

REKOMBINAT DNK OLISH USULLARI VA VEKTOR MOLEKULALAR

IBROHIMOV ABU BAKIR SIDDIQ DILSHODBEK O'G'LI

ANDIJON DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI FARMATSIYA FAKULTETI

5- KURS TALABASI

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7588024>

Annotatsiya: Ushbu maqolada turli xil o'lchamga ega bo'lgan DNK molekulasi elektroforez uslubi yordamida ajratib olinishi, ajratib olingan «yopishqoq» uchli xromosoma DNK si bo'lagi ochiq holatdagi «yopishqoq» uchli plazmida DNK si bilan aralashtirilib ligaza fermenti yordamida tiklanishi, natijada plazmida tarkibiga xromosoma DNK bo'lagi kiritilishi haqida muallif tomonidan sharx berib o'tilgan.

Kalit so'zlar: Gen, ekspressiyasi, DNK, Plazmidalar, biyehnologiya, Nuklein kisloyalar, Genom, Ribosoma, Bakteriofaglar, Gen muhandisligi, DNK, Transgen hayvonlar

Kirish: Sun'iy sharoitda rekombinant DNK olish va genlarni klonlash ilk bor 1972 yilda AQSH olimlari Boyer va Koen tomonidan amalga oshirilgan. Bu olimlar E.coli bakteriyasining xromosoma DNK siga va shu bakteriya plazmidasiga alohida idishlarda EcoRI restriktaza fermenti bilan ishlov berganlar. Plazmida tarkibida faqat 1 dona EcoRI restriktaza fermenti tanib kesadigan maxsus nukleotidlar ketma-ketligi bo'lganligi sababli ferment plazmidaning xalqasimon DNK qo'sh zanjirini faqat bir joydan kesib, plazmidani «yopishqoq» uchli ochiq holatga o'tkazadi. Xromosoma DNK molekulasida EcoRI restriktaza fermenti taniy oladigan maxsus nukleotidlar ketma-ketligi qancha bo'lsa, bu molekula shuncha bo'lakka bo'linadi.

Shu boisdan rekombinant DNK ga quyidagicha tarif berish mumkin: har qanday tirik organizm irsiy molekulasining istalgan bo'lagini vektor molekulalariga birikishdan hosil bo'lgan sun'iy DNK - rekombinant DNK deyiladi.

Rekombinant DNK olishning uchta usuli mavjud: - konnektor usuli; - restriktaza-ligaza; - linker molekulalaridan foydalanish usuli. Konnektor usulida - rekombinatsiyada ishtirok etuvchi DNK bo'lagining 3' uchiga dezoksinukleotidil-transferaza fermenti yordamida ma'lum uzunlikdagi oligo (dA) - segmenti ulanadi. Ikkinchi uchiga esa oligo (dT) - segmenti ulanadi. Bu DNK bo'laklari aralashtirilganda dA va dT segmentlarning vodorod bog'lari asosida komplementar birikishi tufayli xalqasimon DNK strukturasi hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan DNK dagi bir zanjirli bo'sh joylar DNK-polimeraza I fermenti yordamida to'ldiriladi. Restriktaza-ligaza usuli - rekombinant DNK olishning eng sodda va oson usuli hisoblanadi. Bu usulda DNK molekulasi va vektor plazmida «yopishqoq» uchlar hosil qiluvchi restriktaza bilan qirqiladi va aralashtirilgan

holda ma'lum sharoitda reassotsiatsiya qilinadi. Komplementarlik xususiyatiga ko'ra DNK molekulalari o'zaro vodorod bog'lari yordamida birikib xalqasimon struktura hosil qiladi va DNK zanjirining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. Linker molekulalaridan foydalanish usulida - DNK molekulasiga va vektor plazmidaga T4 fag DNK-ligaza fermenti yordamida maxsus nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan linker molekula ulanadi. Olingan ikki turdagi DNK molekulasi restriktaza fermenti yordamida qirqilib, aralastirilgan holda qaytadan assotsiatsiya qilinadi. DNK va vektor plazmidada molekulalarining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. SHu yo'sinda rekombinant DNK molekulasi hosil bo'ladi. 1

VEKTOR MOLEKULALAR . Rekombinant DNKn avtonom replikatsiya bo'lishi uchun javob beradigan DNK bo'lagi - vektor molekulalari deyiladi.

Vektor molekulalar o'z vazifasiga ko'ra ikki tipga bo'linadi: Birinchisi -avtonom replikatsiya bo'luvchi vektorlar. Ikkinchisi - xromosomaga integratsiya bo'luvchi vektorlar.

Vektor molekulalar gen muhandisligi biotexnologiyasida genlarni klonlashda va transformatsiya qilishda asosiy ish quroli bo'lib xizmat qiladi. Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidalar va o'simliklarni xloroplast hamda mitoxondrial DNK lari o'tashi mumkin.

Xo'jalik ahamiyati qimmatli bo'lgan genlarni ajratish uchun gen banki tuziladi. Xromosomal DNK asosida gen bibliotekasini tuzish quyidagicha amalga oshiriladi: DNK va vektor molekulalar restriktaza fermenti yordamida qirqiladi va ma'lum sharoitda qaytadan assotsiatsiya qilinadi; Nukleotidlar orasida ulanmay qolgan bo'shliq DNK-ligaza fermenti yordamida o'zaro biriktiriladi; Olingan rekombinant DNK bakteriya hujayrasiga transformatsiya qilinadi.

Xromosomal DNK da mavjud genlarni to'la klonlash uchun DNK o'lchamiga va olingan klonlarni soniga e'tibor berish kerak.

References:

1. B.Glik, Dj.Pasternak "Molekulyarnaya biotexnologiya: Prinsipi i primeneniye" Per.s angl. M.: Mir, 2002
2. <https://biotehnolog.ru>
3. <https://cbio-info.ru>