади.

Гидроксиламиннинг мутаген эффекти (таъсири), гидразиннинг урацил ва цитозин ҳалқасини бузган вақтда унинг цитозин билан ўзаро таъсирига асосланади. Турли қил организмларнинг метаболитик фаолликлари натижасида маълум ҳолларда мутаген характерга эга пероксидлар ҳосил бўлиши мумкин. Ундан ташқари, хужайралар ва тўқималарнинг нурланиши вақтида пероксидлар ҳосил бўлишини ҳисобга олган ҳолда, улар кимёвий ва физикавий мутагенез орасидаги боғловчи звено ролини бажаради. Бунда пероксидлар биринчи қатор мутагенлари ҳисобланади, масалан, калий сианид эса иккинчи қатор мутагени ҳисобланади. Бу ҳол шу билан боғлиқки, КСН каталаза (антимутаген) ферментини тўхтатади ва охирида хужайра H_2O_2 нинг мутаген таъсирига бўлган химоясидан маҳрум бўлади.



Акридин ҳосилалари (зангори акридин, профлавин) ва изохинолиннинг айрим ҳосилалари (этидий бромид) ДНК ипини узунлашишга (чўзилишга) олиб келади.

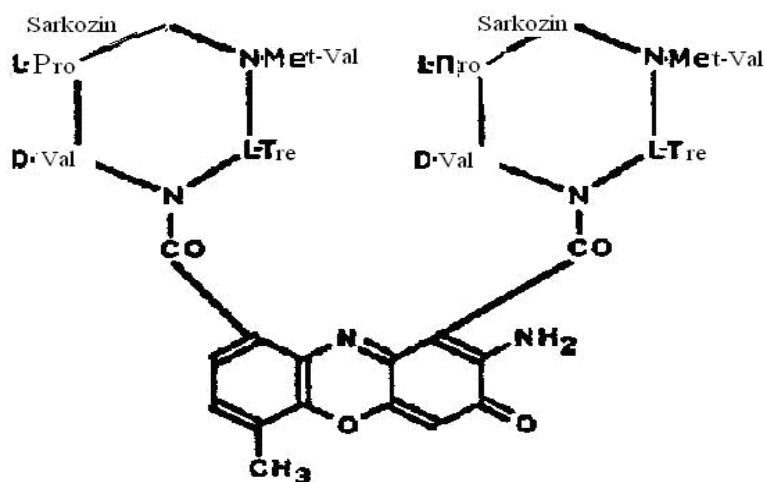
Айрим антибиотиклар мутаген сифатида турли таъсир механизмларига эга. Масалан, митомицин С алкиловчи агентга ўхшаб кетади. У кесишувчи боғларнинг ҳосил бўлиши ҳисобига ДНК нинг икки қаватли спиралини узади. Диолигопептидилактономицин ҳисобланмиш актиномицинлар оиласига мансуб бўлган антибиотиклар (хусусан, актиномицин Д ёки дактономицин) ДНК га боғлиқ РНК синтезини амалга оширади (ингибирлайди).



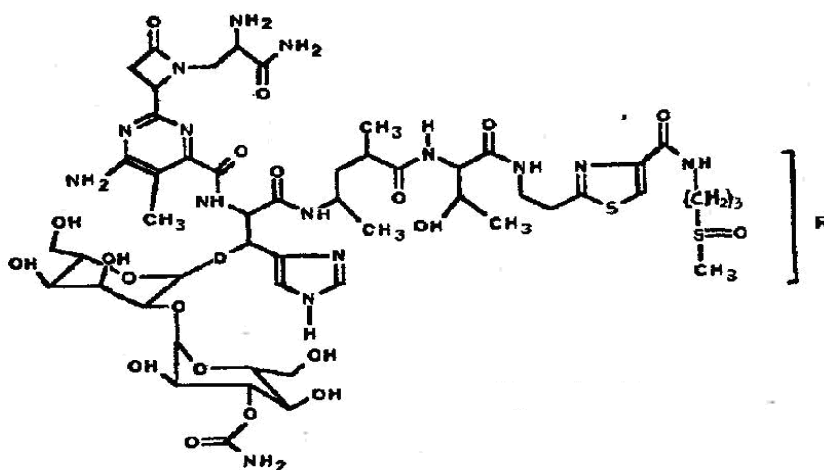
MITOMITSIN C

Улар фақат гуанин сақловчи спираллашган полидезоксирибонуклеотидлар билан специфик нуқтаи назардан таъсирлашади (бунда актиномицин хромофорининг хиноид кислороди билан водород боғ хосил бўлишида пуринлар 2-аминогурухининг хиссаси катта).

Схема



Daksinomitsin



Блэомицин А1

Аминогликозид антибиотиклар (гигромицин Б, стрептомицин) тўғри бўлмаган мутагенлар сирасига киради. Улар бактериал рибосомаларнинг 30С суббирликлари билан ўзаро таъсирлашиши ва алоҳида т-РНК ларнинг ўзаро боғланишининг олдини олиш ҳисобига оксил синтезини бузади. Бунда пиримидин асослари нотўғри терилади.

Юксак ўсимликлар (Хэлиотропиум – гелиотропа, Сэнэсио – бутгулдошлар туркумидан ва бошқ.) ва синтетик доривор препаратлар (изониазид, хлорпромазид, нитрофуран ва бошқ.) дан олинган қатор алкалоидлар мутаген хусусиятларга эга бўлишлари мумкин.

Биологик мутагенлар қаторига вируслар (фаглар), тирик вакциналар, замбуруғлар томонидан ҳосил қилинадиган айрим биотоксинлар, протозоа ва гельминтлар киради. Шундай қилиб, хромосомалардаги ўзгаришларни ситомегаловирус, оддий герпес вируси, герпетиморф вирус, Сендай вируси,

Роус саркомаси вируси ва бошқалар келтириб чиқаради. Замбуруғ токсин - мутагенларидан биринчи бўлиб афлотоксин В₁ номланган. Булар қаторига шунингдэк аспергиллалар қатори томонидан шакллантириладиган треморгенни киритиш мумкин.

Фаг таъсирига чидамли бўлган актиномицет ва лактобактерия мутантлари мос ишлаб чиқариш саноатлари (масалан, антибиотиклар ва сут махсулотларини ишлаб чиқариш) да катта қизиқ ишларга эга.

Турли хил синфларга кирувчи мутагенларни биообъектлар билан ишлаш жараёнларида қўлланилади. Бунда мутагенез механизмини йечишга керак бўлган ажралиб турувчи (маркернўй) характерли белгиларга эга штаммларни ёки бошланғич (назорат) махсулотга нисбатан охирги махсулот унумини оширувчи биологик фаол моддаларнинг суперпродуцент штаммларини олишга ҳаракат қилинади.

Мутантларнинг мақсадли ёъналтирилган олинишида, биологик фаол моддалар микроб-суперпродуцентлари (қатор антибиотиклар, аминокислоталар, витаминлар ва бошқа субстанциялар) ни олишда хайвонларнинг турли зотлари, злаковўх , декоратив ва бошқа кўпгина ўсимликларнинг кўпчилик навларининг чиқишида катта аҳамиятга эга бўлган мутантлар танлови ёки селекцияси керак. Солиштириш учун бошланғич штамми 1928 йилда А.Флеминг томонидан хаводан ажратиб олинган пенициллин мутантларининг селекциясидаги ютуқларни кўрсатиш мумкин. У 1 мл културал суюқликда 50 бирлик пенициллин антибиотигини олди. 1939-1945 йиллардаги ИИ жаҳон уруши қийинчиликлари олимларни мана шу замбуруғ турига қайтиб, унинг генетик-селекцияси билан шуғулланишга мажбур қилди. 1951 йилда Пэнисиллиум чрйсогэnum ни йэтишириш (култивация қилиш) нинг чуқурлаштирилган шароитларида ўстирилган хужайраларнинг табиий популяциясини ўстириш билан фаоллиги 100 бирлик/мл бўлган №1951 штамми ажратиб олинди. Унинг колонияси дунёнинг турли мамлакатларида барча ишлаб чиқарилувчи штаммларнинг асоси бўлиб ҳисобланади. Селекция ва турли хил мутагенлар (асосан УБН ва алкилловчи агентлар) билан алмашинган таъсир қилиш билан 1960 йилларнинг бошидаёқ 1 мл културал суюқликда 5000 бирлик ва ундан ортиқ миқдорда пенициллин ҳосил қилувчи штамм ишлаб чиқариш татбиқ қилишга муваффақ бўлинди. қозирги кунда 1 мл муҳитда ўн минглаб бирлик антибиотик ҳосил қиладиган штаммлар ишлатилмоқда.

Ўз навбатида “Селекция” ва “Интродукция” (инг.интродустион-кириш) тушунчаларини фарқ қилиш ўринли. Селекцияда бошланғич ота-она организмлардан хусусиятлари билан фарқ қиладиган организмларнинг янги формаларини чиқариш усуллар ишлатилади. Интродукцияда эса табиий ва сунъий шароитлардан амалий мақсадлар учун энг яроқли бўлган мавжуд организмларни ажратиб олинади. Селекция ютуқларида назорат қилинувчи мутагенезнинг роли беқиёсдир. Интродукция ютуқлари эса организмга таъалуқли генофонд билан боғлиқ. Хайвон ва ўсимлик селекция ва интродукция генетикадан аввал вужудга келган. Бунда асосий ёндошишлар

организмларни қўшиш (скрещивание) ва юзага келувчи авлодни танлашга қаратилди.

Ўз навбатида микробларга ёндошишнинг селекцияда ишлатиладиган тўрт хил тури юзага келди:

1. Штаммлар ҳаётининг маълум шароитларида юзага чиқадиган керакли хусусиятларга эга бўлган табиий штаммлар танлови (бундай ёндошиш кўп жихатдан юкори эукариотларнинг интродукциясига ўхшаб кетади); бундай културанинг қўпайишида (спонтан қўпайишлар частотасини ҳисобга олган ҳолда) кўпроқ мослашган форма (тур) бошланғич формани сиқиб бориши натижасида популяцион босим юзага келади. Бундай популяцияларнинг тахлилида флуктуацион тест ёки излар (отпечаток) усули фойдали ҳисобланади. Биринчи усул ёрдамида мутациянинг спонтанлиги унинг белгили хусусияти бўйича кўрсатиб берилса, иккинчи усул ёрдамида эса селектив муҳитда ўсувчи керакли колониялар танлаб олинади. Бу биринчи хил ёндошиш тури ўзгартирилган шароитларда микроорганизмларда кечадиган ходисаларнинг табиий тарзда кечишига асосланади (табиий танланиш).

2. Аждод формаларининг табиий ўзгариши натижасида юзага келган, инсонлар учун фойдали бўлган микроорганизмлар клонларини сунъий танлаш;

Бунда клон ва субклонларнинг катта миқдорини текшириш талаб этилади. Агар назорат қилинаётган белгига кўра улар орасидаги эхтимоллик (вариация) катта бўлмаса, у ҳолда танлаш унуми кичиги эхтимолли ёки кам бўлади.

3. Босқичли селекция – мутагенларни қўллаш билан олиб бориладиган сунъин танлашнинг самарали усули (ушбу бобда келтирилган пенициллин продуценти мисолини кўринг). Мутагенлар ёрдамида тест-културалар ўзгарувчанлиги қўпайтирилади, охиргилари орасидан энг яхшиси танлаб олинади; бундай ёндошув назорат қилинувчи кўрсаткич (фаоллик, ҳосилдорлик ва бшқ.) нинг сезиларли ўсишига эришиш учун кўп қарра амалга оширилади (босқичли).

4. Гибридизация – микроорганизмларнинг фойдали формаларини олиш усули ҳисобланади. Бунда чатиштириш усули билан ўхшашлик мавжуд (юксак эукариотларда). Гибридизация ҳақида шу бобнинг олдинги қисмига қаранг.

Микроорганизмлар юксак организмлар сингари мавжуд информацияни генотипик бир жинсли бўлмаган, аммо бир бирига қариндош бўлган хужайралар ўртасида жамлаш ва қайта тақсимлаш хусусиятига эга. Бу ҳолат бактерияларда трансформация, трансдукция ва конъюгация жараёнларида, ўсимлик ва хайвонларда эса жинсий ва соматик гибридизация жараёнларида содир бўлади. Бу ерда ёркин мисол қилиб моноклонал антителилар ишлаб чиқарувчи гибридомаларни келтириш мумкин.

3.7. Транс–гэн ўсимлигини олиш тэхнологиялари

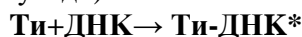
Ўсимликларнинг ДНКси нихоятда катта, уларни парчалаб к–ДНКни ажратиш қийин. Ундан ташқари ўсимликда информаион РНК ва информаион ДНКлар хили кўп, лекин миқдори кам, шунингдэк тирли хил РНК лар лотент холида бўлади.

Қайси ўсимлик бўлишидан қатъий назар ўсимликни касал қилувчи универсал бактерия мавжуд . Демак:

- биринчидан, ўсимликда рак касаллигини чақирувчи бактерия бор;
- иккичидан, бактерия хамма ўсимликка универсиал таъсир қилади;
- учинчидан, бактерия ўзидан ўзи ўсимликларни касаллантира олмайди, бунинг учун ўсимликни тўқимасининг структура элементида жароҳатлар бўлиши керак, шу сабабли бактерия ўсимликни касаллантира олади.

1952 йил бактериянинг плазмидаси борлиги аниқланди, бактерия таркибида қандайдир ДНКга ўхшаш молекула (плазида) бор бўлиб, унинг номи Ти-плазида деб номланган, Ти-плазида доира шаклида бўлиб, икки спиралдан иборат. (Ти-анг. *Тумор индусинг- тум* бу рак, *индусинг* бу киритиш)

Ти-плазида ўсимлик ДНК си билан реакцияга киришиб, ўзини генларини ўсимликни ДНК сига киритиб қўяди. Натижада ўсимлик ДНК си ўзгаради (Ти-ДНК* хосил бўлади).



Ти-ДНК* – зарарланган ўсимлик ДНК си. ДНК – ўсимлик геноми.

Демак, плазмидани асосий иши бу ўсимликни зарарлантирилганда бактерияни ўзини генларини шу ўсимликни ДНКсига киритилишидур.

Бактерия ўсимликда бўлмаган пайтда кўпая олмайди, чунки бактерия ўзига озукани таъминлай олмайди, ўзига керакли моддаларни синтез қила олмайди унинг озуккага опинлар дейилади, улар:

- 1) опин;
- 2) агропин;
- 3) нополин.

Демак, опинлар бактерия учун озук хисобланади, улар бўлмаса бактерия кўпая олмайди. Бактерия, фақат ўсимлик ичида ўсимликка ўзини генини киритгандан сўнг кўпаяди. Ўсимлик учун Опинлар (опин, агропин, нополин) керак эмас, улар бактерияни кўпайиши учун керак. Опинлар ишлаб чиқилгандан сўнг хужайраларда, тўқимада миқдор ошади, яъни бактериянинг Ти-плазмидаси ўсимликка генларини киритади ва фитогармонларни (цитокенин, ауксин, гиббереллин) синтезлайди.

Фитогармонлар:

- 1) цитокенин – барг ривожлантирадиган гормон;
- 2) кинетин – тана (поя) ўстирадиган гормон;
- 3) гиббереллин – илдиз ўстирадиган гормон.

Бактерия икки хил вазифани бажаради:

- ўзига керак бўлган моддасини генларини киритади;
- ўсимликка керак бўлган фитогормон моддалар генини ўсимлик гэнига киритади.

Фитогормонларни концепцияси кўпроқ бўлса, ўсимлик хужайралари тезроқ ривожланади. Тезроқ ривожланса бактерия учун опинлар синтези кўпаяди.

Ти – плазмида хақида. Ти – плазмида анча катта плазмида, у тўрт қисмдан иборат: И - қисм; ИИ- қисм; Вир қисм; Т қисм.

А ва Б қисмда бактерияни ўзини кўпайишига сабабчи бўлувчи генлар мавжуд.

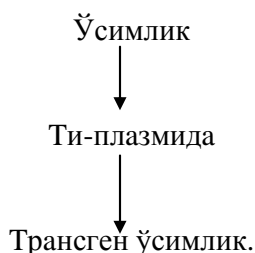
Вир қисм гэнлар Ти плазмидадаги Т қисм гэнларни ўсимлик гэнига киритишни бажаради, унинг иш программаси 30 соатга мўлжалланган бўлади. Вир қисм гэнларда қуйидаги А, Б, С, Д, Э, Ф қисм гэнларлар бўлиб, унда энг асосийси А қисм гэнидир, у хар доим ўсимликка бактерия кирган ёки кирмаганлиги хақида белги бериб туради.

Ўсимликларда фенол моддаси кўп, у ацетосирингон мода бўлиб, шу мода билан А қисм гэни комплекс берса А қисм генлари фаоллашади.

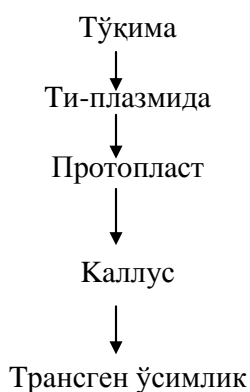
Ти – плазмида - бактерия – ўсимликни хамма вегетатив органларига ва хамма тўқималарга таъсир қилади.

Трансгэн ўсимликни олишда қуйидаги учта схэмадан фойдаланиш мумкин:

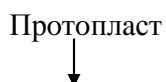
Трансгэн ўсимлик олишнинг биринчи тэхнологик схэмаси:



Трансгэн ўсимлик олишнинг иккинчи тэхнологик схэмаси:



Трансгэн ўсимлик олишни учинчи тэхнологик схэмаси:





Каллусни икки хили мавжуд:

1. Трансген ўсимликка ўтадиган каллус.
2. Трансген ўсимликка ўтмайдигани каллус.

Агар каллус трансген ўсимликка ўтмайдиган бўлса, уни парчалаб протонпласт олинадиди ва яна шу тажриба қайта бажарилади.

Демак, бактериялар учун яратилган назария ўсимлик учун ишлайди. Худди шундай қилиб керакли генларни олдин бактерияга киритилади, ёки бактерияни плазмидасига киритиб олинадиди.

Тэкшириш учун саволлар:

1. ДНК ва РНК молекулалари қандай нуклеотидлардан ташкил бўлган?
2. Нуклеин кислоталарни структураси қачон ва қимлар томонидан очилган?
3. Ген ва геном тўғрисида маълумот беринг .
4. Вектор ДНК нима? Қандай векторлар ген инженерияда ишлатилади?
5. Плазмидалар тўғрисида тушунча бэринг?
6. Генетик код қачон аниқланган?
7. Генетик коддини универсаллигини қандай тушинаси ва бу қандай имкониятларни ген инженерия учун яратади?
8. Рекомбинант ДНК нима? Биринчи рекомбинант ДНК қачон олинган?
9. Рекомбинант ДНК лар ген инженерияда қандай имкониятлар яратади?
10. Ген инженериядаги ихтиролар ва кашфиётлар патентлар билан химоя қилинадими?
11. Ген хариталар тўғрисида тушинча бэринг.
12. Транскрипция ва трансляция тўғрисида тушинча бэринг.
13. РНК- лар турлари? Информацион РНК (и- РНК), транспорт РНК (т- РНК) қандай функцияларни бажаради?
14. Ген инженерияси ютуқлари диагностикага, дори воситалар олишга ва даволашга қандай таъсир қилиши мумкин?
15. Қишлоқ хўжаликда ўсимликларни хосилдорлигини ва зотларни унумдорлигини ошириш ген инженерия билан қандай боғлиқ?
16. Атроф мухитдаги мувозанатлар сақлашни қандай таъминлаш мумкин?
17. Қандай ишонч ва умидлар ген инженерия билан боғлиқдир?
18. Ген инженериясини ривожланишини салбий томонлари борми?
19. Плазмидалар нима? Улар қандай тузулишга эга?
20. Қандай организмлар плазида тутивчи хисобланади?

21. Плазмидалар наслдан-наслга ўтадимми?
22. Плазмидалар таркибидаги генлар хужайрада керакли метаболитлар синтезида қатнашадими?
23. р-ДНК биотехнологиясининг инсон жамиятидаги тутган ўрни қандай?
24. Плазмидалар структураси тўғрисида маълумот беринг.
25. Хужайраларга плазмидалар қандай ёъл билан киради?
26. Микроорганизмларни қандай хусусиятлари плазмидалар таъсирида ўзгаради?
27. Ти -плазмидалар ва Р-плазмидалар бир-биридан фарқ қиладими?
28. Микроорганизмлар кўпайганда плазмидалар билан боғлиқ донорлик хусусиятлари ва барқарорлиги наслдан наслга ўтадимми?
29. Қайси ёъл билан хужайралар ўзаро плазмидалар билан алмашишади?
30. Плазмидалар хужайраларни фенотипига таъсир қиладими?
31. Плазмидалар вектор сифатида генларни клонлашда ишлатилиш мумкинми?
32. Бактерия қаерда кўпая олади?
33. Нима учун ўсимликда шиш пайдо бўлади?
34. Қайси фитогормонларни биласиз, уларни нима учун кэрак?
35. Ти – плазмиданинг ишлаш механизми қандай?
36. Ўсимлик геномига бегона ген киритиш учун нимадан фойдаланилади?
37. Вектор сифатида Ти ва Ри – плазида ишлатиладими?
38. Трансгэн ўсимлик олишни тэхнологик схэмаси қандай, схэmani тушунтиринг.

4- БОБ. ФЭРМЕНТЛАР ИНЖЭНЭРЛИГИ

4.1. Ферментлар инжэнэрлиги ва унинг асосий вазифалари. Фэрментларни иммобилизацияси учун қўлланиладиган ташувчилар

Ферментлар инжэнэрлиги – қатор сохаларидаги тасавурларга асосланган, янги илмий – техник йўналиш бўлиб, энзимология, биокимё, кимёвий технология ҳамда иқтисодий – инженерия фанлари жумласига киради. Ферментлар инжэнэрлигининг асосий вазифаси – биологик система таркибидан ёки хужайра ичидан ажратилган, сунбий равишда ўсиш имкониятидан махрум қилинган ферментларнинг каталитик таъсирида қўлланиладиган, биотехнологик жараёнлар яратишдан иборат. Ферментлар инжэнэрлиги ўз олдига:

А) Янги модда яратиш;

Б) Маълум бир моддани яхшироқ сифатли қилиб олиш;

С) Техник – иқтисодий кўрсаткичларни маълум жараёнларга нисбатан яхшилаш мақсадларни амалга оширишда илмий-тадқиқот ишларини олиб боради.

Ферментлар инжэнэрлиги нима учун керак ва қаерда, қандай мақсадда қўлланилиши мумкин деган савол билан бошланади.

Хозирги замон ферменлар инжэнэрлигининг асосида фермент ёки фермент системаларини иммобилизация қилиш ишлари ётади. Аммо бу масалан, и хал қилишдан олдин ферментлар табиати хақида тўхталиб ўтамиз.

Ферменларнинг кимёвий реакцияларнинг тезлигини оширувчи биологик катализаторлар деб қараш мумкин. Ферментларнинг асосий хусусиятлари улар жуда юксак даражада фаол ва танлаб таъсир қилади. Хамма тирик организмларда кўп - хил минглаб ферментлар бўлади. Уларнинг организмдаги асосий вазифаси организм хаёти учун зарур бўлган барча кимёвий реакцияларда қатнашиш: хужайра ичида кетадиган парчаланиш, оксидланиш, ва синтезланиш реакцияларни тезлаштириш ва бошқаришдан иборат.

Ферментларнинг фаоллиги ва юқори спецификлиги туфайли уларнинг баъзилари қатор саноат сохаларида, асосан озик-овқат саноатида кўп вақтларидан бери қўлланилиб келмоқда. Чунки бу ерда табиий полимерларнинг (оксиллар, крахмал, пектинлар) гидролитик парчаланиши учун комплекс фермент препаратлар ишлатилади.

Ферментларнинг технологияда кенг қўлланилиши охирги пайтларигача маълум сабабларига кўра чекланган эди. Улардан асосийлари:

- а) жараён тугагандан кейин ферментларни дастлабки моддалар ва реакция махсулотларидан ажратиш (бунинг натижасида ферментлар бир мартаба ишлатилади холос);
- б) ферментларни сақлашга хамда хар хил таъсирларга асосан иссиқликка (чидамсизлиги);
- с) ферментларни фаол холда олиш ва тозалаш қийнлиги ўз-ўзидан уларни ишлатиш нихоятда қимматга тушишини кўрсатади.

Охирги 20 йил ичида бу қийнчиликларни четлаб ўтишга муваффақ бўлинди. Бу эса ферментлар иммобилизацияси, хамда микроорганизмлар хужайрасининг иммобилизациясига бог`лиқ.

Ферментларни иммобилизация қилиш натижасида улар гетероген катализатор сифатида афзаликларга эга бўлмоқда.

Бу холдаги ферментларни оддий филтрлар ёрдамида реакция аралашмасидан ва субстрат ва бошқа моддалардан ажратиш мумкин бўлади. Бу муолажа билан ферментларнинг юқорида айтиб ўтилган биринчи камчилигига чек қўйилади.

Иммобилизация қилинган ферментлар эркин холдаги ферментларга қараганда ташқи таъсирга чидамли бўлиб холади. Шундай қилиб ферментларнинг иккинчи камчилиги яъни унинг фаоллигини ўзгарувчанлиги бартараф қилинади.

Иммобилизация қилиш принципи фақат ферментлар учун қўлланилиб қолмай, балки уларни субстрат, ингибитор ва кофактолари, яъни ферментларга специфик таъсир этувчи моддалар учун хам қўлланилмоқда. Бу эса ўз навбатида ферментларни хроматографик ажратиш ва тозалашга

имкон яратади. Шу боис тоза ферментларни ажратиб олиш анча осонлашади ва hozирги вақтда шунини ишонч билан айтиш мумкинки, ферментларни саноати чекланган қўлланилиши бартараф қилинади (14-жадвал).

Охириги пайтда табиий ферментлар тўпламини сақлаган иммобилизация қилинган микроорганизмлар хужайрасини қўллаш жуда кенг тарқалди. Унинг иммобилизация қилинган ферментларга нисбатан афзаллиги шундан иборатки, микроорганизм хужайраларини иммобилизация қилиш бўйича технологик жараён амалга оширилганда қимматга тушадиган бир қанча босқичлар: ферментларни ажратиш, тозалаш ва иммобилизация қилиш босқичлари четлаб ўтилади. Микроорганизмлар ичидаги ферментлар табиий куршов ичида бўлиб, улар хар хил ташқи таъсирларга барқарор холда бўлади. Ферментларни организмдан ажратилганда, улар ўз фаоллигини тез орада йўқотади, баъзи холларда эса уларни умуман фаол холда ажратиш мумкин эмаслиги жуда кўп мисоллар билан исботланган.

Микроорганизм хужайрасида эса улар ўз фаоллигини кўп вақтларгача сақлашга қодир. Бундай шароитларда алоҳида ферментларни эмас, балки бутун хужайраларни қўллаш яхши натижалар беради.

14-жадвал .

Саноатда ишлатилган ферментларнинг намуналари

Фэрментларнинг номи	Ишлатиш тармоқлари
Глюкооксидазалар Амилаза Глюкоамилаза Инвэртаза Пэктиназа Сэллюлаза	Крахмал гидролизи, газмолларни ишлашда, спирт олиш Глюкоза олиш ----- Қандолат махсулотлари ишлаб чиқариш Вино (шароб) ва мэва шарбатларини тиндириш
Протэаза Микропротэазалари	Сомонни ва пахта қолдиқларини ишлаш Сэллобиоза ва глюкоза олиш Пиво ва мусалласларни тиндириш Гўшти юмшатиш, дэтэргэнтларга қўшиш
Бромэлаин	Тэрини ишлаш (Оқсил гидролэзатлар асосида). Озуқа аралашмаси тайёрлаш
Папаин	Гўшти юмшатиш
Трипсин	Пивони тиндириш Гўшти юмшатиш
Рэнин	Тэрини ишлаш, Мэдицинада қўллаш Пишлоқ тайёрлаш, сутни ачитиш

<p>Липазалар</p> <p>Оксидорэдуктазалар</p> <p>Глюкооксидазалар</p> <p>Каталаза</p> <p>Изомэраза :</p> <p>Глюкоизомэраза</p>	<p>Сут махсулотларининг мазасини ўзгартириш (турли) ёғ моддаларини парчалаш ва синтэзлаш</p> <p>Озуқа махсулотларининг кислородини ёқотиш</p> <p>Сут махсулотларининг стэрилизациясидан кэйин водород пэроксидини ёқотиш</p> <p>Глюкоза - фруктозали шарбатлар олиб ишлаб чиқариш</p>
---	---

Хулоса қилиб айтганда, иммобилизация қилинган хужайра худди иммобилизация қилинган ферментлар каби, технологик мақсадда қўлланиладиган ҳамма афзалликлари билан, гетероген биокатализаторларни эслатади. Хужайралар иммобилизацияси асосан сувда эримайдиган ташувчиларга адсорбция қилиш билан олиб борилади. Кўпинча бифункционал реагентлар ёрдамида ковалент бог` орқали ион алмашувини, смолага, масалан, глутар диалдегиди ёки уларнинг полимерларига киритилади. Бунда у маълум шакл ёки тузулишга эга бўлган зарралар тусига киради. Бутун микроорганизмлар хужайраларининг иммобилизацияси бошқа “эркин” хужайраларга нисбатан уларнинг кўпайиши тўхталиб, катализатор сифатидаги “иш вақтини” узайтиради.

Ферментларнинг ажойиб каталитик хусусиятлари уларни иммобилизация қилинганда сувда эримайдиган ҳолатга ўтиши ферментлар инжэнэрлигига асос солди. Охирги вақтда ферментлар инжэнэрлигининг г`оя ва усуллари заминда янги технологик жараёнлар яратилди (хусусан, озик-овқат махсулотлари ва фармасевтик препаратлар ишлаб чиқаради). Бу эса иммобилизация қилинган ферментларни амалий технология жараёнларида кенг кўламда қўлланилиши имкониятининг чекланмаганлигидан дарак беради. Шунинг билан бирга кўп ҳолларда нисбатан кам миқдорда фермент ишлаб чиқариш, иммобилизация ва ташувчиларни (трегарларни) қўлланилиши қимматга тушмоқда. Чамаси тез орада фермент инжэнэрлиги жараёнлари тадбиқ қилинган саноат ишлаб чиқаришларини яратиш мумкин. Бунда реакция махсулоти ферментлар иштирокида олинади ёки ишлаб чиқарилган махсулот нархи дастлабки махсулотларнинг (хом ашёнинг) нархидан бир неча мартаба катта бўлади ва сарф қилинган харажатлар ферментларни қўллаш ёки иммобилизация қилишни тўла қоплайди. Шу боис, кейинги йилларида оддий адсорбция йўли билан ташувчиларга иммобилизация қилинган ферментларга ва иммобилизация қилинган хужайра микроорганизмларига бўлган қизиқиш ортиб бормоқда.

Ферментларни иммобилизация учун жуда кўп органик ва аорганик ташувчилар қўлланилади. Ферментларни иммобилизация қилишда материал (хом ашё)га қўйилган асосий талаблар қуйидагилардан иборат:

- 1) Кимёвий ва биологик чидамлик;
- 2) Юксак механик мустахкамлик (биринчи навбатда ишқаланиш ва майдаланишга нисбатан);
- 3) Фермент ва субстрат билан ййэтарли даражада аралашувчанлик;
- 4) Технологик жихатдан қулай кўринишдаги шакл (гранула, мембрана, най, япроқ каби)га ўта олиш;
- 5) Реакцияга киришувга мойиллик;
- 6) Сувли мухитда ферментнинг ташувчи билан бог`ланишини таъминлайдиган даражада юксак гидрофиллик;
- 7) Паст нархлик.

Бу ерда келтирилган барча талаблар қондирилмаслиги мумкин, бундай холда тадқиқотчи ферментни иммобилизация қилиш учун бор материалларни қўллашга мажбур бўлади.

Хозирги вақтда мавжуд органик полимер ташувчиларни қуйидаги икки синфга ажратиш мумкин:

- 1). Табиий полимер ташувчилар;
- 2). Синтетик полимер ташувчилар.

Табиий полимер ташувчилар синфининг ўзи ҳам (биокимёвий жихатдан) полисахарид, оксил ва липид ташувчилар номли грухларга ажратилиши мумкин. Синтетик полимерларни ҳам худди шу каби грухларга ажратиш мумкин, масалан, макромолекуладаги асосий занжирнинг кимёвий тузулишига қараб синтетик полимер ташувчилар: полиметилен, полиамид ва полиэфир ташувчиларга ажратилади.

Тахлил қилинаётган ташувчиларга иммобилизация қилинаётган ферментнинг хоссалари ва усулнинг кейинги қўлланилишига қараб қуйидаги кўшимча икки талаб қўйилади:

1) Ковалент иммобилизация қилишда ташувчи оксилдаги катализга масъул

бўлмаган функционал грухлар билан бог`ланиши;

2) улар ферментнинг фаоллигига салбий таъсир кўрсатмаслиги керак. Иммобилизация ўтказиш вақтида ташувчи ва ферментда қарама-қарши зарядларнинг борлиги туфайли ферментнинг ташувчига бог`ланиши осон (ва баъзан қийин) бўлиши мумкин. Ташувчи зарраларнинг диаметри кичиклашиб кеца, бог`ланган ферментнинг сони кўпайиб кэтиши мумкин. Бу холларни ҳам назарда тутишга тўғ`ри келади.

Ферментларни иммобилизация қилишда табиий полисахаридлар ва полиметилен туридаги синтетик ташувчилар кенг қўлланилади.

Полимер ташувчиларнинг асосий синфларини кўриб чиқамиз.

Табиий полимерларни иммобилизация учун қўллашда уларни топилишини ва хар хил кимёвий реакцияга кириша олишини, ҳамда юқори гидрофилликка эга бўлишини эътиборга олиш керак. Табиий ташувчиларнинг камчилиги шундан иборатки, улар микроорганизмлар таъсирига чидамсиз ва уларнинг нархи нисбатан юқори бўлади.

Полисахаридлар. Кўпинча иммобилизация қилиш учун целлюлоза декстранлари ва уларнинг хосилалари қўлланилади.

Тсэлюлоза тузулишига кўра поли-И, 4-б-Д- глюкопиранозил-Д-глюкопиранозадан ташкил топган. Тсэлюлоза юқори даражадаги гидрофиллиги билан ажралиб туради ва кўп миқдордаги гидроксил грухларнинг мавжудлиги хар хил ўринбосарларни киритиш йўли билан, уни осон модификациялашга имкон беради. Тсэлюлоза препаратларига кимёвий чидамлилик бериш учун, уларни эпихлоргидрин билан “тиндирилади”. Механик мустахамлигини ошириш учун уни қисман гидролизга учратиб грануланади ва бунинг натижасида унинг аморф участкалари парчланади. Уларнинг ўрнига кристалл участкалар орасидаги г`овакликни сақлаш учун кимёвий чоклар киритилади. Грануланган целлюлоза олиниши осон ва арзон бўлганлиги учун ферментларни иммобилизацияси ва биоаффин хроматографияси учун энг қулай ташувчилар қаторига киритилади. Грануланган целлюлозани хар хил ион алмашинуви хосилаларга ўтказиш мумкин.

Ташувчи сифатида целлюлозанинг камчилигига уни хар хил кислота, ишқор ва оксидловчилар таъсирига чидамсизлигини киритиш мумкин.

Хитин-табий аминополисахарид. Уни CX_2OX грухи ацетамид қолдиг`и билан алмаштирилган целлюлоза деб қараш мумкин. Бу бирикма денгиз қисқичбақаларни бўлмиш краб ва креветкаларни саноатда ишлашдан хосил қилинади. Шунинг учун унинг топилиши осон ва ўзи нисбатан арзон хисобланади.

Хитин г`овак тузулишга эга: сувда, кучсиз кислота ва ишқорларда ва органик эритувчиларда эримайди. Хитинни ишқорнинг концентранган эритмалари иштирокида диациллаш билан хитозан олинади. У эса эркин аминогрухларга эга бўлиб, бифункционал реагентлар (диалдегид, диизоцианат) ёрдамида ферментларни ковалент иммобилизация қилиш учун ишлатилади. Хитозанни ташувчи сифатида қўлланилса, яхши натижаларга эришиш мумкин, чунки унга иммобилизацияланган фермент препаратлари юқори каталитик фаолликка ва микроблар таъсирига чидамлиликка эга, ҳамда хитозанда иммобилизацияланган оқсилларнинг термостабиллигини ошиши ҳам кузатилади.

Декстран – поли – И, 6-Д- глюкопиранозил – Д- глюкопираноза – бактериал манбалардан олинган глюкоза қолдиқлари тутган ва тармоқланган полисахарид, асосан И, 6 – глюкозид бог`лар (ҳамда 1,2-, И.3-, ва И,4 – бог`лар) билан бог`ланган.

Эпихлоргидрин билан тикилган декстран асосли геллар “сефадекс” номи билан “Пхармасиа” (Швеция) фирмаси томонидан ва “Молселект” номи билан “Рэнал” (Венгрия) фирмаси томонидан чиқарилади. Сефадекс полисахарид декстраннинг хосиласи, унинг занжирлари орасида кўндаланг бог`ланишлар мавжуд. У молекуляр элак (г`алвир) сифатида ишлатилади, сувда кескин шишади (бўкади). Сефадексда

чокларнинг миқдори қанча кам бўлса, юқорида қайд қилинган қоида кўпрок намоён бўлади. Гелнинг фазовий тўридан хосил бўладиган г`овакларнинг

ўртача катталиги чокларнинг миқдорига қараб ўзгаради. Шунини қайд қилмоқ керакки, сотиладиган сефадекслар бир қанча миқдорда карбоксил грухлар тутган бўлади, бу эса уларда катионларга нисбатан мойиллик бахш этади. Бу фактни металлга тобе ферментларни иммобилизация қилишда хисобга олмоқ зарур.

Декстран асосида тайёрланган гелларнинг баъзи хоссалари, яъни юқори кимёвий чидамлилиги ва гидрофиллиги (кўп миқдордаги гидроксил грухлар борлиги хисобга) киши диққатини ўзига жалб қилади. Сефадекслар тикилиши, г`оваклиги ва бўкиш даражасига қараб олти турга бўлинади. Органик эритувчиларда қўллаш учун модификацияланган (ЛХ-20 ва ЛХ-60) сефадексларнинг хилма-хил турлари мавжуд.

“Пхармасиа” ва “Рэанал” фирмалари хар хил функционал грухларга эга бўлган декстранларнинг қуйидаги хосилалари ишлаб чиқазади: карбоксиметилсефадекс (СМ); сулфопропилсефадекс (СП); диэтиламиноэтилсефадекс (ДЕАЕ); диэтил-(2-оксипропил)-аминоэтилсефадекс (ОАЕ); Молселект СМ; Молселект СЕ; Молселект (ДЕАЕ).

Декстран хосилаларининг савдога оид препаратлари

Декстранлар грухининг асосий компоненти амилаза-поли И,4- α -Д-глюкопиро-нозол-Д-глюкопиранозадан ва тармоқланган полисахарид-аминопектиндан ташкил топган полисахаридлар аралашмаси крахмални киритиши мумкин. У бир бири билан 1,4- α -глюкозид боғ`лари орқали боғ`ланган ва 1,6- α -глюкозид боғ`лари билан тармоқланган Д-глюкозанинг қолдиқларидан ташкил топган бўлади. Тикувчи моддалар (фармалдегид, глиоксал, глутар алдегид) билан крахмални модификация қилиш билан янги г`алвирсимон крахмал хосил қилинади. Улар фэр-ментлар тасирида парчаланадиган полисахаридларга нисбатан юқори чидамлиликка эга. Диэтанол ва триэтанол грухларни киритиш г`алвирсимон крахмални хар хил ферментлар билан иммобилизациялаш учун ишлатиш мумкинлигини таъминлайди.

Декстрантлардан хар хил функционал грухли тиббиётда доривор моддаларни ташувчи сифатида қўлланиладиган сувда эрийдиган препаратлар олиш мумкин.

Тиббиёт декстрантлар асосида ташувчиларни танлашда, уларнинг организмда осон биопарчаланишига (биодеградацияга учрашига) асосланган.

Агароза – бу поли- б- галактопиранозил – 3, 6- ангидро-б-Л-галактопираноза- дир. Ундан иммобилизациялаш учун кенг қўлламада қўлланилади. Агарозанинг бахоси қиммат бўлганлиги учун, осон қайта ишланадиган (регенерация) хилларини топиш мақсадида, уни модификация қилиш усуллари ишлаб чиқилмоқда. Агарозанинг иссиқ 2-6%-ли сувли эритмасини 45 °С дан пастга совицак, нейтрал ва зарядланган полисахаридлар аралашмасидан иборат мураккаб аралашма хосил бўлади. Гел хосил бўлиш жараёнида якка полисахарид занжирлар “тугунлар” хосил

бўлиши билан кўшиладиган, кўш спиртларни хосил қилади. Агароза гели 100 °С атрофида эрийди, шу боис сѐфадекслардан фарқли ўлароқ уни автоклавда ишлаш мумкин эмас. Агароза қуритилса, бу гелнинг тузулиши қайтмайдиган бузулишига олиб келади, шунинг учун уни сувли эритма холида сақланади. Агароза асосида тайёрланган геллар: “сефароза”, биогел А, ҳамда “ултрагел А” ишлаб чиқилади. Сефарозани ишлаб чиқаришда агарозага махсус ишлов берилади, жумладан, зарядланган полисахаридлар ажратилади. Агарозанинг концентратиясига қараб хилма-хил геллар олинади (15-жадвал).

Сефароза препаратларини юқори кимёвий ва термик барқарор қилиш учун уларни юқори ишқорий шароитда 2,3 – дибромпропанол билан ишланади. Бунинг натижасида кўндаланг тикилган агарозанинг гели – сефароза-СЛ хосил бўлади, бу Агароза – полисахариднинг чўзинчок шаклдаги фракциясидир.

Агар – агарни баъзи қизил сув ўтлари хужайраларининг мембранасидан ажратиб олинади. Унинг аниқ таркиби маълум эмас. Аммо унинг иккита полисахариддан: агароза ва агарпектиндан ташки топганлиги тасдиқланган. Агар гелларнинг

(агароза геллари сингари) қайноқ сувли эритмаларини 38°С гача совитилса, агароза хосил бўлади. Қуритилгандан кейин агарнинг геллари тиниқ парда (плиёнка) хосил қилади, бу эса иммобилизацияланган ферментни оптик тадқиқ қилиш усулларини ўрганишга ёрдам беради. Агарозанинг афзалликларига унинг арзонлиги ва захарли эмаслигини киритиш мумкин. Бу ташувчининг афзаллиги эритмада жуда кам миқдорда бўлишига қарамай, механик жихатдан мустақкам геллар хосил қилишидир. Эпихлоргидрин, диэтоксин бирикмалар тикиш билан агарозанинг хоссаларини яхшилаши мумкин. Бошқариладиган ўтказувчанликка эга бўлган тикилган агар, хатто ишқорий мухитда иситишга ҳам чидамли бўлади. Юқори механик чидамлилиқка эга, кўп миқдордаги оксигрухларнинг борлиги ташувчини осон модификациялашга имкон беради. Унинг бу хусусияти учун Дж. Порат (1976) томонидан агарни мукамал ташувчи деб номлади.

Алкин кислоталар ва уларнинг тузлари қўнғир сув ўтларининг полисахаридлари бўлиб, улар Д-маннура кислотасининг б-И, 4 –боғ`и орқали боғ`ланган қолдиг`идан иборат. Бу ташувчиларни характерли хоссалари шундан иборатки, уларнинг эрувчанлиги эритмадаги пХ га ва хароратга боғ`лиқ.

15-жадвал

Агароза ва унинг баъзи хосилалари

Функционал грухи	Номи ва белгиси	Агарозанин г концентрац и яси	Фирма
-	Сефароза бБ	б	Пхармаци

			Швэсия
-	Сефароза 4Б	4	
-	Сефароза 2Б	2	-
$-\text{O}-(\text{CH}_2) \text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{Сл}$	ДЭАЭ-сэфарозаСЛ-6Б	6	-
$-\text{OCX}_2-\text{COOX}$	КМ- сэфарозаСЛ-6Б	6	-
$-\text{O}-\text{CH}$	БромсиансэфарозаСЛ-4Б	4	-
$-\text{O}-\text{CX}_2-\text{CX}-\text{CX}_2-\text{O}-$ ОХ	Октилсэфароза СЛ-4В	4	-
	ФэнилсэфарозаСЛ-4Б	4	-
	Биогэл А-0,5	10	“Био-Рад Лабс” (США)
	Биогэл А-1,5	8	-
	Биогэл А-5	6	-
	Биогэл А-15	4	-
	Биогэл А-50	2	-
	Биогэл А-150	1	-
$-\text{O}-(\text{CX}_2) \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	ДЕАЕ Биогэл А	-	-
$-\text{NH}-(\text{CX}_2)_5-\text{COO}-$	Фаолланган СН- сэфароза 4Б	4	“Пхарма сия” Швасия
$-\text{O}-\text{CX}_2-\text{CX}-\text{CX}_2-$ ОХ	Эпоксифаолланган сэфароза 6Б	6	-
$\text{OX}-\text{O}(\text{CX}_2)_4-\text{O}-\text{CX}_2-$ $-\text{CX}-\text{CX}_2-\text{O}-$ 			

Чунончи, алгин кислоталар иссиқ сувда яхши, совук сувда ёмон эрийди. Калций алгинатлар гел хосил қилиш имконига эга, шунинг учун улардан ферментлар, хужайралар ва органеллаларни киритиш йўли билан иммобилизациялашда фойдаланилади.

Гепарин – нордон полисахарид (гидро-амино-полисахарид) хисобланиб, у сульфатланган Д- глюкозон кислотаси (ёки Л-идурон) ва сульфатланган глюкоза-амино грухидан (ёки Н-ацетил глюкозаминдан иборат) такрорланувчан бўг`инлардан ташкил топган.

Гепарин тиббиётда организмга киритиш учун, сувда эрувчан иммобилизацияланган фермент препаратларини олишда қўлланилади.

Оксиллар. Оксилларни ташувчилар сифатида ферментларни иммобилизация қилишда ишлатиш, фундаментал биокимёвий тадқиқотлар ўтказишда, амалий мақсадларда (чунончи тиббиёт) ишлатиш учун муҳим

ахамиятга эга. Бунга кизиқишнинг сабаби шуки, кўпгина ферментлар, хужайранинг бошқа компонентлари (чунончи липидлар) оксиллар билан бог`лиқ холда ишлайди. Шунинг учун оксил матричасига иммобилизацияланган ферментларни ўрганиш учун ва ин виво шароитида ферментларнинг ишлаш қонуниятларини тушинишга имкон беради. Оксилли ташувчиларнинг амалий ахамияти катта. Уларнинг мухим хоссалари (ферментларни кўпроқ бог`лаши ва биодеградацияланишига кодирлиги), ҳамда уларнинг кўпчиллигини қўллаш мумкинлиги (фибрилляр табиати туфайли юпқа парда мемраналар хосил қилиши) ферментларни иммобилизация қилишга кенг қўлланилади. Оксил ташувчига иммобилизация қилишда тикувчи агентлар иштирок этиши ёки иштирок этмаслиги мумкин.

Ташувчи сифатида оксилларнинг камчилиги шундан иборатки, медицина препаратларини ин виво шароитида қўллаганда юкори иммуногенликни хисобга олиш керак (коллаген ва фибрин бундан мустасно).

Кўпгина ташувчилар сифатида структура оксиллари(кератин, фиброин, коллаген), харакат оксиллари (миозин) ташувчи оксиллар (зардоб албумини) ишлатилади.

Коллаген – склеропротеидлар грухини фибрилляр оксили хисобланади, тог`ай ва пайларнинг асосий таркибий қисми бўлиб, узулишга жуда чидамли. Бу оксилнинг ўта гидрофиллиги – унинг ўзига хослигидир. Айтайлик, коллаген (1 г) бирдан беш граммгача сувни ўзига шимиш имконига эга бўлиб, шундан хам толали тузулишини сақлаган ва сувда эрмаган холда қолади.

Коллаген юксак хайвонларда кенг тарқалган оксилдир. Уни қатор биологик манбалардан ажратиб олиш мумкин. Унда оксилларга хос жуда кўп грухлари мавжуд, улар фермент бог`ланиши учун зарур нуқталарни ташкил этади. Бу хусусиятлари туфайли коллаген диққатга сазовордир. Коллагеннинг модификацияланган хосил алари ташувчи сифатида кенг қўлланилади.

Чунончи, амино- ёки карбоксил грухларининг таъсирини йўқотиш (блокировка) йўли билан ташувчининг сиртки зарядини ўзгартириши мумкин ва шу билан бирга гидрофил-гидрофоб мувозанатни силжита олади. Тикувчи агентлар ёрдамида зич микроструктура хосил қилиш мумкин. Коллаген кўпинча азид кўринишида қўлланилади. Бунинг учун коллагеннинг карбоксил грухлари гидразин ва азотли кислота билан ишланиши натижасида эфир хосил бўлади.

Коллагенни ишлатиш натижасида хосил бўлган махсулоти шаффоф модда бўлиб, унга желатина дэилади. Уни олиш усули жуда оддий – коллаген узоқ вақт давомида иссиқ сувда қайнатилади ва натижада коллагеннинг баъзи ковалент бог`лари узилади. Узулиш натижада толасимон, сувда эрмайдиган коллаген, (шаффоф) желатин деб ном олган полипептидларнинг эрувчан аралашмаси келиб чиқади. Гел тузулишига эга

бўлган бу ташувчи ўзининг захарсизлиги ва осон парчаланиши туфайли фармацевтика ва озиқ - овқат саноатида кенг қўлланилади.

Склеропротеид грухига мансуб, кенг тарқалган оксил-кератин бўлиб, жун, соч, шохсимон қатламлар, кепакларнинг ва бошқаларнинг кўп қисми кератиндан иборат.

Товуқ фабрикаси чиқиндиларини (патларни) қайта ишлаш орқали кератин олиш мумкин. Шундай қилиб, кератинни арзон усул билан кўп миқдорда олиш мумкин, бу эса оксилларни ташувчи сифатида ишлатишга мухим ахамият касб этади.

Кератинг икки хили α - ва β - формалар мавжуд. α -кератинда цистеиннинг борлиги унга мухим сифат касб этади. У эркин СХ- грухини тутган ферментларни иммобилизация қилишда асосий ўрин эгаллайди.

β - кератинлар чунончи, фиброинда (ипак ва ўргимчак ипини толасининг оксили), умуман цистеин қолдиг`и бўлмайди. Уларда тармоқланган, тартибсиз полипептид занжирининг конформациясини хосил қилиш учун керак бўлган глицин ва аланин моддалари кўп миқдорда бўлади.

Занжирлараро водород бог`ланишлари β -конформация учун характерлидир, уларнинг хосил бўлишида β - кератиннинг хамма пептид грухлари қатнашади ва бу β -структурага юксак чидамлилиқ бахш этади. Молекуляр фарқланиш, унинг механик хоссаларига таъсир қилади. Чунончи, β - кератин иплари майин эгилувчан бўлади, сувда эримайд, аммо мустахамлик жихатидан α - кератиндан кейин туради. Иммобилизация қилиш учун у ёки бу кератинни танлаш тадқиқотчи олдига қўйган аниқ мақсадга бог`лик.

Оксил табиатига эга бўлган ташувчиларга ферментларни иммобилизациялашда, матрицани гел тузулиши билан аниқланадиган диффузион чекланишни хисобга олмай бўлмайди. Диффузион чекланганлик муаммосини хал қилишда - ташувчилар сифатида пахта оксили - глобулинлар ишлатилиши мумкин. Чунки, фермент - ташувчи комплекси, эритманинг ион кучига қараб эриган ва эритма холига бўлиши мумкин. Ион кучини ўзгартириш билан комплексни эритма холига ўтказиш ва уни сувда эримайдиган субстратни ўзгартиришда қўллаш мумкин. Бу ерда шуни айтиш керакки, бундай хоссага баъзи сунъий полимерлар хам эга, чунки ферментлар иммобилизациясида кенг қўламда қўлланилаётган моддалар жумласига полиэлектrolитлар хам киради. Сунъий полимерларнинг хилма-хиллиги уларни ферментлар иммобилизациясида ташувси сифатида кенг қўламда қўллашга имкон беради. Полимер молекулага хар хил функционал грухларни киритиш билан ташувчининг физик хоссаларини ва иммобилизацияланган фермент молекуласи учун яратилган микромухитни ўзгартириш мумкин. Синтетик полимерлар ферментларни ковалент сорбция йўли билан иммобилизациялаш хамда микрокапсулалар ва геллар олиш учун ишлатилади.

Улар саноатда ишлаб чиқариладиган кўпгина ион алмаштиргич материалларнинг асосини ташкил этади. Сорбциялаш (шимдириш) билан иммобилизациялаш учун микротешикли ва макротешикли (г`овакларнинг катталиги 10 - 1000 нм) материаллар ҳам қўлланилади. Шарсимон зарралар кўринишдаги хар хил тикувчи агентига эга стирол сополимерининг грануляр полимеризация усули билан олиш мумкин. Кўпинча тикувчи агент сифатида дивинил бензол қўлланилади.

Шундай г`овакли ташувчиларнинг г`овак катталиги, солиштирма сирти, геометрик структураси, тикувчи агент миқдорининг реакцион мухитда мономер эрувчининг концентрациясини ўзгартириш билан кенг кўламда турлаш мумкин. Стирол сополимерларнинг полимеризациясини г`овак хосил қилувчилар ёрдамида ўтказиш ва бошқариш мумкин.

Стирол ва дивинилбензол сополимерлари асосидаги ташувчилар саноат миқёсида Дауэкс ва Амберлит маркали ион-алмаштиргичлар кўринишида ишлаб чиқарилмоқда.

Охирги йилларда макротўрсимон изог`овак ва гетерог`овак структурага эга бўлган ташувчилар қўлланилмоқда. Макротўрли полистироллар шишага ўхшаб барқарор г`овак тузулишга эга, сувда бўкмайди, юқори механик мустахкамлиги билан ажралиб туради. Уларни эмулсион полимеризациялаш йўли билан бирга чўктирувчи иштирокида олинади.

Монохлордиметил эфири ва пора хосил қилувчи модда таъсирида порасининг диаметри 1 мкмга тэнг бўлган гетеропорали полистирол олиш мумкин. Гетеропорали ташувчиларни қўллаш хар хил размердаги ферментларнинг юқори даражадаги фаоллигини сақлашга имкон беради.

Модификацияланмаган полистирол ташувчилар гидрофоб моддалар жумласига киради. Бензол радикалларининг г`овак жойларига ионоген грухлар киритиш йўли билан моддага маълум гидрофиллик жорий этиш мумкин, аммо умуман полимерларнинг гидрофоб ўзаро таъсирга лоқайдлиги сақланади. Бу хусусият мембрана гидрофоб оксилларни хроматография қилишда асқотади.

Синтетик полимерлар таркибига реакцияга қодир ангидрид грухларини киритиш янги турдаги ташувчиларни ишлаб чиқаришга кенг имкон яратади. Шу боис стирол эквимоляр миқдорини ва малон ангидридини сополимеризациялаш билан олинган янги типдаги ташувчини айтиб ўтамай. Бундай ташувчилар оксилларни нисбатан юқори даражада бог`лайди. Уларни ферментларнинг ковалентли ва коваленциз иммобилизациясида қўллаш мумкин.

Ташувчиларни фаоллаштиришнинг бошқа усуллари ва шулар қаторига матрицанинг бензол ядроси билан модификация қилиниши кейинроқ кўриб чиқилади.

Акрил кислота хосилалари асосида яратилган полимерлар

Акрил кислотасининг кўп сонли хосилаларидан бири полимер гидроксил ташувчилар олишда кенг қўлланиладиган акриламиддир. Ферментлар ва хужайраларни полиакриламид гелига (ПААК) киритиш

усули кенг тарқалган, у акриламидни тикувчи агент Н,Н 1 метилен - бисакриламид (МБАА) билан полимеризация қилишда хосил бўлади. МБАА билан тикилган, тўғри чизигли акриламид полимерларининг толалари гелнинг кимёвий таъсирларга чидамли, нисбатан мустахкам фазовий тўрини хосил қилади. Полимерларнинг нисбатан катта бўлмаган миқдори гелнинг г'оваклиги ва пишиқлигини таъминлайди.

Ферментларни ковалент имобилизациялаш учун маълум бир усул билан фаоллаштирилади, яни кимёвий модификация йўли билан тайёр полимерга функционал грухлар киритилади, ёхуд мономернинг функционал хосилаларини полимерлаш билан бундай ташувчилар хосил қилинади. Реакцияга киришга қодир грухлар тутган бирикмаларни полимерлаш усули анча қулай. Хозирги вақтда ҳар хил реакцияга мойил функционал грухлар тутган, акриламид сополимерлари асосида жуда кўп ташувчилар тайёрланган.

Полимер ташувчилар олиш учун қўлланиладиган акрил кислотанинг бошқа хосиласини метакрил кислотасининг хлор ангидриди деб номлаш мумкин. Унинг ванилин билан ўзаро таъсирида мономер хосил бўлади. У полимерланганда реакцияга тез киришишга қодир алдегид грухларга эга янги бирикма ("энзакрил") вужудга келади. Акрил асосидаги кўпгина полимерлар, бир қатор кимёвий реагентларни таъсирга чидамлиги билан фарқланмайди ҳамда сувда ва органик эритувчиларда кучли бўқади. Шунинг учун баъзи ҳолларда янада мустахкамроқ тузулишга эга бўлган полимер материалларга қизиқиш уйғонади. Сунъий ва табиий полимерлар асосида аралашган типдаги мустахкам ташувчига АсА типдаги ултрогел мисол бўла олади, у мустахкам тузулишли, синтетик сополимерлар жумласига киради.

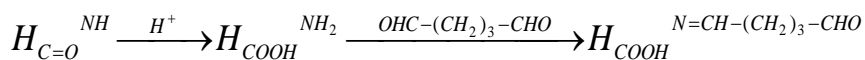
Макрог'овакли полимер геллар шундай типдаги мономерлар асосида кўпгина шарсимон гранулалар кўринишда хосил бўлади. Бундай материалларни муҳим характери - уларнинг гидрофиллиги, механик мустахкамлиги, кимёвий ва биологик чидамлилиги, органик эритувчиларда ишлатиш мумкинлигидир.

4.2. Полиамид ташувчилар

Полиамид ташувчилар ҳар хил кўп занжирли полимерларни такрорланувчи амид грухидир - $C(O)-NH-$; Уларнинг олиниш усулларида бири аминокарбон кислоталарни, масалан, аминокпропн кислота ёки уни лактами (нейлон ва капрон) гомополиконденсациясига асосланган.

Нейлон-6 дан ташқари имобилизациялаш учун полиизотринейлон, полиаминоакрилнейлон ва бошқалар ишлатилади. Амид грухи полимерларда гидрофилликни таъминлайди.

Ташувчи сифатида полиамидларни қўллаш учун уларни фаоллаш керак, қисман гидролизланиб сўнг ишланади. Масалан, глутар алдегид билан қуйидаги реакция амалга ошади:



Бу типдаги ташувчиларни муҳим афзаллиги шундан иборатки, улар ҳар хил агрегат шаклда: гранула, порошок, тола, мембрана, най ва бошқа кўринишларда тайёрланиши мумкин.

Полиамидли ташувчи олиш. Полиамидни ташувчи сифатида қўллаш-ҳар хил шаклдаги (гранула, тўқима, тола) сорбентларни олишга боғлиқ.

Тўқимачилик саноатининг чиқиндиларини ХСл билан эритиш ва ацетонни ҳар хил концентрациясидаги сувли эритмасини қўшиш йўли билан чўктириб полиамиднинг кукунсимон ҳар хил фракцияларини олиш мумкин (16-жадвал).

Жадвалдан кўришиб турибдики, чўктирувчи эритмада ацетон концентрациясининг ўзгартириш билан гўжанак бўлишни чеклаш ва кукунсимон полиамиднинг маълум фракцияси чиқишини бошқариш мумкин. Қўшимча статик босим ишлатмаган ҳолда, колонкали муҳитда аниқланган кукунсимон полиамиддан олинган фракцияларини ўтказиш қобилияти фракциянинг катталигига боғлиқ ҳолда 10-250 мл/соат колонкадан ўтиш тезлигига муҳим даражада таъсир кўрсатмайди.

16-жадвал

Чўктирувчи эритмадаги ацетон концентрациясининг кукунсимон полиамиднинг фракция таркибига боғлиқлиги

Фракция катталиги Мм	Ацетоннинг сувли эритмаси турли концентрацияларида олинган фракциялар миқдори					Колонка режимида ўтказиш қобилияти, мл./соат.
	0	25	30	40	50	
1.00 дан юқори	18,0	16,6	0,4	0,1	0,0	240-250
0,5 – 1	18,3	17,3	13,8	4,2	15,8	150-160
0,25 - 0,5	23,5	24,1	68,4	29,7	10,6	120-130
0,14 - 0,25	26,7	25,0	14,2	55,0	58,1	75-100

Полиамид ташувчиларни фаоллаш. Ҳозирги вақтда лигандларни ковалент боғлаш учун полиамид ташувчиларни фаоллаштириш ишини уларни хлорид кислота эритмасида ишлаш ёки диметилсулфоксидда амид грухларни қайтариш йўли билан олиб борилади.

Поливинилпирролидон ва унинг асосидаги сополимерлар қўллаганда организмда аста-сэкин парчаланадиган иммобилизацияланган фермент препаратларини олиш мумкин. Шу билан бирга парчаланиш тезлиги, аралашмадаги иккинчи мономер табиати ва тикувчи агентининг

концентрациясига ҳам бог`лиқ. Масалан, азобензобутирометил иштирокида винилпирролидонни акрил кислота билан радикал сополимерлаш натижасида карбоксил грухи тутган ва сувда эрийдиган полимер хосил бўлади: глициллактат билан сополимеризациясида эса алдегид грухли сувда эрийдиган полимер хосил қилади.

Поливинил спирти асосида яратилган ташувчилар. Менеке Г. ва Фогт Г. томонидан (1980) таклиф қилинган поливинил спирти асосида яратилган ташувчилар реакцияга тез киришиш қобилиятига эга. Уларга мувофиқ равишда ишлов бэриш билан ташувчиларга хар хил функционал грухларни, жумладан, диазоизотиоцианит, алдегид, хлортриазин, дисулфид ва бошқаларни кислотали шароитда (глутар алдегиди билан), ишқорий шароитда эса эпихлоргидрин ёки п-ксилилендихлорид билан тикиш мумкин.

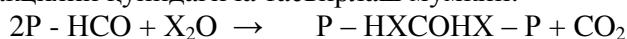
Поливинил асосидаги ташувчиларнинг афзалликлари шундан иборатки, улар кўп миқдорда реакцияга киришувчи грухларга эга бўлишдан ташқари, оксилларга нисбатан юқори сиг`имга эгалдир.

Полиуретанлар - NH - C - O - группировкаси тутган гидрофил полиуретан полимерлар ферментларни гелга киритиш учун йэтарли даражада қулай материаллардир. Бу холда иммобилизациялаш жараёнида компонентларни оддий аралаштиришдан иборат.

Полиуретанлар изоцианатларни, масалан, 2,4- ва 2,6 - толуилен, гексаметилен ёки дифенилметандиизоцианатлар, полиоллар билан (глюколлар, триоллар, ОХ- грухи тутган оддий ёки мураккаб олигоэфирлар) реакцияси натижасида хосил бўлади.

Полимеризация вақтида изоцианат грухлардан диоксил углероди ажралиши билан, қисман гидролизланиш содир бўлади. Хосил бўлган аминокрухлар изоцианат грухлар билан ўзаро таъсирлашиб полимерни куйидагича тасвирлаш мумкин:

Умумий реакцияни куйидагича тасвирлаш мумкин:



Полиуретанлар полиамидлардан фаркли ўлароқ сувга ва оксидловчиларга нисбатан чидамликка эга.

Ташувчининг гидроксил ва аминокрухларини фаоллаштириш.

Матрицанинг фаоллаштириш деганда, фаолятор билан кимёвий реакция ўтказиш тушунилади, бунинг натижасида унинг юзасида оксилдаги нуклеофил группларига нисбатан (масалан, аминокру - ва ОХ- грухлари) реакцияга тез киришиш қобилиятига эга бўлган электрофил грухлар хосил бўлади.

Юқори самарали электрофил грухлар қаторига (Дж. Порат, 1976) куйидагилрани киритиш мумкин:

$\begin{array}{c} -O \\ \\ C=NH \\ \\ -O \end{array}$	Имидокарбонат лар
---	----------------------

$\begin{array}{c} -\text{O} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ -\text{O} \end{array}$	Карбонатлар
$\begin{array}{c} -\text{CX}-\text{CX}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	Эпоксидлар
$\begin{array}{c} -\text{CX}-\text{CX}_2 \\ \text{HX} \end{array}$	Азиридинлар
$\text{CX}_2=\text{CX}-\text{CO}_2; -\text{C}=\text{CX}-\text{C}(\text{O})-$	Фаоллангн кўш боғлар
$\begin{array}{l} \text{Br}-\text{CX}-\text{C}(\text{O})-; \text{Cl}-\text{C}=\text{HX}; \\ \text{Br}-\text{C}(\text{O})-\text{CX}_2- \end{array}$	Фаолланган галогэн атомлари

Ташувчининг электрофил грухлари билан оксилнинг нуклеофил грухларининг ўзаро таъсир қилиш реакцияси кейинги бобларда кўриб чиқилади. Бу ерда фаолланган полимер матрицаларни олиш усуллари устида тўхталиб ўтамиз.

Имидокарбонатлар. Бу хосилаларни олиш полимерларнинг циангалогенлар билан реакциясига асосланган. Сувда ёки аралаш сув-органик эритувчи мухитида ташувчининг иккита кўшни гидроксил грухлари билан BrCN ўзаро таъсири, чидамсиз цианат орқали фаол имидокарбонат ва фаолмас карбонат хосил бўлишига олиб келади.

Одатда, бу услуб полисахаридларини фаоллаштириш қилишда ишлатилади. Сунъий полимерлар ана шу усул билан кам миқдорда фаолланади.

Харорат 20°C да ва pH нинг оптимал кўрсаткичи 11 – 12,5 бўлганида реакция ўта номақбул содир бўлади. Чунки, юқори ишқорий мухитнинг яратилиши ташувчининг нуклеофил бўлишига ёрдам беради. Масалан, бу полисахариднинг OH -грухинин қисман ионизацияси хисобига содир бўлади. Аммо бу йерда BrCN дан ташқари фаолмас карбонатни гидролоизидан хосил бўладиган эфир ҳам чидамсиздир. Шу боис 80% дан кўпроқ цианат эфири икки йўл билан трансформацияланади (ташилади). Тсиан грухи электрофиллигини ошириб бу реакция самараси кўтарилади. Бундай ёндошиш орқали циан грухини триэтиламинга ўтказиш мумкин.

Эпоксидлар (оксиранлар). Масалан, 1,4 – бис – 2,3 – эпоксипропоксибутанни кўпинча гидроксилга эга полимерларни фаоллаш ва модификациялаш учун қўлланилади. Реакция ишқорий мухитда (pH 8,5 – 11,0) да кетади. Матрицани тикилиш реакцияси ҳам содир бўлиши мумкин. Натижада матрицалар қайноқ сувда эримайдиган ва кислоталарга чидамли бўлиб қолади.

Эпоксифаолланган матрицаларни олиш учун бисоксирани ўрнига эпихлоргидринни ишлатиш мумкин. 1,4 – н – бутандиолнинг диглицил эфири типидagi узун занжирли бирикмалар билан эпоксидланган ташувчи афзаллиги шундан иборатки, улар эпихлоргидрин билан ишланган ташувчиларга нисбатан ферментни ташувчидан ажратувчи узун “банд” хосил қилишга имкон беради.

Қўш бог` билан фаолланган бирикмалар. Гидроксил ёки аминокрухи тутган полимерларга винил сулфонил грухларни киритиш мумкин. Бунинг учун матрицани кучли ишқорий мухитда дивинилсулфон билан ишланади. Бу фаоляция қилиш усули дивинилсулфон захарлиги туфайли фақат баъзи холлардагина ишлатилади.

Полисахаридларни фаоллашда самарали агент сифатида ароматик хинон қўлланилади. Чунончи, бензохинон билан реакция пХ нинг кенг интервалида (3 дан 10 гача) тез боради.

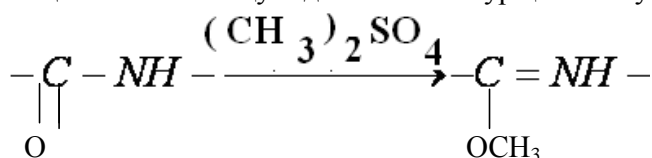
Галогенларнинг фаол атомига эга бўлган бирикмалар. Хлортриазинлар (масалан, цианурхлорид) ишқорий сувли органик мухитда полимерни гидроксил–ва амин – грухлари билан реакцияга киришади. Кўпинча бундай усул билан полисахаридлар ва уларнинг аминокрухи тутган хосилалари фаолланади, бироқ оксиллар (коллаген, кератин, фиброин) ҳам ишлатилади. Сунъий полимерлар орасида аминланган полистирол, поливинил спирт ва хлортиазин билан фаолланишлари мумкин.

Реакция кулай шароитида олиб борилади (пХ 7,5) самарали реагент сифатида трезил хлоридни (трифтор – этилсулфонилхлорид) олиш мумкин.

Алдегидли грухлар. Реакцияга мойил алдегид группларини киритишни бир неча йўл билан олиб борилади. Гидроксил грухига эга бўлган полимерлар, масалан, полисахарадлар, звено тузулишига диалдегидцеллюлоза таъсири натижасида оксидланиши мумкин. Полисахаридларнинг алдегидли хосилаларини қўллаш хлортриозил хосилаларига нисбатан фермент фаоллигини кам микдорда йўқотишни таъминлайди. Аминокрухи тутган полимерларга алдегид грухлар киритишни диалдегидлар, масалан, глутар диалдегиди ёрдамида ўтказиш мумкин. Бундай усул билан аминоэтилцеллюлоза, аминополистирол, ПААГ, полиамид ташувчи оксиллар ва бошқалар фаоллаштирилади.

Нихоят полимеризациялашда муносиб мономер топган холда алдегид грухларини киритиш мумкин. Масалан, полиакролеин ва натрий гидросулфит аддуктлари, тўйинмаган алдегид ва винилпирролидоннинг сополимерлари ва бошқаларни шу тариқа киритилади.

Имидоэфир грухлар (P - C = NH - OP). Бу грухларни киритиш полимер ташувчиларни фаоллантириш усули хисобланади. Диметилсулфат билан борадиган реакция схемасини куйидигича тасаввур қилиш мумкин.



Метанолли мухитда полимер нитрилларни водород хлорид билан ишлаш натижасида имидохосилаларни олиш мумкин.

Диазогрухлар.(-ННС).Диазогрухларни киритиш–ароматик грухларда аминокрухлар тутган ташувчиларни фаоляция қилишнинг кенг қўлланиладиган усули. Мисол тариқасида бу йўл билан тез-тез фаоляция қилинадиган п-аминобензил цэлюлозани айтиш мумкин. Аминохосилаларга жун, хитиннинг ароматис аминокхо- силалари, қисман гидролизланган полиамид ҳам киради. С. Икела ва С. Фукуи (1973) томонидан реакцияга киришга қодир диазогрухлар киритиш мақсадида сефарозани фаоллаштиришни ўта мураккаб схемаси таклиф қилинди.

Аминогрухлар. ОХ-грухлар тутган ташувчиларга бу грухларни кетма-кет диазотирлаш билан бирга киритиш бир неча усуллар билан олиб борилиши мумкин.

Одатда полисахаридларни п-нитробензой кислотасининг хлорангидриди билан ишланади ва NO_2 – грухини NH_2 – грухига қайтарилади.

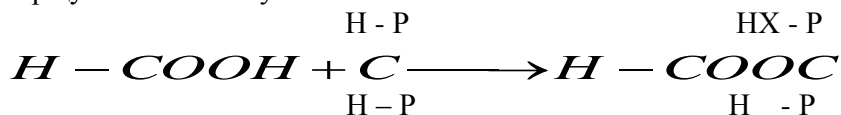
Поливинил спиртини ОХ-грухлари 2-(мета-аминофенил) – 1, 3-диакалон ёки 2- нитрофенилхлорметан таъсирида фаолланади.

Ташувчининг карбоксил грухларини фаоллаштириш. Ташувчининг фаоллаштиришнинг энг эски усулларида бири унга азид грухини киритишдир. Кўпинча шу мақсадда полисахаридларни карбоксилли хосилалари – цэлюлоза, декстран қўлланилади. Модификацияланган препарат этерификацияланиб, аввал гидразидга, кейин азидга ўтказилади. Азид олиш учун манбаа сифатида карбоксил грухи тутмаган полимерларни қўллаш мумкин, масалан, карбоксил грухи тутмаган полиакриламидёки гидроазин билан ишланган (“энзакрил АН”) полиамид, ферментни иммобилизация қилишдан олдин азидга осон айланади:

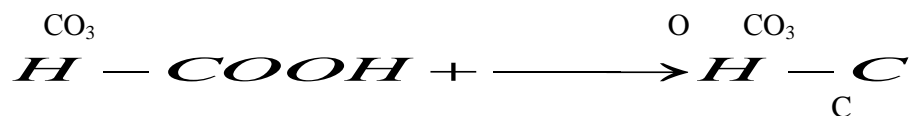


Кейинги вақтларда бир вақтнинг ўзида бир нечта қўшимча реакциялар кетиши учун ташувчида фаолмас амид ва карбомид грухларни вужудга келтирганлиги сабабли азидлаш усули кам қўлланиладиган бўлди.

Карбодиимидлар иштирокида ациллаш усули хозир кенг тарқалган. Карбоксиллар тутган полимерлар сифатида полисахаридларнинг хосилалари, акрил кислотаси асосидаги хар хил полимерлар, Н-винилпирролидон ва тўйинмаган кислоталарнинг сополимерлари ва бошқалар қўлланилиши мумкин



Нихоят карбоксил грухи тутган ташувчиларни энг самарали фаоллаш усулларидаман, Вудворд рефаоли (Н- этил 5-фенилоксазолит – 3¹-сулфонат) тиштирокидаги ациллашдир:

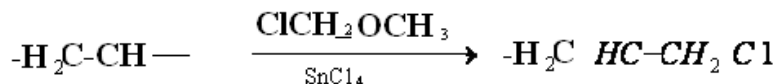


Бу жараён тез ўтиши, юмшоқ шароитларда кечиши ва киритилган фаол грухларни назорат қилиш ва шу каби бир қатор афзалликлари билан характерланади.

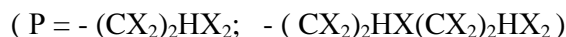
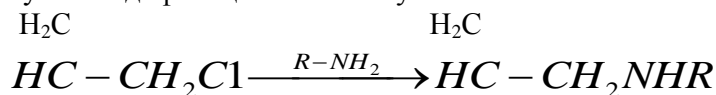
Амид грухларнинг хосил бўлиши қўшимча фаоллаштиришни талаб қилади. Уни бир неча йўллار билан амалга ошириш мумкин. Улардан бири – фермент билан ўзаро таъсирланишдан олдин хосил бўлган барқарор дихосилани алдегидгача оксидланишдан иборат.

Полиакриламидни кейинги фаоллашдаги бошқа йўли – диазогрухлар киритишдир.

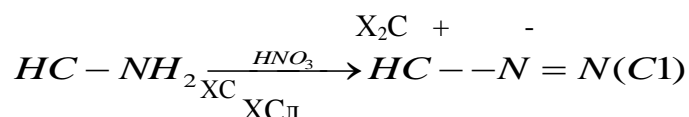
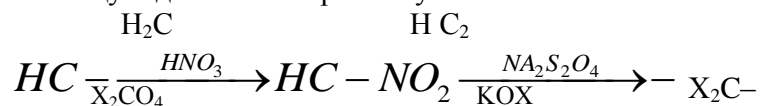
Бензол ядросининг модификациясини полистирол мисолида қараб чиқамиз. Полистирол матрицаларни модификацияланиш реакцияларидан энг кенг тарқалгани – хлорметиллаш ва нитролаш реакцияларидир. Хлорметиллаш бир неча усуллар билан олиб борилиши мумкин, масалан, SnCl_4 иштирокида монохлорметил эфирининг таъсири:



Хлорметил хосилалари, хлорметил грухларига нисбатан полистирол занжирларини тикланишидан чекланиши учун кўп миқдордаги амин билан тўла тўқис модификацияланиши мумкин:



Нитролаш жараёнида кейинги нитрогрухларининг қайтарилиш схемасини қуйидагича тасвирлаш мумкин:



Бундан ташқари, полимерларнинг бензол ядросини модификациялашнинг маълум усуллари сифатида, алдегид ва карбоксил грухларини киритишга асосланган.

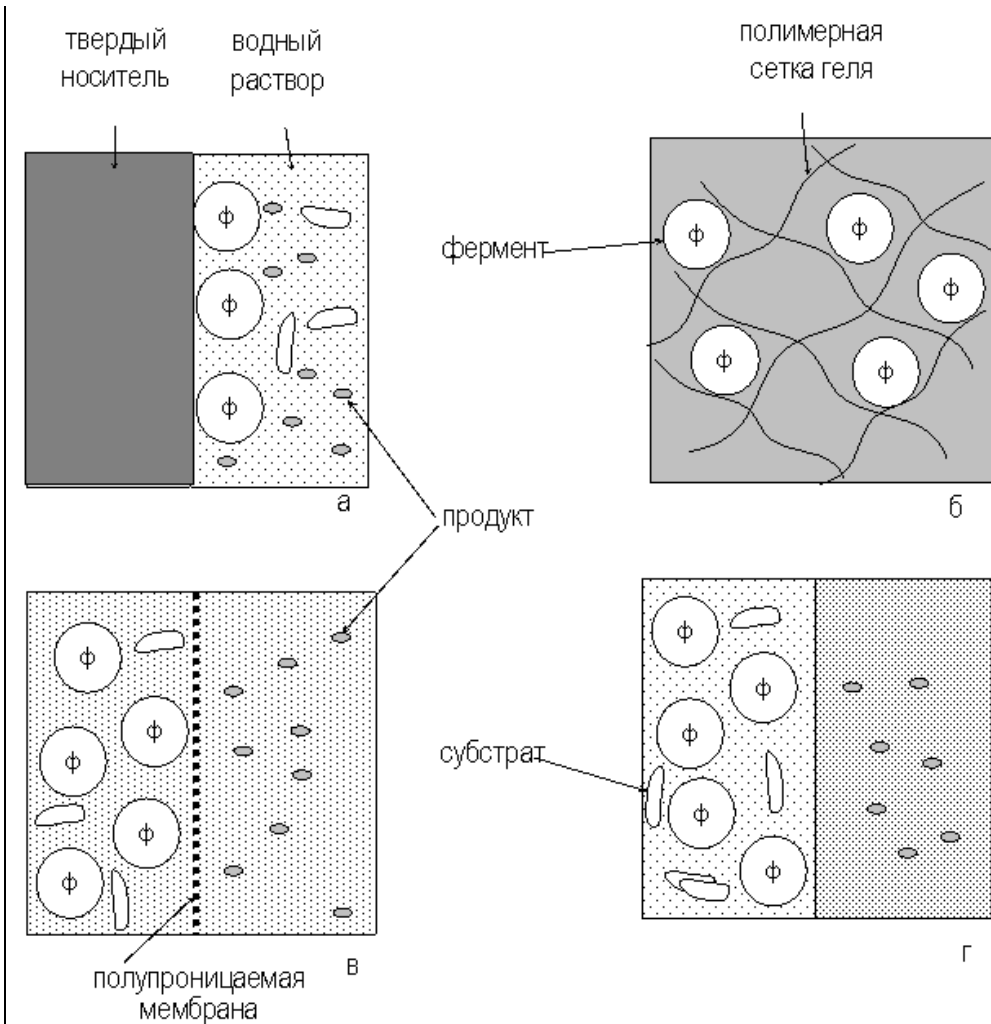
Шундай қилиб, ферментлар инжэнэрлиги кимё фани томонидан жуда катта миқдорда ташувчилар ва уларни фаоллаштириш усулларини қўллаши мумкин экан.

4.3. Ферментлар иммобилизациясининг физик усуллари

Ферментнинг иммобилизацияси деганда, унинг шундай бир мухитда киритилишини тушунмоқ керакки, бу мухитда фермент умумий хажмнинг маълум (чекланган) қисмидагина ўзининг хатти-харакатини эркин бажара олиши кэрак. Физикавий иммобилизацияда фермент ташувчи билан ковалент бог`лар орқали бирикмайди. Шунга кўра мавжуд физикавий иммобилизация усулларини қуйидаги тўрт грухига бўлиш мумкин.

- 1) эрмайдиган ташувчилар томонидан адсорбциялашга асосланган усуллар грухи;
- 2) ферментни гел (ивик) модда кўзанақларига киритишга асосланган усуллар грухи;
- 3) ферментни реакция система хажмидан ярим ўтказгич тўсиқлар (мембраналар) ёрдамида сақлашга асосланган усуллар грухи;
- 4) фермент шундай икки фазали реакция мухитга киритиладики, у мухитнинг бир қисмида фермент эрий олиши мумкин бўлган усуллар грухи.





Ферментларни ташувчиларга адсорбциялаш орқали имобилизациялаш

Ферментларни ташувчиларга адсорбциялаш орқали имобилизациялаш усули ферментлар имобилизациясининг энг қадимий усулларидан хисобланади. 1916 йилда Дж.Нелсон ва Э.Гриффин фаоллаштирилган кўмир ва алюминий гидроксиди гелига инвертаза ферментини адсорбция усулида имобилизациялаганлар. Адсорбцион имобилизация усули ўзининг усулик жихатдан оддийлиги билан ажралиб туради. Ташувчига фермент эритмасини кўшиб, адсорбцияланмаган ферментни бир неча мартаба ювиб ташлаш мумкин. Адсорбция йўли билан имобилизациялаш усулини қулайлиги ишлатиладиган ташувчиларнинг арзонлиги ва кенг тарқалганлиги билан характерланади. Ташувчиларни турли конфигурация ва г`овакли ҳолатларда олиш мумкин. Баъзи ҳолларда оқсил

молекулаларини ташувчига адсорбцияси ййэтарли даражада спецификликка эга бўлади. Ферментлар билан ташувчи орасидаги боғ`ни унчалик мустахам эмаслиги, бу усулнинг камчиликларидан биридир. Чунки реакция мобайнида ферментнинг ташувчидан десорбцияланиши қимматбахо биокатализаторни ййқотишга ва реакция махсулотларини ифлосланишига олиб келади.

Гелга киритиш ёли билан ферментларни иммобилизация қилиш

Гелга киритиш ёли билан ферментларни иммобилизация қилиш иммобилизация қилиш усулининг мохияти шундан иборатки, фермент молекуласи гел хосил қилувчи зич чирмашиб кётган полимер занжирларидан тузилган учламчи тўрға киритилган бўлади. Гелда қўшни занжирлар орасидаги ўртача масофа киритилган фермент молекуласининг катталигидан кичикроқ бўлади, шунинг учун фермент полимер қолипни ташлаб эритмага чиқа олмайди, яъни иммобилизацияланган ҳолатда бўла олмайди. Гелнинг тўрида ферментнинг ушланиб туришига фермент молекуласи билан атрофдаги – полимер занжир ўртасида ўзаро водород ва ион боғ`ларининг ҳам хиссаси катта.

Гелдаги полимер занжир орасидаги бўшлиқ сув билан тўлган бўлиб, у умумий гел ҳажмининг жуда кўп қисмини эгаллайди. Масалан, кенг қўлланиладиган бўлмиш акрил кислотаси хосилаларининг полимер геллари полимер концентрацияси ва унинг кимёвий табиатига караб таркибида 50 % дан 90% гача сув тутаяди.

Мономер фермент



а

Бифункционал боғ`ловчи агент

Полимер

Б



Гелнинг полимер тури

С



Гелга ферментларни иммобилизация қилишда иккита асосий усул мавжуд. Биринчисида, ферментни мономерли сувли эритмасига туширилиб, кейин полимеризация қилинади. Бунинг натижасида унга фермент молекуласи кирган полимер гел хосил бўлади. Кўпинча реакция аралашмаларига бифункционал (боғ`ловчи) моддалар солинади. Бу ўз навбатида полимернинг учламчи тур тузулишига ўтиши учун ёрдам беради. Биринчи бўлиб бу усул П. Бернфелд ва Дж. Уэн (1963) томонидан қўлланилган бўлиб, улар радикал полимеризация йўли билан олинган Н, Н –

метилен бис-акриламид гелида, бир қатор ферментларни (трипсин, рибонуклеаза ва α -амилаза) иммобилизациясини ўтказишди.

Иккинчи усул шундан иборатки, бунда ферментни тайёр полимер эритмасига солинади, сўнг полимерни бирор бир йўл билан гел ҳолатига ўтказилади.

Органик геллар қўллаш. Бу усулнинг моҳияти шундаки, иммобилизация қилиш учун таркибий қисми асосан мономер ташувчи агент ва буфер эритмасидан ташкил топган реакцион аралашма тайёрланади. Баъзида аралашмага гел ҳосил қилиш жараёнида фермент инфооляцияга учрамаслик мақсадида, полимеризация қилиш учун қўшимча моддалар киритилади. Гел ҳосил қилиш учун тайёрланган аралашмага мономерни полимеризация қилиш жараёнининг тезлаштирувчи бирор фактор таъсир эттирилади.

Полимеризацияни ўтказиш. Полимеризацияни ўтказишда тикувчини мономернинг концентрациясига нисбатан 30-60% ва реакцион аралашманинг умумий оғирлигига нисбатан 5% ни ташкил этади. Полимеризация радикал механизм асосида боради. Полимеризация жараёнининг ташаббускори бўлган радикаллар эркин радикаллар ҳосил қилувчи баъзи бир оксидланиш-қайтарилиш ҳамда фотохимёвий реакцияларда хизмат қилади. Жуда кўп қўлланиладиган оксидловчи-қайтарувчи моддалар қаторига калий ёки аммоний персульфати $-N, N, N^1, N^1,$ -тетраметилендиамин жуфти ишлатилади. Полимеризация реакциясини ташқи таъсир остида тезлаштириш (иницирлаш), бу моддаларни мономер эритмасига қўшиш билан амалга оширилади. Фотохимёвий инициатор сифатида рибофлавин ишлатилади. Бу ҳолда полимеризация, ёруғликнинг кучли манбаи таъсирида, реакцион аралашмани нурлантириш натижасида содир бўлади. Полимеризация жараёнининг бошланиши учун керак бўлган эркин радикаллар мономер эритмасида – ёруғлик ёки электронлар тўлкини таъсирида ҳам ҳосил бўлади. Бу усулнинг афзаллиги шундан иборатки, бунда дастлабки эритмага инициаторларнинг қўшилиши чекланган бўлади.

Иммобилизация қилиш жараёнида полимеризация реакциясининг содир бўлиши туфайли баъзи бир хусусиятларга бог`лиқ бўлган қийинчиликлар дуч келиши мумкин. Масалан, эритмадаги молекуляр кислород таъсирдан полимеризация жараёнининг тўхтаб қолиши ва кўп ҳолларда ундан қутилиш учун эритмани олдиндан инерт газлар – (азот ёки аргон) билан тўйинтирилади. Бундан ташқари полимеризация бўлиш вақтида кўп миқдорда иссиқлик ажралиб чиқади ва полимер ичидаги ҳосил бўлган блокнинг хароратини $45^{\circ}C$ гача кўтарилишига олиб келади. Бундай қаттиқ исиш ферментларни инфооляцияга учрашига сабаб бўлади. Шунинг учун полимеризацияланаётган эритма хароратини $20-25^{\circ}C$ да ушлаб туриш керак бўлади.

Агар полимеризацияни музлатилган ва $-80^{\circ}C$ гача совитилган эритмани ўнурлантириш таъсирида ўтказилса, у ҳолда ферментни кислород ва иссиқлик таъсирдан асраш мумкин.

Полимеризация қилиш тугагандан кейин иммобилизация қилинган фермент туган полимерланган гел блоки ҳосил бўлади. Полимеризация

қилиш вақти шароитига қараб (мономер табиати, инициаторлар миқдори, харорат ва хоказо) бир неча дақиқадан бир неча соатгача давом этиши мумкин. Натижада хосил бўлган гелда ортиб қолган мономер ва инициаторлар бўлиши мумкин. Булардан қутилиш учун гелни кўпинча механик равишда майдалаб, буфер эритмаларда ювилади. Агар керак бўлса, узок сақлаш учун қуритилади.

Полимеризация вақтида ферментнинг нофаол бўлиб қолиши

Полимер гелни хосил бўлиш жараёнида фермент хар хил денатурация қиладиган таъсирларга учрайди ва бунинг натижасида унинг фаоллиги камайиши ва бутунлай йўқолиши мумкин.

Полимеризация қилишда иссиқлик таъсир этишидан ташқари реакцион аралашмалар (биринчи навбатда мономерлар) фермент денатурациясини содир қилиши мумкин. Масалан, акриламид ўзининг денатурация қилиш хусусиятига кўра карбамидга яқин туради. Полиакриламид эса бундай хусусиятга эга эмас. Шунинг учун хам иммобилизация қилишнинг хам асосий босқичи полимер гелни хар гал мономер ва инициатор қолдиқларидан ювиш хисобланади.

Ферментлар фаолсизланиши радикал полимеризацияланиш жараёнида хосил бўлган эркин радикаллар таъсири остида хам вужудга келиши мумкин. Ферментни мана шундай таъсирлардан сақлаш учун баъзи холларда реакцион аралашмаларга барқарор холга келтирувчи қўшимча моддалар қўшилади. Бундай қўшимчалар жумласига, масалан, инерт оксиллар (кўпинча албумин) ёки шу фермент ёрдамида катализга учрайдиган субстрати моддаларни киритиш мумкин.

Анорганик геллар. Ферментларни иммобилизация қилиш учун поликремний кислотасининг гели (силикагел)ни ишлатиш мумкин. Иммобилизация қилиш усули шундан иборатки, силикагелга (ёки бирор кремний органик бирикманинг гидролизи натижасида хосил бўлган гелга) фермент эритмаси қўшилади. Бир неча соатдан кейин ўз-ўзидан полимерланиш хисобига кремний атомларидан ташкил топган кислород бог`лари билан бог`ланган учламчи тўрдан иборат гел хосил бўлади. Олинган гел қуритилади, майдаланади ва бог`ланмаган ферментдан узиб ташланади.

Баъзида ферментлар иммобилизацияси учун калций фосфат гели қўлланилади. Бундай холларда фазовий тўрни хосил бўлиши ковалент бог`ларга эмас, ион бог`лар туфайли вужудга келади.

Тикилмаган полимер геллар. Бундай иммобилизация қилиш усули табиий поликанд (полисахарид)ларнинг хусусиятларига бог`лиқ. Булар жумласига, крахмал, агар-агар, каррагинан ва агарозаларни киритиш мумкин, бу моддаларнинг иссиқ сувли эритмалари совутилганида геллар хосил бўлади. Уларни тайёрлаш қуйидаги усулда олиб борилади: полисахариднинг сувли суспензиясини (аралашмасини) обдон эриб кэтиши учун 80-90⁰С гача қиздирилади ва хосил бўлган эритма аста-сэкин совитилади. Гел хосил бўлиши бошланишидан олдин (кўпинча 30⁰С ва 50⁰С орасида) системага ферментнинг сувдаги эритмаси қўшилади. Гелнинг

кейинги совитилиши натижасида иммобилизация қилинган фермент хосил бўлади. Иммобилизация қилинган препаратнинг механик хусусиятларини такомиллаштириш учун гел хосил бўлиш жараёнини баъзан полиуретан кўпигидан тайёрланган элактлар (г`алвирлар) ёрдамида амалга оширилади.

Ферментларни иммобилизация қилиш учун кенг кўламда қўлланиладиган бошқа табиий полимер коллаген хисобланади. Коллаген ёрдамида ферментларни иммобилизация қилишнинг асосан уч хил усули мавжуд: макромолекуляр комплекс хосил қилиш, бевосита (импрегирование) ва электр ёрдамида чўктириш. Макромолекуляр комплекс хосил қилишда коллаген пХ кўрсаткичи кичик (2 – 4,5) ёки юқори (8,5 –12) бўлган сувли эритмаларда майдаланади ва сўнгра, фермент қўшиб аралашмани 12-20 соат давомида сақланади. Хосил бўлган аралашмани юпқа қават қилиб инерт пластинкага қўйиб қуритилади.

Натижада фибрилл коллагенидан тўкилган учламчи девор тузулишига эга бўлган, ўзида фермент тутган оқсил мембранаси вужудга келади. Макромолекуляр комплекс хосил қилиш усули кислотали ва ишқорий эритмаларга чидамсиз ферментларни иммобилизация қилишга ярамайди, чунки бу усул ферментни узоқ вақт маълум пХ кўрсаткичи экстремал мухитда сақлашни талаб этади. Иммобилизацияни бевосита (импрегнирлаш) йўли билан олиб борилса, бу қийинчиликни чеклаб ўтиш мумкин; бунинг учун фермент эритмасининг тайёр коллаген мембранага сингдирилади.

Электр ёрдамида чўктириш усули билан иммобилизация қилишда дисперс коллаген аралашмаси ва фермент эритмаси электродлар орасига жойланиб, ток уланади. Электр майдон таъсири остида фермент ва коллаген молекулалари электродларнинг бири томон (эритманинг пХ ига бог`лик холда) сурила бошлайди ва унинг юзасида мембранага ўхшаб чўкади. Бу усул шуниси билан қулайки, у жараённинг умумий юқори тезлигида исталган қалинлик ва конфигурациядаги мембрана олишга имкон беради. Бу вазият жуда мухим хисобланади, чунки пХнинг ноқулай кўрсаткичлари таъсири остида ферментнинг инфоляцияга учраш эхтимоли камаяди.

Тикилган полимер геллар

Ковалент чок киритилиши билан полимер асослари (матрицаси) механик мустахкамлигини оширишга ва киритилган ферментнинг қаттиқроқ ушланиб қолишига ёрдам беради. Полимер занжирлар ўртасида чок хосил бўлишига эришиш мумкин. Масалан, юқорида ёзилган полисахарид геллар ҳам тикувчи бифункционал реагентлар билан тикилиши мумкин.

Дархақиқат, коллаген мембраналарни ишлаш (сайқаллаш) учун глутар алдегиди қўлланилади. Ундан иммобилизация учун тикилган матрицалар олишда бошқа оқсиллар ҳам ишлатилади.

Бифункционал тикувчи реагентлар билан сайқаллашда илгари кенг тарқалган полисахарид геллар ҳам учрайди.

Ферментларни тикилган оқсил матрицасига киритиш усули ҳам мавжуд. Бунда фибриноген – тромбин системасини қўллашга асослаган.

Иммобилизация қилиш— нинг бундай усулида фибриноген ва фермент буфер эритмасига тромбин оксиди қўшилади. Бунинг таъсири остида фибриноген учламчи тўр хосил қилувчи фибринга —яни, полимер оксидга айланади. Бундай усул билан иммобилизация қилинган фермент препаратини технологик мақсадга тавсия этилади, унинг баҳоси жуда юқори. Лекин у захарлилик ва антигенликдан мустасно бўлганлиги учун тиббиётда қўллаш катта қизиқиш уйғ`отмоқда.

Гелнинг полимер занжирлари орасида электростатик ўзаро таъсир хисобига мустахкам бог` хосил қилишга эришиш мумкин. Поливалент катионлар иштирокида полиэлектрولитларнинг гел хосил қилиши синтетик полиэлектрولитларнинг малеин ангидриди сополимерини ва винил спиртининг метилини қўллаш усулига асосланган.

Полиэлектрولит комплексларини қўллашга асосланган ажойиб иммобилизация қилиш усули 1980 йилда таклиф қилинган. Бу ҳолда мусбат заряд Н-алкилланган поливинилпиперидинга ковалент тикиш йўли билан фермент модификация қилинади ва манфий заряд тутган полиметакрил кислотасининг сувдаги эритмасига солинади. Мухитдаги pH ва ион кучига бог`лиқ ҳолда қарама-қарши зарядланган полиэлектрولитлар бўлмаган эритмада мавжуд бўлади ёки ферментни чўкмага чўктирган, эримайдиган мустахкам комплекс хосил қилади. Шуни ҳам эътиборига олиш керакки, эрийдиган ва эримайдиган ҳолатлар ўртасидаги ўтиш қайтар хисобланади, улар ион кучи ёки pH нинг жуда кичик чегарасида (диапазонида) юзага чиқади. Гомоген эритмада кечадиган ферментатив реакция тугагандан кейин, ион кучи ёки pH ни ўзгартириш йўли билан фермент чўкмага туширилади ва ўзида маҳсулотлари тутувчи (кристалланишдан қолган) эритма ажратилиб олинади. Сўнгра чўкма эритмага солинади ва бутун жараён бошидан қайтарилади.

Иммобилизация қилиш учун тикилган геллар бошқа синтетик полимерлар асосида ҳам олиниши мумкин. Масалан, поливинил спирт ҳамда поливинил пирролидонга нурлар ёғ`дириш ёки полимер занжирга электренлар оқими таъсир эттириш натижасида эркин радикаллар хосил бўлади. Кейин улар бир-бирига таъсир этиши натижасида занжирлар орасида ковалент бог` (чок) хосил бўлади. Иммобилизация қилиш учун тикилган полимер матрицани кремний органик полимер полиметил силоксан асосида ҳам олиш мумкин. Қаттиқ гел хосил бўлиши учун полимер ва ферментдан иборат системага вулканизация қиладиган модда киритиш керак бўлади, бу ўринда икки валентли қалай октаноати қўлланилади.

Кейинги вақтларда ферментнинг фотополимеризация қиладиган смолалардан тузилган полимер матрицага киритиш йўли билан уларни иммобилизация қилиш усули кенг қўламда қўлланилмоқда. Улар фотосезгир функционал грухи тутган олигомерлардан ёки полимерлардан (макромономерлардан) ташкил топган бўлади. Иммобилизацияни ўтказиш вақтида смола фермент ва инициатор тутган эритмани бир неча дақиқа давомида ультрабинафша нур билан ёритилади. Нур таъсири натижасида

фаолланган фотосезгир грухлар ўзаро ковалент бог` хосил қилади, бунинг натижасида фермент молекулалари киритилган, тикилган учламчи полимер тўр хосил бўлади. Иммобилизация қилишнинг бу усули шундай афзалликка эгаки, бунда хосил қилинган полимер гелларнинг хоссалари керакли макромномер танлаш орқали мақсадга мувофиқ равишда ўзгаради.

Гел таркибидаги иммобилизация қилинган фермент препаратининг каталитик фаоллиги киритилган фермент миқдорининг ошиши билан ўсади. Дастлабки гелни тайёрлаш учун ишлатиладиган аралашмадаги фермент концентрациясини ошириш билан ҳам бундай самарага эришиш мумкин. Лекин шу нарсани кўзда тутиш керакки, хосил бўладиган системаларда оксилларнинг гелда эрувчанлиги сувдаги буфер эритмадаги эрувчанлигига нисбатан анча кам бўлиши мумкин.

Гелда ферментнинг борлигини аниқловчи бошқа бир омил – гелнинг тузулиши, яни ундаги г`овак (тешик) ларнинг катта-кичиклигидир. Тешиклар диаметри қанчалик кичик бўлса, гел матричасида фермент шунча самарали ушланиб туради. Бинобарин, иммобилизация қилинган фермент препаратининг каталитик фаоллиги ҳам катта бўлади.

дастлабки аралашма таркибини ўзгартириш билан гелнинг г`оваклигини ўзгартириш мумкин. Масалан, акрил кислотанинг хосиласини полимерлаш билан олинга гелларнинг зичлиги мономерининг дастлабки концентрацияси ошиши билан ортади. Шунинг унутмаслик керакки, мономернинг жуда юқори концентрацияси ферментларни денатурацияга учратиши мумкин. Шу боис иммобилизация қилинган ферментнинг каталитик фаоллиги мономернинг дастлабки концентрациясига бог`лиқлик чизиг`и кўпинча маълум максимумга эга бўлади. Аслида у мономернинг 30-60% ли концентрациясига мувофиқ келади. Кўзанақлар катталиги мономер эритмасига қўшилаётган тикувчи агент концентрациясига ҳам бог`лиқ.

Акрил полимерларда эса бу бог`ланишнинг эгри чизиг`и тикувчи тахминан 5% концентрациясида минимумга учрайди. Бундай тикувчининг концентрациясида системага киритилган фермент фаоллиги максимумга эришади.

Ферментларнинг кириш самараси гел г`овакларининг диаметри ошириш билангина эмас, балки фермент глобуласи ўлчамининг катталигига ҳам бог`лиқ бўлади. Шунинг учун гелдан кичик молекуляр массаси ферментларни ювилиб кэтишини олдини олиш учун баъзида иммобилизация қилишдан аввал ферментни глутар алдегид билан ишланади. Бунинг натижасида полимер матрицада қаттиқ ушланиб қолувчи катта ковалент тикилган оқсил хосил бўлади.

Гел зарраларининг катталиги. Гелда фермент концентрациясининг ошиши хар доим, ҳам иммобилизация қилинган препаратнинг каталитик фаоллигини оширавермайди, чунки, ферментнинг юқори концентрацияда бўлганида субстратнинг хаммаси гел заррасининг юза қатламидаёқ унинг ичида жойлашган фермент молекуласига тегмай қолади. Бунинг натижасида каталитик потенциал тўла-тўқис ишга тушмайди, шу сабабдан ферментнинг кузатилаётган умумий солиштирма фаоллиги камаяди.

Гелда иммобилизация қилинган препарат майдаланган холда ишлатилса, бундай самарасиз таъсирни камайтириш мумкин. Дархақиқат, полиоксиметилакрилат гелига иммобилизация қилинган α -галактозидаза билан катализланаётган реакция тезлиги гелни майдалаганда ошади ва гел зарраларининг катталиги 120 мкмга келтирилганида реакция тезлиги максимумга етади. Майда зарралар шаклидаги гелларга иммобилизация қилинган ферментлар хосил қилинишининг бир неча хил усулларини кўриб чиқамиз.

Энг содда усул шундан иборатки, бунда полимер гелининг блоки майда тешикли элак хамда гомогенизаторда уқалаш йўли билан механик майдаланади. Аммо бу усул бир қатор камчиликларга эга. Олинган зарраларнинг механик мустахкамлиги кам бўлади, улар бир хил шакл ва бир хил катталиқка эга бўлмайди. Бундан ташқари, майдалаш вақтида гелнинг сирт қисмида қолган фермент молекулалари ундан осон ювилиб кетади ва бу катализаторнинг йўқолишига олиб келади.

Юқорида айтиб ўтилган камчиликларни гел зарралари олишнинг эмулсион усулини қўллаш натижасида ишлаш билан бартараф қилиш мумкин. Бу холда фермент мономер полимеризация инициаторидан иборат сувли эритмани тайёрлаб бўлингандан кейин дархол қутбсиз сиртни сирт фаол модда тутган органик эритувчига (масалан, толуолнинг хлороформ билан аралашмасига) ва хосил бўлган аралашмани тўхтовсиз чайқатилиб туришга тўғри келади. Натижада органик мухитда полимеризация бўладиган эритманинг сувли томчисидан иборат дисперсияланган эмулсия хосил бўлади. Полимеризация қилиш тугагандан кейин шар шаклидаги гел зарралари филтрланади ва таъсирланмаган мономер ва сирт фаол модда ювиш орқали системадан чиқариб юборилади. Олинаётган зарраларнинг катталиги ўтказилаётган жараённинг шароитига (мономер концентрациясига, аралаштириш тезлигига) қараб бирдан то 100 микрометр гача ўзгариб туради.

Эмулсион усулнинг яна бир афзаллиги шундан иборатки, полимеризация вақтида ажралган иссиқлик таъсирида системадаги фермент инфаоляция бўлишдан чекланади, чунки майда, дисперс системада иссиқлик узлуксиз равишда ташқи мухитга чиқиб туради. Шарсимон гел зарралари ёйилганида тор жойни ишғол қилади (ўртача диаметрдан чекланиш 10% ни ташкил этади) ва юқори механик мустахкамликка эга бўлади. Уларнинг механик мустахкамлиги майдалаш йўли билан олинган гелнинг мустахкамлигига қараганда ўн марта ортиқ бўлиши мумкин. Эмулсион усулни ишлатганда (қўллаганда) шу нарсани назарда тутиш керакки, стабил эмулсия олиш қўлланилаётган баъзи сирт фаол моддалар ферментлар денатурациясини вужудга келтириши мумкин.

Бундан хам майда полимер зарралар (нано зарралар) микроэмулсияларда (полимеризация қилиш йўли билан) тайёрланиши мумкин.

Қутбланмаган органик эритувчиларда мицелла хосил қиладиган баъзи мономер ва ферментнинг сувдаги аралашмасини солюбилизацияга

учратадиган сирт фаол моддалардан фойдаланилади (Солюбилизация – оддий сувда эримайдиган қаттиқ жисмларнинг сирт фаол модда қўшилганида эриб кетиш ходисаси). Солюбилизация натижасида сирт фаол модда билан стабиллаштирилган сувдаги аралашманинг жуда майда томчиларидан тузилган микроэмулсия вужудга келади. Ультрабинафша нур билан ёритилганда полимеризациянинг инициаторлари вужудга келади ва бу томчилар (зарралар) катталиги қўшилган сувнинг миқдорига қараб, бир неча қисмдан бир қанча нанометрларгача ўзгаради. Олинган нанозарраларни органик эритмадан ацетон ёрдамида чўктирилади ва центрифуга ёрдамида ажратилиб, қурилади.

Аммо технологик реакторларда майда зарраларга иммобилизацияланган биокатализаторларни қўллаш ҳар доим ҳам мақсадга мувофиқ бўлавермайди. Масалан, майда зарраларнинг юқори гидродинамик қаршилиги оқиб турадиган реакторларда катта қаршилик кўрсатади, вақт-вақти билан ишлайдиган реакторларда уларни реакция мухитидан (аралашмадан) ажаратиш қийин. Шу боис ҳар бир муайян ҳол учун оптимал зарралар катталиги учун куйидаги омилларни, яни (киритилган ферментнинг фаоллиги ва миқдори, гелдаги субстратнинг диффузия тезлиги ва реакторлар конструкциясини) ҳисобга олиш талаб қилинади.

Амалий нуқтаи назаридан қараганда қўшалок иммобилизация деб ном олган усул анча қулай. Бунда қаттиқ ҳолатдаги ташувчига адсорбция йўли билан олдиндан иммобилизацияланган фермент гелга киритилади (ёки фермент киритилган полимер гелни олинади).

Бундай йўл билан иммобилизацияланган препарат ферментли қават қопланган гел қаттиқ ҳолатдаги зарраларидан тузилган бўлади. Қўшалок иммобилизация усули матрицада (ва полимер гелда) юқори солиштира юзага келиши, механик мустаҳкамлик, г`оваклик, муайян шакл каби хусусиятларнинг мавжудлиги билан устун туради.

Полимер матрицанинг табиати

Иммобилизация учун қўлланиладиган полимер геллар киритилган ферментларга оптимал микромухит яратади, бу эса ўз навбатида иммобилизацияланган препаратнинг юқори каталитик фаолликка эришишига ёрдам беради. Микромухитни оптимизация қилиш, системани танлаш билан олиб борилади. Акрил кислотанинг ҳосилалари асосида тайёрланган геллар шу нуқтаи назардан қулай ҳисобланади. Дастлабки мономерларнинг кимёвий табиатини ва нисбатини ўзгартириб маълум бир ферментатив реакцияга мос келувчи характеристикага эга бўлган полимер матрицаларни олиш мумкин. Чунончи, электр зарядга эга бўлган мономер бўғ`инларни полимер таркибига киритилиши билан зарядланган субстрат иштирокида олиб бориладиган реакцияларда, иммобилизацияланган препаратнинг каталитик фаоллиги ошади. Масалан, мусбат зарядланган б-Н-бензоил- L-аргининнинг этил эфири полиакриламид гелига иммобилизацияланган трипсин таъсирида гидролизнинг тезлиги полимер занжирга сополимеризация йўли билан акрил кислотанинг манфий

зарядланган мономер бўғ`инлари киритилиши билан ошади. Ферментатив реакция тезлигининг ошиши мусбат зарядланган субстратнинг манфий зарядланган полимер матрицага нисбатан ўхшашлиги деб тушинилади.

Шунга ўхшаш полимер матрицани субстрати гел ва унинг атрофидаги эритма орасида таркалишга таъсири, гидрофоб субстратлар иштирокида борадиган реакцияларда ҳам кузатилади. Бу ҳолда иммобилизацияланган ферментнинг каталитик самарасига қутбланмаган мономерлар иштирокида сополимеризация йўли билан олинган гел иштироки билан эришилади. Бундан ташқари, юқори гидрофобликка эга бўлган полимер гелларни қўлланилиши, қутбланмаган органик эритувчи муҳитда ишлашга қодир бўлган, иммобилизацияланган фермент препаратларини олишга имкон яратади.

Полимер занжирига ион грухига мансуб бўлган гелнинг киритилиши фермент молекуласи атрофида буферлик хоссаларга эга бўлган муҳитни вужудга келтиради. Бунинг натижасида иммобилизацияланган фермент ишлайдиган пХ кўрсаткичи гел заррачасининг атрофидаги эритмани пХ кўрсаткичидан фарқ қилиши мумкин, бу ҳолат тажрибада ферментатив реакциянинг пХ оптимуми кўрсаткичининг силжишини кўрсатади. Шундай қилиб, гелдаги зарядланган грухларнинг миқдорий нисбатини ўзгартириб, ташқи эритма пХ кўрсаткичини вужудга келтириши мумкин.

Ферментларни полимер гелга киритиш билан иммобилизация қилиш усули оддийлиги билан ажралиб туради. Бу усул билан ҳар қандай геометрик конфигурацияга эга бўлган шарсимон заррача, плёнка ва иммобилизацияланган препаратларни яратиш мумкин. Хосил бўлган препаратда биокатализатор ташувчи ҳажмида бир тэкисда тарқалган (ёйилган) бўлади. Кўпгина полимер геллар юқори механик, кимёвий ва иссиқлик таъсирларига чидамли бўлади, бу уларнинг асосида иммобилизацияланган препаратларни кўп маротаба ишлатиш мумкинлигини билдиради. Усул универсалдир, чунки ҳар қандай ферментни ҳамда полифермент системани ва хужайра қисмларини, ҳатто хужайранинг ўзини иммобилизация қилиш мумкин.

Усулнинг асосий ахамияти шундан иборатки, кўп ҳолларда гелга иммобилизацияланган ферментлар стабил (барқарор) бўлиб қолади. Нихоят, гелга киритилган фермент, бактериал зарарланишидан сақланган бўлади, чунки, бактерияларнинг катта хужайраси майда г`овакли, полимер матрицага кира олмайди.

Усулнинг асосий камчилиги шундан иборатки, полимер матрица субстратнинг ферментга диффузиясига тўсқинлик қилади ва шу билан иммобилизацияланган препаратнинг каталитик самарасини юқори молекуляр бирикмалар катнашса, бу иммобилизация қилиш усулига мувофиқ келмайди.

Иммобилизация қилиш усули асосида ётган умумий негиз шундан иборатки, бу ферментнинг сувдаги эритмаси субстратнинг сувдаги эритмасидан ярим ўтказувчан мембрана орқали ажратилади. У субстратнинг майда молекулаларини ўтказиб, ферментнинг катта молекулалари учун

тўсиқ хисобланади. Усулнинг мавжуд модификациялари бир-биридан фақат ярим ўтказгич табиати ва олинишига қараб фарқланади.

Микрокапсулага киритиш усули. Ферментларни иммобилизация қилишнинг бу усули 1964 йилда Т. Чанг томондан кашф қилинган. Унинг мохияти шундан иборатки, ферментнинг сувдаги эритмаси, ингичка полимер мембранадан ташкил топган шарсимон микрокапсула ичига киритилади.

Микрокапсулаларни олиш шаройтига қараб, уларнинг катталиги бир неча 10 дан то 100 микрометрчага ўзгарди. Мембрананинг қалинлиги нанометрни 100 дан бир қисмини, тешик диаметри бир неча нанометрга тенг бўлади. Микрокапсулалар олишнинг икки хил усули мавжуд. Биринчиси, ферментнинг сувдаги эритмаси эмулгаторлар сифатида қатнашадиган сирт-фаол модда (СФМ) тутган, диэтил эфирида тез аралаштириб, дисперсланади.

Олинган эмулцияга аралаштириб туриб, полимернинг эфирли эритмаси солинади ва бу ўринда кўпинча цэлюлоза нитрати ишлатилади. Сувда эрмайдиган полимер эмулсион томчилар сирти билан тўқнашиб ингичка кобикли микрокапсулани вужудга келтиради. Тайёр бўлган микрокапсулани цэнтрифугалаш (ёки филтраш) йўли билан ажратилиб, сўнгра ювилади.

Микрокапсулалашнинг иккинчи усулида сувдаги микротомчилар сиртида мембрананинг хосил бўлиши икки компонентнинг фазалараро поликонденсацияси натижасида амалга ошади. Булардан бири эмулсиянинг сувдаги томчисида, иккинчиси эса органик фазада эриган бўлади. Кенг тарқалган микрокапсулалардан бири полиамидли микрокапсулалардан иборат. Улар, масалан, 1,6-гексаметилендиаминни (сувли фаза) ва сабацин кислотанинг хлорангидридини (органик фаза) поликонденсацияси натижасида олинади. Бу усул фақат пХ кўрсаткичи юқори бўлган мухитлардагина инфоляцияга учрамайдиган, диаминнинг сувли эритмасида яшайдиган ферментлар учун қўлланиши мумкин.

Микрокапсула олиш учун қўлланиладиган ферментнинг сувдаги эритмаси, тахминан концентрацияси 10% га тенг инерт оксилга (кўпинча гемоглобинга) эга бўлмоғи керак. У микрокапсулаларни ферментнинг керакли ички босим билан таъминлайди ва уни стабиллайди (барқарорлайди). Микрокапсулага киритилган ферментни барқарорлигини ошириш учун кўпинча уни микрокапсула ичида оксил полимерларини вужудга келтирадиган глутар алдегид билан ишланади. Бундан ташқари микрокапсулалашдан олдин гелга киритиш ёки ташувчини адсорбция қилиш йўли билан ферментни олдиндан иммобилизациялаш усули билан юқори барқарорликка эришиш мумкин.

Баъзи холларда иммобилизация қилиш учун инерт оксил молекуласи ўзаро ковалент бог` билан тикилган мембранадан тузилган микрокапсулалар қўлланилади. Бундай капсулаларни қуйидагича олиш мумкин: агар поликонденсация усулини қўллашда системага диамин киритилмаса, у холда дикарбон кислотасининг хлор ангидриди (ёки бошқа органик эритмалардан қўлланиладиган бифункционал тикувчи агент) нинг сувдаги

микротомчи юзасида жойлашган инерт оксил молекулалар чокларини бирлаштирадиган ковалент бог`ларни хосил қилади.

Қўш эмулсиялаш усули. Қўш эмулсиялаш усули билан иммобилизация қилишда (Т. Чанг, 1965) авваламбор полимернинг органик эритмасида ферментнинг сувдаги эритмаси билан эмулсия тайёрланади. Тайёр эмулсияни сувда яна дисперс ҳолатга келтирилади. Натижада полимернинг органик эритмаси томчиларидан иборат сувли эритма хосил бўлади. Ўз навбатида киритилган ферментни сувли эритмасининг томчиларидан иборат бўлади.

Бир қанча вақтдан кейин органик эритма қотади. Натижада ўз таркибида иммобилизация қилинган ферментни тутувчи шарсимон полимер шарлар хосил бўлади.

С. Мэй ва Н. Ли (1972) бу усулнинг модификациясини таклиф этдилар. Бунда мембрана хосил қилувчи ашё сифатида сувда эримайдиган ва қотиб қоладиган полимер ўрнига юқори молекуляр массага эга бўлган суюқ углеводлар ишлатилди. Усул "суюқ мембранага фермент киритиб уни иммобилизациялаш усули" деган ном билан юритиладиган бўлди.

Толага ферментни киритиб иммобилизация қилиш

Д. Динелли томонидан (1972) таклиф қилинган толага ферментни киритиб иммобилизация қилиш усули микрокапсула усулидан авваламбор олинадиган препаратнинг шакли билан фарқланади. Биринчи усулда шарсимон капсула, иккинчи усулда эса ипсимон шакл хосил бўлади. Толага ферментни киритиб иммобилизация қилиш усулининг мохияти қуйидагидан иборат: органик эритмада тола хосил қилувчи полимерага (целюлоза хосилалари, поливинилхлорид, поли-метилглутамат) ферментнинг сувли эритмаси эмулсиясини филтрлар ёрдамида полимерни коагуляция қилувчи суюқлик (масалан, толуол)га босим билан эзиб туширилади. Натижада ўзида дисперс ҳолатдаги ферментнинг сувли эритмасининг (ўлчамлари 1 мкм атрофида бўлган), томчиларини сақловчи г`овак полимер тешик гел хосил бўлади. Ферментга эга бўлган бундай толалар юқори механик таъсирга чидамли хоссани намоён қилади.

Масалан, улардан ферментатив фаолликка эга бўлган тўқима (газлама) тайёрлаш мумкин. Толанинг қўшимча механик чидамлигини ошириш учун баъзида уни ингичка полиамид қобикка киритиб қўйилади.

Бундан ташқари, ферментларни иммобилизация қилиш учун оксилларни диализ усули билан тозалайдиган саноатда кенг қўлланиладиган тайёр г`овак (тешик) полимер толаларни қўллаш ҳам мумкин. Г`овак (тешик) толаларни табиий ёки синтетик полимерлардан (целюлоза, поливинилхлорид, полисульфон, полиакриламиддан) тайёрланади. Уларнинг мембрана қалинлиги бир неча ўн микрометрга тенг бўлганда ташқи ва ички диаметри бир неча юз микрометрдан иборат бўлади. Фермент эритмаси оқиб турадиган (циркуляция) толада ферментатив реакцияни ўтказиш учун ўзида субстрат эритмасини сақловчи суюқликка фермент оқиб турган тола туширилади, шунда толанинг г`овак деворлари орқали содир бўладиган

диффузия туфайли субстрат фермент билан тўқнашиб, ферментатив реакция вужудга келади.

Липосомаларга киритиш усули. Ферментларни липосомага киритиш усули дастлаб (1970) Дж. Сесса ва Дж. Вайсман томонидан қўлланилган. Бу йўналишга мухим хисса қўшганлардан бири Г. Грегориадисдир. Фермент киритилган липосомаларни олиш усулининг бир неча тури мавжуд. Улардан бирида липид (кўпинча лецитин) органик эритувчи (масалан, хлороформ)даги эритмаси вакуумда буг`латилади ва липид деворида юпқа парда кўринишда ёпишиб қолади. Сўнгра колбага ферментнинг сувли эритмаси солинади ва колба деворидан липид плёнкасини обдон ажралгунга қадар силкитилади ва маълум вақтга қолдирилади. Бундай йўл билан олинган липид дисперсияси ўз-ўзидан мултиламелляр липосомалар хосил бўлишига (ўз-ўзидан йиг`илишига) олиб келади. Липидни оқсилланишдан сақланиш учун хамма жараёнларни инерт газ атмосферасида ўтказилади.

Бу усулнинг бошқа вариантида органик эритувчидаги липид эритмасини ферментнинг сувдаги эритмаси юзасига кўчирилади, ундан сўнг органик эритувчини инерт газ шароитида буг`лантириш йўли билан йўқотилади. Усулнинг камчилиги шундан иборатки, фермент органик эритувчи билан тўқнашуви натижасида фаоллигини йўқотиши мумкин.

Липосома ичига кирмаган ферментни центрифуга йўли билан ажратилиб, буфер эритмасида қайтадан эритилади. Ультратовуш йўли билан олинган моноламелляр липосомалари ажратиш колонкада гел-филтрация усули билан олиб борилади. Липосомага киритиш йўли билан иммобилизацияланган ферментлар, авваламбор, медицинада хамда фундаментал тадқиқотлар ўтказишда қўлланилади, чунки бундай системалар табиий мембраналарга ўхшаш ва уларни ўрганиш хужайрадаги ферментатив жараёнлар хақида керакли маълумотлар олиш учун имкон яратади.

Яқинда полимер липосомаларга киритиш йўли билан ферментларни иммобилизация қилиш усули таклиф қилинди. Бу холда липосомаларни олиш учун, уларнинг молекуласига қўш бог` киритиш йўли билан модификацияланган липидлар қўлланилади. Модификацияланган липиддан оддий усул билан тайёрланган липосомага фермент киритилгандан сўнг уларни инициатор иштирокида ультрабинафша нур билан нурлантирилади. Бунда липиднинг мономер молекулаларини ковалент тикилган ёпиқ икки қаватли липид мембранасини полимеризацияланиши кузатилади. Оддий липосомаларга нисбатан полимер липосомалар хаддан ташқари юқори барқарорликка эга.

Бундай иммобилизация қилишнинг асосий афзалликлари қаторига унинг оддий ва универсаллигини (фақатгина маълум бир ферментларнигина эмас, балки олдиндан қандайдир йўл билан иммобилизацияланган полифермент системаси, хужайра ва хужайра фрагментлари ферментларини) киритиш мумкин. Мембрана типидagi системаларни қўллаш юқори даражада иммобилизацияланган фермент препаратларини олишга имкон беради, масалан, намли йигириш усули билан тайёрланган толанинг хар бир

граммига 200 мг га яқин ферментни киритиш мумкин. Мембрана системаларда иммобилизацияланган ферментлар юқори даражада ўз каталитик фаоллигини сақлайди, уларнинг барқарорлиги кўпинча ортиб боради. Барқарорлик самараси, чунончи ферментларга мембрана орасига кира олмайдиган микроорганизмларнинг таъсири чекланганлиги билан таъминланади.

Мембрана системаларнинг (полимер геллар асоси бўлмиш системанинг) муҳим камчилиги шундан иборатки, бунда юқори молекулали субстратлар учун ферментатив ўзгаришлар амалга оширила олмайди, чунки улар учун мембрана забт этолмайдиган, диффузион девор бўлиб хизмат қилади.

Бу иммобилизациялаш услубининг моҳияти шундаки, ферментнинг ҳаракат эркинлигининг чекланиши қаттиқ ташувчи (адсорбент, гел ёки мембрана) билан ўзаро таъсири ҳисобига эмас, балки икки фазали системанинг фақат биттасида унинг эриш қобилияти асосий ролни ўйнайди. Ферментатив реакциянинг субстрати ва маҳсулотига келсак, улар бу фазаларда эрувчанлигига қараб икки фазада тەқис тарқалган бўлади. Фазалар шундай танлаб олинадики, реакция маҳсулоти фермент йўқ фазада бўлиши керак. Фермент тугган фазани эса яна навбатдаги реакция жараёнини ўтказишда ишлатилади. Икки фазали системанинг муҳим афзалликларидан бири, улар чекланган катталиқдаги г`овак қаттиқ ташувчиларни қўллаши мумкин бўлмаган макромолекуляр субстратларни киритишда улардан фойдаланиш мумкин.

Икки фазали “сув-сув билан аралашмайдиган органик эритувчи” типидаги системалар

Икки фазали системаларда фермент фақат сувдаги фазада бўлади, чунки оқсиллар иккинчи фаза системасида қатнашадиган қутбсиз органик эритувчиларда эрмайди. Икки фазали системага киритилган субстратга сувли фазада ферментлар таъсир этади. Хосил бўлган маҳсулот органик фазага ўтади. Сувли фазани хажми система умумий хажмининг 1-2%-ини ташкил қилади. Бу жараён вақтида субстрат ва реакция маҳсулотларининг фазалар чегарасидан ўтиш диффузиясини тезлаштириш учун системани (аралашмани) эҳтиётлик билан чайқатиб туриши керак.

Иммобилизация қилиш усулининг асосий камчилиги шундаки, субстрат ва реакция маҳсулотлари ўтадиган фазалар чегарасининг сатҳи кичик бўлганлиги туфайли ҳаракат тезлигининг пастлиги, фазалар чегарасида ферментлар адсорбцияланиб ўзининг фаоллигини йўқотишдан иборат. Худди ана шу охириги ҳолат чегара юзанинг ошиши ҳисобига аралаштириш жараёнини тезлаштиришга имкон бермайди. Бу камчиликни чеклаш ва фазалар чегарасини катталаштиришга эришиш учун, фермент тугган фаза сифатида кўпинча йирик кўзанақли аноорганик ташувчи (масалан, г`овак шиша) қўлланилади. Унинг зарраларига ферментнинг сувли эритмаси сингдирилган бўлади.

Микроэмулсиялар. Фазалар чегарасидаги сатҳни ошириш муаммоси (1977) энзимология амалиётига К. Мартинек томонидан киритилган бўлиб, ферментатив реакция учун муҳит сифатида ишлатилган юқорида қайд

килинган “ёғ`даги сув” типдаги микроэмулсияни қўллаш билан хал қилиниши мумкин. Фермент тутган микроэмулсияларни олиш услуги шундан иборатки ферментнинг сувдаги эритмаси (системанинг умумий хажмига нисбатан бир неча фоиз миқдорда) ёки лиофилизацияланган (буфер эритма шимган) кукунини бирор сирт-фаол модданинг кутбсиз органик эритувчидаги эритмасига солинади ва бир неча дақиқа давомида яхшилаб аралаштирилади (ферментни куруқ холда солинганда, унинг соллюбилизациясини сақлаш учун системага олдиндан керакли миқдорда буфер эритма қўшиш керак бўлади). Натижада жуда тиник гомоген эритма хосил бўлади. Бунда фермент молекуласи СФМ нинг гидратланиши натижасида хосил бўлган мицеллалари орасига жойлашади. органик эритувчи ва СФМнинг табиатига кўра, қўшилган сувнинг миқдори ва бошқа шарсимон томчиларнинг диаметри бир неча нанометрдан 20 нанометр атрофида бўлади.

Субстрат ва махсулотнинг диффузияси натижасида содир бўладиган ферментатив реакцияни тезлигига чек қўйилмаслиги мумкин, чунки сувдаги микроэмулсиялар билан органик эритувчи ва сув микротомчилари орасида жуда катта солиштирма сирт мавжудлиги сабабли реакция ўзини ўзи бошқаради. Бундай системаларнинг қўшимча афзаллиги шундаки, микроэмулсион томчи ичига жойлашган фермент СФМ молекуласининг қатлами мавжуд бўлганлиги туфайли органик эритувчининг денатурациялайдиган таъсирига йўлиқмайди. Микроэмулсиялар ферментатив реакциялар учун универсал микрогетероген мухитни ифодалайди дейиш мумкин, микроэмулсион системани ўрганиш шуни кўрсатадики, хар хил синфдаги ўнлаб ферментлар – сувдаги эритмаларда ўзининг каталитик фаоллигини тўлиқ равишда сақлаб қолади, баъзида эса фаолликнинг ошиши хам кузатилади.

Ферментатив реакция тугагандан кейин микроэмулсиядаги ферментни регенерация қилиб (масалан, системага кўп миқдорда ацетон солиш билан) қайтадан ишлатиш мумкин. Бунда фермент фаоллиги сақланган холда “ацетонли кукун” деб аталадиган чўкма тушади. СФМнинг асосий қисми махсулот билан биргаликда эритмада қолади. Бу ҳолат ферментатив реакцияни ўтказиш учун тайёрланган мухит-микроэмулсиянинг асосий камчилиги хисобланади, чунки махсулотни СФМ омехтасидан ажратиш жуда қийин. Махсулотни хосил бўлиш учун СФМга киритишни хожати йўқ бўлган (детергенциз) микроэмулсия қўлланилса, бундай қийинчиликни чеклаб ўтиш мумкин. Детергенциз микроэмулсиялар сифатида гексан-изопропил спирти-сув ёки толуол-изопропил спирти-сув туридаги компонентли системалардан фойдаланиш мумкин. Бундай системаларда уч компонент орасида маълум миқдорий нисбат бўлганида сув компоненти шарсимон томчи кўринишда (5 нмдан 30 нм гача катталиқда) бўлади. Бунда сув шарчалари сиртидаги изопропил спирт адсорбцияланган молекулалари таъсирида стабилланган бўлади. Фермент молекулалари детергенциз микроэмулсияда эриганида сувли микротомчилар ўрови ичига кириб олади. Шу билан ферментнинг каталитик фаоллиги сақланиб қолади. Ферментни

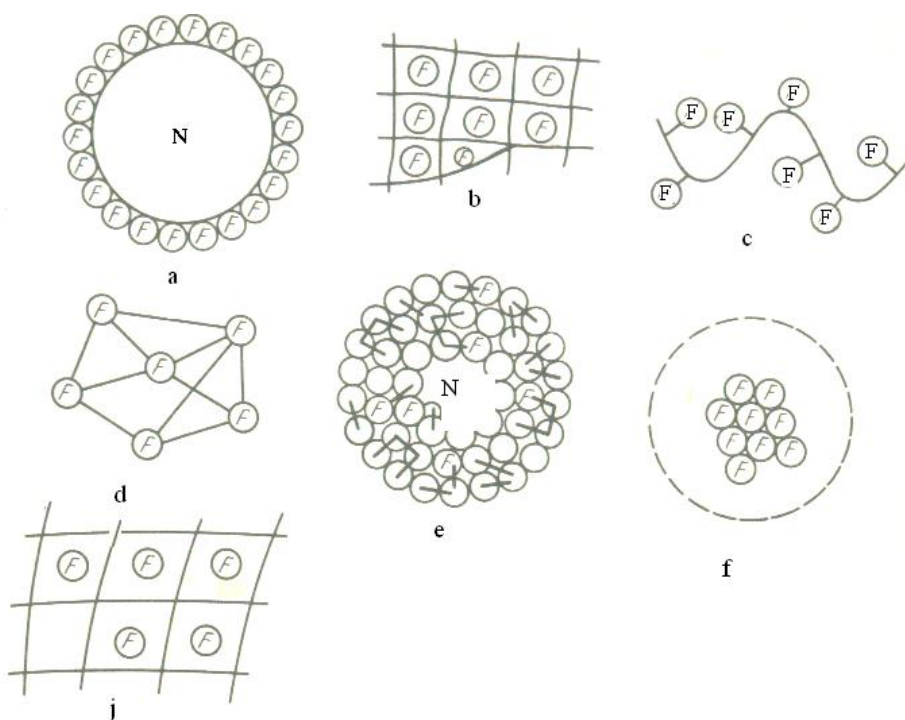
реаксия аралашмасидан ажратиш учун реакция тугагандан кейин компонентлардан бирини қўшиш йўлидан фойдаланилади, чунки система таркиби бу хилда ўзгарганида системада икки қават ҳосил бўлиб, фермент органик фазага, реакция маҳсулотлари эса сув фазага ўтади.

“Молекулалари қутбсиз органик эритувчи ва сув” туридаги икки фазали системаларнинг муҳим афзаллигидан бири шундан иборатки, улар сувда эримайдиган, лекин органик фазада эрийдиган бирикмаларни ферментатив ўзгаришга киришиши учун имкон беради. Бундан ташқари, бу системаларда сув миқдорининг жуда камлиги ҳисобига уларнинг мувозанати термодинамик сабабларга кўра дастлабки моддалар ҳосил бўлиш томонига бутунлай сурилган сувли эритмаларда реакция ўтказиш мумкин. Гап аввалам бор маҳсулотлардан бири сифатида сув ҳосил бўлиш билан борадиган (бунга оксиллар, мураккаб эфирлар синтези ва бошқалар) реакциялар ҳақида бормоқда.

Компонентларидан бири сувдан иборат икки фазали системалар

Б. Матиассон томонидан (1982) тақлиф қилинган бу усулнинг асосида шу нарса ётадики, баъзи полимерлар (полиэтиленгликол, декстран, поливинил спирт ва бошқалар) нинг сувдаги эритмалари ўзаро ёки (концэнтрланган электролитнинг сувли эритмалари) билан қўшилганида аралашмаслик хоссалар намоён қилади, натижада икки фаза туридаги системалар ҳосил бўлади. Иккала фазада ишлатиладиган полимерлар концэнтрацияси 5% дан 15% орасида бўлади. Кенг тарқалаётган системалар полиэтилен гликол ва декстранни ўзаро аралашмайдиган сувдаги эритмаларидан иборат. Бу компонентдан бири бошқа турдаги майда томчилар кўринишда дисперсланган бўлади. Системага кирувчи компонентларнинг табиатини ва фазаларнинг қўллаш нисбатини ўзгартириб, фермент ва реакция маҳсулоти ҳар хил фазаларда қолишини сақлаш учун шароит танлаб олиш мумкин, бу эса ўз навбатида реакция маҳсулотини биокатализаторлардан ажратишга имкон беради. Бундай услубнинг ишлатилишига мисол тариқасида қуйи фазадан иборат (α -амилаза ва амилоглюкозидаза крахмал гидролизини кўрсатиш мумкин. Бу система бир-бири билан аралашмайдиган полиэтиленгликол ва крахмалнинг сувдаги эритмасидан иборат.

Бир қатор афзалликлари реакция жараёнида диффузион чекланганликни бутунлай йўқлиги, керакли компонентларни осон топилиши ва оддийлиги билан бирга икки фазали, сувдаги системалар жиддий камчиликларга ҳам эга. Улардан асосийси фермент фазалараро тарқалганда кўпинча унинг бир қисми реакция маҳсулотини тутувчи фазага ўтиб қолади. Бу олинаётган маҳсулотнинг ифлосланишига ва қимматбаҳо катализаторни йўқотишга олиб келади. Қайд этилган камчиликни бартараф қилиш учун қўшимча қурилмалар қўллашга тўғ`ри келади, масалан, жараёнда арзонлаштириладиган мембранали ультрафилтрлар қўллаш мумкин, бу эса жараён тезлигини пасайтириш билан бирга бажариладиган ишларни қимматлаштириб юборади.



Matritsaga (N) yoki tashuvchiga (F) fermentlarni immobillash usullari

4.4. Ферментлар иммобилизациясининг кимёвий усуллари

Кимёвий иммобилизациялаш усуллари асосий фарқ қилувчи белгиси шуки, бунда фермент структурасига кимёвий таъсир қилиш йўли билан унинг молекуласида (чунончи оксил ва ташувчи билан) янги ковалент боғлар вужудга келади.

Кимёвий усуллар ёрдамида олинган ферментларнинг иммобилизацияланган препаратлари ками билан иккита муҳим афзалликка эга.

Биринчиси, фермент билан ташувчи орасида ковалент боғ ҳосил бўлган бўлса, маҳсулот юқори чидамлилиқ билан таъминланади. Эритма муҳити, ҳарорати кенг чегарада ўзгартирилишида фермент ташувчидан десорбцияланмайди, ва шунинг билан бирга охириги маҳсулот ифлосланмайди. Бу тиббиёт ва озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқаришда мўлжалланган жараёнларда алоҳида аҳамият касб этади.

Иккинчиси: ферментларнинг кимёвий модификацияси билан уларнинг хоссаларида (субстратга спецификлиги, каталитик фаоллиги, стабиллиги) ўзгариш юз беради. Кимёвий усуллар ёрдамидагина, оксил структурасини кўп нуқтали боғланиши эвазига ферментлар стабилизациясида маълум самараларга эришилмоқда.

Иммобилизация қилиш учун чекланмаган материаллар (шиша, сопол, металл оксидлари, капрон ва бошқалар) табиий полимерлар (целлюлоза, хитин, агароза, крахмал ва бошқа полисахаридлар) ва албатта синтезланган полимер ва сополимерлар мавжуд. Бу материаллардан баъзилари, тўғ`ридан-тўғ`ри ташувчилар сифатида ишлатилса, бошқалари фаолаторлар ёки модификацияловчи агентлар ёрдамида олдиндан маълум кимёвий ишловдан ўтиши лозим. Демак, иммобилизациялашнинг “кимёвий усулологияси” на дастлабки материалларини танлашда, на уларнинг трансформациялаш усулларида камчиликлар бўлмайди. Аммо буларнинг хаммаси кўзланган мақсаднинг предмети ва муаммоларини ташкил этади. Стратегик йўналишга келсак, у охирги махсулотнинг тузулиш принципларига таянади.

Иммобилизациялаш жараёнига киритилган компонентларнинг сони ва кимёвий табиати, бу жараёни маълум босқичларининг сони ва мураккаблиги, бир-биридан фарқ қиладиган кимёвий конструкцияси учтадан ортиқ бўлмаган элементлар – блоклар: фермент молекуласи (Ф) ташувчи (Т) ва тикувчи – ёки полифункционал реагент (С) –“чок”, “улок”, “секча”, “спейсер” ва бошқалар деб хам номланади.

Шундай қилиб, ферментларнинг ковалент иммобилизацияси деганда, кимёвий бог`лар орқали бир-бири билан ўзаро бог`ланган учта элементнинг конструкцияси тушунилади: Х-С-Ф (максимум ҳолат), ёки иккита Х-Ф ва С-Ф (минимум ҳолат).

Бу негизларни мукамалроқ равишда кўриб чиқамиз. Ташувчининг юзасида функционал грухлар борлиги туфайли ферментларнинг функционал грухлари билан ковалент бог`лар ҳосил бўлиши натижасида кимёвий реакцияга кириша олувчи иммобилизацияланган фермент ҳосил бўлиш ходисасини ферментнинг ташувчига физик адсорбцияланишига ўхшаш жараён деб қараш мумкин.

Улар орасида ҳақиқатдан усулик фарқ йўқ: фермент эритмасига ташувчи киритилиб, қайтмас адсорбция – содир бўлиб, фермент ва ташувчи ўзаро бир ёки бир нечта ковалент бог`лар орқали тикилиб қолади. Оксилни ташувчи билан жуда яқин масофада бўлиши мақсадга мувофиқ эмас, чунки фермент микромухитининг нокулай ўзгаришига, стерик (фазовий) ва диффузион чекланишларни ҳисобга олишга сабаб бўлади. бундай вазиятдан чиқишнинг ягона йўли иммобилизацияланган фермент молекуласини ташувчи юзасидан маълум масофага суриш ҳисобланади. Бундай мақсад учун ҳар хил узунликдаги тикувчи реагентлар қўлланилади. Улар оддий бифункционал (яъни кимёвий табиатига кўра иккита бир хил ёки ҳар хил реакцияга киришишга қодир грухлар) ва ўта мураккаб полифункционал бўлиши мумкин, бир-биридан фарқ қиладиган занжирларнинг кимёвий табиати улар орасидаги бог`ларнинг ҳар хил мустаҳкамлигига бог`лиқ. Ковалент иммобилизациянинг умумий негизи сифатида қўлланиладиган тикувчи агент ёрдамида фермент ташувчи билан бог`ланади.

Тикувчи агент ҳисобига усулик услубларнинг хилма-хиллиги бу усулнинг олдингиларига нисбатан тенгсиз бой ва ихчам қилиб қўяди. Биринчидан, тикувчи агентнинг узунлигини танлаш билан (ёки ҳар хил узунликдаги

тикувчи агентларни оптимал аралашмасини танлаш билан) иммобилизацияланган ферментнинг каталитик характеристикаларини ўзгартириш мумкин. Иккинчидан, чокни шундай конструкциялаш мумкинки, бунда маълум бир шароитларда ёки маълум реагентлар билан специфик холда парчалайдиган (чунончи фермент ёрдамида) ўзгарувчи бог` сақланиши керак. Иммобилизацияланган ферментни ташувчидан ажратишда назорат калити хисобланади (масалан, тирик организмда йўналтирилган ферментлар транспорти муаммосини хал қилишда).

Ферментларни ковалент иммобилизациялаш масаласи хал қилишнинг бир қатор хилма-хил ечимлари айрим системаларни қўллашга даъват этади. Фермент ва тикувчи агентдан ташқари олдиндан ташувчини сақламаган, бу ерда ташувчи (худди қаттиқ жисм каби) тўғ`ридан-тўғ`ри иммобилизацияланиш жараёнида шаклланади ёки ферментнинг ўзи хам ташувчи бўлиб хизмат қилади. Дэмак, бу ерда фермент молекулаларининг хар хил турда ковалент тикилиш хусусияти ахамиятга сазовордир. Фермент турларини яратиш фикри (ферментлар ретикуляцияси) фермент молекуласининг полифункционал табиатидан келиб чиқади, унинг юзасида фаол марказдан ташқари кўп миқдорда реакцияга киришишга қодир грухлар мавжуд. Фермент эритмасига бифункционал тикувчи агенти киритилганда ферментнинг айрим молекулалари бир-бири билан тикилиб, мураккаброк ёки мураккабмас тўрсимон тузулишга эга бўлган агрегатлар хосил қилади. Тикувчи агентнинг табиати ва миқдорига қараб, сувда эрийдиган ва сувда эримайдиган препаратлар хосил бўлиши мумкин.

Регуляциянинг бошқа йўли – олдиндан қўш бог`ли реагент (масалан, акрилоилхлорид) билан ковалент модификацияланган ферментларнинг қўлланишига асосланган. Бу холда оксил макромномерининг паст молекуляр мономерлар (масалан, акриламид) билан сополимерланганида оксил ёки қўшимча тикувчи мономерлар (масалан, Н, Н-метил – бис-акриламид) билан тикилган тўрсимон геллар хосил бўлади. Кўриб чиқиладиган системада дастлабки холат-суюқ-эритмадан охирги (полимеризациядан кейин) холат-қаттиқ жисм (гел)дан иборат бўлиб, хосил бўлган махсулот полимеризация учун қўлланиладиган идиш шаклини олади. Бу холатнинг мақсадга мувофиқ қўлланилиши бир қатор ўзига хос ажойиб иммобилизация усуллари асосида ётади. Эритувчи хажмида оксилни тикиш (полимерлаш) билан уч ўлчамга эга бўлган йирик гел олинади. Сўнгра уни майдалаб суспензия кўринишда қўллаш мумкин. Уч ўлчамга эга бўлган гелларни тўғ`ридан-тўғ`ри эмулсион полимерлаш йўли билан олиш мумкин. Бу системаларнинг юқори дисперс кўринишда – микроэмулсиялаш ёки сув билан аралашмайдиган органик эритувчиларда хосил қилинган сирт фаол моддалар (СФМ) бўлиб, уларнинг гидратланган мицеллалари “томчи” фермент молекулалари катталигига тенг бўлиши мумкин. Бу иммобилизациянинг молекуляр даражадаги янги сифатини ташкил этади. Бошқа сўз билан айтганда, органик эритувчиларда СФМга айланган мицеллалар системасини қўллаш билан ферментни айрим молекулаларини керакли қалинликдаги қобиқ билан тикиш мумкин.

Ретикуляция жараёни фақат фермент эритмасида қўлланиб қолмай, балки уни иммобилизацияланган препаратларида ҳам ишлатилади. Масалан, физикавий адсорбция йўли билан кимёвий инерт ташувчида олдиндан иммобилизацияланган ферментни тикувчи агент билан қўшимча ишлов бэриб, препаратларнинг мустахамлиги (қаттиқлиги) оширилади. Бу ерда ташувчи кимёвий реакцияда бевосита иштирок этмайди, ташувчи қатлам хосил бўлишда иштирок этиб, моноқатламга адсорбцияланган фермент матрица сифатида хизмат қилади.

Бундан ташқари, ташувчи умуман чиқариб ташланиши ҳам мумкин (масалан, нитроцэлюлозани метанолда эритилади), натижада тикилган фермент плёнкаси хосил бўлади.

Умуман нол қийматга тенг ретикуляцияни тасаввур қилиш мумкин, чунки ферментли тўрни боғичи хисобланган фермент молекуласи-тахминий нуқта бўлмай, балки – каттагина объектдир, яни, молекулалараро тўрдан оқсил полимер занжири ва кимёвий чокдан тузилган молекулалар ичидаги тўр хақида мулохаза юритилади. Юқорида бундай мисоллардан бири келтирилган эди. Қўшимча қилиб, шуни айтиш мумкинки, агарда бифункционал тикувчи реагентнинг икки грухи оқсилнинг биргина молекуласи билан ўзаро таъсирлашса, молекуляр даражада иммобилизацияланган фермент препаратларини олиш мумкин. Бу холда гап фермент структурасининг ички молекулалараро мустахамлашнинг кимёвий усули хақида кетаяпти. Бундай ёндошишни хақиқатдан амалга ошириш жуда мураккаб, чунки молекулалараро чоклар ҳам хосил бўлиши мумкин. Молекулалараро ўзаро таъсирни йўқотиш учун гомоген системаларда фазода яккаланиб қолган фермент молекулаларидан иборат микрогетероген системаларга ўтиш йўлидан фойдаланиш мумкин. Масалан, СФМ сирт фаол моддаларнинг гидратланган қайтарма мицеллалари ёрдамида органик эритувчиларда ферментларни солубилизациялаш мумкин.

Хар қандай фермент асосини бир ёки бир неча полипептид занжирининг зич конструкциясидан тузилган дисульфид кўприклар билан ковалент тикилган (боғланган) оқсил ташкил этади. Масалан, аорганик ва органик табиатга эга бўлган простетик грухларда (липопротеинларда) ва углеводлардаги (гликопротеинлардаги) баъзи ферментлар таркибида оқсилдан ташқари компонентлар ҳам учрайди.

Умуман, иммобилизациялашнинг кимёвий усуллари фермент молекуласининг оқсил қисмида модификация қилиш жараёнини танлашда унинг молекула тузулишидаги ўзига хосликни эътиборга олиш керак. Шу боис энг яхши ва ёрқин мисол бўла оладиган гликопротеидларнинг ковалент иммобилизациясини келтираамиз.

Нисбатан оддий усул юмшоқ шароитда натрий периодат билан оксидлаш орқали ферментни полисахарид қисмига алдегид грухлари киритилади, кейинги босқичда эса улар кўмагида аминокрухлар тутган ташувчилар (ёки тикувчи агентлар) билан кимёвий ўзаро таъсир амалга

ошади (бунда Шифф асослари таркибидаги азометин бог`ланишлар вужудга келади).

Ферментларнинг оксил қисмлари ўзаро пептид бог`и билан бог`ланган 20 та аминокислотадан ташкил топган. Оксилларни полипептид занжирларида қолдиқ аминокислоталар миқдори бир неча ўндан то минггача бўлади. Аммо оксилларни сифат таркиби (у ёки бу аминокислота қолдиг`ининг борлиги) жуда ўхшаш бўлади. Оксилдаги барча аминокислоталарнинг тахминан ярмисини қутубланмаган ёки кам қутубланган ён грухли аминокислоталар ташкил этади. Бунинг натижасида гидрофоб ўзаро таъсир ҳисобига полипептид занжирлар глобуляр структурага айланади, уларнинг ядролари полипептид занжирнинг қутубланмаган бўлақларини ташкил этади, ташқи қават эса қутубланган ва ионоген грухларни ҳосил қилади. Буларга –СХ, –ОХ, –СООХ, –НХ₂ лар киради. Шубҳасиз, гидрофоб грухларнинг баъзилари ҳам сиртга жойлашган бўлиши мумкин, улар глобулада субстратларни бог`ловчи сохаларни ташкил қилади.

Ароматик аминокислоталар (тирозин ва триптофан) қолдиқлари ички соха билан ташқи қават орасига жойлашади, уларнинг бир қисми эритмага ўтади. Бинобарин, оксил молекулаларнинг ташқи қисмини функционал грухлар билан қуршалган, ўзига хос пуфаклар кўринишда тасаввур қилиш мумкин, булар жумласига тиолли (цистеин), гидроксилли (алифатик – серин ва треонин, ароматик-тирозин), карбоксилли (глутамин ва аспарагин кислоталари ҳамда –С-билан тугалланган) гуанидинли (органик), имидазолли (гистидин) ва аминокислоталар (лизин ва Н-билан тугалланган) функционал грухлар киради. Хар хил оксилларда у ёки бу грухлар миқдорини дастлаб тасаввур қилиш мумкин. Масалан, молекуляр оғ`ирлиги тахминан 25000 бўлган трипсин ёки химотрипсин каби, у қадар катта бўлмаган оксилда, 10 та цистеин қолдиг`и, тахминан 30 та алифатик ОХ-грухлар, 3-7 тирозин қолдиг`и, 7-12 аргинин қолдиг`и, 10 дан ортик аминокислоти ва 40 га яқин карбоксил грухи қолдиқлари бўлиши керак.

Биламизки, истисносиз қоида бўлмайди. Табиатда шундай оксиллар мавжудки, уларда юқорида баён этилган аминокислота қолдиқлари, масалан, цистеин умуман бўлмайди. Молекуляр оғ`ирлиги 35000 бўлган протеолитик фермент пепсинда бор-йўг`и иккита аминокислоти бор ҳолос: бири – лизин ва иккинчиси НХ₂ – билан тугалланган аминокислоталардир; лекин оксил молекуласининг юзасидаги бу камчилик бошқа моддий қисмлар билан тўлдирилади. Умуман олганда, оксилдаги функционал грухларнинг сони модификация қилувчи реагентлар учун йэтарли даражада бўлади, оксил молекуласини ковалент иммобилизация қилишда бу ҳолат йечилмайдиган муаммо бўла олмайди. Лекин бу борада жуда кўп бошқа муаммолар бор. Чунончи, ковалент иммобилизация қилиш жараёнида оксил молекуласининг шундай грухлари қатнашиши керакки, бунда унинг функциясига (бу ҳолатда катализга) салбий таъсири бўлмасин. Шу жихатдан ковалент иммобилизация учун оксилдаги қайси функционал грухлар зарурлигини аниқлаш керак. Бунинг учун қуйидаги шартларни асос қилиб

олинади. Биринчидан, бундай функционал грухлар – юқори даражада реакцияга киришиш қобилиятига эга бўлиши, модификация реакциясини оксил денатурациясига учрамайдиган юмшоқ шароитларда олиб бориш керак бўлади. Иккинчидан, оқсилда бундай грухлар йэтарли миқдорда мавжуд бўлиши, улар янги кимёвий бог`ларни киритиш учун кенг қулайлик яратилишини таъминлаши керак.

Оқсилда реакцияга киришиш қобилияти энг кучли функционал грухи – цистеиннинг СХ-грухидир. Улар хар қандай (оксидланиш, ациллаш, алкилланиш ва бошқа) кимёвий реакцияларда иштирок эта олади. Аммо оқсилнинг ўзидаги тиол грухлар ковалент иммобилизация учун ййэтарли даражада қулай нишон бўла олмайди. Бунинг асосий сабаби шундаки, оқсилда умуман цистеин кам бўлади. Жуда кўп оқсилларда эркин СХ-грухлар умуман бўлмайди. Улар фермент структурасини стабиллайдиган дисулфид кўприклар хосил қилишда иштирок этади. Баъзи оқсилларда шундай грухлар бўлса, улар оқсилнинг каталитик фаоллигини ошириш учун хизмат қилади, бунда иммобилизациялаш вақтида СХ-грухини химоя қилиш зарурияти туг`илади. Бунга хар хил ёндошишлар билан эришиш мумкин. Масалан, оқсилни п-оксимеркурибензоат билан ишланади, иммобилизациялаш тугагандан сўнг химоячи грухи кучсиз кислотали мухитга ўтиб кетади. Таъкидланган қийинчиликларга қарамасдан, фермент молекулаларидаги СХ-грухини ковалент иммобилизация учун қўллаш эътиборга лойиқдир. Оқсил молекуласига экзоген СХ-грухларни киритиш усуллари ишлаб чиқилган (мувофиқ реагентлар билан, масалан, гомоцистеинни тиолактон билан ацетиллаш орқали аминокрухларини модификациялаш усуллари яратилган).

Оқсил аминокрухларини кўпинча хар хил кимёвий модификациялаш ва ферментларни ковалент иммобилизациялаш мақсадида ишлатилади. Бу бир қатор сабабларга асосланган.

Биринчидан, оқсилда улар йэтарли даражада кўп. Иккинчидан, аминокрухлар юқори реакцияга киришиш қобилиятига эга, сони ва иштирок этадиган реакциясининг хилма-хиллиги билан СХ-грухлар улардан устун туради. Учинчидан, кўп холларда аминокрухлар ферментнинг тузулиши ва функциясини ушлаб туришда иккинчи даражали рол ўйнайди. Аминокрухларнинг асосий хусусияти – протонланишдан иборат бўлиб (pK 9-10), физиологик шароитда оқсилнинг сирт қисмида мусбат зарядларнинг бор бўлишини таъминлайди. Эритмадаги қарама-қарши ионлар билан ёки оқсилдаги манфий зарядланган карбоксил грухлар билан реакцияга киришиши натижасида тузли кўприкчалар хосил қилади. Агар ферментнинг нормал функцияланиши учун мусбат заряд керак бўлса, бундай холда аминокрухини алкиллаш усули билан кимёвий модификациялашга эришиш мумкин.

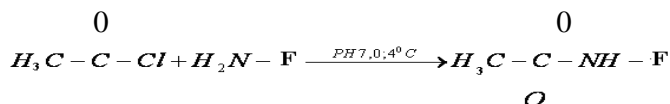
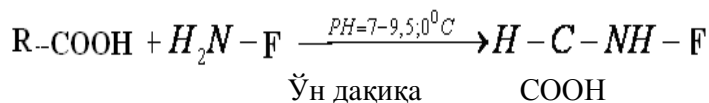
Тўртинчидан, агар баъзи аминокрухлар, ўзларининг зарядлари учун эмас, балки ферментнинг функция ва структураси учун мухим бўлса, уларни керак махалда, масалан, трифторсирка кислота ангидриди ёки малеин ангидриди иштирокида ациллаш билан химоя қилиш қийин эмас.

Бешинчидан, ферментларни ковалент иммобилизацияси учун уларнинг аминокрухлари воситасида тикувчи реагент ва ташувчилар кўп миқдорда ишлаб чиқилган.

Шундай қилиб, энг қулай нишон грухларидан бири аминокрухи хисобланади. Аммо ковалент иммобилизациялаш мақсадида оксилларнинг аминокрухларини қўллаш ягона усул деган тасаввур хосил бўлмаслиги учун, шуни айтиб ўтиш керакки, оддий кимёвий реагентларнинг ҳам спецификмаслиги ва аминокрухлардан ташқари модификациялашиш реакцияларида оксилнинг бошқа функционал грухлари ҳам қатнашиши мумкин, улар жумласига тиол-грухи (цистеин), имидазол – грухи (гистидин), гуанидинли грухи (аргинин), гидроксил (тирозин, серин ва треонин) ҳамда ферментнинг оксилмас ёки реакцион системасининг компонентлари (чунончи, сув) кириши мумкин. Оксилнинг у ёки бу грухларини реакцияга кириш қобилияти муҳим даражада микро ва макро шароитларга боғлиқ бўлади. Макро шароитлар оқсилнинг эритувчисини табиати, pH мухити, харорат ташкил этади, бу шароитларни қатъий равишда назоратга олиниши мумкин ва керак. Микрошароитлар, функционал грухининг микромухити эса фермент структурасига боғлиқ бўлиб, уни натив оксилда ўзгартириш қийин, лекин ташқи шароитларни модификациялашда ва усул танлашда уларни хисобга олмоқ зарур.

Умуман оксил структуралар беқарор ва ўзгарувчан бўлади, шунга кўра ферментларни денатурация ва инфооляция қиладиган омиллар бор, улар жумласига кимёвий омиллар ҳам қиради. Шу сабабдан оксиллар билан олиб бориладиган муолажалардан реакция шароитини танлашга чек қўйиб бўлмайди. Бирор бир муболаг`асиз шуни айтиш мумкинки, хар қандай қаттиқ (табиий ёки сунъий) материал зарур бўлганда ферментларни ковалент иммобилизациялаш учун ташувчи сифатида қўлланилиши мумкин.

Оксил (Ф)ни ташувчи (Х) га ёки тикувчи агент (С) га амид боғланиш орқали бирлаштириш кўп йўллар ва хар хил функционал грухлар иштирокида олиб борилиши мумкин. Энг кўп қўлланиладиган реакция фермент аминокрухининг ацилланишидир. Ациллайдиган агентлар сифатида карбон кислоталарнинг ангидридлари ва хлорангидридлари кўп қўлланилади.



бир нэча дақиқа

Ангидрид усули қўлланганда иммобилизацияланган фермент препаратиде реакция давомида ҳосил бўладиган карбоксил грухи амид бог`ланишга бевосита яқин масофага жойланади.

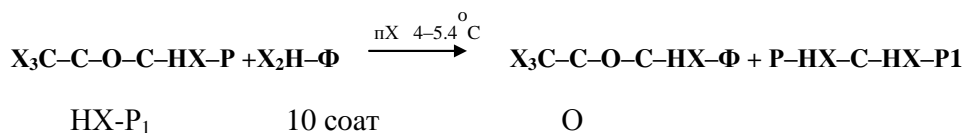
Оқсилдаги электростатик ўзаро таъсир балансига, pH нинг ўзгаришига ҳамда иммобилизацияланган препаратнинг кимёвий жихатдан барқарорлигига куйидаги ҳолатни ҳисобга олмоқ зарур, яни кислотали шароитда карбоксил грухи катализаторлик ролини бажариб препаратдаги амид бог`ланишнинг гидролизини тезлаштиради. Ацилловчи агентлар сифатида фаолланган эфирлар (карбон кислоталарнинг бошқа ҳосилалари, масалан, n -нитрофенил эфирлари) қатнашиши мумкин.

Реакциянинг шуниси ажойибки, оқсилнинг модификацияси жараёнида спектрофотометрик усул билан реакция боришини назорат қилиш учун қулай хромофор белги – нитрофенолят – ионлар ($pH = 7$) ажралиб чиқади.

Фаолланган карбон кислотасининг ҳосилаларини реакцияга киришиши қобилияти системадан чиқиб кетувчи хлорангидриддан эфиргача бўлган грухининг кислоталилиги камайган сари пасайиб боради.

Ациллайдиган агентлар (масалан, азот кислота билан ишланган карбон кислоталарининг гидразидлари ҳосил бўлган ацилазидлар билан борадиган реакцияларни) рўйхатини давом эттириш мумкин эди. Лекин бу ерда фақат тикувчи ва ташувчи агентларни тайёрлаш усуллари янгироқ ва мураккаброк бўлиши мумкин.

Негизи бошқа реагент ва реакциялар ўзлаштирилиши мумкин, масалан, пептид синтези аталмиш органик кимёнинг яхши ривожланган мақсади пептид бог`ланишлар яратишдан иборат бўлган соҳасидаги реагент ва реакциялардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир. Пептид синтезида O -ацилизомотечевинани ҳосилалари қулай ациллайдиган агентлар сифатида қўлланилади.



Реакция фермент аминокрухининг карбодимид $P-N-C-N-P$ таъсиридаги активланган карбоксил грухлари тутган ташувчи ёки.

4.5. Иммобилизацияланган ферментларнинг каталитик хусусиятлари

Одатда ферментатив реакция тезлиги (V) Михаэлис-Ментен тенгламаси доирасида ифодаланади.

$$V = \frac{K_{кат}(Э)_0 (C)}{K_{M, эхт+} (C)_0} \quad (И)$$

(E_0) ва (C_0) – системадаги фермент ва субстрат концентрациялари; $K_{кат}$ – ферментатив реакция каталитик доимийлиги; $K_{M, эхт}$ --Михаэлис доимийлиги (эхтимоллиги).

Михаэлис доимийлиги ферментни субстрат билан тўйинган холдаги субстрат концентрациясини ифодалайди. Иммобилизацияланган ферментлар учун фермент яқинидаги (локал) субстрат концентрацияси системанинг бутун хажмидаги концентрациясидан фарқ қилиши мумкин. Бундай холатда, тажрибада кузатиладиган $K_{M, эхт}$ -фермент тутган ташувчи ва эритма орасида субстрат молекулаларининг тарқалишига бог`лиқ бўлиши керак. $K_{кат}$ хосил бўлган фермент-субстрат комплексининг реакцион қобилиятини характерлайди. Шунунг учун, $K_{кат}$ системада субстрат тарқалишига эмас, балки ферментнинг конформацияси билан аниқланади.

Шундай қилиб, иммобилизацияланган ферментлар иштирокида катализда кузатиладиган барча кинетик эффектларни икки грухига бўлиш мумкин. Биринчи грухиди фермент холатига (конформациясига) иммобилизациянинг таъсири билан бог`лиқ эффектлар, иккинчи грухиди эса системада реагентларнинг тарқалиши билан бог`лиқ эффектлар киради.

Иммобилизациянинг фермент холатига таъсири

Иммобилизацияланган ферментларнинг конформацион хусусиятлари. Иммобилизацияланган ферментнинг каталитик фаоллиги анча пасайиши ёки умуман йўқолиши мумкин. Бунга фермент конформациясининг иммобилизациядан сўнг ўзгариши сабаб бўлиши мумкин. Бундай конформацион ўзгаришларни ўрганишда спектрофотометрик, флуоресцент усуллар, спин билан нишонлаш усули ва бошқалардан фойдаланилади.

Бу тадқиқотлар натижалари асосида қуйидаги хулосалар чиқарилган:

1.Иммобилизация натижасида ферментнинг фазовий структураси жуда кам ўзгаради, ёки кўп холларда ўзгармай қолади.

2.Натив ва иммобилизацияланган ферментлар конформацияларининг бири-биридан фарқ қилиниши қуйидагилар билан тушунтириш мумкин.

Биринчидан, конформацион фарқлар оксил структураси учун муҳим функционал грухларини модификацияси туфайли бўлиши мумкин ва бу фарқлар иммобилизация процессига бог`лиқ эмас. Бу фактор таъсирини оксилдаги муҳим функционал грухларини модификацияламайдиган иммобилизация усулларида фойдаланиб йўқотиш мумкин.

Бундан ташқари, фермент иммобилизацияланаётган вақтда, унинг фаоллигини химоялаш учун, кўпинча, субстрат ёки специфик лиганд қўшиб ташувчига боғланади. Натижада юқорироқ солиштирма фаолликка эга препаратлар олиш мумкин.

Иккинчидан, фермент структурасини ўзгаришига фермент ва ташувчи ўртасидаги специфик бўлмаган (электростатик, гидрофоб, водород бог`лар) ўзаро таъсирлар сабаб бўлади. Бундай холларда, оксилга нисбатан инертроқ ташувчи танланади, ташувчиларга полисахаридлар, полиакриламид ва бошқаларни киритиш мумкин. Агар ташувчини алмаштиришни иложи бўлмаса, у холда оксил молекулалари ташувчига узун бог`ловчи агент билан бог`ланади.

Ва ниҳоят, учинчи сабаб – бу ташувчи билан фермент орасидаги боғларнинг кўплигидир.

3.Иммобилизация натижасида фермент конформацияси умуман ўзгармайди, лекин оксил молекуласидаги конформацион ўзгаришлар динамикаси ўзгаради. Масалан, ташувчи билан боғланган оксилларда катализ учун конформацион босқичлар сони ва уларнинг ўтиш даражаси камайиши мумкин. Буларнинг сабаби – оксил функционал грухларининг ташувчи билан специфик бўлмаган ўзаро таъсиридир. Баъзида тадқиқотчилар, субстрат, кофактор ва бошқа специфик лигандлар таъсирида ферментда бўладиган конформацион ўзгаришларни аниқлаш учун иммобилизациядан фойдаланишади.

Бу иш куйидагича амалга оширилади: 1–босқич– ферментнинг субстрат ёки бошқа специфик лиганд билан комплексини бифункционал агентлар билан тикилади ёки фаоллаштирилган ташувчига боғланади.

2-босқич–лиганд олиб ташлангандан сўнг, фермент “фаол” конформацияда бўлиб қолади.

Бундай иммобилизациялаш ферментнинг стабилланган субстратларга ва специфик лигандларга мойиллиги ва каталитик хусусиятлари бошқачароқ бўлади.

Иммобилизацияланган ферментлар реагентлар билан катализда тақсимланиши эффектлари.

Субстратни тақсимланиши. Фермент тутган матрица ва эритма орасида субстратнинг баббаравар тақсимланиши шароитида $K_{M, \text{энт}}$ - куйидаги тенглама билан аниқланади:

$$K_{M, \text{энт}} = K_M P \quad (1)$$

K_M - эркин фермент катализловчи реакция Михаэлис доимийлиги қиймати;

П- субстрат тақсимланиши коэффиценти куйидаги формула билан аниқланади:

$$P = \frac{(C^X)}{(C^X)} \quad (2)$$

Бу тенгламадан шу нарса келиб чиқадики, субстратнинг юқори концентрацияларида $(C) > (K_{M, \text{энт}})$ тақсимланиш эффектлари муҳим рол ўйнамайди, чунки бу ҳолатда ферментатив реакция тезлиги $V = K_{\text{кат}} (E)$ субстрат концентрациясига боғлиқ эмас. Агар субстрат концентрацияси $(C) < (K_{M, \text{энт}})$ бўлса, (1) – (2) тенгламаларни таҳлил этиш шуни кўрсатадики, субстратнинг матрицада тўпланиши (йиг`илиши) ($\Pi < 1$) $K_{M, \text{энт}}$ қийматини камайишига ёки ферментатив реакциянинг тезлигини ошишига олиб келади. $\Pi > 1$ ҳолатида $K_{M, \text{энт}}$ ошиши натижасида ферментатив реакция тезлиги камаяди.

(C^X) ва (C) – эритмадаги ва матрицадаги субстрат концентрациялари.

Системада субстрат тарқалишининг нотэкислиги субстратнинг матрица билан электростатик кучлар, водород бог`лар, гидрофоб ўзаро таъсирлар билан характерланади.

Агар фермент молекуласи ташувчи заррачалари сиртида (ёки ичида) бўлса, ферментатив реакция содир бўлиши учун, биринчидан, субстрат молекуласи заррача сиртига яқинлашиб келиши ва иккинчидан, заррачанинг ичига диффузияланиши керак.

Агар ферментатив реакция заррачанинг сиртки қаватларида субстратнинг эритмадан шу қаватларга келишидан тезроқ ўца, маълум вақт давомида заррача атрофида субстрат кам бўлган зона ҳосил бўлади. Натижада кузатиладиган ферментатив реакция тезлиги субстратнинг заррачага келиш тезлигига бог`лик бўлади. Бундай ҳолларда, процесс ташқи диффузия билан назорат қилинади.

Агар ташувчи заррачалари катта бўлиб, фермент жуда фаол бўлса (ёки заррача ичида унинг зичлиги юқори бўлса), унда субстрат молекулалари ташувчининг сиртки қаватлари яқинида сарфланади ва заррачанинг ички қисмида субстрат кам бўлади.

Бу ҳолда процесс ички диффузияга бог`лик. Нихоят субстратнинг диффузияси заррача сиртки қаватида ва ички қисмида тез содир бўлса, субстрат ўзгаришининг умумий тезлиги бевосита ферментатив реакция билан аниқланади.

4.6. Имобилизацияланган ферментларнинг ишлатилиш соҳалари

Имобилизацияланган ферментларнинг кимёвий анализда ишлатилиши. Ферментларнинг юқори спецификлиги туфайли, улар аналитик кимёда кенг қўлланилади. Бу соҳада имобилизацияланган ферментларнинг ишлатилиши "реагенциз" анализ усуллари яратишга асос бўлади. Бу эса органик ва аорганик моддаларнинг сувли эритмаларида узлуксиз анализ ўтказиш имконини яратади. Ферментли электродлар кўп компонентли системаларда тез автоматик анализ ўтказишга имкон беради. Турли сезгир "фермент термистор"лари яратилган.

Имобилизацияланган ферментлар ёрдамида бир пробада кўп параллел кимёвий анализ ўтказиш мумкинлиги ёки ферментларни кўп мартаба ишлатилиши, аналитик усулнинг аниқлигини ва анализнинг ферментли усуллари юқори қийматини камайтиришга олиб келади.

Текшириладиган системада реагентлар (субстратлар) концентрасиясининг аналитик аниқлашнинг умумий икки усули мавжуд. Биринчи усулда, ферментатив реакцияда аниқланаётган модда тўла сарф бўлгунча (ёки системада бошланг`ич реагентлар ва реакция маҳсулотлари ўртасида мувозанат ҳосил бўлгунча) олиб борилади. Системанинг қандайдир физик ёки кимёвий хоссаларини ўлчаб, бошланг`ич субстрат миқдори реакция натижасида ҳосил бўлаётган моддалар миқдорида қараб ҳисоблаб топилади.

Иккинчи усулда ферментатив реакция натижасида субстратнинг камайиши ёки реакция маҳсулотининг ошишини аниқлаш учун анализнинг кинетик усулларидан фойдаланилади.

Субстратнинг бошлангич концентрациясини калибрлаш эгри чизигидан топилади. Бу усул билан реакция системасидаги эффекторлар (ингибитор ёки фаолият) концентраларини аниқлаш мумкин. Ушбу усулларни иммобилизацияланган ферментлар иштирокида ҳам амалга ошириш мумкин.

Хозирги вақтда юқоридаги усулларни атроф-мухит ифлосланиш даражасини аниқлаш учун илмий-тадқиқот ишлари олиб борилмоқда.

Ферментлар табиий шароитда юзлаб, минглаб кимёвий боғларни узулиш ва хосил бўлиш процессларини катализлайди. Буларнинг хар бири "нозик органик синтез" процесси сифатида тарқалиши мумкин. Аммо амалиётда бу иш жуда осон эмас. Маълумки, ферментларнинг "табиий мухитини" технологик реакторда вужудга келтириб бўлмайди. Ферментлар инжэнэрлигининг асосий вазифаси, асосан, ноқулай шароитда ферментларнинг каталитик потенциалини ишга туширишдан иборат.

Москва университетининг олимлари ферментатив реакцияларни сув-органик системаларда, айниқса, сувсиз компонент тутган мухитда олиб бориш тўғрисидаги янги принципаал ёндошишни таклиф этишган.

Асосий ёндошиш масаласи амалда сув билан аралашмайдиган органик эритувчилар (хлороформ, эфир учун занжирли алифатик спиртлар, углеводородлар ва бошқалар)дан фойдаланиш билан амалга оширилди. Бунда иммобилизацияланган фермент системанинг иккинчи сув фазасида бўлади. Органик фазада эриган холда бўлган субстратлар осонлича сувда диффузияланиб, у ерда фермент таъсирида кимёвий ўзгаришга учрайди, хосил бўлган маҳсулот сувдан органик фазага диффузияланиши мумкин.

Органик фазанинг хажмий бўлаги амалда уларга яқин бўлади, термодинамиканинг мувозанати шароитида реакция бундай икки фазали системада тоза органик мухитдаги мувозанатга яқин бўлади. Бу нарса Н-ацетил-Л-триптофаннинг этил эфирини этанол ва Н - ацетил Л-триптофандан иммобилизацияланган химотрипсин таъсири натижасида амалга ошиши текширилди.

Сувли мухитда мураккаб эфирнинг чиқиши ва кам даражада микдорни ташкил этдики, хатто этанолнинг нисбатан юқори концентраласида (тахминан 10 м) гам 0,01% ни ташкил этди. Бунда икки фазали система, хлороформ : сув шароитида мураккаб эфирнинг чиқишини 100% га оширишга эришилди. Охирги пайтда П. Кюл (Германияда) 60 дан ортик органик физиологик фаол пептидларни синтезлашга муваффақ бўлди.

Энг мухим аминокислоталардан бўлган Л-лизинни ДЛ-аминокапролактандан ферментатив усулда ажратиб олиш жараёни Японияда "Торай" компаниясида ва Литванинг амалий энзимологик илмий-текшириш институтида ишлаб чиқилган. Бу икки холатда ҳам икки ферментнинг, яъни Л-α-аминокапролактамамидаза ва α-аминокапролактамацемазанинг яхши ўйланган комбинациялари

қўлланилган. Бу икки фермент ҳам бактериялардан ажратиб олинган бўлиб, улар иммобилизациялангандан кейин ҳам юқори фаоллигини сақлаб қолган.

Процесс икки босқичда кетади: биринчи босқичда L- α - аминокaproлактама L-лизингача гидролизланади, иккинчи босқичда эса, қолган D- α -аминокaproлактама иммобилизацияланган иккинчи фермент таъсирида рацемизацияга учрайди ва яна реакцияга киришади. Берилган L-лизинни олиш процесси саноатда кўп миқдорда ишлаб чиқариладиган циклогексанон билан боғлаш кўзда тутилган. Чунки, циклогексанонни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Иммобилизацияланган пенициллинамидаза саноатда кўп миқдорда Г - аминокпенициллин кислотани пенициллин-Г дан олиш учун кенг қўлланилади. Москва университети ва антибиотиклар илмий-текшириш институти олимлари биргаликда қилган ишларида бу ферментнинг субстратга бўлган спецификлиги кенг кўламда эканлиги кўрсатиб берилди ва бу фермент фақатгина пенициллиннигина эмас, балки бошқа антибиотик бўлган сефалоспоринни ҳам гидролизлай олади. Бунда 7-аминодезоксицефалоспоран кислотаси (7-АДСК) хосил бўлади ва у сефалоспорин қаторидаги антибиотикларнинг синтезида энг муҳим бирикма хисобланади. Сўзсиз, тез вақт ичида 7-АДСК ни иммобилизацияланган пенициллинамидаза ёрдамида олиш процесси ҳам саноат масштабида қўлланилади деб умид қилса бўлади. Шу билан бир қаторда юқоридаги олимларнинг биргаликдаги ишлари, бир қанча пенициллин ва сефалоспорин қаторидаги антибиотиклар – ампенициллин, сефалексин, сефалотин ва сефалоридинларни синтезлашда яхши натижаларга олиб келди. Бунда микроорганизмлар г`ужайраси таркибидаги ва иммобилизация йўли билан эримайдиган ташувчиларга боғланган пенициллинамидазалардан фойдаланилди. Юқоридаги ишлар, кенг спектрда таъсир қилувчи ва кислотали мухитга чидамли антибиотиклар олиш учун йўналтирилди.

Физиологик фаол бўлган моддалар (преднизолон, оптик фаол эстрогенлар, кортикостероидлар, простагландин Е ва бошқалар)ни иммобилизацияланган микроорганизм хужайралари ёрдамида олиш йўллари бир қатор Россия ва Эстония институтларида ишлаб чиқилмоқда. Олиб борилаётган ишлар шундай катта масштабни эгаллаганки, бу кичик препаратив тажрибалардан ортиб, то катта лаборатория ишлаб чиқариш доираларини ташкил этади. Кўришиб турибдики, яқин келажакда бу ишлар саноатда технологик жихатдан кенгайтирилиб юборилади.

Оптик фаол бўлган аминокислоталарни синтез қилиш учун иммобилизацияланган ферментларни қўллаш қизиқ имкониятларни беради. Субстратлардан бири сифатида пироузум кислота иштирок этади. Бундай ҳолда реакцион аралашмага аммиакли ва Р-занжирга мос келадиган РХ – компонентни киритиш, аминокислотани асосий маҳсулот сифатида олиш имкониятини беради.

Худди шу йўл билан Москва университетида оптик жихатдан фаол бўлган тирозиннинг L-шаклини ва 3,4-диоксифенилаланинни (ДОФА), фенол ва пирокатехин (Р), ҳамда аммоний пируватдан олиш усуллари қайта

ишлаб чиқилди. Бунда биокатализатор сифатида, микроорганизмларнинг эркин ва иммобилизацияланган хужайралари ишлатилган. Худди шундай усул билан Қирг`истоннинг Органик кимё институтида Л-триптофани индол, пируват калий ва аммоний хлориддан, микроорганизмларнинг иммобилизацияланган хужайралари ёрдамида олиш йўли қайта ишлаб чиқилди. Бу ишда биокатализаторнинг 25 кунлик реакция жараёнидаги фаоллиги, фақатгина 20% га камаяди.

Япон тадқиқотчилари томонидан худди шу усул билан 5-окситриптофан олинди. Процесснинг самарали томони шундаки, реакциянинг мувозанати хар доим аминокислота хосил бўлишига қаратилган бўлади. Бу ерда ДОФА синтезланиши, диққатни жалб этадики, чунки Паркинсон касалини даволаш учун мухим препарат хисобланади.

Хозирги вақтда жудда кўп илмий ишлар иммобилизацияланган ферментлар ёрдамида камёб ва кимматбаҳо липид моддалар синтезига бағ`ишланган. Чунки, турли липид моддалар озик-овқат саноатида эмулгатор сифатида, тиббиётда турли алмаштириб бўлмайдиган дори-дармонлар сифатида кенг қўлланилади.

Анализнинг “реагенциз” усулларини биоэлектрокатализда, яъни ферментлар таъ –

сирида электродни процессларни тезлаштиришда қўллаш мумкин. Ферментатив реакцияларнинг юқори тезлиги энергиянинг электрохимёвий ўзгартирувчиларни жуда юқори солиштирма қувватини таъминлайди. Бу эса ўз навбатида, кимёвий реакцияларда оксидловчи-қайтарувчи ферментларини қўллаш учун асос бўлади. Бундай системалар ёруғ`лик таъсирида, сув фотолизи натижасида водород ва кислород олиш муаммосини хал этишда қўлланилиши мумкин. Бу муаммолар келажакда энергия олиш масалаларини хал этишда мухим рол ўйнаши мумкин.

Тиббиётда иммобилизацияланган фермент ва оксилларнинг ишлатилиши туфайли эффектив дори-дармон моддалар кашф этишга кенг имконият яратади. Ташувчи ёки модификацияланган полимерларга бог`ланган ферментларнинг иммун система рецепторларига мойиллигини камайиши туфайли, уларнинг антигенлик хоссалари сусаяди. Асосан, “контейнер” ва бошқа типдаги фермент препаратлар тайёрланади.

Иммунохимёвий анализ усуллари сезгирлигини оширишда ферментларни қўллаш мумкин. Иммунохимёвий анализнинг мохияти шундан иборатки, антиген-антитело реакцияси тугагандан сўнг реакцияга киришмаган ортиқча компонент концентрациясини аниқлашдан иборат. Бу концентрациялар жуда хам кам (10⁻¹⁰ мол.л) бўлганлиги учун нишон сифатида, одатда, радиофаол модда (ёъд, тритий) ишлатилади. Ферментларни шу радиофаол нишонлар ўрнига алмаштириш усул сезгирлигини камайтирмаслиги аниқланган.

Хозирги вақтда иммунофермент анализ (ИФА) деб аталган усулнинг қўлланилиши хақида адабиётда керакли маълумотлар тўпланган. ИФА ёрдамида антиген хоссасига эга хар қандай моддани аниқлаш мумкин.

Айниқса бу усул экология, ишлаб чиқаришнинг технологик режимини назоратида ва бошқа сохаларда қўллаш мумкин.

Ферментация жараёнининг охириги махсулотларини ажратиб олиш

Ферментация жараёнини олиб бориш мақсадидан қатъий назар, охириги махсулот бўлиб хужайра биомассаси ёки хужайра ташқарисидаги бирор бир метаболит хизмат қилади. У холда биринчи холатда чиқинди махсулот културал мухитнинг суюқ қисми бўлади. Иккинчи холатда эса хужайралар шу ролни ўйнайди. Културал мухит – биообъект хужайрасининг аралашмасини ва унинг моддалар алмашинувидаги эрувчан махсулотлари, автолиз жараёнидан кейинги ёки хужайра ўтказувчанлигининг бузулиши натижасида ажралиб чиққан ноэрувчан компонентларни ҳамда озуқа мухитининг тўлиқ сарф қилинмаган компонентларини ўз ичига олади.

Културал мухитнинг бошланғич характеристикаси (хужайралар ва моддалар алмашинуви махсулотлари концентрацияси, қовушқоқлик, хужайра ва хужайра элементлари морфологияси ва бошқ.) суюқ фазадан хужайра биомассасининг ажралиб чиқиш ёлларини кўрсатиб беради.

Фойдали махсулотларга боғлиқ холда Хужайралар ва Эрувчан метаболитлар уни ажратиб олишнинг қуйидаги жараёнларидан фойдаланилади:

Хужайралар

1. Седиментация ва декантация
2. Филтрлаш
3. Цэнтрифугалаш
4. Тиндириш
5. Флотация

Эрувчан метаболитлар

1. Экстракция
2. Сорбция
3. Чўктириш
4. Хроматография
5. Мембраналар ёрдамида ажратиб олиш

Ноэрувчан моддалар ва заррачаларни (микроб хужайралари ҳам) ажратиб олиш ва бўлиб олиш усулларини танлашга таъсир кўрсатадиган, ўлчамлари бўйича яқинлаштирилган градацияси қуйидагича бўлиши мумкин:

1. Уирик заррачалар – 0.1 дан 1 мм гача
2. Майда заррачалар – 0.01 дан 0.1 мм гача
3. Инфрамайда заррачалар – 0.001 дан 0.01 мм гача
4. Юқори молэкуляр бирикмалар – 10 дан 1000 нм гача (10^{-5} – 10^{-3} мм)
5. Куйи молэкуляр бирикмалар – 0.1 дан 10 нм гача (10^{-7} – 10^{-5})

Уирик ва майда заррачаларни ажратиб олишда қуйидагилар ишлатилади: седиментация, тўқимали ва ипак филтрлар, элак ва тўрсимон филтрлар, пуфакда фракциялаш, Эрувчан бўлмаган куйи молэкуляр бирикмаларни ажратиб олишда эса диализ, электродиализ, ион алмашиниши, эритувчилар билан экстракциялаш, қайтар осмосдан фойдаланиш мумкин.

Янада йирикрок ўлчамли заррачаларни ажратиб олишда қуйидаги усуллардан фойдаланилади, бир қанча усуллари, масалан, ультрафилтрация (2-5 гуруҳ заррачалари учун), ион алмашиниш (3-5 гуруҳ заррачалари учун), гел хроматографияси (2-4 гуруҳ заррачалари учун), кўпик ва пуфакда фракциялаш (1-4 гуруҳ заррачалари учун) бошқа усулларга: ултратцентрифугалаш (асосан 5-гуруҳ заррачалари учун), эритувчилар ёрдамида экстракция (4-5 гуруҳ заррачалари учун), суюқ ва циклон хосил қилувчи сепараторлар (2-3 гуруҳ заррачалари учун) самаралироқ хисобланади.

Микроб хужайралари, поликатион ва юқорида айтиб ўтилган полимерлар таъсирида осон коагуляцияга учрайди. Бунда хосил бўлаётган хлопя седиментация натижасида хужайралар билан биргаликда осон даражада ажралади. Чўкма хосил қилувчи ачиткиларининг штаммлари аниқланган.

Декантация ёки чўкма устидаги суюқликни қуйиб олиш усулини вакуум сўриб олиш жихози ёсдами билан алмаштириш мумкин.

Кичик хажмдаги културал суюқликни филтрлашни рамали филтрда, катта хажмдагиларни эса барабанли вакуум филтрда олиб бориш мумкин. Филтрация жараёнини иссиқлик ёки флокулянт (глинозема, СаСл₂, полиэлектролитлар) қўшиш билан сезиларли даражада (10-100 марта) тезлаштириш мумкин.

Микроб хужайрасининг чўкмаси сиқилувчи, яъни зичлашувчилар каторига киради. Шунинг учун вақт ўтиши билан филтрация тезлиги сезиларли даражада камайди. Филтрация тезлигининг камайишининг олдини олиш учун пичоқ ёрдамида хужайра массасининг қатлами (масалан, мицелий) кесилади.

Тцентрифугалаш – заррачаларни марказдан қочма кучнинг ўсиш тезлигининг ортиши хисобига мажбурий чўктириш усулидир. Микробиологияда центрифугаларнинг турли хил типлари қўлланилади:

Тцентрифугалаш натижасида културал суюқликлардан бактерия, ачитки ва мицелияли замбуруғларни ажратиб олиш мумкин. Аммо, масалан, юқори қовушқоқликка эга бўлган културал суюқликлар кўп марта сув билан (баъзи холларда иссиқ ёки совук) суюлтирилиб, сўнгра центрифугаланади – сепараторланади. Бу хол юқори қовушқоқликка эга экзополисахаридларнинг продуцентларини, масалан, баъзи бир аубазидан, пуллулан типдаги замбуруғ гликанларини ажратиб олишда кузатилади. Тиндириш – бижғиш жараёнларида амалга оширилиб, седиментация жараёнининг давоми хисобланади.

Флотация (инглизча **флоататион** – сиртга қалқиб чиқмоқ) патологик материаллардан диагностик мақсадларда олинган туберкулёз микобактерияларини концентрлаш (жамлаш) учун қўлланилади. Микробиотехнологияда флотациядан пиво тайёрлашда бир қанча бир хужайрали микроорганизмлар оқсиллини олишда фойдаланилади. Кўпикли флотацияда эриган оқсилларни пивонинг “хаво-суюқлик” бўлиниш

чегарасида концентраланиши (жамланиши) хисобига юзага келадиган барқарор кўпикнинг хосил бўлишига сабабдир.

Агар таъсирий модда эрувчан метаболит бўлса ёки у хужайра ичида синтез қилинса, у холда уни ажратиб олишнинг қуйидаги усулларидан фойдаланилади: экстракция, сорбция, чўктириш, хроматография, мембраналар ёрдамида ажратиб олиш. Экстракция жараёни органик эритувчилар ёрдамида амалга оширилади, масалан, културал суюқликдан продуцент хужайрасини ажратиб олингандан сўнг гризеофулвин антибиотигини ацетон билан ёки бензилпенициллинни pH 2.0-3.0 да бутилацетат билан (“суюқлик-суюқлик” системаси) экстракция қилиш, ёки икки фазали сувли системада ферментлар (хусусан, пуллуланаза) экстракцияси, бунда глюкоза-декстранни унга мос келмайдиган полиэтиленгликол билан (ПЭГ-6000) экстракциялаш.

Сорбция – бу бирор бир жисм томонидан газ, буғ ёки мухитдаги эриган моддаларнинг ютилиши. Унинг қуйидаги турлари мавжуд:

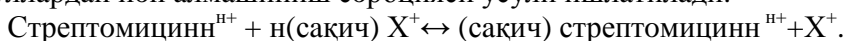
Адсорбция – сорбция жараёнида қаттиқ жисм юзаси иштирок эца.

Абсорбция – модданинг бутун хажм бўйлаб ютувчи (адсорбент) юзасига ютилиши.

Хемосорбция – газ ютилишида ютувчи (адсорбент) билан газ орасида кимёвий таъсирлашувнинг юзага келиши.

Десорбция – бу сорбция жараёнига тескари бўлган ходиса (жараён), яъни қаттиқ жисм ёки суюқликка ютилган модданинг ажралиб чиқиши. Барчага маълум адсорбентларга фаоллаштирилган кўмир, кизелгур, силикагел, целюлоза киради. Барча адсорбентлар қатта юзага эга бўлишлари керак. Мисол учун, 1 г фаоллаштирилган кўмир 600 дан 1700 м² гача юзага эга бўлади. Шунинг учун у юқори ютиш қобилиятига эга.

Адсорбентлардан ётувчи сифатида микробиотехнологияда кенг қўлланилади. Карбоксил гуруҳ сақловчи аминогликозид антибиотик хисобланувчи стрептомицинни ажратиб олишда қўлланиладиган усуллардан ион алмашилиш сорбцияси усули ишлатилади.



Бир қатор холларда таъсирий модданинг зарядини ўзида сақловчи ион алмашилувчиларни танловчи сорбция учун тўғридан тўғри културал суюқликка қўшиш мумкин.

Микробиотехнологияда чўктириш усулидан оксил (масалан, ферментлар), полисахарид, қатор антибиотиклар ва бошқа моддаларни олишда фойдаланилади. Оксилларни олишда тузлаш, pH мухитни изоэлектрик нуктагача ўзгартириш, эритманинг диэлектрик ўтказувчанлигини пасайтириш, оксил молекулаларининг салватация даражасини пасайтириш ва бошқа усуллардан фойдаланилади.

Оксилларни тузларнинг концентраланган эритмалари билан тузлаш энг кўп ишлатилладиган усуллардан хисобланади. XIX асрдаёқ турли ионлар тузланиш фаоллигининг пасайишини лиотроп қатор кўринишида ёки Гофмейстер қатори кўринишида жойлаштириш мумкинлиги аниқланган:

Катионлар:

Tx^{4+} , Al^{3+} , X^+ , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cs^+ , Rb^+ , NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Li^+

Анионлар: $\text{OOC-CX}_2\text{-C(OH)-CH}_2\text{-COO}^-$, I^- , COO^-

F^- , IO_2^- , X_3PO_4^- , CX_3COO^- , BR_3^- , СЛ , CO_3^{2-} , BR^- , NO_3^- , СЛО_4^- , I^- , СНС^-

Тузловчи агент сифатида кўпинча аммоний сульфат қўлланилса ҳам, уни бошқа тузлар билан алмаштира бўлади.

Юқори қовушқоқликка эга экзополисахаридлар уларни сувда аралашадиган органик эритувчилар – этанол ва ацетон билан чўктириш орқали ажрати б олинади. Алгинатлар – полианионли биополимер углеводлар калций хлорид эритмаси билан гел кўринишида чўктирилади.

Айрим чўктирувчилар эриган таъсирий модда билан органик эритувчилар мавжудлигида чўкмага тушадиган эримайдиган тузлар хосил қилади:

Стрептомицин + X_2CO_4 + органик эритувчи \rightarrow ↓ **стрептомицин сульфат**

Биологик фаол моддаларни хроматографик ажратиш турли хил вариантларда қўлланилади: гел-филтрация ёки гел сингувчи хроматография – молекуляр элакдаги хроматография, ион алмашиниш хроматографияси.

Гел-филтрация – молекуляр массаси билан фарқ қиладиган моддалар аралашмасини ажратишда қўлланилади. Бу моддалар микроорганизмларнинг турли метаболитлари, жумладан полидисперс оксиллар ва порлисахаридлар бўлиши мумкин. Ажратилаётган модданинг кичик ўлчамли молекулалари гел-насадқадан ўтиш хусусиятига эга бўлгани учун хроматографик колонкада экинроқ ҳаракатланади, катта ўлчамли молекулалар эса гел заррачаларига кира олмайди ва шунинг учун колонка бўйлаб тезроқ ҳаракатланади, натижада хроматографик колонкадан биринчи бўлиб чиқади.

Ион алмашиниш хроматографиясида оксил аралашмасининг эритмаси ҳаракатли қатлам ҳисобланса, ион алмашинувчи смола ҳаракатсиз қатлам ролини ўйнайди. Яъни оксиллар катион кўринишида целлюлоза матрицасида манфий заряд сақловчи катион алмашинувчи карбоксиметилцеллюлоза (КМС) билан боғланади. Оксилларнинг кейинги элюцияси (ажралиши) ион кучи ортиб боровчи буфер эритмалар ёрдамида олиб борилади. Биринчи бўлиб КМС билан нисбатан кучсиз боғланган оксиллар элюирланади (ажралиб чиқади).

Шунга ўхшаш жараёнлар анион алмашинувчилар билан ҳам олиб борилади. Нисбатан кўп ишлатиладиган анион алмашинувчи – диэтиламиноэтилцеллюлоза.

Афин хроматографияда фермент, антитело ва лектинларнинг ўзига хос хоссаларидан фойдаланилади. Ферментлар ингибиторлар билан, антителолар ўзига мос антигенлар билан (иммунсорбцион хроматография), лектинлар эса хужайра деворидаги махсус рецепторлар билан комплекслар хосил қилади.

Биотехнология соҳасига мембраналар ёрдамида турли хил моддалар ёки хужайраларни ажратиш усули тадбиқ қилинмоқда. Қайтар осмос ва ультрафилтрация жараёнларининг ҳал қилувчи омили сифатида молекула ёки заррачалар диаметри катта рол ўйнайди. Мисол учун айрим молекула ва хужайраларнинг ўлчамлари (диаметри) мкм ларда келтирилган:

Сув (ММ 18 Да) – 0.0002, органик кислоталар 100 дан 500 Да гача бўлган ММ билан – 0.0004-0.0008, моноза ва биозалар 180 дан 400 Да гача бўлган ММ билан – 0.0008-0.0001, айрим антибиотиклар 300 300 дан 100 Да гача бўлган ММ билан – 0.0006-0.0012, протеинлар ва гликанлар 10000 дан 1 млн Да гача бўлган ММ билан – 0.002-0.01, бактерия хужайралари – 0.3-1, баъзи ачитқи ва мицелияли замбуруғлар хужайралари – 1-10.

Модданинг заррачалари ўта олмайдиган мембрана орқали ажратилган эритмасидаги ёки тоза эритувчидаги кимёвий потенциалларининг мувозанатлашуви *осмос* дейилади.

Эритмага унинг осмотик босимидан юқори бўлган ортиқча босим берилиши, концентрация градиентига қарши эритувчининг ҳаракатланишига сабаб бўлади. Бунда эриган модда концентraciaси ортади, яъни қайтар осмос жараёни содир бўлади.

Осмотик жараёнлардаги қаторида катта ўлчамли молекулаларни ушлаб туришда ҳаракатланувчи эритувчида кичик молекулаларнинг тўхтовсиз диффузияси содир бўлганда юзага келадиган диализ жараёни ҳам ўрин эгаллайди. Бунда концентрация градиентига қарши эритувчининг силжиши кузатилмайди. Диализ жараёнидан протеин, гликопротеин ёки янада мураккаброқ комплекс сакловчи антиген препаратларни тозалашда қўлланилади. Диализ туфайли ноорганик тузлардан халос бўлинади.

Ультрафилтрациядан куйи молекуляр аралашмаларда 1 дан 100 нм гача бўлган молекулаларни тозалашда ва концентрлашда (жамлашда) қўлланилади. Бунда эритувчи оз миқдорда олиб ташланади.

Амалиётда биологик фаол моддалар молекуласи ва хужайрасини ажратишда усуллар кетма-кетлиги кўп қўлланилади.

Ферментация жараёнини мос формулаларни қўллаган ҳолда турли кўрсаткичларга қараб баҳолаш мумкин:

1. Биомассага кўра маҳсулот унуми

а. Даврий жараён учун

$$Q_x = \frac{x_1 - x_0}{t_1 - t_0}$$

б. Доимий (тугамас) жараён учун; X_0 – вақт t_0 (соат) бирлиги ичидаги биомасса концентraciaси (г/л); D – оқиш тезлиги ёки суюлтириш коэффициентини (1/соат);

$$Q_x = DX$$

2. Солиштирма ўсиш тезлиги

$$\mu = \frac{X_1 - X_0}{X_1(t_1 - t_0)} ;$$

3. Биомасса концентрацияси

$$X_1 = X_0 e^{\mu (t_1 - t_0)}$$

4. Тайёр махсулот бўйича махсулдорлиги

а) даврий жараён учун

$$Q_p = \frac{P_1 - P_0}{t_1 - t_0}$$

б) узлуксиз жараён учун:

$$Q_p = DP$$

2. Тайёр махсулотнинг хосил бўлиш тезлиги

$$q_p = \frac{P_1 - P_0}{X_1(t_1 - t_0)}$$

3. Субстратни сарфланишини солиштирма тезлиги

$$q_s = \frac{S_0 - S_1}{X_1(t_1 - t_0)}$$

4. Субстратдан биомассани чиқиши

$$Y_{x/s} = \frac{\mu}{q_s} = \frac{X_1 - X_0}{S_0 - S_1} ;$$

5. Тайёр махсулотни чиқиши

$$Y_{p/s} = \frac{q_p}{q_s} = \frac{P_1 - P_0}{S_0 - S_1} ;$$

4.7. Энзимология соҳасидаги фундаментал изланишлар

Хар бир хужайра – бутун тизим бўлиб, унинг таркибий қисмлари тизимли ва функционал жихатдан ўзаро боғлиқдир. Мазкур боғлиқлик оқсил молекулаларининг – асосан ферментларнинг генетик шартланган синтезда намоён бўлади. Хронологик тартибда фақат оқсиллар – матрица синтези махсули **бирламчи**; ферментларнинг каталитик таъсири остида юзага келадиган бошқа барча молекулалар эса **иккиламчи** бўлиши керак.

1836 йилда «катализ» атамасини (аचितки шарбатининг каталитик функцияларини аниқлаган М.Манаминадан 35 йил аввал – 1871 йилда) таклиф этган буюк швед олими И.Я.Берцелиус айтишича: «Ўсимликлар ва хайвонлар тўқималари ва суюқликларидан минглаб каталитик жараёнлар юз беришини таъкидлашга асосимиз бор». Бу фикр ферментлар илмига маълум бўлмаган вақтда баён этилган. Хозир, масалан, Моллисутэс га таъалуқли энг

кичик хужайрада (диаметри 0,1 мкм) 100 тадан ортиқ ферментлар мавжуд бўлиб, хужайра организм сифатида фаолият кўрсатиши мумкинлиги таъкидланмоқда. Табиийки, бошқа прокариот ва эукариотлар хужайраларида 1000 дан ортиқ биокатализаторлар мавжуд. Аксарият микроблар юқори эукариотларга хос бўлган нафас олиш, овқат хазм қилиш ва бошқа органлари мавжуд махсулаштирилган тизимга эга эмас. Шунинг учун уларнинг ўсиши, ривожланиши ва кўпайишидаги асосий метаболитик жараёнлар (метаболизм – модда ва энергиянинг биологик алмашинуви) ферментларга юклатилган. Хар бир тирик хужайрада турли моддаларнинг кичик ва катта (полимер) молекулалари мавжуд. Улар хужайрада синтезланиши зарур, баъзилари эса (кам холларда, кичик таркибий қисмларга ёки унумларга парчаланган холда) ундан чиқарилиши мумкин. Шундай жараёнларнинг барчасида ферментлар иштирок этади. Бугунки кунга қадар тахминан 2000 индивидуал ферментлар маълум бўлиб, бу чегара эмаслигини таъкидлаш мумкин. Прокариот ва эукариот хужайраларида ферментлар мақсадли равишда тақсимланган ва тўпланган, масалан, цитоплазмада гликолизнинг барча ферментлари, митохондриялар матриксида – трикарбон кислоталар ва ёғ кислоталарини β-оксидланиш ферментлари, оксидланиш фосфориллаш ферментлари – митохондрияларнинг ички мембранасида жойлашган.

Э.Соли хужайрасида ДНК узунлиги $1,4 \cdot 10^6 \cdot 3,0$ нм, оғирлиги эса $1 \cdot 10^{14}$ г ни ташкил этади. Унинг ёйилган ҳолатдаги узунлиги тахминан 1,4 мм ни ташкил этиб, мазкур ДНК шу ДНКни сақловчи бактериал хужайрадан тахминан 500 маротаба узунроқдир. Ичак таёқчасининг бундай хромосомаси аксарият ферментлар томонидан тақдим этиладиган 4500 оксилни кодлаш учун ййэтарли бўлган маълумотга эга.

Ферментлар хужайра оксилларининг асосий массасини ташкил этади. Битта ферментга фойзининг юздан бир қисми (баъзи вирусларда)дан 10-12% гача (хужайрадан иборат қатор микроорганизмларда, масалан, *Э.Соли*) тўғри келади.

Шу билан бирга хромосома ДНК си кўплаб генлар оддий кетма-кетлиги эмас. Шунинг учун хромосомали ДНК сони, масалан, эукариот организмлар вакилларида, уларнинг эволюцион ривожланиши даражасига мутаносиб эканлигини таъкидлаб бўлмайди. Бундай холларда баъзи бақа ва балиқлар, хайвонлар инсонга нисбатан кўпроқ ривожланган бўлиши керак эди, чунки улардаги геномнинг ўлчами 10^{10} - 10^{11} нуклеотид жуфтини (нж), сут эмизувчилар ва инсонда эса 1-2 тартибга камроқ (10^9 - 10^{10} нж) ни ташкил этади. Юқори ривожланган жонзодларда ДНК нинг асосий қисми ген кетма-кетлиги асосида ташкил этилмаганлиги (инсондан бундай типга барча ДНКнинг 80-90% тегишли) ёки бир хил кетма-кетликнинг жуда кўп қайтарилиши сабали «индамас» ҳисобланади. Бундай омиллар ўз навбатида хужайралар, органлар ва тўқималардаги ферментлар тўпламига ва уларнинг функционал фаоллигига таъсир кўрсатади.

Ферментлар анчадан бери биотехнологиянинг объекти ҳисобланиб, уларнинг индустрияси XX аср бошларида ривожланган. Фермент ишлаб

чиқариш хажми ўсишда давом этиб, биокатализаторлар тўғрисидаги нашрлар миқдори эса ҳар йили 10000 мақолага йетказилмоқда. Ферментлар ҳар бири тирик ҳужайрага, кичик ассортиментда - ташкиллаштирилган заррачалар (вируслар)га хосдир. Ферментларни ўрганувчи фан энзимология деб аталади, инжэнэрлик энзимологияси эса –ферментларнинг каталитик таъсирдан фойдаланиладиган биотехнологик жараёнларни ўрганувчи биологик технологиянинг бир қисмидир. Инжэнэрлик энзимологиясининг асосий вазифаси халқ хўжалиги эҳтиёжи учун турли моддалар ва энергиянинг иқтисодий жихатдан арзон бўлган ферментатив жараёнларни амалиётга тадбиқ этишдир.

Инжэнэрлик энзимологияси даражасига кўтариш учун қуйидаги асосий муаммо ва вазифаларни ҳал этиш зарур:

- 1.Биообъектдаги ёки озуқа мухитидаги топологиясига боғлиқ равишда ферментларни ажратиб олиш ва тозалаш усулларини яратиш;
- 2.Фермент таркиби ва тузулишини аниқлаш;
- 3.Ташқи мухит омиллари натижасида ферментатив таъсир кинетикасининг хусусиятларини кўрсатиш;
- 4.Ферментлар фаоллигини уларнинг тозаллигини, табиий аралашмалар ёки сунъий қўшимчаларга боғлиқлигини баҳолаш;
5. Ферментларнинг синтези ва фаоллигини бошқариш ёналишлари ва механизмлари;
- 6.Ферментлар таъсирини тирик ҳужайраларга хос индивидуал ферментлар ва полифермент тизимлар имобилизациясини ҳисобга олган ҳолда имобилизациялашни модел- лаштириш;
- 7.Ферментатив жараёнларнинг жихозларини расмийлаштириш;
- 8.Ишлаб чиқариш учун тавсия этилган ферментатив жараёнларнинг иқтисодий жихатдан қулайлигини таъминлаш.

Ферментлар ҳужайра тизимида турлича тақсимланган бўлиб, уларнинг биосинтези ядро аппарати элементларида юзага келишига қарамасдан, ферментларнинг бир қисми ҳужайрадан ташқарига ажралиб чиқарилади масалан, гидролаза ферменти. Бунда конструктив ёки энергия алмашинуви мақсадида полимер моддалар гидролиз маҳсулотларининг парчаланиши билан белгиланади.

Ҳужайрадан ташқаридаги ферментлар турига тегишли равишда крахмал, ёғ ва оксилларни гидролиз реакцияларини катализлаштирувчи микробли амилаза, липаза ва пептид-гидролазани киритиши мумкин. Хайвон протеазасини (пепсин) ҳам шартли равишда ҳужайра ташқарисидаги ферментларга киритиши мумкин, чунки у тегишли ҳужайралардан (ошқозон шиллиқ қаватининг асосий ҳужайраларидан) ошқозон бўшлиғига келиб тушади, ундан ташқари, ошқозон ости беши ферментларини ҳам ўн икки бармоқли ичакка туширилганлиги сабабли мисол тариқасида келтирилиши мумкин.

Таъкидлаш жоизки, ҳужайрада синтезланувчи аксарият ферментлар зимоген ёки пассив ферментлар ҳисобланади, уларнинг фаол ферментларга

трансформацияланиши учун чегаравий (специфик) посттрансляцион протеолиз зарурати туғилади.

Барча холларда экзо- ва эндоферментларни олишда худди унифирстирланаётгандэк, барча ажратиб олиш ва тозалаш босқичларида фақат уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари билан аниқланганади. Масалан, экзоферментни ажратиб олишда продуцент хужайралари чиқиндиси, культурал суюқлик ёки ошқозон шираси – мақсадли махсулот – хом ашё бўлиб хисобланади.

Эндоферментларни олиш зарурати туғилган холда эса, уларнинг таркибидаги хужайралар ва тўқималар майдаланиб (дезинтерграция), тегишли эритувчи билан экстракцияданиши лозим. Олинган эритма хам ярим махсулот – хом ашё хисобланади. Бунда келиб чиқиши ва топологияси (эндо- ва экзо) хар хил бўлган, аммо фақат битта фермент хақида сўз юритилаётган бўлса, хом ашёдан бошлаб, уларни ажратиб чиқариш технологик схемаси кўп жихатдан ўхшаш бўлади. Бундай холларда тузлаш, турли моддаларнинг зичлик градиентида сепараторлаш, мембранали филтрация, гел-хроматография, афин хроматография, ион алмашинув ва бошқа усулларни қўллаш имконияти мавжуд. Зарурат туғилганда хужайранинг қисмида локализацияланган (тўпланган) ферментларни ажратиш мумкин. Бунда, мазкур қисмнинг физик-кимёвий хусусиятларини (ўлчами, зичлиги, шакли) инобатга олган холда хужайралар (тўқималар) дезинтерграциясидан сўнг дифференциал цэнтрифугалаш усули қўлланилади. Бу холда турлича зичлик ёки ўлчамдаги сферик заррачалар цэнтрифуга пробиркасида бир вақтда бир хил узоқликда харакатланади. Заррачанинг бир холатдан (ρ_1) иккинчи холатга (ρ_2) ўтганда қуйидаги тенгликдан ўтиш вақти аниқланиши мумкин:

$$t = \frac{9}{2} \frac{\eta}{\omega^2 R^2 (\rho_p - \rho_f)} \ln \frac{r_2}{r_1}$$

Бунда, t – вақт; η - цэнтрифугалановчи суюқлик қовушқоқлиги;
 ω – бурчак тезланиши; R – заррача радиуси; ρ_p - заррача зичлиги;
 ρ_f – цэнтрифугалановчи суюқлик зичлиги; $\frac{9}{2}$ - оғирлик кучи
коэффициенти.

Ажратилаётган заррачалар шакли хар доим хам сферик бўлмай, қўлланилаётган усулларга тегишли ўзгартириш киритиш ёки изоляция ва хисоблашнинг бошқа усулларини танлаш зарур. Ферментлар – глобуляр оқсиллар бўлиб, уларни ажратишда асосан уларнинг суббирлик (s) сони эмас, балки молекуляр массаси (MM) мухим ахамиятга эга. Мисол тариқасида химотрипсин ($MM=24500$ Да, $s=3$), ишқор фосфатазаси ($MM=80000$ Да, $s=2$), лактатде- гидрогеназа ($MM=140000$ Да, $s=4$), триптофаназа ($MM=220000$ Да, $s=8$) ва бошқаларни келтириш мумкин. Ундан ташқари, бир турдаги организмда бир хил реакцияни

катализилаштирувчи, аммо турли хил молекуляр массага эга бўлган ферментлар маълум. Улар изоферментлар деб аталиб, юқоридаги сабабларга кўра уларни ажратиб олиш қийинроқ кечади.

Ўлчамига кўра катта бўлган компонентлар (интакт хужайралар, тўқима, ядронинг парчаланмаган қисми) дифференциал центрифугалашда тезроқ чўкмага туширилади, яъни уларнинг чўкмаси кичик тезликда олинади, супернатант (лот. *Супэрнатанс* – қалқиб чиқувчи) эса кейинги центрифугалашга юқориқ тезликда юборилади. Бу ҳолда чўкмада митохондриялар мавжуд бўлиши мумкин. Кейинги центрифугалашда тезлик янада оширилган ҳолда эса рибосомаларни ажратиб олиш имконияти юзага келади.

Ротор катта бурчак тезланишида ҳаракатланган ҳолда оғирлик кучидан бир неча баробар катта бўлган марказдан қочма куч (G) юзага келиб, бу катталиқ куч 600-600000 г (г-оғирлик кучининг тезланиши) га етказилиши мумкин. $G = \omega^2 r$ (r – заррача ўтган ёъл узунлиги). Масалан, эукариот хужайралар дезинтегралдан ядрони ажратиб олиш учун 10 мин давомида 600г да, липосома ва митохондриялар изоляциясида 5 мин давомида 15000 г да, рибосомаларни ажратишда эса 1 соат давомида 100000 г да центрифугалаш талаб этилади.

Заррачанинг $r(Vr)$ ёъналишдаги ҳаракатланиш тезлиги қуйидаги тенглама орқали топилади:

$$Vr = \frac{dr}{dt} (t - \text{секунд})$$

Хужайра ёки тўқималар дезинтегрални центрифугалаш катта тезликда сувли суспензиядаги турбулент оқимдан иборат бўлиб, турли заррачалар «қаттиқ жисм» ҳаракатига қарши куч суюқлик қовушқоқлиги (η) бўйича эмас, балки унинг зичлиги (ρ) бўйича аниқланади. Бу ҳолда қаршилиқ кучи гидравлик деб номланиб, $F = C_f \rho V^2$ формуласи орқали ифодаланади, бу ерда C_f – қаттиқ жисм ўлчамига боғлиқ бўлган коэффицент, V – жисмининг кўндаланг кесим юзаси. Сферик жисм учун C_f кўрсаткичи 0,05-0,2 оралиқда бўлиб, юзанинг оссасига (силлик, ғадир-будир) кўра белгиланади; оқимга нисбатан перпендикуляр бўлган юпқа диск учун C_f тахминан 0,55 га тенг.

Динамик қаршилиқ ва қовушқоқ ишқаланишнинг нисбати ҳаракатланаётган суюқликга таъсир кўрсатиб, Рейнолдснинг ўлчовсиз сони билан ифодаланади:

$$Re = \frac{l^2 \rho v^2}{\eta l v} = \frac{l \rho v}{\eta}$$

Бу ерда l – ўзига хос чизигли ўлчам. Жисмлар юзаси бўйича оқимда l – узунлик ёки кесим ўлчами, узун трубалардаги оқимда эса l – труба диаметридир. Тэцентрифугалашда заррачалар тезлиги ва ундан келиб чиққан ҳолда, Рейнолдс сони жуда кичикдир. Шунинг учун заррачага таъсир этаётган ташқи мухитнинг қаршилиқ кучи Стокс қонунига биноан

аниқланади. Мазкур қонунга биноан чексиз қовушқоқ суюқликдаги сзкин харакатланаётган қаттиқ шарнинг қаршилиқ кучи $\Phi=6\pi\eta RV$ орқали ифодаланади, бу ерда R - шар радиуси; η – суюқлик қовушқоқлиги коэффиценти; V - шар харакатининг тезлиги.

Заррачанинг харакатланиш параметрларини қуйидаги тенглик орқали топиш мумкин, бу тенгликда r ёналиш оғирлик кучи ёналишига перпендикуляр бўлганлиги сабабли оғирлик кучи коэффиценти хисобга олинмайди:

$$6\pi\eta RV_r = \frac{4\pi R^3}{3} G(\rho_p - \rho_f)$$

Бу ерда V_p – r ёналишдаги заррача тезлиги; G – марказдан қочма тезланиш; ρ_p - заррача зичлиги; ρ_f – суюқлик зичлиги; η – суюқлик қовушқоқлиги, R – заррача радиуси.

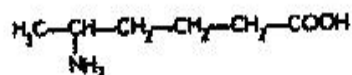
Хар бир энзимнинг биообъекти-продуцентни танлашда самарали (ўсиш тезлиги, хосилдорлиги ва фермент фаоллиги бўйича) зарурий штамм (клон эмас)га эга бўлиши зарур. Клоннинг лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитида сақланиши мураккаб бўлиб, клондан асосан генетик мақсадларда фойдаланилади.

Индивидуал равишда бирон бир ферментни ажратиш учун мўлжалланган културал суюқликлар ёки тўқима экстрактларининг полифермент хусусиятига ҳам ахамият бериш зарур. Бу айниқса гликасинтетаза ва гликаназалар учун тегишлидир, бунда углевод полимерларининг тармоқланганлиги (синтезда битта синтетазадан ортик синтетаза иштирок этиши) ва полидисперслигида (ўсиш даврида полисахарид синтези жараёнига ва хужайра ёки тўқиманинг ривожланиши жараёнига генетик коднинг таъсири, яъни бунда углевод полимерининг матрицасиз синтези ўринли) акс эттирилади. Бундай холларда афин хроматографияни (анг. Афинитй – қардош) қўллаш мақсадга мувофиқдир.

Афин хроматографияси биомолекулаларнинг спецификлигига асосланган. Мазкур усул билан абсолют тоза моддалар олиш мумкин. Табиий холатда ферментлар ўзининг фаол маркази ва бошқарувчи қисми (бир ва ундан ортик) хисобига субстратлар, ёки эффекторлар деб аталувчи бир нечта лиганд билан таъсирлашади.

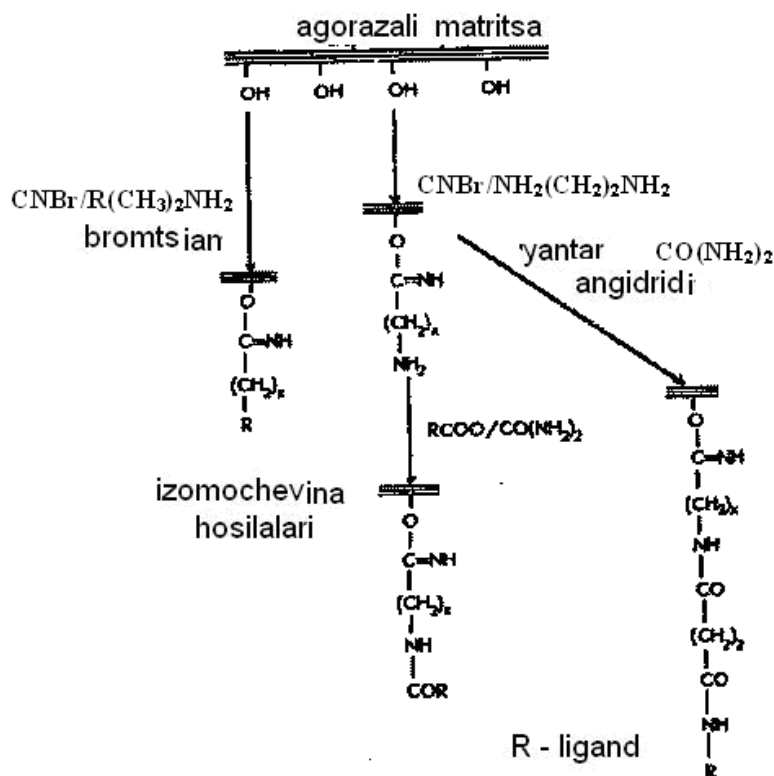
Лиганд сифатида одатда конкурент қайтар ингибитор қўлланилиб, у ковалент боғланган тегишли эримайдиган матрица ўртасида фермент ўртасида боғланиш қобилятини ёқотмаган холда боғланади. Тегишли буфер эритмадаги лигандли матрица колонкага қуйилади, сўнгра колонка орқали тозалаш учун мўлжалланган фермент эритмаси ўтказилади. Колонкада фақат специфик фермент ушланиб қолиб, бошқа ферментлар ўтказиб юборилади. Бундан кейин бошқа pH ёки ион кучини сақлаган эритмада субстрат ишлатилган холда специфик фермент элюацияси амалга оширилади. Афин хроматография ёрдамида ферментларни ажратишда, мақсадли ферментнинг барча кинетик кўрсаткичлари хақида маълумот, самарали матрица муваффақиятли танлаб олинган лиганд хақида

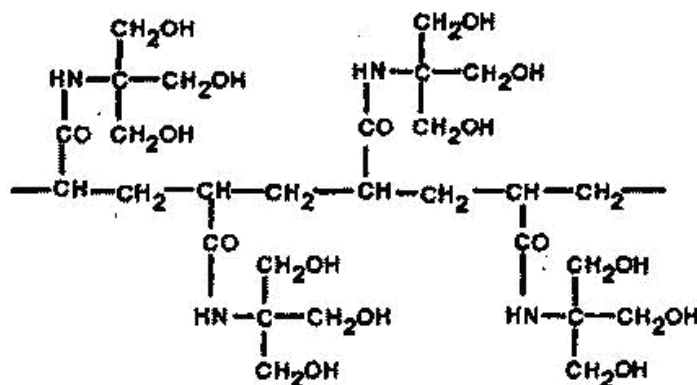
маълумотга эга бўлиш зарур. Мисол тариқасида агароза (ёки сефароза) полисахариди карбоксил гурухларининг лиганд билан узайтирувчи кўприклар, яни, $X_2N(CX_2)_xNH_2$ ($x=2-6$) туридаги диаминлар ёрдамида боғланиш схемасини келтириш мумкин.



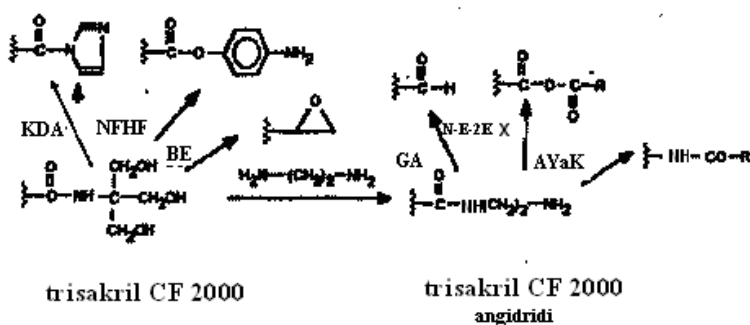
Э-аминокапрон кислотаси

Афин хроматография учун ижобий матрица Н-акрилоил-2-амино-2-гидроксиметил-1,3-пропандиол ва гидроксилланган акрил бифункционал мономернинг полимерланиши натижасида ҳосил бўладиган ГФ 2000 (Франция) типидagi трисакрил ҳисобланади. Трисакрил иккиламчи амидлар ва бирламчи гидроксиметил гурухлар ҳисобига юқори гидрофил сополимердир. Улар молекула юзасида жойлашган бўлиб, полиэтиленли кор эса (анг. сорэ – марказ) ичкарида химояланган ҳолда жойлашган.





Trisakril GF 2000

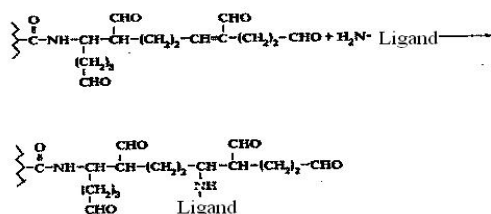


41-расм. Афин хроматографияси учун трисакрил СФ 2000 асосида баъзи сорбентларни олиш

КДА – карбонилдиимидазол, НФХФ – нитрофенилхлоро-формиат, БЭ – бисэпоксиронлар, ГА – глутаралдегид, Н-Э-2ЭХ – Н-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин, АЯК – янтар кислотасининг ангидриди.

Трисакрил турли хил хароратларда 121⁰С гача пХ=1-11 да турғун бўлиб, диссоциирловчи агентлар ва сирт фаол моддаларга ҳам нисбатан турғундир. Уни Афин хроматографисида қўллаш мақсадида глутаралдегид, эпихлоргидрин, дивинилсулфон, п-нитрофенил-хлороформиат, карбондиимидазол, этилендиамин ва бошқалар ёрдамида фаоллаштирилади (41-расм).

Фаоллаштирилган трисакрил шунингдек, лиганд билан боғлаш ёрдамида ҳам ишлатилади. Мисол тариқасида лиганднинг глутаралдегид ёрдамида фаоллаштирилган трисакрилда иммобилизациясини келтириш мумкин (42-расм).



42-расм. Лиганднинг глутаралдегид ёрдамида фаоллаштирилган трисакрилда иммобилизацияси схемаси

Демак, ферментларни ажратиш ва тозалаш – санъат сингари фандир. Бинобарин, агар мақсадли махсулот олиш жараёнида кимёвий реакция унумдорлиги 0,1% ва юзлаб чиқинди махсулотлар келиб чиқадиган жараёнга органик кимё

томонидан қизиқиш туғилмайди. Индивидуал оксил олишни хоҳлаган биотехнологлар шундай вазифаларни хал этишлари зарур. Биологик материал ишлаганда турлича биообъектларда (хатто маълум бир хайвон ва тўқималарида ҳам) дастлабки хоссалари хақида аниқ билимга эга бўлиш зарур. Бунга асосан технологик жараёнга киритиш учун материал, унинг дастлабки тайёргалик усуллари танланади.

Фермент молекулалари ташқи муҳит таъсирига сезгир бўлиб, уларни ажратишда ва тозалашда хароратни (баъзи холларда ишлатилаётган эритувчининг қотиш хароратига яқин хароратни сақлаш), pH ни (одатда буфер эритмалар ёрдамида), оксил, концентрацияси, эритманинг ион кучини, оғир металллар ионларининг концентрациясини (комплекс ҳосил қилувчилар, масалан, ЭДТА ёрдамида ёъқотилади) оксидланиш-қайтарилши потенциални назорат қилиш зарур. Таъкидлаш жоизки, оксилларнинг аксарияти суюлтирилган эритмалари денатурацияга мойил бўлиб, уларнинг турғунлиги субстратлар ёрдамида ўрнатилади.

Ферментларни тозалашдаги ёрдамчи усуллардан диализ, лиофилизация, тегишли молекуляр элаклардан (гелли, мембранали) ўтказиш усуллари мавжуд.

Ферментлар тозалик критерийлари сифатида электрофорез, ультраэнтрифугалаш (седиментограмма), турли усулларда молекуляр массасини аниқлаш, эрувчанлиги ёрдамида, хар бир фракциянинг специфик фаоллигига кўра полидисперслик даражасини баҳолаш, турли хил ташувчиларда ва бир нечта системада хроматографиялаш, аминокислоталар таркиби (айниқса оксил аралашмалари аниқланганда), жумладан автоматлаштирилган асбоблар – секвенаторларда секвенирлаш (инг. *Сэқуэнсэ* – кетма-кетлик) маълумотлардан фойдаланилади.

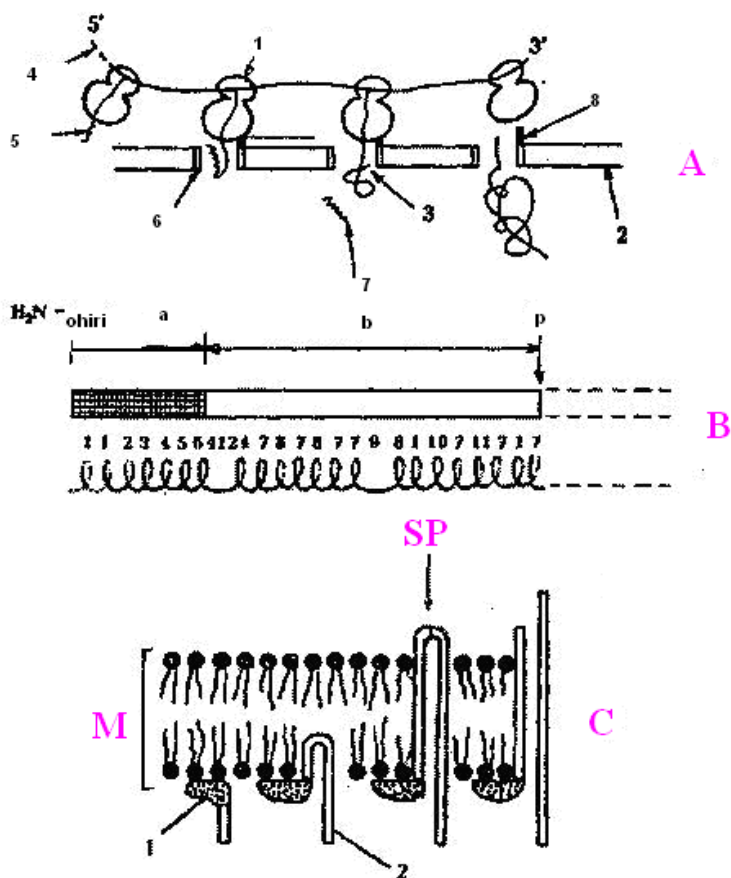
Охирги йилларда микроорганизмларнинг хужайра ташқарисидаги ферментларига қизиқиш ортиб бормоқда, чунки микроблар-продуцентлар - белгиланган шароитда осон кўпайиб, юқори ҳосилдор махсулотлар олиш мақсадида ўзгартиришларга мойил бўлади.

Граммусбат бактерияларда экзоферментлар топологик жихатдан фақат хужайра ташқарисида (аксарият протеазалар, гликозидазалар ва б.) ва хужайра мембранасининг ташқи тарафида тўпланган, масалан, Бас.личэниформис даги α -глюкозидаза бўлиши мумкин.

Грамманфий бактерияларда экзоферментлар кўшимча равишда периплазматик бўшлиқда жойлашиши мумкин.

Хужайрадан ташқаридаги ферментлар асосан граммусбат бактерияларда грамманфий бактерияларга нисбатан кўпроқ бўлади, аммо грамманфий бактерияларда ферментларнинг яққол продуцентлари (аэромонаслар, псевдомонаслар, баъзи энтеробактериялар ва б.) мавжуд.

XX асрнинг 70-йилларида сигнал назарияси (Г.Блобел ва б., 1979) таклиф этилган. Бу назарияга биноан секрециялановчи оқсил NH_2 -охири орқали 15-30 та аминокислотага узаяди, натижади лидер, ёки сигнал пептид хосил бўлади, у ўз навбатида рибосомани мембрана томон ёъналтиради. Мембранада лидер пептид бошқа мембрана оқсиллари билан биргалиқда рибосомада уланганда турғунлашувчи канал шаклланади. Рибосома оқсилни синтезлаб бўлгач, оқсил шу захотиёқ ғовак орқали экспортланади. Бу механизм **котрансляцион секреция** деб аталади. Оқсилнинг қисман ёки тўлиқ экспортидан сўнг сигнал пептид махсус сигнал эндопептидаза ёрдамида ёёқотилади. Секрециядаги асосий ўринни тахминан 5,5 нм ўлчамдаги ва юқори тартибли конформацияга эга бўлган кетма-кетлигининг гидрофоб марказий қисми эгаллайди. NH_2 -охири гидрофил домен (инг. *Домаин* – худуд) таркибида цитоплазматик мембрананинг манфий зарядланган ички юзасига бирикади. Оқсилнинг трансляцияси давомида сигнал кетма-кетлигининг гидрофоб қисми ташқи томонда илмоқ шаклидаги парчаланиш қисми хосил бўлгунича мембранага киритилади. Бундан кейин сигнал эндопептидаза сигнал кетма-кетликни полипептиднинг ўсаётган занжиридан узади, шу билан оқсилнинг котрансляцион секрецияси хосил бўлишига ёрдам беради (43-расм).



43-расм. А-котрансля секрeция орқали оксилнинг мембранадан экспорти:

1-рибосомалар; 2-мембрана; 3-мембранадаги ғовак; 4-кетма-кетлик сигнали; 5-пептид сигнали; 6-пептид рецептор сигнали; 7- сигнал эндопептидаза таъсири сайти; 8-рибосома рецептори; Б – *иам Б.Эсчэричиа Соли* оксили сигнал пептидини тузулиши: а-гидрофил сигмэнт; б-гидрофоб сигмэнт; п-аминокислоталар кетма-кетлигидаги парчаланиш сайти, 1-метионин; 2-изолейцин; 3-треонин; 4-лейцин; 5-аргинин; 6-лизин; 7-аланин; 8-Валин; 9-глицин; 10 – серин; 11 – глутаминэ; 12 – пролин;

С – илмоқ типи бўйича оксилнинг мемрана орқали секрeцияси: 1- NH₂-охири, 2-г идрофоб қисм, СП – сигнали пептидаза, М-мэмбрана.

Хозирги кунда котрансляцион секрeция прокариот ва эукариотлар учун хослиги исботланган. Бас.субтилис даги α -амилаза, Бас.личэниформисдаги

β -лактамаза, Сорйнэбастэриум дипхтхэриаэ даги экзотоксин мазкур ёл орқали секрецияланади.

Прокариот ва эукариотларда **посттрансляцион** секреция тури хам мавжуд бўлиб, бунда тугалланган оқсил мембрана орқали транспортланади. Транспорт механизми У.Уикнернинг (1979) триггер гипотизаси ёки аввал кўриб чиқилган сигнал гипотеза ёрдамида тушунтирилади.

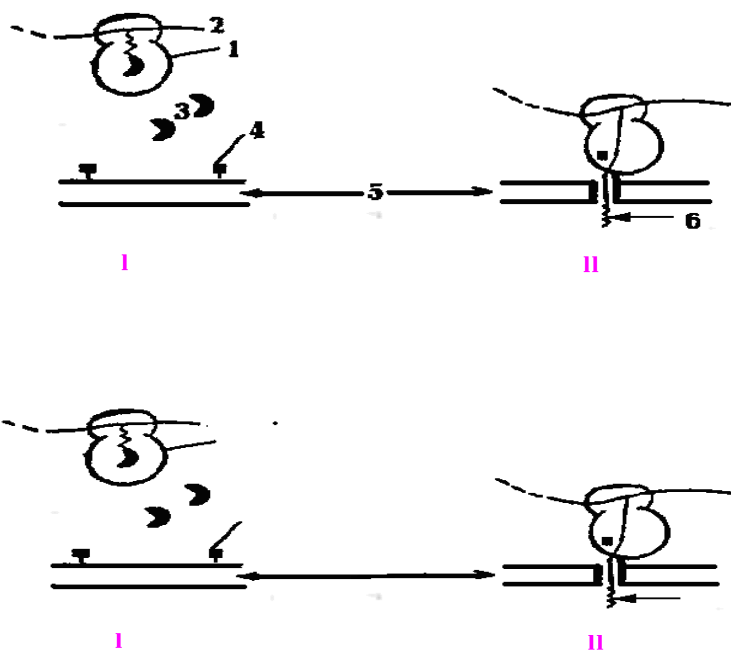
Иккала гипотезага асосан сигнал кетма-кетликка эга бўлган оқсилнинг ахамияти жуда каттадир. Биринчи холда бу кетма-кетлик гидрофоб қисмларнинг мембрана билан боғланишини таъминловчи полипепиднинг боғланишини таъминлайди. Сўнгра оқсил, эндопротеолиз хисобига сигнал кетма-кетликнинг ажралиши туфайли мембранадан чиқарилади. Иккинчи холда бутун полипептид занжирнинг сигнал кетма-кетлиги оқсилнинг рецептор оқсиллари билан биргаликда ғоваклар ҳосил қилади. Оқсил денатурацияга учраб, транслокация ҳосил бўлади ва натижада сигнал кетма-кетлик ёқотилади (44-расм).



44-расм. У.Уикнернинг триггер гипотизасига (И) ва Блобел бўйича гипотезасига

(ИИ)биноан оқсилнинг мембрана орқали посттрансляцион транспорти схемаси

Эукариотларда эндоплазматик ретикулум таркибида ишловчи рибосомалар учун сигнал кетма-кетликни белгиловчи рибосома ва заррача комплекси бирикадиган махсус **«бириктириб олинадиган оқсиллар»** сақлаши исботланган. Заррача олтига полипептид занжир ва 7С седиментация константаси мавжуд РНКнинг кичик молекуласини сақлайди. Рибосоманинг заррача билан бирикиши ўсаётган оқсил секрециясида трансляцияни трансляция блокадаси юзага келгандан сўнг рибосомадан сигнал пептид ҳосил бўлгунга қадар индукциялайди (45-расм).



45-расм. Эукариотик хужайраларда оксилларни векторли ташилиши:
I-трансляцияни блоклаш; II- трансляция блокини ечилиши.

Кўриб чиқилган «сигнал гипотеза» асосида куйидаги асосий хулосаларни чиқариш мумкин:

- 1.Оқсилларнинг экспорт жараёни эволюцион жихатдан консервативдир (прокариот хужайралар эукариотларнинг сигнал кетма-кетлигини таниб олади, эукариотлар эса прокариотларнинг);
- 2.Мембранада маълум бир экспорт механизми ёки секреция аппарати мавжуд, хужайра цитоплазмасидаги эркин рибосомалар ва мембрана билан боғланган рибосомалар бир-биридан фарқланмайди;

Ферментлар, нобиологик катализаторларга қараганда, юқори специфик, улар серхаракат марказига эга, кўпчиликлари оқсилсиз табиатга эга бўлган коферментлар (коэнзимлар) иштирокида серхаракатлигини кўрсатади, бу вазият ферментлар мураккаб оқсиллигига сабаб бўлади. Хозирги вақтгача коферментлар ва кофакторларнинг таърифига йэтарли аниқлик ёёк, баъзи муаллифлар – бу икки тушунчани ажратади, бошқалар буларга фақат бир термин – коферментни ишлатади, бошқа муаллифлар коферментлар билан тўғридан тўғри боғламасдан бир нечта металл ионлари фаоллаштирувчи зарядини ажратиб олади ва шунга ўхшаш йиғилган фактли маълумотлар оқсил-ферментларни икки гуруҳга бўлишга асос бўлади.

Оддий ферментли оксил ва мураккаб ферментли оксил, булардан мураккаблиси ўзининг таркибида ноорганик ва органикли оксилсиз тузулишли коферментларга эга. Коферментлар оксилнинг бўлими – апофермент билан қайтишли ёки қайтишсиз (простетитли гурухлар) боғланиши мумкин. Тўлиқ ферментли комплексни – холофермент деб номланади. Агар бир неча ферментлар фақат ноорганик ионлар ёки металл атоми билан таъсири фаолланса ва улар ёқлигида фаоллиги пасаймаса бундай фаолаторларни – кофактор деб номланиши керак.

Оддий ферментли оксилларда субстрат билан киришиш (контакт) ва катализ фаолиятини полипептидли молекуладаги аминокислотанинг ён радикаллари бажаради, мураккаб ферментли оксилларда бу фаолиятни асосан коферментлар бажаради.

Металло биомолекулалар

1. Ферментли оксиллар: Оксиредуктазалар-оксидазалар (Фэ, Су, Мо), дегидро– геназалар (Фэ, Су, Мо), гидроксилазалар (Фэ, Су, Мо), оксигеназалар (Фэ), супэроксид-дисмутазалар (Су, Зн, Мн), нитрогеназалар (Фэ, Мо), гидрогэ– назалар (Фэ); Гидролазалар– карбоксипэптидазалар (Зн), аминопэптидазалар (Мг, Мн), фосфатазалар (Мг, Зн, Су); Изомэразалар ва синтэтазалар– витамин Б₁₂–оксил, коэнзимлар (Со)–оксиллар.

2. Транспорт ва аккумуляцияловчи оксиллар: Электрон ташувчилар– цитохромлар (Фэ) Фэ-С (Фэ)-оксиллар Су-оксиллар;

Аккумуляциялайдиган

транспорт ва структураловчи–фэрритин (Фэ), трансфэррин (Фэ), цэрулоплазмин

(Фэ); Кислородни боғловчилар– Миоглобин (Фэ), гэмोगлабин (Фэ), гэмэ-

ритрин (Фэ), гэмочианин (Фэ)

3. Оксил бўлмаган молэкулалар: Фототикловчилар – хлорофилл (Мг) ва фото-

систэма ИИ (Мн, Мг); Мэталлни ташувчи ва структураловчи– сидэрофорлар

(Фэ), скэлэтли (Са, Си)

Коферментлар каталитик ва тузилма фаолликли аломати бўйича таснифланади. Масалан, окси-редуктазли коферментлари – НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, липоил кислотаси ва бошқалар, трансфероз-пантотенат коферментлари УДФ – глюкоза, СДФ – холин, тетрагидрафолат кислота ва бошқалар, қатор коферментлар витаминларнинг махсулдорлиги бўлиб хисобланади: тиамин (-кетокислота декарбоксилазлари, транскетолазалар), рибофлавин (ФМН, ФАД), пантотен кислотаси (кофермент А), никотинамид (НАД, НАДФ) ва бошқалар. Шундан биообъектларнинг озик мухитига айрим витаминларнинг зарурлиги маълум бўлди.

Кўпчилик ферментлар (25% гача) металбиомолекуласининг бир гурухини ташкил этувчи металлоферментларга тегишли.

Шундай вазиятлар борки, металл ионлари кофермент вазифасини бажармайди (металл кофакторлар), балки фақат ферментли реакцияларни фаоллаштира бундай фермент металлфермент бўлмайди, уларга металлфаоллашган фермент дейилади.

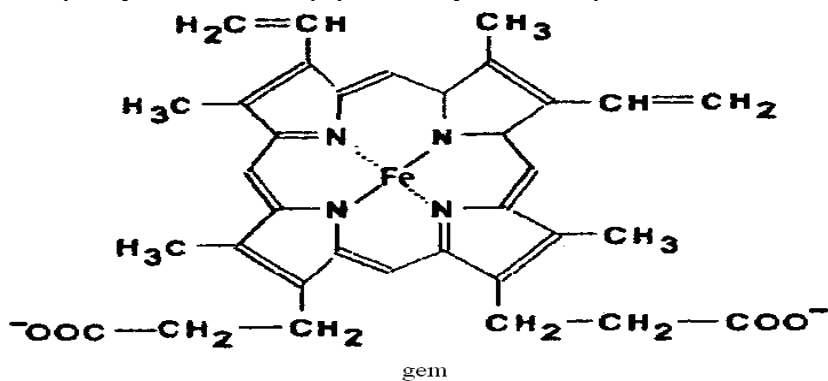
Металлоферментларда металл ионлари каталитик ва тузилмани вазифасини бажаради, металл фаолловчи эса фақат каталитик вазифани бажаради. Лекин металл кофермент ва кофактор сифатида қайси дир бўлагиди ўзининг фаолияти билан ўхшаш бўлади. Металл серхаракатловчи ферментлар уч аъзоли комплекснинг тўрт схемага эга, бунда қатнашувчи фермент (Ф), субстрат (С) ва металл (Мэ) стехиометрик қатнаши 1:1:1 га тэнг.

1. Ф-С-Мэ кўприк жойини субстрат эгаллайди.
2. Ф-Мэ-С кўприк жойини металл эгаллайди.
3. Мэ-Ф-С кўприк жойини фермент эгаллайди.
4. $\begin{matrix} & / & \\ \text{Ф} & & \text{Мэ} \\ & \backslash & \\ & & \text{С} \end{matrix}$ кўприк жойини циклик комплексдаги металл эгаллайди.

Металл ферментлар масалан, Ф-С-Мэ комплексини ташкил қилмайди, чунки тозалангандан сўнг улар Ф-Мэ шаклига ўтади. Гемли ферментлар металлфермент бўлиб (каталаза, пероксидаза, ситохромоксидаза), улар таркибда простетик темир порфиринланган гурухланиш ёки гемда мавжуд. Трансферазаларга–витамин В₁₂нинг кофермент шакли 5–дезоксаденозилкобаламиндир. Барча ферментлар витамин В₁₂ нинг коферментлари билан модда алмашинув реакцияларини катализлайди.

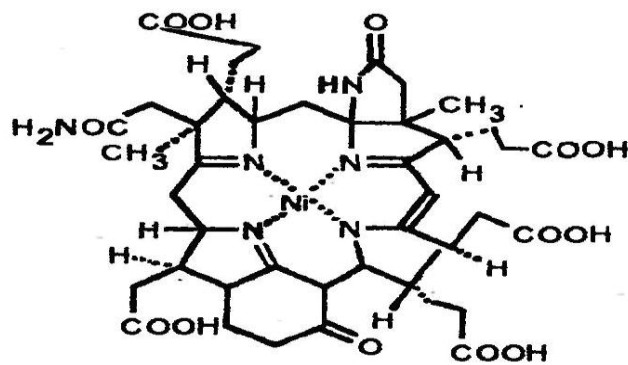
Витамин В₁₂ нинг бошқа шакли метил кобаламин бўлиб метил гурухини кўчириш реакциясида иштирок этади ва кофермент белгили даражада гем билан ўхшаш, лекин темир ўрнида кобальт бўлади.

Хозирги вақтда янги коферментлар маълум бўлди. Масалан, коррин (фактор 430) – никелтетрапиррол бўлиб, гем ва корфининг макроциклик тузулишларини эслатади. Корфин бир углерод субстратига оксидланиш, қайта тикланиш жараёни билан боғлиқ. Метан ҳосил қилувчи бактерияларда оксидорекдуктазининг коферменти бўлиб иштирок этади.

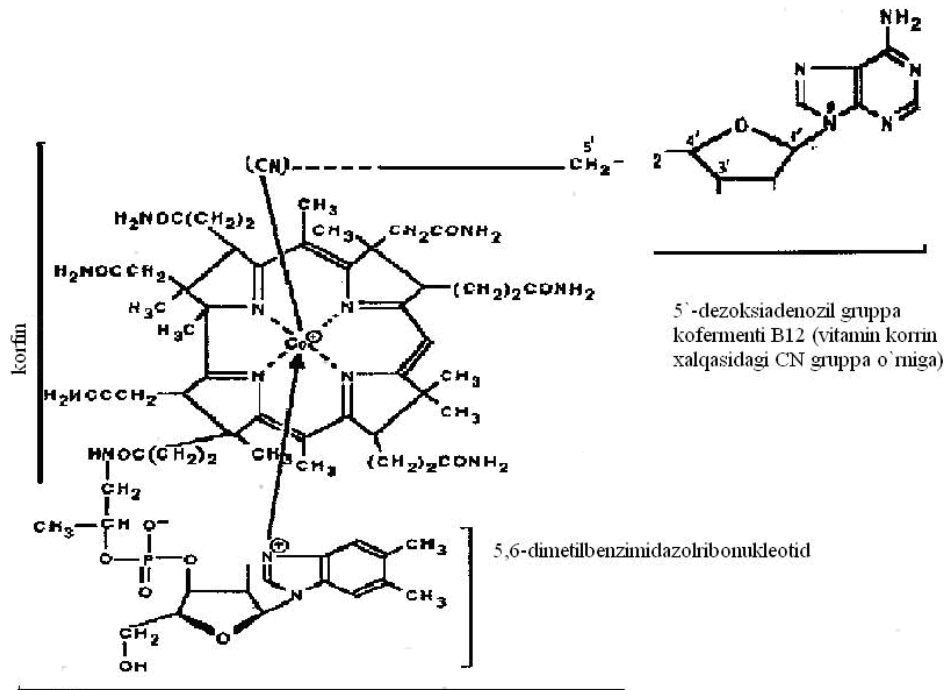


Метан ҳосил қилувчи бактерияларда гидридли донор бўлган 420-фактор ва углерод диоксидини қайта тикловчи фактор ҳам топилган.

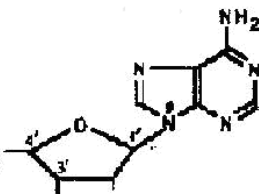
Метан оксидловчи метилтрофи бактерияларининг молекуласида ортохинонли простетик гуруҳи бўлган метоксатин коферменти аниқланган.



Koferment F430 yoki korfin



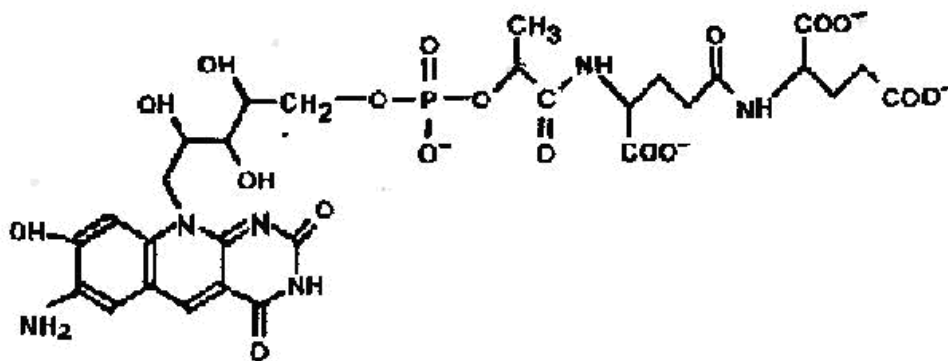
vitamin B12



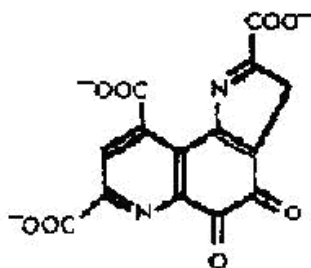
5'-dezoksiadenozil gruppа
kofermenti B12 (vitamin korfin
xalqasidagi CN gruppа o'rniga)

5,6-dimetilbenzimidazolribonukleotid

Оксидоредуктаза – глюкодегидрогеназа Асинэтобастэр салсоасэтирус ўзида ўхшаш ортохинонли протетик гурухга эга. Шунинг учун бундай ферментлар **хинооксиллар** деб номланган.



Faktor 420-gidridli donor

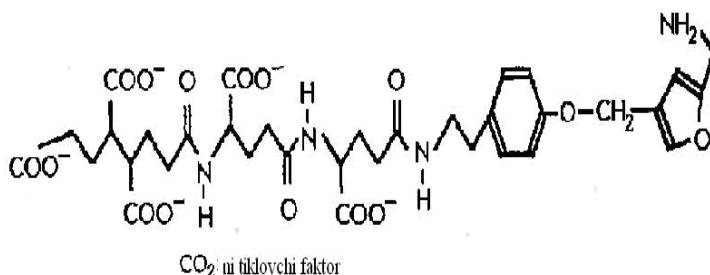


metoksadinda ortoxinon gruppа

Бу коферментларнинг таъсир этиш механизми хозирча тўлиқ аниқланган эмас. Металл фаол ферментларда кофакторлар сифатида ўзгармайдиган (доимий) валентликка эга металллардан рух, калций, рух ионлари бўлади. Масалан, цинк ишқорий фосфатазани, алкогольдегидрогеназани фаоллайди, калций - α - амилазани, магний – АТФазани, гексокиназани ва бошқа қатор ферментларни, марганец (ёки магний) – енолазани, калий – пируваткиназани фаоллаштиради.

Металферментлар ва метал фаоллаштирилган ферментлар хақида айтиб ўтилганга қараганда биообъектларни ўстириш мухитига муайян ионларнинг бўлиши қатъий зарур.

Биокатализаторларнинг кинетик таърифлари ферментли ишларнинг хар хил вазиятда ишчанлигини ва узоклигини аниқловчилар, ферментларнинг саноатда олинишида хам зарурий кўрсаткичлар бўлиб хисобланади.



Ферментлар яккаланган холда тез инфаолланади, бу амалиётда муҳим аҳамиятга эга. Шу сабабли, саноатда фойдаланишда вазиатдаги ферментнинг фаоллигининг барқарорлилик муаммоси келиб чиқади. Шунинг айтиш лозимки, ферментларнинг фаоллиги ва фаолсизлиги ин виво да ва уларнинг дэ ново ёки дэнуо (лотинча сўздан - қайтадан) синтезлари организм орқали бошқарилади. Кўпчилик ферментлар организмда (хужайра, тўқима) боғланган холда бўлади. Балки, бу вазиятда уларнинг конформацияси кўп ёки оз ўзгаради, бу функционал хужайра учун бефарқ эмас. Амалиётдан маълумки, тўлиқ тозаланмаган ферментлар баъзи вақтларда биокатализаторларнинг тоза нусхасига қараганда фаолроқ ва барқарор бўлган.

Бунга асосланиб шундай қўшимчалар ферментга қулай муҳитни яратлади. Ферментлар барқарорлиги хар хил омилларга масалан, мембранали тузулишларда иммобилизацияси, юқори полимерли углеводлар билан бирлашиш, ёки гликоконюгатлар билан ва бошқаларга боғлиқ. Бундай барқарорлик оқсилли молекулалар конзервациясига ўхшаш, чунки ферментлар ўзига тегишли параметрлари билан маълум (одатда кам ёки кўпроқ) вақтгача сақланади.

Хамма вазиятда ферментларни ишлаб чиқаришда регламентга киритилган ва олинган натижаларга қараш зарур. Фаоллик ва барқарорлик – кўрсаткич сифатида ишлаб чиқаришга киритилган янги ферментлар учун муҳим.

Биокатализаторларнинг ишчанлигини халқаро бирликда ўлчанади (ХБ) – 1 ХБ бу микромол –1 мк/мол, (10^{-6} мол) субстратни 1 минутда стандарт шароитларда айлантирадиган фермент миқдорига тўғри келади. Фаоллик бирлиги мкЕ, нЕ ва пЕ - бу микро-нано - ва пикобирликлар айлантеришни хисобга олганда ифодаланади, 10^{-6} , 10^{-9} ёки 10^{-11} мол қисмини субстратнинг 1 минутда ўзгартириш қобилиятини ифодалайди.

Лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитларида бир қатор факторларга боғлиқ ферментлар денатурациясига дуч келиши мумкин. Масалан, биологик – тўлиқ махсулот гидролизи дастлабки ҳолатида ёки бехосдан киритилган бирор пептид- гидролазаси билан масалан, микробли ифлосланиш, физикавий-ўзгарувчан хароратли, механик, радиацион таъсир,

кимёвий пХ, комплекс хосил этувчилар, эритувчилар, сирт фаол моддалар, оғир металлларга дуч кэлиши мумкин.

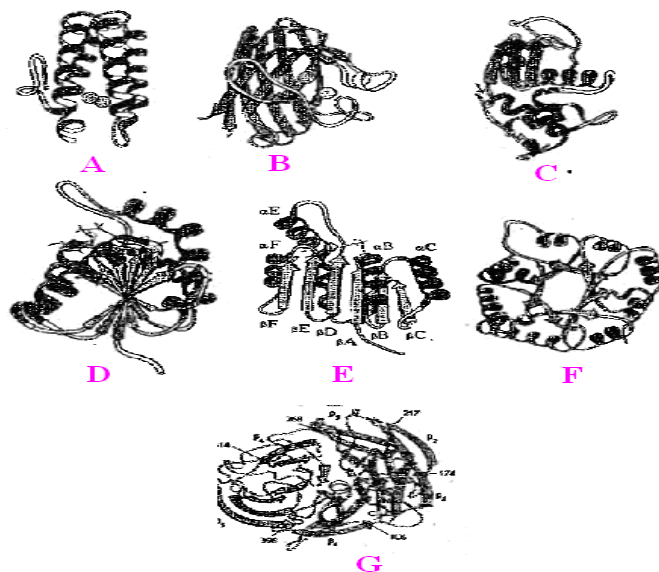
Табиийки ферментнинг олиниши ва тозалик даражаси унинг тузулиши тахлилининг аниқлигига боғлиқ. Шуни ёдда тутиш керакки, хар хил манбадан олинадиган бир хил ферментларда турли хил аминокислота кетма-кетлиги бўлиши мумкин, уларнинг каталитик фаолияти ва хусусиятлари турлича бўлади. Мисол сифатида Бас.соагуланс глюкоза-изомераза хосил этувчи турини келтирса бўлади, бу фермент Co^{++} иони билан фаолланади. Берилган турнинг мутант орқали пХ=8 дан кўп бўлганда хосил бўладиган фермент Co^{+2} ионига мухтож бўлмайди. Шунинг учун фермент манбаи унинг технологияси, паспорт маълумотлари хақидаги аниқлик бошқа фирма ишлаб чиқарувчиларнинг ферментлари билан солиштириш мухимдир.

М. Левитт ва К. Чотиа 1976 йил тузулиши маълум оксилларни α - ва β -спирал қаватларга ва жойлашиши бўйича бэш синфга ажратдилар.

1. Фақат α -спиралдан тузилган хаммаси глобуляр тузулишга эга оксиллар.
2. Фақат β -қаватидан ва глобулани бочка шаклига келтирувчи оксиллар.
3. α -спирал ва β -қаватга (α - β -оксиллар) эга, учламчи тузулишда тарқалган оксиллар.
4. α - ва β -тузулишли майдонлар бирламчи тузулишда кетма-кетланиб, учламчи тузулишни шаклантиради ва бунда марказда одатда β -қаватлар бўлиб икки тарафидан α -спираллар жойлашган, α - β -оксиллар бўлади.
5. Одатда кўп $-C-C-$ кўприкли кичик молекуляр, ёки катта кофактор билан боғланган “тизимланмаган оксиллар”, кучсиз иккиламчи тузулишга эга бўлган оксиллар.

Узун занжирли оксиллар, одатда бўшлиқда тузулиши ўралган бўлиб, кичкина оксилли молекула бўлган доменларнинг шаклантиради. Доменларга боғлаш хусусияти хос бўлиб, ферментли оксилларнинг фаол маркази иккита орасидаги ёки катта сонли доменлар чегарасида жойлашади. Хозирги вақтда молекула таркибида фаолланиш жараёнидаги доменлар бир бирига нисбатан кўчиш хусусиятига эга.

Оксилларнинг тузулишини ўрганиш шу юз йилликнинг 70 йиллари охирида бошланди. Агар шу вақтгача уларнинг тузулишини нейтрон дифракцияси усули асосида оксил молекулаларига оғир атомларни киритиб электрон зичлигининг тарқалишига караб аниқланган бўлса, охирги йиллар синхрон радиация усули ёрдамида биополимерларнинг кристаллографиясига ёрдам берган компютер техникасидан фойдаланиш ривожланди. Дж. Ришардсон хам (1981) турли оксилларни бэшта синфини схэмасини кэлтирган. Синфлардан бирининг схэмаси 46-расмда кэлтирилган.



46-расм. Дж.Ричардсоннинг (1981) хар хил оксиларнинг келтирилган 5 синфидан биттасига тегишли схемаси келтирилган
 А – миохемеритин (I синф); Б – Су, Zn – супероксиддисмутаза (II синф),
 С – лизоцим ($\alpha+\beta$ -структура, III синф); Д ва Э – лактат дегидрогеназа домени – ни боғловчи НАДнинг иккита ортогонал проекцияси (IV синф); Ф – тризофосфатизомераза (IV синф); Г – грипп вирусининг нейраминидазаси (V синф)

Дж.Ричардсон хам (1981) турли оксилларни бэш синфини схемасини 46-расмда кэлтирган.

Алохида кристалнинг рентген-структуралы тахлилыни статистик усулы динамик маълумотыны берады. Келтирилган усулларга асосланыб маълум бұлдыки, масалан, лизоцим ферменты 33-35 мустахам боғланган сув молекулалардан ва 95-105 оксил билан фақат бир водород боғи билан боғланган сув молекулаларыдан ташкыл топган қобикга эга. Қолган сувның 60-80% кристаллараро бұлшықда (майдонда) жойлашыб, улар оксылның электрон зычлыгыга табыр қылмайды. Оксилларның молекулалары қаттык тузулышы эмас – улар харакатчан ва фермент молекулаларының йэтарлы тұлқынланышы (молекуляр вибрация) – субстрат танышда ва ўтувчы холатның барқарорлыгы мухым рол ўйнайды.

Ферментларның табырыны ўрганышда рентген-структура тахлил усулыда паст хароратларда ўрганышда (криоэнзимология) – реакциялар кинетикасы хақыда мухым ахборот олыш имконыны берады.

Хозирги вақтда маълумки, саноатга киритилаётган ферментлар ноорганик катализаторлардан қатор афзаллыклар билан ажралыб турады,

чунки ферментли катализда кам энергия сарфланади. Саноатда каталитик жараёнларнинг хажми 80-90% га тўғри келади ва уларнинг улуши кўпайиб бормоқда. Ноорганик синтезда, масалан, контактли усули билан бир йилда 10 млн.тонна X_2CO_4 олинади. Контактли жараёнда CO_2 нинг CO_3 оксидланиши V_2O_5 катализатор ёрдамида ва K_2O ва бошқа оксидларни кўшиш билан жараён боради.

Органик синтезда никелли катализаторлардан $C=C$, $C\equiv C$, $C=O$, NO_2 – гурухлар сақловчи қатор бирикмаларнинг водород бирикиш реакцияларида фойдаланилади. Мисол учун алюминмолибденли, алюмохромли ва алюмоплатинали катализаторлар тўғри ва тармоқланган алкан ва олефинларни дегидридланишида фойдаланилади. Хром оксид асосида бутаннинг бутенга ўзгариш реакциясида фойдаланиладиган катализаторлар $600^\circ C$ ишлайди, аммо уларнинг регенерацияси $640-650^\circ C$ да ўтади. Оксидловчи катализаторлар Co_3O_4 , Cr_2O_3 , NiO $250-600^\circ C$ хароратда самаралидир, фақат полимерланишнинг айрим катализаторлари (BF_3) ўзининг таъсирини $-80^\circ C$ дан $-100^\circ C$ да кўрсатади, (масалан полиизобутилен олишда). Лекин хароратни $-80^\circ C$ дан $-100^\circ C$ гача тушириш учун энергия сарфлаш зарур.

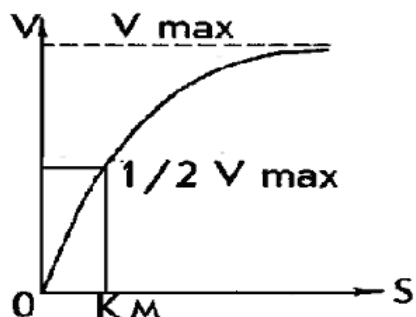
Тирик тизимда ҳамма биокимёвий реакциялар нисбатан паст хароратда ўтади. Масалан, микроорганизм ферментлари Осиёнинг мўтадил иқлимида яшовчи–сапрофитлар мезофилаларга тегишли, чунки уларнинг ферментлари $+10$ дан $+50$ гача самарали таъсир этади (интервал $+20$ дан $+30$ гача). Шунга ўхшаш ўсимлик ферментлари хақида шу фикрни айта бўлади. Хайвон ферментлари тананинг нормал хароратида фаолланади. Лекин барибир ёдда тутиш керак, ҳар бир ферментнинг ўзига хос кординал нуқталар деб номланувчи қийматлари бор. (минимум, оптимум, максимум).

Ферментлар энергетика нуқтаи назарда, кимёвий реакцияларнинг фаолланиши энергиясини сезиларли даражада пасайтиради. Энергия деб, маълум хароратда 1 мол модданинг, ҳамма молекулаларини кимёвий реакция бошланадиган критик энергия поғонасига ўтказиш учун керак бўлган энергияга айтилади (Жоул).

Агар модданинг ҳамма молекуласи ўтиш поғонасига етмаса, бунда кимёвий реакциянинг тезлиги пасаяди. Реакция тезлигини кўтаришнинг асосий ёъли бу хароратли фактордан ёки катализатордан фойдаланиш кэрак. Ноорганик ёки синтетик катализатордан фойдаланилган кўпинча юқори хароратни ишлатиш керак. Айтиб ўтгандек, биокатализаторлар нисбатан паст хароратда фаол ишлайди. Реакция тезлиги субстрат концентрациясига боғлиқ. Фермент субстрат билан тўйинган бўлса у тез фаолият кўрсатмайди, бу реакциянинг максимал тезлиги бўлади (V_{max}), чунки эркин ферментнинг улуши жуда паст бўлади.

Ферментли реакцияларнинг умумий тезлиги фермент субстарли комплекс ЭС концентрациясига пропорционал бўлиши керак. (Э-энзим, С-субстрат). Бу вазият (З–график) гипербола эгри чизиғи билан келтирилган. Расмдаги КМ Михаэлс–Ментен константаси хисобланади, бу специфик

субстрат концентрациясида фермент реакция тезлигининг (V_{\max}) ярмига тенг тезликни таъминлайди.



3-график. Ферментатив реакция тезлигини субстрат концентрациясига боғлиқлиги

Хозирги вақтгача ҳамма ферментли реакцияларнинг кинетик тахлилини Махаэлс-Ментен тенгламасига асосланиб олиб борилади:

$$V_o = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

V_o -C – концентрациясидаги бошланғич тезлик;

V_{\max} – максимал тезлик;

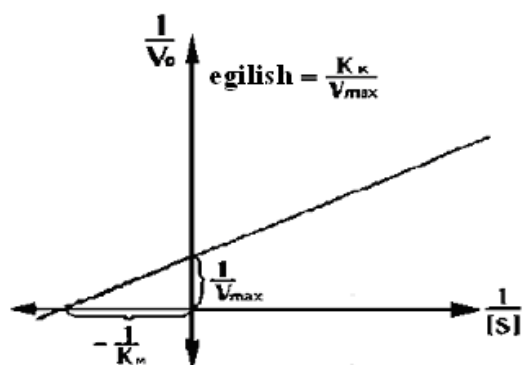
K_m – берилган фермент учун Михаэлс-Ментен константаси, аниқ субстратга

таълуқли.

Ферментли реакция кинетикасини ўрганишда бирор афзалликга эришиш учун баъзан Михаэлс-Ментен тенгламасининг Лайнуивер-Бэрк тенгламаси кўринишидан фойдаланилади.

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Бу тенгламага асосланиб, икки карра тескари координатада тузилган график бўйича V_{\max} нинг аниқ қийматини топиш мумкин (4-график).



4- график. Икки карра тескари координатали график

Ферментлар ва уларнинг специфик субстратларнинг ўзаро таъсири асосида хужайрадаги ва организмдаги кўпчилик ферментли реакцияларни ҳисобга олганда биосистемадаги бошқа ўзаро таъсирини (антиген-антитело, токсинлар ва уларнинг рецепторлари ва бошқалар) эътиборга олганда биологик спецификнинг асоси комплементарлиги ҳақида айта бўлади. Кўпчилик ҳолларда молекуляр комплементарлиги аҳамиятга эга. Бундай ўзаро таъсирлар термодинамика қонунига асосланиб боради. Лекин ферментларнинг бошқа моддалари билан ўзаро таъсири биокатализаторларнинг фаолиятини пасайтириш ёки тўлиқ ёқотиш билан ўтадиганлар ҳам бор. Фермент реакцияларида пасайтирувчи моддалар ингибиторлар (инглиз тилида – инхибит – тўсқин қилувчи) деб аталади. Улар ферментларни танлаб ўзаро таъсирлашади, масалан, цианидлар, углерод оксиди, натрий оксиди аниқ оксидланиш – қайтарилиш ферментларини ингибирлайди.

Иодацетамидли, симоб ва мишяк тузлар ферментларни блокляди, аминлар, гидразидли ва бошқалар ферментларнинг карбонли гуруҳи билан ўзаро таъсирлашиб уларнинг фаолиятини ингибирлайди. Балким тирик хужайрадаги “фаолият-ингибирлаш” принципи орқали берилган шартлар асосида хужайрада керакли функционал фаоллик юзага келади. Ҳамма ингибиторлар қайтар ва қайтмасга бўлинади:

Қайтар ингибиторлар – орасида конкурентли [ЭИ] ферментлар билан кучсиз комплекслар ҳосил қилиб, улар дастлабки моддаларга осон ажралади.

Ингибирлашнинг ўлчови ингибитор концентрацияси бўлиб ҳисобланади, у ферментни фаоллигини (I_{50}) яримигача пасайишига олиб келади. Бундан I қиймати қанча оз бўлса ингибитор шунча кучсиз ҳисобланади.

Қайтмас ингибирлашда фермент ва ингибитор ажралмайди ва реакция фақат ўнга боради $E+I \rightarrow EI$.

Конкурентли ингибитор ферментнинг фаол маркази билан боғлиқ ва кейин фермент субстратли комплексида ферментатив трансформацияга учрамайди. Демак, конкурентли ингибитор фаол маркази билан боғланиш

учун субстратга рақобат бўлиб иштирок этади. Субстрат концентратиясини ўзгартириб комплексдан ингибиторни чиқариб ташлаш мумкин. Рақобат бўлмаган ингибиторлар ферментнинг фаол маркази билан эмас бошқа жойда боғланади. Бунда ферментнинг бутун молекуласини конформацияси ўзгаради, унинг каталитик маркази қайтар инфооляция билан кузатилади. Рақобациз ингибиторлар эркин фермент ва унинг фермент субстратли комплекси билан ўзаро таъсирланади.

Э+И ↔ ЭИ

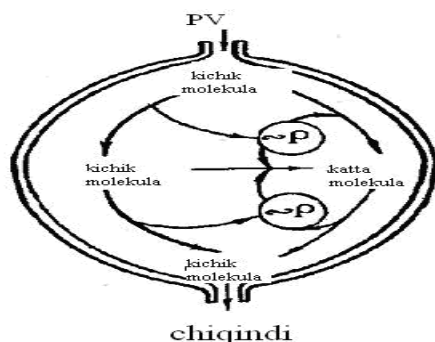
ЭС+И ↔ ЭСИ

ЭИ ва ЭСИ комплекслари нофаол бўлиб қолади.

Юқорида келтирилган мулохазалардан шуни хулоса қилиш мумкинки, ферментлар фаолиятига турли хил моддалар таъсир қилиши мумкин бўлиб, улар ёрдамида ферментларнинг тезлиги ва фаоллигини бошқариш мумкин. Биокатализаторларнинг фаоллигини бошқаришда келсак, ушбу ёъналишда маълумотлар тўпланиши натижасида янги алмашиниш ёъллари очилади ва уларни бошқарувчида ферментлар иштирок этади: бу турдаги энзиматик бошқаришнинг роли ва механизми аниқлашнинг маълум метаболит циклларининг ўзаро таъсирини ўрганишга талаб бўлмоқда, шунингдек организмнинг гемостазини (грек. *οεμοσιος* – ўхшиш, бир хил, статис – холат, харакацизлик) қўллашда турли ферментларни иштирок этиш имкониятини, яъни уларнинг ички мухитини турғунлигини ўрганиш керак.

Хар бир тирик хужайра барқарор тизим холатида бўлиб, унинг барқарорлиги метаболитларнинг бир томонлама оқими ёрдамида таъминланади (47- расм). Ҳэтилган хужайраларда метаболитларнинг концентратияси нисбатан ўзгармасдир. Турғун тизим хисобланувчи етилган хужайранинг эгилувчанлиги, кучсиз ўзгаришлар ва бир тэкис силжишлар орқали намоеън қилинади, ушбулар ёрдамида организм озуқа моддалар, сувнинг сифати, ташқи харорат ва бошқа омилларни турли туманлигига қрамасдан ўзининг ички мухитини доимий равишда ушлаб туради.

Ферментатив жараёнларни бошқариш механизмлари бир хужайрали организмлардан тортиб кўп хужайралига ўтаётганда табиий равишда оғирлашади, хаттоки турли туман мавжудотларга, асосий қонуниятларга бўйсуннади.



47– расм. Турғун холатидаги хужайра. ПВ – озиклантирувчи моддалар.

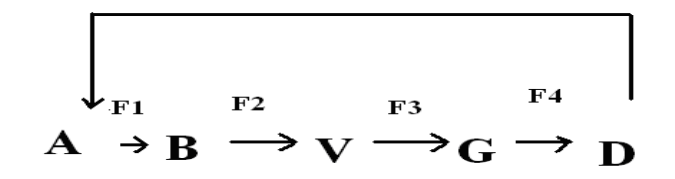
Лаборатория ёки ишлаб чиқариш шароитларидан хужайрадаги ферментатив фаолликнинг ўзгаришини икки жараёнлардан бири билан – фермент миқдорини кўпайиши билан ёки биокатализаторнинг самарадорлигини кўпайиши билан, боғлаш ёки тушунтириш мумкин ҳам эмас.

Ин витро тизим(лар)да ферментлар билан ишланганда унинг фаоллигини пасайиши ёки ортиши тўғрисида аниқ гапириш мумкин, ундан ташқари бундай тизимларда уларнинг фаолликларини бошқарилиши тўғрисидаги натижалар шу шароитларда олинган.

Эукариотик хужайраларнинг ферментатив фаолликларини бошқариш механизмларида ички модданинг (протопласт) физикавий чегарасизлантириш (компартаментализация) ахамиятлироқдир. Макромолекуляр кўринишидаги метаболик реакцияларнинг ўзига хос кетма-кетликни катализловчи ферментлар намуналарини ташкил этилиши берилган метаболик ёналиш бўйича ферментларни мувофиқлаштиради ва интермедиатларни (оралиқ маҳсулотлар) “оқимга ёналтиради”. Улардан ташқари комплекснинг битта компонентидаги конформацион ўзгаришлар комплекснинг бошқа ферментлари оқсил-оқсилли таъсирлашиш орқали узатилади. Бунинг натижасида бошқарилувчилик эффектларининг ортиши кузатилади.

Металлоферментлар ва металл фаоллантирилган ферментлардаги металл ионларнинг ахамияти катта бўлиб, у ерда аденозин-трифосфат (АТФ) субстрат сифатидаги чиқарилади. “Металлнинг АТФ иони” комплекси реакциянинг субстрати бўлганда, одатда энг юқориги фаоллик АТФни ва металлни моляр нисбатларида бирга яқинлаши кузатилади. У ёки бу ингредиентни ортиб кэтиши натижасида ингибирланиш нуклеозид икки ва уч фосфатлар, икки валентли катионлар билан турғун комплексларини ташкил қилади, чунки нуклеотидларни ички хужайравий концентрацияси металлларнинг эркин ионларини ички хужайрасида сақланишига, ва натижада маълум ферментларнинг фаолликларига таъсир қилади. Масалан, металл ионлари бўлмаганда ичак таёқчасининг глутамацинтетаза конфигурацияси релакслайди (бўшашади) ва каталитик нофаол бўлади; Mg^{+2} ёки Mn^{+2} кўшилганда ферментнинг фаоллиги тикланади.

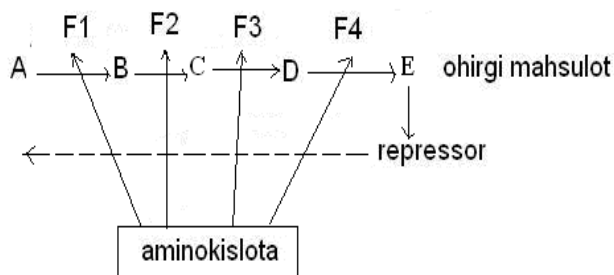
Ферментларнинг каталитик фаоллиги ва фаолликни бошқарилиши дархол қайтар алоқа типидagi ингибирлаш (Фээдбаск) шаклида содир бўлиб, кичик молекуляр массага эга бўлган аллостерик самаралар ишлатилади, бунда субстрат ёки коферментни ва боғловчи ферментларни аллостерик сайтларининг (фаоллик марказлари) тузулишлари бир хил бўлади.



Бу механизм фермент фаоллигини бошқарилишини бирламчи, юзаки назоратидир. Кўрсатилган схемадаги Д махсулот биринчи фермент (Ф1) билан боғланиши ёки уни ингибирлаш хусусиятига эга. Демак, Д – манфий аллостерик эффектор ёки Фээдбаск Ф1 ингибитори бўлиб, Д нинг синтезини бошқара олиши мумкин. Бундан бошқарилишга мисол тариқасида триптофани синтез қилиш ёълидаги микроорганизмлардан антранилат-синтетазани триптофан ингибирлашини кўриш мумкин, бу ерда оралиқ махсулот сифатида антранил кислотаси ҳосил бўлади.

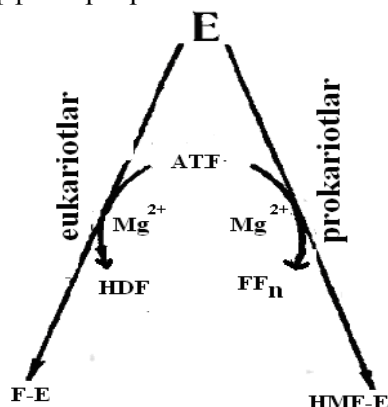
Кумулятив, мултивалент (келишилган) ва кооператив Фээдбаск ингибирлаш мавжуд. Биринчи ҳолатда икки ёки ундан кўп сўнгги махсулот битта бошқарувчи ферментни ингибирлайди; иккинчи ҳолатда – икки ёки ундан кўп охириги махсулот ортиқча ҳисобланилади ва фақатгина шу шароитда реакциянинг тўлиқ ингибирланиши содир бўлади; кооператив ингибирлашда ягона, ортиқча қолган охириги махсулот бошқарувчи ферментни тўхтатади, агар махсулот икки ёки ундан кўп бўлганда кумулятив Фээдбаск ингибирлашнинг аддитив самарасини эъкинлашиши яққол сезилади.

Фээдбаск ингибициядан Фээдбаск репрессиясининг фарқи шундаки, охириги махсулотнинг (репрессор) ҳосиласи (дериват) ушбу метаболик ёъналишдаги фермент ҳосил бўлишини сустлаштиради (фаолликни оширмайди):



Каталитик фаолликда ковалентли модификация бошқарувчи ижросини амалга оширади, бунда ферментга фосфат гуруҳи (одатда эукариотларда) ёки нуклеотид (одатда прокариотларда) келиб бирикади. Ковалент модификациясига учрайдиган, уларнинг фаоллиги ўзгариши билан кузатиладиган ферментлар интерконвертация– ловчи деб номланади, улар юқори ва кичик каталитик фаоллик ҳолатларда мавжуд бўлади (48 - расм).

Фээдбаск ингибиция механизми буйича ферментлар фаоллигини мураккаб бошқарилиши билан биргаликда нозик назорат усули маълум, бунда аллостерик оксил хисобланган - ферментлар субстрат учун факатгина каталитик марказларга эга бўлмай, атрофида жойлашган бошқа жойлардаги кичик молекулалар - эффекторлар билан хам боғланади.

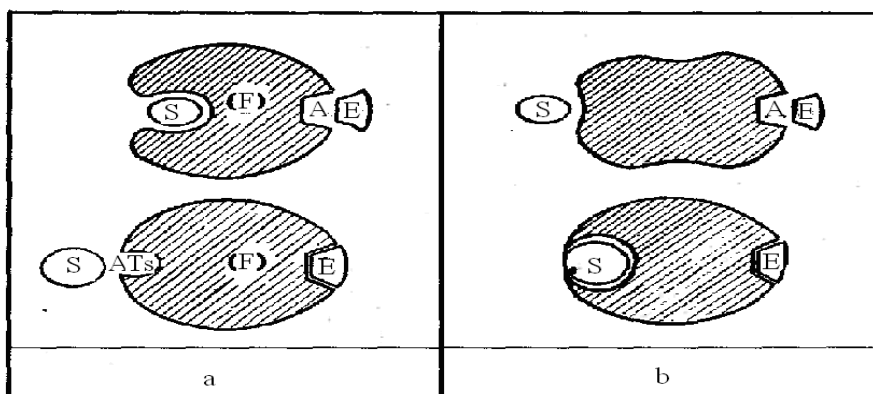


48-расм. Ферментнинг фаоллигини ковалент модификация билан бошқариш
Э–фэрмэнт; ХТФ, ХДФ ва ХМФ–мос равишда три-, ди- ва монофосфатли нуклеотидлар; ФФ_n–ноорганик пирофосфат.

Ўзининг жойига бирикиш жараёнидаги эффектор ферменти конформацион ўзгариш келтириб чиқаради. Бунда ферментнинг каталитик марказининг оиласи субстратга нисбатан ёки камаяди – аллостерик ингибиция бошланади, ёки тескари, кўпаяди – аллостерик фаолланиш бошланади (49- расм).

Инжэнэрлик-энзимология жараёнларини амалга оширишда эффекторларни амалиётда қўллаши керак. Эукариотларда хужайрадаги жараёнларни компартментализацияси натижасида хужайрадаги эффекторлар концентрацияси номаълум бўлиб қолади. Бунга мисол сифатида гликолиз ферментининг кўпдан бери ва яхши ўрганилган фосфофруктокиназа бўла олади. Шуниси маълум бўлдики, ўн йил олдин Х.Г.Херс, Л.Хю ва Е.Ван Шафтинген томонларидан очилган бу фермент фруктозо-2,6-дифосфат эффекторини сақлайди.

Барча кўриб чиқилган мисолларда ферментларни фаолликларини бошқарилишида биокатализаторларни бошқариш жараёнига сезгирлиги катта ахамиятга эга, яъни сигнални кучайиши, реакцияларни содир бўлишига ёки ёкилишига сезиларли таъсир кўрсатади.



49- расм. Аллостерик сайтда таъсир қилувчи ферментнинг (Ф) фаол марказини модификацияланишини эффектор (Э) ёрдамида схематик тасвирланиши.
 С – субстрат; а– аллостерик ингибиция; б –аллостерик фаоллик.

Тэкшириш учун саволлар:

1. Имобиллаш нима?
2. Адсобциялаш ферментларни технологияга мослашнинг қайси усулда қўлланилади?
3. Ферментлар инжэнэрлигининг асосий вазифаси нималардан иборат?
4. Ферментлар инжэнэрлигининг ўз олдига қуйган мақсадлари нималардан иборат?
5. Нима учун ферментлар кимевий имобиланганда махсулот шароит ва хароратига чидамли бўлади ?
6. Ферментни активлигини ўзгартириш мумкинми?
7. Ферментни спецификлигини ўзгартириш учун қандай мақсадли мутагенез киритиш керак?
8. Имобилизация учун қандай материалар ишлатилади?
9. Ферментларнинг ковалент имобилизацияси нечта элементларнинг ўзаро конструкцияси тушунилади?
10. Фермент билан ташувчи ковалент боғ билан тикилиб боғланиши учун қандай шарт бажарилиши керак?
11. Ковалент имобилизацияда қатнашаётган функциянал групалар қайси талабга жавоб бериши керак ?
12. Фермент структурасини стабиллайдиган қандай кўприкларни хосил қилади?
13. Кимевий имобиллашнинг афзаликлариға нималар кипади?

14. Нима учун оксил аминокислотлари кимёвий модификациалаш ва ферментларни ковалент иммобилаш мақсадида ишлатилади?
15. Иммобилаш жараёнидаги компонентларни биласизми?
16. Ферментлар инжэнэригининг асосий вазифаси нималардан иборат?
17. Ферментларни иммобилизация қилишда қайси турдаги тикувчилардан фойдаланилади?
18. Табиий ташувчиларнинг камчилиги нимада?
19. Ферментнинг тузулишида қандай қисмлар мавжуд?
20. Синтетик полимер ташувчиларга нималар киради?
21. Хужайра иммобилизацияси асосан қандай ташувчиларга адсорбция қилинади?
22. Секрецияланаётган оксиллар хужайра қатлами тизимидан қандай ўтказилади?

5-БОБ. ЭКОЛОГИК БИОТЭХНОЛОГИЯ

Биотехнологик жараёнда биообъектни максимал равишда ҳосилдорлик даражасида фойдаланиш учун, унинг структуравий-функционал хусусиятларини аниқ ишлаб чиқариш шароитларига таъаллуқлигини билиш ва инобатга олиш керак. Кўпгина ҳолларда тайёр маҳсулотнинг сифати ва сони продуцентни сифати ва сонига тўғри пропорционал равишда боғлиқдир. Маълумки, акариотларга, прокариотларга ва эукариотларга ёндашиш турлича бўлиши керак, чунки акариотлар, облигат паразитлар ҳисобланилиб, тирик хужайраларда ривожланади. Бактерияларнинг тузулиши эукариотларга қараганда кам ўзгарувчан, шунинг учун ўзининг кўплигида яшаш шароитларига бошқа замбуруғ, ўсимлик ва хайвон организмларига қараганда кам ахамиятлидир.

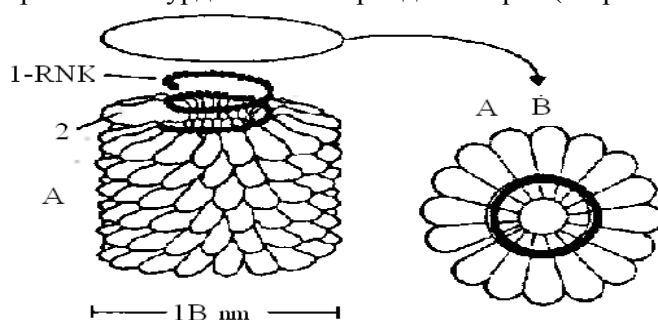
5.1. Акариотлар

Биотехнологияда турли бактериофаглар, ўсимлик ва ҳашаротларнинг вируслари кенг ишлатилади, айниқса рДНК-биотехнологияда. Уларнинг наслий материаллари содда тузилган бўлиб, улар билан ишлаш қийинчиликни туғдирмайди.

Маълумки, вирион бу нуклеокапсид бўлиб, ва вирус қисмларининг тузулиши бир хил эмас. Хайвонларнинг кўпгина вируслари “яланғоч” нуклеокапсид (аденовируслар) лардан иборат, бошқалари эса (герпес ва оспа вируслари) кўшимча қобикқа эга (суперкапсид). “Яланғоч” спиралсимон нуклеокапсид тамаки моддасининг вируси –ТМВ (вирион) $39 \cdot 10^6$ далтон (Да) молекуляр массасига эга, унинг ягона РНК молекуласи $9 \cdot 10^6$ Да тэнг.

ДНК сақловчи кўпчилик вирусларда нуклеин кислота икки ипли хисобланади (кўпгина бактериялар каби). Истисно сифатида парвовируслар ва Соли-фаг фХ 174 бўлиб, улар бир ипли ДНКга эга. ДНКнинг молекуляр оғирликлари турлича ва қуйидаги қийматларга эга: Соли-фаг фХ 174 $1,7 \cdot 10^6$ Да, жуфтли бактерияларда Т2, Т4 ва Т6 – $1,2 \cdot 10^6$ Да, гепес вирусларида – $1 \cdot 10^6$ Да, оспа вирусларида – $1,5 \cdot 10^6$ Да ва бошқалар.

Хар бир вируснинг капсиди 5-6 оксилли суббирликлардан – капсомерлардан ташкил топган, бу морфологик бирликлар бўлиб, одатдагидек жойланган, бунинг натижасида капсид молекуляр симметрия кўринишга ўтади – спирал ёки куб шаклига. Масалан, тамаки тузулишининг кўриниши спиралсимон турдаги симметриядан иборат (50-расм).



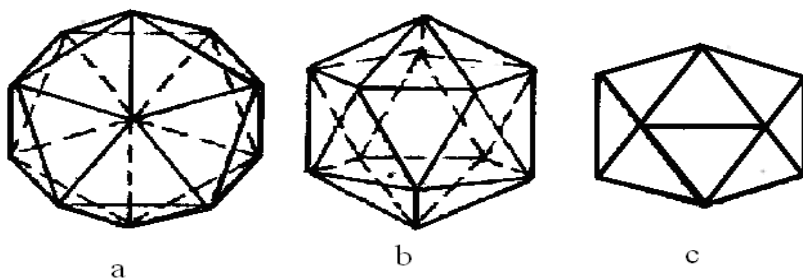
50-расм. Тамаки мозайкаси вирусининг тузулиш схемаси
А–ён тарафдан кўриниши; Б–юқоридан кўриниши; 1–бир занжирли РНК; 2– оксил суббирликлари.

Унинг спиралсимон ДНКси капсомерларга винцимон жойлашган бўлади. Спиралсимон симметрик кўриниш қуйидаги вирусларга ҳам хос: қутириш, грипп, сариқча, қизилча, вабо, парагрипп, паротит, сендай, қорамол вабоси, ит вабоси ва бошқалар.

Кубсимон симметрия турлари барча маълум вируслар ичида энг кўп тарқалгани хисобланади. Кубли симметрия фигураларнинг учта турларидан: тетраэдрли (симметрия ўқлари 2:3, структуравий бирликларнинг минимал сони 12 та), октаэдрли (симметрия ўқлари 4:3:2, структуравий бирликларнинг сони 24 та) ва икосаэдрли ёки тўғри кўпбурчакли (симметрия ўқлари 5:3:2, структуравий бирликларнинг сони 60 та) болади. Оғирги кўпбурчакли кўриниш вирусларда кўп учрайди. Агар икосаэдрнинг структуравий бирликларнинг минимал сони қанчалик кўп бўлса, бу турдаги симметрия фазовий энг иқтисодий жихатдан самаралидир (вибрионни теришда катта молекулаларни яшани талаб қилмайди). 51-расмда учта симметрия ўқли икосаэдр тасвирланган (5:3:2). Тўғри икосаэдрда бешинчи тартибли 6 та симметрия ўқлари мавжуд, улар юқори чўкки орқали ўтади, учинчи тартибли 10 та симметрия ўқлари, учбурчакли ўқларнинг марказлари орқали ўтади ва 15 та иккинчи тартибли симметрия ўқлари,

марказдаги кўракларни боғлайди. Икосаэдрнинг 12 та учи, 20 қирраси ва 30 та белбоғи бор.

Баъзи бир вирусларнинг капсидлари қўшимча структуралар билан биргаликда “мураккаблаштирилган”. Масалан, аденовирус капсиди икосаэдр кўринишида шаклланиб хар бир кўрагида 6 та капсомери бор, капсиддаги капсомерлар сони 252 та, улардан 240 таси сферик шаклга эга бўлиб, икосаэдрнинг кўракларида жойлашган. Хар бир капсомер 6 та бошқа капсомер билан қўшни ҳисобланади, шунинг учун уларни гексамерлар ёки гексонлар деб аталади (кўриляётган мисолда улар 240 та). Қолган 12 та капсомерлар икосаэдрнинг 12 чўққисидида жойлашган ва бешта капсомер билан қўшни ҳисобланади (пентамер ёки пентон).



51- расм. Учта симметрия ўқли икосаэдр (а,б,с)

Ушбу 12 та капсомер (пентон) сферик кўринишидаги асос ва узун ипдан ташкил этиб, вирионни тўқимага мустаҳкамлаш хусусиятига эгадир (51-расм).

Мураккаб капсидлар бактериофагларга тегишлидир, масалан, Т-жуфтли Соли-фагда икосаэдрда бошча ва гексогонал ўсимта мавжудир.

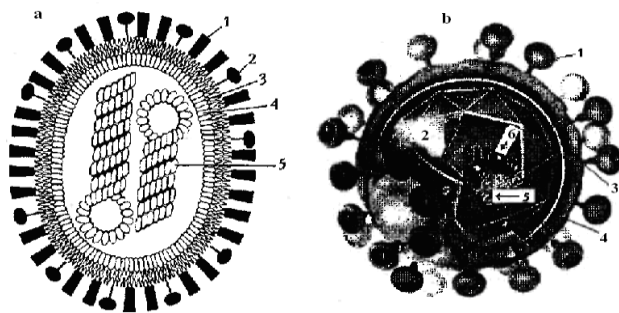
Шуни алоҳида таъкидлаш керакки, вируслар кўпаймайди, репродукцияланмайди, ёки ишлаб чиқарилмайди, уни насли тўғрисида гапириш эмас, балки уларнинг нусхалари (ака ва сингиллари) тўғрисида сўз очиш керак. Репродукция фақат тирик хужайраларда содир бўлади, шунинг учун вирусларни ишлатишга асосланган биотехнологик жараёнлар жуда қимматлидир.

Масалан, ичак таёқчаси ва грипп вирусини таққослашнинг ўзи кифоядир. Биринчиси гўшт пентонли қайнатмада, иккинчисига товук эмбрионлари керак, бунда ичак таёқчасини ўсишини назорат қилиш керак ва муҳитга эътибор бэрилади, бунинг учун оддий оптик микроскоп кифоя бўлиб, вирус заррачаларини кўриш учун эса электрон микроскоп ишлатилади. Ушбу фарқли томонларни яна ҳам келтириш мумкин, буларнинг натижасида барча қутилган ижобий натижалар бактериялар томонида бўлади. Хозирги вақтда гриппга қарши биопрепаратларни яратилиши (вакциналарни), энтеропатогенли ичак таёқчалари ва уларнинг оиласидаги бактериялар келтириб чиқарадиган касалликларидан кўра энг катта муаммоли масаладир. Бундан ташқари, аксария холларда молекуляр биология соҳасидаги кўпгина фундаментал муаммоларни ечилиши фақат вирусли системаларда амалга оширилиши мумкин. Вирусларни

репродукциясини етгита босқичларга бўлиш мумкин: адсорбция, пенетрация (вируснинг хужайрага кириши), транскрипция, трансляция, репликация, вирус заррачаларини йиғиш ва хужайрадан хосил бўлган вирус таначаларини чиқиши. Хар бир босқичда кўп босқичли жараёнлар содир бўлиб, уларга хам вирусларга хам уларнинг реципиентлари – хужайраларга боғлиқдир.

52- расмда грипп вирусини (а) ва (ОИТС) ИТТВни келтириб чиқарувчи ретровирус (б) (иммун тизимини танқислик вируси) тузулиши келтирилган. Грипп вирусини репродукциясида генетик маълумот қуйидаги схема бўйича боради РНК → РНК → оқсил Уларда РНКнинг биосинтези вирион РНКсининг матричасида содир бўлади, бу жараёнга РНК полимеразага ёки вирион транскриптазага боғлиқ бўлиб, вирион РНКни каталитик таъсири натижасида содир бўлади. (ОИТС) ИТТВда генетик маълумот қуйидаги схема бўйича боради РНК → ДНК → РНК → оқсил, яъни матрицадаги РНК қайтар транскриптаза ферменти таъсирида ДНК синтезланади, сўнгра барча жараён универсал схема бўйича содир бўлади. РНК → ДНК → РНК → оқсил. Иккала келтирилган холларда ишлатиладиган тузулиш материаллари реципиент хужайраларидан тузилган.

Грипп вирусининг рибонуклеин кислотаси 8 та сигмэнтдан ташкил топган бўлиб, унинг хар бирининг 3-четида уридин колдиғи билан тугалланади. РНКнинг умумий молекуляр массаси 2-4 минг қДа ташкил этади. Бундай турда грипп вирусининг сигмэнтланганлиги рекомбинациянинг юқори частоталиги билан фарқланади, бу эса рефаоляцияланишга ва вирус инфекциясини кимёвий тўхтатилишидан кейин гемаглюэнинни ва нейриминидазани синтезлаш қобилиятларига эга.



52- расм. Грипп вирусини тузулиш схемаси

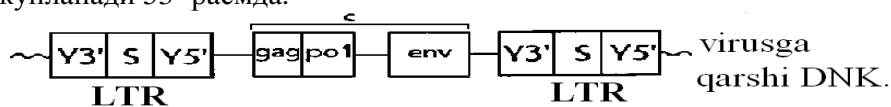
(а): 1-гемаглютенин; 2-нейриминидаза; 3-ёғли биоқатлам; 4-оқсилли қатлам; 5-рибонуклеопротеин ва (ОИТС) ИТТВ ретровируси .

(б): 1-гликопротеин-120; 2-юрракчаси; 3-гликопротеин-41; 4-липоид мембрана; 5-РНК; 6-қайтар транскриптаза.

ИТТВ (ОИТС) заррачалари таркиби ва молекуляр массаси уч хил оқсиллардан ташкил топган: протеин 25(24), гликопротеин 41 ва 120. Уларнинг биринчиси 25(24) вирион юракчаси таркибига киради,

гликопротеин (гп 41 ва гп120) заррача қобиқининг “тишларини” шакллантиради. Юракчага шунингдек бир ипли генетик маълумотни ташувчи РНК киради, ва қайтар транскриптаза ферменти кириб, унинг таъсирида провирус - РНК вирусининг ДНК-нусхаси синтезланади. Провирус ДНК хромосома хужайрасига реципиентга ўрнашади ва фаол бўлмагунча персистланади (лотинчадан пэрсистэнт -чидамли, сақланиб қола оладиган, қоладиган).

Агар РНК ретровирусларида нуклеотидларини сони 10-80 жуфтлик билан яқунланса, икки ипли ДНК-нусхалар узун қайта такрорланувчи ЛТР (ингл. лонг тэрминал рэпэат) бир хил 250-1400 нуклеотид жуфтлик билан яқунланади 53- расмда.



53- расм. ЛТР Инсон иммунтанқислик вирусининг РНК таркибидаги тўғри чизикли ДНК нусхаси

Янги вирионларни йиғиш хужайра мембранасида амалга оширилади. Вирус оксилларини ўзгаришида у шишади ва чиқишни бошлайди, натижада вируснинг янги заррачаларини ҳосил қилиб ташқарига чиқаради.

Прокариот ёки бактериофагларни вирусларида ўзаро структурали функциянал (тузулиши ва фаолияти) бўйича ўхшашликлари мавжуд. Хусусан, генетик материал сифатида улар ўзида қандайдир нуклеин кислотасини РНК ёки ДНК ни сақлаб (кўпгина фагларда икки ипли ДНК мавжуд), нуклеин кислота фагнинг бошига ўралиб олади, фагларнинг кўпчилик қисмида реципиент хужайрага бириктириб олувчи думли ўсимта мавжуд, ва нихоят, хужайра зарарланганда – фаглар облигат паразит кўринишида бўлади.

Бактериофагларни фарқлашда ингичка нуклеин кислоталарнинг тузулиши (нуклеотидларнинг кетма кет жойлашганлиги, ёпишқок четларини борлиги ёки ёқлиги, тўғри чизикли ёки айланасимон ёпиклиги), капсидларни молекуляр симметрияси, дум қисмининг тузулиши, сезгир хужайраларга нисбатан таъсирлашишга мутаносибликлари билан фарқланади.

Зарарланган хужайра ҳаётига таъсир қилувчи учта фагнинг инфекцияси ва нодефектор фагнинг учта холати мавжуд. Биринчилар қаторига профагнинг тинч холати, вегетацияси ва шароити киради. Иккинчилар қаторига зарарланган хужайралар нобуд бўлиши (бу ерда фаглар ҳақиқатдан ҳам вирулентдир), профагни ташувчи хужайранинг лизоген ривожланиш ёълига ўтиши, ёки агар профаг индуцибеллик хусусиятли ва лизис ёълига индуцирловчи омиллар билан таъсир қилса (УБН, баъзи бир мутагенлар ва бошқалар), ва учинчи турларда эса зарарланган хужайрага фаг инфекцияларини таъсири кузатилмайди, улар нобуд бўлмайди, бундай холатда фаглар хужайрадан чиқиб кета олмайди

ёки доимий равишда реплицирланмайди, улар хужайра ичида бўлиб, уларни кўпайиш тезлигини камайтиради. Юқоридагиларни инобатга олиб шуни айтиш мумкинки, асосан прокариотик организмларни ишлатишга асосланган микробиологик ишлаб чиқаришда сезиларли зарар етказувчи сифатида бактериофаглар ахамияти катта.

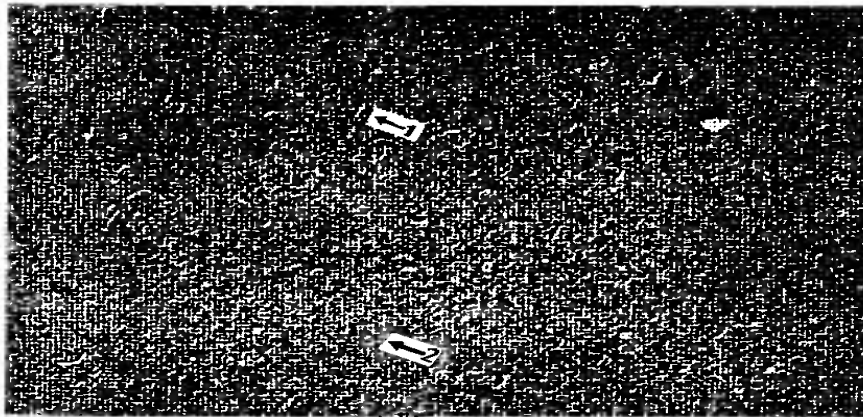
Вирион структурасини фундаментал тадқиқотлар қилиш натижасида бу гуруҳ микробларни Вира подшоҳлигида мустақил равишда бўла олиши аниқланди. Вириодлар таркибидаги РНКни нуклеотидлари кетма-кетлигига кўра уч хил гуруҳга бўлинади:

1) КМВВ гуруҳи, ўз ичига картошка мэвасининг веретен кўринишли вириодлар киради, (КПККВ) кокос палмасининг каданг-каданг касаллиги вириоди ва ВСПА вириодлардан ташқари барча вириодлар киради: уларда гомология соҳасида маълум кетма кетлик (50-80%) ва давомийлик полипурин кетма-кетлик мавжуд, улар юқори концентрацияли марказий соҳага эга (54- расм.)

2) кокос палмасининг каданг-каданг касаллиги вириоди (КПККВ) консерватив марказий соҳага эга бўлиб, пуринларни қисқа кетма кетлигига эга, марказий соҳани ташқарисида эса кетма кетликни кичик гомологиясига эга.

3) “авакадонинг қуёшли холдорлиги” касаллиги вириоди (ВСПА) унча катта бўлмаган марказий консерватив соҳага ва барча бошқа вириоднинг кетма кетликларнинг кичик кетма кетлик гомогларига эга.

Вириодлар интронлардан ҳосил бўлган ва улар кейинчалик рекомбинант ДНК сининг фитобиотехнологиясида векторлар сифатида тавсия этилади, деган тахминлар ҳам бор.

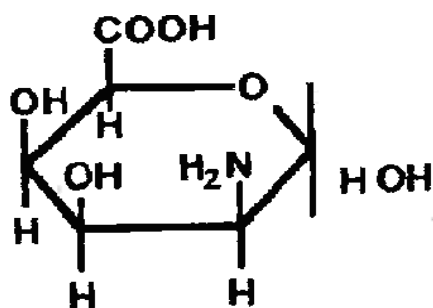


54-расм. Вириодлар: 1-чизиқли ва 2-айлана шаклдаги КМВВ вириодларнинг денатурланган молекулалари

5.2. Прокариот хужайралари

Барча катта траксонмик гуруҳларда вакиллар бўлиб, тегишли биотехнологик жараёнларда сапрофит ёки патоген кўринишида

ишлатилади. Уларни таққослаш учун лактобактерияларга ва туберкулез микобактерияларга ишора қилиш мумкин. Лактобактерияларга сут маҳсулотлари тайёрлашда ва озуқа емларини силослашда ишлатилади, туберкулез микобактериялари БСГ зардобини ва туберкулин (туберкулёзда диагностика воситаси) тайёрлашда ишлатилади. Археобактериялар ичидан метаноген бактериялар – метан продуцентлари катта ахамиятга эга. Пневмококлар полисахаридли зардобларни ишлаб чиқариш учун ишлатилиб, турли *Стрeптососсус пневмонияэ* сероварлари келтириб чиқарган пневмонияни даволашда ишлатилади.



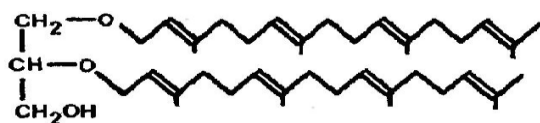
Talozaminuron kislotasi

Археобактериялар эубактериялардан хужайра деворининг кимёвий таркиби ва хужайра мембранаси билан, р-РНК (5С ва 16С рРНКда) ёки рибосомали нуклеин кислоталардаги нуклеотидларни кетма-кетлиги ва бошқа кўрсаткичлар орқали фарқланади. Шунингдек хужайра деворида намунавий пептидогликан – муреин ёқдир, баъзи археобактерияларда эса псевдомуреин мавжуд, уларда ацетилмурам кислотаси ўрнига талозаминурон кислотаси сақланади, интерпептид кўприкчалар фақатгина Л-аминокислоталарни ўз ичига олади, чунки Д-аминокислоталар псевдомуреинда учрамайди. Метанококларда хужайра оқсилдан шаклланади, метаносацинда – нейтрал углеводлардан урон кислотаси ва аминокислоталардан ташкил топган бўлиб, метаноспирилда эса пептид ниқоблари мавжуд.

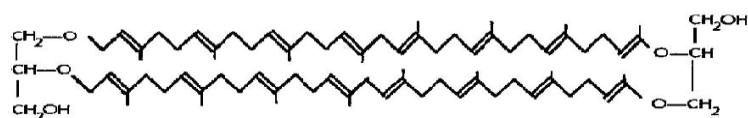
Археобактерияларни хужайра деворларининг кимёвий таркибининг хусусиятларидан бири бу пенициллинни, сефаллоспоринни ва Д-циклосеринни бу микроорганизмларга нисбатан самарасизлигидадир. Дэмак, келтирилган антибиотис– лар учун археобактериялар хужайрасида нишон болмайди.

Уларнинг хужайра бактериялари эубактерияларнинг хужайра мембранасидан фарқ қилади. Уларда фосфатидилглицеринлар қайд этилмаган, лекин бифитанил (C₂₀)-(изопреноид)-бифитанил (C₄₀-изопреноид) диглицерин мавжуд. Шунингдек C₁₅ ва C₃₀ – изопреноид углеводородлар шаклидаги нейтрал липидлар хам аниқланган.

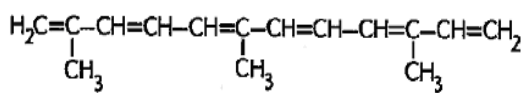
Археобактериялар ва эубактерияларнинг рибосомалари бир бирига ўхшаш, седиментация константаси бўйича 70 С типига тегишли, лекин археобактерияларнинг рибосомали ДНКсининг 5 С ва 16 С асослари бошқача бўлади. Эубактери-ялардан фарқланувчи ДНКга боғлиқ РНК полимеразалар тўртта суббирликлардан иборат бўлиб, бу ферментлар рифампицин антибиотикига сезгирдир. Археобактериялар геномида интронлар аниқланди, аввал бу геномнинг эукариотга тегишли дэб қаралар эди. Шунинг учун хозирги пайтда археобактерияларнинг ўрни ва уларнинг кэлиб чиқишини талқин этиш бўйича икки ёъналиш шаклланди.



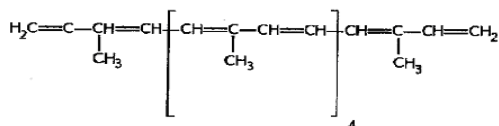
biftanil- glitserin (biftanil - diglitsерol - diefir)



biftanil - diglitsерin (biftanil - diglitsерol - tetraefir)

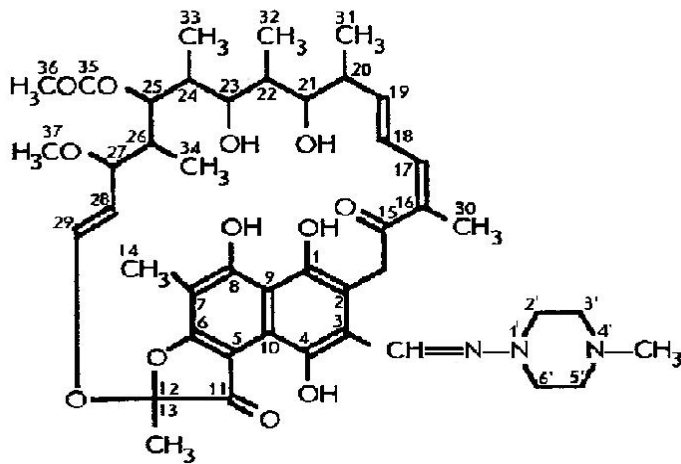


Seskviterpen (C₁₅)



Triterpen (C₃₀)

Эукариот геномидаги интронлар бу эндоцитоз натижасидир дэб хисоблашади олимлар, улар кэинчалик (эволюция жараёнида) митохондрияларга трансформасияланган.

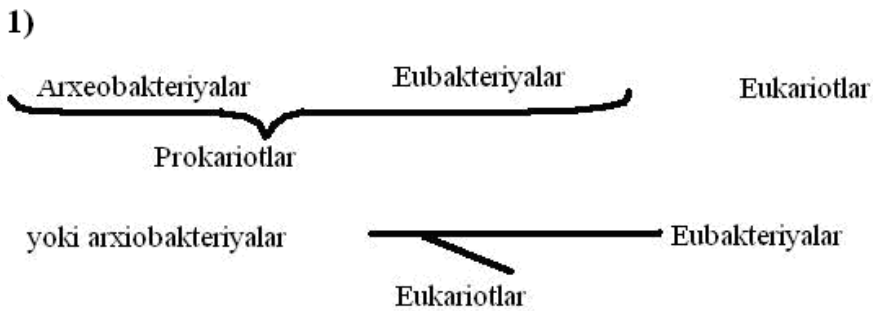


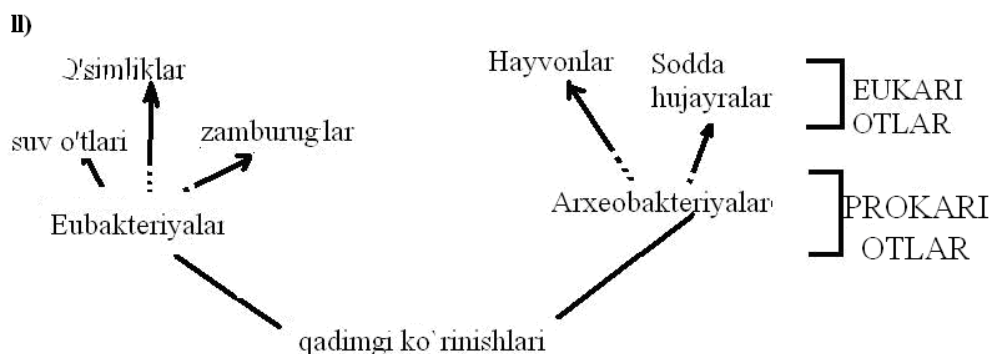
Rifampicin 3=(4-metil-1-pipiraziniliminometil)-rifampisin SV

Иккинчи гуруҳ олимлари эса архэобактэрияларни аубактэрияларнинг аждоди, яъни уларнинг фикрича эволюция куйидаги чизик бўйича кэчган, дэб хисоблайдилар.

Архэобактэриялар → Эукариотлар → Эубактэриялар.

Кэлтирилган кэтма-кэтликда эукариотнинг оралик холати прокариотнинг битта подшолигини гўёки икки қисмга узади, бироқ архэобактэрияларда ва эубактэрияларда ядро аппаратининг принсипиал ташкил этилиши кўп жихатдан бир-бирига ўхшаш, бинобарин, эволюсион ходисаларнинг кэлтирилган схэмаси гўё йэтарли даражада асосланмагандэк тасаввур қилинади. Прокариотлар хақидаги замонавий билимларни хсобга олган холда уларни куйидаги икки хил вариантда такдим этиш мумкин.



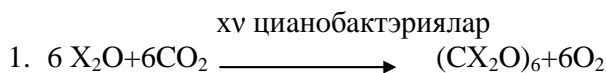


Иккинчи схэмада архэобактэриялар билан эубактэриялар ўртасидаги тўғридан-тўғри алоқа ёьқ. Шу холатни хам ёддан чиқармаслик лозимки, бактэрияларсиз барча бошқа, янада юқори даражада ташкил этилган (эукариотик) йэрдаги мавжудотларнинг хаёти умуман тўхтаб қолган бўлар эди.

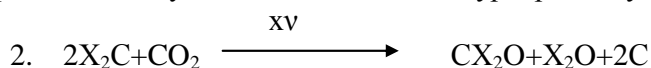
Кэлтирилган маълумотлардан микроорганизмларнинг (худди бошқа мавжудотлар сингари) эволюцияси тўғрисидаги тасаввурлар кўп жихатдан шу пайтгача хал қилинмай қолмоқда. Шунга қарамай, биз бугун турли организмларнинг хужайраларининг тузилма- функционал ташкил этиш тўғрисида икки-уч ўн йиллик илгари бўлганидан кўра кўпроқ биламиз, шу сабаб, саноатда организмларнинг фойдали турларини арсеналини сэзиларли даражада кэнгайтирмоқдамиз.

Эубактэриялар ўз ичига архэобактэриялардан ташқари барча прокариотларни олади. Улар икки гурухга ажратилади — фототроф ва хэмотроф бактэриялар. Бу билан уларнинг фойдаланилаётган манба бўйича принципиал фарқи таькидлаб ўтилади. Фототрофлар куёш ёруғлиги квантларидан фойдаланади, хэмотрофлар эса турли хил кимёвий бирикмалардаги кимёвий алоқалар энэргиясидан фойдаланади. Фототрофлар орасида оксигэн цианобактэриялар ажралиб туради, уларнинг хаёг фаолияти жараёнида молэкуляр кислород (1) ва кислородни ажратмайдиган аноксигэн қизғиш ва кўк рэаксиялар ажралади (2 а,б,с).

2 а, б, с рэаксияларда элэктронларнинг донорлари вазифасини мос равишда водород сульфид, газсимон водород ва изопропанол бажаради.

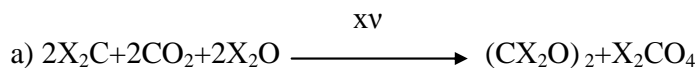


Бу йэрда элэктронлар донори — сув. Шуни назарда тутиш лозимки, цианобактэриялар орасида водород сульфидни оксидлашга ва кислород ажратмасдан фотосинтэзга ўтиш қобилиятига эга турлар мавжуд.

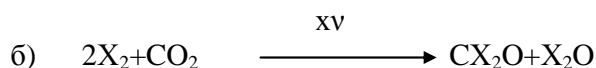


Қизғиш олтингугурт ва кўк олтингугурт бактэриялари, айрим цианобактэриялар.

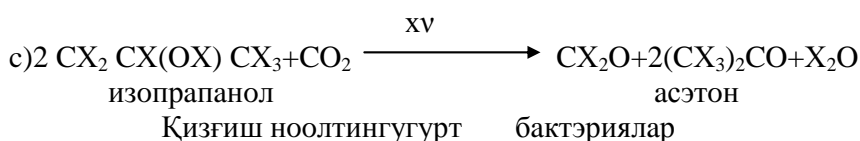
Олтингугурт сульфатгача оксидланади. У холда йигинди реакция куйидагича бўлади:



Қизғиш олтингугурт ва кўк олтингугурт бактериялари, айрим цианобактериялар.



Қизғиш ноолтингугурт ва яшил ноолтингугурт бактериялар.



Тцианобактериялар атмосферарага мухим кислород йэтказиб бэрувчи хисобланиб, улар атмосферарадан молэкуляр азотни ютадилар (қайд қиладилар).

Хэмотроф эубактериялар эндоспоралар хосил қилишлари мумкин (ёки хосил қилмайдилар). Улар хужайраларини морфологияси бўйича жуда хилма-хилдир: тўғри эгилган, таёксимон, юмалоқ, овал, дуккаксимон, спиралсимон, ипсимон ва бошқалар. Микроб хужайрасининг солиштирма оғирлиги тахминан 1,038—1,065 ни ташкил этади. У холда бактериянинг ўртача ўлчамлари 2·0,5 мкм дан кэлиб чиқиб, унинг оғирлиги 4,12·10⁻¹⁰ мг ни ташкил этади, яъни 1 г да шундай хужайралардан 2,42·10¹² бо'лади.

Кўпчилик прокариотик хужайраларни ифодаловчи мухим параметри уларнинг кўпайиш тэзлиги хисобланиб, у дақиқалар билан ўлчанади (ўртача 8-10 мин дан 30-40 мин гача). Бу хужайралар биомассаси аниқ ишлаб чиқаришда мақсадли махсулот бўлганда ёки хосил бўладиган мэтаболит (мақсадли (пировард) махсулот)нинг микдори аниқ вақт оралигида ўсиб чиқадиган хужайралар микдорига тўғри пропорционал боғланишда бўлганда мухимдир.

Ривожланаётган прокариотик хужайраларнинг барча алмашув жараёнлари Хужайра мэмбранаси иштирокида амалга оширилади. Мэмбрана орқали хужайра ичига озуқа моддалар киради, у орқали хужайрадан атроф мухитга маълум бир махсулотлар тарқалади. Мэмбраналарни созлаш жараёнларида ва хужайрани энэргия билан таъминлашда иштирок этади. Шунинг учун хам XX асрнинг 70-80-йилларидан бошлаб турли хил табиатли изолясиялаш ва тадқиқ қилиш имкони пайдо бўлган мэмбраналарга қизиқиш кэскин ортиб кэтди. Мустақил илмий фан — мэмбранология шаклланди, бу сохада ишловчи мутахассислар эса мэмбраналоглар дэб атала бошланди.

Прокариотнинг хужайра дэворлари хужайраларнинг тузулишида ва архитэктоникасида ўзининг алохида ўрнини эгаллайди. Уни мэтаболик жараёнлардан чиқариб ташлаб бўлмайди, чунки у ички ва ташқи мухитлар орасида чэгаравий холатни эгаллайди, ва у орқали иккала ёъналишда турли хил моддалар ўтади. Бироқ унинг асосий вазифалари —хужайраларнинг шаклини сақлаб қолиш ва химоявий вазифадир, хужайра мэмбранасининг асосий вазифаси эса рэгуляторлик-мэтаболик вазифадир. Хужайра дэвори ва хужайра мэмбранаси биргаликда қобикни шакллантиради.

Эволюцион-биокимёвий ёъналишда прокариотларда хужайра дэвори куйидаги ёъналишда тузилмавий ўзгаришларни бошидан ўтказди: Архэобактэриялар →Граммусбат (ижобий) бактэриялар →Грамманфий (салбий) бактэриялар. Архэобактэрияларда асос бўлса-да, умумий пэптидогликан ёёқ, пэптидогликан граммусбат бактэрияларда кўп қатламли бўлади, у грамманфий бактэрияларда бир қатламлидир. Прокариот хужайраларини хужайра дэворларидан махрум қилиб, уларни протопласт ёки сфэрапластлар кўринишида олишга нисбатан осон эришиш мумкин, улардан хужайравий-инжэнэрлик ишларида фойдаланилиши мумкин.

Мумкин бўлган капсула қатлами билан бирга қобикқа хужайра курук массасининг 20% ва ундан ортиқ қисми тўғри кэлади. қобикда озуқа моддаларни ташиш учун (уларнинг диаметри 0,001 дан 0,01 мкм гача) бўшлиқлар ва фаглар ҳамда бактэриоцинлар учун рэсэпторлар (оқсил-поринлар), шунингдэк антижисмлар ва комплэмэнт бўлган ўзаро таёсирлашиш жойлари бор. Грамманфий бактэрияларнинг қобикларида токсик ва аллэргэнли бирикмалар мавжуд.

Прокариотик хужайралар сиртларининг элэктрон-микроскопик суратлари хилма-хиллиги билан ажралиб туради. Бунда граммусбат бактэрияларда нисбатан ингичка қилиб чизилган, сиртларига қарама-қарши грамманфий турлар вакилларининг кўпчилиги бутунлай бурма сиртга эга бўлади.

Кўпчилик прокариотларда хужайра дэворидан ташқарига қараб капсулалари материал жойлашган бўлиб, у кўпчилик холларда полисахаридлардан — гликанлардан (масалан, Асинэтбастэр срд.да), ёки протэинлардан (масалан, *Бас. Личэниформис* да) иборат.

Хужайра дэвори хужайранинг ёшига қараб қалинлашади масалан, *Ластобасиллус асидархилус* да 0,8 мкм га этиши мумкин. Хужайра мэмбранаси, аксинча, прокариотик хужайраларнинг бутун ривожланиш даври мобайнида қалинлиги бўйича дэярли ўзгармай қолади (0,0075 мкм) ва диаметри тахминан 1 нм бўлган ўзгармас бўшлиқ ҳам ўзгармай қолади.

Граммусбат бактэрияларнинг хужайра дэворида пэптидогликан — мурэин тўпланган ва оқсиллар мавжуд, А гурух стрэптококларда хужайра дэворининг ташқи қатламида диффуз-таксимланган кўринишда бўлади, шунингдэк, М протэин мавжуд бўлиб, вирулэнт микробларнинг омилли бўлиб хисобланади. М протэин хужайраларнинг яшаш қобилиятини бузмаган холда трипсин ёрдамида гидролизланиши мумкин.

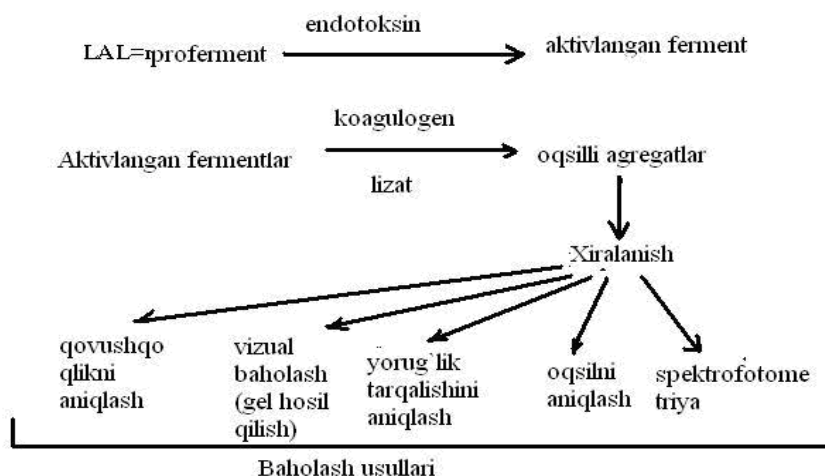
Грамманфий бактерияларда хужайра дэворининг уч қатламли эканлиги аниқ кўринади: липополисахаридли қатлам (О-антигэн), ташқи қатлам (кўпинча “ташқи мэмбрана” каби бэлгиланади), бу қатлам иккита фосфолипидли варақлардан иборат ва тагида ётувчи липопротэинли қатлам мавжуд. Липополисахарид эндотоксин хоссаларини намоён қилади, у ташқи мухит ва пастда ётувчи фосфолипид орасида чэгаравий холатни эгаллайди (асосан — фосфатидил- этаноламин билан).

Липополисахаридлар ишлаб чиқариш шароитида турли хил биологик хоссаларга эга бўлган воситалар сифатида олинади: токсик (липополисахаридда А липид билан боғлиқ), суяк илиги хужайраларини ривожлантиришнинг пирогэн, митогэн (сичқон лимфоситлари учун), стимуляторлари, тромбоситларда ва комплэмэнтда қоннинг ивиши ВИИ омили активаторлари (Жагэман омили); $1 \cdot 10^{12}$ г консэнтрасиядаги липополисахарид узоқ шарқ краби Умулус ролірхэмус амэбоситлари лизатасининг ивишини юзага кэлтиради. Бирор субстратларда, доривор воситаларда ва бошқаларда липополисахаридни аниқлашда рэаксиядан кэнг фойдаланилади. Эндотоксин ва амэбоситлар лизатаси орасидаги ўзаро таъсирлашув юқоридаги схэма бўйича кэчади.

Фосфолипидли қатлам ташқи ва ички “варақларга” эга, улардан ташқиси катта микдордаги липополисахарид молэкулалардан иборат.

Липопротэинли қатлам ташқи қатламни пэптидогликан билан ноковалэнт боғловчи гўё воситачи вазифасини бажаради. Унга мойли кислоталар, аминокислоталар, глисэрин киради, унинг молэкуляр массаси 7 кДа тартибида бўлади. *Эсчэриchia Соли* хужайра дэвори липопротэини турлича такрорийликдаги 15 та аминокислотага эга (хаммаси бўлиб 58 та аминокислотали қолдиқлар), улар орасида гистидин, глисин, пролин, триптофан ва фэнилаланин аниқланмаган. У блок тузилмаси кўринишида тақдим этилади, унинг учида глисэрин-цистэин бор, у мойли кислоталар қолдиқлари билан этэрифисирланган. Бундай липопротэиннинг катта қисми ($4,8 \cdot 10^5$ молэкула хужайрага) эркин холатда бўлади, камроқ қисми ($2,4 \cdot 10^5$) пэптидогликан билан ковалэнт боғланган (мурэян “каркаси” тэтрапэптидасида диаминолимэлин кислота билан).

Липопротэинли қатлам ташқи қатламни пэптидогликан билан ноковалэнт боғловчи гўё воситачи вазифасини бажаради. Унга мойли кислоталар, аминокислоталар, глисэрин киради, унинг молэкуляр массаси 7 кДа тартибида бўлади. *Эсчэриchia Соли* хужайра дэвори липопротэини турлича такрорийликдаги 15 та аминокислотага эга (хаммаси бўлиб 58 та аминокислотали қолдиқлар), улар орасида гистидин, глисин, пролин, триптофан ва фэнилаланин аниқланмаган. У блок тузилмаси кўринишида тақдим этилади, унинг учида глисэрин-цистэин бор, у мойли кислоталар қолдиқлари билан этэрифисирланган. Бундай липопротэиннинг катта қисми ($4,8 \cdot 10^5$ молэкула хужайрага) эркин холатда бўлади, камроқ қисми ($2,4 \cdot 10^5$) пэптидогликан билан ковалэнт боғланган (мурэян “каркаси” тэтрапэптидасида диаминолимэлин кислота билан).



Хужайра дэворлари оксиллари хужайра мэмбранаси оксилларидан фарк қилади. Аввал эслатиб ўтилган оксил-поринлар ўзига хос бўлмаган кичик гидрофил молэкулаларнинг ўтиши учун трансмэмбранали диффузион канал хосил қилади, улардан айримлари фагларнинг рэсэпторлари сифатида иштирок этади.

Мажорли ёки омп-протэинлар (инглизча онэ оф мажор протэин сўзидан) ва минории ёки кичик протэинлар ажратилади. Кодловчи тузилма гэнлар бўйича мажор тўсинлар омп А, омп С, омп Ф, омп Х:1⁶ га бўлинади; улар турли хил молэкуляр массага эга (16 КДа дан 42 кДа гача). Улардан биринчиси (омп А) Ф-пилялар билан бактэриялар конъюгасиясида ўзаро таъсирлашиш ўрни тарзида иштирок этади. омп С ва омп Ф (оксил-поринлар) пэптидогликан билан мажмуада пораларни шакллантиради, омп Х:1⁰ катионли хоссаларга эга ва хужайранинг яшаш мухитида ионларнинг ўзаро таъсирлашишларга таъалукли. Минорли оксиллар малтоза, Фэ²⁴ мажмуалар, В₁₂ витаминини ташишга жалб қилинади. Грамманфий бактэрияларнинг хужайра дэворлари протэинлари орасида кўпгина фэрмэнтлар (аспарагиназ, фосфатаз, эндонуклеаз ва бошқ.) намоён бўлади.

Хужайра дэворини йэтарлича осон тарзда хужайра мэмбранаси (протопласт) билан ўралган хужайра ичидагилардан анча осон ажратиш имкони бўлади. Агар хужайра даврининг бир қисми хужайра мэмбранасида ушланиб қолса, у холда осфэропласт тўғрисида гапирилади. Граммусбат ёки аксинча, грамманфий бактэриялар яқинида протопластларнинг шаклланиши осонлиги тўғрисида турли хил фикрлар мавжуд. Равшанки, протопластлар ҳам, сфэропластлар ҳам у ёки бу бактэрияларнинг ҳаммаси штамминг хусусиятларига (тури, ёши, этиштириш шароитлари, фойдаланилган стабилизатор — сахароза ва хоказо), таъсир кўрсатувчи агэнтга боғлиқ (хужайра дэворини лизирловчи фэрмэнт, компонент биосинтэзи блокатори ёки хужайра дэвори компонентлари).

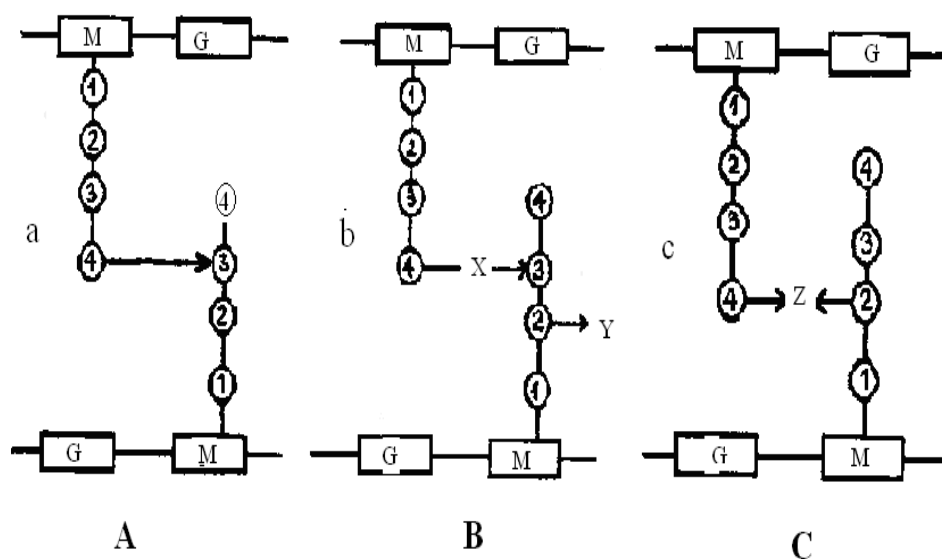
Хужайра дэвори ва хужайра мэмбранаси орасида пэриплазматик фазо мавжуд бўлиб, у грамманфий бактэриялар яқинида яхшироқ намоён бўлади. Бу балки, ички осмотик босим граммусбат бактэриялар яқинида [(8,1-20,2) ·10⁵Па] грамманфий бактэриялардагига қараганда [(3,03-5,05) ·10⁶Па юқорироқ бўлиши билан боғлиқ. Пэриплазматик фазода фэрмэнтли ва нофэрмэнтли оқсиллар кузатилган.

Қобиклари таркиби бўйича граммусбат ва грамманфий бактэрияларнинг қобикларидан мутлақо фарқ қилувчи прокариотлар маълум. Мисол сифатида кислотага бардош бэрувчи микобактэриялар айтиш мумкин (17-жадвал). Жадвалда кўринишича, турли гурухларга таъалукли хужайраларнинг компонент таркибидаги фарқ йэтарлича каттадир. Э.Соли ва Стар хулососсус яқинида пэптидогликанларнинг тузулишини баҳолаб, улар орасидаги фарқни интэрпэпид кўприкларнинг тавсифида кўриш мумкин. Масалан, Э Соли да (барча грамманфий бактэриялардаги, дифтэриянинг коринэбактэриялари, кокардий, микобактэриялар ва Басиллус жинсига тэгишли турларидэк) пэптидогликан А турга тэгишли бўлади (55-а расм) Стар хулососсус аутэус да (стрэптококлар, микрококлар) – Б турига тэгишли (55-б расм), С туридаги пэптидогликан (55-с расм) жуда кам кузатилади.

17-жадвал

Граммусбат, грамманфий ва кислотага бардош бактэриялар қобикларининг компонент таркиби

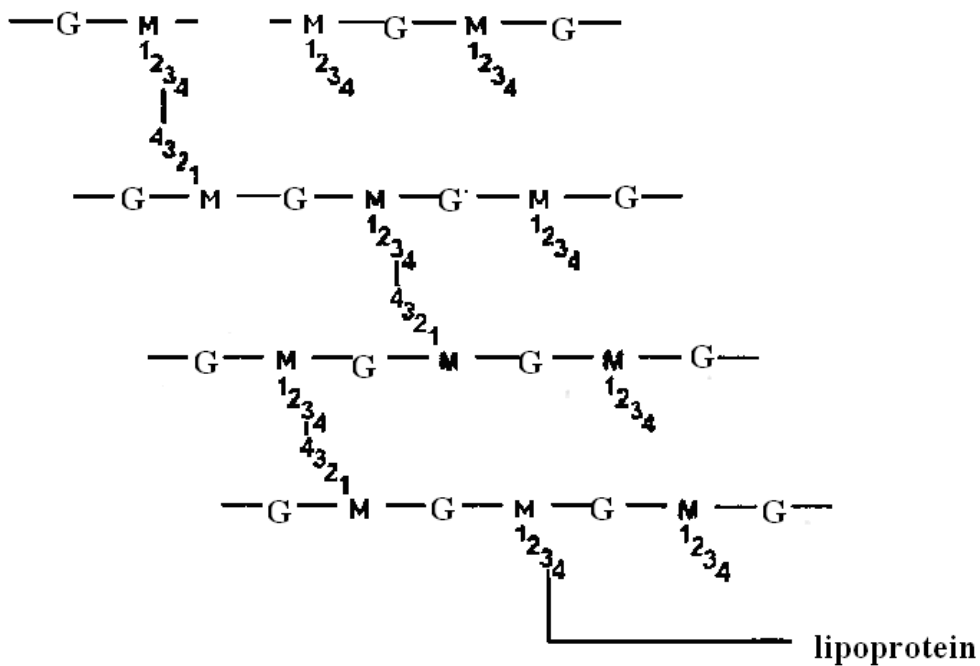
Бактэриялар		
граммусбат	Кислотага бардош	грамманфий
Пэптидогликан кўп қатламли, қалинлиги 0,02—0,6 мкм)	Пэптидогликан (бир қатламли, қалинлиги 0,01 мкм)	Пэптидогликан (бир қатламли, қалинлиги 0,01 мкм)
Протэинлар	Полипэпидлар	Липопротэинлар
Липотэйхойли кислота	Михолали кислота гликолипидлар	Фосфолипидлар
Тэйхойли кислота	Арабиногалактанлар	Липополисахарид
Тэйкуронли кислота	Боск Д	Протэинлар
Полисахаридлар	Корд-фактор	Полисахаридлар
	Сулфолипидлар	
	Микозидлар	



55-расм. Пептидогликанларнинг (А,Б,С) уч турини яшаш схемалари (а,б,с) М-Н-асэтил-мурамли кислота, Г-Н—асэтилглюкозамин; 1, 2, 3, 4—тетра-пэпид: 1—Л-аланин, 2—Д-исо глутамин кислота, 3—мэсо ДАР(ёки х-лизин) , 4—Д- аланин, X ва Z—интэрпэпид кўприкчалар, Y-амидли ўринбосар, унинг α —карбоксигрухи Д-глутаминли ёки 3 - гидроксиглутаминли кислотадан иборат.

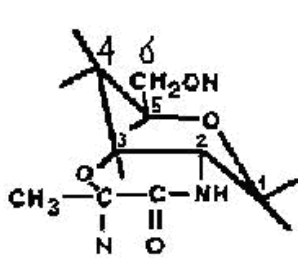
Тэтрапэпиднинг инвариантлиги кэпидоглиган занжирлари орасидаги боғловчи бирлик сифатида иштирок этувчи Д-аланиннинг доимий мавжудлиги билан боғлиқ. МГ дисахарид блоклар (55-а, б, с расмларга қаранг) камида 10 дан кўпи билан 170 оралиғида сон жихатдан ўзгаради, бу бактэрияларнинг турига боғлиқ. Айтилганлани ҳисобга олиб, пэпидогликаннинг Э.Соли.хужайра дэворидаги липопротэин билан алоқасини тасвирлаш мумкин (56-расм).

Пептидогликанларда углерод қисмлари турлича бўлиши мумкин масалан, мурамон кислота ва гликозаминда О-ацетил гуруҳ бор, бациллаларнинг эндоспорасида эса мурамон кислотасининг лактам гурухи мавжуд.

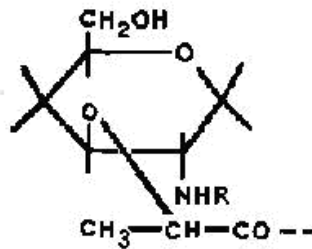


56-расм. *E.coli*. пептидогликанининг бўлаги: тетропептидда липопротеин мэсо-ДАП орқали боғланган

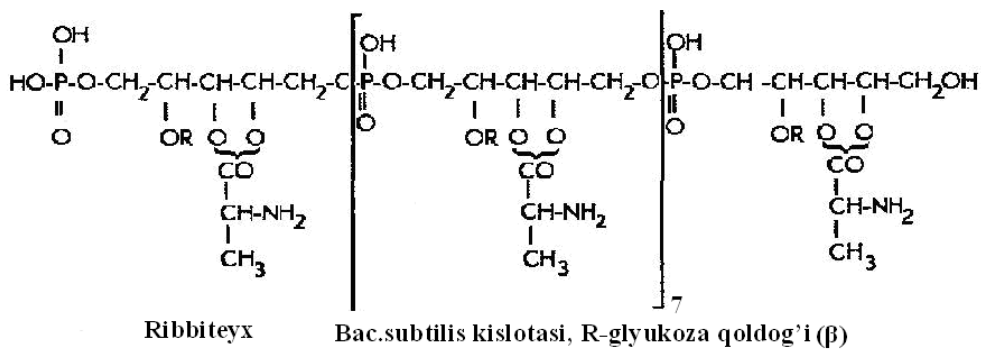
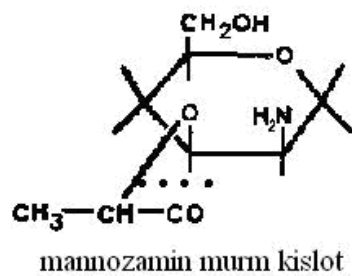
Маннозаминни 2% мурам кислотасида аниқлаш мумкин. Масалан, *M.лутэус* микобактерияларда ва бошқа бир қанча нокардийларда (*H.кировани*) Н гликолил мурамо кислота мавжуд. Мурамо кислотанинг ёки гликозаминнинг С6 гидроксил гуруҳида фосфо эфир қолдиғи жойлашиши мумкин. Бу гуруҳ грам мусбат бактерияларда тайхон ва тайхурон кислоталари, шунингдек бошқа полисахаридларни тутиши мумкин.



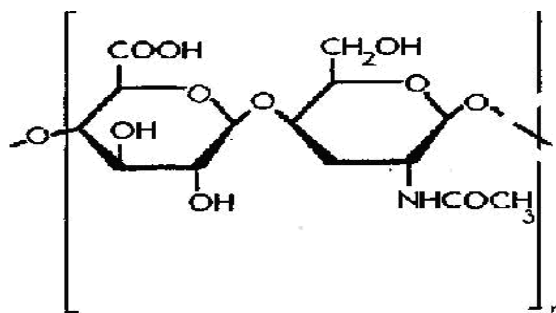
laktam muram kislota



glikopilmuram kislota,
R-glikopil



Микобактериялар ва бир қанча нокардийлар хужайра қобиғидаги полисахаридлар эфир боғи орқали микол кислотаси билан боғланган. Улар корд омиллар номи билан аталувчи (корд-анг. сиртмоқ) эркин экстракцияланувчи гликолипидларнинг қисмлари бўлиши мумкин. Бу фактор инсон учун патоген кислотага чидамсиз коринебактерияларда аниқланган.



Batsilla hujayra devoridan
teyxuron kislotasi

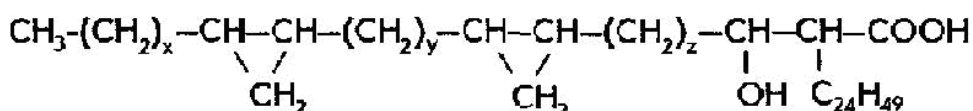
Коринемикол кислоталарда С атомлари сони 32-36, нокардиомикол кислоталарда ўртача 50 та, микол кислотада эса 90 гача бўлиши мумкин.

Микол кислоталар R-CX (OX)-CX(P₁)-COOH умумий формуласига мос келадиган α бириккан β – гидроксимой кислоталар ҳисобланади.

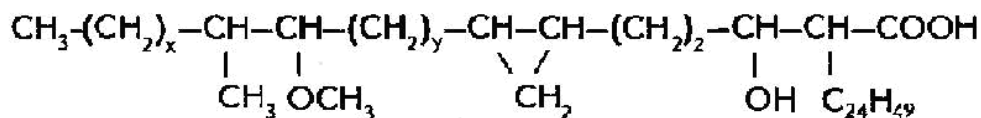
Силмикобактерияларида α, β ва γ микол кислоталар фарқланади.

Биринчиси 78-88 гача, иккинчиси 83-89 гача, учунчиси 91 гача С атоми саклайди.

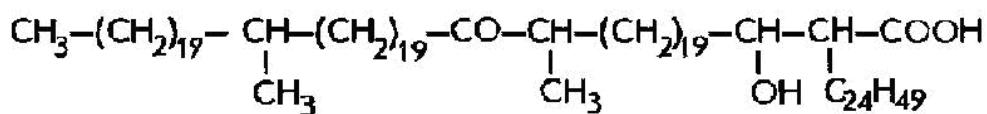
Formatiert: Zentriert



α- микол кислота



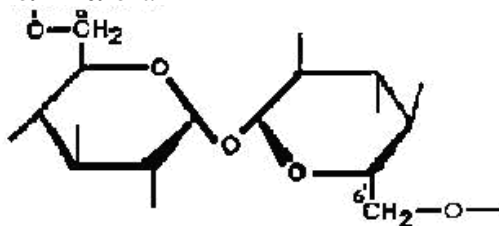
β- микол кислота



γ- микол кислота

Корд факторларлар 1,1 – диглюкозанинг 6,6 – димиклил эфири (трегалоза) кўринишида бўлади.

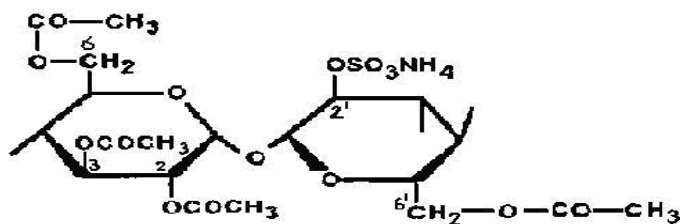
микол кислота



микол кислота

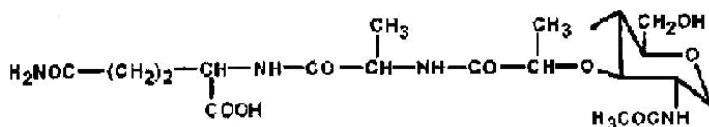
Корд фактор токсин хусусиятга эга. Уни микобактерия қобиғида бирга жойлашувчи сулфогликолипидлар кучайтиради. Масалан,; *M.тубэрсулосус* да сулфогликолипидлар 2,3,6,6- тетраацетилтрегалоза сульфат кўринишида бўлади.

Микобактериянинг хужайра қобиғида бактериофагларнинг рецепциясига жавобгар микозит бор бўлиб, бу микозит ўз таркибида 6-дезокситалоза ва унинг 0-метил эфирини, фруктозани, рамнозани тутди. А, Б ва С микозитлар фарқланади. А ва Б микозитлар фенол гликолипидлар, минозид С эса пептидогликолипид ҳисобланади.



M.tuberculosning sulfoglikolipidi

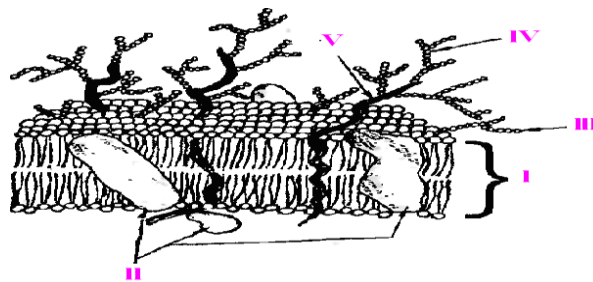
Микобактериялар хужайра қобиғи маҳсулотларини биологик хусусиятларини баҳолашда, уларнинг беқиёс иммуноадювант фаоллиги таркибида липид қисмларни таъминлаш ҳақида дастлаб тахмин қилинган эди. Лекин тахмин натижалари бу хусусият кўпчилики бактериялар хужайра қобиғида учрайдиган, сувда эруйдиган пептидогликоллаарга тегишлилигини кўрсатди. Энг кичик фаол бўлак Н ацетилмуромил – Л – аланил – Д – изоглутамин таркибли муромил пептид бўлиб чиқди. Муромил дипептидлар – юқори фаолликка эга иммуноадювантлар сифатида амалиётда (ОИТС) ИТТВни даволаш ва профилактикасида ишлатувчи зардобни таркибий қисми сифатида қўлланилмоқда.



Muromildipeptid

Муромилдипептид назарий жихатдан прокариотларнинг хужайра қобиғи архитекtonикаси бўйича эукариот хужайра қобиғига ўхшаш. Аммо у шу вақтгача гапирилган уч қатламли сендвич (Ингл.-бутерброд) эмас. Мембрананинг таркибига ташқарига буралган қутбли “бошчалар” га эга фосфолипидлар ва гидрофоб мой кислоталар қолдиқлари иборат биргаликда ҳаракатланади ва ичкарига қараган бўлади.

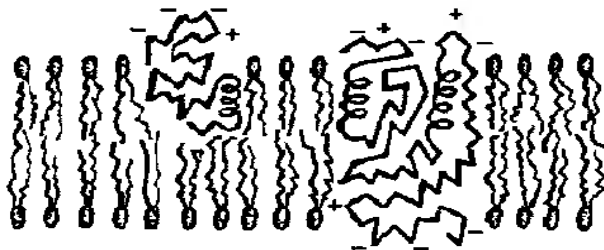
Мембрана оксиллари тўлиқ ёки қисман липид қаватига ботиб туради (57-расм).



57- расм. Прокариотларнинг хужайра мумбранасининг модели

I- липидли би қатлам; ИИ- интеграл оксиллар; ИИИ- гликолипидаги олигосахаридли ён занжири; ИВ- углевод; В- гликопротеин

Ботиб кирган қисмлар оксиллар ва липидлар билан гидрофоб алоқада бўлади. Оксилларнинг гидрофил қисмлари фосфолипидларнинг кутбли бошчалари билан мувозанатда бўлади. Мембрана термодинамик стабил, лекин метоболик тузилмалардан йиғилган қатламлар тутувчи суяқлик – мозаик таркибига эга (58- расм).



58- расм. Хужайра мембранасининг суяқлик-мозайкали қатлами

Оксил молекулалари мембранада жойлашиб ўзида махсус функцияларни бажаради. Гликопротеинларгина мембранада бошқа компонентлар билан боғланмайди ва мембрананинг ташқи юзасида эркин сузиб юради. Бошқа бирикмалар қарама қарши равишда мембрана матрицасига мустахкам ўрнашган. Мэмбрананинг функционал молекулаларини аниқлашда селекциядаги ролини тахмин қилиш мумкин. Мэмбрана билан алоқага киришган ферментлар ва ферментлар системаси махсус конформацион ўзгаришларга учрайди. Бу ҳолат мэмбрана ва фэрментнинг субстрат ва лигандлар орасидаги муносабатидан далолат беради. Бошқача қилиб айтганда хужайра мембранаси бу билан боғлиқ ферментлар ва ферментлар системасида фаоллигини бошқарувчилик ва ташкилотчилик вазифасини бажаради. Бу босқичда мембранада кимёвий ва физикавий жараёнлар рўй беради.

Прокариот ва эокариот мембраналари орасида қандай услубий фарқлар бор?

Фарқлар кимёвий тузулишлар ва функцияларга таллуқли. Хужайра мембранасини кимёвий таркиби, организмнинг токсонологик ҳолатидан келиб чиқиб глокопротеолипидлар ёки гликолипопротеинлар ва нихоят липогликопротеинлардан иборат. Тилларанг стафилакокк хужайра мембранаси углерод қисмининг хиссасига 40 % худди шунча оксил қисми хиссасига 20 % гина липид қисми тўғри келади.

Кўпчилик ўрганилган прокариотлар хужайра мембранаси қуйидагича тақсимланган оксиллар 50 % гача, ёғлар – 30% гача, углеводлар 20% гача, эукариотларда эса оксиллар 50 % гача, ёғлар – 30% гача, углеводлар 20% гача бўлади. Лекин юқоридаги кўрсаткичлар нисбий хисобланиб баъзида кучли фарқланиши мумкин. Масалан, хужайра мембранаси билан мустаҳкам алоқада бўлган эндоплазматик ретикулумнинг мембрана фракциясида липидлар куруқ массанинг 50% ни ташкил қилади. Нерв толаларининг мембраналарида эса липидлар миқдори 80 % га етади.

Хужайра мембраналари барча организмларда полифункционал хусусиятини намоён қилади: осморегуляция, барьер функцияси, насос, рецептор, моддалар транспорти (шу жумладан фаол-энергия сарфи билан), мембрана потенциалини ҳосил қилиш, фотосинтезда энергияни ўзлаштириш ва оксидланиш фосфориллаш жараёнлари.

Бактерияларнинг хужайра қобиғини (ёки хужайра қобиғи бўлмаган ҳолларда хужайра мембранасини) тузулишини ва вазибаларини чуқур билиш биообъектларини аниқ мақсадларда фойдаланишни осонлаштиради. Масалан, иккиламчи метаболитларни олишда хужайрага махсулотлар транспорти (секретор жараёнларга ўхшаш) биринчи ўринга чиқади. Таққослаш учун *Лэусоностос мэсэнторидэс* ва *Хантхомонас сомпэстрис*ларни мисол қилишимиз мумкин. Ин витро ҳолатида хужайра иштирокисиз декстранполисахаридларини синтезловчи декстрансахароза ферментини маълум шароитда синтезлайди ва секреция қилади. Бу ҳолатда Хантхомонас сомпэстрис хужайрасисиз ин витро шароитида биосинтез юз бермайди. Юқоридагилардан келиб чиқиб полимерларнинг биосинтези жараёнига ёндашиш турлича, чунки тегишли биосистемалар мавжудлиги механизми (шунингдек бактерия қобиғи ҳам) тенг маъно акс эттирмайди.

18-жадвал

Эукариотлар ва прокариотларга эга хужайра мембраналарининг асосий фарқлари

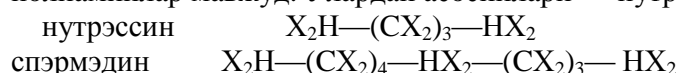
Белги	Прокариот	Эукариот
Мэзосома	Мавжуд Кўпроқ гр (+) бактэрияларда, цианобактэрийларда мавжуд	Ёёқ
Тилакоид	Тсианобактэрияларда мавжуд	-
Фикобилисома	-	-
Аэросома	Фототрофларда бор	-

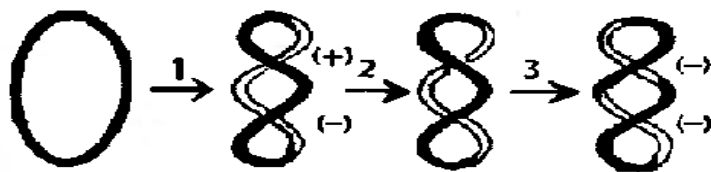
Хлоросома	Яшил фототроф бактерияларда	-
Карбоксисома	фототрофларда ва бир қанча хэмолитотрофлар мавжуд	-
Гидрогэносомалар	Ёёк	Баъзи трихомонасларда мавжуд
лизосома	-	мавжуд
пэроксисома	-	-
гликосома	-	Протозояда мавжуд
митохондрия	-	мавжуд
Э.П.Т. эндоплазматик	-	мавжуд
Э.П.Т. хисобига хужайранинг компартментализацияси	-	-
Тситоплазматик мэбранаси тизими (ЭПРСиз)	мэтанни оксидловчи ва нитроллов чи, у фототроф бактерияларда мавжуд	-
Голджи комплэкси	-	мавжуд
Хитосома	-	Замбуруғларда мавжуд
липосомалар	-	-
вакуола	Кўпчилик бактерияларда мавжуд эмас	Э.П.Т. хисобига хосил бўлиши мумкин.
хлоропласт	Мавжуд эмас	Ўсимлик хужайрасида мавжуд (сув ўтларида хромототроф кўринишида)
эндоситоз	Мавжуд эмас	мавжуд
экзоситоз	-	-
Тўйинган ва монокўйинмаган ёғ кислоталар	мавжуд	Мавжуд эмас
Политўйинмаган ёғ кислоталар	Мавжуд эмас	мавжуд
простогландинлар	-	Баъзи замбуруғларда бор
кардиолипин	Мавжуд эмас	мавжуд
фосфотидинглицирин	мавжуд	Мавжуд эмас ёки оз микдорда бор
Липотэйхон	гр (+) бактерияларда бор	-

кислота		
Моногалатозилдиглит-сэрин	Мавжуд (яшил бактэриялар ва цианобактэрияларда)	Мавжуд эмас
Дигалактозилдиглит-сэрин	Тсианобактэрияларда мавжуд	Мавжуд эмас
Сулфохинол-возилдиглицэридлар	-	-
ундэкапрэнол	Мавжуд	Мавжуд эмас
долихол	Мавжуд эмас	Мавжуд
сфипгомиллин	-	-
стэринлар	Мавжуд эмас	Мавжуд
Ядро ДНК си билан алоқа	Мавжуд	Мавжуд эмас

Прокариот (нуклеоид) ядроси ДНК дан иборат юпка, мунтазам бўлмаган, фибрилляр тўрдан иборат бўлиб, кўпинча хужайранинг ўқ чизигига параллэл равишда жойлашади. Кўпгина холларда ДНК-боғловчи тузилма сифатида мезосома иштирок этади. ДНК ипининг халқа кўринишида бэрк бўлиши радиоавтография ёрдамида исботланган. Шунинг ўзи бактэриал хужайрадаги ягона хромосоманинг ўзидир. Унга хужайра массасининг 2—3% ва хужайра хажмининг 10% ёки ундан ортиги тўғри кэлади. Э. *Солн.* бундай хромосомада 20 дан 70 гача супэрспиралланган домэнлар мавжуд бўлади. Шу вақтгача нуклеосомалар фақат зукариотларгагина хос дэб тан олинар эди. Бироқ нуклеосомасимон тузилмалар прокариотларда хам намоён бўлар экан. Улар ХЛПНИИа, ХЛПИ (анг. хистон-ликэ протэин)ва Х-протэин сифатида бэлгиланган эди. Буларнинг дастлабки иккитасида аминокислота таркиби аукариотлардаги гистонн Х2Бнинг аминокислота таркибига ўхшаш, Х оқсил эса бузоқларнинг буқоқ бэзидаги Х2Б гистонга қарши антижисмлар билан кэсишган холда таъсирлашади. Айтиб ўтилган гистонга ўхшаш оқсиллар гираза ёки топоизомэраза ИИ фэрмэнтига ДНК супэрспирализасиясини барқарорлаштиришга ёрдам бэради. ДНК-гираза рэлаксасияланган (лат. Рэлахатио—кучланишни камайтириш, бўшатиш) халқа ДНК молэкуласига манфий супэрспирализасияни киритишга қодир (59-расм). Фэрмэнтнинг битта молэкуласи дақиқасига 100 тагача спирални киритади.

ХЛП (анг. хистон-ликэ протэин) гистонга ўхшаш оқсиллардан ташқари прокариот хужайраларида рибосомалар ва мэмбраналар билан боғланган полиаминлар мавжуд. Улардан асосийлари — нутрэссин ва спэрмэдин





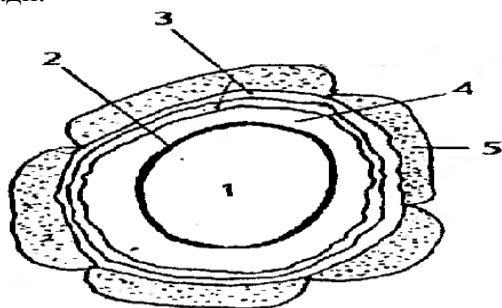
59-расм. ДНК-гираза иштирокида икки занжирли ДНК мусбат супэрспирали инвэрсияси

1—мусбат ўрам стабилизацияси; 2—орқа сэгмэнтдаги узулиш; 3—ташки томондан узулишни “тузатиш”.

Бу полиаминлар антимулагэн эффэктига, протопластларнинг осмотик лизисига чидамлилигини ошириш қобилиятига, 70С рибосомаларни барқарорлаштириш (уларнинг субзаррачаларга диссоцияланишининг олдини олади) билан ифодаланади.

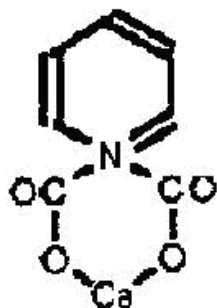
Прокариот цитоплазмасида гликогэн тўпланиши мумкин, масалан, энтэробактэрияларда (хужайралар хажмининг 40% игача). Спора хосил қилувчи бактэриялар ва псевдомонаслар 30% гача ва ундан ортиқ поли-β-гидроксимой кислотани тўплайди, прокариотнинг кўпчилигида полифосфатлар, волютин, липидлар намоён бўлади.

Айрим прокариотлар хужайралар ичида споралар (эндоспоралар) хосил қилади. Улардан аэроблари *Бациллу*с ва *Споросарцина* (*С. урэаэ*) жинслари турлари билан, микроаэрофиллар — *спороластобациллу*с *инулину*с тури билан, анаэроблари — *Сластридиум*, *Дэсулфотомасулу*м турлари билан ифодаланган. Хужайрадаги споранинг ўлчами, шакли ва жойлашиши (тэрминал, субтэрминал, марказий) йэтарли даражада ўзгармас ва шунинг учун турларни тавсифлаш учун фойдаланилади. Спора хосил қилувчи хужайралардаги ГТс нуклеотидлар миқдори йэтарлича паст, айниқса — клостридияда (22—28%). Эндоспоралар — 60-расмдан кўринишича, мураккаб тузилишга эга, Бас.сэрэус эндоспораси сфэрик кўп қатламли жисм билан ифодаланиб, унинг шаклланиши, одатда ноқулай шароитларда юзага кэлади.

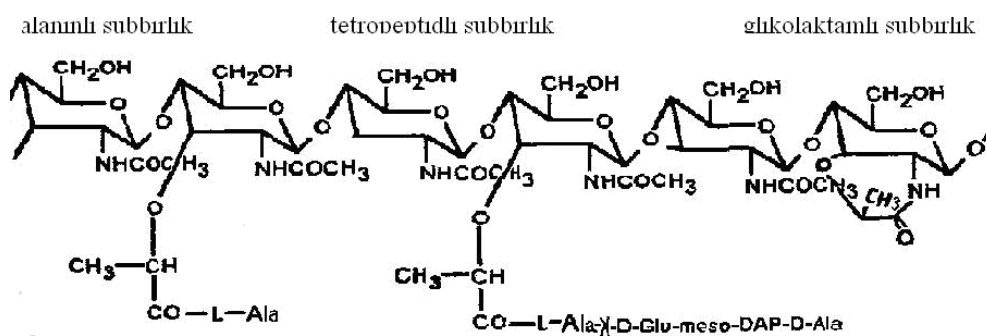


60- расм. Эндоспоралар

1—цитоплазмаси; 2—спора дэвори;
3—спора қобиғи; 4—кортэкс; 5—экзоспориум.



Калций дипиколинат



Бацилл спорасининг пэптидогликан фрагмэнти

Споралар цитоплазмасида 15% гача калсий дипиколинати мавжуд. Спора қобиклари оксилларида кўп миқдорда гидрофоб аминокислота ва систэин мавжуд. Бир қатор басилл ва кластридий экинларининг спора хосил қилиши муносабати билан мухим халқ хўжалиги ахамиятига эга бўлган оксиллар хосил қилади (циклопэптим антибиотиклар, энтобактэриялар). Бошқа томондан спора ташкил этувчи прокариотлар биотэхнологик жараёнларнинг зараркунандалари бўлиши мумкин. Споралар турли хил ташқи омилларга нисбатан юқори даражада чидамли бўлиши билан фарқ қиладилар, уларнинг таъсирига яхши чидаш бэрадилар ва шунинг учун асэптика, антисэптика ва стэрилизасия қоидаларига риоя қилинмаганда фэрмэнтасион мухитга ёки тайёр махсулотга тушиши мумкин.

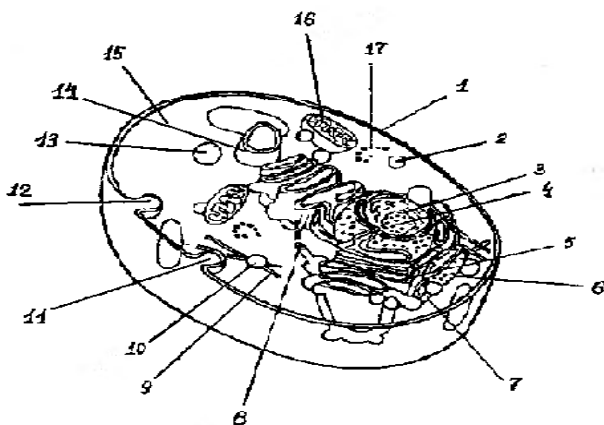
Баъзи прокариотлар (айрим актиномисётлар) эндоспоралар хосил қилиши мумкин, улар бу прокариотларда репродукцион ташкил этувчи ва бир вақтда тинч турувчи шакл сифатида иштирок этади (эндоспоралар– бу тинч ётувчи шакллар) ёки хужайраларнинг этилиши ва ривожланиш пайтида диффэрэнсировка шакллари, масалан, *Бас. субтилис*).

Formatiert: Usbekisch (Kyrillisch)

Систилар ҳам тинч ётувчи шакл бўлиб, улар азотобактэриялар, миксобактэриялар, риккэциялар, спиромэтлар билан хосил қилиниши мумкин.

5.3. Эукариот хужайралари

Биокимёвий тэхнологияда кэлиб чиқиши турлича бўлган эукариот хужайраларидан фойдаланилади. Уларнинг манбалари Мйсола, Рлантаэ ва Анималиа подшолигига тэгишли кўринишлар бўлади. Хозирги вақтга кэлиб, биринчисининг ассортимэнти ишлаб чиқаришда фойдаланиладиган о́симлик ва хайвонлар хужайралари ассортимэнтдан анча кэнгдир. Эукариот хужайралари кўп жихатдан ўзаро ўхшаш, шунга қарамай, мавжуд фарқлар ўз хусусиятларини намоён қиладилар, бу уларнинг тузулиши ва функсияларида намоён бўлади. 62-расмда тадқиқотчиларнинг эукариот хужайраларининг тузулишини ўрганишда тўпланган хақиқий маълумотлар йэтарлича объектив акс эттирилган.

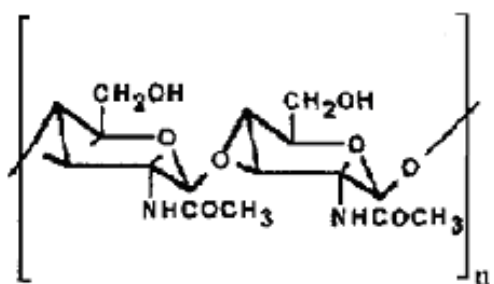


62--расм. Эукариот хужайраси

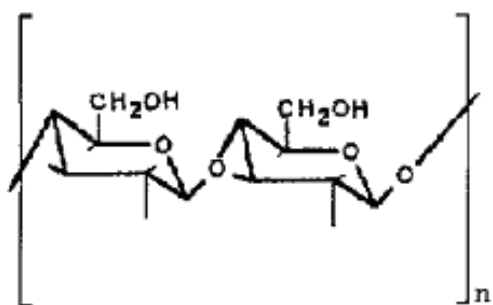
1–плазматик мэмбранэ; 2–пэроксисома; 3–ядро; 4–ядроча;
5–Голджи аппарати; 6–гадур-будур эндоплазматик рэтикулум;
8–сэнтриол; 9–цитоскэлэт; 10–сэкрэтор гранула; 11–энзоситатик
пуфакча; 12–эндоситатик пуфакча; 13–эндосома; 14–лизосома;
15–цитозол; 16–митохондрия; 17–рибосомалар.

Замбуруғ ва ўсимлик хужайралари мустахкам хужайра дэвориға эға бўлиб, улар хайвон хужайраларида бўлмайди. Бунда кўпчилик замбуруғлар учун маркэр тузилмаси сифатида хитин бўлади, кўпчилик о'симликлар учун эса маркэт тузилмаси бўлиб, цэллюлоза бўлади.

Уларнинг молэкуляр массалари жуда якин 500—600 кДа тартибидаги катталикка этади. Замбуруғлар (қўзиқоринлар) ва ўсимликларнинг хужайра дэворлари — икки фазали систэмалардан иборат.



Хитин бўйни



Тсэллюлоза бўйни

Уларнинг биинчи фазаси микрофибрилляр тузилмалар, иккинчи фазаси — аморф тўлдиргич бўлади. Бинобарин, замбуруғ ва ўсимлик хужайра дэворлари табиий компонент бўлади, уларнинг кимёвий таркибида углэвод компоненталар кўпроқ бўлади. Ббошқа моддалардан гликопротэинлар, оксиллар, озгина микдорда — липидлар ва липоконъюгатлар аниқланган.

19 - жадвал

Баъзи замбуруғлар хужайра деворининг кимёвий таркиби, %

Компонентлар	Замбуруғлар турлари		
	Аллоймёсэ масрогинус	Мусор роухии (ипсимон тузулишли)	Сасчаромёсэ сэрэвиснаэ
азот	5,5	-	2,1
оксил	10,0	6,3	13,0
глюкан	16,0	-	28,8
липидлар	-	7,8	8,5
маннан	-	3,8	31,0
фосфатлар	-	23,3	0,31
хитин	58,0	9,4	1,0
хитозан	-	32,7	-
Босгқа углэводлар	-	9,5	-
Углэводли	74	55,4	60,8

КОМПОНЭНТЛАР ЙИҒИНДИСИ			
---------------------------	--	--	--

Замбуруғларда ўсимликларга нисбатан хужайрали тузилмаларнинг озроқ диффэрэнсия муносабати билан замбуруғларнинг хужайра дэворларидаги компонентларнинг таркиби бўйича ўртача маълумотларни кэлтириш мумкин (19-жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, замбуруғларнинг баъзи турларида (мурор замбуруғида) хужайра девори таркибида хитин ва хитозан (деацетилланган хитин формаси), бошқаларда эса фақат хитин мавжуд.

Юқорида айтиб ўтганимиздек, цэлюлоза-ўсимлик хужайраси деворининг маркер компоненти хисобланади, лекин жуда оз миқдорда масалан, акразиели, гифохитридинли, сапролегнияли, переноспора замбуруғлари таркибида аниқланган.

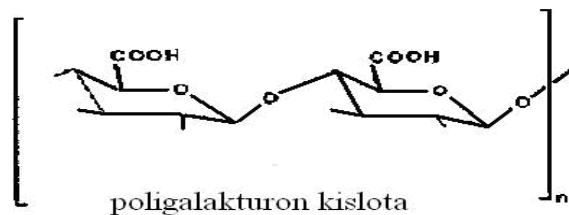
Замбуруғлар хужайра деворида уроно кислотаси ва лигнин аниқланмаган, лекин кўп текширувлар натижасида пигментларни шу билан бир қаторда меланнинлиги аниқланди.

Меланинлар таркибида 5,5 – индолхинон қолдиғи ва пирокатехинбўлади, одатда улар оқсил билан (мелапопротеин) ёки гликопротеин (малокогликопротеинлар) билан боғланган, ферментлар – супероксиддисмутаза (СОД), каталаза ва пероксидазалар билан боғланган, протекторлик (химояловчи) функциясига эга, яъни кислород радикали ва синглет кислородларига нисбатан протектор бўлиб, кучли оксидловчилик вазифасини бажаради.

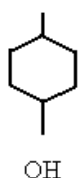
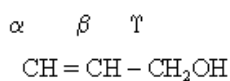
Углеводли полимерларнинг гипер махсулоти натижасида турли замбуруғлар капсулага жойлаштирилган. (Аурэобасидиум спп, Срийптососус спп, Пходоторула спп ва бошқалар). Бу полимерлар халқ хўжалигида (нефт қазиб олишда, соғлиқни сақлашда, косметологияда) муҳим аҳамиятга эга.

Замбуруғлар каби ўсимликлар хужайра деворларида углеводли полимерлар цэлюлоза, гемицэлюлозалар, пектинлар кўп учрайди. Гемицэлюлозаларга полисахаридлар киради, (гликанлар), улар ўсимлик тўқимасидан хужайра девори таркибига киради ва юмшоқ шароитда суюлтирилган ишқорларда эриш, ҳамда суюлтирилган кислоталар таъсирида гидролизланиш хусусиятига эга. Булар арабинонлар, галактонлар, ксилонлар, маннанлар, фруктанлардир. Халқ хўжалигида гемицэлюлозалар кенг қўлланилади.

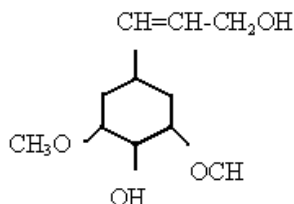
Пектинлар – бу полигалактуронидлар, улар юқори ва қуйи ўсимликлар шираси ва тўқима деворлар таркибига киради. Галактурон кислотаси пектинларни асосий мономер хисобланади (92 % гача). Урон кислотасининг бир қисми метанолнинг карбоксил грухи билан этерификацияланиши мумкин. Унинг қолдиғи С₁-С₄ гликозидли боғ билан боғланган. Озиқ-овқат саноатида пектинлар кенг миқёсда ишлатилади.



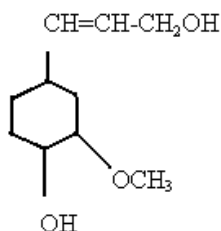
Лигнинга алохида эътибор бериш керак – полифенол табиатли полимер, фақат ўсимликларда ҳосил бўлади. Унинг миқдори баъзи турларда 38% гача етади ва унга ўсимликларни ёғъочланишига (лигнификацияланаши) боғлиқ. Табиий биополимерларни тарқалишига қараб у фақат гликанлардан кейин учрайди.



Кумар спирти ёки п-гидроксикор спирти



3,5 диметокси-4-гидроксикор ёки синапин спирти



3-метоксигидроксикор ёки кониферил спирт

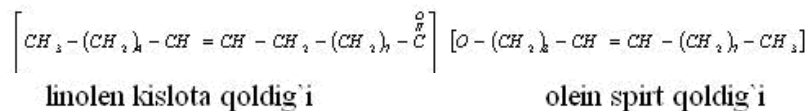
Лигнин тармоқланган полимерларга киради. Таркибига асосан ўрин олган фенол спиртлар қолдиқлари киради яъни п-гидроксикорич, п-кумаронли, 3,5-диметокси-4-гидроксикорич ёки синапиноли ва 3-метоксигидрокорич, кониферинли қолдиқлар.

Лигнин биосинтезининг механизми охиригача аниқланмаган, лекин бошланғич модда глюкоза, улардан аввал бевосита бошланғич моддалари транс-кумар, транс-синап ва транс-пониферил спиртлар эканлиги маълум.

У ёғъочликда гликан билан асосан гемицеллюлозалар билан кўпинча уч хил турдаги боғланишлар гликозидли, мураккаб эфирли ва оддий бензил эфирли боғланишлар билан боғланган бўлади. Лигнинни целлюлозали ва гидролизли ишлаб чиқаришнинг оралиқ маҳсулот сифатида ва халқ хўжалигида кенг қўлланилади.

Ўсимликнинг тўқима деворлари ташқаридан липидлар билан қопланиши мумкин, булар мум ва кутин ёки суберинга тўйинади. Бу барча бирикмалар асосан химоя вазифасини бажаради.

Мум - узун занжирли тўйинмаган ёғ кислотаси ($C_{14}-C_{36}$) ва узун занжирли спиртлар ($C_{16}-C_{22}$) нинг мураккаб эфирларидир.

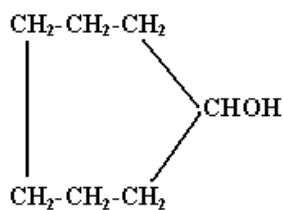


Мум linolin kislota va olein spirtini murakkab efiri

Кутин – (лотиндан cutis - тери) юқори ёғ кислоталари ва уларнинг эфирларини аралашмасидан иборат. Суберин (лот. Субэр-корков дарахти) – у ёғ кислотаси эфирлари ва суберил спирти (циклогептанол) дан иборат.

Ўсимлик хужайрасининг деворлари ички қатлам қалинлашишидан ёғонлашади, мембрана хужайрасига ёпишган қисми-иккиламчи тўқима девори бўлиб ҳисобланади. (бирламчига қарама-қарши ҳолда ички йиғмалар бўлмайди). Бундай деворлар қоидага биноан, механик функцияни бажаради. Унда целлюлоза миқдори 50% гача етади, бу қиймат қуруқ хужайра массасига нисбатан олинган.

Хайвон хужайраларида хужайра деворлари бўлмайди. Фақат баъзи протозоалар маълум шароитда қисмларни ҳосил қилиш хусусиятига эга. (Дизентерия амёбаси, ичак балантидияси ва бошқалар).

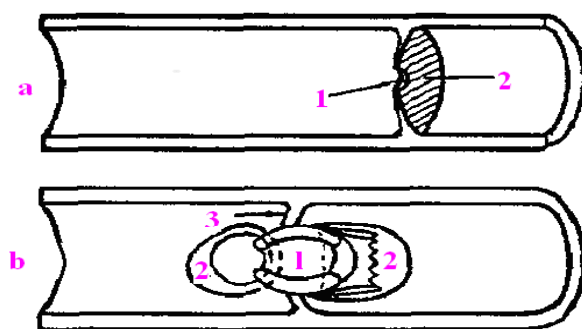


Суберил спирти

Улар 1-3 қатламли, кўпинча асосан оқсил табиатли қобик билан қопланади.

Замбуруғ ва ўсимликлар ўртасида хужайраларда туташ бўлган тешикчалар мавжуд. Кўпчилик замбуруғларда оддий тешикчалар бор.

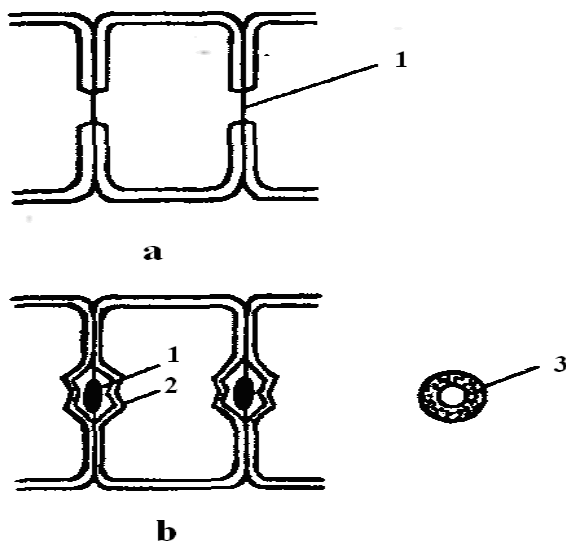
Базидиал замбуруғлар учун мураккаб ёки долитешикчалар хос (62- расм). Долитешикчалар дикоратик ҳолатдаги базидиомицетлар мицеллейни сақланишига ёрдам беради, шунинг учун бундай “беркитувчи” тўқик иккиламчи ва учламчи мицеллейда шаклланади, бирламчи мицеллейда эса тўқиклар оддий (куйи) бўлади.



62 – расм. Замбуруғнинг чегара қатламлари

а-халтали замбуруғ: 1-оддий пора септеда; 2-икки хужайра ўртасидаги оддий пора-базидиаллар; **б**-долипора ва унинг элементлари: 1-тешикча, 2-парентосома, 3-долипорали перегородка.

Ўсимлик хужайраларига қўшни бўлган иккиламчи хужайра деворларида ҳам тешикчалар ҳосил бўлади бунда фақат ўртадаги пластинка ва бирламчи кобик структуралари хужайрали бўлади. (63-а, б расм).



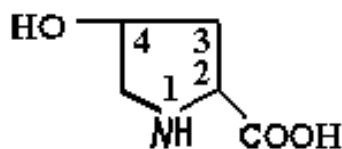
63- расм. Баъзи ўсимликлар оддий порасининг схематик тузулиши

а-оддий тешикнинг схематик тузулиши;
б-окаймланган гардишланган тешикнинг схематик тузулиши (кўндаланг кесими);
 1-бирламчи хужайра девори билан ўртадаги пластинка;
 2-окаймланган гардишланган тешикнинг тўплами;
 3-тешикнинг тэқисликдаги шакли.

Ўртадаги пластинка-меристем хужайраларнинг бўлинишидан хосил бўлади. У асосан аморф пектин моддалардан иборат, хар тарафлама бир тэкис “Ўсган” гемицэллюлозадан иборат. Бирламчи хужайра деворлари хосил бўлади, уларда эркин холда диаметри 10 нм бўлган ва таркибида 8-12 минг глюкоза қолдиғидан иборат цэллюлозали толалар чирмашган бўлади. Бундай толаларнинг марказий қисми кристалл структурага эга, унинг диаметри 4 нм га яқин. Бирламчи хужайра девори таркибдаи ксилоглюкан (икки паллали ўсимликларнинг) лар (ён занжирлари ксилоза, галактоза, фркутозалардан иборат) ва шунингдек арабиногалактонлар ва рамногалактуронлардан иборат бўлиб, улар бир-бири билан ковалент боғланган ва цэллюлозали фибриллар билан ҳам боғланган.

Кейинчалик шаклланадиган иккиламчи хужайра деворлари кўп сонли қаватлари зич тахланган, қаватлараро тармоқланган фибриллардан иборат. Бундай фибриллик кўпинча цэллюлозадан таркиб топган, лекин таркибига бошқа полисахаридлар ҳам кириши мумкин, масалан, баъзи сув ўтлар таркибида ксилан ва маннан мавжуд.

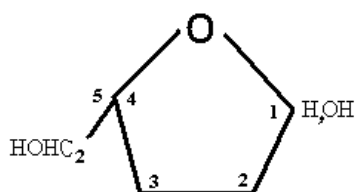
Шундай қилиб, ўсимлик хужайра деворларининг асосий ташкил этувчи қисмига углеводли полимерлар ва лигнин киради. Улар таркибида минор компонент сифатида гликопротеин – экстензин, у эса таркибида кўп миқдорда 4-гидроксипролин аминокислотасидан иборат. Экстензинда олигосахаридли қолдиқлар арабиноза ва галактозадан иборат. Хужайралар орасида бўлувчи тўсиқ бўлишига қарамай, улар цитоплазматин ип-плазмодесмалар туфайли ўзаро туташади.



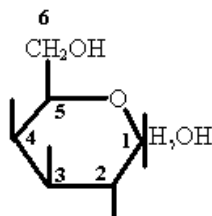
4-гидроксипролин

Замбуруғ ва ўсимликлар учун тўқима хосил бўлиши типик хосдир. Тўқима хужайранинг катта гурухи бўлиб, умумий келиб чиқишига эга, ўхшаш структура ва функцияга эга. Тўқима бу генетик ва структур-функционал умумийликка эга, системани ташкил этадиган хужайралар тўпламидир. Демак, шакли жихатидан ўхшаш бўлган ва маълум бир ёки бир неча вазифани бажарадиган хужайралар грухига тўқима дейилади икки хил тўқималар ажратилади.

Арабиноза



Галактоза



Ёлғон тўқималар ва хақиқий тўқималар филаментлар гурухига тегишли ипдан иборат, улар хужайра деворларига чирмашиб ўсиши мумкин, лекин ўзининг мустақиллигини сақлайди, масалан, хужайраларнинг кўндаланг бўлиниб кўпайишада.

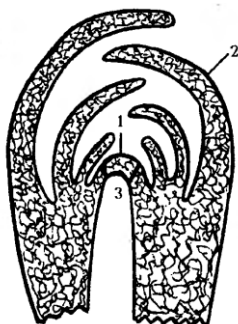
Бу тўқима замбуруғларга хос ва уни плектенхима ёки псевдопаренхима (лотинчадан чирмашиш, тирик тўқима; паренхима–грекчадан ёлғон маъносини англатади) деб аталади. У фақат ўсимлик меристемасини морфологик томондан эслатади ва базидиал замбуруғлар склероциев аскомбицетлар мева танасига хос.

Замбуруғнинг хақиқий тўқимаси кам намоён бўлади, аммо улар халтачалик замбуруғ перитериясида мавжуд. (дастлабки пайдо бўлишида). Ўсимликларга хақиқий тўқима хос: оддий (бир хил турдаги хужайра) ва мураккаб (турли хил хужайра системасидан).

Ёлғон ва хақиқий тўқималар функциясига қараб гурухларгага бўлинади: хосил қилувчи (меристемалар), қопловчи, ўтказувчи, механик, секретор (ажратувчи) ва базис (асосий) хосил қилувчи тўқима ёки меристемалар (грекчадан мэристос–бўлинувчи) фаол метаболит хужайрадан иборат, улар бўлиниб янги хужайра хосил қилиш хусусиятига эга (64–расм). Барча хужайраларнинг боши бўлиб, дифференцияловчи ва тўқиманинг доимий хужайрасига айланишга хизмат қилувчи инициал (лот.инитиалис–бирламчи, бошланғич) дейилади.

Замбуруғларда хақиқий меристемалар ривожланган хужайранинг бўлиниши юқори қисмига тўпланган.

Топологик ёки ўсимликдаги ўрнига қараб меристемалар фарқланади. Юқори қатламли – апикал (лотин.апэх, аписис–чўққи), ён томонли – латерал (лотин. Латэралис–ён томони), оралик –интеркалярли (лотин. Интэрсаларис–оралик). Юқори қатламли меристема ўсимлик бўйича ўсишни таъминлайди, улар илдизда конусларни хосил қилади, ён томон меристема ўсимликни энига ўсишини таъминлайди, уларга прокамбий, камбий, перицикл, феллоген дэйилади, лотинчадан–самбиум–алмашиш, грекчадан–про–олди, пэри–атрофида, киклос–цикл, айлана, фэллос–пропка, тикилма, гэнос–ген келиб чиқиши.



64- расм. Ўсимликлардаги меристемалар тузулиши
1–чўкқили меристема; 2–баргли навдалар; 3–ўсиш конуси.

Барг чўпларининг пайдо бўлишида тугунлар орасида оралик меристемалар тўпланади. Меристемалар хужайраси тотипотент (лотин. тотум-барча, бутун, полэнтиум-қобилият, потенция) яъни улар бутунлай ривожлантириш потенциаллини организм хосил бўлишига сарф қилади. Биотехнологияда юқори қатлам меристема алоҳида ахамиятга эга бўлди, чунки у хар доим фитопатоген микроорганизмлардан эркин (соғлом) бўлиб қолади масалан, вируслардан (хатто бутун ўсимлик вируслар билан зарарланган бўлса ҳам). Касал ўсимликдан стерил **шароитда** ин vitro шароитида меристема хужайраларини култивирланишдан соғлом ўсимлик ниҳол (кўчат) олинади. Жароҳат меристемалар ҳам маълум, у ўсимлик органи ёки тўқимасининг жароҳат жойида пайдо бўлади. Бундай жароҳат жойларда бир жинсли паренхим хужайралар ўсади, улар жароҳатни беркитади. Бундай тўқимага **каллус** дейилади (лотин. саллус-қақарив қадок). Озуқа муҳитида каллус тўқималари кенг ўстирилмоқда, бундан мақсад кўчат ва новда (пайванд учун) шунингдек қимматбаҳо метаболитлар олишдир.

Ўсимликнинг ўсиши меристем тўқимасига боғлиқ. Уларнинг барчасида поя ва илдизлари учидан ўсади, барглари базал ўсиш туфайли ўсади, бошоқли ўсимлик поясида оралик ўсиш кўп учрайди. Замбуруғлар учун чўкқили ўсиш хосдир. Умумий кўринишда бу жараён қуйидагича кечади. Замбуруғнинг ёш ипининг бутун узунлигида уч зонага ажратиш мумкин:
л. Апикал, лл. субапикал ва ллл. вакуолланган дистал зоналар



65- расм. Ёш ўсиб келаётган гиф

Formatted: Schriftart: Fett

Formatted: Schriftart: Fett

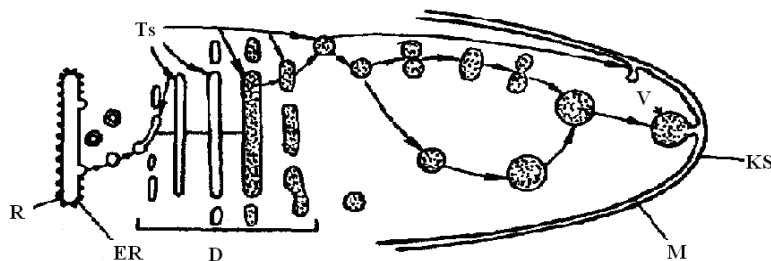
Formatted: Schriftart: Fett

Апикал зонада кўп миқдорда везикуллар –пуфакчалар, субапикал зонада – ядро, рибосома, митохондрия, эндоплазматик ретикулум, микротанача, микротубули ва бошқалар йиқилади. Субапикал зона вакуоллаш зонасига ўтади (дистал зона) у қанча чўққидан узоқда жойлашса шунча аниқ намоён бўлади. Унда шунингдек липидлар миқдори ортиб боради (65–расм).

Субапикал зонада пайдо бўлган ва чўққига тапалашиб кетган апикал везикуллар хужайра деворларининг синтезида иштирок этади. У ерда таркибидаги моддаларни секреция қилади (ажратади) ёки мембрана билан қўшилади. Шунингдек улар таркибида экзоферментлар бўлиши мумкин, экзоферментлар гиф ичида экструзия қилиш (лотин.эктрусио-итариш) хоссасига эга. 70–расимдан кўриниб турибдики везикула, эндоплазматик ретикулумдан юзага келади, бирлашади ва диктосоманинг ички қисми систернани ҳосил қилади. Систерна ва мембрана ичидагилар кейинчалик трансформацияланади, диктосоманинг ташқи қисмига силжиш натижасида янги систерн ҳосил бўлиши давом этади. Бу ерда систерналар пуфакчаларга сўнгра секретор везикулга айланади, улар эса гиф чўққисига силжийди.

Баъзи везикуллар катталашади, бошқалари ўзаро қўшилади ва шу тариқа катта секретор везикуллар пайдо бўлади. Алоҳида везикуллар хужайра мембранасига боради ва мембранага қуйилади (бирлашади).

Мембранага бирлашган везикуллар гифнинг апикал қисми периплазматик зонага таркибидагиларни бўшатади, бу ерда хужайра деворлари синтезланади ва микрофибрил скелетининг мувозанатлашган лизизи рўй беради.



66-расм. Апикалли везикулни субапикал зонадан гифни юқорисига силжишини схемаси

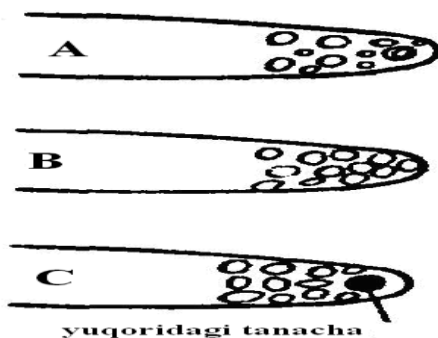
КС-хужайра девори; М-хужайра мембранаси; В-Везикуллар;
Тс-цистерна; Д-диктмосомалар; Р-рибосомалар;
ЭР-эндоплазматик ретикулум.

Юқори замбуруғларнинг апикал қисмидаги мецилиал ипларда чўққи тана мавжуд у шар шаклида (66-расм). Гифнинг ўсиши тўхташи билан у (чўққи тана) ёқолади. Тананинг юқорида жойлашиши гифнинг фазодаги ўсишида ёналтирувчи вектор бўлиб хизмат қилади. Масалан, унинг эксцентрик жойлашиши чўққи бурилиш тарафини кўрсатади.

Барча замбуруғлар гифининг апикал қисми хисобига ўсади, (акропетал ёки базифугал ўсиш грек.асрос-энг баланд чўққи учи, пэталон-барг, басисос-асос, фугас-хайдовчи).Хужайра деворларининг қалинлашини чўққи атрофида ҳам кўриш мумкин, баъзида эса дистал қисмларда Аурэобасидиум пуллуланс геммини хосил бўлишида намоён бўлади. Шунга қарамай агар мицеллий бўйича ноорганик ўсиш потенциали мумкин бўлса, у холда энига ўсиши чегараланган(67-расм).

Ўсимликнинг чўққили ўсиши замбуруғ ипларининг чўққили ўсиши ўртасида морфологик ўхшашликлар бор. Лекин ўсимикларда бу жараён аниқ ифодаланади, яъни тез ва сёкин ўсиш жараёнларни алмашиниши ўсимлик бутун ёки қайсидир қисмининг тинч холатига (мева, уруғ) ўтиши билан характерланади. Ўсиш ритмининг келиб чиқиши эндоген ва экзоген бўлади.

Лекин таъсир этувчи ташки факторлар бир хил бўлиши мумкин, масалан, нур ва харорат. Баъзи замбуруғлар нурланишини қоронғи билан алмаштириб турилса ўсиш зоналари пайдо бўлади.



67-расм. Сомицетларнинг апикал қисмини схематик тузулиши
А- сомицетларда, Б- зигомицетларда, В-юқори замбуруғларда.

Шуни айтиш мумкинки, бир хил кўзғатишли замбуруғларнинг таъсири турлича. Бунга асосланиб замбуруғлар шартли равишда уч асосий гуруҳга бўлинади;

1. Замбуруғларга нур ва харорат таъсир қилмайди, уларнинг ўсиш зонаси эндоген ритмга хос. Бу гуруҳга Ассочута чрйсантхэми, баъзи мутантлар Ассоболус иммэрсэс, Пэсталотиа аннулата ва Подоспора ансэринэ киради.
- 2.Замбуруғлар ўсиш зонаси энзоген ритмига хос, физикавий кўзғатишга таъсирчан, бу гуруҳга Алтэрнариа тэнуис ва Тришалэрма виридэ – улар фотоцикга, Аспэрги Мус очнасэус ва А.нигэр-фото ва термоциклга таъсирчанг.
- 3.Бу гуруҳга шундай замбуруғлар кирадики, уларга кучсиз физикавий таъсир қилганда экзоген ритм бўйича ўсиш содир бўлади, кучли

физик таъсир натижасида эндоген ритм содир бўлади. Кейинчалик маълум вақтдан сўнг стимул тўхтагач ўсиш яна давом этади.

Эндоген ритмни бинафша ёруғлик таъсирида юзага келади, у Сслэротиниа фрустигена С.лаха ва Лэптэспхэриа мичоти ларда 24 соат давом этади. С.фрустисола бир маротаба йэтарли даражада оқ нур ёки тўлқин узунлиги 500 мкмда кам бўлмаган нур билан, сўнгра қоронғи жойга қолдирилган ёки жуда кучсиз нурланиши уч кун давомида суткали ритмни бажаради. Фусариум диссолорсулфурэум, Тричотэсиум росэум Вэртисиллинуи латэритиум (экзоген ритмлар) ни зона ўсишини индуцирлаш учун кунда 1000-3000 лк интенсивликда нурланиши бир неча дақиқа давомида йэтарли хисобланади.

Тсиркад ритм (лотин.сирсус-айлана) кун ва туннинг алмашилиб келишига боғлиқ, гохида куннинг узунлигига боғлиқ (фотопериодизм). Улар барча эукариотик организмларнинг ички механизми орқали назорат қилинади, унга физиологик ёки биологик соатлар дейилади.

Ўсиш ритмларини бошқарувида фитогормонларнинг ахамияти катта. Буларга ауксинлар, гиббереллинлар ва кининлар (цитокининлар) киради.

Ауксинлардан (грек. аухо-катталаштираман, ўстираман) кенг тарқалгани гетероауксин-ИУК (3-индолилсирка кислотаси), гиббереллинлардан (продуцент Гиббэрэлла фужикурои)-гибберия кислота (ГАЗ), кининлардан (грек.кинэо-харакат), кинетин (6-фурфурилметиламинопурин) бўлади.

Замбуруғларда устки тўқима бор. (склероцияда, безидиомицетлар мева танасини юқори қисмида). Улар плантехималаридан пайдо бўлади. Ўсимликларда устки тўқималарнинг келиб чиқиши меристемадир. Уларга барглларда ва ёш навдаларда, кутикула ва мум билан қопланган эпидерма, трихомали (грек.тричос-тун) ва эмергенцлар (инг.емэр-гэнсй-четки) киради.

Ўсимликларда таянч тўқиманинг икки асосий тури маълум: колленхима (бурчаксимон, пластинкасимон, ғовак) ва склеренхима (грек.колла-клей, шлэрос-қаттик, энчима-қўйилган, бу ерда-тўқима). Склеренхимага толалар киради. (ёғочли дарахт ва ўсимликларнинг узун толали пўстлоғи) ва склереидлар – механик тўқиманинг структур элементиدير. Ишлаб чиқаришда луботолали ўсимликлар ишлатилади. (зиғирпоя, аркувон дарахти, каноп, кўкнори ўсимлиги ва бошқалар).

Замбуруғларда дифференцирланган структура кўринишидаги ўтказувчи тўқима бўлмайди. Хужайралар ўртасида мицелиал ипларнинг ўзи сувнинг келишини ва ўтишини таъминлайди. Шунингдек юқори замбуруғлар абсолют герметикликга эга эмас, қуйиларда эса герметиклик бўлмайди ёки гиф ёъналиши бўйича кам учрайди.

Ўсимликларда алохида махсус ихтисослашган тўқималар бор – ксилема, флоэма (грек. Ксилон-дарахт, флоос-пўстлоқ) ва ўтказувчан ўрамлар (даста). Ксилема трахидлардан тузилган – учи торайган жонсизланган хужайралардан, томирлардан тузилган юпка деворли паремхим хужайралардан иборат бўлган найлар ва юраксимон нурлардан иборат.

Флоэмага тирик элаксимон элементлар киради, паренхим хужайраларда, юрак шаклдаги нурлар ва механик элементлар бор. Пояларда ксилемалардан ташқари флоэма жойлашади.

Ксилема (илдиздан барггача) тузларнинг сувли эритмасидан иборат харакатланувчи оқим билан таъминлайди, флоэма – фотосинтез махсулотларига пастга тушувчи оқимни таъминлайди.

Замбуруғларда махсус морфологик структура кўринишдаги ажратувчи тўқималар бўлмайди, аммо хужайравий мембранага экзоцитоз хос ва шу функция туфайли у ажратувчи тўқиманинг фаолитини тўхтатади. Замбуруғлар хужайрасидан кўпгина бирламчи ва иккиламчи метаболитлар ажралади. (ферменциз ва ферментли оқсиллар, пигментлар ва бошқа моддалар). Баъзи базидиомицетилларда структуралар сут ажратувчиларга ўхшаш бўлади. Бундай холларда гифлар ва улар атрофидаги хужайраларда элаксимон пластинка пайдо бўлади ва гифлар худди шира ажратувчи найларга трубаларга ўхшаш бўлиб қолади.

Ўсимликларнинг ички ва ташқи секрециялари фарқланади. Ташқи секрецияга гидатодлар мансуб (грек. одос-ёъл), улар сув ва тузларни эритмаларни ажратади. Буларга трихомалар мансуб (безлар, нектар ажратувчи безлар, бошли туклар). Ички секрецияга қуйидаги хужайралар киради. Идиобластлар (грек. идиос-ўзига хос, бластос-навда) бошқа тўқималар орасида жойлашган суюқ ва қуюқ секретларни йиғади, иккиламчи метаболизм махсулотига хос (калций оксалат, полифенолли бирикмалар, танинлар, терпеноидлар, шилимшиқлар), смолали ёғлар, эфир ёғли каналлар, шира ажратувчилар барча ўсимликларда учрайди. Базис (пойдевор) тўқима кам ихтисослашган бўлимга киради у ўсимликларнинг апикал меристем хужайрасидан пайдо бўлади, замбуруғларда оз бўлса ҳам мос органоидлари бор (тўқималар эмас), улар базис тўқималар билан функцияси томонидан бир-бирига ўхшайдиган захирада озуқа моддалари бор бўлган вакуоладир.

Базис тўқимага кирувчи ўсимликлар ассимиляцияон (хлоренхима), хаво олиб юрувчи (аэренхима) ва захирага олувчи тўқималарга ажралади. Захирага олувчи тўқимага оқсиллар, сув (кактусларда) бўлади, ёғлар, пигментлар ва углеводлар ва бошқалар йиғилади.

Хайвон организмларининг тўқималари тўрт гуруҳга бўлинади:

1. Эпителиал (унинг асосий вазифаси чегараловчи) толали структурали;
2. субстанцияси аморф кўринишида кучли ривожланган хужайралараро моддали ички мухит тўқималари (қон, ғовакли ва зич бириктирувчи тўқима);
3. мускул тўқималар; 4. нерв тўқима.

Инсон ва хайвон органлари турли тўқималардан (аорта, овқат хазм қилувчи орган) ёки деярли бутун бир тўқимадан (суяк, жигар, пай ва бошқ) иборат.

Бутун организм юқори тартибли системадир. Инсонда 12 та орган системаси билан фарқ қилади:

- | | |
|--------------------|--------------|
| 1.қопловчи қатлам; | 7.ажратувчи; |
| 2.таянч (скелет); | 8.нерв; |

- 3.мускул; 9.сенсор (лот.сэНСориус-сезувчи);
 4.кон; 10.эндокрин (грек. эндон-ички, крино ажратаман);
 5.нафас 11.иммун
 6.овқат хазм қилиш; 12.репродуктив (кўпайиш).

Хозирги вақтда хужайралар ва тўқималар ин витрода осон ўстирилади (асосан эмбрионал), тегишли мухитда биотехнологияда катта ахамиятга эга бўлди.

Кимёвий таркиб жихатидан сут эмизувчилар хужайраси фарқланади, чунки уларнинг органеллалари тўплами йэтарли даражада мураккаб, ундан ташқари органлар системасига ва тегишли органларга хайвон ва бошқа мос холдаги хужайралар ихтисослашган. Шунга қарамай, уларнинг таркиби куйидагича (20–жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, хужайранинг энг кам оғирлик миқдори ДНК га тўғри келади ва наслий белгиларни сақловчи компонентга ҳам тўғри келади. Бу қонуният барча тирик организмлар учун хос.

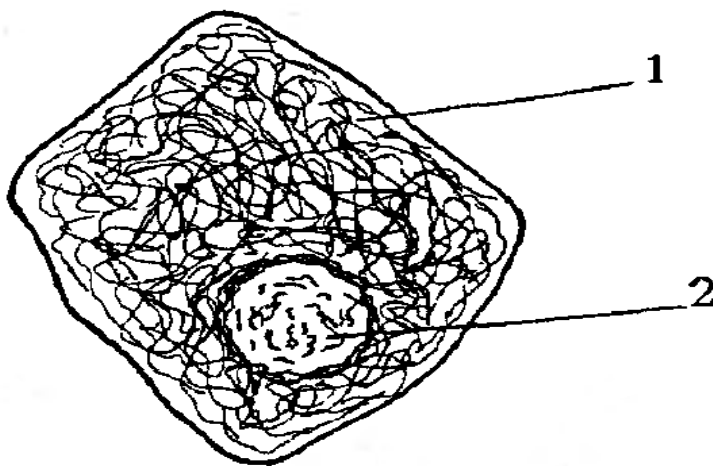
Баъзи бир эркин яшовчи эукариот хужайралар хемотаксисга мойил (грек. тахис-жойлашиш), яъни кимёвий сигналга ҳаракатланиши кузатилади. Бу ёълидан яллиғланиш марказига борувчи қон лейкоцитларига хос қон оқими. Хемотапсис прокариотлар учун ҳам хос.

1984 йилга келиб кўпчилик ситологлар фикрича турли биологик ўзгаришларда эукариот хужайрасидаги ситоскелет муҳим ахамиятга эга эканлиги тасдиқланди. Ситоскелет бу ички плазматик ушлаб турувчи система, қалин толаларни (филаментларни) ва бўш найларни (тубул, микронайчалар)–“балка ва арконлар” – К.Де.Дюву (1987) бўйича иммунофлуоресцентция усулини қўллаб, ҳар хил ситоскелетга эга хужайраларни узатиш мумкин. (68- расм).

20 -жадвал

Сут эмизувчилар хужайрасининг ўртача кимёвий таркиби

Компонэнт	Таркиби		%
	пикограмм	(10 ⁻¹² г/хужайра)	
Сув	2700-4800	2900	82,9
Оқсил	200-300	250	10-20
Углэвод	40-200	150	1-5
Липидлар	100-200	120	1-2
РНК	20-40	25	0,7
ДНК	8-17	10	0,3



68- расм. Сут эмизувчи хайвонлар хужайраси (иммунофунофлуоресцент тахлили асосида). 1–цитоскелет; 2–ядро.

1987 йилда “цитоскелетология” термини таклиф қилинди. (В.Бирхмайер) хужайралар ҳақидаги илмлар бўлимига киради. 70 йиллар бошида янги оқсил олинмоқда, улар ситоскелет билан боғланган, масалан, глиал элемент оқсилли, улар глиал нерв хужайраларда оралиқ филоментни ҳосил қилади, спектрин – юқори молекуляр бирикмалар унда АТФаза фаоллиги мавжуд, винкулин-оқсил, фибробластларнинг фокал контактида иштирок этади, фаол филаментларнинг дастасини ҳосил қилади.

Кўп йиллар аввал актин, миозин, (α -актинин, тубулин, тропонин, тропиозинлар топилган. Ҳаттоки даражада уларнинг структур-функционал хоссаи ўрганилган, бу 21– жадвалда миозин, актин ва тубулин мисолида кўрсатилган.

21-жадвал

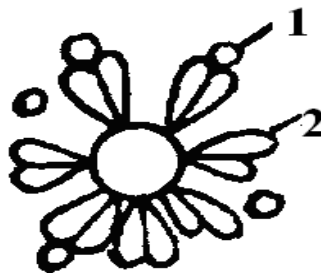
Хайвон хужайрасидаги ситоскелет элементидаги актин, миозин ва тубулинларни баъзи хоссалари

Сито скелет элэментлари	Характеристикаси					
	Структуравий			Функционал		
	Диаметр нм	оқсил	ММ оқсил кДа	агент		Боғ
диссоциация				ассоциация		
Микрофиламентлар	2	миозин	450		АТФ	Актин ва Ca^{++} билан, қисқариш актида
Микротубула	6-7	актин	42-46	ситохолазинВ	АТФ	ситокинэз, пин о ва эндоситоз
Микрофила	25-28	тубу	120	винблас	ГТФ	Митотис ўқ,

лар		лин		тин, винхрис тин, колхити н		цэнтриола, рэсничка, экзоситоз, хивгин билан
-----	--	-----	--	---	--	--

Кўш молэкула кўринишдаги миозин стэржэнни шаклантиради, табиатда унга о'хшаш молэкулаларнинг (“цитомушак”) узунлик бўйича тэнги ёьк.

69-расмда актомиозиннинг кўндаланг кэсими бэрилган бўлиб, унда ёьгон миозинли филамэнти бўлган олтита ингичка актинли филамэнтлар ассосиасияси кўрсатилган. Диамэтрига боғлиқ холда филамэнтлар ингичка (6-7 нм гача), оралик (8-10 нм) ва ёьгон (15—20 нм гача) турларга бўлинади.

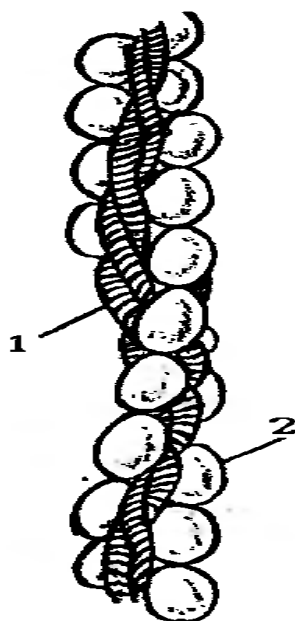


69--расм Актомиозин дастанинг кўндаланг кэсимдаги схэмастик тузулиши
1-актин; 2-миозин;

Кўпинча ингичка дасталар шаклида гурухланувчи актинли филамэнтлар (цитосуяклар) глобуляр оксиллардан тузилган. Бундай глобулалар кутб ва ён боғланиш сайтларига эга бўлиб, булар туфайли улар кўш занжир кўринишида узунлик бўйича ўсади. Актиннинг икки спиралли фэламэнти новчасида миозин билан тропомиозин (грэжча тропос — буриш, мис — мушак сўзларидан) ташкил этувчи тропониннинг ингичка оксил толаси жойлашади (70-расм).

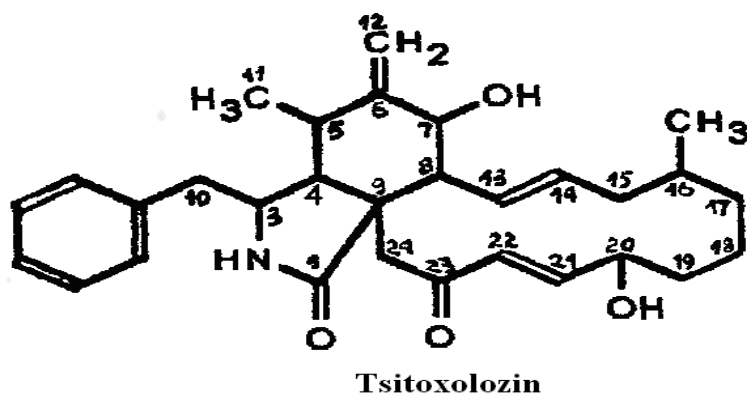
Актин микротолалари цитохалазин Б ёки фомин билан ўзаро таьсирлашишида ажралиши мумкин [7, 20 — дигидрокси-16-мэтилфэнил-24-окси-[14]-цитохалаза-6{12}, 13{Э}-триэн, 1,23-дион]. Тситохалазин Б Хэлмитхосрориум дэматиодэум ва Рхома эхигуа замбуруғлари билан хосил қилинади. Тситохалазинлар каторида А, Б, С, Р, Д, Э, Ф, Г, Х, Ж маьлум, уларга хэто-глобозинлар яқин хисобланади.

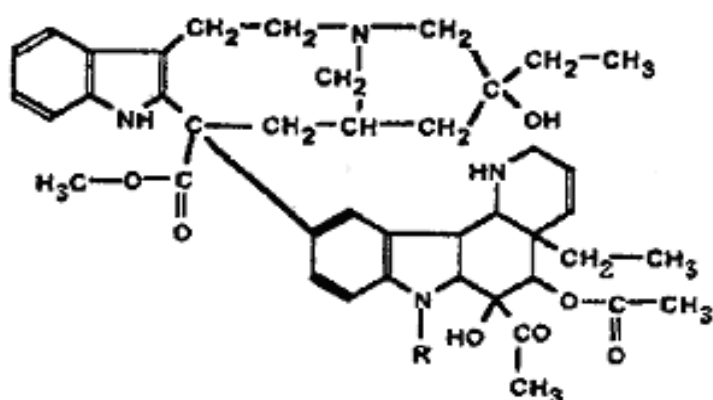
Тситохалазинларнинг 1964 йилда кашф этилишидан бэри ўтган вақт ичида улар билан жуда кўп миқдорда ишлар бажарилди. Уларнинг хаммаси цитоплазмада (бирок ядрога эмас) юз бэрадиган жараёнларни тўхтатади, нисбатан катта дозаларда (миқдорларда) эса хужайралар энуклюоациясини юзага кэлтиради, бу эса сут эмизувчиларнинг хужайраларида айникса яққол намоён бўлади.



70- расм. 2-Актинли филамэнт; 1- атрофида жойлашадиган тропомизин

Тубулин микронайчалар таркибига киради, диаметри 4 нм тартибидаги глобуляр оксил, аммо унинг протофиламэнтлари (грэкча протос — биринчи, лотинча филамэнтум — ин (тола) сўзларидан) цилиндрик тузилмага эга, 13 йиғишдан сўнг унинг ташки диаметри 28 нм (ички диаметри —14 нм) ни ташкил этади.





Vinblastin $R = CH_3$

Vinkristin $R = CHO$

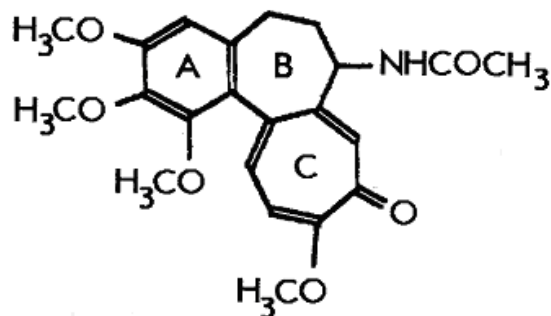
Тубулин индол қатор (винбластин, винкрестин) алколоидлари ва трополон (колхисинда С халқа) таъсирида диссоциацияланади.

Тситоскэлэт оксиллари ўз вазибаларига кўра гэл ташкил этувчи, фрагментловчи, кэпловчи (инглизча *cap* —шапка, кэпка, қалпоқ сўзларидан), адгэзияловчи, ростловчи ва бошқаларга бўлиниши мумкин.

Тситоскэлэтда аниқланган оксилларнинг янги гурухларини ҳисобга олган ҳолда номининг ўзи жуда ҳам адекват бўлмаслиги равшан бўлади, цитоскэлэт — бу кўзгалмас синч (каркас), ёки скэлэт эмас, балки бир қатор ҳолларда фрагментланишга ва ўзи йиғилишга қодир бўлган мураккаб ва эгилювчан (кулай) системадир. Шунга қарамай, цитоскэлэтнинг маълум элэмэнтлари хужайранинг статик остовини яратиш учун ҳақиқатан ҳам хизмат қилади (эпитэлий хужайраларидаги кэротин, мушак хужайраларидаги дэсмин ва х.к.).

Хужайранинг молэкуляр компонентлари ажралганда ва уларнинг қайд қилинган хужайраларда топологик боғланишларида шундай фактни ҳисобга олиш зарурки, цитоскэлэт тузилмалар жонли хужайраларда доимий йиғилиш ва ажралиш жараёнларида бўлади.

Ҳозирги вақтда оралиқ филиамэнтларни ташкил қилувчи оксилларнинг бэшта асосий синфлари ажратилади: мэээнхима тўқимасида (кўпчилик кўп хужайрайли хайвонлар ва инсоннинг энди пайдо бўлаётган бирлаштирувчи тўқимаси) вимэнтинли (ММ=55кДа), гли хужайраларида (бош ва орқа миядаги хужайралар) глиалли (ММ=53кДа), мушакларда дэсминли (ММ=52кДа), нэйронларда нэйронли (ММ=70 кДа, 150 кДа ва 200 кДа бўлган учта оксил), кэратинли (ММ=44 кДа дан 70 кДа гача бўлган тахминан 20 та оксил). Уларнинг вазифаси охиригача аниқланмаган. Улар митозга, хужайраларнинг мэъёрида ривожланишига тэгишли дэб тахмин қилинади ва шишли патологияда мэханик скэлэт вазифасини бажаради.



Kolxitsin

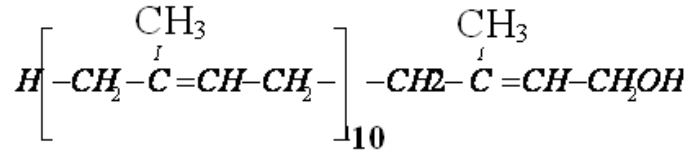
Уларнинг функцияси охиргача ўрганилмаган. Лекин улар митоз хоссасига эга ва ўсимта потологиясида хужайралар нормада ўсишини, механик скелет вазифасини бажариши хақида тахминлар мавжуд.

Тситоскелет элементлари хужайра мембранасини мустахкамлаб туради. Органеллалар мембраналари билан таъсирлашади, ҳамда сигналларни трансмембранали узатишида муҳим рол ўйнайди. Трансмембранали сигнал узатишда мумбрана гликопротеинлари ёки гликопротеин рецепторлар қатнашади. Улар рецепторларни систематик ҳаракатини индукция қилади. Бу маълумотлар нафақат биологик ходисалар тўғрисида чуқурроқ маълумот беришда, балки амалий жихатдан, масалан, лектин (лотин.лэгэрэ-ўқимок, танламоқ)ларни ишлатиш назаридан катта қизиқиш уйғотади.

Тситоскелет структуралари тўғридан тўғри, масалан, микротрубкалар митохондриялар билан, синаптик пуфакчалар билан (нейронларни бир-бири билан боғланиши), ядро; оралиқ филаментлар ядро билан боғланган бўлади. Эукариот хужайралар бир-биридан улар ажратиб олинган тўқима (орган) билан фарқ қилади. Масалан, сутэмизувчилар тери хужайраси, эпидермис хужайраси, жигар хужайрасидан. Пэнисиллиум туридаги замбуруғнинг тухум хужайраси экзоспора вегетатив мицелийдан фарқ қилади.

Эукариот хужайралари прокариот хужайраларига нисбатан диаметри ва ҳажми бўйича йириқроқ, кўпроқ дифференциалланган. Бу ситоскелетни тузулишига боғлиқдир. Хужайранинг ичи ҳар хил мембраналар билан бўлимлар ва компартментларга (инглиз. Сомпартмэнт-ажратилган жой, кўпе, бўлма) ажратилган. Шунинг учун компартментализация эукариотларга хос ва прокариотларнинг кўпчилигига хос бўлмайди. Эукариотларни хужайра мембранаси тузулиши ва таркиби бўйича прокариот хужайра мембранасига ўхшаш, унинг таркибида оксиллар (бундан ташқари 5-нуклеотидаза ферменти), липидлар ва углеводлар қиради. Лекин айтиб ўтилган эукариот ва прокариот полимерларининг компонентлари таркиби бир-бирига ўхшаш эмас. Масалан, прокариот мембранасининг асосий гликозиллипиди бактопренол (ундекапренол) ҳисобланади. Бу С55-бириқма бўлиб, таркибида 9та цис иккиламчи боғлар ва 2та транс-иккиламчи боғлар изопреноид липидларни сақлайди.

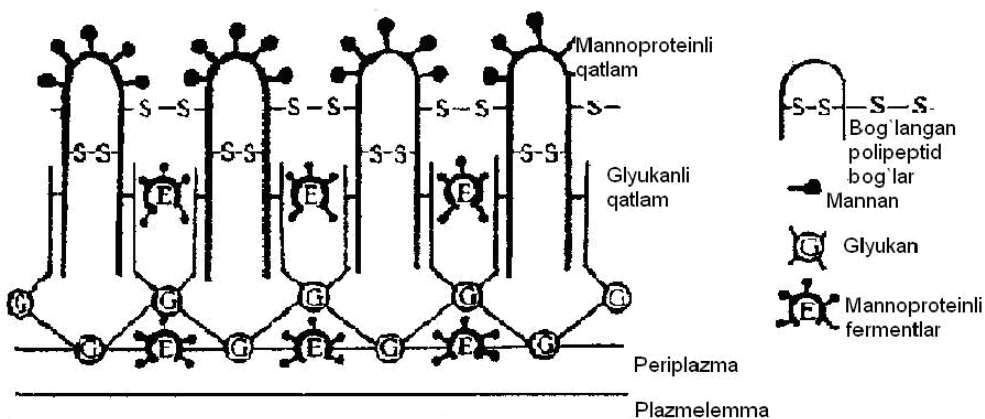
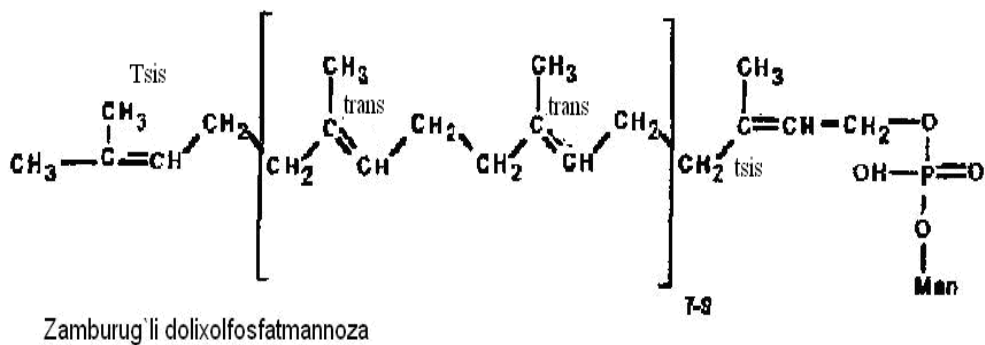
Бактопренол граммманфий бактерияларда О-антигенлар биосинтезида, ҳамда граммусбат бактерияларнинг хужайра деворидаги пептидогликанлар синтезида катнашади.



Бактопренол

Ачитқиларнинг хужайра деворида бактопренолга ўхшаш долихол моддаси мавжуд. Долихол гликолипид бўлиши билан биргаликда, ноорганик полифосфатлар ва хужайра деворининг маннопротеинлари синтезида катнашувчи изопрен спирт ҳамдир. Унинг таркибида 16-20 пренил қолдиқ ва ўртача 80-100 углерод атоми мавжуд.

Изопреноидларнинг гидрофоб қисми мембранага маҳкамланади, гидрофил қисми эса цитоплазмага ўтади.

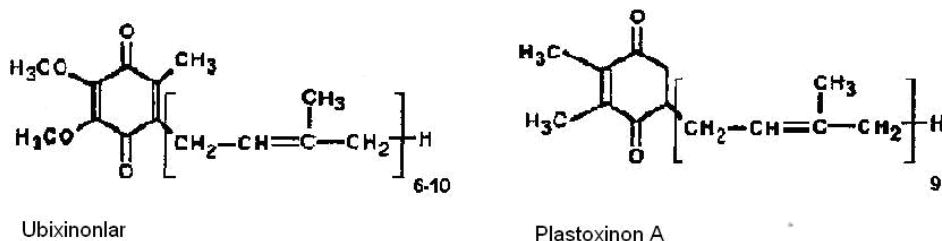
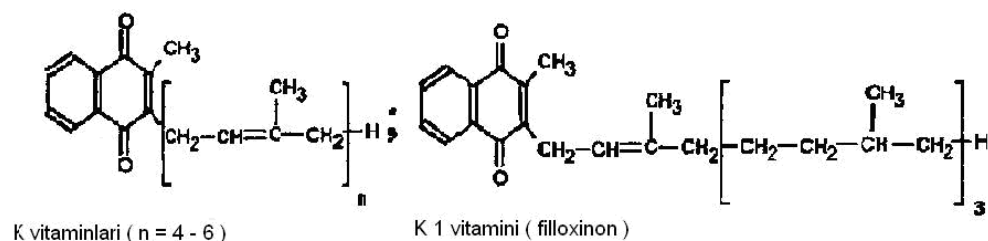


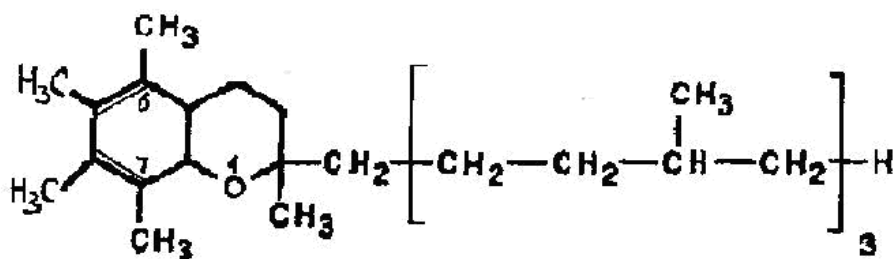
71-расм. Сасчаромйсэс сэрэвиснас хужайра деворининг тузулиши (В.Фарқаш 1985)

Долихоллар яна сут эмизувчилар хужайраларида маннозим ва (-ацетилглюкозил бирикмаларни гликопротеинларга ташишда катнашадилар.

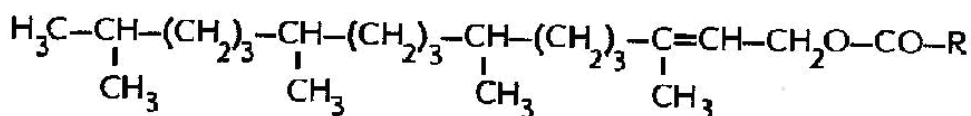
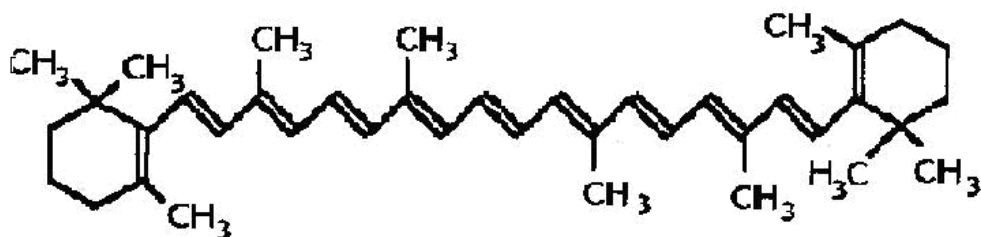
Полипреноидларни ташкил этувчиларига БАВ лар яъни витамин К, убихинонлар, пластохинонлар, токофероллар (витамин Е), каротиноидлар, пигментларни мембрананинг липид қатламига тўпловчи хлорофиллинг фитол грухи киради.

Хужайра ичидаги кўпчилик моддалар ёки мембрананинг таркибий қисми у билан бевосита боғланган бўлади. Голджи комплекси (замбуруғ ва ўсимликларда диктиосома) ва эндоплазматик ретикулусга (ЭПР) эндосома ва липосомэ, перосисома ва бошқалар киради. Истисно сифатида митохондриялар бўлади (71 – расм).





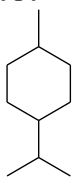
- tokoferol (- tokoferolda 7 pozitsiyada N mavjud)
- (- tokoferolda 5 pozitsiyada N mavjud)
- (- tokoferolda 5 va 7 pozitsiyalarda N mavjud)



Fitol qoldig'i

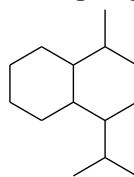
R - Mg - porfirinli skelet

Эфир мойлари таркибига тузулиши изопренга (C₅X₂) ўхшаш терпеноидлар гурухига кирувчи монотерпен ва сесквитерпенлар киради.



н-ментан (ментол, синеол, лимонен ва б.)

типидаги монотерпенларнинг
сесквитерпенларнинг
скелет формуласи.

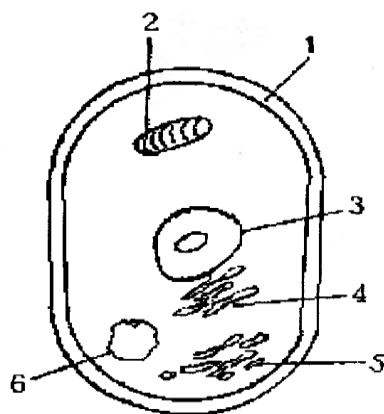


Кадинана (кадифен, ва бошқ)

типидаги
скелет формуласи

Голджи комплекси донатор ЭПТ билан боғланган параллелл найсимон структуралардан иборат. (Донадор ЭПТ унинг ташқи юзасидаги

рибосомалар билан боғланишни таъминлайди). Голджи комплекси мемранасида специфик гликозил трансферазалар бўлади. Бу ферментлар УДФ ёки СМФ таркибидаги моносахаридларни гликозид боғлар орқали оксилларга бирикиши реакциясида катализатор вазифасида келади, бунда серин ёки треониннинг гидроксил гурухи ва аспарагиннинг амид гурухи камроқ иштирок этади. Синтезланган гликопротеин экзоцитоз ёрдамида хужайрадан ажратилиши ёки вақтинчалик Голджи комплекси вакулаларида гранулалар қўринишида сақланиши ва нихоят хужайранинг бошқа жойларига кўчирилиши мумкин. Ўсимлик ва замбуруғ хужайраларида Голджи комплексининг аналоги ҳисобланган диктиосома кам сонли периферия томон дисксимон кенгайган параллел пластинкалар ва кўплаб турли ўлчамдаги пуфаклардан иборат. Диктиосомалар хужайра девори қисмлари синтези ва секрециясида иштирок этиши эхтимолдан холи эмас.



72 - расм . Эукариотик хужайрада асосий мембрана тузулиши
 1–хужайравий мэмбранэ; 2–митохондрия мэмбранаси;
 3–ядровий мэмбранэ; 4–эндоплазматик рэтикулум
 мэмбранаси; 5–диктиосом мэмбранаси; 6–вакуоли
 мэмбранаси;

ЭПТ – ядро яқинида жойлашган мембранали тузилма. Мембранадан ташқарига секреция қилинувчи оксиллар, донатор ЭПТ хужайра ичида ишлатилувчи оксиллар эркин рибосомаларда синтезланади. Рибосомалар билан боғланмаган ЭПТ силлик ЭПТ дейилади. Унда оксидазалар хужайра учун захарли бўлган моддаларни детоксацияловчи ва бошқа ферментлар жойлашади. Силлик ЭПТ иштирокида липидлар синтези ва гликаненнинг гидролитик парчаланиши (гилкогенолиз) юз беради.

Эндосома – эндоцитоз натижасида юзага келган мембранали визикула (лотин.вэсисула-пуфакча). Эндоцитоз терминини қаттиқ бўлакни ютилиши механизми деб тушинилади.

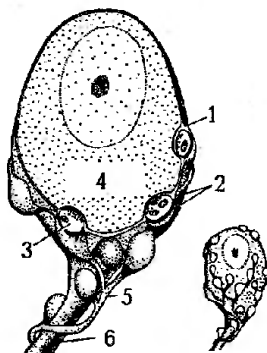
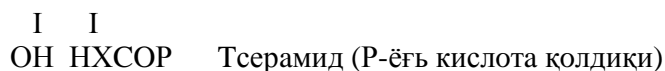
Фагацитозга (пнагос-ейиш)-вирусларни виropексис. (пэхис-мустахкамланиш), коллодопексис ва суюқлик томчи пиноцитозлар (грек. пино-ичаман) киради. Кўпинча сувда эримайдиган моддаларнинг (микроблар, эритроцитлар ва диаметри 1 мкм дан катта бўлақлар) ютилиб фагосомалар хосил қилиниши фагоцитоз дейилади. Шунингдек ўлчами 180 дан 150000 Да ва ундан катта сувда эрувчан моддалар (антителалар, гормонлар, маннит, пептидлар, сахароза, ферментлар) пиносомга хосил қилиб ўзлаштирилиши пиноцитоз дейилади. Пиноцитоз носелектив – (қачонки суюқлик фазали модда ютилаётган мембрана билан боғланмайди) ва селектив (носпецифик, адсорбцион ва рецептор оралик) бўлади, бунда модда мембрананинг фаол майдонлари билан қисман боғланади.

Юқоридагилардан келиб чиқиб эндисомга эндоцитозда хужайра мембранасининг инвагинацияси (ёйтиши) туфайли келиб чиқади. Мембрана суюқлик мозаик тузулишидан келиб чиқиб оқувчанлик хусусиятига эга. Кўпчилик ҳолларда эндоцитоз мембрананинг юзасида жойлашган рецепторлар билан боғлиқ бўлади (мембрананинг ПЭТЧлари инг. патч-лахтақ, бўлақ,

пўст). Содда хайвонларда ва тубан умуртқалиларида эндоцитоз озикланишининг ягона механизми саналади. Хужайранинг юзасида кўп миқдорда рецепторлар жойлашиши мумкин. Масалан, битта нейтрофилда комплементнинг бешта комплемент фракцияси учун $2 \cdot 10^5$ та рецептор, Сандида албисахс комплементнинг С3 фракциясида $2,5 \cdot 3 \cdot 10^5$ молекулани боғлаши аниқланган. Гепатоцитлардаги рецепторлар структура тузулишига эга, улар гликопротеинлардаги галактозани ва Н-ацетил галактозамилни танувчи –Гал–Гал - НАс –рецепторлар, шунингдек ЖГГ-иммун комплекслардаги секретор компонентларини боғловчи ЖГА иммун комплекси, манноза 6 фосфат учун махсус рецепторлар ва хоказо.

Тирик организм рецепторлар интегро- ва экстеро- рецепторларга бўлинади. Улардан иккинчиси ташқи мухит сигналларини қабул қилади, яъни, эшитув, хидлов, таъм билиш, тактил (лотин.тастилс – сезиш) ва бошқалар. Биринчиси ички мухитда таъсирларни қабул қилади (гармонал, медиатор).

Асаб медиаторларига сезгир бўлган асаб толаларини ва хужайра мембранаси орасидаги майдонларни медиатор рецепторлари дейилади. Шунингдек гормонларга сезгир мембрана сайтлари гармонал рецепторлар дейилади. Баъзида “кимёвий рецепторлар” тушунчаси ҳам ишлатилади, булар дори ва токсик моддалар билан таъсирлашувчи биомолекулалардир. Масалан, Э. Соли 0157:Х7нинг вератоксини бир қатор хужайра рецепторлари билан таъсирлашади. Булар жумласига Хэла ва Вэро ҳам киради. Бошланишида унинг (суббирлиги хужайра юзасидаги махсус рецепторга интернализация (лотин. Интэрнус-ичкари) билан боғланади, сўнг фаол А суббирлиги суб хужайравий машинанинг специфик компонентлари туфайли хужайранинг фаолиятини тўхтатади. Юқорида кўрсатилган рецептор веротоксин 1, 2 ва Шиго токсини учун хос. У таркибида гликолипид глоботриозилцерамид сақлайди.

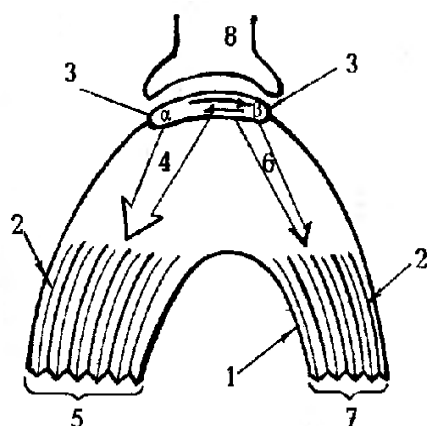


73-расм. Бақа юраги ганглийсининг нерв хужайрасини синаптик пилакчаси
 1–синаптик ёриқ; 2–мушак толаси; 3–синаптик пилакча;
 4–пост синаптик хужайра танаси; 5–прес синаптик аксон;
 6–паст синаптик аксон.

Сулфгидрил, карбонил, амин ва бошқа функционал гурухлар ҳам рецептор бўлиши мумкин. Аммо рецепторлар нафақат кимёвий гурухлар ёки лигандлар билан бириккан молекулалардан иборат ва ўзининг архитектоника (грек.арчитэстониқэ-қурилиш санъати) сига эга. Вегетатив нерв системесидаги асосий компонентлар тутушадиган жой – синапс, куйидаги қисмлардан иборат: (73–расм).

1. Синаптик бўшлиқ – медиатор тушадиган жой.
2. Паст синаптик мембрана – медиаторлар билан боғланувчи рецепторларга эга жой.
3. Энг кўп тарқалган медиаторлар – адреналин, норадреналин, ацетил холинлар.

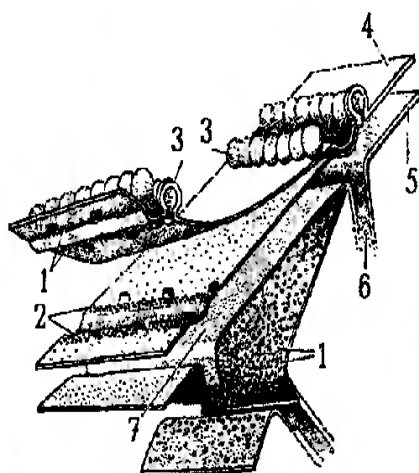
Шунинг учун адрено- ва холинорецепторлар хақида сўз юритилади (74-расм).



74- расм. Артерия деворидаги (α ва β) адренорецепторлар
 1–Артерия томири девори; 2–Миофибриллалар; 3–
 Адренорецепторлар;
 4–кўзғалиш; 5–кискариш; 6–Тормозланиш; 7–Бўшашиш.

Адренорецепторларнинг α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , ва γ турлари шунингдек асаб мушак синапсиларининг холинорецепторлари маълум.

Баъзи холинорецепторлар мускарин алколоидига юқори сезувчанликни намоён қилади. Шу сабабли уларни м-холинорецепторлар дейилади. Бошқаларини никотин алколоидига сезгирларини н-холинорецепторлар дейилади. Тажрибада электрскатини электр органининг н-холинорецептори шакли розетка кўринишида бўлади. 1 шакли енгил (95кДа)-мономер оғир (135кДа)-димер (75-расм).

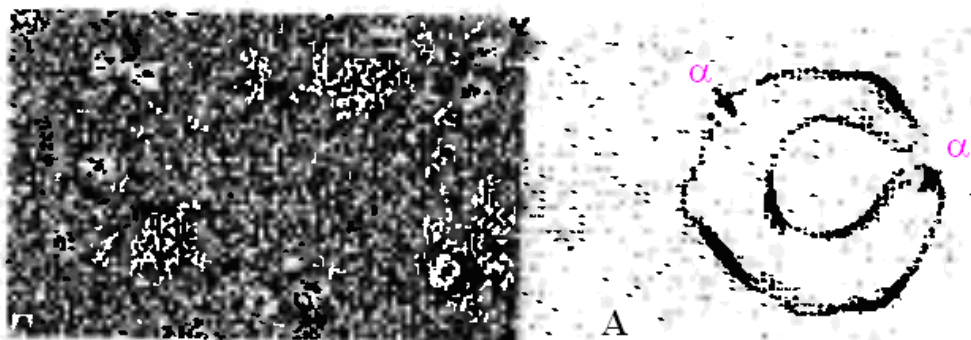


75– расм. Скуфлер ва Д Николс бўйича асаб мушак синапсининг
 схематик тузулиши
 1–қисмчалар; 2–чукурчалар; 3–синоптик пуфакчалар;

4–премногтик мембрана; 5–паст синогтин мембрана;
6–паст синаптик мембрана бурamalари; 7–синаптик
бўшлик.

α Бунгаротоксин рецепторлари учун специфик лигандлар вазифасини Арг-37 ва Асп 31 аминокислоталари бажаради. α -Бунгаротоксин Бунгарус аспид илонида хосил бўлади. У дисульфид кўприкчалари орқали мустахкамланган 71-74 аминокислоталар қолдикидан иборат полипид кўринишида бўлади. 76-расмдан келиб чиқиб н-холинорецептордаги ион канали рецептор томонидан тузилади. Аёлларда кўкрак беги раки хасталигида, рак хужайраларида эстроген рецепторлари бўлмаса эндокрин препаратлари билан даволаш 10% холларда фойда беради. Агар юкоридаги айтилган рецептор мавжуд бўлса, бундай холларда даволаниш кўрсаткичи 50-65% ва ундан юкори бўлиши мумкин.

Оғир миастения (Мястэниа гравис) ва диабетнинг инсулинга боғлиқмас тури каби касалликларнинг келиб чиқишига рецепторларнинг хусусий антителолар билан блокваниши ва уларнинг ичкарига транспозицияси (силжиши) ва бузулиши сабаб бўлади.



76- расм. Электрекатининг н-холиннорецептори, фосфолипид пуфакчаси таркибидаги рецептор молекуласи (А) иккита қисми билан α -Бунгаротоксинга боғланган оецептор розеткаси

Лиганд молекуласи билан бириккан рецепторлар гурухланиб мембранада тирқишсимон чуқурчалар хосил қилади. Чуқурликларининг диаметри 100 нм тэнг. Тузулишига кўра оғир (ММ=180кДа) ва енгил (ММ=35кДа) клатрин (лотин.сиатрум-тўрсимон тўсик) занжирларига бўлинади. Булар саватча шаклдаги протомерлар ассамблеясини тузиб тирқишсимон чуқурликларни қоплайди. Эндоцитоз вақтида клатрин хужайра қопкон мембранасининг бўлаги – ПЭТЧ ни ичкарига тортади. Бунда чуқурлик хужайра ичига тушади, унинг қирралари торайиб кичик ёриқ қолади, бу ёриқ кейинчалик ёқолиб мембрана силлиқ бўлиб қолади. Мембрана шу тарзда ПЭТЧ дан қутилади у хужайра ичидаги эркин харакатланувчи пуфакчага айланади. Жараёнга қараб (фагацитоз,

пиноцитоз) пуфакча “фагасома”, “пиносома”, “фагоцитар”, “пиноцитар” ёки “эндоцитар вакуол” эндосома деб аталади. Тирқишли пуфакчалар фаолияти оқибатида тирқишли пуфакчалар хосил бўлади. Булар ўз навбатида кларитин қобилини ёқотиб бошқа тирқишсиз пуфакчалар билан бирлашиб кетиши мумкин. Бундан ташқари улар эндосомалар ва лизосомалар билан тутшиб кетади. Қўшилиб кетиши цис ёки Транс механизми бўйича боради. Тсис механизм - цитоплазма билан бевосита алоқада бўлган мембрана юзаларининг қўшилиб кетишини ўз ичига олади. Транс механизми – мембраналарнинг ташқи юзаларини яқинлашувини ўз ичига олади. Тсис механизми бўйича экзоцитоз, ситоплазмадаги пуфакчаларнинг қўшилиб кетиши, бир пуфакчанинг бошқаси томондан ютилиши (аутофагия) куртакланиши, транс механизми бўйича мембрана пуфакчаларининг ўзлаштирилиши, пуфакчаларнинг бўлиниши “эндоцитоз” жараёнлари кечади.

Эндосомалар ўзлаштирилган моддаларнинг pH 7,0 дан паст шароитда бирламчи ишлов бериш, сўнг уларни лизосомаларга транспорт қилиш ёки тўғридан тўғри сақловчи жойларга (гранулаларни) транспортлаш вазифасини бажаради. Эндосомалар хужайра мембраналари билан қўшилиб кетиши мумкин. Бунда улар сақлаган моддалар хужайрадан чиқаради- (экзоцитоз) мембрана майдонлари (ПЭТЧлар) эндосома таркибий қисми билан қисман ажралиши ва қайтиши, баъзи холларда олдинги жойига (бу жараён регургитация франц.рэгигитатион-қўшилиш, отилиб чиқиш) бошқа холларда хужайранинг қарама-қарши томонига бу ерда мембрана билан қўшилиб модификацияланмаган материал ташқарига ажралади. Диацитоз (грек.диа-орқали, аро) экзоцитоз махсулотлари литик ферментлар, гормонлар ва бошқа моддалар хужайралараро бўшлиққа, қон ўзанига, махсус секретор ёлларга (масалан, сўлак, ошқозон ости беши) ажралади.

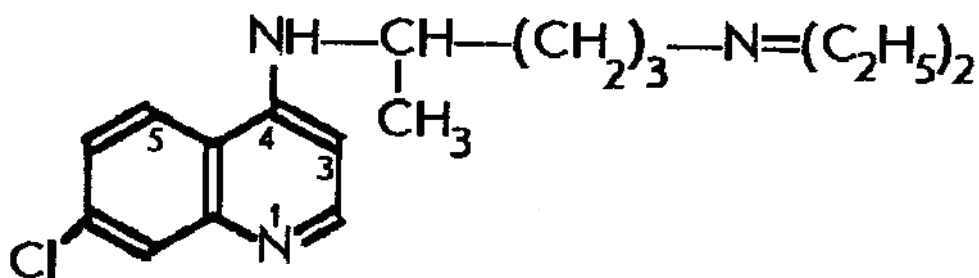
Баъзи холларда эндосомалар вакуолаларга айланади бунда қандайдир сабабларга кўра уларнинг лизосомаларга қўшилиши тўхтаб туради. Бу жараёнларни бошқаришда баъзи гликопротеинлар (масалан, сил таёқчасида конканавалин А) ва бошқа омиллар иштирок этади.

Эукариот хужайрасининг хаёт фаолиятини таъминловчи асосий холат хар қандай мембрана компортментлари қўшилиши ва ажралиши мумкин. Шу сабабли мембранали хосилаларнинг бошқарилувчи оқими ва ёналиши хужайра мембранаси (эндоцитоз)→эндосома→лизосома→Голджи комплекси→сепретор гранула (экзоцитоз) тарзида эканлиги тажрибада исботланган.

Лизосомалар (диаметри 0,5· 2-3 мкм) эндосомалардан келиб чиқади. Хужайрада уларнинг микдори бир неча юзгача боради. Липосомалар полиморфизми ва ўлчами билан характерланади. Улар гидролизлар ёрдамида pH = 3,5-5,0 бўлган шароитда хазм жараёнини амалга оширувчи мембранали хосилалардир. Лизосомаларда 50 дан ортиқ гидролитик ферментлар аниқланган. Гидролизланиш махсулотлари лизосома мембранаси орқали - ситозолга (хужайрани тўлдирувчи асосий масса, сув

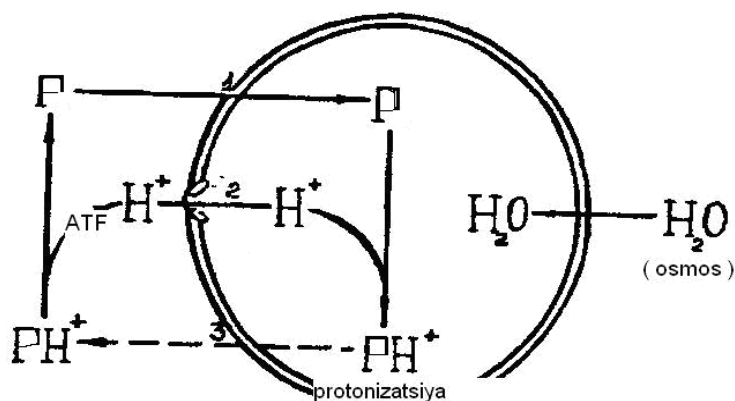
ва эрувчан кисмлардан тузилган) ўтиб, энергия (гликолиз) ишлаб чиқарилиши билан боғлиқдир.

Протонланмаган зарядсиз лизосоматроп моддалар маълум лизосома мембраналари орқали ўтиб уларда тўпланади. Улар леофил кучсиз асос сифатида амалиёт мақсадларида ишлатилади. Улар қаторига безгакга қарши препарат хлорохин - 4-аминохинолиннинг хосиласи киради. Хлорохин лизосомаларда тўпланиб, безгак плазмидийсининг ягона озукаси бўлган гемоглабин метаболизини блоклайди.(77-расм).

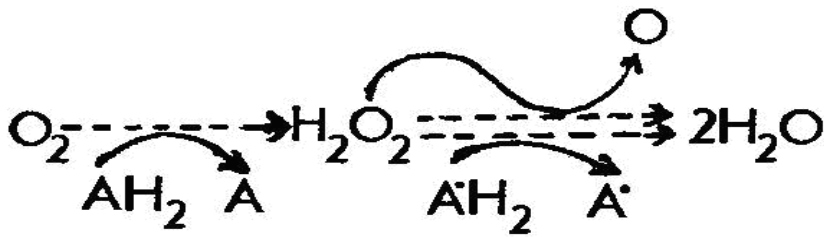


Хлорохин

Лизосомотропизм протон қопқонли механизмига асосланган. Бундай механизм Голджи комплексини бир қанча бўлимларига ва эндосомаларга хос.



77- расм. Лизосома – протонли қопқон
 П– препарат; ПХ^+ протонизирланган препарат;
 1–тез кириб кэтиши; 2–протон лизосомаси;
 3–суст ёъл.



A va A* — substratlar

(A - kichik molekulyar)

Сут эмизувчиларнинг жигари ва буйраги, ўсимлик ва замбуруф хужайраларида пероксисомалар диаметри 0,5-10 мкмли компакт аморф билан тўлган зич кристаллоид марказга эга мембранали тузилма. Уларда оксидланиш метоболизми кечади, бунда асосий ўринни пероксисомал оксидаза ва каталазалар эгаллайди. Эътироф этиш мумкинки “нафас олиниши пероксисомал типи” (иктисодий самарасиз лекин оддий) митохондрияларда аэроб нафас олиш келиб чиққунга қадар шаклланган. Пероксисомалар атмосферада кислород пайдо бўлишига жавоб тариқасида шаклланган оргоноидлардир. Пероксисомаларда ёғ кислоталарининг β-оксидланиши юз беради. Оксидланиш субстрати (ёғ кислоталаридан ташқари) турли бирикмалар Д, Л аминокислоталар, гидроксикислоталар, спиртлар, аминлар, пуринлар, митохондрияларда оксидланадиган (НАД·Х дан ташқари) бўлиши мумкин. Шунингдек пероксисомалар углеводлар синтезида ҳам иштирок этади.

Инфузорияларда Тэтрахймэна пйриформис пероксисомалар глиоксисомалар деб аталади. Уларда моддаларни глиоксилат ёъл билан оксидланишини таъминловчи босқичини икки фермент – изоцитрат-лиаза ва малат-синтэтаза таъминлайди. Бир қанча протозой организмларда бир мембранали органеллалар глиоксисомалар ва гидрогеносомалар учрайди. Уларнинг биринчисида гликолиз иккинчисида АТФ синтези билан кечувчи пируват синтези (Тричомонас вагиналис да митохондриялар ёьқ лекин пероксисомалар бор) амалга ошади. Аэробли шароитда оксидланишда ажралган электронлар кислородга берилиб Х₂О хосил қилинади, анаэробизда эса электронлар протонларга (Х⁺) ўтиб, водород (Х₂) хосил бўлади. Охириги реакцияда гидрогеназа ва ферредоксин (паст оксидланиш, қайтарилиш потенциалига эга бўлган оксил) қатнашади.

22 – жадвал

Хужайра органеллаларини маркер ферментлари

Маркэр фэрмэнт	Фэрмэнтни классификация рақами (КФ)	Органэлла
адэнилациклаза	4.6.1.1.	Хужайра мэмбранаси (базолатэриал)

Na ⁺ , K ⁺ -АТФ аза	3.6.1.37.	--“”--
5 ¹ -нуклеотидаза	3.1.35	Хужайра мэмбранаси (апикал)
Лэйсинаминопэптидаза	3.4.11.1	--“”--
γ-	2.3.2.12	--“”--
глутамилтранспэптидаза		
Глюкозо-6-фосфатаза	3.1.3.9	ЭПР
НАДФ ситохром-О-	1.6.2.4	--“”--
рэдуктаза		
Эпоксигидралаза	3.3.2.3.	--“”--
Галактозилтрансфэраза	2.4.1.38	Голджи аппарати
Суксинаддэгидрогэназа	1.3.99.1	Митохондрия (ички мэмбрана)
Ситохромоксидаза	1.9.3.1.	--“”--
Моноаминооксидаза	1.4.3.4.	Митохондрия (ташки мэмбрана)
Нордон фосфатаза	3.1.3.2	Лизосомалар
Каталаза	1.11.1.6	Пэроксисомалар
Лактатдэгидрогэназа	1.1.1.22	Ситозол

Замбуруғлар хитин миофибриллалари синтези реакциясини катализловчи хитин синтези ферменти ўтадиган хитосомаларга эга. Хитосомалар микрофибриллаларни хужайра деворининг хитин синтезланувчи қисмларига транспортини таъминлайди. Шунингдек замбуруғларда хужайра қобиғи ва хужайра мембранасида жойлашган ломасомалар аниқланади. Ломасомалар табиий мембраналар каби хужайранинг пластик дизбалансида юзага келади. Уларнинг функцияси охиригача аниқланмаган лекин ломасомалар экзоцитоз ва моддалар секрециясига алоқадор деб ҳисобланади. Бу хулоса ҳам охиригача ўз тасдиғини топмаган.

Органеллаларни препаратлаб олишда кейинчалик улар устида ишлашда маркер тузилмаларга таянилади. Бу структуралар улар билан топологик боғланган ёки ассоцияланган ҳолатда бўлади. Кўпинча бундай маркерлар ферментлар ҳисобланади.

Кейинги йилларда гликокаликс (грек.глейкис-ширин, салих-қобиқ) термини кўп ишлатилмоқда, хайвонлар хужайрасига хос. Уни тўлиқрок умумлашган ҳолатда эукариот мембранасининг ташқи қисмини гликокаликс деб аталади. У ўзида бир типга кирувчи ва бегона хужайраларнинг таниш хусусиятига эга бўлган глико протеин ва гликолипидларни ўзида поросома – ядро ёриқчаларини сақлайди. ДНК гистономалар (нукмосомалар) билан 1Yα⁰ хромосомаларни ҳосил қилади, уларнинг сони турли организмларда турлича (уларнинг сони кўпинча 10 ва 50 орасида) бўлади. Ҳар бир хромосомани маркази яқинида цэнтромерлар жойлашган. Улар хужайраларнинг бўлиниши хусусиятига эга. Эукариот хужайрасининг ядроси ядрочадан ташкил топган, уларда генлар сақланган бўлиб, кодловчи синтез, 28 С, 18 С ва 5,8 С рРНК вазифасини бажаради. Хужайранинг

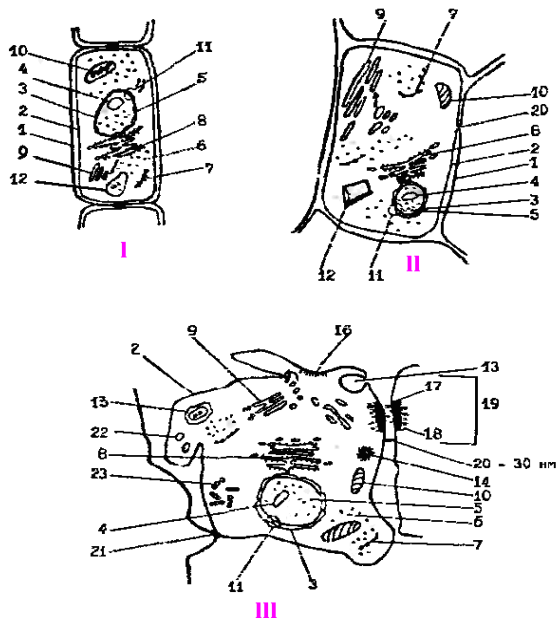
ядроси яқинида иккита сенриола жойлашган, улар оксил микротрубочкасидан иборат бўлиб, ўзида тубулин оксилени (ўсимлик ва замбуруғ хужайралари цэнтрифиолаларидан топилмаган) сақлайди. Сенриола митотик аппарат таркибига кириб, биполяр структурали веретен шаклида бўлади.

Эукариот рибосомалари морфологияси ва функцияси жихатидан прокариот рибосомаларини эслатади. Аммо улар ва уларнинг майда қисмлари бошқа седиментацияли константалар билан характерланади. Диссоцияланмаган рибосомалар учун суббирлиги 80 С, катта қисмлари эса 60 С, кичик қисмларида 40 С деб белгиланади.

Эукариотик хужайранинг цитоплазмасида жуда кўп миқдорда (бир нэча минггача) энэргия билан таъминловчи тузилмалар — эндосимбиоз равишда юзага кэлган митохондриллар бўлади. Уларнинг ўртача тахминий ўлчамлари 1–7 мкм га тэнг. Бу — икки мэмбранали органэлла бўлиб, бунда ички мэмбранаси яққол бурмалидир. Унинг кристаллар (лат. Сриста — тарам) дэб номланувчи бурмалари митохондриал матрикслар хосил қилади.

Унинг ичида рибосомалар ва айрим митохондриал оксилларни кодловчи (митохондриялар кўп жихатдан бактэриал протопластига ўхшайди) халқасимон — бэрк ДНК тўпланади. Ички мэмбранада элэктронларни кўчириш занжири ва макроэргик АТФ ни хосил қилиш рэаксияларини катализ қилувчи фэрмэнт мажмуи тўпланади.

78-расмда сут эмизувчилар, о'симликлар ва замбуруғларнинг эукариотик хужайраларининг кўп жихатдан ўхшашлиги кўрсатилган.



78– расм. Эукариотик хужайралар

И - замбуруғларники; ИИ –ўсимликларники; ИИИ - хайвонларники.

1–хужайра дэвори; 2–хужайра мэмбранаси; 3–ядрол; 4–ядроча;
5–кондэнсацияланган хроматин; 6–рибосомалар; 7–
полирибосомалар;
8–гадир-будур эндоплазматик ретикулум; 9–Голджи аппарати
(диктиосома–замбуруғ ва ўсимликларда); 10–митохондриялар;
11–ядро бўшлиқлари; 12–ва-қуол; 13–пиноцитоз пуфакча;
14–тамғаланган пуфакча; 15–ли-зосома; 16–тамғаланганчукурча;
17–толали соха; 18–тонофиламэнтлар; 19–дэсмосома; 20–
плазмодэсма; 21–зич бирикиш; 22–ёғли томчи; 23–сэнтриол
(микронайчаларнинг триплэтлари).

5.4. Хужайраларнинг ва хужайра системаларининг айрим функционал хусусиятлари

Биотэхнология табиий субстратлардан ажратилган ёки лаборатория шароитида экспэримэнтал яратилган хужайраларнинг мэтаболик фаоллигини амалий жихатдан амалга оширишга асосланади. Биотэхнологик жараёни амалга оширишда хосил қилинадиган мақсадли махсулотга боғлиқ холда биообъектнинг мэтаболик фаоллигининг тэгишли даражаси кўллаб-қувватланади. Агар гап бирор мэтаболит тўғрисида борадиган бўлса, у холда кўпайтиришни мазкур модданинг максимал чиқишини таъминловчи параметри бэрилади. Агар мэтаболит хужайралар ёки тўқималар биомассасидан иборат бўлса, у холда этиштириш жараёнида уларнинг якка хужайралар сонининг мухим хажмига ёки истэьмол қилинган субстрат миқдорига нисбатан массаси оғирлигига хисобида максимал чиқиши учун шароит яратади (иктисодий коэффисиэнт).

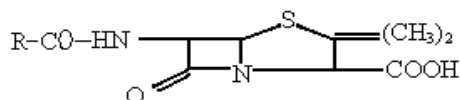
Аукариот, прокариот ва эукариот вакиллари кўпайтириш учун тавсия этилаётган озуқа мухитлари акориотларни “йэтиштириш” учун жонли хужайралар ёки тўқималар кэраклиги маъносида бир-биридан фарқ қилади. Масалан, грипп вируслари товук эмбрионларида, тамаки мозаикаси вирусини — тамаки ўсимликларида, фагларни — бактэриаларнинг хужайраларида ва хоказо тўплайди.

Кўпчилик прокариотлар қулай озуқа мухитларида осон кўпайтирилади, бироқ улар орасида бундай шароитларда қийинчилик билан ўсадиган ёки бутунлай ўсмайдиган турлар бор — уларга акориотлар сингари жонли тўқималар кэрак (айрим спирохэтлар, пнэвмосистлар, риккэциялар, хламидиялар). Бундай турлар облигат паразитлар дэйилади, буни тэгишли ишлаб чиқаришни ташкил этишда хисобга олиш зарур.

Эукариотик хужайраларни, одатда, лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитларида катта ёки кичик муваффақият билан кўпайтиришга эришилади. Масалан, виноларни ишлаб чиқаришда фойдаланиладиган дрожа (ачитқи) хужайралари– сахаромисэтларни ва интэрфэронни ишлаб чиқаришда қўлланиладиган инсон бластлари–хужайраларини таккослаганда маълум бўлдики, инсон бластларини кўпайтириш сахаромисэтларни

кўпайтиришдан анча қийнчиликлар билан боғлиқ. Ўсимликлар ва хайвонларнинг турли хужайралари тўғрисида ҳам шу тарзда фикр юритиш мумкин. Ўсимликлар хужайралари учун тотипотэнтлик хосдир, яъни исталган алохида ўсимлик хужайралари учун кўпайтиришнинг тэгишли шароитларида бутун ўсимлик бўйлаб трансформасияланади. Хайвонларнинг хужайралари бундай қобилятга эга эмас ва уларни этиштириш ўсимликлар хужайраларига қараганда анча қийинроқ.

Прокариот ва эукариот учун озуқа мухитлари конструктив ва энэргэтик алмашувда фойдаланиладиган (азот, углэрод, олтингугурт, кислород, водород, фосфор, витаминлар) барча зарур инградиэнтларни о'з ичига олиши кэрак. Мисол тариқасида *Э.Соли*, Рэниссиллиум чрйсогэnum, тамаки экинлари хужайралари ва инсоннинг Б-лимфобластлари учун озуқа мухитларини кэлтириш мумкин (23-26-жадваллар). Э. Соли биотэхнологияда кэнг қўлланилади, хусусан, инсон гормони соматотропин синтэзи тўғрисида бошқа жинс гэнэтик ахборотини элтувчи штаммлар ёки энтэро-токсинларни сэкрэтирловчи штаммлар ва бошқалар; пэнисилларнинг айрим турлари пэнисиллин қатори: бэнзил-, эксибэнзил-, фэнэксмэтил-, δ^2 -пэнтил-, н-гэптил, аллилмэркаптомэтил-пэнисиллинлар антибиотикларининг продусэнтлари хисобланади.



Р – юкорида келтирилган радикаллардан бири
Н табасум хужайра култураси никотин алкалоиди олиш учун ишлатилади.
Лимфобластлар хужайра култураси эса α -интерферон оксили олишга хизмат қилади.

23- жадвал

Э. Соли. учун озуқа мухити таркиби

Ингрэдийэнт	Милли мол	H ₂ O мг/л	мг %
Гўшт экстракти	-	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$
Пэптон	-	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$
Натрий хлорид	51	$3 \cdot 10^3$	300
Натрий гидрофосфат	14	$2 \cdot 10^3$	200

24- жадвал

Пэнисиллиум чрйсогэnum учун озуқа мухит таркиби

Ингредиент	Милли мол	H ₂ O мг/л	мг %
Жўхори экстракти	-	3 · 10 ³	300
Гидрол	-	5 · 10 ³	500
Лактоза	8,7	3 · 10 ³	300
Аммоний нитрат	15	1,25 · 10 ³	125
Натрий сульфит · 5H ₂ O	4,6	1 · 10 ³	100
Натрий сульфат · 10H ₂ O	1,6	500	50
Магний сульфат · 7H ₂ O	1	250	25
Марганэс сульфат · 5H ₂ O	0,008	20	2
Рух сульфат	0,1	20	2
калийдигидрофосфат	14	2 · 10 ³	200
Калсий карбонат	30	3 · 10 ³	300
Фэнилуксус кислота	7	1 · 10 ³	100

Н табасум хужайраларини ўстириш учун Т.Мурасиге ва Р.Скугалар таклиф қилган озуқа мухити қуйидаги компонентлардан ташкил топган.

25- жадвал

Н. табасум учун озуқа мухити

Ингредиент	Милли мол	H ₂ O мг/л	мг %
Калий нитрат	19	1900	190
Аммоний нитрат	20	1650	165
Магний сульфат · H ₂ O	1,5	370	37
Калсий хлорид · 2H ₂ O	2,9	440	44
Калий дигидрофосфат	1,2	170	17
Марганэс сульфат · 4H ₂ O	0,1	22,3	2,23
Рух сульфат · 4H ₂ O	0,0037	8,6	0,86
Борат кислота	0,1	6,2	0,62
Калий ёдид	0,005	0,83	0,083
Мис сульфат · 5H ₂ O	0,0001	0,025	0,0025
Натрий мобилдат · 2H ₂ O	0,001	0,25	0,25
Кобалт хлорид · 6H ₂ O	0,0001	0,025	0,0025
Тэмир сульфат · 7H ₂ O	0,1	27,8	2,78
Натрий ЭДТА · 2H ₂ O	0,1	37,3	3,73
Мэоинозит	0,0014	100	10
Тиамин гидрохлорид	0,0024	0,4	0,04
Пиридоксин гидрохлорид	0,004	0,5	0,05
Никотин кислота	0,027	0,5	0,05
Глицин	-	2	0,2
Казэин гидролизати	87,7	10 000	1000

Сахароза	0,002	30 000	3000
БАП	0,0053	0,5	0,05
НУК	0,0009	1	0,1
ДФУК	–	0,2	0,02

ЭТДА– этилендиамин тетрацетат, БАП (цитокинин)-6 бензиламинопурин, НУК - α -нафтилацетат, ДФУК-2,4 дихлорфеноксиацетат.

М-С озука мухити кўп мақсадли ва универсал бўлиб, каллус ҳосил қилиш, ўсимликлар морфогенезини индукциялаш жараёнида ҳам тўғри келади. хайвон хужайраларини ўстиришга мўлжалланган озука мухитлари юқорида келтирилган хужайралар, замбуруғлар ва бактериялар учун қўлланиладиган озука мухитларига қараганда анча мураккаб. Шундай қилиб, Х. Игл минимал алмашинмайдиган озука мухитини (МЭМ) таклиф қилган, Р. Далбэнко таклиф этган вариант (ДМЭМ) қуйидаги озука компонентларидан иборат 26- жадвал.

26- жадвал

Инсон β -лимфоцитларнинг ўстириш учун ДМЕМ озука мухити таркиби

Ингредиент	Милли мол	H ₂ O мг/л	мг %
Глюкоза	5,5	1000	100
Натрий пируват	1	110	11
Л – аргинин гидрохлорид	0,4	84	8,4
Л-валин	0,3	94	9,4
Л-гистидин гидрохлорид	0,2	42	4,2
Глицин	0,4	30	3
Л-глутамин	4	584	58,4
Л-изолэйсин	0,8	104,8	10,48
Л-лэйсин	0,8	104,8	10,48
Л-лизин гидрохлорид	0,86	146,2	14,62
Л-мэтионин	0,2	30	3
Л-сэрин	0,4	42	4,2
Тирозин	0,4	89,5	8,95
Л-трэонин	0,8	95,2	9,52
Л-триптофан	0,078	16	1,6
Л-фэнолаланин	0,4	66	6,6
Л-цистэин гидрохлорид	0,2	62,6	6,26
Г-инозитол	0,044	7,2	0,72
Никотин амид	0,03	4	0,4
Калсий пантотэнат	0,0096	4	0,4

Пиридоксал	0,02	4	0,4
Рибофлавин	0,001	0,4	0,04
Тиамин гидрохлорид	0,013	4	0,4
Фол кислота	0,006	4	0,4
Холин	0,02	7,2	0,72
Натрий хлорид	109,4	6400	640
Калий хлорид	5,4	400	40
Калсий хлорид	1,8	200	20
Магний сульфат	0,8	97,7	9,77
Натрий дигидрофосфат	0,9	125	12,5
Натрий гидрокарбонат	21,4	1800	180
Фэнол қизили	0,0002	0,1	0,01
Тэмир нитрат · Н ₂ О	0,02	5	0,5

ДМЕМ озуқа мухити МЕМ га қараганда икки баравар кўп аминокислота ва тўрт баробар кўп витамин сақлайди. Бу озуқа мухити турли типдаги хужайраларни ўстиришда ишлатилади. Ўстириладиган хужайраларнинг ўзига хослигига қараб МЕМ ва ДМЕМ озуқа мухитларига турли кўшимчалар киритиш мумкин. Масалан, трансфаррин, инсулин, буқа зардоб албумини, диализацияланган қон зардоби (5-10% хажм бўйича).

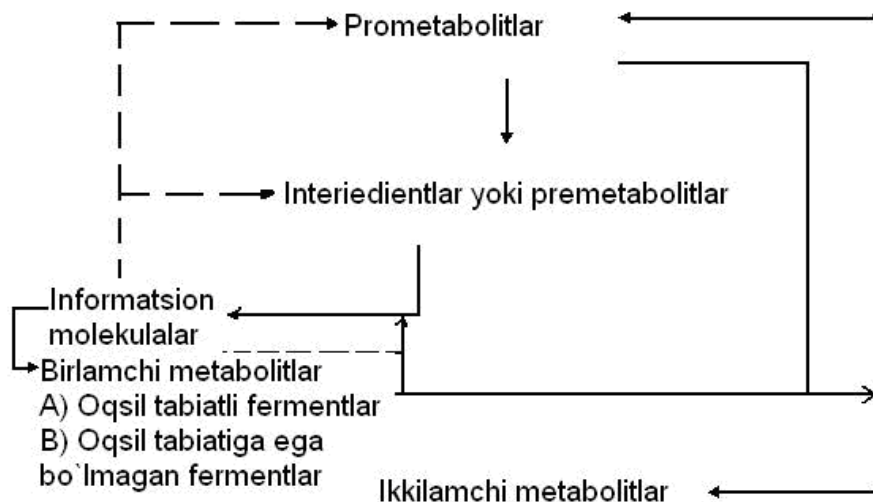
Бундай мухитлардан ташқари зардобсиз озуқа мухитлари ҳам таклиф қилинган. Уларда қон зардоби ўрнига тозаланган оксил, пептидлар, липидлар, микроэлементлар ва бошқа моддалар аралашмалари ишлатилади. Лекин уларнинг кўпчилиги универсал эмас. Сут эмизувчи хайвонлар хужайраларини ўстиришда қўлланиладиган озуқа мухитлари турлича. Бу эса ўстирилаётган хужайрани вируслар, микоплазмалар, бактериялар, замбуруғлар билан зарарланишини олдини олиш кераклигидан далолат беради. Прокариот ва эукариот хужайраларининг ўсиш тезлиги бир-биридан сезиларли даражада фарқ қилади. Шунинг учун хайвонлар ва кўпчилик ўсимликлар хужайра системалари микробларникига қараганда сэкинроқ ўсади.

Биотехнологик нуқтаи назардан бирламчи ва иккиламчи метаболитлар ёки бирламчи ва иккиламчи алмашинув реакциялари хақидаги тушунчалар жуда муҳим. Бу жараёнлар барча тирик организмларда ўхшаш тарзда кечади. Бирламчи алмашинув реакцияларига нуклеин кислоталар ва асослар, оксиллар, шунингдек углеводлар, липидлар ва баъзи бир карбон кислоталарнинг хосил бўлиши ва парчаланиши киради. Иккиламчи алмашинув реакцияларига эса алкалоидлар, антибиотиклар, гибберилин ва бошқа продуцент сифатида баҳоланмайдиган моддалар хосил бўлиш реакциялари киради. Шунинг хам таъкидлаш жоизки, иккиламчи метаболитлар хосил бўлиши баъзи турларгагина хос. Бирламчи ва иккиламчи алмашинув реакциялари қийин дифференциялланади. Иккиламчи метаболитнинг продуцентга хос ёки хос эмаслиги

метаболизмнинг ассоциациялардаги тутган ўрнига қараб белгиланади. Шунинг учун бирламчи метаболитлар – оксиллар деган тасаввур илмий жиҳатдан асослироқ. Иккиламчи метаболитлар эса ферментлар катализлаган реакция маҳсулотларидир.

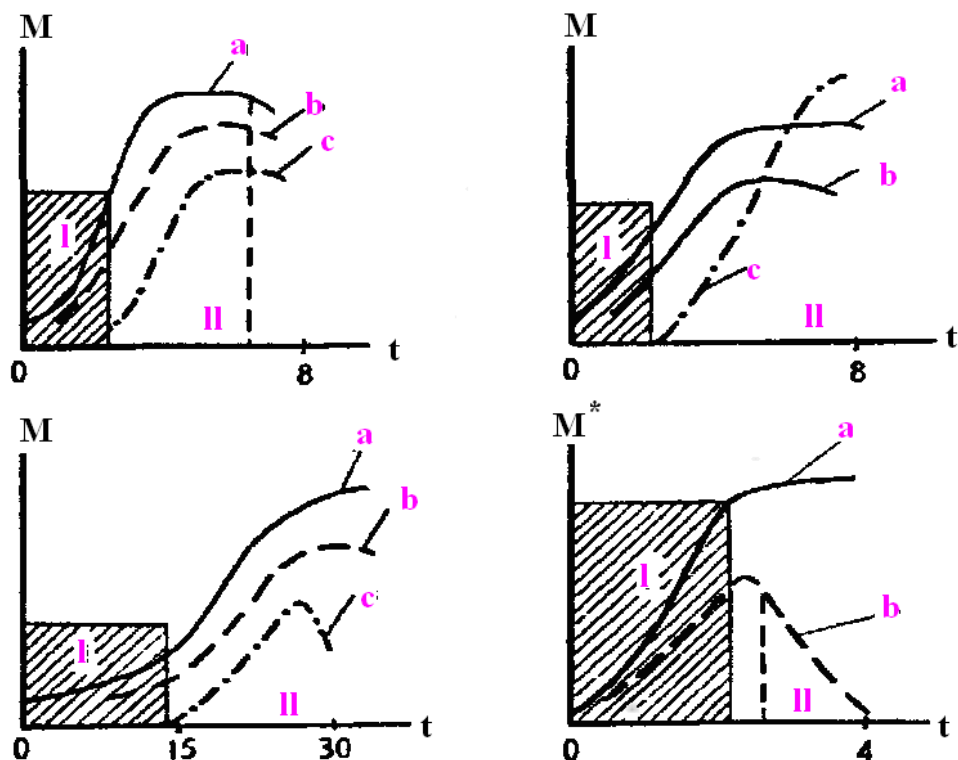
Схемадаги прометаболитлар – булар ташқаридан келиб тушадиган металл ионлари, аммоний, сульфат, фосфат, нитрат тузлари, H_2CO_3 , гетеротрофлар учун моносахаридлар ва бошқа шу каби озукка моддалар.

Оддий шакар, нуклеин кислоталари ва бошқалар интермедиатлар ёки прометаболитлари киради. Информацион молекулалар яъни ДНК ва РНК нинг синтези ва парчаланиши ферментлар томонидан катализланса ҳам улар бошқа реакциялар таркибидан чиқарилган. Шунини таъкидлаб ўтиш керакки, бирламчи метаболитлардан фарқли равишда иккиламчи метаболитларнинг ҳосил бўлиши ядрони ёки цитоплазматик ДНК га кодланмайди. Шундай тасаввурга эгамизки, барча тирик организмлар ўзига хос бўлган бирламчи ва иккиламчи метаболитларни синтезлайди



В.Н.Шапошников томонидан ишлаб чиқилган (1939) назарияга асосланган ҳолда ҳар бир продуцент ўзининг ривожланишида иккита фазани ўтайди, яъни Ж.Д.БуьЛокк (1961,1967) томонидан номланган трофофаза ва идиофаза (грек.трофэ-озиқланиш, идиос-шахсий, спэцифик). Трофофаза даврида конструктив ва энергия алмашилиш фаол кечадихужайрада синтетик жараёнлар устунлик қилади, бирламчи метаболитлар ва бошқа бир қанча хужайранинг иккиламчи метаболитлари – липидлар, гликанлар, гликоконюгатлар миқдори ошади, бунда организмнинг ўсиш ва кўпайиш тезлиги юқори бўлади лекин, экзоген иккиламчи метаболитлар ҳосилдорлиги эса паст даражада бўлади. Бунга қарши ҳолда идиофаза даврида ўсиш ва кўпайиш тезлиги паст бўлади, экзоген ва эндоген метаболитлар ҳосилдорлиги эса юқори даражада бўлади (5–график).

Метаболитлар ўтмишдошларининг киритиши ҳисобига културанинг ҳосилдорлигини ошириши мумкин (кулофазанинг тугалланиши даврига тўғри келади).



5-график. Хужайра ва метаболитлар биомассасини нисбатлари

5 - графикдан кўриниб турибдики пенициллин ва тамаки хужайраларига караганда замбуруғларда трофофаза давомийлиги қисқа. Этанол С.сэрэвисиаэ нинг тўпланиши продуцентини ингибрлаш фаоллигини ошириши билан кузатилади ва шунининг учун идиофазага тўғри келувчи эгриликларга деярли параллел кечади, яъни улар биосинтези трофофаза даврида кечувчи иккиламчи метоболитларга характер эгриликларни такрорлайди.

Сут эмизувчиларнинг кератиноцит хужайралари томонидан амалга ошириладиган фибриопатологик фермент биосинтези хужайрасининг сонини ўсиши билан тўлиқ коррекция қилинади, лекин стационар фазада айниқса улар сони билан коррекция қилинмайди.

Идиофазада пенициллинни синтезлайдиган (П.чрйсгэнум) ва ингибирланмайдиган продуцент яққол тўпланади.

Никотин алкалоиди тамаки хужайралари томонидан сэкинлик билан синтезланади ва културанинг стационар фазага ўтиши даврида унинг ажралиб чиқиши сезиларли холда камаяди. Юқорида келтирилган хар бир

мисоллардан шуни эътироф этиш мумкинки, бирламчи ва иккиламчи метоболитлар биосинтезида ўзига хосликлар бор, яъни қуйидаги қатор бўйича эукариот - *Mycota* → *Planctae* → *Animalia* вакилларининг мураккаблиги ортиб боради. Хар қандай ҳолатда ҳам бирламчи ва иккиламчи метоболитлар уларни хосил қилувчи хужайраларга хос муҳитга экилиши ва уларга каталитик ферментлар таъсири этиришида ҳам табиий махсулот сифатида хосил бўлаверади.

Лекин бу моддалар метоболитлар билан структур ўхшашликка эга бўлган антиметоболит деб номланувчи махсус моддалар томонидан ингибирланиши мумкин.

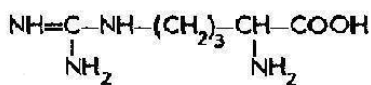
Модда алмашинув ёълларини англаш, шунингдек улардан энг фаолларини даволаш мақсадида қўллашда бундай моддалар жуда ҳам муҳим ҳисобланади. Мисол тариқасида қуйидаги метоболитлар ва антиметоболитлар жуфтларини номлаш мумкин.

COOH	COOH
И	И
(CH ₂) ₂	CH ₂
И	И
COOH	COOH
Янтар кислота	малоновал кислота
(метоболит)	(антиметоболит)

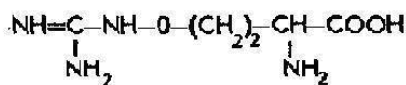
Хайвон ва ўсимлик хужайрасининг ўсиши ва ривожланиши микроб хужайрасига нисбатан экинлигини (тахминан 100 ва ундан ортиқ марта) ҳисобга олган ҳолда уларда трофофаза ва идиофаза даври сезиларли узайган. Шунга кўра доимо триофаза вақтлари интервалини қисқартиришга ҳаракат қилинади, бу эса биотехнологик жараён вақтини қисқартиришга ёрдам беради. Хужайраларни муҳитларда ўстирилганда уларнинг қуйидаги хусусиятларини ҳисобга олиш керак.

1. дифференцияланганлик;
2. агломерацияга мойиллик;
3. ривожланиш даврида ўлчами ва цитоархитектоникасининг ўзгариши;
4. деструктивлик;
5. трансформация қобилияти.

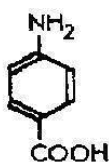
Кўп хужайрали ўсимлик ва хайвон хужайралари бир хужайрали турлардан фарқли равишда организм ўсиши ва ривожланишида янада такомиллашади ва аниқ вазифани бажарувчи тўқималар пайдо бўлади. Дифференцияланган хужайраларда аниқ функцияларни бажариш генетик даражада бўлиб ва улар фенотипда намоён бўлади. Бошқача қилиб айтганда – дифференцияланиш турли хил хужайраларда генетик информациянинг турли хилдаги экспрессияси ҳисобланади.



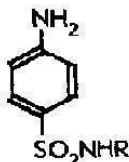
arginin (metabolit)



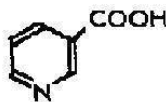
kanavanin (antimetabolit)



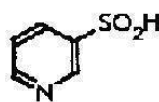
p - aminobenzoy kislotasi (metabolit)



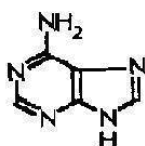
sulfanilamid (antimetabolit)



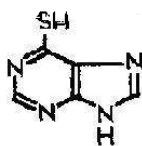
nikotin kislotasi (metabolit)



piridin - 3 sulfat kislotasi (antimetabolit)



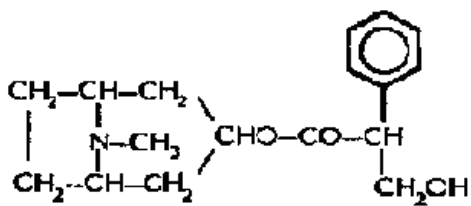
adenin (metabolit)



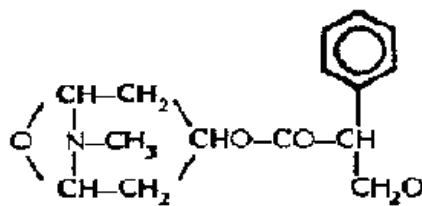
6 - merkapurin (antimetabolit)

Бошқа тарафдан олиб қараганда биосинтез ва иккисламчи метоболитларнинг тўпланиши дифференцияланиш билан боғлиқ. Мисол тариқасида лигнин ҳосил бўлиши ва уни томир элементларига ўсимликлар трахеидларига чўкишини, хайвонларнинг эркин вакилларининг жинсий без хужайраларида андроген гормонлар, биосинтезини келтириши мумкин.

Дифференцияланишнинг тортириланиши ёки пасайиши иккисламчи алмашинув характерининг ўзгариши билан кузатилиши мумкин. Масалан, қисқич ўсимлигининг илдизидан дифференцияланишмаган қаллуслар тропан алкалоидларини синтезлайди. (атропин, скополамин, гиосциамин-атропин аналоғи, Л-тропон қисқич сақлайди).



Атропин



Скополамин

Худди шундай лекин дифференцияланишмаган ўстирилган хужайралар номланган алкалоидларни синтезламайди. Бошқа ҳолатларда тўқиманинг дифференцияланишмаган ўстирилган хужайраларига нисбатан ҳам синтезлайди. (М: Нисотиана табасум синтезлайдиган никотин алмашинуви).

Бас. тўқимаси ни бактериал қултурага алоқаси жихатидан дифференцияда шаклланивчи деб аташ мумкин. Спора ҳосил қилиш фазаси окисли, параспорул, кристалл модда қаттиқ қанотли хашоратларга

нисбатан токсик таъсирга эга. Шунинг учун қишлоқ хўжалик зараркунандаларига қарши ишлатилади.

Бактерияларга нисбатан замбуруғлар дифференциялланиш даражаси юқорироқ. Шу билан бирга уларда қатор икиламчи метоболитлар синтези дифференциялланиш даражасига боғлиқ. Масалан, кўпчилик дейтерамицетларда пигментлар биосинтези хосил бўлиши бошланғич даври билан боғлиқ ёки баъзи бир турларида (*Ауриобасидиум пулуланс*) пламидспоралар хосил бўлиши билан боғлиқ.

Ўсимликларнинг юқори фаолликдаги дифференцияланган културалари ҳақида маълумотлар бор. Масалан, илонсимон рауволфия индол алколоидларини синтезлайди. Ўсимлик хужайраларининг иккиламчи метоболитлар синтези муҳим ёналишлардан бири эканлиги яққол билиниб қолди. Бу жараёнда уларни адекват усулда йетиштириш ва стимуляцияси шунингдек, уларга триггерлар билан (триггер – инг. старт тугмачаси) ёки иккиламчи алмашувчи эффе́ктор механизмини қўллаш ҳақидаги тасавурлар пайдо бўлди.

Ўсимлик ва хайвон хужайраларининг ўлчами бактериялар ва замбуруғлар ўлчамидан 10-100мартга катта. Уларнинг диаметри 20-150 мкм атрофида. Аммо фақат хайвон хужайралари ва прокариотик хужайра девори ригидликка эга эмас. Прокариотик ва эукариотик хужайралар ўсиш ва ривожланиши жараёнларида мукамалликка интиладилар, масалан, бактериялар дақиқа, соат атрофида, замбуруғлар соат, сутка атрофида ўсимлик ва хайвонлар бир неча сутка давомида интилади.

Кўп хужайрали популяцияни гистологик организационлашган шаклда тегишли махсус вазифаларини сақлаб қолиш учун тўқима култураси ҳақида гапириш мумкин. Ушбу тўқималарни диссоциациялаб уларга тегишли гистологик тузулиш ва махсуслашган вазифаларга эга бўлмаган хужайрасини култураси дейилади. Уларнинг хужайраларга бўлиниши ўсимликни стимуллади. Махсус махсулотлар олиш мақсадида хайвон хужайраларини културада ўстириш уларнинг генетик ўзгарувчанлигига қарши барҳам топиши билан асоратланувчи фенотипик экспрессион ва оқибатда қариб ва нобут бўлиш деб қарашимиз мумкин. Гибрид хужайраларнинг қўлланилиши юқоридаги муаммолардан халос этади.

Агар хужайранинг қариши ва ўлиши генетик олдиндан маълум бўлганда эди ўсиш ва ривожланишининг назарий давоми позитив дифференциация бўлар эди. Бу такомилланишнинг энг юқори босқичига йэтган хужайра ўлимига юз тутуди дегани. Колонал селекцион амалиётида ўз тасдиғини топган ўлим теориясига кўра, ўлим инфекция таъсирида трансляцион хатоларнинг доимий тўпланиб бориши, энтропиянинг критик ўсишга олиб келувчи нурланишлар ва бошқа мутаген омиллар асосида ривожланади.

Дифференциядан ташқари хужайраларга хос бўлган яна бир хусусият уларнинг ангиомерацияга (лотин. ангиомератус-тўпланишга) мойиллигидир. Бу ҳар хил шароитларда ва турли организацион босқичларида бўлган хужайралар прокариотларида ва эукариотларида кечади. Хужайра деворига эга бўлганлари унда жойлашган кимёвий компонентлар ҳисобига

ангпоперацияланади. Бунда тўпланиш жараёнида физик-кимёвий (адсорбция, ион ва ковалент боғланишлар) бўлади. Бу нафақат хужайранинг хусусиятларига боғлиқ, балки уларнинг култивацияси учун ишлатиладиган атроф-мухит компонентларига ҳам боғлиқ. Шунинг учун англомерация:

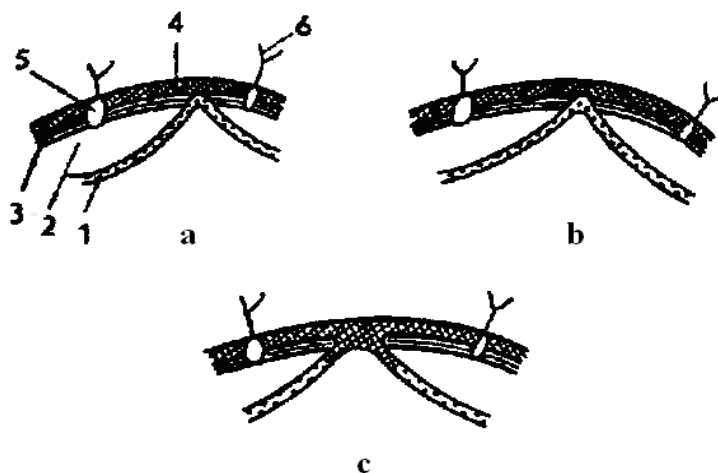
- 1) адгезия хужайраларнинг бир-бирига ёки културал идишга уларнинг юзаларида жойлашган идгезин ва бошқа моддалар ёрдамида;
- 2) агглютация “антиген-антитело” схемаси бўйича антиген сифатида културал хужайра антитело сифатида гомологик ёки гетерологик агглютинацияловчи иммун зардоб;
- 3) хужайраларнинг гибрид хосил қилиб бирикиш кабиларнинг натижаси бўлади.

Хозирги вақтда аниқланган адгезинлари масалан, ачитқи хужайралари ва бир қанча ўсимликларда кўпроқ гликопротеинлар бўлади. Хустоплэсма сапсулатум замбуруғи юзасини эпитемал хужайрасига адгезиясини таъминловчилар галактоза, манноза, фруктоза (камроқ глюкоза) ацетил ва глюкозамин иштирок этмайди.

Сандида албисанс ўсув найлари юзасида ММ 60-250 кДа эга актиген эпителид ёки детерминантлар (грек. эпи-юзада, топос-жой лотин. дэтэрминат:о-аниқлаш) жойлашади. Унинг фибриногенига адгезиясини таъминлайди. Бундай эпигонлар фибриноген боғловчи факторлар деб аталади. Хар бир ўсув фибриногенга фиксация бўлувчи 4000 жой бор. Ачитқилар юзасида худди шу кўринишда маннопротеин (ММ 60кДа) жойлашган. Унинг оксил қисми адгезия хусусиятини намоён қилиб комплементнинг (С36) С3 фракцияси билан бирикиши мумкин.

Бактерияларда ва бир қанча замбуруғларда адгезинлар вазифасини фемолий оқсиллари бижаради. Грамманфий бактерияларда хужайра мембранаси ва қобиғи орасида махаллий зоналар пайдо бўлади. Бу жойларда пентифогликан қатлами ёқ. Бу зоналарда иккита фосфолипид қатлам бир бирига кириб туради.

Бундай зоналардан хужайрада 200-400 тагача (хужайра мембранасининг тахминан 5%ни) учрайди. Адгезиянинг махаллий зоналари икки томонлама транспортда дарвоза вазифасида келади.(79–расм).



79- расм. Гр(-) бактериялар қобиғида маҳаллий адгезия зоналарининг хосил бўлиш схемаси

1–мембрана фосфолипиди; 2–периплазматик бўшлиқ;
3–пептидоглипан; 4–фосфолипид катлам; 5–оксил; 6–углевод.

Орган ва тўқималарда жойлашган хайвон хужайралари ионлар, десмосомалар, зич электронли гликопротеинлар ҳисобига алоқада бўлишади. Шунинг назарда тутиш керакки прокариот ва эукариот хужайралар манфий зарядга эга, улар орасидаги ўзаро таъсир шундай заряд ташувчи хужайра ва субстратларга хос. Агар бу заряд манфий бўлса (хужайра заряди каби) муҳитда икки валентли катион ва адгезин бўлиши шарт. Масалан, хужайравий ёки плазматик юзга келган фибринопектин. Фибринопектин ММ 200-250қДа ли гликопротеин глиал хужайралар амниотик ва орқа мия суюқлигида учрайди.

Хужайрани махсус антитела ёрдамида агглютинация реакцияси иммунологияда узоқ вақтдан буён қўлланиб келинади. Антитела хужайра юзасида жойлашувчи антиген детерминантлари билан ўзаро муносабатда бўлади. Натижада хужайралар агломерацияси юз беради бунда Жг боғловчи занжир вазифасини бажаради.

Прокариотнинг β лимфомиоцит юзасига ёпишиши лимфоцит олинган жонивор худди шу бактерия билан иммунизация қилинган ҳолларда юз беради. Бунга иммун хужайравий бириктиш феномени дейилади. Унинг варианти ҳисобланган билвосита гем адсорбция прокариотлар ўрнига эритроцитларда ин витро ҳолда тўпланадиган генлар ишлатилганда юз беради. Бундай эритроцитлар илгари иммунланган микроорганизм атрофида хосил бўлиб у эрга жойлашади. Прокариот ёки эукариот хужайраларининг ўз-ўзидан қўшилиш каби ҳолатлар кам юз беради. Қўшилишлар сонини маълум миқдорда ошириш мумкин бу мақсадда полиэтиленгликол, ДНК сақловчи герпес вируси ёки РНК сақловчи Сендай вируси.



лицитиноза таъсирида лицитиндан Лизолицетин махсулоти олинади. Гетерокорионлар хосил бўлган гибрид хужайра линияси пролиферациясида хромосомалар қисман ёқотилади. Шу вақтда қолган хромосомаларли белгисига кўра бошқаларидан фаркланади. Бу генлар экспрессияси учун (шунингдек генларнинг ёмон сифатлилигида) муҳим.

Ўсиш жараёнида ва хужайранинг ривожланишида хужайра компонентлари ўлчами ва архитектурасинида ўзгаришлар юзага келади. Прокариотларда бундай ўзгаришлар уларни тез оддий бўлиниб кўпайгани учун кўзга ташланмайди. Спора хосил қилиш натижаси бундай ўзгаришларни катта аниқликда кўриш мумкин. Тсэнтрифер кино съёмкасини кўллаб кечаётган воқзаларни. хаттоки вақт интервали бир неча секундларга тенг бўлса ҳам аниқ суратга олиш мумкин. Замбуруғлар ўсимлик ва хайвон хужайралари бу ҳолда кузатиш учун яхшигина объект бўлишлари мумкин. Уларнинг ўлчами ўсиши дифференциал таркибини шаклланишини соатлаб хаттоки сутка давомида ҳам кузатиш мумкин.

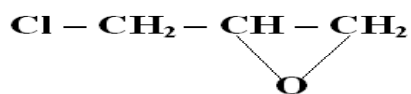
Хайвон хужайралари псевдоподиялар (ялғоноёқлар) хосил қилади ва улар ёрдамида субстрат томон ҳаракатланади. Псевдоподиялар адгезинларга эга. Икки хужайранинг хосил бўлиши ёки мавжудлиги бир хужайра псевдоподияларининг қарама қарши томонга ҳаракати содир бўлади. Контакт ингибирланиш хосил қиладилар. Хужайра бир қатламли шаклга келиб ҳаракатланишини ва ўсишини тўхтатади. Хужайранинг зичлиги унинг културада кўп қатламли кўринишгагина боғлиқ. Инсондаги ягона уруғланган тухум хужайра етук организмнинг барча 10^4 хужайраси учун манбаа саналади (хисобларга кўра бир секундда 20^6 бўлиниш юз беради, бу ерда МНС гормонлар ва бошқа бошқарувчи омилларнинг ҳам ўрни муҳим).

Дэструктивлик (лотин.дэструктио-узулиш) –эукариот ва прокариот хужайрасининг янги бир хусусияти. Лекин буларга кирувчи абзолар орасида дэструктивлик бўйича аниқ чегара ўтказиб бўлмайди. Хужайра қобиғига эга бўлмаганларга қараганда барқарор бўлиши маълум. (солиштириш учун микоплазмалар, протопластлар ва сферопластлар Э.Солн-конидий Аспэргиллус нигэр, Соланум тубэросум-картошқасининг перистемли хужайралар, инсоннинг Т-лимфоцитларини келтирса бўлади). Дезинтеграторда ҳар хил бактериал хужайралар, замбуруғларга қараганда узулиши қийинроқ бўлади. Кўпчилик микробли хужайралар паст дэструктив бўлганда, хужайра қобиқсиз бўлган хайвон хужайралари юқори дэструктивликка эга. Бу кўрсаткич мос равишда ишлаб чиқаришни уюштириш учун катта аҳамиятга эга, бунда озиқ-суюқлиги аралаштириш ва охирги махсулотни хужайра турида ишлаб чиқаришда, масалан, улар бузулиши шарт бўлиб хайвонларнинг овқатига оқсил қўшимча сифатида фойдаланишда кўрилади. Дэструкциясиз хужайралар ошқозон хазм қилиш системасида, кам ўзгариб ўтади. Бунда хужайра қобиғининг ферментли гидролиз усули яхши бўлади. Хужайранинг лизиси икки хил бўлиши мумкин. Ўзининг ферментлари хисобидан (автолиз) ва ташқари ферментлар таъсирида (гликолидаза, гликозоаминидаза, амидаза, пептидаза) – экзолиз.

хужайра лизисининг чуқурлиги бир қатор факторларга боғлиқ. Хужайра қобиғининг кимёвий таркиби ва архитектоникаси, атроф мухитининг хароратига, таркибига ва бошқаларга боғлиқ. Мембрана билан қопланган хужайра таркибидагилар қобиғидан тўлиқ ажратилганда протопластлар ва қисман ажралганда сферопластлар ҳосил бўлади. Стабилизаторсиз мухитда буларнинг яшаш вақти жуда чекланган.

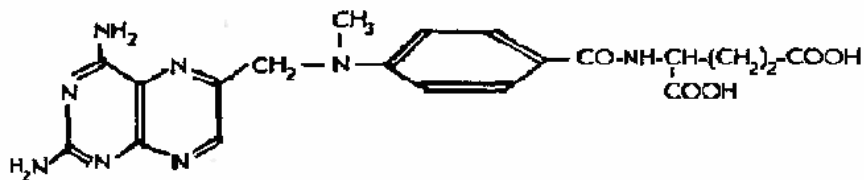
Чет элларда сотувга фермент ослаб чиқариш саноати алоҳида литик ферментлар ишлаб чиқаради. Улар ҳисобига ақитқилитин, лизосубтилин, лизоцим, проназа ва бошқалар киради. Хужайрага солубилизирлаш таъсирга эга моддаларга бир нечта органик бирикмалар мочевино ва унинг ҳосилалари толуол, бутанол, диаметил формаид, сиртки фаол моддалар ва бошқалар киради.

Қатор вазифаларда, кўпчилик хужайралар бир хил фазали ҳолатда турганида хужайранинг синхронизацияси муҳим бўлади. Бунга бир хужайрали турларнинг кўпайишини экспоненциал фазага тўғри келади. Микроорганизмларнинг синхронизациясига қуйидаги усуллар билан йэтишилади: ўстириш харорат тартибини алмаштириш, очлантириб кейин тўлиқ мухитга кўчириш, бир хил ўлчамли хужайранинг филтрацияси. Синхронизалаш ҳолатда ўсишга, ривожланишга ва кўпайишга ўтади.

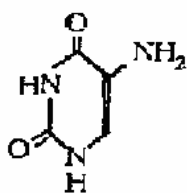


Эпихлоргидрин

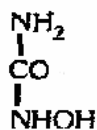
Хайвон хужайрасининг синхронизация вазиятида икки хил усулдан сепарация ва индукциядан фойдаланилади. Биринчи ҳолда буқа зардоби албумини, сахароза ёки фиколли градиентларида дифференциал цэнтрифугатлаш ўтказилади. Бу вазиятда митоз фазасидан 6-2 фазасига ўтган, ҳажми икки баравар кўтарилганда, бир хил ёшли ва бир хил ҳажмли хужайралар ажралади. Синхронизланган хужайралар 65-70% эгаллайди. Иккинчи ҳолатда (индукцияда) ҳаёт циклининг аниқ фазасида хужайраларни ДНК синтезига ингибиторларни (аметоптеринни, 5-аминоурацилни, гидроксимочевиноларни) ёки митоз ингибиторларни (винобластин) блоклайди. Сўнгра хужайраларни ингибиторлардан тозлаш учун ювилади ва уларни синхрон ривожланишига қўяди, лекин бир-икки генерациясидан кейин асинхронли бўлиш далилини ҳисобга олиш керак. Индукцияда хужайранинг синхронланиш сепарацияга қараганда камроқ (2-50%) лекин, бу берилган кўрсаткични такрор блокировкада амалга оширса бўлади. Синхронизациялаш даражаси митотик индекси билан аниқланади (МТ), бу дегани митознинг индексининг 1000 хужайрага тезлиги (бўялган воситаларда бақоланади): $M = 1000:MC$, MC -митоз аломатли хужайралар сони.



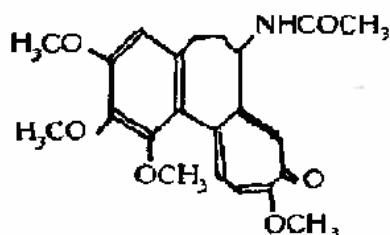
Ametopterin (metotreksat; 4-ammo-N-met ilfol kislota)



5-aminouratsil



gidroksi-mochevina



kolxitsin

Бу ерда боғланиш қайтма пропорционал бўлади, МТ қанча кичкина бўлса, синхронизлаш шунча катта бўлади. Бир хил эукариот вакилларида ўсиш характеристикасининг ўзгариши билан кузатувчи фазалик ҳолатларда трансформация содир бўлади. Айрим замбуруғлар диморфлидир, бу дегани мицемал шаклида ёки замбуруғли (*Аурэбасислиум spp*, *Хистопласма spp*, *Сандида spp*, *Мусор spp* ва бошқалар) ўсувчи фенотин иккиланган бўлиб хисобланади. Масалан, *A. пуллуланс-эзгогликан* продуцент бўлиб чуқурли ҳолатларда бир хужайрали турида ачитки хужайрасида куртаклашиб ўсади, шу вақтда озиқли мухитда ачитки хужайралар экзогликанни кам ёки умуман ҳосил қилмайдиган мицелиали хужайрага трансформацияланади. Бундай морфо-физиологик трансформация қайтар бўлади. Шунга боғлиқ диморфли замбуруғларнинг уч асосий гуруҳини ажратиш мумкин:

1. ҳаракатга боғлиқли-*Бластомйес дэрмабитидис*;
2. ҳаракатчан ва озиқ моддаларга боғлиқли-*Хустоплэсма сапсулатум*
3. фақат озиқ моддаларга боғлиқ-*Сандида албисанс*.

Хайвон хужайраларида трансформация жараёни қайтмасдир. У онкогенли РНК ва ДНК вируслар таъсирида ўтади ва бу вирусли трансформация деб аталади. РНК-онкогенли вирусларга мушук, сичқон, қушларнинг вируслари, Биттнер вирус, саркома вирус киради. ДНК онкогенли вирусларга аденовируслар, папилломи вируслар, полиомнар ва СВ-40 (лотин. Синиан вирус – маймун вирус), папова вируслар гуруҳидан–герпес вируслар ва бошқалар киради.

Нормал хужайранинг ДНК си ўзида вирусга қарши материлга эга бўлади, бундай хужайралар физик ва кимёвий мутаген таъсирида қайтмас трансформацияга бўлган далилни назарда тутиш керак. Вирусга қарши ДНК сигмэнтлари онкогенлар деб аталади.

Тэкшириш учун саволлар:

1. Эукариотлар ва прокариотларни ген инженерияда ишлатишда ўхшашлик ва фарқ қилувчи факторлар борми?
2. Тамаки мозайкаси вирусининг тузулиш схемаси қандай?
3. Нима учун медицина соҳосида эукариотларни ишлатиш қулай?
4. Вирусларни репродукциясини нэчта босқичларга бўлиш мумкин?
5. Грипп вирусини тузулиш схемаси қандай?
6. Прокариот ёки бактериофагларни вирусларида ўзаро структурали функциянал (тузулиши ва фаолияти) бўйича ўхшашликлари борми?
7. Вироидлар таркибидаги РНКни нуклеотидлари кетма- кетлигига кўра нэча хил гуруҳга бўлинади?
8. Археобактериялар ичидан қайси бактериялар катта ахамиятга эга?
9. Қадимги эукариотик микроорганизмларининг эндоцитози натижаси қандай?
10. Эубактэриялар ўз ичига нималарни олади?
11. Цианобактэриялар атмосфэрага муҳим қандай моддани йэтказиб бэрувчи хисобланади?
12. Цианобактэриялар атмосфэрадан қандай моддани ютадилар (қайд қиладилар)?

БИОТЕХНОЛОГИК АТАМАЛАР РЎУХАТИ

English	Russian	Uzbek
Abortive infections A viral infection in which viral replication does not occur or does not produce viral progeny that are capable of infecting other host cells.	Вирусное заражение, в котором не происходит репликации вирусной ДНК и не продуцирует заражать другие клетки-хозяина	Replikatsiyalanmasdan boshqa ho'jayin hujayralarini zararlay oladigan virusli infeksiya.
Abrasion An area denuded of skin, mucous membrane, or superficial epithelium by rubbing or scraping.	Оголенный участок кожи, слизистой мембраны и поверхностного эпителия образуемый посредством натирания или царапания.	Teri, organlar shilliq qavati va ustki epiteliy qavatlarining shikastlanishidan qolgan joy.
Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) An infectious disease syndrome caused by HIV retrovirus, characterized by the loss of normal immun response system functions, followed by various opportunistic infections.	Синдром иммунодефицита человека (СПИД) Синдром заразного заболевания причиненного ВИЧ ретровирусомб которой характеризуется снижением функции иммунораспознавания, следующим за этим заражением различными инфекциями.	Ortirilgan immun tanqisligi sindromi (OITS) HIV retroviruslari orqali yuqadigan infesion sindrom bo'lib, immun sistemaning pasayishi bilan haracterlanadi.
Actin Protein of the muscles' fibres. It forms part of an actin-myosin construction complex.	Актин Белок мышечных волокон. Входит в состав актомиозина- основного сократительного мышечного белка.	Actin Muscul tolasi oqsili bo'lib, o'z tarkibiga muscullarni qisqartiruvchi oqsil aktinomizinni oladi.
Actinomycetes Members of an order bacteria in which species are characterized by formation of branching and/or true filaments	Actinomycetes . Представители рода бактерий, которые характеризуется формированием развлетвленному и/или истинных филаментов.	Aktinomitsetlar Bacteriyalarga mansub bo'lib, hivchinlarini tarmoqlanishi yoki haqiqiyligi bilan haracterlanadi.

Active immunity Immunity acquired as a result of the individual's own reactions to pathogenic microorganisms or their antigens; attributable to the presence of antibody or immune lymphoid cell formed in response to an antigenic stimulus

Active site The site on the enzyme molecule at which the substrate binds and the catalyzed reaction actually proceeds

Active transport Movement of materials across cell membranes from regions of lower to regions of higher concentration, requiring expenditure of metabolic energy

Acyl carrier protein

Adaptive enzymes Enzymes produced by an organism in response to the presence of a substrate or a related substance; also called *inducible enzymes*

Активированный иммунитет Иммунитет приобретенный как результат собственной индивидуальной реакции к патогенным микроорганизмом или их антигенам; определяется в присутствии антител или иммунных лимфоидных клеток, сформированных в ответ на антигенную стимуляцию.

Актив сайт Центр в молекуле фермента, в котором субстрат связывается и происходит собственно каталитическая реакция

Актив транспорт Движение веществ через мембрану со стороны меньшей концентрации в сторону высокой требующий метаболической энергии.

Ацилпереносящий белок Низкомолекулярный белок, компонент более крупного комплекса, участвующего в биосинтезе жирных кислот или поликетидов.

Адаптивные ферменты Индуктивные ферменты синтезируемые организмом в ответ на присутствие субстрата или соответствующее вещество.

Faol immunitet Patogen mikroorganismlar yoki ularning antigenlariga nisbatan individning o'zi hosil qiladigan immunitet.

Faol sayt Substrat bog'lanib katalitik reaksiya boradigan ferment qismi.

Faol transport Energiya hisobiga past konsentratsiyali joydan yuqori konsentratsiyali joyga moddalarni membrana orqali o'tishi.

Atsetil tashuvchi oqsil Yog' kislota va poliketid sintezida ishtirok etuvchi past molekulyali oqsil.

Adaptiv fermentlar Substrat mavjud bo'lgan paytda biror organism tomonidan ishlab chiqariladigan ferment. «Chaqiruvchi (qo'zg'ovci)» fermentlar deb ham yuritiladi.

Adaptor 1) Synthesed double-stranded oliginukleotid with one «blunt» and one «sticky» ends. After joining an adaptor with its blunt end on a target DNA, the last one can be inserted to a suitable vector using acquired «sticky» end.
2) Synthesed single-stranded oliginukleotid, by which after self hybridization are appearing a «sticky» ends and internal site for restricting endonuklease. As an adaptor is being inserted into cloning vector, by a last one appears a new site of restriction.

Adenine A purin base component of nucleotides that complementary to thymine and uracil.

Adenosin A mononucleoside consisting of adenin and D-ribose

Adenosin diphosphate (ADP) A high energy derivative of adenosin containing two phosphate groups, one less ATP; formed on the hydrolysis of ATP

Адаптор 1) Синтетический двухсепочечный олигонуклеотид с одним тупим концом и одним липким. После прешивание адаптора тупим концом к ДНК- мишени последнюю можно встраивать в подходящий вектор, используя приобретенный ею липкий конец. 2) Синтетический односепочечный олигонуклеотид, у которого после самогибридизации появляется липкие концы и внутренний сайт для рестрикующей эндонуклеазы. Когда адаптор встраивают в клонирующий вектор, у последнего появляется новый сайт рестрикции.

Аденин Пуриновое основание, комплементарное тимину и урацилу. Одно из азотистых оснований, входящих состав ДНК

Аденозин Мононуклеозид содержащий аденин и Д-рибозу.

АДФ Высокоэнергичная производное аденозина содержащего две фосфатные группы, на одну меньше чем АТФ образуется при гидролиза АТФ.

Adaptor 1) Bir ohirli va yopishqoq uchli polinucleotid. DNK nishonga adaptor bog'langandan so'ng yopishqoq uchlar yordamida mos keluvchi vectorni o'rnatish mumkin. 2) Bir zanjirli oligonucleotid bo'lib, o'z-o'zini gibridlashdan so'ng yopishqoq uchlar va restrictsion endonucleasalar uchun ichki sayt hosil qiladi. Adaptor clonlanadigan vectorga o'rnatilganda yangi restrictsion sayt hosil bo'ladi.

Adenin Timin va Uracilga komplementar bo'lgan DNK va RNK tarkibiga kiruvchi azotli purin asoslaridan biridir.

Adenosin Adenin va DNA-ribosadan iborat mononucleotid.

Adenosin difosfat (ADF) ATF moleculasi gidrolizidan hosil bo'luchi va bitta fosfat guruhining kamligi bilan farqlanuvchi yuqori energiyaga ega bo'lgan ATF qoldig'i.

Adenosin triphosphatase (ATPase) An enzyme that catalyzes the reversible hydrolysis of ATP; the membrane bound form of this enzyme is important in catalyzing the formation of ATP from ADP and inorganic phosphate.

Adenosin triphosphate (ATP) A major carrier of phosphate and energy in biological systems, composed of adenosine and three phosphate groups; the free energy released from the hydrolysis of ATP is used to drive many energy-requiring reactions in biological systems

Adhesins Substances involved in the attachment of microorganisms to solid surfaces; factors that increase adsorption

Adhesion factors Substances involved in the attachment of microorganisms to solid surfaces; factors that increase adsorption

Adhesion sites Site of association in Gram-negative bacteria between the plasma membrane and the outer membrane; Bayer junction

АТФаза Фермент катализирующий обратной гидролиз АТФ.

АТФ Распространенный носитель фосфата и энергии в биологических системах состоящий из аденозина и трех фосфатных групп. Свободная энергия ладиган qattiq yoki suyuq muhit.

Curing The loss of plasmids from a bacterial cell.

Бактерија хујайрасидан х.

Факторы адгезии Вещества включаемые для прикрепления микроорганизмов и твердой поверхности; факторы усиливающие адсорбцию.

Центры адгезии Центры соединения в грам-негативных бактериях между плазматической мембраной; соединение Байера.

Adenosin trifosfatasa (ATF asa) ATF ning qaytar gidrolizini shuningdek membranaga bog'liq turi ADF va anorganic fosfat ishtirokida ATF hosil bo'lishini katalizlovchi ferment.

Adenosin trifosfat (ATF) Biologik sistemalarda muhim fosfat va energiya manbai bo'lib, adenosin va uch ta fosfat guruhidan tashkil topgan. ATF gidrolizidan energiya ajralib biologik sistemalarning energiya talab qiladigan reaksiyalariga sarflanadi.

Adgezinlar Microorganismnlarni qattiq yuzaga yopishishini ta'minlovchi moddalar.

Adgezion omillar Microorganismnlarni qattiq yuzaga yopishishida adsorbsiyani kuchaytiruvchi omillar.

Adgezion qismlar Tashqi va plasmatic membrana o'rtasidagi yopishish joyi; Bayer birikish joyi deb ham yuritiladi.

Aerobes Microorganisms whose growth requires the presence of air or free oxygen

Aerobic Having molecular oxygen present; growing in the presence of air

Aerobic bacteria Bacteria requiring oxygen for growth

Aerobic respiration Metabolism involving a respiration pathway in which molecular oxygen serve as a terminal electron acceptor

Aflatoxin A carcinogenic poison produced by some stains of the fungus *Aspergillus flavus*

Agar A dried polysaccharide extract of red algae used as a solidifying agent in various microbiological media

Agglutinating antibody Agglutinin

Agglutination The visible clumping or aggregation of the cells or particles due to the reaction of surface-bond antigens with homologous antibodies

Agglutinin An antibody capable of causing the clumping or agglutination of bacteria or other cells.

Анаэробные микроорганизмы Микроорганизмы, растущие только в присутствии кислорода

Аэробное Имеющий присутствие молекулярного кислорода; рост в присутствии кислорода.

Аэробные бактерии Бактерии, которые необходим кислород для роста.

Аэробные дыхание Метаболизм включающая в себе дыхательную цепь в котором молекулярных кислород служит как конечных электронный акцептор.

Афлатоксин Канцирогенный токсин выделяемой некоторыми видами гриба *Aspergillus flavus*.

Агар Сухая полисахаридная вытяжка красных водорослей используемая в качестве затвердевающего агента в микробиологических средах.

Агглютинация Видимая агрегация клеток или частичек в результате реакции поверхностно-связанных антигенов с гомологичным антителом.

Агглютинация антител Антитело способное вызывать группирование или агглютинацию бактерий или других клеток.

Anaerob mikroorganismlar Faqatgina kislorodli muhitda o'sadigan mikroorganismlar.

Aerobik Oislorodli muhit; kislorodli muhitda o'sish.

Aerobik bakteriya O'sishi uchun kislorod talab qiladigan bakteriyalar.

Aerobik nafas olish Molekulyar kislorod terminal elektron akseptor vazifasini baajaradigan metabolism.

Aflatoksin *Aspergillus flavus* zamburug' shtammlaridan ajralaladiganrak qo'zg'ovchi toksin.

Agar Turli hil mikrobiologik oziqa muhitlarni quritishda foydalaniladigan qizil suvo'tlarning polisaharidli ekstrakti.

Agglyutinatsiyalanuvchi antitelo Agglutinin

Agglyutinatsiya Antigen va unga gomolog bo'lgan antitelo bilan yuzaga bog'lanish reaksiyasiga asosan hujayralarning aggregatsiyasi.

Agglutinin Bakteriya yoki hujayralarni agglyutinatsiya yoki yopishtirish qobiliyatiga ega bo'lgan antitelo.

Anticodon A sequence of three nucleotides in a t-RNA molecule that is complementary to the codon triplet in m-RNA

Антикодон Триплет нуклеотидов в молекуле тРНК, комплементарный нуклеотидам специфического кодона молекуле мРНК

Антифризный белок Богатый аланином белок, вырабатываемый в печени некоторых водных организмов и предотвращающий замерзание плазмы крови. Обнаружен также в клетках некоторых насекомых, растений и бактерий, где он регулирует образование кристаллов льда при низких температурах.

Antigen Any agent that initiates antibody formation and/or induces state of active immunological hypersensitivity and that can react with the immunoglobulins that are formed

Антиген Вещество, воспринимаемое организмом как чужеродное и вызывающее специфический иммунный ответ-выработку антител.

Antikodon mRNK moleculasidagi spetsific kodonga komplementar bo'lgan tRNK moleculasidagi triplet ketma-ketliklar

Antifriz oqsil Bir qancha suvda yashovchi mikroorganizmlar jigarida ishlab chiqariladigan, qon plasmasini muzlashdan saqlaydigan alaninga boy oqsil. Shuningdek bu oqsil hasharotlarda, o'simliklarda va bakteriyalarda topilgan bo'lib, past haroratda muz kristallarini hosil bo'lishini boshqaradi.

Antigen Organismda spetsific immun javob va o'ta sezuvchan immunitetni chaqiruvchi yot jism bo'lib, immunoglobulinlar bilan spetsifik tarzda reaksiyaga kirishadi.

Activated sludge The active microorganisms formed during the activated sludge secondary sewage treatment process that are used as an inoculum for the next batch treatment

Activated sludge process

An aerobic secondary sewage treatment process using sewage sludge containing active complex populations of aerobic microorganisms to break down organic matter in sewage

Activation energy The energy in excess of the ground state that must be added to a molecular system to allow a chemical reaction to start

Activator 1) Substance that enhance transcription of specific gene or operon. 2) Protein that binds to operator site and promote transcription of genes.

Активные микроорганизмы сформированные в процессе вторичной обработки отстое сточным вода которые используется как инокулум для следующего процесса обработки.

Вторичный анаэробный процесс обработка сточных вод используя отстой сточных вод содержащих комплекс популяций аэробных микроорганизмов, которые разлагают органические вещества в отстое.

Энергия активация

Излишек энергии начального положения, которое должно быть добавлено в молекулярную систему для начала химической реакции.

Активатор 1) Вещество, стимулирующее транскрипцию специфического гена или оперона. 2) Белок, связывающийся с оператором и ускоряющий транскрипцию; используется также название «активаторный белок».

Chiqindilarni ikkilamchi qayta ishlash jarayonida hosil bo'lgan faol mikroorganizmlar bo'lib, chiqindi materiallarni qisman parchalaydi va keyingi bosqichga tayyorlaydi.

Chiqindi mahsulotlarini ikkilamchi qayta ishlash jarayoni bo'lib, bunda chiqindilar faollashgan aerob bakteriyalar tomonidan parchalanadi.

Faollanish energiyasi

Kimyoviy reaksiyalar boshlanishi uchun kifoya qiladigan energiya miqdori.

Aktivator 1) Spesifik gen yoki operon transkripsiyasini barqarorlashtiradigan modda.

2) Operator bilan bog'lanadigan va transkripsiyani tezlashtiruvchi oqsil. «Aktivator oqsil» nomi bilan ham yuritiladi.

Adjuncts Starchy substrates, such as corn, wheat, and rice, that provide carbohydrates for ethanol production and are added to malt during the mashing process in the production of beer

Adjuvants Substances that increase the immunological response to a vaccine and, for example, can be added to vaccines to slow down adsorption and increase effectiveness; substances that enhance the action of a drug or antigen

ADP Adenosine diphosphate

Adrenaline Hormone secreted by the adrenal medulla to stress, causes a rise in blood pressure; used as a heart stimulant

Adsorption A surface phenomenon involving the retention of solid, liquid, gaseous molecules at an interface

Aer Combining from meaning air or atmosphere

Aerated pile method

Method of composting for the decomposition of organic waste material where the wastes are heaped in separate piles and forced aeration provides oxygen

Aerial mycelia A mass of hyphae occurring above the surface of a substrate

Крахмалистое субстраты, такие как кукуруза, пшеница и рис, которые снабжают углеводами для производства этанола и которые добавляются к солоду при солодоварении в процессе пивоварения

Помощники Вещества которые усиливают иммунологические усвоение вакцин и например, могут быть добавлены к вакцинам для снижения адсорбции и усиления эффективности. Вещества которые усиливают действия лекарства или антигена.

АДФ Аденозин дифосфат.

Адреналин Гормон секретируемый надпочечниками в стрессе, вызывает повышение кровяного давления; используется как сердечный стимулянт.

Адсорбция Поверхностное явление проявляющееся удержании твёрдых, жидких, газообразных молекул на поверхности.

Сочетание смысла с воздухом или атмосфером.

Метод компостирования для расположения органических отходов, где отходы сложены в отдельных стопках и усиленное аэрирование проводится кислородом
Масса гифов находится на поверхности субстрата.

Makkajo'gori, bug'doy va sholining kraxmalli moddasi bo'lib, etanol ishlab chiqarishda uglevod vazifasini bajaradi va asal tayyorlashning ezish jarayonida solodga qo'shiladi.

Adyuvantlar Vaksinalarga qo'shilganda immun javobni oshiruvchi, ularning adsorbsiyasini pasaytiruvchi, effektivlikni oshiruvchi va dori yoki antigen ta'sirini kuchaytiruvchi moddalar.

ADF Adenozin difosfat

Adrenalin Buyrak usti bezidan ajralib, stress holatni vujudga keltiruvchi, qon bosimini oshiruvchi gormon. Shuningdek yurak stimulant sifatida ham ishlatiladi.

Adsorbsiya Qattiq, suyuq, gaz molekularini yuzaga yutilishi.

Aer Havo yoki atmosfera mazmunini anglatadi.

ORGANIK
CHIQUINDILARNI
ALOHIDA UYUMLARGA
AJRATGAN HOLDA
KISLOROD YORDAMIDA
PARCHALASH USULI.

Substrat yuzasini qoplagan gifalar uyumi.

Agricultural microbiology

The study of the role of microorganisms in agriculture

Agrobacterium Motile

Gram-negative rods; metabolism respiratory; optimal growth 25 to 30°C; G+C59.6-62,8

AIDS Acquired immune deficiency syndrome

Airlift fermenter

Cylindrical fermenter, in which stirring is implemented by an upstream gas supply.

Alcoholic fermentation

Conversion of sugar to alcohol by microbial enzymes; fermentation that produces alcohol (ethanol) carbon dioxide from glucose; also known as ethanolic fermentation

Ale Alcoholic beverage produced

with top-fermenting

Saccharomyces cerevisiae and a high concentration of hops to produce a tart taste and a high alcohol concentration

Alpha hemolysis Partial hemolysis of red blood cells as evidenced by the formation of a zone of partial clearing around certain bacterial colonies growing on blood agar.

Изучение роли микроорганизмов в сельском хозяйстве.

Agrobacterium

СПИД Синдром иммунодефицита

Эрлифтный биореактор

Цилиндрической биореактор, в котором перемешивание осуществляется потоком газа, подаваемого снизу.

Спиртовое брожение

Преобразование сахара в спирт микробными ферментами. Брожение в котором спирт (этанол) и CO₂ производятся из глюкозы известен как этанольное брожение.

Эль пиво Спиртной напиток полученный

использованием

высокоображивающих *Saccharomyces cerevisiae* и высокой концентрации хмеля для терпкого вкуса и высокого содержания алкоголя.

Qishloq ho'jalik**mikrobiologiyasi**

Mikroorganizmlarni qishloq ho'jaligidagi ahamiyatini o'rganuvchi fan.

Agrobacterium

Tayoqchasimon harakatchan Gramm manfiy bakteriya.

Optimal o'sish harorati

25°C-30°C oralig'ida.

G+C59.6-62,8

OITS Ortirilgan immunitet tanqisligi sindromi.

Erlift bioreaktori Gaz potoklarini pastga tushishi bilan aralashish jarayoni boradigan silindrsimon bioreaktor.

Spirтли fermentatsiya

Shakarni mikroorganizm fermentlari yordamida spirtga parchalanish jarayoni bo'lib, fermentatsiyada glyukozadan spirt (etanol) va karbonat anhidrid hosil bo'ladi. Shuningdek etanol fermentatsiyasi deb ham yuritiladi.

El pivosi Ko'p miqdordagi xmel o'simligini

Saccharomyces cerevisiae

achitqisi bilan bijg'itish

natijasida hosil bo'lgan

yuqori alkogol

konsentratsiyali va nordon

ta'mli spirtli ichimlik.

Alfa gemolis

Qizil qon hujayralarini qisman gemolizi bo'lib, ma'lum bir bakteriya koloniyasini qon agarida o'sish jarayonida yashillanish zonasini hosil bo'lishi bilan isbotlanadi.

Algae A heterogeneous group of eucariotic, fotosynthetic, unicellular and multicellular organisms lacking true tissue differentiation

Algicides Chemical agents that kill algae

Alginate Polysaccharide synthesized by numerous algae and bacteria; consist of rest of β -D mannouronate and α -L-guluronate.

Alkaline A condition in which hydroxyl (-OH) ions are in abundance; solutions with in ph greater than 7.0 are alkaline basic

Alkalophiles Bacteria that live at very high ph; bacteria that live under extremely alkaline conditions, having developed mechanisms for keeping sodium and hydroxide ions outside the cell

Allele One or more alternative forms of giving gene concerned with the same trait or characteristic; one of a pair of multiple forms of gene located at the same locus of homologous hromosomes.

Водоросли Гетерогенная группа эукариотический фотосинтезирующих, одноклеточных и многоклеточных организмов, не имеющих истинную тканевую дифференциацию.

Алгициды Химическая соединение убивающие водоросли.

Альгинат Полисахарид, синтезируемый различными водорослями и бактериями; состоит из остатков β -D манноураната и α -L-гулураната.

Щелочной Среда в которой (-OH) ионы в избытке; растворы с pH большая чем 7,0 щелочные.

Алкалофилы Бактерии, которые живут при высоких pH; бактерии которые живут в экстремально щелочных условиях, которые усовершенствовали механизмы поддержания натрий и гидрооксид ионов вне клетки.

Аллель Одна из двух (или нескольких) альтернативных структурных форм гена.

Suvo'tlar Fotosintezlovch bir yoki ko'p hujayrali, haqiqiy differensiyatsiyaga ege bo'lmagan to'qimali eukariot guruhlaridan biri.

Algitsidlar Suvo'tlarni nobud qiluvchi kimyoviy birikmalar.

Alginat Turli bakteriya va suvq'tlarda sintezlanadigan, β -D mannouronat va α -L-guluronat qoldiqlaridan tashkil topgan polisaharid.

Ishqorlar (OH)⁻ ionlari ko'p bo'lgan ya'ni pH 7,0 dan yuqori bo'lgan eritmalar; asoslar.

Alkophillar Juda yuqori pH sharoitida ya'ni nihoyatda ishqoriy muhitda yashaydigan bakteriyalar bo'lib, hujayra tashqarisida tuz va gidroksil guruhlarini saqlovchi mehanizmlar rivojlangan.

Allel Ikki (yoki birnecha) alternativ structura gen formalaridan biri.

Alternative splicing

Joining of gene's exons in different combinations forming numerous matured mRNA molecules.

Amastigotes

Rounded protozoan cell lacking flagella; a form assumed by some species of *Triponosomatidae*, e.g., *Plasmodium*, during a particular stage of development.

Amino An $-NH_2$ group

Amino acids A class of organic compounds containing an amino ($-NH_2$) group and a carboxyl ($-COOH$) group

Aminoend The end of a peptide chain or protein with a free amino group, i.e., an alpha amino group not involved in forming the peptide bond.

Aminoacyl site A site in ribosome, which binds aminoacyl-tRNA during the translation.

Aminoacyl t-RNA

Molecule tRNA that specific aminoacid binds to 3-end.

Альтернатив сплайсинг

Соединение экзонов данного гена в разных комбинациях с образованием различающихся зрелых молекул мРНК.

Амастиготы

Округленные клетки протозоа не имеющие флагеллы; форма допускаемая некоторыми видами *Triponosomatidae* и *Plasmodium* в течении особого этапа развития.

Амино $-NH_2$ группы

Аминокислота

Мономерная единица белковых молекул

Аминоконец Конец пептидной цепи или протеина со свободными амино группами, -амино группа не включается в образование пептидных связей.

Аминоацильный сайт, А-сайт Участок рибосомы, связывающий аминоксил-т-РНК в процессе трансляции.

Аминоацил-тРНК

Молекула тРНК, к 3- концу которой присоединена специфическая аминокислота

Alternativ splaying

Ma'lum genlar ekzonlarini turli kombinatsiyalarda qo'shilishidan turli hil etilgan mRNK larning hosil bo'lishi

Amastigotes

Rivojlanishning ma'lum bosqichida *Plasmodium*, asosan *Triponosomatidae*larning ko'p turlari bo'lib, yumaloq, hivchinsiz bir hujayralilardir.

Amino NH_2 guruhi

Aminokislota Amino va karboksil guruhlaridan iborat bo'lgan oqsil moleculasining monomeri.

Aminoohir Peptid zanjiri yoki oqsil moleculasini erkin aminokislota bilan tugagan ohirgi qismi bo'lib, alfa amino guruh peptid bog' hosil qilishda ishtrok etmaydi.

Aminoatsil sayt, A-sayt

Translyatsiya jarayonida aminoatsil mRNKni bog'lovchi ribosoma qismi.

Aminoatsil-tRНК 3^l

ohiriga spetsific aminokislota bog'lanadigan tRНК moleculasi.

Anaerobes Organisms that grow in the absence of the air or oxygen; organisms that do not use molecular oxygen in respiration

Biological control The deliberate use of one species of organism to control or eliminate populations of other organisms; used in the control of pest populations.

Biolistics (Microprojectile bombardment).

Biomass The dry weight, volume, or other quantitative estimation of organisms; the total mass of living organisms in an ecosystem.

Анаэробные микроорганизмы Микроорганизмы, растущие в отсутствие кислорода.

Биоконтроль Процесс, в котором используется живые организмы для ограничения роста и развития патогенных микроорганизмов

Баллистическая трансфекция Введение ДНК в растительные и животные клетки или органеллы с помощью вольфрамовых или золотых шариков. ДНК осаждают, покрывают ею шарики и «обстреливают» ими клетки.

Биомасса 1) Клеточное масса, образующаяся в результате жизнедеятельности живых организмов. 2) Органическое вещество, которое может использоваться как источник энергии или химических соединений.

Anaerob microorganismlar Kislordsiz muhitda o'sadigan microorganismlar.

Biokontrol Patogen microorganismlarni o'sishi va rivojlanishini tirik organismlardan foydalangan holda cheklash jarayoni.

Ballistik transfeksiya Volfram va oltin shariklar yordamida o'simlik va hayvon hujayrasiga DNK yoki organellalarni kiritish. DNK cho'ktiriladi, shariklarini to'ldiriladi va hujayralarga kiritiladi.

Biomassa Tirik organismlarning hayot faoliyati natijasida hosil bo'ladigan hujayralar massasi. Energiya manbai yoki kimyoviy birikma sifatida foydalaniladigan organik modda. Organizmlarning quruq massasi, hajmi, yoki boshqa miqdoriy belgilari. Ekosistemadagi tirik organizmlarning umumiy massasi.

Bystander effect**«Эффект свидетеля»**

Уничтожение немодифицированных опухолевых клеток цитотоксичным продуктом, синтезируемый соседними генетически трансформированными клетками.

«Guvoh effekti»

modifitsirlanmagan rak hujayrasini genetik transformatsiyalangan qo'shni hujayra sitotoksik mahsuloti yordamida bartaraf qilish.

Bioremediation The use of biological agents to reclaim soils and waters polluted by substances hazardous to human health and/or the environment; it is an extension of biological treatment process that have traditionally has been used to treat wastes in which microorganisms typically used to biodegrade environmental pollutants.

Биодеградация

Разрушение загрязняющих веществ, попавших с окружающей среду, с помощью живых микроорганизмов.

Biodegradatsiya

Microorganismalar yordamida tashqi muhitdagi zararli moddalarni parchalash.

Biosynthesis The production of chemical substances by the metabolic activities of living organisms.

Biosintez Metabolitlarni tirik organizmlar tomonidan sintezlanishi.

Biotechnology The modern use of biological systems for economic benefit.

Biotehnologiya Biologik sistemalardan iqtisodiy manfaatlar yo'lida foydalanish

Candidate gene

Ген кандидат
Структурный ген геном человека, мутация в котором лишь предположительно является причиной конкретного наследственного заболевания

Nomzod gen Biror bir irsiy kasallikni keltirib chiqaruvchi odam genomidagi struktura genlardan biri.

Candidate gene cloning

Кандидатное картирование Стратегия идентификации гена конкретного заболевания основанная на данных о возможном продукте данного гена

Nomzod genni haritalash Ma'lum genning mahsulotiga qarab aniq bir kasallikni boshqaruvchi genni identifikatsiyalash strategiyasi.

Capsid A protein coat of a virus enclosing the naked nucleic acid.

Капсид Белковая оболочка вирусной частицы

Kapsid Virusning oqsilli qobig'i

Carcinogen Cancer-causing agent.

Кассета Группа тамдемных тесно сцепленных, функционально связанных локусов. Пример-кассетная модель половых типов у дрожжей

Kansirogen Rakqo'zg'ovchi omillar.
Kasseta Lokuslarga funksional birlashgan va juft holda zich joylashgan guruh. Masalan; achitqilarning jinsiy kasseta modeli.

Cellulose A linear polysaccharide of β -D-glucose.

Cellulosome

Centimorgan

Целлюлоза
Высокомолекулярный линейный полисахарид, состоящий из остатков β -D-глюкозы, соединенных 1-4 связями. Участвует в образовании структурного скелета растительных клеток.

Целлюлосома
Многокомпонентный белковый агрегат, присутствующий в клетках некоторых целлюлолитических микроорганизмов и содержащий все ферменты, обеспечивающие полное расщепление целлюлозы.

Сантиморганида, сМ
Единицы измерения расстояния на генетической карте. 1сМ соответствуют расстоянию между генами, рекомбинация между которыми происходит с частотой 1%. Для хромосом человека 1сМ равна примерно 10^6 п.н. Эта единица была введена Т. Морганом, когда он проводил эксперименты по изучению генетической сцепления у *Drosophila*.

Ssellyuloza 1-4 bog'lari orqali bir-biriga bog'langan β -D-glyukoza qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekulali chiziqli polisaharid bo'lib, o'simlik hujayrasi tayanch structurasini hosil qilishda ishtirok etadi.

Sselyulosoma Bir qancha sselyuloza parchalovchi mikroorganizmlarda uchrovchi va sselyulozani to'liq parchalanishini ta'minlovchi barcha fermentlarga ega bo'lgan murakkab komponentli oqsilli agregat.

Santimorganida,sm
Genetik kartadagi 1 sm genlar orasidagi oraliq va ular orasidagi rekombinatsiya 1%li chastota bilan yuz beradi. Odam xromosomasi uchun 1sm 10^6 juft nukleotidga teng. Bu birlikni T. Morgan *Drosophila* da o'tkazgan chatishtirish tajribalar paytida kiritgan.

Chimera

Химера Организм, включающий клетки, в ткани и органы разных организмов.

Ximera Boshqa organizmning turli hil organlarini, to'qimqlarini va hujayralarini o'zida jamlagan organizm.

Chitinase

Хитиназа Фермент синтезируемый растениями при заражении патогенными грибами: гидролизует хитин клеточной стенки грибов. Хитиназу синтезирует и некоторые бактерии.

Xitinaza O'simliklar bir qancha patogen zamburug'lar bilan kasallanganda zamburug'lar hujayra devoridagi xitinni gidrolizlab nobud qiluvchi ferment bo'lib, ko'pgina bakteriyalarda ham sintezlanadi.

Chlorosomes Vesicles that contain photosynthetic antenna pigments in some green photoautotrophic bacteria.

Xlorosomalar Bir necha yashil fotoavtotrofik bakteriyalarda uchrovchi fotosintetik pigmentli sharchalar.

Chromogenic substrate

Хромогенный субстрат Вещество, приобретающее определенную окраску после расщепления специфическим ферментом.

Xromogen substratlar Spetsifik ferment ta'siridan so'ng rang beruvchi modda.

Chromosome

Хромосома Структура, основу которой составляет конденсированная молекула ДНК; носитель генетической информации. Способна к воспроизведению с сохранения структурно-функциональной индивидуальности в ряде поколений. У эукариот находится в ядре клетки, у прокариот - непосредственно в цитоплазме.

Xromosoma DNK molekula zich joylashgan irsiy ahborotni tashuvchi, eukariotlarda hujayra yadrosi ichida va prokariotlarda bevosita ssitoplazmada bo'ladigan struktura.

Chromosome jumping

«Прыжки по хромосоме» Один из вариантов метода «прогулки по хромосоме», характеризующийся тем, что в результате мутации маркерный ген, использующийся для скрининга, перемещается что позволяет выявить новые сцепленные с ним гены.

«Xromosoma bo'ylab sakrash» Skringing uchun qo'llaniladigan marker gen mutatsiyasi natijasida

Chromosome walking

Прогулка по хромосоме Метод идентификации нуклеотидных последовательности фланкирующих известные гены, для которых имеется олигонуклеотидные зонды. Фланкирующие последовательности используются затем в качестве зондов для идентификаций прилегающих к ним последовательности , и т.д.

«Xromosoma bo'ylab yuish» Oligonukleotid zondlariga ega oldindan ma'lum bo'lgan flankirlanuvchi gen nukleotidlar ketma-ketligini identifikasiyalash uslubi bo'lib, flankirlangan ketma-ketlikka identifikatsiya qilish uchun birlashadigan ketma-ketliklarni aniqlashda zond sifatida qo'llaniladi.

Cistron

Цистрон Генетическая единица, эквивалентная гену и кодирующая отдельный белок.

Ssistron Gen va kodlanuvchi alohida oqsilga ekvivalent bo'lgan genetik birlik

Codon	Кодон Три соседних нуклеотида, кодирующих определенную аминокислоту. Всего существует 64 сочетание нуклеотидов в кодонах; 61 из них кодируют 20 аминокислот, 3 является нонсенс-кодонами	Kodon Aminokislotalarni kodlovchi triplet nukleotidlar. Kodonda jami 64 ta nukleotid bo'lib, bulardan 61 tasi 20 ta aminokislotani kodlasa, 3 tasi terminal kodon hisoblanadi.
Codon optimization	Оптимизация кодонов Модификация кодонов данного гена без изменения аминокислотной последовательности кодируемого им белка, направленная на то чтобы кодоны эффективно считывались хозяйским организмом.	Kodonlar optimizatsiyasi Ma'lum bir oqsilning gen kodonlarining aminokislota ketma-ketligini o'zgartirmagan holda modifikatsiyasi bo'lib, bu kodon ho'jain organizmi uchun effektiv ta'sir qilishiga yo'naltirilgan
Codon usage	Частота использования кодона Средняя частота использования кодона данным организмом, полученная для большой выборки структурных генов.	Kodonning ishlatilish chastotasi Organizm struktura genida biror kodonning o'rtacha uchrash chastotasi.
Cofactors Inorganic substances, such as minerals, required for enzymatic activity.	Кофактор Низкомолекулярное вещество, необходимое для протекания определенной ферментативной реакции	Kofaktor Fermentativ reaksiyalar uchun zarur bo'lgan past molekulyar massali anorganik molekula.
Cofermentation	Коферментация Одновременный рост двух микроорганизмов в одном биореакторе.	Kofermentatsiya Bir bioreaktorda ikki hil mikroorganizmlarni o'sishi.
Cohesive ends	Липкие концы Взаимно комплементарные одноцепочечные участки ДНК, выступающие по концам двухцепочечной молекулы; образуются в результате ступенчатых разрезов двухцепочечной ДНК.	Yopishqoq uchlar Ikki zanjirli molekula uchlariga kiruvchi o'zaro komplementar bo'lgan bir zanjirli DNK qismi bo'lib, bu ikki zanjir DNKni bosqichli kesish jarayonida hosil bo'ladi.

Cointegrative vector system

Коинтегративная векторная система Двух плазмидная система, используемая для переноса клонированных генов в растительные клетки. Клонированный вектор несет участок T-ДНК, содержащий клонированный ген. После введения в клетку *Agrobacterium* он подвергается гомологичной рекомбинации с резидентной «разоруженной» Ti-плазмидой с образованием одной плазмиды, несущей генетическую информацию, необходимую для переноса генетически измененной области T-ДНК в растительную клетку.

Kointegrativ vektor sistemasi O'simlik hujayrasiga klonlangan genni o'kazish uchun foydalanadigan qo'sh plazmidli sistema. Klonlanadigan gendan tashkil topgan T-DNK qismini tashuvchi klonlanuvchi gen. Bu *Agrobacterium* hujayrasiga kiritilganda bunda Ti-plazmid gomologik rekombinatsiyaga uchraydi. U onkogen bo'lmagan Ti-plazmid bilan rekombinatsiyaga uchrab butun bir plazmid hosil qiladi va irsiy o'zgargan T-DNK qismlariga javob beruvchi irsiy ahborotni saqlaydi. So'ngra o'simlik hujayrasiga kiritiladi.

Chimera

Химера Организм, включающий клетки, в ткани и органы разных организмов.

Ximera Boshqa organizmning turli hil organlarini, to'qimqlarini va hujayralarini o'zida jamlagan organizm.

Chitinase

Хитиназа Фермент синтезируемый растениями при заражении патогенными грибами: гидролизует хитин клеточной стенки грибов. Хитиназу синтезирует и некоторые бактерии.

Xitinaza O'simliklar bir qancha patogen zamburug'lar bilan kasallanganda zamburug'lar hujayra devoridagi xitinni gidrolizlab nobud qiluvchi ferment bo'lib, ko'pgina bakteriyalarda ham sintezlanadi.

Chromogenic substrate	Хромогенный субстрат Вещество, приобретающее определенную окраску после расщепления специфическим ферментом.	Xromogen substratlar Spetsifik ferment ta'siridan so'ng rang beruvchi modda.
Chromosomal integration site	Хромосомный сайт интеграции Место в хромосоме куда может встроиться чужеродная ДНК, часто без всяких последствий для организма - хозяина.	Xromosomaning itegratsiya sayti Yot DNK molekulasi xromosomaga birikishi mumkin bo'lgan joy.
Chromosome	Хромосома Структура, основу которой составляет конденсированная молекула ДНК; носитель генетической информации. Способна к воспроизведению с сохранения структурно-функциональной индивидуальности в ряде поколений. У эукариот находится в ядре клетки, у прокариот - непосредственно в цитоплазме.	Xromosoma DNK molekula zich joylashgan irsiy ahborotni tashuvchi, eukariotlarda hujayra yadrosi ichida va prokariotlarda bevosita ssitoplazmada bo'ladigan struktura.
Chromosome jumping	«Прыжки по хромосоме» Один из вариантов метода «прогулки по хромосоме», характеризующийся тем, что в результате мутации маркерный ген, использующийся для скрининга, перемещается что позволяет выявить новые сцепленные с ним гены.	«Xromosoma bo'ylab sakrash» Skrining uchun qo'llaniladigan marker gen mutatsiyasi natijasida

Cloning**Клонирование**

Совокупность процедур, используемых для получения клонов. Клонирование многоклеточных организмов, например, включает пересадку ядер соматических клеток в оплодотворенное яйцо с удаленным пронуклеусом.

Klonlash Klonlash ko'p bosqichli jarayon bo'lib uning asosida urug'langan tulum hujayraning pronukleusi olib tashlanadi va uning o'rniga somatik hujayra yadrosi kiritiladi

Cloning site**Сайт встраивания (клонирования)**

Специфический участок векторной молекулы, в который встраивают фрагмент чужеродной ДНК. Очень часто это уникальный сайт рестрикции.

Klonlash sayti Yot DNK o'rnatiladigan va restriksiya uchun qulay bo'lgan vektor molekulasining spetsifik uchastkasi.

Cloning vector
Segment of DNA used for the replication of foreign DNA fragments.

Клонирующий вектор
Молекула ДНК, предназначенная для клонирования ДНК-мишени.

Klonlanuvchi vektor
DNK nishonni klonlash uchun oldindan tanlab olingan DNK molekulasi (plazmid yoki virus DNKsi).

Clostridium Rods, usually motile by means of peritrichous flagella; form endospores; Gram-positive but may appear Gram-negative in the late stages of growth;

Clostridium
Tayoqchasimon, harakatchan, peritrixik hivchinli endosporalar hosil qiladigan bakteriyalar. Gram musbat lekin o'sish bosqichining oxirilarida Gram manfiy bo'lib, ko'pgina shtammlari anaerob. G=C 23-43 mol %.

Cofactors
Inorganic substances, such as minerals, required for enzymatic activity.

Кофактор
Низкомолекулярное вещество, необходимое для протекания определенной ферментативной реакции

Kofaktor Fermentativ reaksiyalar uchun zarur bo'lgan past molekulyar massali anorganik molekula.

Cofermentation	Коферментация Одновременный рост двух микроорганизмов в одном биореакторе.	Kofermentatsiya Bir bioreaktorda ikki hil mikroorganizmlarni o'sishi.
Cohesive ends	Липкие концы Взаимно комплементарные одноцепочечные участки ДНК, выступающие по концам двухцепочечной молекулы; образуются в результате ступенчатых разрезов двухцепочечной ДНК.	Yopishqoq uchlar Ikki zanjirli molekula uchlariga kiruvchi o'zaro komplementar bo'lgan bir zanjirli DNK qismi bo'lib, bu ikki zanjir DNKni bosqichli kesish jarayonida hosil bo'ladi.

Cosegregation

Косегрегация Феномен, состоящий в том, что два признака наследуются совместно, т.е. их гены при кроссинговере не разделяются.

Kosegeratsiya

Krossingover jarayonida genlarni ajralmay ikki belgini birdaniga irsiylanishi.

Cosmid Phage plasmid artificial hybrids; a genetically engineered hybrid of bacteriophage lamda and plasmid that contains *cos* sites needed to package lamda DNA into its particles.

Космида Вектор, объединяющий свойства плазмидного вектора и вектора на основе фага λ . Имеет *cos*-сайты.

Kosmida *cos*-saytiga ega bo'lgan, λ fag vektori asosidagi vektor va plazmid vektor hususiyatini o'zida jamlagan vektor.

Cos sites

Сос-сайты Нуклеотидные последовательности на концах генома фага λ , необходимые для упаковки ДНК в фаговые частицы.

Cos-saytlar Fag bo'laklaridagi DNKlarni o'rashda ishtirok etuvchi λ -fag genomi ohiridagi nukleotidlarketma-ketligi.

Cosuppression

Косупрессия Подавление экспрессии специфического растительного гена при трансформации растения дополнительной копией этого гена, включенно в «смысловой» ориентации.

Kosupressiya Bir genni qo'shimcha kopiyalashda o'simlik genining spetsific ravishda ekspressiyasini pasayib ketishi bo'lib, «aynigan orientatsiya» deb ham ataladi.

CpG islands (Hpa II tiny fragments)	CG-островки, HTF-островки GG-богатые последовательности размером до несколько сотен пар; фланкируют с 5-конца многие транскрибируемые гены позвоночных и содержат сайты рестрикции для <i>HpaII</i> .	CG-orollar, HTF-orollar HPAII uchun restriksion saytga ega bo'lgan va umurtqalilarning ko'p transkripsiyalanadigan 5 ¹ yo'nalish bo'yicha flankirlanadigan CG ketma-ketlikka boy bo'lgan bir necha yuz juftlik.
Crossing (mating)	Скрещивание Однократная скрещивание генетически различающихся организмов.	Chatishtirish Genetik jihatdan turli-hil bo'lgan organizmlarni o'zaro chatishtirish.
Crossing-over	Кроссинговер Взаимный обмен участками гомологичных хромосом, основанный на разрыве-соединении хроматид и приводящий к новой комбинации аллелей. Называется также рекомбинацией.	Krossingover Bu jarayon rekombinatsiya deb ham atalib, hromotidlarni qirqilib qo'shilishi natijasida jangi allellar kombinatsiyasini keltirib chiqaruvchi gomologik xromosomalarni o'zaro qismlar almashinuvidir.
Crown gall	Корончатый галл Опухоль растений, образование которых вызывают бактерии рода <i>Agrobacterium</i> .	Ildiz pufakchasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> bakteriya chaqiruvchi o'simlik shishi.
Culture To encourage the particular microorganisms under controlled conditions; the growth of particular types of microorganisms on or within a medium as a result of inoculation and incubation.	Культура Популяция клеток или микроорганизмов, выращиваемых условиях <i>in vitro</i> .	Kultura <i>in viro</i> sharoitida o'stirilib boshqariladigan mikroorganizmlar yoki hujayralar populyatsiyasi.

Degalogenation	Дегалогенирование Отщепление атома галогена.	Degalogenizatsiya Galogen atomini chiqarib tashlash.
Degenerate primers	«Вырожденные» праймеры Синтетические олигонуклеотиды, в одном из сайтов которых находятся разные основания.	Aynigan praymerlar Turli asoslardan tuzilgan sintetik oligonukleotid saytlaridan biri.
Denaturation The alteration in the characteristics of a organic substance, especially a protein, by physical or chemical action; the loss of enzymatic activity due to modification of the tertiary protein structure.	Денатурация 1) Расхождение цепей двухцепочечной молекулы ДНК или РНК.2) Нарушение нативной конформации биологической макромолекул в результате разрушение нековалентных связей.	Denaturatsiya 1) Ikki zanjirli DNK yoki RNK molekulasinig ajralishi. 2) Biol;ogik makromolekulalarning kovalent bo'lmagan bo'lmagan bo'glarini uzilishi natijasida tabiiy komformatsiyaning buzilishi.

<p>Deoxiribonucleic acid (DNA) The carrier of genetic information; a type of nucleic acid occurring in cells, containing adenine, guanine, cytosine and thymine, and D2-deoxiribose linked by phosphodiester binds.</p>	<p>Дезоксирибонукленовая кислота, ДНК Полимер, состоящий из дезоксирибонуклеотидов; видоспецифичный носитель генетической информации.</p>	<p>Dezoksiribonuklein kislota, DNK Genetik informatsiyani tashuvchi dezoksiribonucleotidlardan tashkil topgan polimer.</p>
<p>Deoxyribose A 5 carbon sugar having one oxygen less than the parent sugar ribose; a component of DNA.</p>	<p>Дезоксирибоза Пятиуглеродный моносахарид, входящий в состав ДНК.</p>	<p>Dezoksiriboza DNK tarkibiga kiradigan besh uglerodli monosaharid.</p>
<p>Derepress The regulation of transcription by reversibly inactivating a repressor protein.</p>	<p>Дезоксирибозим Молекула ДНК, обладающая каталитической активностью. Дерепрессия Индукция транскрипции гена в результате подавление функций репрессора - блокирование его связывания с промотором</p>	<p>Dezoksiribozim Katalitik aktivlikka ega bo'lgan DNK molekulasi. Derepressiya Gen transkripsiyasini induksiyasi bo'lib, repressorning promotor bilan bog'lanishini blokirlash natijasida repressor funksiyasini</p>
<p>Desiccation Removal of water; drying.</p>		<p>Suv ajralish yoki quritish.</p>

Diaminopimelic acid	Диаминопимелиновая кислота Непосредственный предшественник L-лизина бактерии и растений, один из компонентов клеточной стенки у некоторых бактерий.	Diaminopimelin kislota Bir qancha bakteriyalar hujayra qobig'ini tashkil qiluvchi, bakteriya va o'simlik hujayrasida L-lizinning bevosita yo'ldoshi hisoblanadi.
Dideoxynucleotide	Дидезоксинуклеотид Полученный искусственным путем нуклеозидфосфат, лишенный 2 и 3 гидроксилных групп при углеродных атомах сахарного кольца.	Didezoksinukleotid Uglevod halqasidagi uglevod atomida 2-3 gidroksil guruhlari ortiqcha bo'lgan sun'iyusulda sintezlanuvchi nukleozidfosfat.
Dihydrofolatereductase	Дигидрофолатредуктаза Фермент, катализирующий образование тетрагидрофолиевой кислоты	Digidrofolatreduktasa Tetrogidrofolin kislotaning hosil bo'lishini katalizlaydigan ferment
Diazotroph	Диазотроф Организм, способный фиксировать азот	Diazotrof Azot fiksatsiyasi qobiliyatiga ega bo'lgan organism.

Disulphide bond	Дисульфидная связь Ковалентная связь между двумя атомами серы, входящими в молекулы цистеина. Стабилизирует тетраичную структуру полипептидных цепей.	Disulfid bog'lar Polipeptid zanjirini uchlamchi strukturasi stabilaydigan, ssistein molekulasiga kiradigan kitta oltinugurt orasidagi kovalent bog'dir.
Dithiothreitol	Дитиотрейтол Низкомолекулярный тиолсодержащий восстанавливающий агент. Добавляется в буферные растворы в низкой концентрации для предотвращения окисления сульфгидрильных групп в белках. В высоких концентрациях используется для восстановления дисульфидных связей.	Ditiotreytol Past molekulali tiol tarkibga ega bo'lgan qayta tiklovchi agent. Past konsentratsiyali eritmasi buferga quyilib oqsildagi sulfidrid bog'larini oksidlanishini oldini olishda qo'llaniladi. Yuqori konsentratsiyali eritmalari esa disulfid bog'larini qatta tiklashda ishlatiladi.
Dominancy	Доминирование, доминантность Участие только одного аллеля в определении признака у гетерозиготной особи.	Dominantlik Bir allel ishtirokidagi belgini yuzaga chiqarishda geterozigota holatda ustunlik qilish.
Dominant gene	Доминантный ген Ген, проявляющийся в фенотипе независимо от присутствия в геноме другого аллеля этого гена.	Dominant gen O'z alleli genomda bo'lishiga qaramay, fenotipda yuzaga chiqadigan belgi geni
Electrophoresis The movement of charged particles suspended in a liquid under the influence of an applied electron field.	Электрофорез Метод разделения зараженных молекул, основанный на разной скорости их перемещения в электрическом поле.	Elektroforez Zaryadlangan molekullarning elektr maydonda har hil tezlikda harakatlanishi.
Electroporation	Электропорация Образование пор клеточных мембранах под действием электрического тока. Через эти поры в клетки проникает чужеродная ДНК.	Elektroporatsiya Elektr toki yordamida membranada hujayraga yot DNK kiradigan teshik hosil qilish.

Embryonic stem cell	Эмбриональные стволовые клетки Клетки из эмбрионов на стадии бластоцисты, способные к дифференцировке в любые типы клеток, в том числе и в клетки зародышевой линии, при введении в другой эмбрион на стадии бластоцисты.	Embrional o'zak hujayralar Blastotsid bosqichidagi embrion hujayrasi bo'lib, hohlagan hujayra turiga differensirovka bo'la oladigan va shu jumladan mazkur hujayrani blastotsid bosqichida boshqa embrionga kiritish mumkin.
End product inhibition Feedback inhibition.	Ингибирование конечным продуктом Ингибирование фермента метаболитом - конечным продуктом метаболического пути.	Ohirgi mahsulot orqali ingibirlash Metabolitik yo'lni ohirgi mahsulot orqali ingibirlash. Shuningdek Fidbek ingibirlanishi deb ham yuritiladi.
Endotoxins Toxic substances found as part of some bacterial cells; the lipopolysaccharide component of the cell wall of Gram-negative bacteria.	Эндотоксин Токсин, не выделяемый клеткой в окружающую среду, а входящий в состав клеточной стенки; многие эндотоксины вырабатываются грамотрицательными бактериями и вызывают воспаление.	Endotoksin Hujayra devoriga tarkibiga kiruvchi va tashqariga ajralmaydigan toksin bo'lib, ko'pgina grammanfiy bakteriyalarda ishlab chiqiladi va shamollashni keltirib chiqaradi.
Enhancer	Энхансер Специфический участок ДНК, многократно увеличивающий уровень транскрипции генов, расположенных на той же молекуле ДНК.	Enhanser Gen transkripsiyasini bir necha marta kuchaytiruvchid ning spetsifik qismi.
Enolreductase	Енолредуктаза Фермент, участвующий в синтезе поликетидных антибиотиков.	Enolreduktaza Poliketid antibiotiklar sintezida ishtirok etuvchi ferment.
Enterotoxin	Энтеротоксин Бактериальный белок, который, попадая в кишечник, вызывает диарею.	Enterotoksin Ichakka tushib, diareyani keltirib chiqaruvchi bakteriya oqsili.

Epitope, antigenic determinant

Эпитоп, антигенная детерминант Часть молекулы антигена, взаимодействующая с антигенсвязывающим центром антител или Т-клеточного рецептора.

Epitop, Antigen determinanti Antitela yoki T-hujayralarning antigen bog'lovchi markazi bilan bog'lanuvchi antigen molekulasining qismi.

Established cell lines

Устойчивые клеточные линии Культуры клеток, способные к неограниченному росту in vitro. Получается из перевиваемых клеточных культур, часть клеток которых приобретают селективные преимущества и обладают повышенной скоростью роста.

Chidamli hujayra liniyalari Birlamchi hujayra kulturasidan ajratib olinadigan, in vitro muhitida cheksiz bo'linish va yuqori tezlikda o'sish qobiliyatiga ega. bo'lgan hujayra kulturasi.,

Ethylen

Этилен Газ, действующий как растительный гормон. Способствуют созреванию плодов, сохранению цветков, прорастанию семян, образованию корней; участвует в ответе растения на стрессовые воздействия.

Etilen Mevalar etilishini, gullar saqlanishini, i urug'lar tarqalishini, ildizlar hosil bo'lishini ta'minlovchi o'simliklarga o'sish gormoni sifatida ta'sir qiluvchi gazzimon modda.

Eukaryotes
Cellular organisms having a membranebound nucleus within which the genome of the cell is stored as chromosomes composed of DNA; eukaryotic organisms include algae, fungi, protozoa, plants, and animals.

Excision

Эукариоты Организм, у которых; 1) имеется ядро, где содержатся хромосомы; 2) в цитоплазме присутствуют различные органеллы-митохондрии, хлоропласты и т.д. К эукариотам относятся животные, растения, грибы, некоторые водоросли.

Исключение Вырезание сегмента ДНК из хромосомы или клонирующего вектора, осуществляемое *in vivo* или *in vitro* с помощью специфического фермента.

Eukariotlar Yadrosi shakllangan, ssitoplazmasida turli organoidlari bo'lgan (mitohondriya, xloroplastlar) organizmlar. Ular o'z ichiga hayvonlarni, o'simliklarni, zamburug'larni va ba'zi suvo'tlarni oladi.

Sarguzasht *in vitro* yoki *in vivo*da spetsifik ferment yordamida klonlanadigan vektor yoki xromosoma DNK sini biror qismini qirqish.

Exogenous DNA

Экзогенная ДНК ДНК, выделенная из организма-донора и встроена в вектор или хромосомную ДНК организма-хозяина. Называется также чужеродной и гетерологичной ДНК.

Exon The region of a eukaryotic genome that encodes the information for protein or RNA macromolecules or regulates gene expression; a segment of eukaryotic DNA that codes for a region of RNA that is not excised during post-transcriptional processing.

Экзон Участок гена, входящий в состав первичного транскрипта, который остается в нем после процессинга. Вместе с другими экзонами образует зрелую мРНК.

Ekzogen DNK Donor organizmdan ajratib olinib vektorga o'rnatiladigan yoki ho'jain organizm DNKsi. Shuningdek yot yoki geterologik DNK deb ham yuritiladi.

Ekzon Eukariotik genom qismi bo'lib, oqsil yoki RNK haqidagi ahborotni saqlaydi va gen ekspressiyasini boshqarishda ishtirok etadi; Eukariotlar DNK sining qismi bo'lib, boshqa ekzonlar bilan etilgan mRNK hosil qiladi.

Адабиётлар

1. Акименко В.К. Алтернативнўе оксидазў микроорганизмов. М., Наука, 1989.
2. Алберц Б. Молекулярная биология клетки: Пер. с англ. /Б. Алберц, Д. Брей; Дж. Люис. – М.: Мир, 1994. – Т. 1. – 515 с.
3. Бабева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. Под ред. Д. Г. Звиягинцева. МГУ, 1983.
4. Бациллў. Генетика и биотехнология. Под ред. К. Харвуда. М., Мир, 1992.
5. Бейли Дж., Оллис Д. Основў биохимической инженерии, в 2-х частях. М., Мир, 1989.
6. Беккер М. Е., Лиепинўш Г. Райпулис Е. П. Биотехнология, М., ВО Агропромиздат, 1990.
7. Бертрам Г. Базисная клиническая фармакология // Бертрам, Гатцўнг – М.: Бином, СП.: Невский Диалект, 1998. – Т. 1. – 609 с.; - Т.2. – 669 с.
8. Биологические мембраны. Усули. Под. ред. Дж. Финдлея, У. Эванзана, М., Мир, 1990.
9. Биотехнология в 8-ми томах. Под. ред. Н. С. Егорова, В. Д. Самуилова. Уч. пособие для вузов. М., Вўсшая школа, 1987-1988.
10. Биотехнология клеток животнўх. В 2-х томах. Под. ред. Р.Е, Спiera и Дж. Гриффица. М., ВО Агропромиздат, 1989.
11. Биотехнология растений. Под. ред. С. Х. Мантелла и Х. Смита. М., ВО Агропромиздат, 1987.
12. Биотехнология: принципы и применения. Под. ред. И. Хиггинса, Д. Беста, Дж. Джонса. М., Мир, 1988.
13. Биотехнология: Учебное пособие для вузов / Под. ред. Н.С. Егорова. – М.: 1987.
14. Блохина И.Н., Леванова Г.Ф. Традиционная классификация и геносистематика бактерий рода Ластобасиллус // Микробиология, эпидемиология, иммунология. – 1995. - № 4. – С: 19 -23
15. Вакула В.А. Биотехнология, что это такое. – М.: Молодая гвардия, 1989. – 32 с.
16. Варфоломеев С. Д. Калюжнўй С. В. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов. М., Вўсшая школа, 1990.
17. Васканын И.А., Мелникова В.А. Процессў культивирования. – М.: 1987.
18. Виестур У. Э., Шмите И. А., Жилевич А. В. Биотехнология. Биотехнологические агенты, технология, аппаратура. Рига, Зинатне, 1987.
19. Воробева Л. И. промўшленная микробиология. М., МГУ, 1989.

20. Вудворд Дж. Иммуобилизованние клетки и ферменты: Пер. с англ. – М.: Мир, 1988. – 215 с.
21. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология Г` Б. Глик, Дж. Пастернак. – М., Мир, 2002. – 589 с.
22. Дзегиленко Н.Б., Властихина Е.М. Тромболитики и антикоагулянты, получаемые усолом биотехнологии за рубежом. Обзорная информация. Химфарм. пром. – М., 1989 .- № 2. – 43.
23. Долинов К.Е. Основы технологии сухих биопрепаратов. М - Мир, 1969. – 70с.
24. Егоров А. М., Осипов А. П., Дзантиев Б. Б., Гаврилов Е. М. теория и практика иммуноферментного анализа. М., Высшая школа, 1991.
25. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. – М.: Изд – во МГУ, 1994. – 512 с.
26. Елинов Н. П. Химическая микробиология. М., Высшая школа, 1989.
27. Зорин Н.А. Получение препаратов α_2 – макроглобулина с заданными свойствами .
28. Зорин, Р.М. Зорина, В.Н. Зорина // Гематология и трансфузиология. – 2000. – Т. 45. - №5. – С 20 – 21.
29. Иммуобилизованние клетки и ферменты. Усулы. Под. ред. Дж. Вудворда. М., Мир, 1988.
30. Иммунологические усулы. Под. ред. Г. Фримеля. М., Медицина, 1987.
31. Иммунология. Под ред. У.Пола в 3-х томах. М., Мир, 1989.
32. Каратуйгин И. В. Козволюция грибов и растений. Санкт – Петербургский Гидрометеоздат. С.-Пбгг. 1993.
33. Качура В.И. Способ вусушивания молочнокислых бактерий // Виноделие и виноградарство СССР. – 1985. - № 2. – С. 49 – 50.
34. Коваленко Н.К., Касумова С.А. и др. Использование селекционированных штаммов молочнокислых бактерий для получения лечебно – профилактических продуктов // Микробиол. журн. – 1990. - № 8. – С. 45 – 49.
35. Ковал Э. З., Сидоренко Л. П. Микодеструкторы промиленных материалов. Киев, Наукова Думка, 1989
36. Кузник Э. З., Василев Н. В., Суйбиков Н. Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., Медицина, 1989.
37. Ленинджер А. Основы биохимии в 3-х томах. М., Мир, 1985.
38. Лиепинш Г. К., Дунце М. Э. Суры и питательное субстраты для промышленной биотехнологии. Рига, Зинатне, 1986.
39. Лобанюк А.Г. Биотехнология микробных ферментов Г` А.Г. Лобанюк, Н.И. Астапович, Р.В. Михайлова. – Минск: Наука и техника, 1989. – 205 с.
40. Люин Б. Гену. М., Мир, 1988.

41. Михайлов И.Б. Клиническая фармакология Г` И.Б. Михайлов. – СПб.,1998.- 473 с.
- 42.Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии. Сб. научн. Трудов под ред. С. Г. Инге – Вечтомова. Л., Наука, 1986.
- 43.Муромцев Г. С., Бутенко Р. Г., Тихоненко Т. И., Прокофьев М. И. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. М., ВО Агропромиздат, 1990.
44. Навашин С.М. Отечественному пенициллину 50 лет: история и прогнозы // Антибиотики и химиотерапия. – 1994. – Т. 39. - № 1. –3 с.
45. Навашин С.М., Сазукин Ю.О. Перспективы современной биотехнологии в области антибиотиков. Биотехнология Г` Под ред. А.А. Баева. – М.: Наука, 1984. – 309 с.
46. Основы молекулярной медицины: В 2 – х т. / Под. ред. Дж. Джеймсона: Пер. с англ. М.: Мир, 2002. – Т. 1. – 444 с.: Т. 2. – 346 с.
- 47.Перспективы биохимических исследований. Под. ред. Дж. Туза и С. Принтэса, М., Мир, 1987.
48. Петров В.Ф., Сафонова Г.М. Получение природных биологически фаолних препаратов – новое направление исследований НПО «Биомед» // Микробиоло- биология. 1998. - № 2. – С. 95 – 97.
49. Петров Р. В. Иммунология. М., Медицина, 1987.
50. Промышленная микробиология. Под общей ред. Н. С. Егорова. М., Высшая школа, 1989.
51. Промышленная технология лекарств: В 2 – х т. /Под. ред. В.И. Чуешова.–Харков: НФАУ, МТК– книга, 2002. – Т. 1.– 557 с.: Т. 2.–714 с.
52. Рибчин В. Н. Основы генетической инженерии. Минск, Вишэйшая школа, 1986.
53. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы технологии производства зетеринарных биологических препаратов. – М., 2000. – Т. 1,2.
54. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды: Пер. с англ. Г` А. Сассон. – М.: Мир, 1987. – 410 с.
55. Седих Н. В., Кристопсонс М. Ш. Контроль качества в биотехнологии. Рига, Зинатне, 1990.
56. Сингер М., Берг П. Гени и геноми: В 2 – х т.: Пер с англ. – М.: Мир, 2002. – Т. 1,2.
57. Современная микробиология: В 2-х т. /Под ред. Г. Шлегеля: Пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – Т. 1,2.

58. Сорокулова И.Б., Белявская В.А. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования в медицине и ветеринарии. //Вест. Рос. АМН. – 1997. – №3. – С. -. 17 – 19.
59. Технология лекарственных форм: В 2-х т. / Под ред. Т.С. Кондратовой, Л.А. Ивановой. – М.: Медицина, 1991. – Т. 1. – 496 с.; Т. 2. – 544 с.
60. Типовые тестовые задания для итоговой государственной аттестации выпускников высших медицинских и фармацевтических учебных заведений по специальности 04.05.00 – фармация / Под ред. А.П. Арзамасцева, П.Ф. Литвицкого. – М.: ГОУ ВУНТсМТс МЗ РФ, 2004. – 203 с.
61. Тюрин М.В. Антибиотики и микробиология человека и животных. – М., 1988. – С. 175 – 178.
62. Фармацевтическая микробиология / В.А. Галинкин, Н.А. Заикина, В.И. Кочеровец, Т.С. Потехина. – М.: Ариэбия, 2003. – 252 с.
63. Шевелёва С.А. Антибиотики в продуктах питания. Нрвие аспекты проблемы// Вопросы питания. – 1994. - № 4. – С. 23-28.
64. Хелкунов С. Н. Клонирование генов. Новосибирск, Наука, 1986.
65. Основа фармацевтической биотехнологии: Учебное пособие/ Т.П. Прихеп, В.С. Чучалин, К.Л. Зайков, Л.К. Михалева, Л.С. Белова. Ростов Н/Д.; Феникс; Томск: Издательство НТЛ, 2006.-256с.
66. www.спсл.нсс.ру/жоурналс/агэнда21/биот.хтм – 26 Кб
67. www.вак.орг.бй/индэх.пхп.го=Бох&филэ=принт&ид=277 – 18 Кб
68. Биотэч .нглиб .ру/боок_виэw.жсп.идн=009592&пагэ=6&формат=фрээ–27 Кб
69. днкнова.ру/матэриалии/гэнная-инзхэнэрия-5.хтмл – 1 Кб
70. другсторэмэд.ру/артислэ/1/Гэнная_инзхэнэрия.хтм – 9 Кб
71. www.биотэчнолог.ру/гэ/гэ2_1.хтм – 8 Кб
72. www.ссиам.ру/2006/5/Ссиэнсэрф.штмл – 42 Кб
73. ру.википэдиа.орг/вики/%С3%Э5%ЭД%ЭД%Э0%ФФ_%Э8%ЭД%Э6%Э5%ЭД%Э5% Ф0%Э8%ФФ
74. сэминариум.народ.ру/архив/2006.хтмл – 653 Кб

МУНДАРИЖА

КИРИШ	3
Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланиш тарихи.....	4

И- БОБ. БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАН СИФАТИДА

1.1. Биотехнологиянинг фанлар орасида тутган ўрни.....	5
1.2. Биотехнологиянинг объектлари ва усуллари.....	10
1.3. Микробиотехнология	26
1.4. Микроорганизмларни култивация (ўстириш) қилиш тамойиллари	30
2-БОБ. МИКРОБИОТЭХНОЛОГИК ЖАРАҲОНЛАР	
2.1. Бижғиш (ачиш) махсулотларини олиниши.....	38
2.2. Органик кислоталарни олиш.....	52
2.3. Витаминларни олиниши.....	73
2.4. Микроб препаратларини олиниши–ернинг озукаси, ўсимлик ўсишини стимуллаш ва тартибга солиш.....	78
3-БОБ. ГЭН ИНЖЭНЭРЛИГИ. ЎСИМЛИК ГЭН ИНЖЭНЭРЛИГИ	
3.1. Ген инжэнэрлиги асослари.....	97
3.2. Плазмидалар ва рекомбинант молекулалар.....	99
3.3. Ген инжэнэрлигининг умумий тавсифи.....	121
3.4. р ДНК – биотехнология.....	127
3.5. Генларнинг амплификацияси ва экспрессияси.....	136
3.6. Организм ўзгарувчанлиги ва унинг биотехнологиядаги роли.....	140
3.7. Транс–гэн ўсимлигини олиш тэхнологиялари.....	159
4-БОБ. ФЕРМЕНТЛАР ИНЖЭНЭРЛИГИ	
4.1. Ферментлар инженерияси ва унинг асосий вазифалари. Ферментларни имобилизацияси учун қўлланадиган ташувчилар.....	163
4.2. Полиамид ташувчилар	173
4.3. Ферментлар имобилизациясининг физик усуллари.....	180
4.4. Ферментлар имобилизациясининг кимёвий усуллари.....	194
4.5. Имобилизацияланган ферментларнинг каталитик хусусиятлари ...	201
4.6. Имобилизацияланган ферментларнинг ишлатилиш сохалари.....	204
4.7. Энзимология сохасидаги фундаментал изланишлар.....	212
5-БОБ. ЭКОЛОГИК БИОТЭХНОЛОГИЯ	
5.1. Акариотлар.....	240
5.2. Прокариот хужайралари.....	245
5.3. Эукариот хужайралари.....	264
5.4. Хужайраларнинг ва хужайра системаларининг айрим функционал хусусиятлари.....	295
БИОТЕХНОЛОГИК АТАМАЛАР РЎҲАТИ.....	311
Адабиётлар рўйхати.....	343

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
История развития биотехнологии в Узбекистане.....	4
ГЛАВА 1. БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК ПРЕДМЕТ	
1.1.Значение биотехнологии среди других предметов.....	5
1.2.Объекты и методы биотехнологии.....	10
1.3.Микробиотехнология.....	26
1.4.Способы культивации микроорганизмов.....	30
ГЛАВА 2. МИКРОБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ	
2.1.Получения продуктов брожения.....	38
2.2.Получение органических кислот.....	52
2.3.Получение витаминов.....	73
2.4.Получение микробных препаратов– питание грунта, упорядочение и стимуляция роста растений.....	78
ГЛАВА 3. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИИ	
3.1.Основа генной инженерии.....	97
3.2.Плазмиды и рекомбинантные молекулы.....	98
3.3.Общие понятие генной инженерии.....	121
3.4.рДНК–биотехнология.....	127
3.5.Экспрессия и амплификация генов.....	136
3.6.Изменчивость организма и его роль в биотехнологии.....	140
3.7. Технология получения Транс–ген растения	159
ГЛАВА 4. ФЕРМЕНТНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ	
4.1.Ферментная инженерия и его основные задачи. Используемые носители при иммобилизации ферментов.....	163
4.2.Полиамидные носители.....	173
4.3. Иммобилизация ферментов физическим способом.....	180
4.4. Иммобилизация ферментов химическим способом.....	194
4.5. Каталитическая свойство иммобилизованных ферментов.....	201
4.6. Использование иммобилизованных ферментов.....	204
4.7. Фундаментальные исследования энзимологии.....	212
ГЛАВА 5. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ	
5.1. Акариоты.....	240
5.2. Клетки прокариота.....	245
5.3. Клетки эукариот.....	264
5.4. Некоторые функциональные свойства клеток и клеточных систем.....	295
УКАЗАТЕЛЬ СПИСОК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ТЕРМИНОВ.....	311
Литература.....	343