

MIKROORGANIZMLARDAN GEN MUHANDISLIGI YORDAMIDA SOMATOTROPIN (RSTG) OLISH TEXNOLOGIYASI

(PhD), Sobirova Mukaddas Batirovna,
(PhD), Mustafakulov Mukhammadjon Abduvaliyevich,
Saidov Zuxriddin Usmonali o'g'li,
Anvarov Bobur Boxodir o'g'li
O'zbekiston Milliy universiteti Jizzax filiali, O'zbekiston
saidovzuxriddin10@gmail.com

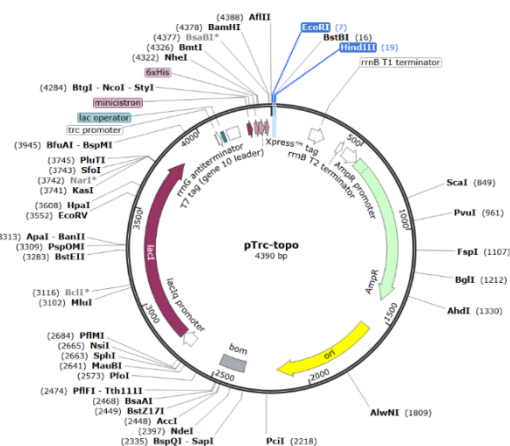
Annotatsiya: Gormonlar hujayraning genetik apparatini stimullash, fermentlarni faollashtirish va fermentativ reaksiyalar tezligini o'zgartirish yo'li bilan moddalar almashinuviga ta'sir ko'rsatadi. Ular oqsilning tuzilishini belgilab beradigan informatsion ribonuklein kislotasining hosil bo'lishini kuchaytirib, oqsillar biosinteziga ta'sir etadi. Shunday xususiyatga ega somatotropin gormoni (STG)-191 ta aminokislotadan tashkil topgan peptid tabiatli gormon bo'lib, gipofizning oldingi bo'lagidan sekretiya bo'ladi. Bu gormon yetishmasligi gipofizar past bo'ylikka olib keladi. Yaqin kelajakda rekombinant somatotropinga bo'lgan talab oshish ehtimoli mavjud. Chunki, hozirgi ishlab chiqarish texnologiyalari ishlab chiqarish quvvatlarining cheklanganligi va ishlab chiqarish narxining yuqoriligi sababli arzon somatotropinga bo'lgan talabni qondira olmaydi. Natijada, terapevtik rekombinant oqsillarni ishlab chiqarish mexanizmlarini o'rganishni talab qiladi. Rekombinant somatotropin asosan *E. colining lemo* shtammi yordamida sintez qilingan bo'lib, terapevtik bosqichlarni amalga oshirishda foydalanish uchun qo'llaniladi.

Kalit so'zlar: Somatotropin (rSTG), PTrcHis-TOPO, GHN geni, NCBI, *E.coli Lemo* shtamm.

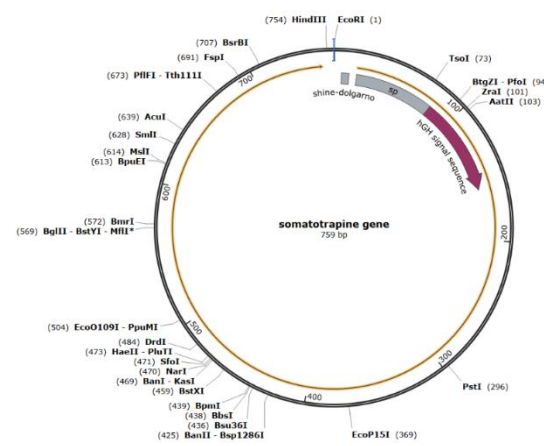
Dunyo miqyosida somatotropin (STG) yetishmovchiligi bilan kasallanish jadal sur'atlar bilan o'sib bormoqda va 2027- yilga kelib dunyo aholisining gipofizar past bo'ylikka chalinganlar soni taxminan 10 millionga ko'tarilishi taxmin qilinmoqda. Somatotropin gormoni gipofiz bezining atsidofil somatotroflari tomonidan sintez qilingan bir zanjirli polipeptid gormon hisoblanadi. Inson organizmida 17q22–24 xromosomasida joylashgan gen klasteridagi GHN geni tomonidan kodlangan bo'lib, 191 ta aminokislotalar va ikkita disulfid bog'larini o'z ichiga oladi hamda molekulyar massasi taxminan 22 kDa ni tashkil etadi. Tadqiqot jarayonlarida kerakli bo'lgan genni *E. coli* ga transformatsiya qilish uchun NCBI bazadan nukleotidlar ketma- ketligi olinadi va *SnapGene* dasturida PTrcHis-TOPO plazmididan foydalanilgan holda vektor konstruktsiya dizayn qilinadi. Maqsadli gen expressiyasini amalga oshirish uchun NCBI ma'lumotlar bazasidan GHN geni ketma-ketligi tanlab olinadi va PTrcHis-TOPO plazmidaga kiritiladi. Ushbu jarayonda expressiyani optimallashtirish uchun *E.colining Lemo* shtammi maqbul variant sifatida olinadi.

Vector konstruktsiyani *E.colining Lemo* shtammiga transformatsiya qilish uchun dastlab, hujayra kimyoviy usulda transformatsiyaga tayyor holatga keltirib olinadi. Transformatsiyalangan GHN *Lemo* shtamm namunasidan 5 mkl.dan olib 495 mk.l LB

ozuqa muhitida tungi kultura o'stiriladi. O'sgan kulturadan 1ml olib 50ml.li LB ozuqa muhitida OD600 ko'rsatgichi 0.7 ga yetgunga qadar o'stiriladi.



1-rasm. Vector -pTrcHis-TOPO plazmid



2-rasm. 759 juft nukleotidlardan iborat inson somatotropin genining umumiy ko'rinishi

OD600 ko'rsatgichi 0.7 ga yetgan kultura 0.5 mM konsentratsiyada IPTG bilan induksiyalanadi. 220 ayl/daq va 37°C haroratda 4 soat davomida expressiya qilinadi. Hujayra ichida expressiyalangan oqsilni hujayradan tashqariga chiqarish uchun 5ml A buferi va 4mg/ml lizotsium bilan ishlov berilib, 30 daqiqa davomida xona haroratiga qo'yiladi. 5 ml B buferidan solinib, ultratovush apparatida hujayra devori parchalanadi. 20000 ayl/daq tezligida sentrifuga qilinib, supernatant yig'ib olinadi. Vektor sifatida His tag (gistidin oqsil) ulangani hisobiga affine xromatografiyasi metodidan foydalaniladi. Bunda, Ni (nikelli) kolonka tanlanadi. 50 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl pH-8 buferi bilan kolonka tayyor holatga keltiriladi. Namuna kolonkadan o'tkazilgach, xuddi shu buferda keraksiz oqsillar yuvib chiqariladi. Kolonkadan zarur oqsillarni ajratib olish maqsadida, 250 mM imidazoldan foydalaniladi.

Tadqiqot jarayonida olingan recombinant gormon haftada 3 marta 3 oy davomida 0.5-3.5 mkl gacha sichqonlarga ineksiyalanadi. Bunda, 5-haftada qon tarkibidagi somatotropin miqdori normallasadi hamda sichqon massasi 12 gr.dan 53gr gacha, uzunligi 6 sm dan 10.2 sm gacha natijani qayd etadi.

Hayvonlardan biosintetik, modifikatsiyalangan, gen muhandislik yo'llari asosida olingan somatotropin ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan, lekin modifikatsiya asosida olingan somatotropinga talab juda yuqoridir. Gen muhandisligi usuli yordamida ishlab chiqarilgan somatotropin garmoni STG yetishmovchiligida qo'llanilganda yuqori samara beradi. Somatotropin gormonini insonlarda STG ga test sinamasidan so'ng berish tavsiya etiladi. STG ga test balog'at yoshiga yetmasdan qizlarda 9 yosh, o'g'il bolalarda 11-13 yosh oralig'ida amalga oshiriladi. Agar STG yetishmovchiligi aniqlansa, 3-6 oy oralig'ida haftada 3 marta qo'llaniladi, maksimal darajada 1-yilda gormon 6-10 sm.gacha bo'yni o'stirishi mumkin. Bu texnologiya bilan olingan somatotropin gormoni boshqa analoglariga qaraganda sifatli va nisbatan

arzon bo'lib, nafaqat ichki ehtiyojni, balki qo'shni mamlakatlarga ham ekspert qilish imkonini beradi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati:

1. Flodh, H. *Human Growth Hormone Produced with Recombinant DNA Technology: Development and Production*. *Acta Paediatrica*, 1986. 75(s325), 1–9.
2. Goeddel DV, Heyneker HL, Hozumi T. Direct expression in *Escherichia coli* of a DNA sequence coding for human growth hormone. *Nature* 1979; 281: 544-8.
3. Schlegel, S., Löfblom, J., Lee, C., Hjelm, A., Klepsch, M., Strous, M., de Gier, J.-W. (2012). *Optimizing Membrane Protein Overexpression in the Escherichia coli strain Lemo21(DE3)*. *Journal of Molecular Biology*, 423(4), 648–659.
4. Chamberlin M, McGrath J, Waskell L. New RNA polymerase from *Escherichia coli* infected with bacteriophage T7. *Nature*. 1970;228: 227–31.
5. Studier FW, Moffatt BA. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. *J Mol Biol*. 1986;189: 113–30.
6. Sobirova M., Murodova S. Effects of biopreparates on cynara scolymus L., micro and macroelements, and quantity of flavonoids // In E3S Web of Conferences//. 2021. Vol. 258.
7. Sobirova M., Muradova S., Khojanazarova M., Kiriigitov Kh. Extraction of “Elicitor” and determination of volatile organic substances contained in the elicitor// E3S Web of Conferences 389, 01044 (2023)
8. Sobirova M.M., Murodova S.S. The Influence of Biofertilizers on the Growth and Development of a Medicinal Plant Artichoke (*Cynara scolymus* L.)// International journal for innovative research in multidisciplinary field issn: 2019. -10, – Impact Factor: 6.497.- pp. 46-49
9. Собирова М., Муродова С. Технология получения элиситора, эффективно влияющего на биологические свойства *Cynara Scolymus* L.-М.: Научное обозрение. биологические науки, 2022. №1. с. 68-72.

ГЕПАТИТДА КАЛАМУШ ЖИГАРИГА АНТИОКСИДАНТ ФЕРМЕНТЛАР ФАОЛЛИГИГА ПОЛИФЕНОЛЛАР ТАЪСИРИ

**Маллаева Мавжудахон Махрамовна,
Мустафакулов Мухаммаджон Абдувалиевич**
Ўзбекистон Миллий унiversитети Жиззах филиали
mmallayeva74@gmail.com

Мавзунинг мақсади: Тетрахлорметан (CCl₄) билан чақирилган токсик гепатитда каламуш жигар митохондрияси антиоксидант ферментлар – СОД, каталаза, глутатионпероксидаза фаоллигига ва Fe²⁺/цитратга боғлиқ липидларни перекисли оксидланишига полифеноллар экстрактининг таъсири.

Метод ва материаллар: Тажрибаларимиз учун токсик гепатит модели танланди ҳамда тадқиқот давомида Хельсинки декларациясига амал қилган ҳолда олиб борилди (Бутун Жаҳон Тиббиёт Ассоциацияси, Эдинбург, 2000 й